

**Aus der Klein- und Heimtierklinik
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin**

**Transfusionsmedizin beim Hund – Alloimmunisierung
infolge einer Transfusion: serielle Kreuzproben-Studie
und Evaluation verschiedener Kreuzproben-Techniken**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin**

**vorgelegt von
Lisa Therese Magdalena Herter
Tierärztin aus Frechen**

**Berlin 2023
Journal-Nr.: 4420**

**Aus der Klein- und Heimtierklinik
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin**

**Transfusionsmedizin beim Hund – Alloimmunisierung infolge einer
Transfusion: serielle Kreuzproben-Studie und Evaluation verschiedener
Kreuzproben-Techniken**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin**

**vorgelegt von
Lisa Therese Magdalena Herter
Tierärztin
aus Frechen**

Berlin 2023

Journal-Nr.: 4420

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Uwe Rösler
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Barbara Kohn
Zweiter Gutachter: PD Dr. Lars Mundhenk
Dritter Gutachter: PD Dr. Roswitha Merle

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

dog, transfusion, emergency medicine (MeSH), immunization, antibodies, health response, erythrocytes, blood coagulation, agglutination, agglutination tests

Tag der Promotion: 17.10.2023

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <<https://dnb.de>> abrufbar.

ISBN: 978-3-96729-234-3

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2023

Dissertation, Freie Universität Berlin

D188

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

Alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© Mensch und Buch Verlag 2024 Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	I
Abbildungsverzeichnis.....	V
Tabellenverzeichnis.....	VI
Abkürzungen.....	VII
1. Einleitung.....	1
2. Literaturübersicht.....	3
2.1. Bedeutung der Transfusionsmedizin.....	3
2.2. Indikationen.....	3
2.2.1. Transfusionsregime.....	3
2.2.2. Verschiedene Ursachen einer Anämie.....	4
2.3. Transfusionsmanagement.....	6
2.3.1. Spenderauswahl.....	6
2.3.2. Testung von Blutparasiten.....	6
2.3.3. Blutgruppen.....	8
2.3.4. Kreuzproben.....	12
2.3.5. Blutspende.....	18
2.3.6. Transfusion.....	18
2.4. Blutkomponententherapie.....	21
2.4.1. Herstellung.....	21
2.4.2. Lagerung.....	24
2.4.3. Antikoagulanzen, Stabilisatoren und Additivlösungen.....	27
2.4.4. Leukozytenreduktion.....	27
2.4.5. Radioaktive Bestrahlung.....	29
2.4.6. Zellwaschung und Verjüngung der Erythrozyten.....	30
2.4.7. Kryokonservierung.....	30
2.4.8. Qualitätssicherung.....	31
2.5. Transfusionsreaktionen.....	31
2.5.1. Verschiedene Arten von Transfusionsreaktionen.....	32

2.5.2. Prävalenz verschiedener Transfusionsreaktionen.....	36
2.5.3. Risikofaktoren und Prävention	37
2.6. Alloimmunisierung.....	37
3. Material und Methoden.....	41
3.1. Alloimmunisierung bei Hunden infolge einer Transfusion.....	41
3.1.1. Studienpopulation.....	41
3.1.2. Blutspende und Aufbereitung der Blutkonserven	41
3.1.3. Transfusion.....	41
3.1.4. Probenmaterial	42
3.1.5. Kreuzproben.....	42
3.1.6. Statistische Analysen	44
3.2. Evaluation verschiedener Kreuzprobenmethoden im Vergleich zum Röhrchen-Agglutinationsverfahren beim Hund	44
3.2.1. Studienpopulation.....	44
3.2.2. Kreuzproben.....	45
3.2.3. Kreuzproben-Test-Kits.....	45
3.2.3.1. Gel-Röhrchen Verfahren (GR).....	46
3.2.3.2. Antiglobulin verstärktes Gel-Röhrchen Verfahren (AGR)	46
3.2.3.3. Immunchromatographisches Verfahren (ICS):.....	46
3.2.4. Statistische Analysen	47
4. Ergebnisse	49
4.1. Alloimmunisierung bei Hunden infolge einer Transfusion.....	49
4.1.1. Evaluierung der Transfusionen innerhalb des Untersuchungszeitraums.....	49
4.1.1.1. Studienpopulation.....	49
4.1.1.2. Transfusionen.....	49
4.1.1.3. Ausschluss aus den weiteren Untersuchungen.....	50
4.1.1.4. Kreuzproben vor der Transfusion.....	51
4.1.2. Alloimmunisierung bei Hunden infolge einer Transfusion - Verlaufsuntersuchungen.....	51

4.1.2.1. Studienpopulation.....	51
4.1.2.2. Transfusion.....	52
4.1.2.3. Kreuzproben.....	52
4.2. Evaluierung verschiedener Kreuzproben Methoden im Vergleich zum Röhren- Agglutinationsverfahren.....	55
4.2.1. Studienpopulation.....	55
4.2.2. Röhren-Agglutinationsverfahren (Vergleichsmethode).....	55
4.2.3. Gel-Röhren Verfahren (GR).....	56
4.2.4. Durch Antiglobuline verstärktes Gel-Röhren Verfahren (AGR).....	57
4.2.5. Immunchromatographisches Verfahren (ICS).....	58
5. Diskussion.....	61
5.1. Transfusionsreaktionen.....	61
5.2. Kreuzproben vor der Transfusion.....	62
5.3. Alloimmunisierung infolge einer Transfusion.....	63
5.4. Rückgang der sichtbaren Reaktion in der Kreuzprobe während des weiteren Untersuchungsverlaufs.....	65
5.5. Möglicher Einfluss der Gabe von Immunsuppressiva auf Alloimmunisierung.....	66
5.6. Mögliche Auswirkungen der Lagerungsdauer von Spenderblutproben auf das Kreuzproben-Ergebnis.....	66
5.7. Die Kreuzprobe als Nachweisverfahren von Alloantikörpern.....	67
5.8. Relevanz schwacher Reaktionen in der Kreuzprobe.....	67
5.9. Röhren-Agglutinationsverfahren.....	68
5.10. Einsatz verschiedener Kreuzproben Methoden.....	69
5.11. Klinische Relevanz verschiedener Ausprägungen der Kreuzproben-Ergebnisse.....	71
5.12. Praxistauglichkeit der verschiedenen Kreuzproben Methoden.....	72
5.13. Limitationen.....	72
5.13.1. Alloimmunisierung bei Hunden infolge einer Transfusion.....	72
5.13.2. Evaluation verschiedener Kreuzproben Methoden im Vergleich zum Röhren- Agglutinationsverfahren.....	73
5.14. Vorschläge für zukünftige Forschung.....	74

5.15. Schlussfolgerung	75
6. Zusammenfassung	77
7. Summary	79
8. Literaturverzeichnis	81
9. Publikationen	105
1. Publikation	105
2. Abstract	105
3. Vorträge/Poster	105
10. Danksagung	106
11. Erklärung zu Interessenskonflikten	107
12. Selbstständigkeitserklärung	107

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Durchführung von Kreuzproben mit dem Röhrchen-Agglutinationsverfahren ...	43
Abbildung 2: Kreuzproben-Ergebnisse mit dem Röhrchen- Agglutinationsverfahren: mikroskopisch negativ und positiv mit mikroskopischen Agglutinationsgraden 1+ - 2+	53
Abbildung 3: Makroskopische Auswertung von Kreuzproben mit dem Röhrchen- Agglutinationsverfahren: negativ und positiv mit makroskopischen Agglutinationsgraden (AG) 1+ - 2+	56
Abbildung 4: Mikroskopische Auswertung von Kreuzproben mit dem Röhrchen- Agglutinationsverfahren: negativ und positiv mit mikroskopischen Agglutinationsgraden (AG) 1+ - 3+	56
Abbildung 5: Kreuzprobenergebnisse mit dem Gel-Röhrchen Verfahren: kompatibel und inkompatibel	57
Abbildung 6: Kreuzprobenergebnisse mit dem durch Antiglobuline verstärktem Gel Röhrchen Verfahren: negativ und positiv (Grad 1+ - 4+).....	58
Abbildung 7: Kreuzprobenergebnis mit dem immunchromatographischen Verfahren: kompatibel.....	59

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Indikationen für eine Transfusion	4
Tabelle 2: Literaturübersicht: Vergleich verschiedener Verfahren zur Durchführung von Kreuzproben.....	17
Tabelle 3: Mikroskopische Kreuzprobenergebnisse bei 21 transfundierten Hunden: Grad der Agglutination vor (Tag 0) und nach der Transfusion (Tag 1-4 sowie nachfolgend bei Folgeuntersuchungen; Tag nach der Transfusion in Klammern).....	54
Tabelle 4: Kreuzproben-Ergebnisse mit dem Röhren-Agglutinationsverfahren	56
Tabelle 5: Übereinstimmung verschiedener Kreuzproben Methoden [Gel-Röhren Verfahren (GR), Antiglobulin verstärktes Gel-Röhren Verfahren (AGR) und immunchromatographisches Verfahren (ICS)] im Vergleich zum Röhren-Agglutinationsverfahren.....	59

Abkürzungen

2,3-DPG	2,3-Diphosphoglycerat
AABB	American Association of Blood Banks
ACD	Acid-Citrate-Dextrose
ADCAS	Anemic dog clinical assessment score
AGR	Antiglobulin verstärktes Gel-Röhrchen Verfahren
AHTR	Akute hämolytische Transfusionsreaktion
AKI	Akute Niereninsuffizienz
ALI	Acute lung injury
ATP	Adenosintriphosphat
BVL	Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit
CPA	Kryopräzipitat
CPDA-1	Citrat-Phosphat-Dextrose-Adenin-Solution
CPD+A	Citrat-Phosphat-Dextrose + Adsol
DAT	Direct Antiblobulin Test
DEA	Dog Erythrocyte Antigen
DHR	Verzögerte hämolytische Transfusionsreaktion
FAD	Flavin-Adenin-Dinukleotid
FDA	Food and Drug Administration
FFP	Frisch gefrorenes Plasma
FNHTR	Febrile nicht-hämolytische Transfusionsreaktion
GR	Gel-Röhrchen Verfahren
HyTR	Hypotensive Transfusionsreaktion
HES	Hydroxyethylstärke

Abkürzungen

ICS	Immunchromatographisches Verfahren
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
IMHA	Immunhämolytische Anämie
ISFM	International Society of Feline Medicine
LTB	Leukotrien B4
MCH	Mittlerer Hämoglobingehalt der Einzelerythrozyten
MCHC	Mittlere Hämoglobinkonzentration der Erythrozyten
MCP-1	Monocyte-chemoattractant-protein-1
MCV	Mittleres Erythrozytenvolumen
PC	Thrombozyten-Konzentrat
PAGGGM	Phosphat-Adenin-Guanin-Glukose-Sorbit-Mannitol
PG	Prostaglandin
pRBC	Erythrozytenkonzentrat
PRP	Plättchenreiches Plasma
RP	Gekühltes Plasma
SAGM	Sodiumchlorid-Adenin-Glukose-Mannitol
TACO	Transfusionsassoziierte Kreislaufüberladung
TAD	Transfusionsassoziierte Dyspnoe
TED	Thromboembolische Erkrankung
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α
TRALI	Transfusionsabhängige akute Lungeninsuffizienz
U/min	Umdrehungen pro Minute
VEGF	Vascular endothelial growth factor
vWF	von-Willebrand Faktor

WB Vollblut

WBC Weiße Blutkörperchen

1. Einleitung

Die Transfusionsmedizin stellt sowohl in der Humanmedizin als auch in der Veterinärmedizin einen wichtigen Teil der Intensiv- und Notfallbehandlung dar. Um Risikofaktoren zu minimieren und die Transfusionsmedizin möglichst sicher zu gestalten, haben viele Kliniker und Forscher versucht, Standards für die Blutspende, die Herstellung verschiedener Blutkomponenten und dessen Lagerung sowie für die Kompatibilitätstestung und die Durchführung und Überwachung von Transfusionen festzulegen (Lanevschi und Wardrop 2001, Haldane et al. 2004, Lucas et al. 2004, Tocci und Ewing 2009, Tocci 2010, Godinho-Cunha et al. 2011, Day und Kohn 2012, Davidow 2013, Kisielewicz und Self 2014, Yagi und Holowaychuk 2016, Kohn und Weingart 2017, Kumar 2017).

Da insbesondere die Bildung von Alloantikörpern als Folge einer Transfusion eine häufige Komplikation darstellt, wurden eine Reihe von Testverfahren entwickelt, um die Kompatibilitätstestung zu optimieren (Zaremba et al. 2019). Neben der Blutgruppentypisierung wird häufig die Durchführung einer Kreuzprobe angeraten (Spada et al. 2016a, Spada et al. 2016b, Odunayo et al. 2017). Auf diese Weise lassen sich mögliche bestehende Alloantikörper gegen die Erythrozyten des Spenders entdecken und das Risiko für das Auftreten verzögerter oder auch akuter hämolytischer Transfusionsreaktionen reduzieren.

Obgleich beim Hund über 12 verschiedene Blutgruppensysteme bekannt sind, wird routinemäßig lediglich die Blutgruppe DEA 1 bestimmt. Diese gilt als besonders immunogen und kann nach wiederholter Verabreichung einer DEA 1 inkompatiblen Transfusion zu starken hämolytischen Transfusionsreaktionen führen (Giger et al. 1995). Die restlichen Blutgruppen werden als weniger relevant angesehen (Lanevschi und Wardrop 2001, Tocci und Ewing 2009, Davidow 2013, Yagi und Holowaychuk 2016). Da Hunde keine klinisch relevanten natürlichen Alloantikörper besitzen (Goy-Thollot et al. 2017), ist die Durchführung von Kreuzproben bei Mehrfachtransfusionen indiziert, sobald eine initiale Transfusion länger als 4 Tage zurückliegt (Davidow et al. 2021b). Auf diese Weise lassen sich Alloantikörper, welche infolge einer initialen Transfusion gebildet wurden, detektieren und mögliche Transfusionsreaktionen verhindern. Nach Wissen der Autorin wurde die 4 Tage Regel beim Hund bisher noch nicht evaluiert.

Ziel dieser Arbeit ist es zu untersuchen, ob und ab wann Hunde nach der Verabreichung einer DEA 1 kompatiblen Bluttransfusion Alloantikörper bilden. Die klinische Relevanz von Kreuzproben soll durch die Erfassung von Transfusionsreaktionen und Transfusionserfolg ermittelt werden. Im zweiten Teil der Arbeit sollen verschiedene Kreuzprobentestverfahren im klinischen Einsatz miteinander verglichen und auf Sensitivität und Spezifität im Vergleich zur Referenzmethode, dem Röhrchen-Agglutinationsverfahren, getestet werden.

2. Literaturübersicht

2.1. Bedeutung der Transfusionsmedizin

Die Transfusionsmedizin ist seit den 1950er Jahren auch in der Veterinärmedizin ein Teil der Intensivmedizin und hat seitdem immer mehr an Bedeutung gewonnen (Stone et al. 1992, Greenwalt 1997, Rozanski 2011). Dies ist auch an der Anzahl an Publikationen in diesem Fachgebiet zu erkennen. Eine PubMed Suche mit den Begriffen „transfusion“ und „veterinary“ und „dog“ ergab 729 Publikationen zwischen den Jahren 1962 und 2023. Davon entstanden allein 378 Publikationen in den letzten 10 Jahren. Das Verständnis für die Herstellung verschiedener Blutkomponenten, die Lagerung von Blutkonserven sowie die Durchführung von Transfusionen hat sich fortlaufend weiterentwickelt. Heute werden Transfusionen routinemäßig in der Intensiv- und Notfallbehandlung eingesetzt.

2.2. Indikationen

Bluttransfusionen sind beim Auftreten einer hochgradigen Anämie indiziert. Dabei werden neben dem Schweregrad der Anämie auch die Verlaufsform, die klinischen Symptome sowie der allgemeine Gesundheitszustand des Patienten betrachtet (Kohn und Weingart 2017). Um die Notwendigkeit einer Transfusion abschätzen zu können, wurden verschiedene Scores entwickelt. Ein Beispiel bietet der „Anemic dog clinical assessment score“ (ADCAS), bei dem Schleimhautfarbe, Puls, Herzfrequenz, Atemfrequenz und Bewusstsein beurteilt werden. Dieser kann in Kombination mit der Betrachtung bestimmter Blutwerte, wie Hämatokrit, Hämoglobin, Laktat und Sauerstoffpartialdruck, zu einer objektiveren Einschätzung der Situation beitragen (Kisielewicz et al. 2014). Daneben findet auch der Score von Hohenhaus häufig Anwendung. Hier werden Hämatokrit, akuter Blutverlust, Anästhesie, Allgemeinzustand, Tachypnoe und Tachykardie berücksichtigt (Kerl und Hohenhaus 1993).

2.2.1. Transfusionsregime

In der Veterinärmedizin wird, wie auch in der Humanmedizin, häufig ein restriktives Transfusionsregime bevorzugt (Kerl und Hohenhaus 1993, Hébert et al. 1999, Holst et al. 2015, Goodnough und Panigrahi 2017, Cable et al. 2019). Bei einem Vergleich verschiedener Transfusionsregime in der Humanmedizin konnte eine niedrigere Mortalitätsrate von 18,7% bei der restriktiven Anwendung von Transfusionen ab einer Hämoglobinkonzentration von <7 g/dl im Vergleich zu einem liberalen Transfusionsregime, bei welchem schon ab einer Hämoglobinkonzentration von <10 g/dl eine Transfusion angeraten ist, mit einer Mortalitätsrate von 23,3%, festgestellt werden. Zudem konnte bei restriktiven Transfusionsregimen eine signifikant niedrigere Rate an kardialen Komplikationen und Organversagen ausgemacht werden (Hébert et al. 1999). Insbesondere bei Patienten mit Sepsis oder gastrointestinalen Blutungen, aber auch bei Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen, neoplastischen

hämatologischen Erkrankungen, akuten neurologischen Traumata oder Verbrennungen wird ein restriktives Transfusionsregime ab einer Hämoglobinkonzentration von <7–8 g/dl empfohlen. Massive Transfusionen sind hauptsächlich beim Auftreten eines hämorrhagischen Schocks indiziert (Cable et al. 2019). In der Veterinärmedizin sind Transfusionen bei schweren bis moderaten Anämien mit einem Hämatokrit von <10%-18% oder bei einem akutem Blutverlust von 20-50% angeraten (Lanevski und Wardrop 2001, Davidow 2013, Kumar 2017).

2.2.2. Verschiedene Ursachen einer Anämie

Ursachen einer Anämie werden in Blutungen, Hämolyse und ineffektive Erythropoese unterteilt (Kohn und Weingart 2017). Die häufigste Indikation für eine Transfusion waren in verschiedenen Studien eine Blutungsanämie, gefolgt von einer hämolytischen Anämie und einer ineffektiven Erythropoese (Kerl und Hohenhaus 1993, Callan et al. 1996, Reitemeyer 2000, Hann et al. 2014). Die Verteilung der Transfusionsindikationen sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Tabelle 1: Indikationen für eine Transfusion

Studie	Blutungsanämie	Hämolyse	Ineffektive Erythropoese
Kerl und Hohenhaus 1993	70%	22%	8%
Callan et al. 1996	72%	14%	14%
Reitemeyer 2000	63,2%	21,4%	13,6%
Hann et al. 2014	68%	16%	16%

Eine häufige Indikation für Erythrozytenprodukte in der Veterinärmedizin sind akute Blutungen durch Traumata. In einer Studie, welche die medizinische Versorgung von Hunden nach Traumata untersuchte, erhielten 36% der Patienten Erythrozytenprodukte (Lynch et al. 2015b). Im Vordergrund stehen hier die kardiovaskuläre Stabilisation vor Operationen sowie eine Behandlung von Schockzuständen aufgrund schwerer Anämien. Bei verschiedenen operativen Eingriffen werden aufgrund des Blutverlustes ebenfalls häufig Erythrozytenprodukte transfundiert. Die Inzidenz für Transfusionen bei Splenektomien liegt zwischen 41,5% und 44%, bei Lobektomien zwischen 17% und 40% (Haley et al. 2015, Lynch et al. 2015a, Hanson et al. 2017). Häufig sind Transfusionen auch bei der Diagnose eines Hämoperitoneums indiziert. Dieses ist im Großteil der Fälle durch eine Neoplasie (87%), wie beispielsweise durch Hämangiosarkome, bedingt, kann aber auch durch Traumata (7%) entstehen (Lux et al. 2013). Daneben spielen spontane Blutungen durch Koagulopathien eine

bedeutende Rolle. Diese stellen nach einer Studie 33% der Transfusionsindikationen dar (Godinho-Cunha et al. 2011). Gefolgt davon sind Blutverluste aufgrund von Traumata.

Chronische Blutungen haben ihren Ursprung häufig im Magen-Darm-Trakt. In einer Studie wurden 12% der Erythrozytenkonzentrat-Transfusionen bei Hunden aufgrund von gastrointestinalen Blutungen verabreicht (Waldrop et al. 2003). Ursachen sind häufig intestinale Neoplasien, Gastroenteritiden, Parasiteninfektionen, Hepatopathien, Nephropathien oder Medikamente, wie beispielsweise NSAIDs, oder die Aufnahme von Fremdkörpern. Jedoch sind gastrointestinale Blutungen nicht immer Folge einer intestinalen Pathologie, sondern sind in knapp einem Drittel der Fälle durch eine primäre Koagulopathie bedingt (Waldrop et al. 2003). Bei Bestehen chronischer Blutungen kann sich zudem ein Eisenmangel entwickeln, welcher sich schließlich in einer mikrozytären hypochromen Anämie äußert (Naigamwalla et al. 2012).

Eine hämolytische Anämie ist bei Hunden meist autoimmunbedingt und mit einer hohen Morbidität und Mortalität verbunden (Hann et al. 2014). Die immunhämolytische Anämie [IMHA] wird durch pathogene Autoantikörper ausgelöst. Als mögliche Triggerfaktoren gelten beispielsweise Infektionen, wie Anaplasrose und Babesiose, Tumore, welche über ein paraneoplastisches Syndrom eine immunhämolytische Anämie verursachen können, generalisierte Entzündungsprozesse und bestimmte Medikamente (Garden et al. 2019, Yuki und Naitoh 2019). Häufig sind in diesen Fällen Erythrozytentransfusionen indiziert (Piek et al. 2008, Goggs 2020). In einer Studie waren bei 98 von 149 (66%) Hunden, welche mit IMHA vorstellig wurden, Transfusionen indiziert (Piek et al. 2008). Bei 20 Hunden war sogar die mehrfache Gabe von Transfusionen notwendig. Neben der immunhämolytischen Anämie werden bei einigen Rassen angeborene Mängel an Phosphofruktokinase (Hillström et al. 2011) und auch Zinkintoxikationen (Weingart und Kohn 2009, Clancey und Murphy 2012) mit hämolytischen Krisen in Verbindung gebracht.

Eine ineffektive Erythropoese kann ihren Ursprung unter anderem in einer primären Knochenmarkserkrankung, welche entweder lediglich die erythroide oder alle Zellreihen betreffen kann, haben. In einer Studie, in welcher verschiedene Ursachen für eine Panzytopenie bei Hunden evaluiert wurden, stellte sich heraus, dass 20% aufgrund von Chemotherapie, 4,5% aufgrund von Parvovirose und ebenfalls 4,5% aufgrund von Maligner Histiozytose entstanden sind. 2,7% der Fälle waren idiopathischer Natur, ebenfalls 2,7% entstanden in Folge einer Sepsis, 2,7% durch ein myelodysplastisches Syndrom und 2,7% waren immunbedingt. 1,8% waren auf eine lymphoblastische Leukämie zurückzuführen, weitere 1,8% sind durch eine Erlichiose ausgelöst worden, 1,8% entstanden aufgrund einer Östrogenintoxikation und 0,9% waren durch ein multiples Myelom bedingt (Weiss et al. 1999).

Oftmals sind in diesen Fällen Transfusionen indiziert. So auch in einem Fallbericht, in welchem ein Hund aufgrund einer Überdosierung mit Cyclophosphamid über drei Wochen eine nicht-regenerative Panzytopenie entwickelte (Finlay et al. 2017). Neben der Behandlung mit Antibiotika, Tranexamsäure und Granulozyten-Kolonie-stimulierendem Faktor wurden zwei Vollbluttransfusionen verabreicht. Neben primären Knochenmarkserkrankungen kann eine ineffektive Erythropoese auch sekundär durch Neoplasien, chronische Entzündungen oder Erythropoetin-Mangel sowie durch primäre Mangelkrankung, wie beispielsweise bei einer Eisenmangelanämie (Naigamwalla et al. 2012), entstehen.

2.3. Transfusionsmanagement

Um Bluttransfusionen möglichst sicher zu gestalten und Transfusionsreaktionen weitestgehend zu vermeiden, wurden mehrere Leitlinien und Testverfahren entwickelt. Beispielsweise sind in den *Leitlinien zur Gewinnung, Lagerung, Transport und Verabreichung von Blut und Blutprodukten im Veterinärbereich des Bundesamtes für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL)* Vorgaben zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen, zur Herstellung, Lagerung und Transport von Blutprodukten sowie zur Anwendung von Blutprodukten zu finden.

Zur Gewährleistung einer möglichst sicheren Transfusionsmedizin zählen bestimmte Voraussetzungen an den Spender, die Auswahl einer kompatiblen Blutkonserve, sowie die sachgerechte Durchführung und Überwachung der Transfusion.

2.3.1. Spenderauswahl

Ein Hund ist nach den Leitlinien des BVL als Blutspender geeignet, sollte er gesund sein und eine lückenlose Krankengeschichte aufweisen. Eine Blutspende ist ab einem Alter von einem Jahr möglich. Die obere Altersgrenze liegt bei zehn Jahren. Der Hund sollte regelmäßig geimpft, entwurmt und prophylaktisch gegen Parasiten geschützt sein. Des Weiteren sollte er nie im südlichen oder südöstlichen Ausland, Asien oder Amerika gewesen sein und noch nie eine Bluttransfusion erhalten haben. Vor jeder Blutspende sind neben der allgemeinen Untersuchung auch eine hämatologische, eine blutchemische und eine Harnuntersuchung durchzuführen, sowie abhängig vom Endemiegebiet eine Untersuchung auf *Anaplasma phagocytophilum*, *Babesia canis* und ggf. weitere Blutparasiten einzuleiten. Es wird angeraten neben einer serologischen Untersuchung immer auch einen PCR-Test durchzuführen (Davidow et al. 2021b).

2.3.2. Testung von Blutparasiten

Die serologische Prävalenz für *Anaplasma phagocytophilum* liegt in Europa zwischen 3% und 56% (Sainz et al. 2015). In Deutschland wurden in verschiedenen Studien 19% bis 50,1% der

Hunde positiv getestet (Schaarschmidt-Kiener und Müller 2007, Jensen et al. 2007, Kohn et al. 2011, Barth et al. 2012, Schäfer et al. 2023). Die Anzahl der Hunde mit einem positiven Antigen-Nachweis hingegen ist deutlich geringer. In einer Gruppe von 62 Hunden ohne klinische Anzeichen einer Anaplasrose wurde lediglich bei einem Hund eine Infektion mit Anaplasmen mittels PCR-Nachweis diagnostiziert (Jensen et al. 2007). In weiteren Studien wurde bei 1,9% - 4,9% der getesteten Hunde ein positiver PCR-Nachweis festgestellt (Kohn et al. 2011, Chirek et al. 2017, Schäfer et al. 2023). Die Prävalenz von *Babesia* spp. bei klinisch gesunden Hunden wurde vorwiegend in südlichen Ländern untersucht und wird hier mit 2,2% bis 6,9% angegeben (Dhliwayo et al. 2016, Checa et al. 2019).

Es gibt eine Vielfalt von Krankheiten, die durch Bluttransfusionen übertragen werden können. Zu einem großen Anteil sind dies über Vektoren übertragene Erkrankungen, wie beispielsweise *Dirofilaria immitis*, *Anaplasma* spp., *Babesia* spp., *Bartonella* spp., *Ehrlichia* spp., Hämoplasmen, *Hepatozoon canis* und *Hepatozoon americanum*, *Leishmania* spp. und *Rickettsia felis*, aber auch *Borrelia burgdorferi*, *Neorickettsia helminthoeca*, *Rickettsia rickettsii* und *West Nile Virus* (Willi et al. 2010, Vascellari et al. 2016, Wardrop et al. 2016). Zu den anderen über das Blut übertragenen Krankheiten gehört zum Beispiel *Brucella canis* (Wardrop et al. 2016) oder auch das Parvovirus, welches in einer italienischen Studie (Marenzoni et al. 2018) bei 3,7% der Spender mittels PCR nachgewiesen werden konnte.

Aus Kosten- und Aufwandsgründen wird empfohlen, lediglich auf Erreger zu testen, welche im entsprechenden Einzugsgebiet vorkommen. Die anderen zuvor aufgezählten Krankheiten können durch eine gründliche Anamnese ausgeschlossen werden (Davidow 2013, Wardrop et al. 2016). Die Blutspende-Kriterien sind essenziell für die Gewährleistung einer möglichst sicheren Transfusion. Wie in einer Studie aus Spanien herausgestellt wurde (Checa et al. 2019), zeigt sich ein deutlicher Unterschied in der Belastung durch vektorübertragene Pathogene zwischen Straßenhunden und potentiellen Blutspendern. Auch in einer Studie aus den UK war nur ein geringer Prozentsatz (1,5%) der potentiellen Blutspender seropositiv für verschiedene Infektionskrankheiten (Crawford et al. 2013). Während einer Untersuchung von Blutspendern auf verschiedene Infektionserreger in einer italienischen Studie wurde jedoch bei 25,7% der Hunde, trotz der vorherberichtet vorhandenen Ektoparasitenprophylaxe, ein seropositives Testergebnis für mindestens einen Erreger festgestellt (Morganti et al. 2022): Die höchste Prävalenz wurde gegen *L. infantum*, gefolgt von *E. canis*, *A. phagocytophilum*, *D. repens*, *D. immitis* und *B. canis* detektiert. Darüber hinaus wurde in einer Studie aus Deutschland herausgestellt, dass bei 2,3% der Hunde, welche die Kriterien für eine Blutspende erfüllten, ein positives PCR-Ergebnis nachgewiesen werden konnte (Chirek et al. 2017). Auf Grundlage dessen ist die Testung auf endemisch vorkommende Ektoparasiten unabhängig vom betriebenen Infektionsschutz essenziell für eine sichere Transfusionstechnik.

2.3.3. Blutgruppen

Blutgruppen wurden erstmals 1900 von Karl Landsteiner beschrieben (Greenwalt 1997). Zwischen 1972 und 1974 wurde das DEA-Blutgruppensystem entwickelt (Vriesendorp et al. 1976). Heute lassen sich serologisch über zwölf verschiedene Blutgruppensysteme unterscheiden (Hale 1995, Kessler et al. 2010, Yagi und Holowaychuk 2016, Novais und Magron 2018). Neben den DEA-Typen wurden 2008 das Dal- und 2017 Kai1- und Kai2-Antigen entdeckt und man geht davon aus, dass noch weitere, bisher noch nicht bekannte Blutgruppen existieren (Blais et al. 2007, Wardrop 2007, Euler et al. 2016, Lee et al. 2017, Zaremba et al. 2019). Die Verteilung der Blutgruppen ist stark von der Rasse und auch von der geographischen Lage abhängig. Die Prävalenzen für die verschiedenen Blutgruppen wurden in vielen Studien untersucht und reichen für DEA 1 von 33% bis 91,3%, für DEA 3 von 5% bis 24%, für DEA 4 von 98% bis 100%, für DEA 5 von 8% bis 55% und für DEA 7 von 4,7% bis 71,7% (Ergul Ekiz et al. 2011, Esteves et al. 2011, Ferreira et al. 2011, Riond et al. 2011, Mesa-Sanchez et al. 2014, Spada et al. 2015, Dhliwayo et al. 2016, Spada et al. 2016c, Carli et al. 2017, Spada et al. 2017, Ebelt et al. 2020, Bank et al. 2023).

Ursprünglich wurde die Blutgruppe DEA 1 in die Subtypen DEA 1.1., DEA 1.2. und DEA 1.3. unterteilt. Aktuelle Studien gehen davon aus, dass die Blutgruppe DEA 1 mit monoklonalen Antikörpern detektiert werden kann und von negativ über schwach, moderat bis stark positiv (Grad 1+ bis 4+) ausgeprägt sein kann (Acierno et al. 2014, Polak et al. 2015). DEA 1.1., DEA 1.2. und DEA 1.3. werden aus diesem Grund nicht mehr als eigene Blutgruppen sondern als unterschiedliche Ausprägungen der Blutgruppe DEA 1 angesehen (Novais und Magron 2018). In denen im Folgenden beschriebenen Studien wurde häufig noch eine Differenzierung in die verschiedenen Subtypen angenommen.

In einer Reihe von Studien konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen Rassen und Blutgruppen festgestellt werden. Besonders häufig wurde hier die Blutgruppe DEA 1.1. betrachtet: Während Rassen, wie der Deutsche Schäferhund (81,1% - 100%), Boxer (82% - 100%), Dobermann (94% - 100%) sowie Flat coated Retriever und Border Collies (bis zu 100%) signifikant seltener Antigene der Blutgruppe DEA 1.1 aufweisen, wurden bei Rassen, wie beim Rottweiler (88,2% - 100%), Berner Sennenhund (94% - 100%) und Golden Retriever (75,2% - 88,9%) signifikant häufiger Antigene der Blutgruppe DEA 1.1 nachgewiesen (Ferreira et al. 2011, Riond et al. 2011, Carli et al. 2017, Medina Valentin et al. 2017, Ebelt et al. 2020, Bank et al. 2023). Aber auch bei anderen Blutgruppen konnte eine unterschiedliche Prävalenz zwischen verschiedenen Rassen festgestellt werden: So konnten in einer Studie aus Brasilien, in der Deutsche Schäferhunde, Rottweiler, Deutsche Doggen, Golden Retriever und Argentinische Doggen untersucht wurden, signifikante Unterschiede ausgemacht werden (Esteves et al. 2011): Antigene der Blutgruppe DEA 1.2. konnten hier lediglich bei Deutschen

Schäferhunden und Argentinischen Doggen festgestellt werden. Die Prävalenz lag hier bei 50% bzw. bei 60%. Zudem wiesen keine der Rottweiler und Argentinischen Doggen Antigene der Blutgruppen DEA 3 und DEA 5 auf, während die Prävalenz bei den anderen Rassen zwischen 10% und 25% lag. Auch Antigene der Blutgruppe DEA 7 konnten bei Argentinischen Doggen nicht detektiert werden. In einer ähnlichen Studie aus Italien wurden Antigene gegen die Blutgruppe DEA 1 besonders häufig beim Rottweiler (89,5%), beim Golden Retriever (75,2%) und beim Dackel (74,2%) nachgewiesen, während folgende Rassen häufig als DEA 1 negativ typisiert wurden: Boxer (83%), Deutscher Schäferhund (81,1%), Französische Bulldogge (77,9%) und West Highland White Terrier (63%) (Medina Valentin et al. 2017). Beim italienischen Cane Corso lag die Prävalenz für DEA 1 bei 19%, für DEA 4 bei 100% und bei DEA 7 bei lediglich 5% (Spada et al. 2017). Daneben werden häufig Windhunde als Blutspender präferiert. Diese zeichnen sich durch einen hohen Hämatokrit, hohe Hämoglobinkonzentration und eine hohe Erythrozyten-Zahl aus und können häufig als Universalspender eingesetzt werden (Iazbik et al. 2010, Spada et al. 2015).

Die Blutgruppe Dal wird durch ein Antigen charakterisiert, welches durch Alloimmunisierung bei zuvor sensibilisierten Dal-negativen Hunden zu Transfusionsreaktionen führen kann (Blais et al. 2007, Conti-Patara et al. 2021). Eine Alloimmunisierung konnte in einer Studie an Beaglen ab dem vierten Tag nach der Transfusion beobachtet werden (Goulet und Blais 2018). Das Dal-Antigen ist weit verbreitet. Das Fehlen dieses Antigens wurde vor allem bei Dalmatinern (11,7%), Dobermann Pinschern (42,4%) und Shih Tzus (57,1%) beobachtet (Goulet et al. 2017). In einer aktuellen Studie aus Deutschland wurden 89,3% der Hunde positiv auf dieses Antigen getestet (Ebelt et al. 2020). Aus diesem Grund ist die Suche nach einem passenden Spender bei wiederholter Indikation einer Bluttransfusion bei Dal-negativen Hunden besonders erschwert (Conti-Patara et al. 2021).

Die Blutgruppen Kai 1 und Kai 2 wurden 2017 in Korea entdeckt. Auch hier wurden keine natürlichen Alloantikörper detektiert (Euler et al. 2016, Lee et al. 2017). Jedoch ist eine Sensibilisierung innerhalb von 21 Tagen nach der Transfusion zu erwarten (Lee et al. 2017). In einer amerikanischen Studie konnte eine Verteilung der beiden Blutgruppen ermittelt werden. Hier waren 94% Kai 1 positiv und Kai 2 negativ, 5% Kai 1 und Kai 2 negativ und 1% Kai 1 negativ und Kai 2 positiv. Ein Zusammenhang mit dem DEA Blutgruppensystem konnte nicht gefunden werden (Euler et al. 2016).

Die verschiedenen Blutgruppen sind von unterschiedlicher Relevanz (Young et al. 1952). DEA 1 hat eine hohe Antigenität und kann bei sensibilisierten Hunden zu einer akuten hämolytischen Transfusionsreaktion führen (Giger et al. 1995). Bereits die Transfusion des Blutes eines DEA 1 schwach positiven Spenders kann bei DEA 1 negativen Hunden zu einer

Alloimmunisierung führen (Guidetti et al. 2019). DEA 4 hingegen wird aufgrund der hohen Prävalenz nicht mit Transfusionsreaktionen in Zusammenhang gebracht (Hale 1995). Jedoch wurde in einer Studie aus Washington ein Fall beschrieben, bei dem es nach Alloimmunisierung von Anti-DEA-4-Antigenen zu einer akuten hämolytischen Transfusionsreaktion kam (Melzer et al. 2003). Dessen ungeachtet wird ein Hund, welcher DEA 1, 3, 5 und 7 negativ und DEA 4 positiv ist, als Universalspender angesehen (Hale 1995, Davidow 2013). Diese Blutgruppenkombination konnte in einer Studie bei 37,5% aller Hunde und sogar bei bis zu 52,2% bei alleiniger Betrachtung von Windhunden nachgewiesen werden (Iazbik et al. 2010). Von besonderer klinischer Bedeutung sind dabei die Blutgruppen DEA 1, 4 und 7 (Spada et al. 2015, Spada et al. 2016c). DEA 6 und DEA 8 wurden zwar in das Blutgruppensystem aufgenommen (Vriesendorp et al. 1976), jedoch wurden diese aufgrund des Fehlens entsprechender Antiseren kaum erforscht.

Natürliche Alloantikörper kommen bei ca. 15% der Hunde vor und wurden bisher lediglich für DEA 3, 5 und 7 detektiert (Hale 1995, Hale und Werfelmann 2006, Young et al. 1952). Dabei ist vor allem die Blutgruppe DEA 7 von Bedeutung. Die Prävalenz für natürliche Antikörper gegen DEA 7 liegt insgesamt bei 9,8% (Hale und Werfelmann 2006) und bei DEA 7 negativen Hunden sogar bei bis zu 50% (Spada et al. 2017, Spada et al. 2018). Für DEA 3 konnten natürliche Alloantikörper bei bis zu 20% und für DEA 5 bei bis zu 10% der Hunde entdeckt werden (Novais und Magron 2018). Darüber hinaus konnte in einer Studie in 2% der Population unspezifische Antikörper nachgewiesen werden (Hale und Werfelmann 2006). Durch Transfusionen könnte es daher auch zur Bildung diverser weiterer Alloantikörper kommen. Eine auf diese Weise forcierte Antigen-Antikörper-Interaktion kann folgernd in einer verzögerten Transfusionsreaktion und einem vorzeitigen Untergang der Erythrozyten resultieren.

Bisher wird in der Routinediagnostik meist lediglich die Blutgruppe DEA 1 getestet (Jagodich und Holowaychuk 2016). Hier stehen mehrere Typisierungsmethoden und Schnelltestverfahren zur Auswahl. Die Bestimmung weiterer Blutgruppen ist zwar möglich, doch muss das Blut hierfür meist in einem externen Labor typisiert werden, welches einen zu großen zeitlichen Aufwand erfordern würde (Kessler et al. 2010). Da durch allogenetische Bluttransfusionen die Bildung von Antikörpern gegen die fremden Antigene provoziert werden und dadurch das Risiko einer Transfusionsreaktion bei einer weiteren Transfusion steigt, wird in diesem Fall die Durchführung einer Kreuzprobe angeraten (Tocci und Ewing 2009).

Der Goldstandard für die Blutgruppentypisierung ist das Röhrchen-Agglutinationsverfahren. Diese wird vor allem in externen Laboren angewandt. Dabei werden die Erythrozyten mit einem Antikörper gegen eine spezifische Blutgruppe in einem Röhrchen inkubiert, zentrifugiert

und anschließend auf Hämolyse oder Agglutination hin untersucht. Antiseren werden aus Blut von Hunden gewonnen, welche zuvor gegen die entsprechende Blutgruppe sensibilisiert wurden. Aufgrund der fehlenden Verfügbarkeit verschiedener Antiseren ist die Blutgruppenbestimmung momentan lediglich für die Blutgruppen DEA 1, 3, 5 und 7 sowie Dal, Kai 1 und Kai 2 möglich (Sirois 2013, Zaremba et al. 2019).

Das Gel-Röhrchen Verfahren, welches ebenfalls häufig Anwendung findet, folgt einem ähnlichen Prinzip wie das Röhrchen-Agglutinationsverfahren. Durch Antigen-Antikörper-Reaktion entstandene Agglutinate werden im Gel zurückgehalten, während ungebundene Erythrozyten während der Zentrifugation durch das Gel absinken. Beim immunchromatographischen Verfahren hingegen binden die Erythrozyten bei Ausprägung des entsprechenden Antigens an einer Linie, welche mit monoklonalen Antikörpern besetzt ist. Dies wird durch die Rotfärbung dieser Linie erkennbar (Sirois 2013, Zaremba et al. 2019).

In klinikinternen Laboren werden häufig Blutgruppentypisierungskits angewandt. Die meisten Testkits stehen lediglich für die Blutgruppe DEA 1 zur Verfügung. Häufig findet hier die Testkarte von Rapid-Vet.-H (DMS Laboratories Inc., New Jersey) Anwendung. Die Karte ist mit monoklonalen Antikörpern benetzt, welche bei Kontakt mit dem entsprechenden Antigen eine sichtbare Agglutination auslösen. Alternativ steht ein immunchromatographisches Verfahren von Alvedia (Alvedia, Limonest) zur Verfügung.

In verschiedenen Studien (Giger et al. 2005, Kohn et al. 2012, Seth et al. 2012, Blois et al. 2013, Proverbio et al. 2019) wurden die verschiedenen Methoden vergleichend getestet. Sowohl das Röhrchen-Agglutinations- als auch das Gel-Röhrchen Verfahren bieten sichere Ergebnisse. Jedoch sollten diese Testverfahren lediglich durch geschultes Laborpersonal durchgeführt werden. Kommerzielle Test-Kits bieten den Vorteil der schnellen und einfachen Durchführung sowie Auswertung und die Ergebnisse stimmen weitgehend mit denen der Referenzmethode überein (Kohn et al. 2012, Seth et al. 2012, Blois et al. 2013). Im Vergleich zur Testkarte scheint das immunchromatographische Verfahren sicherere Ergebnisse zu erzielen: In einer vergleichenden Studie stimmten die Ergebnisse bei beiden kommerziellen Testkits bei 86% der Proben überein. Bei 9 Proben, welche die Testkarte als DEA 1 negativ typisierte, konnten mit dem immunchromatographischen Verfahren Antigene nachgewiesen werden. Andersherum wurden bei 5 Proben mit der Testkarte Antigene detektiert, während diese Proben mit dem immunchromatographischen Verfahren als DEA 1 negativ typisiert wurden (Proverbio et al. 2019). Während der Gel Test in einer weiteren vergleichenden Studie in allen Fällen akkurat war, erreichte die immunchromatographische Methode eine Sensitivität von 88% und eine Spezifität von 100% und die Testkarte eine Sensitivität von 100% und eine Spezifität von 75% (Seth et al. 2012). In einer weiteren Studie wurde eine Sensitivität von

100% und eine Spezifität von 91,9% des immunchromatographischen Verfahrens im Vergleich zur Gel-Röhrchen Methode festgestellt (Kohn et al. 2012). In der Praxis wird die Blutgruppenbestimmung durch teilweise hochgradige Agglutination der Erythrozyten oder sehr niedrige Hämatokrit-Werte erschwert (Blois et al. 2013). Im Falle einer persistierenden Autoagglutination kommt es bei der Testkarte zu einer Herabsetzung der Spezifität, das immunchromatographische Verfahren scheint in diesen Fällen besser geeignet zu sein, hingegen ist die Sensitivität beim immunchromatographischen Verfahren beim Vorhandensein einer hochgradigen Anämie reduziert, während die Testkarte in diesen Fällen zuverlässigere Ergebnisse anzeigt (Seth et al. 2012).

2.3.4. Kreuzproben

Die Kreuzprobe dient der Bestimmung der serologischen Kompatibilität von Spender- und Empfängerblut. Das Vorkommen natürlicher Alloantikörper beim Hund ist umstritten. Nach aktuellem Kenntnisstand wird angenommen, dass bei Hunden keine oder nur wenige natürliche Alloantikörper existieren und diese bei einer Ersttransfusion keine klinische Relevanz haben (Goy-Thollot et al. 2017). Daher werden Kreuzproben beim Hund lediglich routinemäßig durchgeführt, wenn eine initiale Transfusion länger als 4 Tage zurück liegt oder die Transfusionsgeschichte unbekannt ist (Davidow et al. 2021b).

Bisher wurden natürliche Alloantikörper gegen DEA 3, DEA 5 und DEA 7 detektiert. Die klinische Relevanz bleibt jedoch fraglich, da diese Alloantikörper einen geringen Titer aufweisen und nicht zu akuten Transfusionsreaktionen führen (Spada et al. 2016a). Dennoch wurden in mehreren Studien bereits Alloantikörper bei Hunden ohne Transfusionsvorgeschichte mittels der Durchführung von Kreuzproben nachgewiesen: In zwei Studien, in denen das Vorhandensein natürlicher Antikörper gegen DEA 7 untersucht wurde, konnte bei 23% bzw. 38,1% schon vor der Transfusion Antikörper gegen DEA 7 mittels Kreuzproben detektiert werden (Spada et al. 2016a, Spada et al. 2016b). Des Weiteren wurden in einer Studie bei 17% der Hunde bereits vor der initialen Transfusion eine positive Kreuzprobe beschrieben (Odunayo et al. 2017).

Obgleich laut einer amerikanischen Studie dieses Testverfahren nur in 15% der Kliniken routinemäßig vor jeder Transfusion angewandt wird (Jagodich und Holowaychuk 2016), wird dies von mehreren AutorInnen empfohlen (Spada et al. 2016b, Odunayo et al. 2017, Zaremba et al. 2019). Zwar wurde in einer Studie deutlich, dass die Durchführung von Kreuzproben vor einer Transfusion keinen Einfluss auf das Auftreten von Transfusionsreaktionen hat (Maglaras et al. 2017), doch wird davon ausgegangen, dass die Transfusion einer kreuzprobeninkompatiblen Blutkonserve eine verzögerte Transfusionsreaktion und somit eine verringerte Lebensdauer der Erythrozyten mit sich bringen kann (Odunayo et al. 2017). Allerdings können

auch Antikörper mit einem sehr niedrigen Titer, die lediglich die Sensibilisierung fördern, zum Teil nicht entdeckt werden. Auch garantiert eine kompatible Kreuzprobe nicht, dass Spender und Empfänger die gleiche Blutgruppe haben oder Proteine, Leukozyten und Thrombozyten nicht zu Transfusionsreaktionen führen (Lanevski und Wardrop 2001).

In einigen Studien wurde untersucht, ob das Durchführen einer Kreuzprobe bei Katzen vor der ersten Transfusion indiziert ist (Weltman et al. 2014, Sylvane et al. 2018). Um die klinische Relevanz zu beurteilen, wurde der Hämatokritanstieg durch die Transfusion von durch Kreuzproben getesteten kompatiblen Blutkonserven mit dem durch Transfusionen, bei denen die Durchführung einer Kreuzprobe unterlassen wurde, verglichen. Die ursprüngliche Annahme, dass der Hämatokritanstieg durch die Verabreichung von zuvor gekreuzten Proben verbessert werden könnte (Weltman et al. 2014), konnte durch eine spätere Studie nicht bewiesen werden (Sylvane et al. 2018). Es wurde angenommen, dass der signifikant höhere Hämatokritanstieg nicht mit der Gabe ausschließlich kreuzproben-kompatibler Bluttransfusionen, sondern mit einem niedrigeren initialen Hämatokrit korrelierte. Eine ähnliche Studie wurde auch beim Hund durchgeführt (Odunayo et al. 2017). In dieser Studie war der Hämatokritanstieg nach Transfusionen, vor denen Spender und Empfänger durch Kreuzproben auf Kompatibilität getestet wurden, deutlich höher. Weiterhin vermuten die AutorInnen einer Studie, in welcher eine relativ niedrige Rate an Transfusionsreaktionen beobachtet wurden, dass diese durch die vorherige Durchführung von Kreuzproben erzielt werden konnte (Haines et al. 2022). Eine Korrelation zwischen Kreuzproben-Tests vor der Transfusion und dem Auftreten von Transfusionsreaktionen konnte bisher jedoch nicht bewiesen werden (Maglaras et al. 2017, Sylvane et al. 2018).

Das Ergebnis von Kreuzproben kann durch verschiedene Parameter beeinflusst werden. Ausgehend von einer Studie an Pferden aus dem Jahre 2012 wird ein Einfluss der Lagerung von Blutproben auf das Kreuzprobenergebnis angenommen (Harris et al. 2012). In einer aktuelleren Studie, welche canine Kreuzproben mit der Gel-Röhrchen Methode untersuchte, konnte diese Annahme nicht bestätigt werden (Thomas-Hollands et al. 2023). Des Weiteren kann die Temperatur eine Auswirkung auf das Kreuzprobenergebnis haben. Bei Patienten mit Kälte-Agglutinin-Aktivität kann es beispielsweise je nach Inkubationstemperatur zu einem falsch positiven Kreuzproben-Ergebnis kommen (Rojas-Temahuay et al. 2014).

Für die Durchführung von Kreuzproben stehen verschiedene Verfahren zur Verfügung, welche bereits in mehreren Studien vergleichend untersucht wurden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

Wie bei der Typisierung der Blutgruppen gilt auch bei der Durchführung von Kreuzproben das Röhrchen-Agglutinationsverfahren als Goldstandard. In der Literatur sind verschiedene

Protokolle beschrieben (Blais et al. 2007, Guzman et al. 2016, Villarnovo et al. 2016, McClosky et al. 2018, Spada et al. 2018, Marshall et al. 2021). Einen Standard für die Durchführung ist bisher nicht festgelegt, jedoch folgen alle Protokolle folgendem Prinzip: Das Vollblut von Spender und Empfänger wird jeweils durch Zentrifugation in Erythrozytenkonzentrat und Plasma aufgetrennt. Das Erythrozytenkonzentrat wird in einem dreimaligen Waschvorgang mit PBS gewaschen, um möglicherweise vorhandene Antikörper von den Erythrozyten zu entfernen. Nachfolgend wird das Erythrozytenkonzentrat auf eine 3-5%ige Lösung verdünnt. Anschließend werden für die Major-Probe Spender-Erythrozytenkonzentrat und Empfänger-Plasma und für die Minor-Probe Empfänger-Erythrozytenkonzentrat und Spender-Plasma vermischt, inkubiert und anschließend sowohl makroskopisch als auch mikroskopisch auf Agglutination und Hämolyse kontrolliert. Zusätzlich wird eine Empfängerkontrolle durchgeführt, um eventuelle Alloantikörper gegen körpereigene Erythrozyten ausschließen zu können. Die Sensitivität dieses Verfahrens variiert je nach angewandtem Protokoll (Caudill et al. 2021). Jedoch wurden in einer Studie auch bei vergleichbarem Versuchsprotokoll abweichende Ergebnisse bei Durchführung durch zwei unterschiedliche Laboratorien festgestellt (Zaremba et al. 2022).

Alternativ steht das Gel-Röhrchen Verfahren zur Verfügung, bei dem Erythrozyten-Konzentrat und Plasma nach Inkubation auf ein Dextran-Acrylamide-Gel gegeben werden. Durch Zentrifugation sinken ungebundene Erythrozyten durch das Gel auf den Boden des Röhrchens, während agglutinierte Erythrozyten im Gel sichtbar sind. Dieses Verfahren steht auch als kommerzielles Test-Kit zur Verfügung. Vorteile sind die objektivere Auswertung und die Beständigkeit des Ergebnisses. In bisherigen Studien konnte eine weitgehende Übereinstimmung der Ergebnisse mit denen des Röhrchen-Agglutinations-Tests bestätigt werden (Blais et al. 2007, Villarnovo et al. 2016, Spada et al. 2018). Dennoch konnte in mehreren Studien gezeigt werden, dass die Sensitivität bei geringgradiger Ausprägung der Agglutination deutlich herabgesetzt ist. So stimmten in einer Studie, in welcher 80 Kreuzproben vergleichend durchgeführt wurden, zwar alle Ergebnisse der Major-Kreuzproben (Agglutinationsgrad 3+ - 4+) überein, jedoch wurde mit dem Röhrchen-Agglutinationsverfahren bei 8 Minor-Proben eine Inkompatibilität detektiert (Agglutinationsgrad 1+), während diese Proben mit dem Gel Verfahren kompatibel waren (Blais et al. 2007). Ähnliche Ergebnisse wurden auch in einer Studie, in welcher ein Vergleich verschiedener Kreuzproben mit Seren, die Antikörper in verschiedenen Verdünnungsstufen enthielten, durchgeführt wurden, deutlich. Dabei konnte eine Übereinstimmung des Gel-Röhrchen Verfahrens mit dem Röhrchen-Agglutinationsverfahren bei einer Verdünnung von 1:10 und 1:400, jedoch eine sinkende Sensitivität der Gel Methode bei niedrigerer Antikörperkonzentration ab einer Verdünnung von 1:1600 festgestellt werden (Villarnovo et al. 2016). Während eines weiteren Vergleichs dieser

beiden Testverfahren konnten 35% der Kreuzproben mit dem Röhren-Agglutinationsverfahren als positiv ausgewertet werden, während mit dem Gel Verfahren alle Kreuzproben kompatibel waren (Guzman et al. 2016). Eine höhere Sensitivität des Röhren-Agglutinationsverfahren im Vergleich zur Gel Methode wurde auch in einer weiteren Studie nachgewiesen (Marshall et al. 2021). Des Weiteren konnte teilweise eine geringere Spezifität der Gel Methode im Vergleich zum Röhren-Agglutinationsverfahren nachgewiesen werden: In einer Studie, bei der Major- und Minor-Kreuzproben bei Katzen untersucht wurden, wurden bei 5 Kreuzproben mit der Gel Methode eine Inkompatibilität festgestellt, während mit dem Röhren-Agglutinationsverfahren bei diesen Proben eine Rouleauxbildung sichtbar war (McClosky et al. 2018). Des Weiteren wurden in zwei Studien teilweise (bei 1,42% bzw. bei 3,73% der durchgeführten Kreuzproben) falsch-positive Ergebnisse im Vergleich zum Röhren-Agglutinationsverfahren beschrieben (Villarnovo et al. 2016, Marshall et al. 2021).

In den letzten Jahren wurden mehrere Methoden entwickelt, um Kreuzproben zu verstärken. So erleichtert der Zusatz von Enhancern, wie das LISS-Reagenz, durch Quellung der Erythrozyten die Andockung von Antikörpern und dadurch die Agglutination. Auf diese Weise kann die Inkubationszeit deutlich reduziert werden. Zusätzlich lässt sich durch den Zusatz von Antiglobulinen die Sensitivität verstärken. Beide Methoden kommen in der Humanmedizin kombiniert als Tube-LISS-Indirekter-Antiglobulin-Test (tube LISS IAT) zum Einsatz. Dieser benötigt durch den Zusatz von LISS-Reagenz und Antiglobulinen eine deutlich kürzere Inkubationszeit und bietet ein ebenso hohes oder sogar höheres Maß an Spezifität und Sensitivität (Dinardo et al. 2014, Garg et al. 2017). Vergleichbare Methoden wurden bereits in mehreren veterinärmedizinischen Studien getestet (Goy-Thollot et al. 2017, Goy-Thollot et al. 2018, Guidetti et al. 2019, Marshall et al. 2021). Im Vergleich zum konventionellem Röhren-Agglutinationsverfahren und auch im Vergleich zur Gel Methode konnte durch den Zusatz von Antiglobulinen eine Steigerung der Sensitivität erreicht werden (Goy-Thollot et al. 2018, Marshall et al. 2021).

Daneben ist die Kompatibilitätstestung mittels eines immunchromatographischen Verfahrens [ICS] möglich. Das ICS-Assay besteht aus einem Teststreifen, welcher mit anticaninen Antiglobulinen benetzt ist und sowohl IgG, IgM und das Komplement C3 detektiert. Die Bindung wird durch einen roten Farbstreifen sichtbar und zeigt die Inkompatibilität der Proben an. Auch dieses Verfahren wurde bereits in mehreren Studien evaluiert: Während bei einer Studie aus dem Jahre 2017 mit bis zu 3 Proben bei 26 Hunden sowie bei einer weiteren Studie aus dem Jahre 2019, in welcher ein DEA 1 negativer Hund auf die Bildung von Alloantikörpern nach einer DEA 1 inkompatiblen Transfusion eine gute Übereinstimmung der Ergebnisse mit denen eines durch Antiglobuline verstärkten Gel-Testverfahrens zu verzeichnen war (Goy-Thollot et al. 2017, Guidetti et al. 2019), wurde in einer weiteren Studie im Jahre 2018, bei der

drei verschiedene Kreuzprobenverfahren auf die Erfassung von DEA 7-Antikörpern bei 40 DEA 7 negativen Hunden getestet wurden, eine deutliche Abweichung der Ergebnisse festgestellt (Spada et al. 2018). Während sowohl mit dem Gel- als auch mit dem Röhrchen-Agglutinationsverfahrens 21 Kreuzproben positiv ausfielen, wurde mit dem immunchromatographischen Verfahren lediglich ein inkompatibles Kreuzprobenpaar detektiert. Auch in einer weiteren vergleichenden Studie wurden lediglich 2,1% der Kreuzproben mit dem immunchromatographischen Verfahren als inkompatibel ausgewertet, während mit dem Röhrchen-Agglutinationsverfahren 18,3% der Kreuzproben positiv ausfielen (Marshall et al. 2021). Auch in einer weiteren Studie war die Übereinstimmung der Ergebnisse des immunchromatographischen Verfahrens mit dem Röhrchen-Agglutinationsverfahren lediglich gering (Zaremba et al. 2022).

Tabelle 2: Literaturübersicht: Vergleich verschiedener Verfahren zur Durchführung von Kreuzproben

Studie	Methoden	Proben	Ergebnisse
Zaremba et al. 2022	2 RA und ICS	Hund; 40 KP	Schwache Übereinstimmung aller Testverfahren
Marshall et al. 2021	RA, GR (RapidVet®) und ICS	Hund; 162 Empfänger-Spender-Paare	RA 18,3% inkompatibel, GR 0,7% inkompatibel, ICS 2,1% inkompatibel
Guidetti et al. 2019	AGR (Alvedia®) und ICS (Alvedia®)	Hund; serielle Durchführung von KP bei einem Empfänger	Übereinstimmende Ergebnisse
Goy-Thollot et al. 2018	GR und AGR	Katze; 446 KP	Mit beiden Tests 74% kompatibel und 23% inkompatibel, 3% nur mit AGR inkompatibel; 73% gleiche Stärke der Agglutination, 27% stärkere Agglutination bei AGR
McClosky et al. 2018	RA und GR	Katze; 31 Major- und 21 Minorproben	Gute Übereinstimmung: Bei 2 Proben GR stärker inkompatibel; bei 1 Katze 5 KP mit GR positiv, bei RA Rouleauxbildung; in allen anderen Fällen übereinstimmende Ergebnisse
Spada et al. 2018	RA, GR und ICS	Hund; 40 KP	RA und GR identische Ergebnisse bei allen 21/40 positiven KP, bei ICS nur 1/40 positiv
Goy-Thollot et al. 2017	GR und ICS (Alvedia®)	Hund; 62 KP	Die Ergebnisse beider Verfahren stimmten miteinander überein
Guzman et al. 2016	RA und GR (RapidVet®)	Hund;	GR 100% kompatibel, RA 35% inkompatibel
Villarnovo et al. 2016	RA und GR (RapidVet®)	Hund; 107 KP + 120 KP mit Verwendung anticaniner Seren unterschiedlicher Verdünnungsstufen	95% Übereinstimmung bei 107 Kreuzproben; 100% Übereinstimmung bei einer Verdünnung von 1:10 und 1:400, bei höheren Verdünnungsstufen (1:1600 und 1:6400) Abnahme der Sensitivität beim GR Verfahren
Blais et al. 2007	RA und GR	Hund; 80 KP	Übereinstimmende Ergebnisse der Major-Proben (4 x kompatibel); bei Minor-Proben 9/80 RA schwach positiv und GR negativ

RA: Rörchen-Agglutinationsverfahren

GR: Gel-Rörchen Verfahren

AGR: Durch Antiglobuline verstärktes Gel-Rörchen Verfahren

ICS: Immunchromatographisches Verfahren

KP: Kreuzproben

2.3.5. Blutspende

Die Blutspende erfolgt in Seitenlage oder Brustbauchlage aus der *Vena jugularis*. Bei der Entnahme kann je nach Verwendung ein Einfach- oder Mehrfachbeutelssystem eingesetzt werden. Diese sind meist für die Entnahme von 500ml vorgesehen. Da bei einer Blutspende bei Hunden lediglich bis zu 10 – 15 ml/kg Blut abgenommen werden sollten, kann die entsprechende Menge des Antikoagulanz angepasst werden (BVL 2011, Reitemeyer 2000).

Der Bereich des *Sulcus jugularis* wird zuvor rasiert und chirurgisch desinfiziert. Zur Blutspende wird die *V. jugularis* punktiert. Das Blut fließt über das Schlauchsystem in den Beutel, welcher über die gesamte Dauer der Blutspende vorsichtig geschwenkt wird. Während der Blutspende wird die entnommene Menge mit einer Federwaage abgemessen. Direkt nach der Blutentnahme wird der Beutel mittels Klippverschluss oder einer Klemme verschlossen, damit keine Luft in das System eindringen kann. Der Beutel wird mit Namen, Datum, Blutgruppe, Komponente und Menge beschriftet und bis zur Auftrennung im Kühlschrank gelagert. Das Blut sollte so schnell wie möglich weiterverarbeitet werden. Dabei ist die Kühlkette einzuhalten (Reitemeyer 2000). Da bei der Auftrennung der Blutkomponenten der Großteil des Antikoagulanz im Plasma verbleibt, muss dieses und auch Vollblut verworfen werden, sobald über 30% der erwarteten Menge nicht abgenommen werden konnten. Auf diese Weise kann eine Zitratintoxikation beim Empfänger ausgeschlossen werden (Schürch et al. 1942).

2.3.6. Transfusion

In der Veterinärmedizin sind verschiedene Transfusionstechniken etabliert. Bei jeder dieser Techniken wird zur Transfusion ein Infusionsbesteck mit eingebautem Standardfilter (DIN 58360, Porengröße 170 - 230µl) verwendet, um zelluläre Aggregate herauszufiltern (BVL 2011). Die Verwendung von Mikroaggregatfiltern könnte eventuell die Morphologie der Erythrozyten verändern, hat jedoch keine Auswirkung auf dessen Fragilität (Cooley-Lock et al. 2019). Dennoch wird von dessen Verwendung abgeraten (BVL 2011). Neben der Transfusion über Ausnutzung der Schwerkraft stehen auch volumetrische peristaltische Infusionspumpen oder Spritzenpumpen zur Verfügung. Obgleich Infusionspumpen eine genauere Einstellung der Tropfgeschwindigkeit ermöglichen, werden diese mit einer geringen Halbwertszeit der transfundierten Erythrozyten und einer Erhöhung der Konzentration an freiem Hämoglobin in Verbindung gebracht: In einer *in vivo* Studie, in der die transfundierten Erythrozyten 24 Stunden bis zu 7 Wochen nach der Transfusion untersucht wurden, konnte eine signifikante Reduktion der Überlebensrate der Erythrozyten bei der Verwendung volumetrischer peristaltischer Infusionspumpen und Spritzenpumpen festgestellt werden (McDevitt et al. 2011). In der *in vitro* Kontrolle war allerdings kein signifikanter Effekt auf die Anzahl der Erythrozyten, die Konzentration an freiem Hämoglobin oder die osmotische Fragilität

erkennbar. Auch in weiteren *in vitro* Studien (Cooley-Lock et al. 2019, Blasi-Brugué et al. 2021) konnte keine signifikante Schädigung der Erythrozyten ausgemacht werden. Obgleich die Grundlage der verringerten Überlebensrate der Erythrozyten bei der Verwendung von Infusionspumpen nicht geklärt ist, wird die Transfusion über die Ausnutzung der Schwerkraft in vielen Kliniken präferiert. Laut einer amerikanischen Studie verwenden 32% der Kliniken Infusionsspritzen, 60% Infusionspumpen und 47% transfundieren über die Ausnutzung der Schwerkraft (Jagodich und Holowaychuk 2016). Um den Hämolyse-Prozess nicht zu provozieren, wird weiterhin angeraten möglichst großvolumige Katheter für die Transfusion zu verwenden (Perez und Darrow 2023).

Eine Erwärmung der Blutkonserven vor der Transfusion ist routinemäßig nicht notwendig. Das Risiko einer Schädigung der Erythrozyten und des mikrobiellen Wachstums könnte durch die vorherige Erwärmung der Blutkonserven gesteigert werden. Dies ist lediglich indiziert, wenn große Volumina oder hohe Raten transfundiert werden (Prittie 2003, Davidow 2013). Dennoch gaben nach einer amerikanischen Studie 49% der Kliniken an, dass die Blutkonserven bei ihnen routinemäßig vor jeder Transfusion aufgewärmt werden (Jagodich und Holowaychuk 2016).

Das Transfusionsvolumen von Erythrozytenprodukten ist abhängig vom Schweregrad der Anämie. Generell wird ein Transfusionsvolumen von 10-15ml/kg für Erythrozytenkonzentrat und von 20ml/kg für Vollblut angegeben (Prittie 2003). Es besteht jedoch auch die Möglichkeit, das Volumen anhand des gewünschten Hämatokrits zu berechnen. Für die Berechnung des zu transfundierenden Volumens stehen mehrere Formeln zur Verfügung (Haldane et al. 2004, Short et al. 2012): In einer Studie, in welcher verschiedene Formeln für die Berechnung des zu transfundierenden Erythrozytenkonzentrat-Volumens erprobt und verglichen wurden, konnte bei folgenden Formeln eine Übereinstimmung mit dem realen Hämatokritanstieg herausgestellt werden (Short et al. 2012):

1. Volumen [ml] = $90\text{ml} \times \text{kg BW} \times (\text{geplanter Hämatokrit-Anstieg} / \text{Hämatokrit des Spenders})$
2. Volumen [ml] = $1,5\text{ml} \times \text{kg BW} \times \% \text{geplanter Hämatokrit-Anstieg}$

Die Volumenberechnung ist mit verschiedenen Komplikationen verbunden. Während es bei der Transfusion großer Volumina zu einer Volumenüberladung kommen kann, steigt bei der Transfusion kleiner Volumina die Wahrscheinlichkeit der Notwendigkeit weiterer Transfusionen (Haldane et al. 2004). Aus diesem Grund sollte das Transfusionsvolumen immer individuell angepasst werden.

Für die Berechnung des zu erwarteten Hämatokritanstiegs können die zuvor erläuterten Formeln genutzt werden. Jedoch wird der erwartete Hämatokritanstieg meist mit 1% pro 2 ml

Vollblut bzw. 1 ml Erythrozytenkonzentrat pro kg Körpergewicht angegeben. Obgleich Erythrozytenprodukte im Verlauf der Lagerung eine Reihe von hämatologischen und biochemischen Veränderungen unterlaufen, konnte bisher kein negativer Einfluss verschiedener Lagerungszeiten auf den Hämatokritanstieg durch die Transfusion festgestellt werden (Holowaychuk et al. 2014, Rodrigues et al. 2020). Je nach verwendeter Blutkomponente ist zudem ein Anstieg der Thrombozytenzahl zu erwarten. Dieser liegt bei einer Transfusion von 10ml/kg bei der Verwendung von frischem Vollblut bei 10000/ μ l und bei der Verwendung von plättchenreichem Plasma sogar bei 40000/ μ l (Abrams-Ogg 2003). Bei Transfusionen von gelagertem Vollblut oder Erythrozyten-Konzentrat kann allerdings auch ein Abfall der Thrombozytenzahl beobachtet werden (Godinho-Cunha et al. 2011).

Der tatsächliche Hämatokritanstieg variiert je nach zugrundeliegender Grunderkrankung und ist beispielsweise abhängig von anhaltenden Blutverlusten oder Hämolyse (Weingart et al. 2004) und dient daher als prognostischer Faktor (Godinho-Cunha et al. 2011). So kann ein deutlich niedrigerer Hämatokrit nach der Transfusion im Vergleich zur Berechnung Hinweise auf weiterbestehende Verluste oder auf eine hämolytische Transfusionsreaktion geben, während sich ein höherer Hämatokritanstieg durch Resorptionsmechanismen, Freisetzung von Erythrozyten aus dem Milzspeicher, Dehydratation oder Regeneration erklären lässt (Weingart et al. 2004).

Die Transfusionsrate ist von verschiedenen Faktoren abhängig und wird genau wie die Transfusionsmenge individuell an den Patienten angepasst. Zu Beginn ist eine niedrige Transfusionsrate unter strengem Monitoring empfohlen (Prittie 2003, Davidow 2013, Kohn und Weingart 2017). Zeigt der Patient keine abnorme Reaktion, kann die Transfusionsgeschwindigkeit angepasst werden. Generell wird eine Rate von 5 ml/kg/h bei normovolämischen Tieren empfohlen (Kohn und Weingart 2017). Bei Tieren mit kardialen Erkrankungen sollte eine Rate von 2-4 ml/kg/h nicht überschritten werden, während die Rate bei hypovolämischen Patienten erhöht werden kann (Prittie 2003, Kohn und Weingart 2017).

Die Transfusion erfolgt unter einem engmaschigen Monitoring der Schleimhäute, der Herzfrequenz, der Atemfrequenz und der Körpertemperatur. Der Patient sollte während der Transfusion alle 15 Minuten und nach Abschluss bis zu 3 Stunden nach der Transfusion alle 30 bis 60 Minuten kontrolliert werden. Entwickelt der Patient eine Transfusionsreaktion muss die Transfusionsrate herabgesetzt oder die Transfusion unterbrochen werden und gegebenenfalls symptomatische Maßnahmen ergriffen werden. Beachtet werden muss allerdings, dass die Transfusion aus bakteriologischen Gründen eine Dauer von vier Stunden nicht übersteigen darf (Day und Kohn 2012, Davidow 2013).

Erste Erfolge oder Auswirkungen der Transfusion lassen sich innerhalb der ersten Minuten bis Stunden nach der Transfusion beobachten. Besserungen des Allgemeinbefindens lassen sich meist schon während oder kurz nach der Transfusion beobachten. Auch ein Anstieg des Hämoglobins sowie des Hämatokrits können direkt nach der Transfusion gemessen werden. Unabhängig von der zugrundeliegenden Grunderkrankung bleibt der Hämatokrit nach der Transfusion über mindestens 4 Stunden stabil (Morris et al. 2021). Reaktionen auf die Transfusion lassen sich schon in der ersten Stunde nach der Transfusion in einem Anstieg der Leukozyten sowie nach 3-6 Stunden durch den Anstieg von Bilirubin erfassen (Young et al. 1949).

2.4. Blutkomponententherapie

Unter einer Blutkomponententherapie versteht man die Verwendung spezifischer Bestandteile des Blutes, wie Erythrozyten, Thrombozyten oder Plasma, anstelle von Vollblut. Dies bietet den Vorteil einer gezielteren Therapie, einer besseren Verwertung der Konserven, einer Verbesserung der Haltbarkeit der Blutkonserven und einem vermindertem Risiko einer Transfusionsreaktion (Davidow 2013, Yagi und Holowaychuk 2016). Vor allem in Kliniken mit Zugang zu einer Blutbank wird diese Art der Therapie häufig bevorzugt. Vorwiegend werden in der Veterinärmedizin frisch gefrorenes Plasma [FFP], Erythrozytenkonzentrat [pRBC] und Vollblut [WB] verwendet, jedoch ist an wenigen Kliniken auch der Einsatz von Kryoprezipitat, Plättchenkonzentrat [PC] oder plättchenreichem Plasma [PRP] möglich (Jagodich und Holowaychuk 2016).

Je nach Indikation werden unterschiedliche Blutkomponenten bevorzugt. So wird bei einer normovolämischen Anämie meist Erythrozytenkonzentrat, bei einer hypovolämischen Anämie durch starken Blutverlust Vollblut oder auch eine Kombination mehrerer Blutkomponenten transfundiert. Bei Koagulopathien kann frisch gefrorenes Plasma und bei Thrombozytopenien plättchenreiches Plasma oder frisches Vollblut indiziert sein (Rozanski und Laforcade 2004).

2.4.1. Herstellung

Frisches Vollblut wird in einem geschlossenem Einfachbeutelssystem entnommen und kann bei Raumtemperatur bis zu 8 Stunden gelagert werden. Hier sind Erythrozyten, Leukozyten, Thrombozyten, Gerinnungsfaktoren, Albumin und Globulin enthalten. Soll Vollblut längere Zeit gelagert werden, spricht man von gelagertem Vollblut. Dieses kann, nach zwei früheren Studien, bei 4°C 30 bis 35 Tage aufbewahrt werden (Marion und Smith 1983, Bücheler und Cotter 1994). In der Praxis wird meist eine maximale Lagerungsdauer von bis zu vier Wochen angegeben (Davidow 2013). In diesem Blutprodukt sind allerdings keine vitalen Thrombozyten mehr enthalten. Auch die labilen Gerinnungsfaktoren halten der Lagerung nicht stand (Reitemeyer 2000, Yagi und Holowaychuk 2016). Obgleich in der Humanmedizin im Falle

eines schweren Traumas oft eine Kombination aus Erythrozytenkonzentrat, frisch gefrorenem Plasma und Thrombozytenkonzentrat im Verhältnis 1:1:1 empfohlen wird, ist in einer Studie eine geringere Mortalität durch die Transfusion von frischem Vollblut beschrieben (Jones und Frazier 2014). Ob dies einen direkten Effekt hat oder die Mortalitätsrate durch das Alter und die Anzahl der verwendeten Konserven beeinflusst wurde, war in dieser Studie unklar.

Zur Gewinnung von Erythrozytenkonzentrat erfolgt die Blutentnahme in einem Mehrfachbeutelssystem mit zwei bzw. drei Beuteln. Im Anschluss wird das antikoagulierte Vollblut zentrifugiert. Für die Auftrennung von Vollblut existieren verschiedene Protokolle: In der Humanmedizin wird empfohlen, hohe Zentrifugationsgeschwindigkeiten (höher als 5000 g für 5 Minuten) zu vermeiden, um den Hämolyseprozess nicht zu provozieren (Sowemimo-Coker 2002). Auch in der Veterinärmedizin wird häufig eine Zentrifugation bei 4°C und 5000g für fünf Minuten empfohlen (Schneider 1995). In anderen Kliniken wird eine längere Zentrifugationsdauer mit einer niedrigeren Umdrehungszahl präferiert. So wird das Auftrennen von Vollblut in einer Publikation bei 3600g für 15 Minuten beschrieben (Reitemeyer 2000). Im Anschluss an die Zentrifugation wird das Plasma mittels Plasmapresse abgetrennt. Ohne weitere Verarbeitung könnte Erythrozytenkonzentrat 20 Tage gelagert werden (Price et al. 1988). Um die Lagerungsfähigkeit auf 35 bis 44 Tage zu maximieren wird eine Additivlösung, wie beispielsweise PAGGGM, Adsol, SAGM oder Optisol, zugeführt (Wardrop et al. 1994, Reitemeyer 2000, Yagi und Holowaychuk 2016, Kumar 2017). Erythrozytenkonzentrat enthält Erythrozyten, Leukozyten, nicht vitale Thrombozyten und einen geringen Anteil an Plasma. Es wird vor allem bei normovolämischen Anämien eingesetzt, um einen möglichst großen Hämatokritanstieg bei gleichzeitiger Vermeidung einer Volumenüberladung zu gewährleisten.

Plasma kann durch unterschiedliche Auftrennungsverfahren für verschiedene Indikationen genutzt werden. Frisch gefrorenes Plasma [FFP] enthält sämtliche Gerinnungsfaktoren, Albumin und Globulin. Es muss während der ersten acht Stunden nach Blutentnahme aufgetrennt sowie eingefroren und bei mindestens -18°C gelagert werden. Die Gerinnungsfaktoren Faktor II, V, VII, VIII, IX, X, XI, XII und XIII, sowie Antithrombin, Protein C, Fibrinogen und vWF sind unter diesen Bedingungen über ein Jahr lang stabil (Wardrop und Brooks 2001, Davidow 2013, Yagi und Holowaychuk 2016). Aus diesem Grund ist FFP besonders zur Behandlung verschiedener Koagulopathien geeignet (Snow et al. 2010).

Wird das Plasma entweder später aufgetrennt, über ein Jahr lang gelagert oder nach Anbrechen einer Konserve wieder eingefroren, wird es als gefrorenes Plasma bezeichnet (Dzik et al. 1989, Yaxley et al. 2010, Yagi und Holowaychuk 2016). Hier ist eine geringere Konzentration der Faktoren V, VIII und vWF zu verzeichnen. Um im Falle eines Notfalls eine sofortige Behandlung zu ermöglichen, kann auch gekühltes Plasma [RP] eingesetzt werden.

RP kann nach Aussagen der AABB bis zu fünf Tage bei 2-6°C gelagert werden. In einer Studie, in der die Stabilität der Gerinnungsfaktoren sowie die bakterielle Kontamination untersucht wurde, war die Lagerung sogar bis zu 14 Tage möglich (Grochowsky et al. 2014). Zwar wurden signifikante Unterschiede bei der Untersuchung von PT, aPTT, Fibrinogen und Faktor X im Verlauf festgestellt, doch lagen alle Messwerte zu jedem Zeitpunkt innerhalb des Referenzbereiches. Darüber hinaus wurden gekühlte canine Plasmaprodukte in einer Studie mit einer Lagerung von bis zu 32 Tagen, sofern sie nie eingefroren wurden, und mit einer Lagerung von bis zu 28 Tagen, wenn sie aufgetaut wurden, als geeignet für eine Transfusion (95% Konfidenzintervall für alle Faktoren lag über 50% Aktivität und für die Fibrinogenkonzentration über 0,982g/l) angesehen (Chee et al. 2022).

Alternativ kann durch erneute Zentrifugation des aufgetauten FFP kryoarmes Plasma hergestellt werden. Im Vergleich zum FFP und Kryopräzipitat enthält kryoarmes Plasma höhere Anteile an Albumin, Faktor II und Faktor V. Außerdem ist der kolloidosmotische Druck höher (Culler et al. 2017). Daher dient es der Behandlung von Patienten mit Sepsis und einhergehender Hypoalbuminämie bei gleichzeitiger Vermeidung einer Alloimmunisierung (Culler et al. 2019). FFP enthält im Vergleich mehr Faktor VII und Faktor X, während Kryopräzipitat reich an Fibrinogen, Faktor VIII, Faktor IX und von-Willebrand Faktor ist (Culler et al. 2017).

Eine Alternative zur Herstellung von Plasmaprodukten aus Vollblut mittels Zentrifugation und Plasmaextraktion bietet die Plasmapherese. Mit diesem Verfahren könnte eine Verlängerung der Aktivität der Koagulationsfaktoren erzielt werden (Donahue und Fernandez 2019). Im Gegensatz zur Humanmedizin wird dieses Verfahren in der Veterinärmedizin allerdings bisher nur selten angewendet. Gründe dafür sind die höheren Kosten sowie eine längere Abnahmedauer von ca. 1 – 1,5 Stunden und die dadurch notwendige Anästhesie des Blutspenders.

Wird plättchenreiches Plasma [PRP] benötigt, wird das antikoagulierte Vollblut bei geringerer Geschwindigkeit und bei Raumtemperatur zentrifugiert. Die weitere Verarbeitung erfolgt wie bei der Herstellung von frisch gefrorenem Plasma. In einer Publikation, in welcher die Herstellung verschiedener Blutkomponenten beschrieben wurde, wurde eine Zentrifugation bei 2200g für 4 Minuten angegeben (Reitemeyer 2000). Zur Steigerung der Thrombozytenzahl bei der Herstellung von Thrombozytenkonzentrat [PC] wurden jedoch verschiedene Zentrifugationstechniken evaluiert und eine Doppel-Zentrifugations-Methode präferiert. Hier wird das Vollblut zunächst bei 1000g für 5 Minuten und anschließend bei 1500g für 15 Minuten zentrifugiert. Mit diesem Verfahren ist eine Anreicherung des Plasmas mit bis zu 80% der Thrombozyten möglich (Shin et al. 2017). Weitere Faktoren, welche den Thrombozytengehalt

beeinflussen, sind biochemische Parameter des Spenders. Hier spielen neben der Thrombozytenzahl der Lipämie-Index sowie der Phosphor-Gehalt eine übergeordnete Rolle. In einer Studie (Raleigh et al. 2017) waren diese drei Faktoren für 29% der Varianz der Thrombozytenzahl in Thrombozytenkonzentrat von Hunden verantwortlich. Die Korrelation des Lipämie-Index mit einer Erhöhung der Thrombozytenzahl in Thrombozytenkonzentrat erklärt sich durch den Einfluss der Lipämie auf die Sedimentation der Thrombozyten. Die Korrelation zwischen dem Phosphorgehalt und der Thrombozytenzahl in Thrombozytenkonzentrat konnte bisher hingegen noch nicht erklärt werden.

Thrombozyten-Produkte dienen der direkten Verwendung und sind lediglich während der ersten 6 Stunden der Lagerung stabil (Ho und Chan 1995). Die Möglichkeit einer Verlängerung der Lagerungsdauer wurde in mehreren Studien untersucht: Ähnlich, wie in einer humanmedizinischen Studie (Jain et al. 2015), wurde auch in einer veterinärmedizinischen Studie eine Qualitätsminderung während der Lagerung deutlich (Lasta et al. 2020): In dieser Studie wurde ein signifikanter Abfall von Glukose, Hydrogencarbonat, ATP, dem Kohlendioxidpartialdruck und des pH-Wertes, sowie ein signifikanter Anstieg des Laktat-Levels und des Sauerstoffpartialdruckes festgestellt. Sämtliche mikrobiologischen Untersuchungen waren negativ. Demnach sei eine Lagerung bis zu 5 Tagen zwar möglich, doch wird dadurch die Qualität und der mögliche Transfusionserfolg erniedrigt. Da aus diesem Grund die Verfügbarkeit äußerst gering ist, können im Notfall auch kryokonservierte Thrombozytenkonzentrate eingesetzt werden. Hier kommt es allerdings durch den Gefrier- und Auftauprozess zu einer Herabsetzung der Thrombozytenzahl und dessen Überlebensrate nach der Transfusion (Appleman et al. 2009).

Eine Transfusion von thrombozytenreichem Plasma ist vor allem bei Thrombozytopenie oder Thrombozytopathie und starker Blutungsneigung indiziert. In der Humanmedizin wird die Transfusion von Thrombozyten bereits empfohlen, sobald die Thrombozytenzahl einen Wert von $10 \times 10^9/l$ unterschreitet, Blutungen vorliegen und die Thrombozytenzahl unter $20 \times 10^9/l$ liegt oder ein Eingriff bei einer Thrombozytenzahl von unter $50 \times 10^9/l$ geplant ist (Callow et al. 2002, Abrams-Ogg 2003). Durch dieses Transfusionsregime konnte eine signifikante Reduktion von Transfusionen erreicht werden (Callow et al. 2002). In der Veterinärmedizin hingegen wird die Transfusion von Thrombozyten vorwiegend therapeutisch bei Auftreten von schwerwiegenden Blutungen infolge einer Thrombozytopenie und nur selten prophylaktisch eingesetzt (Callan et al. 2009).

2.4.2. Lagerung

Im Verlauf der Lagerung kann es zu einer Veränderung des bakteriologischen sowie hämatologischen und blutchemischen Bildes der Blutkonserven kommen.

Innerhalb der ersten ein bis zwei Wochen der Lagerung können Hämatokrit, Erythrozytenzahl und Hämoglobin zunächst abfallen (Nnamdi et al. 2019, Bujok et al. 2022). Untersuchungen über eine längere Lagerungsperiode ergaben einen anschließenden Anstieg des Hämokrits sowie des Hämoglobins. Das MCV folgt dem Verlauf des Hämokrits, während beim MCHC zu Beginn der Lagerung ein Anstieg und ab der 3. bis 4. Woche der Lagerung ein Abfall zu verzeichnen ist (Bujok et al. 2022).

Der pH-Wert fällt im Verlauf der Lagerung kontinuierlich ab. Natrium, Kalium und Ammoniak steigen im Verlauf an und bei Glucose, ATP und 2,3-DPG ist ein Abfall zu verzeichnen (Wardrop et al. 1997b, Reitemeyer 2000, Nnamdi et al. 2019). Des Weiteren bilden sich durch verschiedene Stimuli, wie beispielsweise oxidativen Stress, Zytokine oder die Aktivierung des Komplementsystems, Mikropartikel der Zellmembran. Diese können Entzündungsreaktionen fördern und werden mit Transfusionsreaktionen in Verbindung gebracht (Jy et al. 2011, Herring et al. 2013).

ATP dient Erythrozyten als Energielieferant und spielt dadurch eine wichtige Rolle für die Form und Deformierbarkeit der Erythrozyten, sowie für die Phosphorylierung der Phospholipidmembran und den Membrantransport. Ein Abfall der ATP-Konzentration ist abhängig von der Additivlösung und kann schon ab dem zehnten Tag der Lagerung kritisch werden. Als Folge der Deformierung sind im Blutausschlag vermehrt Echinozyten zu beobachten. Zudem kommt es infolge des ATP-Abfalls zu einer Elektrolytverschiebung und zu einem Anstieg von Kalium (Reitemeyer 2000).

2,3-DPG dient hingegen als Hauptmodifikator der Hämoglobin-Sauerstoff-Affinität. Innerhalb der ersten 2 Wochen der Lagerung ist die 2,3-DPG-Konzentration praktisch erschöpft, sodass die Sauerstoffdissoziationskurve nach links verschoben und die Sauerstoffversorgung der Gewebe beeinträchtigt wird (Obrador et al. 2015). Aus diesem Grund wird die Transfusion von gelagerten Erythrozyten mit einer herabgesetzten Fähigkeit des Sauerstofftransports verbunden. Dies konnte unter anderem bei einem Vergleich von Transfusionen von bis zu 3 Tagen und von bis zu 28 Tagen gelagerten Blutkonserven nachvollzogen werden (Fitzgerald et al. 1997).

Die Konzentration einiger proinflammatorischer Eikosanoide kann im Verlauf der Lagerung oder auch während der Transfusion ansteigen. Der Anstieg wird hauptsächlich mit der Freisetzung von Arachidonsäure aus der Phospholipidmembran von Thrombozyten und Zellen des Immunsystems in Verbindung gebracht (Harizi et al. 2008). In einer Studie, in der die Konzentration von Eikosanoiden direkt nach der Spende, vor und nach der Transfusion untersucht wurden, konnte ein signifikanter Abfall von Arachidonsäure sowie ein signifikanter Anstieg von Prostaglandin, Thromboxan und Leukotrien ausgemacht werden (Blake et al.

2017). Eikosanoide haben multiple biologische Funktionen, wie beispielsweise die Stimulation der Zytokinproduktion, die Bildung von Antikörpern, Thrombozytenaggregation, Vasokonstriktion oder Bronchokonstriktion (Harizi et al. 2008). Aus diesem Grund wird der Anstieg mit dem Auftreten von Transfusionsreaktionen in Verbindung gebracht. Die genaue Korrelation wurde bisher allerdings nicht untersucht.

Nach den Angaben der Food and Drug Administration [FDA] kann Erythrozytenkonzentrat genutzt werden, solange 24 Stunden nach einer Transfusion mindestens 75% der Erythrozyten zirkulieren und der Hämolysegrad $<1\%$ liegt. Laut den Leitlinien des BVL liegt der geforderte Hämolysegrad sogar $<0,8\%$.

In den ersten Tagen der Lagerung sind meist noch keine signifikanten Veränderungen zu verzeichnen. Die Hämolyse in Blutkonserven erreicht erst innerhalb der sechsten Lagerungswoche kritische Werte (Ferreira et al. 2018). Freies Hämoglobin kann im Körper durch Nitrit-Oxidation zu Vasokonstriktion und dadurch auch zu Plättchenaggregation führen (Maglaras et al. 2017). Daher wird angeraten, zwischen dem 35. und 42. Tag der Lagerung Kontrollen durchzuführen (Ferreira et al. 2018).

Die meisten biochemischen und biomechanischen Veränderungen treten allerdings schon innerhalb einer Lagerungsdauer von zwei Wochen ein (Nnamdi et al. 2019). Die Verwendung älterer Konserven ist daher mit einer Reihe von Transfusionsreaktionen, wie beispielsweise Gerinnungsstörungen und Thromboembolien assoziiert (Hann et al. 2014). Die Überlebensrate und auch das Auftreten von febrilen nicht-hämolytischen Transfusionsreaktionen [FNHTR] und akuten hämolytischen Transfusionsreaktionen [AHTR] konnten jedoch nicht mit einer längeren Lagerungsdauer in Verbindung gebracht werden (Hann et al. 2014, Holowaychuk et al. 2014, Callan et al. 2021). Dennoch wird häufig nicht grundsätzlich die Konserve mit der am weitesten fortgeschrittenen Lagerungsdauer zuerst verwertet, sondern abhängig von der bestehenden Grunderkrankung eine entsprechende Konserve ausgewählt (Jagodich und Holowaychuk 2016). Beispielsweise wird bei Patienten mit IMHA aufgrund des Hämolyse-Indexes angeraten, möglichst Konserven bis zu einer Lagerungsdauer von sieben bis zehn Tagen zu verwenden (Swann et al. 2019). Des Weiteren wird vermutet, dass die Transfusion von Blutkonserven mit einer längeren Lagerungsdauer auch bei Patienten mit Sepsis ein höheres Risiko darstellen (Wang et al. 2014). Auf Grundlage eines Fallberichts aus der Humanmedizin wird zur Vermeidung einer Hyperammonämie darüber hinaus auch bei Patienten mit einer Hepatopathie die Verwendung frischer Blutkonserven empfohlen (Picca 2018).

2.4.3. Antikoagulanzen, Stabilisatoren und Additivlösungen

Ziel der Antikoagulanzen, Stabilisatoren und Additivlösungen ist es, Lagerungsschäden zu reduzieren und die mögliche Lagerungsdauer zu verlängern. Hierfür stehen verschiedene Lösungen zur Verfügung:

Reine Antikoagulanzen sind Heparin und Natrium-Zitrat. Während Heparin die Blutgerinnung durch Hemmung von Thrombin, der Faktoren IXa, Xa, XIa, XIIa und Plasmin verhindert, bindet Natrium-Zitrat Kalzium und verhindert so kalzium-abhängige Stufen der Blutgerinnung. Beide Lösungen sind nicht zur Konservierung, sondern lediglich als Antikoagulanzen bei sofortiger Transfusion geeignet (Wardrop 1995).

Antikoagulanzen-Stabilisator-Lösungen enthalten neben Natrium-Citrat als Antikoagulanzen Inhaltsstoffe, welche die Erythrozytenaktivität erhalten sollen. Beispielsweise kann Phosphat als pH-Stabilisator, Glucose als Energielieferant und Adenin zur Förderung der ATP-Bildung in den Erythrozyten eingesetzt werden (Wardrop 1995). Antikoagulanzen-Stabilisator-Lösungen stehen in verschiedenen Zusammensetzungen zur Verfügung. Meist wird CPDA-1 verwendet, da die Erythrozyten hier im Vergleich zu anderen Lösungen über einen längeren Zeitraum stabil bleiben. Daneben ist auch die Verwendung von ACD oder CPD gebräuchlich. ACD war früher das Präparat der Wahl und wurde mittlerweile weitgehend aufgrund einer höheren 2,3 DPG-Konzentration und einer Verbesserung der pH-Wert-Stabilität durch CPD abgelöst (Wardrop 1995). Ohne Additivlösung können Erythrozytenprodukte auf diese Weise bis zu 20 bis 21 Tage gelagert werden (Price et al. 1988, Rodrigues et al. 2020).

Durch die Zugabe einer Additivlösung konnte die Lagerfähigkeit in der Humanmedizin auf bis zu 42 Tage verlängert werden. Hier stehen unter anderem PAGGGM, Adsol, SAGM und Optisol zur Verfügung. Im Vergleich wird PAGGGM mit einem niedrigeren pH-Wert-Abfall und Adsol mit einer höheren Glucose-Konzentration assoziiert. Außerdem zeigt sich bei der Lagerung mit PAGGGM eine Tendenz zu einem verringertem Abfall von 2,3 DPG und ATP (Lacerda et al. 2014). In der Veterinärmedizin wird Erythrozytenkonzentrat in den meisten Kliniken 30 bis 35 Tage gelagert (Obrador et al. 2015). In einer Studie, in der CPD in Verbindung mit SAGM als Additivlösung zur Blutkonservierung verwendet wurde, war eine Lagerungsdauer von 35 Tagen und bei zusätzlichen Qualitätskontrollen ab der 6. Woche sogar bis zu 42 Tage möglich (Ferreira et al. 2018). Adsol ermöglicht hingegen eine Lagerungsdauer von 37 Tagen (Wardrop et al. 1994) und Nutricil von 35 Tagen (Wardrop et al. 1997b).

2.4.4. Leukozytenreduktion

Durch Filtration des Blutes durch einen speziellen Leukozytenreduktionsfilter lassen sich vor der Lagerung sowohl Leukozyten als auch Thrombozyten weitgehend aus der Blutkonserve

entfernen. Auf diese Weise könnte die Lagerungsfähigkeit und auch das Auftreten von Transfusionsreaktionen beeinflusst werden. Obgleich die Leukozytenreduktion bisher lediglich in der Humanmedizin Anwendung findet, wurde dieses Verfahren bereits in mehreren veterinärmedizinischen Studien evaluiert: Empfohlen wird eine vorherige Kühlung bei 4°C für 4 Stunden. Auf diese Weise kann eine Leukozytenreduktion um 99,994% +/- 0,004% sowie eine Reduktion der Thrombozyten um ca. 95% erreicht werden (Brownlee et al. 2000). Nachteile der Anwendung dieses Verfahrens sind die längere Herstellungsdauer sowie der Volumenverlust durch den Filter. In einer Studie wurde eine Dauer von im Mittel 15,6 Minuten und ein Volumenverlust von etwa 51-53 g pro 450ml Konserve beschrieben (Brownlee et al. 2000). Die Verwendung von Leukozyten reduzierenden Filtern könnte jedoch nicht nur positive Auswirkungen auf die Qualität von Vollblut und Erythrozytenkonzentrat, sondern auch auf die des Plasmas haben. Auch hier ist eine signifikante Reduktion der Leukozyten und Thrombozyten zu erkennen, während die Aktivität der Gerinnungsfaktoren weitgehend stabil bleibt (Foote et al. 2019).

Die Auswirkungen der Leukozytenreduktion wurden bereits in mehreren veterinärmedizinischen Studien untersucht: Durch den Entzug von Leukozyten und Thrombozyten kann eine inflammatorische und prokoagulierende Reaktion auf die Transfusion maßgeblich minimiert werden (McMichael et al. 2010). Während bei nicht-leukozytenreduzierten Blutkonserven die Konzentration an Mikropartikeln über den Zeitraum der Lagerung kontinuierlich ansteigt, bleibt diese bei leukoreduzierten Blutkonserven annähernd konstant (Herring et al. 2013). Auch kann die Produktion einiger Zytokine verringert werden. Bei IL-6 konnte in leukoreduzierten Blutkonserven eine konstant niedrigere Konzentration (Yang et al. 2019) und bei IL-8 ein unterbleibender Anstieg bis zu 37 Tage Lagerung festgestellt werden (Corsi et al. 2014, Purcell et al. 2015, Purcell et al. 2017, Yang et al. 2019, Stefani et al. 2021). Der Einfluss auf TNF- α und IL-10 konnte aufgrund sehr niedriger Konzentrationen bisher nicht festgestellt werden (Corsi et al. 2014, Purcell et al. 2015, Yang et al. 2019). Des Weiteren kann die Bildung von VEGF während der Lagerung durch Leukoreduktion verhindert werden. Hier bleibt die Konzentration bis zum 42. Tag nach der Spende unter dem Detektionslimit (Graf et al. 2012). Auch Lagerungsschäden, wie Hämolyse, Laktatbildung, ein Anstieg der Kalium Konzentration oder ein pH-Wert Abfall können durch Leukoreduktion vermindert werden (Yang et al. 2019, Stefani et al. 2021). In der Humanmedizin wird durch Leukoreduktion zudem eine verminderte Bildung von Phosphatidylserinen und Eicosanoiden erreicht, wodurch eine Verkürzung der Lebensspanne der Erythrozyten, Plättchenaggregation und Entzündungsreaktionen verhindert werden (Lu et al. 2011). Eine reduzierte Bildung der Phosphatidylserine konnte auch in einer veterinärmedizinischen Studie nachgewiesen werden (Smith et al. 2015). Ein Einfluss auf die

ATP-Konzentration, Hämoglobinkonzentration oder auf das Eintreten der Hämolyse konnte bisher jedoch nicht nachvollzogen werden (Brownlee et al. 2000, Yang et al. 2019). Auch die Annahme, dass durch Leukoreduktion die Histaminkonzentration in Blutprodukten gesenkt werden könnte, konnte bisher nicht nachgewiesen werden (Frank et al. 2021).

Klinische Vorteile durch die Transfusion leukozytenreduzierter Blutkonserven werden in der Literatur bisher allerdings noch diskutiert: Obgleich in einer Studie durch die Anwendung eines Leukoreduktionsfilters eine signifikant geringere Entzündungsreaktion (WBC, Fibrinogen, C-reaktives Protein) nach autologer Transfusion erzielt werden konnte (McMichael et al. 2010), konnte in einer weiteren Studie lediglich ein geringerer Anstieg der Leukozytenzahl nach Transfusion leukozytenreduzierter Blutkonserven, jedoch keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf andere Entzündungsmarker festgestellt werden (Bosch Lozano et al. 2019). Während einer weiteren vergleichenden Studie konnte eine signifikante Reduktion von IL-8 und MCP-1 zwar *in vitro* gezeigt werden, jedoch war diese *in vivo* nicht mehr nachvollziehbar (Callan et al. 2013). Ein Effekt der Leukoreduktion auf eine mögliche Entzündungsreaktion infolge der Transfusion konnte auch in einer weiteren *in vivo* Studie nicht festgestellt werden (Claus et al. 2022).

Eine mögliche Reduktion des Risikos einer Transfusionsreaktion ist ebenfalls bisher noch unklar. Während in einer Studie das Risiko für das Auftreten einer febrilen nicht hämolytischen Transfusionsreaktion durch die Verwendung leukozytenreduzierter Blutprodukte reduziert werden konnte (Davidow et al. 2022), konnte in einer früheren Studie kein klinischer Effekt gezeigt werden (Bosch Lozano et al. 2019). Auch in humanmedizinischen Studien konnte ein vermindertes Auftreten febriler nicht hämolytischer Transfusionsreaktionen nachgewiesen werden (King et al. 2004, Paglino et al. 2004, Yazer et al. 2004, Chang et al. 2017). Die Vermutung, dass durch Leukoreduktion die Prävalenz für das Auftreten einer Transfusionsassoziierten Lungeninsuffizienz (TRALI) reduziert werden könnte, konnte bisher nicht nachgewiesen werden (Watkins et al. 2008, Simancas-Racines et al. 2015).

2.4.5. Radioaktive Bestrahlung

Eine Alternative stellt die radioaktive Bestrahlung der Blutkonserven dar. In der Humanmedizin wird dieses Verfahren eingesetzt, wenn die Gefahr besteht, durch die Transfusion immunkompetenter Lymphozyten eine „*graft versus host*“ Reaktion auszulösen. In der Veterinärmedizin ist dieses Verfahren bisher lediglich in wenigen Studien erforscht worden. Eine Indikation für die Verwendung radioaktiv bestrahlter Blutkonserven stellen jedoch auch hier beispielsweise Knochenmarkstransplantationen dar. In einer Studie konnte durch die Verwendung radioaktiv bestrahlter Blutkonserven bei Hunden, welche einer Knochenmarkstransplantation unterzogen wurden, das Risiko einer „*graft versus host*“

Reaktion signifikant reduziert werden (Deeg et al. 1989). In einer *in vitro* Studie konnte zwar ein signifikanter Anstieg von Kalium, Laktat und freiem Hämoglobin sowie ein Abfall des pH-Wertes festgestellt werden, doch wird angenommen, dass bestrahlte Blutkonserven ebenso sicher klinisch eingesetzt werden könnten wie unbehandelte Konserven (Press et al. 2017).

In einer weiteren Studie, in welcher die Auswirkungen der Verwendung von leukozytenreduzierenden Filtern und radioaktiver Bestrahlung verglichen wurden, konnte bei radioaktiv bestrahlten Blutkonserven zwar eine Qualitätsverbesserung im Vergleich zur Kontrollgruppe, jedoch im Vergleich zu leukoreduzierten Blutkonserven vermehrt Lagerungsschädigungen sowie ein vermehrter Anstieg von Zytokinen und Chemokinen festgestellt werden (Yang et al. 2019).

2.4.6. Zellwaschung und Verjüngung der Erythrozyten

Weitere Möglichkeiten bieten Zellwaschung nach der Lagerung oder die sogenannte Verjüngung der Erythrozyten durch bestimmte Additivlösungen. Die Zellwaschung erfolgt nach der Lagerung 1:1 mit einer speziellen Waschlösung. Je nach Protokoll werden Waschlösungen bestehend aus Glukose, Chlorid, Phosphat, Citrat und Adenin oder 0,9%ige NaCl-Lösung verwendet (Belizaire et al. 2012). Durch dieses Verfahren kann der Anteil an Cytokinen und extrazellulären Lagerungsschäden deutlich gesenkt werden (Coll et al. 2022). Die Verjüngung der Erythrozyten durch Additivlösungen ist ein Verfahren, welches in der Veterinärmedizin bisher noch keine Anwendung findet. Studien aus der Humanmedizin haben jedoch gezeigt, dass dieses Verfahren die Entfernung der meisten metabolischen Nebenprodukte aus den Erythrozyten-Überständen ermöglicht (Gehrke et al. 2018). Hier sind signifikante metabolische Vorteile, gemessen an der Reaktivierung der Glykolyse und der Regeneration von Adenosintriphosphat und 2,3-Diphosphoglycerat, auszumachen. Verbesserungen im Energiestoffwechsel führten auch zu einer erhöhten Kapazität zur Wiederherstellung des gesamten Glutathionpools und zur Regeneration von oxidiertem Vitamin C in seiner reduzierten (Ascorbat-) Form.

2.4.7. Kryokonservierung

Durch Kryokonservierung kann die Lagerungsfähigkeit praktisch auf unbegrenzte Zeit verlängert werden (Aktaran Bala und Özcan 2016). Dabei wird die Blutkonserve zunächst dreimal bei Raumtemperatur gewaschen und anschließend 1:1 mit einem Kryopräzipitant [CPA] inkubiert, bevor sie in flüssigem Stickstoff auf -196°C eingefroren wird. Direkt vor der Transfusion wird die Konserve in einem warmen Wasserbad aufgetaut und das CPA wieder ausgewaschen. Beim Hund hat sich 17,5%iges HES als CPA und eine Inkubation bei Raumtemperatur über 30 Minuten bewährt. Hier liegt die Hämolyse im Mittel bei 16,1%. Neben der Hämolyse ist jedoch auch die erhöhte osmotische Fragilität, welche hier bei ca. 60% liegt,

von Bedeutung (Pogozhykh et al. 2017). Aufgrund des hohen Aufwandes, sowie der stark erhöhten Kosten bei vergleichsweise minderer Produktqualität, kommt dieses Verfahren bisher bei Erythrozytenprodukten lediglich in seltenen Fällen zum Einsatz.

Dagegen gewinnt die Kryokonservierung bei Plättchenkonzentraten immer mehr an Bedeutung. Obgleich frische Thrombozytenprodukte, aufgrund des höheren Anstiegs der Thrombozytenzahl sowie der höheren Überlebensrate der Thrombozyten nach der Transfusion, immer vorzuziehen sind, können lebensbedrohliche Blutungen durch kryokonserviertes Plättchenkonzentrat erstmal stabilisiert werden (Appleman et al. 2009). Die Effizienz kryokonservierter Thrombozytenkonzentrate ist allerdings noch nicht ausreichend erforscht (Ng et al. 2016).

2.4.8. Qualitätssicherung

Um die Qualität von Blutkonserven zu sichern, sind regelmäßige Qualitätskontrollen an Stichproben aus der laufenden Herstellung durchzuführen. Nach den Leitlinien des BVL sind mindestens 1% der hergestellten Einheiten, aber im Minimum 4 Einheiten pro Monat, zu testen. Außerdem ist eine Sterilitätstestung an $0,4 \times \sqrt{n}$ (n =Zahl der hergestellten Einheiten/Monat) Einheiten durchzuführen. Bei diesen Kontrollen ist im Falle von Erythrozyten-Produkten auf Packungsvolumen, Hämatokrit, Gesamt-Hb, Hämolyse, visuelle Kontrolle und Sterilität zu achten. Vollblut entspricht den Qualitätsanforderungen, wenn der Hämatokrit $\geq 0,25$ l/l, das Gesamt-Hb ≥ 8 g/dl liegt und $<0,8\%$ der Erythrozyten hämolysiert sind. Bei Erythrozytenkonzentrat wird ein Hämatokrit zwischen $0,50 - 0,75$ l/l und ein Gesamt-Hb von ≥ 17 g/dl vorausgesetzt. Der Hämolyse-Grad sollte auch hier $<0,8\%$ der Erythrozyten betragen. Im Falle von Plasmaprodukten werden Packungsvolumen, Gerinnungsfaktoren, noch enthaltene Leukozyten, Thrombozyten und Erythrozyten kontrolliert, eine visuelle Kontrolle durchgeführt und die Sterilität untersucht. Hier werden Gerinnungsfaktoren von $>50\%$ des Ausgangswertes, Restleukozyten von $<1 \times 10^9$ /l, Restthrombozyten von $<30 \times 10^9$ /l und Resterythrozyten von $<3 \times 10^9$ /l vorausgesetzt.

2.5. Transfusionsreaktionen

Trotz umfassender Testverfahren lassen sich Transfusionsreaktionen nicht gänzlich vermeiden. Die Prävalenz liegt bei Hunden zwischen 3,3% und 28%, (Kerl und Hohenhaus 1993, Callan et al. 1996, Reitemeyer 2000, Holowaychuk et al. 2014, Maglaras et al. 2017, Haines et al. 2022). Bei massiven Transfusionen wurde sogar eine höhere Prävalenz mit bis zu 40% beschrieben (Jutkowitz et al. 2002). Die meisten Transfusionsreaktionen sind mild und nicht mit einer geringeren Überlebensrate verbunden (Kerl und Hohenhaus 1993, Holowaychuk et al. 2014).

Transfusionsreaktionen können akut bis zu 48 Stunden nach, meist aber innerhalb der ersten 1-2 Stunden während der Transfusion, oder verzögert, meist während der folgenden 2-5 Tage oder sogar darüber hinaus, auftreten (Yagi und Holowaychuk 2016). Außerdem werden immunologische und nicht-immunologische Reaktionen unterschieden. Reagiert das Immunsystem des Empfängers auf Bestandteile des transfundierten Blutes, kann sich dies in hämolytischen oder allergischen Reaktionen äußern oder auch Fieber verursachen. Nicht-immunologische Transfusionsreaktionen werden durch verschiedene Ursachen, wie z.B. Volumenüberladung, unsaubere Transfusionstechnik oder auch bakteriologische, parasitäre oder virale Kontamination der Blutkonserve, hervorgerufen (Yagi und Holowaychuk 2016, Davidow et al. 2021a).

2.5.1. Verschiedene Arten von Transfusionsreaktionen

Die bedeutungsvollste Transfusionsreaktion stellt die akute Hämolyse infolge der Verabreichung einer inkompatiblen Transfusion dar. Diese entsteht, wenn ein klinisch signifikanter Alloantikörper ein Alloantigen der fremden Erythrozyten erkennt und an diesem bindet. Durch diese Bindung werden die fremdartigen Erythrozyten markiert und über Phagozytose oder Hämolyse zerstört. Dabei kommt es entsprechend zur extravaskulären oder intravaskulären Hämolyse. Bei der extravaskulären Hämolyse werden die phagozytierten Erythrozyten in Leber und Milz abgebaut und führen dadurch zu einer Hyperbilirubinämie. Hingegen werden die gebundenen Erythrozyten bei der intravaskulären Hämolyse direkt im Gefäß zerstört, wodurch Hämoglobinämie und Hämoglobinurie auftreten. Gleichzeitig wird durch die intravaskuläre Hämolyse eine systemische Entzündungsreaktion getriggert, welche zu Multiorganversagen und Kreislaufinstabilität führen kann (Zaremba et al. 2019). Erste klinische Symptome sind Bradykardie und Hypotension, gefolgt von Tachykardie. Meist kommt diese Transfusionsreaktion bei schon zuvor transfundierten Hunden vor, bei denen sich bereits Alloantikörper gebildet haben (Young et al. 1949, Callan et al. 1995, Giger et al. 1995, Melzer et al. 2003).

Eine akute Hämolyse kann jedoch nicht nur durch eine immunologische Reaktion ausgelöst werden, sondern auch durch eine zu lange Lagerungsdauer, bakterielle Kontamination, mechanische oder thermale Schädigung der Blutkonserven provoziert werden. In einer Studie wurden vier kurz aufeinander aufgetretene Fälle schwerer hämolytischer Transfusionsreaktionen, vermutlich bedingt durch eine verstärkte Hämolyse der Blutkonserven im Verlauf der Lagerung, beschrieben (Patterson et al. 2011).

Am häufigsten tritt jedoch Fieber als Komplikation bei Transfusionen auf (Holowaychuk et al. 2014, Maglaras et al. 2017, Haines et al. 2022). Dies kann durch akute Hämolyse, Lungeninfiltration, bakterielle Kontamination oder auch durch die zugrundeliegende

Erkrankung des Patienten ausgelöst werden. Eine Nicht-Hämolytische-Febrile-Transfusionsreaktion ist daher eine Ausschlussdiagnose. Nicht hämolytisches Fieber wird durch Leukozyten- sowie Thrombozyten-induzierte Zytokine oder Anti-Leukozyten-Antikörper ausgelöst (Heddle 1999). Generell wird durch Transfusionen eine Immunantwort provoziert, welche mit einem Anstieg an Leukozyten, Fibrinogen und C-reaktivem Protein einhergeht. Da dieser Prozess in der Regel selbstlimitierend ist, ist eine Therapie mit Antipyretika häufig nicht notwendig (Odunayo et al. 2021).

Des Weiteren können Transfusionen über eine Typ I Hypersensitivitätsreaktion eine anaphylaktische Reaktion auslösen. Klinische Anzeichen sind meist Urtikaria, Angioödeme, Ödeme oder Erytheme, aber auch Vomitus, Diarrhoe, Tachypnoe, Tachykardie, Hypotension und andere Schockanzeichen können hier beobachtet werden (Yagi und Holowaychuk 2016). Beim Auftreten einer allergischen Transfusionsreaktion ist die Transfusion sofort zu unterbrechen. Je nach Schweregrad kann eine Behandlung mit Antihistaminika oder auch Epinephrin notwendig sein (Odunayo et al. 2021).

Darüber hinaus kann es durch verschiedene Mechanismen während oder innerhalb von 6 – 24 Stunden nach der Transfusion zu Dyspnoe kommen. Respiratorische Transfusionsreaktionen werden unterteilt in TRALI (transfusion related acute lung injury), TACO (transfusion-associated circulatory overload) und TAD (transfusion-associated dyspnea) (Davidow et al. 2021a). Beim Auftreten einer respiratorischen Transfusionsreaktion sollte die Transfusion ebenfalls unterbrochen werden, gegebenenfalls müssen Notfallmaßnahmen ergriffen werden. Je nach Ursache der Dyspnoe kann eine gezielte Therapie eingesetzt werden. TRALI beschreibt eine akute Transfusionsreaktion, bei der wenige Minuten bis Stunden nach Transfusionsbeginn ein Lungenödem entsteht (Yagi und Holowaychuk 2016). Dabei handelt es sich um eine immunologische Reaktion sekundär zu einer Antigen-Antikörper Interaktion in der Lunge. Eine gezielte Therapie ist durch Infusionstherapie, den Einsatz von Vasopressoren sowie ggf. Sauerstoffzufuhr möglich (Odunayo et al. 2021). In der Veterinärmedizin hat diese Reaktion bei Einhaltung der Regeln der Transfusionsmedizin eine geringere Bedeutung: In einer Studie, in der TRALI bei 3,7% der Hunde auftrat, konnte kein signifikanter Unterschied zum Auftreten einer nicht durch Transfusionen hervorgerufenen ALI (acute lung injury) festgestellt werden (Thomovsky und Bach 2014). Nach einer retrospektiven Studie konnte diese Reaktion allerdings bei 9% der Hunde nach Erythrozytenkonzentrat-Transfusionen beobachtet werden (Holowaychuk et al. 2014). Hingegen stellt TACO eine häufigere Komplikation in der Veterinärmedizin dar. Sie wird durch die Transfusion großer Volumina provoziert. Die Inzidenz liegt beim Hund bei 4,7% (Davidow et al. 2021a). In schweren Fällen kann es über eine Tachypnoe oder Dyspnoe auch zu Zyanosen kommen. Besonders prädisponiert sind hier Patienten mit kardiologischen,

pulmonalen oder renalen Vorerkrankungen. Bei diesen Patienten sollte aus diesem Grund eine Transfusionsrate von 4 ml/kg/h nicht überschritten werden (Prittie 2003). Diagnostisch lässt sich TACO durch Radiographie, Echokardiographie oder die Messung des proBNPs feststellen. Die Therapie mit Furosemid kann in diesem Fall der Volumenüberladung entgegenwirken (Odunayo et al. 2021). Beim Auftreten akuter Dyspnoe innerhalb von 24 Stunden nach der Transfusion und nach Ausschluss von TRALI, TACO, einer allergischen Transfusionsreaktion oder einer zugrundeliegenden Atemwegserkrankung, spricht man von TAD. Die Inzidenz liegt beim Hund bei 2% – 6,3% (Davidow et al. 2021a).

Weiterhin können nicht immunologische Faktoren sekundär durch Stimulation der Vasodilatation zu einer hypotensiven Transfusionsreaktion (HyTR) führen. Durch Aktivierung von Faktor XII kommt es dabei zur Konversion von Kininogen zu Bradykinin, wodurch die Vasodilatation sowie auch die Gefäßpermeabilität gesteigert wird. In der Veterinärmedizin wurde allerdings bisher noch kein Fallbericht einer HyTR beschrieben (Davidow et al. 2021a).

Bei der Verabreichung massiver Transfusionen sind weitere Komplikationen zu beachten. So kann es durch Zitratintoxikation bei der Transfusion von hohen Volumina an Plasma oder Vollblut zur Bindung von ionisiertem Kalzium und dadurch zur Hypokalzämie kommen. Des Weiteren könnte die Anhäufung von Kalium in gelagerten Blutprodukten bei massiven Transfusionen zur Hyperkaliämie beitragen (Tocci 2010, Ghosal und Bos 2019). Aus diesem Grund wird bei der Verabreichung größerer Transfusionsvolumina eine Kontrolle der Elektrolyte sowie des ionisierten Kalziums empfohlen (Odunayo et al. 2021).

Verzögerte Transfusionsreaktionen verlaufen meist mild, haben aber einen Einfluss auf die Lebensspanne der transfundierten Erythrozyten, welche ohne hämolytische Reaktion ca. 100 Tage beträgt (Dacie 1979, Novinger et al. 1996). Sie entstehen durch Bildung von Alloantikörpern und daraus verursachter Hämolyse und äußern sich in einem Hämatokritabfall, Ikterus und in seltenen Fällen auch in Hämoglobinämie und Hämoglobinurie (Novinger et al. 1996). Häufig sind weitere Transfusionen indiziert, wodurch das Risiko für das Auftreten von schweren akuten hämolytischen Transfusionsreaktionen zusätzlich erhöht wird (Callan et al. 1995).

Der Antikörpertiter gegen Alloantigene kann nach einer inkompatiblen Transfusion deutlich ansteigen. Bei noch nie transfundierten Hunden liegt dieser zwischen <1:2 und 1:8 (Spada et al. 2016a). Eine Studie (Young et al. 1949) berichtet über einen Antikörper-Titer von 1:256 nach der Transfusion einer inkompatiblen Vollblutkonserve im Vergleich zu 1:2 vor der Transfusion, wodurch bei zuvor transfundierten Patienten eine vergleichsweise stärker ausgeprägte Hämoglobinämie resultierte. Eine spätere Studie berichtet sogar von einem Antikörpertiter von 1:1024 vier Wochen nach Sensibilisierung durch eine inkompatible

Transfusion (Goulet und Blais 2018). In der Humanmedizin wird zwischen einer verspäteten hämolytischen Transfusionsreaktion und einer verspäteten serologischen Transfusionsreaktion unterschieden (Ness et al. 1990, Pineda et al. 1999). Die Inzidenz für das Auftreten von Hämolyse infolge einer Alloimmunisierung ist in der Humanmedizin äußerst gering. In einer Studie entwickelten lediglich 18% der Patienten, welche Alloantikörper gebildet haben, auch Anzeichen einer Hämolyse (Ness et al. 1990). Während in der beschriebenen Studie lediglich 0,12% der Patienten eine verspätete hämolytische Transfusionsreaktion entwickelten, wurde in einer veterinärmedizinischen Studie bei 20,38% der transfundierten Hunde eine verspätete Transfusionsreaktion (Rektaltemperatur $> 39,0^{\circ}\text{C}$, unerwarteter Hämatokritabfall oder Hyperbilirubinämie 5 – 10 Tage nach der Transfusion) beobachtet (Holowaychuk et al. 2014).

Durch Typ III Hypersensitivitätsreaktionen kann es auch zur Komplexbildung und Ablagerung dieser kommen, welche infolgedessen z.B. eine Glomerulonephritis oder Vaskulitis verursachen können. In sehr seltenen Fällen können sich durch eine sekundäre Immunantwort Alloantikörper gegen spezifische Thrombozytenantigene bilden und zu Purpura führen (Yagi und Holowaychuk 2016). Dies wurde in einer Studie beim Hund mit Hämophilie A nach mehreren Transfusionen von Vollblut und frisch gefrorenem Plasma beschrieben (Wardrop et al. 1997a). Durch die Bildung von Thrombozyten-bindenden IgG kam es hier zu einer hochgradigen Thrombozytopenie mit Blutungsneigung innerhalb von ein bis zwei Wochen nach der Transfusion. Aufgrund der immunologischen Ursache ist hier der Einsatz von Corticosteroiden oder Immunglobulinen indiziert (Odunayo et al. 2021).

Des Weiteren wird in der Humanmedizin eine Immunmodulation durch Transfusionen beschrieben. Klinisch ist dies mit neuen oder sich verschlechternden Organdysfunktionen, der Entwicklung einer nosokomialen Infektion und einem Wiederauftreten von Neoplasien nach anfänglicher Remission assoziiert, was auf eine dysregulierte Immunantwort des Empfängers hindeutet. Diese kann sich entweder durch einen immunsuppressiven oder auch durch einen pro-inflammatorischen Effekt äußern. Der Mechanismus ist noch nicht genau erforscht. Man geht davon aus, dass verschiedene Mediatoren, wie beispielsweise intakte Leukozyten und/oder lösliche von Leukozyten abgeleitete Mediatoren, die gelagerten Erythrozyten selbst, Thrombozyten und von Thrombozyten abgeleitete Mediatoren, bioaktive Lipide und extrazelluläre Vesikel eine Rolle spielen (Remy et al. 2018). Die klinischen Auswirkungen für den Empfänger sind variabel und variieren unter anderem je nach zugrunde liegendem Entzündungszustand und/oder Immunsuppression eines Patienten zum Zeitpunkt der Transfusion. Insbesondere kritisch kranke Patienten weisen häufig sowohl eine übersteigerte systemische Entzündung als auch eine Immunsuppression auf (Vamvakas und Blajchman

2007, Goubran et al. 2017, Muszynski et al. 2017). In der Veterinärmedizin wurde diese Reaktion bisher noch nicht untersucht.

Das Risiko der Kontamination von Blutkonserven wird durch Spenderscreening, Abnahmetechnik und spezielle Lagerungsbedingungen weitgehend minimiert. Die meisten nachgewiesenen Bakterien gehören zur ubiquitären Keimflora, kommen nur in geringen Mengen vor und werden nicht mit septischen Transfusionsreaktionen in Verbindung gebracht (Miglio et al. 2016). Jedoch wird vermutet, dass durch fehlendes mikrobielles Screening auftretende Transfusionsreaktionen falsch klassifiziert werden könnten (Stefanetti et al. 2016). Einen Hinweis auf bakterielle Kontamination kann eine mögliche Farbveränderung der Konserve geben. In einer Studie konnten bei Konserven, welche in Folge von Farbveränderung untersucht wurden, eine bakterielle Besiedlung von $1,18 \times 10^7$ bis $5,22 \times 10^8$ GE/ml nachgewiesen werden (Stefanetti et al. 2016). Aus diesem Grund ist eine tägliche visuelle Kontrolle der Blutkonserven angeraten (BVL 2011)

2.5.2. Prävalenz verschiedener Transfusionsreaktionen

In einer Studie, in welcher die Prävalenzen verschiedener Transfusionsreaktionen infolge von Erythrozytenkonzentrat-Transfusionen bei Hunden erfasst wurden, traten 85% der Transfusionsreaktionen in Form febriler, nicht hämolytischer Transfusionsreaktionen [FNHTR], 71,3% in Form von verzögerten Transfusionsreaktionen [DTR], 8,3% in Form akuter hämolytischer Transfusionsreaktionen [AHTR] und 1,7% in Form anaphylaktischer Transfusionsreaktionen auf. Darüber hinaus wurde nach 10,8% der Transfusionen eine akute Niereninsuffizienz [AKI], während 9% der Transfusionen eine akute Lungeninfiltration [ALI] und bei 7,2% der Transfusionen eine Pneumonie festgestellt. Während weiteren 9,9% der Transfusionen kam es zu Infektionen und bei 9% der Transfusionen zu einer Volumenüberladung [TACO] (Holowaychuk et al. 2014). In einer weiteren Studie, in welcher bei 25% der Transfusionen Komplikationen auftraten, wurde am häufigsten eine FNHTR (12,3%), gefolgt von dem Auftreten einer transfusionsinduzierten Hämolyse (6,3%) diagnostiziert (Maglaras et al. 2017). Ebenfalls eine hohe Prävalenz für das Auftreten einer FNHTR zeigte sich in folgender Studie: Von 307 Hunden, welche transfundiert wurden, entwickelten 3,3% eine Transfusionsreaktion. Während vier Transfusionen trat eine FNHTR auf. Zwei Hunde entwickelten aufgrund einer anaphylaktischen Reaktion ein Gesichtssödem und vier Hunde zeigten Vomitus (Callan et al. 1996). In einer weiteren Studie, in welcher bei 3,8% der Hunde eine Transfusionsreaktion auftrat, wurde während 15 Transfusionen eine FNHTR, während sieben Transfusionen eine AHTR und bei drei Transfusionen eine anaphylaktische Reaktion beobachtet. Zwei Hunde entwickelten eine transfusionsbedingte Volumenüberladung (Haines et al. 2022).

2.5.3. Risikofaktoren und Prävention

In mehreren Studien wurde versucht, Risikofaktoren für das Auftreten von Transfusionsreaktionen oder eine schlechtere Überlebensrate zu beschreiben (Godinho-Cunha et al. 2011, Hann et al. 2014, Holowaychuk et al. 2014). Anders als erwartet, konnte bisher kein Zusammenhang zwischen dem Alter der Blutprodukte und dem Auftreten von Transfusionsreaktionen beobachtet werden (Hann et al. 2014, Holowaychuk et al. 2014). Auch das Auftreten von Transfusionsreaktionen konnte nicht mit einer niedrigeren Überlebensrate in Zusammenhang gebracht werden (Holowaychuk et al. 2014). Jedoch korrelierte der Hämatokrit vor der Transfusion, der Hämatokritanstieg durch die Transfusion sowie das transfundierte Volumen mit der Prävalenz von Transfusionsreaktionen sowie der Überlebensrate (Godinho-Cunha et al. 2011, Hann et al. 2014, Holowaychuk et al. 2014). So wurde in einer Studie die Transfusion höherer Volumina mit dem Auftreten von Transfusionsreaktionen in Verbindung gebracht (Hann et al. 2014). Während hier keine Korrelation mit der Überlebensrate ersichtlich war, wurde in einer weiteren Studie ein höherer Hämatokrit vor der Transfusion sowie ein höheres Transfusionsvolumen mit einer niedrigeren Überlebensrate in Verbindung gebracht (Holowaychuk et al. 2014).

Eine Prämedikation mit Antihistaminika oder Glukokortikoiden scheint keinen Effekt auf das Auftreten von Transfusionsreaktionen zu haben. Ausgenommen ist die Prämedikation mit Diphenhydramin, was die Prävalenz für das Auftreten von allergischen Reaktionen vermindern kann (Bruce et al. 2015). Auch die Auswirkungen auf eine mögliche Alloimmunisierung ist denkbar. In der Humanmedizin ist aus diesem Grund neben der Kompatibilitätstestung bei Patienten mit einem erhöhten Risiko für die Bildung von Alloantikörpern im Falle einer Transfusion eine Prämedikation mit Glukokortikoiden angeraten (Pirenne 2019). Aufgrund der vielfältigen unerwünschten Nebenwirkungen ist eine standardisierte immunmodulierenden Prämedikation jedoch nicht indiziert (Odunayo et al. 2021).

2.6. Alloimmunisierung

Unter Alloimmunisierung versteht man die Bildung von Antikörpern gegen Oberflächenantigene fremder Erythrozyten. Im Gegensatz zu Menschen oder auch Katzen haben Hunde keine oder nur wenige natürliche Alloantikörper (Goy-Thollot et al. 2017). Die Bildung wird jedoch durch Transfusionen von Erythrozyten oder auch Thrombozyten mit fremdartigen Antigenen induziert (Zaremba et al. 2019). In der Humanmedizin wird eine Alloantikörperbildung nach einer einmaligen Transfusion lediglich bei 1,8% - 2,1% der Patienten beschrieben (Zalpuri et al. 2012, Evers et al. 2016). In einer früheren Studie konnte die Bildung von Alloantikörpern bei 10,49% der Patienten und davon bei 6,67% innerhalb von 4 Tagen, bei 6,67% innerhalb von 14 Tagen, bei 20% innerhalb von 3 Monaten und bei 66,67%

innerhalb von 6 Monaten nachgewiesen werden (Alves et al. 2012). Jedoch wird angenommen, dass lediglich 1/3 der gebildeten Alloantikörper auch tatsächlich detektiert werden (Stack und Tormey 2016). Zudem ist die Alloimmunisierung von verschiedenen Faktoren abhängig: So ist das Risiko einer Alloimmunisierung bei Patienten mit Infektionen, chronischen Autoimmunerkrankungen oder bestimmten Erkrankungen, wie beispielsweise Sichelzellanämie, erhöht (Cox 1988, Evers et al. 2016, Ryder et al. 2016). Des Weiteren spielen die Anzahl an benötigten Transfusionen, die Erweiterung der Blutgruppentypisierung sowie die Behandlung mit Immunsuppressiva eine bedeutende Rolle bei der Alloimmunisierung (Zalpuri et al. 2012, Zalpuri et al. 2014, Fasano et al. 2019).

Im Vergleich zum Hund ist das Vorhandensein von Antikörpern vor einer initialen Transfusion bei Katzen weitverbreitet und wurde in verschiedenen Studien beschrieben (Weltman et al. 2014, McClosky et al. 2018, Sylvane et al. 2018). Zudem konnte auch hier eine Alloimmunisierung nach AB-kompatibler Transfusion zum Teil auch schon innerhalb von 2-3 Tagen nach initialer Transfusion nachvollzogen werden (McClosky et al. 2018). Die Bildung von Alloantikörpern außerhalb des AB-Blutgruppensystems konnte weiterhin innerhalb von 5-7 Tagen infolge einer inkompatiblen Transfusion durch einen geringen bis moderaten Antikörpertiter nachgewiesen werden (Cannavino et al. 2022). In einer weiteren Studie, in welcher sowohl vor, als auch an jedem zweiten Tag nach erfolgter Transfusion, Kreuzproben durchgeführt wurden, wurden Anzeichen einer möglichen Alloimmunisierung zwischen dem 2. und 10. Tag (Median: 5) bei 25% der Katzen deutlich (Hourani et al. 2017). Klinische Auswirkungen konnten in diesen Studien allerdings nicht beobachtet werden. Dennoch wird die Durchführung von Kreuzproben bei Katzen möglichst vor jeder, wenigstens jedoch bei einer weiteren Transfusion 2 Tage nach initialer Transfusion angeraten (Davidow et al. 2021b, Taylor et al. 2021).

Aus verschiedenen Studien, die die Bildung von Antikörpern bei Katzen nach einer Xenotransfusion untersucht haben, wurde deutlich, dass sich kurz nach der Transfusion ein Antikörper-Titer entwickeln kann, welcher zu einer verzögerten oder auch akuten Hämolyse sowie bei einer weiteren Transfusion innerhalb von 4-7 Tagen auch eine gravierende akute Transfusionsreaktion auslösen kann (Bovens und Gruffydd-Jones 2013, Le Gal et al. 2020, Deschamps et al. 2022, Tinson et al. 2022). Obgleich die Prävalenz für das Vorkommen natürlicher Antikörper gegen canine Erythrozyten relativ hoch ist (Priolo et al. 2018), wurden bisher bei einer einmaligen Xenotransfusion keine gravierenden Transfusionsreaktionen beschrieben (Bovens und Gruffydd-Jones 2013). In einer aktuellen Studie wurde jedoch nach 25% der Xenotransfusionen eine akute Hämolyse beobachtet. Allerdings wurden lediglich in wenigen Fällen Kriterien einer AHTR erfüllt und das Auftreten von Hämolyse konnte nicht mit einer niedrigeren Überlebensrate in Verbindung gebracht werden (Tinson et al. 2022).

Auch beim Hund wurde das Vorhandensein natürlicher Alloantikörper in verschiedenen Studien nachgewiesen (Hale 1995, Hale und Werfelmann 2006, Young et al. 1952, Spada et al. 2016a, Spada et al. 2016b, Odunayo et al. 2017). Jedoch wurden bisher keine akuten Transfusionsreaktionen nach einer Ersttransfusion beschrieben. Die Bildung von Alloantikörpern infolge einer Transfusion konnte beim Hund bereits in verschiedenen Studien nachgewiesen werden. In zwei Studien (Blais et al. 2007, Goulet und Blais 2018), welche die Blutgruppe Dal untersucht haben, wurde die Alloimmunisierung gegen diese Blutgruppe deutlich. Eine Bildung von Alloantikörpern war ab dem vierten Tag nach initialer Transfusion nachvollziehbar (Blais et al. 2007). Alloantikörper gegen die Blutgruppen Kai 1 und Kai 2 wurden erstmals 21 Tage nach inkompatibler Transfusion nachgewiesen (Lee et al. 2017). In einer weiteren Studie, in welcher die Bildung von Alloantikörpern nach mehrmaliger Transfusion einer geringen Menge DEA 1 inkompatiblen Erythrozytenkonzentrat untersucht wurde, konnte die Bildung von Alloantikörpern zwischen 16 und 37 Tagen nach der ersten Transfusion nachvollzogen werden (Guidetti et al. 2019). In einer weiteren Studie, in welcher Kreuzproben zwischen dem 11. und 22. sowie zwischen dem 26. und 129. Tag nach der Transfusion wiederholt wurden, konnte eine Alloimmunisierung bei 20% der Hunde schon in der ersten Periode und im weiteren Verlauf sogar bei 46% festgestellt werden (Goy-Thollot et al. 2017). In einer weiteren Studie entwickelten 10 von 14 Empfänger-Spender-Paaren im weiteren Verlauf (zwischen dem 13. und 99. Tag) eine Inkompatibilität (Kessler et al. 2010).

Obgleich die gebildeten Alloantikörper teilweise mehrere Jahre nachweisbar sein können (Goulet und Blais 2018, Guidetti et al. 2019), wurde in der Humanmedizin zum Teil ein Rückgang oder auch ein Verschwinden der Antikörper wenige Monate bis Jahre nach dem Auftreten nachgewiesen (Ramsey und Larson 1988, Tormey und Stack 2009). Bei weiteren Transfusionen könnte es dadurch zum Übersehen bereits gebildeter Alloantikörper und so zur Induktion eines starken Titeranstiegs kommen (Tormey und Hendrickson 2019). Ein Rückgang der Agglutination wurde auch in einer veterinärmedizinischen Studie nach initialer Alloimmunisierung beschrieben (Kessler et al. 2010). Klinische Auswirkungen dieses Phänomens wurden in der Veterinärmedizin bislang allerdings nicht untersucht.

3. Material und Methoden

3.1. Alloimmunisierung bei Hunden infolge einer Transfusion

3.1.1. Studienpopulation

Zur Studienpopulation zählten anämische Hunde, die während ihres Klinikaufenthaltes in der Klein- und Heimtierklinik der Freien Universität Berlin transfundiert wurden und an mindestens 4 darauffolgenden Tagen untersucht werden konnten. Ausschlusskriterien waren eine persistierende Erythrozyten-Agglutination sowie vorherige Transfusionen. Die möglicherweise zusätzliche Blutabnahme erfolgte im Rahmen eines Tierversuchs (Landesamt für Gesundheit und Soziales Berlin; Tierversuch - Anzeigenummer: O 0246/19). Die Einwilligung des Patientenbesitzers wurde für die Verwendung von Proben für Forschungszwecke erteilt. Innerhalb dieses Untersuchungszeitraums wurden darüber hinaus alle durchgeführten Transfusionen evaluiert.

3.1.2. Blutspende und Aufbereitung der Blutkonserven

Die Blutspende von 10 ml/kg erfolgte in Seitenlage nach gründlicher Rasur und Desinfektion der Punktionsstelle aus der *Vena jugularis* (Landesamt für Gesundheit und Soziales Berlin; Tierversuch – Anzeigenummer: O 0148/19). Je nach Verwendungszeck wurde ein Einfachbeutelssystem (CompoFlex Single, Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg, Deutschland) mit CPDA-1 [Citrat-Phosphat-Dextrose-Adenin] als Antikoagulanzen zur Gewinnung von Vollblut oder ein Mehrfachbeutelssystem (CompoFlex Triple, Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg, Deutschland) mit CPD [Citrat-Phosphat-Dextrose] als Antikoagulanzen und PAGGSM [Phosphat-Adenin-Guanin-Glukose-Sorbit-Manitol] als Additivlösung zur Herstellung von frisch gefrorenem Plasma [FFP] oder plättchenreichem Plasma [PRP] und Erythrozytenkonzentrat verwendet. Vollblut wurde möglichst zur sofortigen Anwendung innerhalb der ersten acht Stunden nach Abnahme als frisches Vollblut verwendet. Eine Lagerung war höchstens bis zu 21 Tage möglich. Zur Herstellung von Erythrozytenkonzentrat wurde das Vollblut bei 3600 U/min bei 4°C für 20 Minuten zentrifugiert und anschließend mittels Plasmapresse aufgetrennt. Durch Zugabe der Additivlösung war eine Lagerung von einem Monat bei 4°C möglich.

3.1.3. Transfusion

Die Entscheidung zur Transfusion wurde von dem jeweiligen behandelnden Tierarzt unter Berücksichtigung klinischer und hämatologischer Parameter getroffen. Vor jeder Transfusion wurde ein Blutbild, inkl. Mikrohämatokritmessung, eine Blutchemie sowie gegebenenfalls weitere diagnostische Verfahren zur Abklärung der Ursache der Anämie durchgeführt. Neben der Anämieform wurde zudem eine eventuelle Vorbehandlung oder Behandlung mit

Immunsuppressiva erfasst. Die Blutgruppe DEA 1 wurde sowohl beim Empfänger als auch beim Spender mit einem immunchromatographischen Verfahren (Lab Test Blood Typing; Alvedia, Limonest, France) typisiert. Die Transfusion erfolgte unter Ausnutzung der Schwerkraft über einen 200µl In-Line-Filter (Sangofix, B. Braun, Melsungen, Deutschland) entweder über einen peripheren venösen Zugang oder über einen zentralen Venenkatheter in die *V. jugularis*. Während der Transfusion wurden alle 15 Minuten die Herzfrequenz, Atemfrequenz, Rektaltemperatur sowie Farbe und Feuchtigkeit der Schleimhäute beurteilt. Anschließend, d.h. 3 bis 8 Stunden nach der Transfusion, wurde der Mikrohämatokrit kontrolliert. Es wurde ein Hämatokritanstieg von 1% pro 1 ml/kg transfundiertem Erythrozytenkonzentrat bzw. 2 ml/kg transfundiertem Vollblut erwartet (Kohn und Weingart 2017). Darüber hinaus wurden möglichst an den ersten 4 Tagen nach der Transfusion täglich und anschließend bei weiteren Verlaufsuntersuchungen Hämatokrit und Bilirubinkonzentration kontrolliert. Veränderungen im Verlauf wurden unter Berücksichtigung der Grunderkrankung auf das mögliche Auftreten von Transfusionsreaktionen untersucht.

3.1.4. Probenmaterial

Für die Durchführung von Kreuzproben wurde je eine Blutprobe des Spenders und des Empfängers benötigt. Als Empfängerprobe diente eine EDTA-Blutprobe, welche im Rahmen der Blutbildkontrolle abgenommen wurde. Diese wurde möglichst sofort, jedoch spätestens nach 72 Stunden Lagerung bei 4°C verwendet. Die Spenderblutprobe wurde aus der Blutkonserve in einem Blutprobenröhrchen ohne Antikoagulanzen asserviert. Die Entnahme erfolgte über eine sterile Spritze mit einer 20G Kanüle entweder während der Herstellung des Erythrozytenkonzentrats oder direkt vor der Transfusion. Die Spenderblutproben wurden bei 4°C bis zur Transfusion und darüber hinaus bis zum Ende des Untersuchungszeitraums gelagert.

3.1.5. Kreuzproben

Kreuzproben wurden vor der Transfusion sowie an Tag 1, 2, 3 und 4 sowie wenn möglich bei Verlaufsuntersuchungen zwischen dem 5. und 28. Tag mit dem Röhrchen-Agglutinationsverfahren durchgeführt (Blais et al. 2007). Für die Kreuzproben wurden je 200 µl Vollblut vom Empfänger sowie 100 µl Erythrozytenkonzentrat vom Spender verwendet. Neben jeder Major-Kreuzprobe wurde auch eine Empfängerkontrolle durchgeführt.

Empfänger-Vollblut und Spender-Erythrozytenkonzentrat wurden bei 2000 U/min (Zentrifuge: Häma Pico 17; Heraeus; Thermo Fischer Scientific Inc., Waltham, USA) für 2 Minuten zentrifugiert. Das Empfänger-Plasma wurde abpipettiert und in einem weiteren Röhrchen für die Kreuzprobe verwahrt. Die Probe wurde auf Anzeichen von Hämolyse oder einer Hyperbilirubinämie untersucht. Spender- und Empfänger-Erythrozytenkonzentrat wurden

dreimal gewaschen. Dafür wurde dem Erythrozytenkonzentrat 500 μ l PBS-Lösung zugesetzt und erneut bei 2000 U/min für 1 Minute zentrifugiert. Der Überstand wurde abpipettiert und der Vorgang wurde zweimal wiederholt. Zur Herstellung einer 3-5%igen Erythrozytenkonzentrat-Lösung wurden 500 μ l PBS mit 20 μ l Erythrozytenkonzentrat vermischt. Für die Major-Kreuzprobe wurden 2 Tropfen (50 μ l) des Empfängerplasmas mit 1 Tropfen (25 μ l) der Spender-Erythrozytenkonzentrat-Lösung vermischt. Zur Herstellung der Empfängerkontrolle wurden 2 Tropfen (50 μ l) des Empfängerplasmas mit 1 Tropfen (25 μ l) der Empfänger-Erythrozytenkonzentrat-Lösung vermischt (Abbildung 1). Die Probenröhrchen wurden anschließend verschlossen und für 15 Minuten bei 37°C inkubiert. Daraufhin wurden die Kreuzproben-Röhrchen zentrifugiert (15 sec. bei 1000U/min [Zentrifuge: Hettich Eba 20, Hettich, Tuttlingen, Deutschland]). Zur makroskopischen Beurteilung wurde zunächst der Überstand auf Hämolyse untersucht. Nachfolgend wurde die Probe durch Tippen gegen das Röhrchen resuspendiert. Ein Tropfen dieser Probe wurde auf einem Objektträger untersucht. Der Grad der makroskopischen Agglutination wurde mit 0 – +++ (0 = keine, + = geringgradig, ++ = mittelgradig, +++ = hochgradig) beurteilt. Bei der anschließenden mikroskopischen Beurteilung wurde innerhalb von 60 Sekunden zunächst bei einer 100-fachen und schließlich bei einer 500-fachen Vergrößerung auf Erythrozyten-Agglutination untersucht. Der Grad der Agglutination wurde hier mit 0 – +++++ (0 = keine Agglutination, + = viele feine Agglutinate, ++ = mehrere große und kleine Agglutinate, +++ = mehrere große Agglutinate, +++++= 1-2 große Agglutinate) beschrieben. Eine Kreuzprobe galt bei einem mikroskopischen Agglutinationsgrad von $\geq 1+$ als positiv.

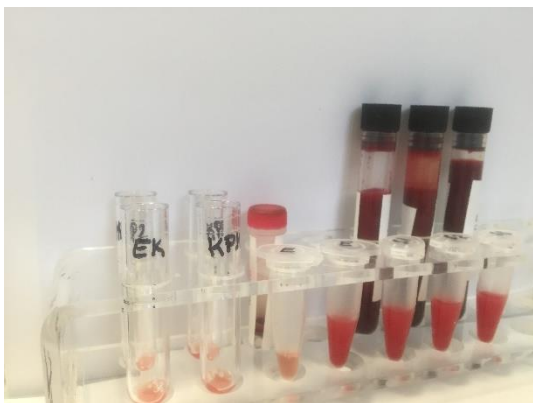


Abbildung 1: Durchführung von Kreuzproben mit dem Röhrchen-Agglutinationsverfahren

Die Durchführung erfolgte immer von derselben Person. Die Ergebnisse wurden photographisch dokumentiert und von einer zweiten Person ausgewertet, geblindet zu den Ergebnissen der durchführenden Person.

3.1.6. Statistische Analysen

Um die 4-Tage-Regel zu überprüfen, wurde die Null-Hypothese aufgestellt, dass 5% der Hunde bis zum 4. Tag nach der Transfusion Alloantikörper gegen die transfundierten Erythrozyten bilden. Um diese Hypothese zu überprüfen, wurde eine Studienpopulation von 21 transfundierten Hunden berechnet.

Die statistische Auswertung erfolgte über IBM SPSS Statistics 27 (IBM Corp. Released 2020. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 27.0. Armonk, NY: IBM Corp). Es wurde eine deskriptive Datenanalyse mit folgenden Parametern vorgenommen: Signalement, Erkrankung der Patienten/ Indikation für die Transfusion, Behandlung mit Immunsuppressiva, Blutgruppe, Kreuzprobenergebnisse, Lagerungsdauer der Konserve und transfundiertes Volumen (ml/kg), Auftreten von Transfusionsreaktionen, Hämatokrit vor der Transfusion sowie Hämatokritanstieg durch die Transfusion.

Mögliche Korrelationen zwischen 1. der Differenz des Hämatokritanstiegs und dem Transfusionsvolumen sowie der Lagerungsdauer wurden mit dem Spearman-Rho Test, mit den verschiedenen Anämieformen (Blutungsanämie im Vergleich zu anderen Anämieformen) sowie dem Auftreten positiver Kreuzproben vor der Transfusion mit dem Mann-Whitney-U-Test und mit dem Auftreten von Transfusionsreaktionen mit dem Exakten Test nach Fischer, 2. Korrelationen zwischen der Alloimmunisierung innerhalb von 4 Tagen nach der Transfusion und der Anämieform (Blutungsanämie im Vergleich zu anderen Anämieformen), des Transfusionsvolumens, der Lagerungsdauer der Blutkonserven und der Gabe von Immunsuppressiva zum Zeitpunkt der Transfusion wurden mittels logistischer Regression, 3. zwischen der Abnahme der Agglutination innerhalb des Untersuchungszeitraums und der Anämieform (Blutungsanämie im Vergleich zu anderen Anämieformen), des Transfusionsvolumens, der Lagerungsdauer der Blutkonserven und der Gabe von Immunsuppressiva mittels logistischer Regression und 4. zwischen dem Kreuzprobenergebnis und der Lagerungsdauer der Blutkonserve bzw. der Spenderblutproben mit dem Mann-Whitney-U-Test bestimmt. Als signifikant wurden alle p-Werte $\leq 0,05$ angesehen.

3.2. Evaluation verschiedener Kreuzprobenmethoden im Vergleich zum Röhren-Agglutinationsverfahren beim Hund

3.2.1. Studienpopulation

Für die Evaluation verschiedener Kreuzprobenmethoden im Vergleich zum Röhren-Agglutinationsverfahren wurden ebenfalls sowohl Blutproben jeweils eines Spenders und eines Empfängers benötigt. Als Empfänger-Blutproben dienten EDTA-Blutproben von gesunden Hunden, welche im Rahmen einer Blutspende-Voruntersuchung entnommen wurden, von Hunden, welche eine Bluttransfusion benötigten oder von Hunden, welche bereits

eine Bluttransfusion erhalten hatten und deren Blutbild kontrolliert wurde. In diesem Rahmen wurden lediglich Reste von zu diagnostischen Zwecken entnommenen Proben verwendet. Als Spenderblutproben dienten Proben der Blutkonserven. Die Entnahme erfolgte, wie in Kapitel 3.1.4. dieser Arbeit beschrieben, über eine sterile Spritze mit einer 20G Kanüle entweder während der Herstellung des Erythrozytenkonzentrats oder direkt vor der Transfusion. Die Spenderblutproben wurden in einem Röhrchen ohne Zusatz eines weiteren Antikoagulanz bei 4°C bis zur Durchführung der Kreuzproben gelagert.

3.2.2. Kreuzproben

Der Vergleich der verschiedenen Kreuzproben Methoden erfolgte an 28 Kreuzproben-Paaren, welche zuvor durch das konventionelle Röhrchen-Agglutinationsverfahren getestet wurden. Die Durchführung des Röhrchen-Agglutinationsverfahrens erfolgte, wie bereits in Kapitel 3.1.5. dieser Arbeit beschrieben. Die Proben wurden mit folgender Verteilung der Kreuzprobenergebnisse, bezogen auf das Röhrchen-Agglutinationsverfahren, ausgewählt: Zehn negative Kreuzproben, zehn nur mikroskopisch positive Kreuzproben verteilt auf die verschiedenen Agglutinationsgrade 1+ - 4+ und 8 makroskopisch positive Kreuzproben verteilt auf die verschiedenen Agglutinationsgrade 1+ - 3+. Alle Proben wurden zusätzlich zum konventionellem Röhrchen-Agglutinationsverfahren mit einem kommerziellen Gel-Röhrchen Test (RapidVet-H-Major Crossmatch, DMS Laboratories, Flemington, New Jersey), einem durch Antiglobuline verstärkten Gel-Röhrchen Verfahren (Gel Test Major Canine Crossmatch, Alvedia, Limonest, France), sowie einem immunchromatographischen Verfahren (LabTest Crossmatch Canine, Alvedia, Limonest, France) durchgeführt. Die Durchführung der Testkits erfolgte nach Herstellerangaben. Um die Stabilität der Ergebnisse beurteilen zu können, wurden die Test-Ergebnisse sowohl sofort sowie am Folgetag abgelesen. Zusätzlich wurde die Zeit, welche für die Durchführung der Kreuzproben benötigt wurde, gemessen.

Die Durchführung erfolgte auch in dieser Untersuchung immer von derselben Person. Die Ergebnisse wurden photographisch dokumentiert und von einer zweiten Person ausgewertet, geblindet zu den Ergebnissen der durchführenden Person.

3.2.3. Kreuzproben-Test-Kits

Die Durchführung der Kreuzproben mit den verschiedenen Test-Kits erfolgten nach Herstellerangaben. Insgesamt wurden 1 ml Empfänger-Vollblut und 100 µl Spender-Erythrozytenkonzentrat benötigt. Zur Separierung des Empfänger-Plasmas wurde das Vollblut bei 3000 U/min (Hettich Eba 270; Hettich, Tuttlingen, Deutschland) für 5 Minuten zentrifugiert.

3.2.3.1. Gel-Röhrchen Verfahren (GR)

Zur Durchführung der Kreuzprobe wurden 200 µl Empfänger-Plasma in das Reaktions-Röhrchen und 50µl Spender-Erythrozytenkonzentrat in das Präparier-Röhrchen mit einer NaCl-Lösung, speziell für den Gebrauch für immunohämatologische Testverfahren, pipettiert. Anschließend wurden je 100 µl aus dem Präparier-Röhrchen in ein Röhrchen für die Positiv-Kontrolle mit einem Lektin-Gemisch, in ein Röhrchen für die Negativ-Kontrolle mit einer NaCl-Lösung, speziell für den Gebrauch für immunohämatologische Testverfahren, sowie in das Reaktions-Röhrchen pipettiert. Nach einer Inkubation von fünf Minuten bei Raumtemperatur wurden je 50 µl aus jedem Röhrchen in das dazugehörige Gel-Röhrchen pipettiert. Anschließend wurden die Test-Röhrchen bei 3000 U/min (Zentrifuge: Häma Pico 17; Heraeus; Thermo Scientific GmbH, Schwerte, Deutschland) für 8 Minuten zentrifugiert. Agglutinierende Erythrozyten sinken nicht durch das Gel zum Boden, sind innerhalb des Gels sichtbar und zeigen so ein inkompatibles Testergebnis an, ungebundene Erythrozyten sinken bis zum Boden des Röhrchens und zeigen so ein kompatibles Testergebnis an.

3.2.3.2. Antiglobulin verstärktes Gel-Röhrchen Verfahren (AGR)

Zur Vorbereitung wurden die Gel-Tests (Gel tube + Gel support) für 2 Minuten bei 3000 U/min zentrifugiert. Daraufhin wurde 1ml einer ionenarmen Kochsalzlösung (LISS Reagenz) als Pufferlösung in ein Teströhrchen gefüllt und 10 µl Spender-Erythrozytenkonzentrat hinzugegeben. Von dieser Erythrozyten-Lösung wurden nun 50 µl in einem zweiten Teströhrchen mit 25 µl Empfänger-Plasma vermischt und bei Raumtemperatur für zehn Minuten inkubiert. Anschließend wurden 30 µl der Suspension in das Gel-Test-Röhrchen pipettiert und bei 1500 U/min für zehn Minuten zentrifugiert (spezielle Zentrifuge: Hettich Eba 270; Tuttlingen, Deutschland). Agglutinierende Erythrozyten sinken nicht durch das Gel zum Boden und werden innerhalb des Gels sichtbar. Je nach Lage der Erythrozyten im Gel ist eine Einteilung in verschiedene Agglutinationsgrade 1+ - 4+ möglich. Alle Ergebnisse $\geq 1+$ zeigen eine inkompatible Kreuzprobe an.

3.2.3.3. Immunchromatographisches Verfahren (ICS):

Zunächst wurden vier Tropfen der ersten Pufferlösung, eine ionenarme Kochsalzlösung (LISS Reagenz) in das Teströhrchen gegeben und mit 10 µl Spender-Erythrozytenkonzentrat vermischt. Anschließend wurden 120 µl Empfängerplasma hinzugegeben und mit der Erythrozytenkonzentrat-Lösung vermischt. Die Lösung wurde für zehn Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend erfolgte ein dreimaliger Waschvorgang mit PBS: Dafür wurden jeweils 3 ml PBS mit der Lösung vermischt und anschließend bei 3200 U/min (Hettich Eba 20; Tuttlingen, Deutschland) für 2 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde abpipettiert und verworfen. Nach 3 Waschvorgängen wurden drei Tropfen einer zweiten

Pufferlösung, eine Verdünnungslösung, welche in den Testkits enthalten ist, dem Sediment zugeführt und mit diesem vermischt. Nun konnte der Kreuzproben-Streifen in die Suspension gestellt werden. Nach bis zu zehn Minuten wird neben einem roten Kontrollstreifen eine Inkompatibilität als rote Test-Linie sichtbar.

3.2.4. Statistische Analysen

Die statistische Auswertung erfolgte über IBM SPSS Statistics 27 (IBM Corp. Released 2020. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 27.0. Armonk, NY: IBM Corp). Es erfolgte eine deskriptive Datenanalyse mit folgenden Parametern: Signalement, eventuelle Erkrankung und vorherige Transfusionen der Hunde, von denen die Empfänger-Proben stammten und die Anzahl an kompatiblen sowie inkompatiblen Proben (ggf. aufgeteilt in verschiedene Agglutinationsgrade) der verschiedenen Kreuzprobenverfahren.

Das Maß der Übereinstimmung der Ergebnisse der verschiedenen Kreuzproben Verfahren gegenüber dem Röhrchen-Agglutinationsverfahren wurde mit Cohens Kappa bestimmt. Mögliche Abweichungen wurden mit dem McNemar Test ausgewertet. Zur Berechnung der Spezifität und Sensitivität wurde das Röhrchen-Agglutinationsverfahren als ausgewählte Vergleichsmethode verwendet. Als signifikant wurden auch hier alle Werte $p \leq 0,05$ angesehen.

4. Ergebnisse

4.1. Alloimmunisierung bei Hunden infolge einer Transfusion

4.1.1. Evaluierung der Transfusionen innerhalb des

Untersuchungszeitraums

4.1.1.1. Studienpopulation

Während des Untersuchungszeitraums von Oktober 2019 bis Dezember 2020 erhielten insgesamt 99 Hunde 163 Erythrozyten-Transfusionen. 63 Hunde wurden einmalig transfundiert, 20 Hunde erhielten 2, 9 Hunde 3, 5 Hunde 4, 1 Hund 5 und 1 Hund 8 Erythrozyten-Transfusionen.

Die 99 Patienten waren 0 – 15 Jahre (M 8 Jahre) alt und wogen 0,4 – 69 kg (M 12,35 kg). 47 Hunde waren weiblich, 52 männlich. Eine Vielzahl von Rassen war vertreten. 55,6% wurden aufgrund einer Blutungsanämie, 42,2% aufgrund von Hämolyse, meist bedingt durch eine immunhämolytische Anämie (52,6%), und 2,2% aufgrund ineffektiver Erythropoese transfundiert. Ursache für eine Blutung waren in einem Großteil der Fälle Traumata (26,5%), gastrointestinale Blutungen (26,5%), Gerinnungsstörungen (24,6%) und Blutungen aufgrund Leber- oder Milzneoplasien (12,2%).

Eine Blutgruppentypisierung wurde bei 98 Hunden vor der Transfusion durchgeführt. 44,4% waren DEA 1 negativ und 54,5% DEA 1 positiv. Bei einem Hund konnte keine Blutgruppentypisierung vor der Transfusion durchgeführt werden. Hier wurde eine DEA 1 negative Blutkonserve gewählt. Bei der nachträglichen Blutgruppenbestimmung wurden bei dem Empfänger keine Blutgruppenantigene gegen die Blutgruppe DEA 1 detektiert. Einem Hund mit der Blutgruppe DEA 1 negativ wurde aufgrund fehlender Verfügbarkeit einmalig eine DEA 1 inkompatible Bluttransfusion (DEA 1 positiv) verabreicht.

4.1.1.2. Transfusionen

Innerhalb des Untersuchungszeitraums wurden 141 Erythrozytenkonzentrat-Transfusionen und 22 Vollblut-Transfusionen durchgeführt. Pro Transfusion wurden 1,5 ml/kg – 16,2 ml/kg (M 9 ml/kg) Erythrozytenkonzentrat und 6,1 ml/kg – 22,7 ml/kg (M 15 ml/kg) Vollblut verabreicht. Die Lagerungsdauer variierte bei Erythrozytenkonzentrat zwischen 0 und 30 Tagen (M 9 Tage, Standardabweichung 8,5 Tage). Hingegen wurde Vollblut vorwiegend frisch innerhalb von 24 Stunden verabreicht. Lediglich in 2 Fällen wurde Vollblut mit einer Lagerungsdauer von bis zu 6 Tagen transfundiert.

Die Entscheidung zur Transfusion wurde jeweils von dem behandelnden Tierarzt unter Berücksichtigung des Allgemeinbefindens, der jeweiligen Verdachtsdiagnose und der

Blutwerte getroffen. Der Hämatokrit vor der Transfusion betrug 0,07 l/l bis 0,38 l/l (M 0,17 l/l). Bei einem Großteil der Transfusionen (95,7%) betrug der Hämatokrit zuvor bis zu 0,25 l/l, bei 79,8% sogar bis zu 0,20 l/l. Lediglich bei 4,3% der Transfusionen lag der Hämatokrit vor der Transfusion über 0,25 l/l, bei 0,6% sogar über 0,30 l/l. In diesen Fällen war eine Transfusion aufgrund eines akuten Blutverlustes indiziert. Der Hämatokritanstieg konnte bei 151 Transfusionen beobachtet werden und reichte von $-0,04$ l/l bis $0,23$ l/l (M $0,06$ l/l). Es wurde ein Hämatokritanstieg von $0,1$ l/l pro transfundierten 10 ml/kg Erythrozytenkonzentrat bzw. 20 ml/kg Vollblut erwartet. Die Differenz des tatsächlichen Hämatokritanstieg zum berechnetem Hämatokritanstieg reichte von $-0,15$ l/l – $0,13$ l/l (M $-0,01$ l/l). Mit einer Standardabweichung von $0,04$ l/l war der Hämatokritanstieg schwer vorherzusehen. Bei Berechnung des zu erwartenden Hämatokritanstiegs mit $1,5$ ml transfundiertem Volumen pro kg Körpergewicht des Empfängers (Short et al. 2001) und unter der Voraussetzung, dass bei der Transfusion von Vollblut die entsprechend doppelte Menge an Volumen benötigt wird, um einen entsprechenden Hämatokritanstieg zu erzielen, lag die Differenz zum tatsächlichen Hämatokritanstieg bei $-0,1$ l/l – $0,26$ l/l (M $0,05$ l/l; Standardabweichung $0,05$ l/l). Neben dem transfundierten Volumen ($p < 0,01$) korrelierte das Alter der Blutkonserve ($p = 0,04$) und auch der Hämatokrit vor der Transfusion ($p < 0,01$) signifikant mit dem Hämatokritanstieg.

Während der Transfusion erfolgte ein engmaschiges Monitoring, bei dem insbesondere Schleimhäute, Herzfrequenz, Atemfrequenz und Temperatur untersucht wurden. Infolge von 5 Transfusionen wurden akute Transfusionsreaktionen beobachtet. 3 Hunde zeigten eine febrile Transfusionsreaktion, 1 Hund zeigte Vomitus und 1 Hund entwickelte eine hämolytische Transfusionsreaktion. Verspätete Transfusionsreaktionen konnten nicht beobachtet werden.

4.1.1.3. Ausschluss aus den weiteren Untersuchungen

Der Transfusionsverlauf wurde bei 22 Hunden aufgrund einer Pausierung des Forschungsprojekts, bei weiteren 9 Hunden aufgrund Beendigung der Therapie direkt nach der Transfusion lediglich retrospektiv untersucht. Bei weiteren 4 Hunden konnte aufgrund eines zu geringen Körpergewichts nicht genügend Probenmaterial für die Durchführung einer Kreuzprobe gewonnen werden, 3 Hunde hatten eine Transfusionsvorgeschichte und 1 Hund wurde aufgrund der Transfusion einer DEA 1 inkompatiblen Blutkonserve aus der Studie ausgeschlossen. Bei 61 Hunden konnte vor der initialen Transfusion eine Kreuzprobe durchgeführt werden. Bei 18 Hunden war die Auswertung aufgrund persistierender Autoagglutination und/ oder Hämolyse erschwert. Auch diese Hunde wurden aus der weiteren Analyse ausgeschlossen.

4.1.1.4. Kreuzproben vor der Transfusion

Ausgewertet wurden schließlich Kreuzproben bei 46 initialen Erythrozyten-Transfusionen sowie 16 weiteren Erythrozyten-Transfusionen bei 42 Hunden. Vor der initialen Transfusion waren alle Empfängerkontrollen negativ. Bei 4 Hunden war mindestens eine Kreuzprobe vor der initialen Transfusion positiv. 3 Hunde zeigten lediglich schwache mikroskopische Agglutination (AG: 1+), bei einem Hund war die Kreuzprobe sowohl makroskopisch (AG 1+) als auch mikroskopisch (AG 3+) inkompatibel. Letzterer entwickelte infolge der Transfusion eine akute hämolytische Transfusionsreaktion, welche sich durch Ikterus, Bilirubinurie und Hämaturie äußerte. Im weiteren Verlauf wurde bei diesen Hunden deutlich, dass eine vorherige Transfusion aufgrund einer nicht lückenlos vorliegenden medizinischen Vorgeschichte nicht ausgeschlossen werden konnte. Des Weiteren war die Kreuzprobe vor zwei weiteren Transfusionen (2 bzw. 7 Tage nach der initialen Transfusion) mikroskopisch schwach positiv (AG 1+). Es konnte keine signifikante Korrelation zwischen dem Kreuzprobenergebnis und dem Auftreten von Transfusionsreaktionen ($p=0,267$) oder dem Hämatokritanstieg ($p=0,841$) festgestellt werden.

4.1.2. Alloimmunisierung bei Hunden infolge einer Transfusion - Verlaufsuntersuchungen

4.1.2.1. Studienpopulation

Bei 21 Hunden konnte eine Verlaufsuntersuchung durchgeführt werden. Die Patienten waren 3 Monate – 14 Jahre (Median [M] 9 Jahre) alt und 4,5 – 30 kg (M 12,5 kg) schwer. 9 Hunde waren weiblich, 12 männlich. 9 Mischlinge und 11 verschiedene Rassen waren vertreten.

Die häufigste Indikation für eine Bluttransfusion war innerhalb dieser Studienpopulation eine Blutungsanämie ($n=12$) gefolgt von einer hämolytischen Anämie ($n=8$) und einer Anämie aufgrund von ineffektiver Erythropoese ($n=1$). Ursachen für eine Blutung waren gastrointestinale Blutungen ($n=7$), hochgradige Thrombozytopenie ($n=2$), und ein Trauma ($n=1$) sowie Blutverluste während einer Operation ($n=1$) und Hämoperitonium infolge eines rupturierten Hämangiosarkoms (1). Bei fünf Hunden wurde eine immunhämolytische Anämie diagnostiziert, ein Hund litt an einer Hämolyse aufgrund einer *Babesia canis*-Infektion und bei zwei Hunden konnte die Ursache für die Hämolyse nicht festgestellt werden.

Aufgrund der jeweiligen Diagnose bzw. Verdachtsdiagnose wurden neun Hunde (Diagnosen: Immunmedierte hämolytische Anämie [$n=5$], Hämolyse unklarer Genese [$n=1$], ineffektive Erythropoese unklarer Genese [$n=1$], durch eine immunmedierte Thrombozytopenie bedingte Blutungsanämie [$n=1$], chronisch-entzündliche Enteropathie mit Blutungen [$n=1$]) mit Immunsuppressiva behandelt. Drei Hunde waren bereits vor der Transfusion immunsuppressiv vorbehandelt. Die Therapie wurde bei zwei Hunden beibehalten, bei einem

Hund unterbrochen und 10 Tage nach der Transfusion fortgeführt. Bei weiteren drei Hunden wurde die Therapie an Tag 0, bei einem Hund an Tag 2 und bei zwei Hunden an Tag 3 nach der Transfusion begonnen. Sechs Hunde erhielten eine Monotherapie mit Prednisolon (1,9 – 2,5 mg/kg pro Tag) und drei Hunde eine Kombinationstherapie (Prednisolon 0,8 – 2 mg/kg pro Tag) mit Ciclosporin (n=2) (4 – 10 mg/kg pro Tag) und/oder Mycophenolat-Mofetil (n=2) (9,2 – 12,5 mg/kg pro Tag).

4.1.2.2. Transfusion

Der Hämatokrit vor der Transfusion betrug 0,10 – 0,38 l/l (M 0,16 l/l). 9 Hunde waren DEA 1 negativ, 12 DEA 1 positiv. Das Transfusionsvolumen betrug 6,1 – 20 ml/kg (M 10 ml/kg). Die Lagerungsdauer der Blutkonserven variierte zwischen 0 und 28 Tagen (M 7 Tage), bei 3 Transfusionen lag die Lagerungsdauer der Blutkonserve bei >14 Tagen.

Akute Transfusionsreaktionen wurden nicht beobachtet. Nach der Transfusion wurde ein Hämatokrit von 0,16 – 0,43 l/l (M 0,24 l/l) erreicht. Der Hämatokritanstieg durch die Transfusion lag bei 0,03 bis 0,14 l/l (M 0,07 l/l). Die Differenz des tatsächlichen zum berechneten Hämatokritanstieg reichte von -0,11 - 0,05 l/l (M -0,02 l/l) mit einer Standardabweichung von 0,04 l/l. Die Verteilung der Differenz des Hämatokritanstiegs zwischen den verschiedenen Arten der Anämie war nicht signifikant unterschiedlich (p=0,97). Mögliche Auswirkungen des Transfusionsvolumens (p=0,08) oder der Lagerungsdauer der Blutkonserven (p=0,82) wurden innerhalb dieser Untersuchungen ebenfalls nicht festgestellt.

4.1.2.3. Kreuzproben

Insgesamt wurden 141 Kreuzproben durchgeführt. 105 Kreuzproben wurden bei 21 Hunden vor und bis einschließlich zum 4. Tag nach der Transfusion durchgeführt, bei 18 Hunden wurden im weiteren Untersuchungszeitraum zwischen dem 5. und 23. Tag (M 11. Tag) nach der Transfusion insgesamt weitere 36 Kreuzproben durchgeführt. Dabei handelte es sich um 1 – 5 Kreuzproben (M 2 Kreuzproben) pro Hund.

Vor der Transfusion waren alle Empfängerkontrollen und Major-Kreuzproben negativ. Nach der Transfusion waren 44 Major-Kreuzproben (37%) und 6 Empfängerkontrollen (5%) in der mikroskopischen Auswertung zu verschiedenen Zeitpunkten positiv. Makroskopische Agglutination oder Hämolyse traten nicht auf. Bei 16 Hunden (76%) wurde mindestens eine mikroskopisch schwach positive Major-Kreuzprobe beobachtet (Abbildung 2). Diese Hunde entwickelten erstmals zwischen Tag 1 und 13 (M Tag 4) nach der Transfusion eine mikroskopisch schwach positive Major-Kreuzprobe (Tabelle 3).

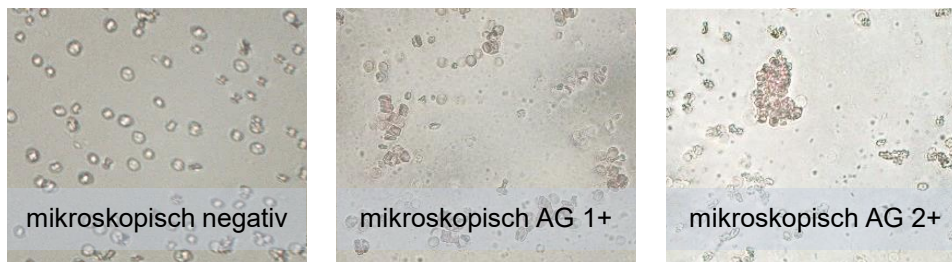


Abbildung 2: Kreuzproben-Ergebnisse mit dem Röhrchen-Agglutinationsverfahren: mikroskopisch negativ und positiv mit mikroskopischen Agglutinationsgraden 1+ - 2+

Bei 12/21 Hunden (57%) wurde innerhalb von 4 Tagen nach der Transfusion eine Alloimmunisierung nachgewiesen, welche sich durch eine mikroskopisch schwach positive Major-Kreuzprobe äußerte. Insgesamt waren während dieses Untersuchungszeitraums 23/84 Kreuzproben (27%) in der mikroskopischen Auswertung schwach positiv (AG 1+ - 2+). Erstmals positive Kreuzproben traten bei zwei Hunden an Tag 1 (AG 1+) (bei einem Hund bereits nach 12 Std.), bei einem Hund an Tag 2 (AG 1+), bei drei Hunden an Tag 3 (AG 1+) und bei sechs Hunden an Tag 4 (AG: 1+, 1+, 1+, 1+, 1+, 2+) auf (Tabelle 3). Auswirkungen der Anämieform ($p=0,15$), des Transfusionsvolumens ($p=0,22$), der Lagerungsdauer der Blutkonserve ($p=0,50$) oder der Behandlung mit Immunsuppressiva zum Zeitpunkt der Transfusion ($p=0,91$) auf die Alloimmunisierungsrate bis zum 4. Tag nach der Transfusion wurden nicht festgestellt.

Bei 8/9 Hunden, welche bis zum 4. Tag nach der Transfusion keine positiven Kreuzproben aufwiesen, wurden weitere Kreuzproben durchgeführt. Bei 4 Hunden waren über einen Zeitraum vom 5. – 18. Tag (M 11. Tag) nach der Transfusion keine positiven Kreuzproben zu verzeichnen. Bei 4 Hunden wurden positive Kreuzproben festgestellt: erstmals mikroskopisch schwach positive Kreuzproben bei jeweils einem Hund an den Tagen 6 (AG 2+), 8 (AG 1+), 9 (AG 2+) und 13 (AG 1+) nach der Transfusion (Tabelle 3).

Während bei zwei Hunden eine Zunahme der Agglutination innerhalb von 3 Tagen beobachtet wurde, kam es bei neun Hunden zu einer Abnahme 3 – 14 Tage (M 5 Tage) und bei sechs von diesen Hunden zu einer Auflösung 5 – 11 Tage (M 5,5 Tage) nach dem initialen Auftreten einer Agglutination. Mögliche Auswirkungen der Anämieform ($p=0,47$), des Transfusionsvolumens ($p=0,07$), der Lagerungsdauer ($p=0,31$) oder der Behandlung mit Immunsuppressiva ($p=0,52$) auf die Abnahme der Agglutination im Verlauf wurden nicht nachgewiesen.

Insgesamt wurde bei 4 Hunden (6 Kreuzproben) eine mikroskopisch schwach positive Empfängerkontrolle (AG 1+) nachgewiesen. Bei einem Hund trat am 3. und 4. Tag nach der Transfusion neben einer mikroskopisch schwach positiven Major-Kreuzprobe (AG 1+) auch

Ergebnisse

eine mikroskopisch schwach positive Empfängerkontrolle (AG 1+) auf. Während des weiteren Untersuchungszeitraums (am 8. Tag nach der Transfusion) kam es bei beiden Proben zu einer Auflösung der Agglutination. Ein Hund entwickelte am 2. Tag, ein weiterer am 4. Tag nach der Transfusion, zeitgleich eine mikroskopisch schwach positive Empfängerkontrolle (AG 1+) und eine mikroskopisch schwach positive Major-Kreuzprobe (AG 1+ bzw. AG 2+). Während es im weiteren Verlauf (am 4. bzw. am 6. Tag nach der Transfusion) zu einer Auflösung der Agglutination in der Empfängerkontrolle kam, blieb die Agglutination in der Major-Kreuzprobe bestehen. Bei einem weiteren Hund wurde nach anfänglich positiver Major-Kreuzprobe am 3. Tag nach der Transfusion bei einer Kreuzprobe am letzten Tag des Untersuchungszeitraums (Tag 5) zudem eine mikroskopisch schwache Agglutination in der Empfängerkontrolle nachgewiesen.

Tabelle 3: Mikroskopische Kreuzprobenergebnisse bei 21 transfundierten Hunden: Grad der Agglutination vor (Tag 0) und nach der Transfusion (Tag 1-4 sowie nachfolgend bei Folgeuntersuchungen; Tag nach der Transfusion in Klammern)

Hund	Tag 0	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Folgeuntersuchungen				
1	0	0	0	1+	1+	0 (8)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	0	1+	1+	2+	1+	1+ (12)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
3	0	0	0	0	0	2+ (9)	1+ (14)	0 (20)	n.d.	n.d.
4	0	0	0	0	2+	1+ (7)	0 (8)	0 (22)	n.d.	n.d.
5	0	0	0	0	1+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
6	0	1+ *	1+	1+	1+	0 (6)	0 (13)	0 (23)	n.d.	n.d.
7	0	0	0	0	1+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
8	0	0	0	0	0	0 (5)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
9	0	0	0	0	1+	1+ (6)	1+ (8)	2+ (12)	1+ (18)	1+ (22)
10	0	0	0	0	0	1+ (8)	1+ (11)	n.d.	n.d.	n.d.
11	0	0	0	0	0	1+ (13)	0 (24)	n.d.	n.d.	n.d.
12	0	0	0	0	0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
13	0	0	0	0	1+	1+ (7)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
14	0	0	0	1+	1+	1+ (6)	1+ (7)	n.d.	n.d.	n.d.
15	0	0	0	1+	1+	1+ (5)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
16	0	0	1+	1+	2+	2+ (7)	2+ (17)	0 (23)	n.d.	n.d.
17	0	0	0	0	0	0 (5)	0 (12)	n.d.	n.d.	n.d.
18	0	0	0	0	0	2+ (6)	1+ (12)	n.d.	n.d.	n.d.
19	0	0	0	0	1+	1+ (5)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
20	0	0	0	0	0	0 (11)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
21	0	0	0	0	0	0 (10)	0 (18)	n.d.	n.d.	n.d.

nd: nicht durchgeführt; 0: negativ

*12 Stunden nach der Transfusion

Insgesamt kam es zu einer Lagerungsdauer der Spender-Blutproben von 0 - 39 Tagen (M 12 Tagen). Innerhalb der ersten 4 Tage nach der Transfusion entsprach diese weitestgehend der Lagerungsdauer der Blutkonserve (0 – 28 Tage), welche keine Korrelation mit dem Kreuzprobenergebnis ($p=0,37$) aufwies. Während des weiteren Untersuchungszeitraums kam es zu einer Lagerungsdauer der Spenderblutproben von 6 – 39 Tagen (M 19 Tagen). Auch hier wurde keine Korrelation mit dem Kreuzprobenergebnis festgestellt ($p=0,96$).

4.2. Evaluierung verschiedener Kreuzproben Methoden im Vergleich zum Röhrchen-Agglutinationsverfahren

4.2.1. Studienpopulation

Insgesamt wurden 15 Empfänger- und 17 Spender-Blutproben untersucht. Darüber hinaus wurden Blutproben von 3 gesunden Hunden sowohl als Empfängerblutprobe, als auch als Spenderblutprobe verwendet.

Als Empfänger-Blutproben dienten Blutproben von 7 gesunden Blutspendern sowie 11 Hunden, die an einer Anämie erkrankt waren: 5 Hunde litten an einer Blutungsanämie, darunter entwickelte 1 Hund im Verlauf eine sekundäre immunhämolytische Anämie, weitere 4 Hunde wiesen eine hämolytische Anämie und 2 Hunde eine ineffektive Erythropoese auf. Während des Untersuchungszeitraums erhielten 11 Hunde 16 Erythrozytenkonzentrat-Transfusionen: 6 Hunde erhielten eine einmalige Transfusion, 5 Hunde wurden jeweils zweimal innerhalb des Untersuchungszeitraums transfundiert. In der Studienpopulation waren 17 Hunde DEA 1 positiv und 18 Hunde DEA 1 negativ.

Insgesamt wurden 28 Kreuzproben vergleichend durchgeführt. 8 Kreuzproben wurden bei Hunden ohne Transfusionsvorgeschichte, 12 Kreuzproben wurden nach einer einmaligen, 8 nach mehrmaliger Transfusion durchgeführt. Das Zeitintervall von einer initialen Transfusion bis zur Durchführung der Kreuzprobe betrug 1 – 37 Tage (Median 7,5 Tage).

4.2.2. Röhrchen-Agglutinationsverfahren (Vergleichsmethode)

Mit dem Röhrchen-Agglutinationsverfahren waren insgesamt 10 Kreuzproben kompatibel und 18 Kreuzproben inkompatibel. Hämolyse trat nicht auf. Die Verteilung der Agglutinationsgrade war wie folgt: makroskopischer AG 1+ [n=3], 2+ [n=5] (Abbildung 3); nur mikroskopischer AG 1+ [n=5], 2+ [n=4], 3+ [n=1] (Abbildung 4)). Die mikroskopischen Agglutinationsgrade der insgesamt 18 positiven Kreuzproben waren wie folgt: AG 1+ (n=5), AG 2+ (n=5), AG 3+ (n=8) (Tabelle 4). Bei 5 Kreuzproben (makr. AG 1+ - 2+; mikr. AG 3+) war die dazugehörige Empfängerkontrolle schwach positiv (mikr. AG 1+). Die Durchführung erfordert geübtes Personal und beanspruchte 30 – 43 Minuten (M 36 Minuten).

Tabelle 4: Kreuzproben-Ergebnisse mit dem Röhrchen-Agglutinationsverfahren

Kreuzproben-Ergebnis	Anzahl der Proben
Negativ	10
Makr. negativ; Mikr. 1+	5
Makr. negativ; Mikr. 2+	4
Makr. negativ; Mikr. 3+	1
Makr. 1+; Mikr. 2+	1
Makr. 1+; Mikr. 3+	2
Makr. 2+; Mikr. 3+	5

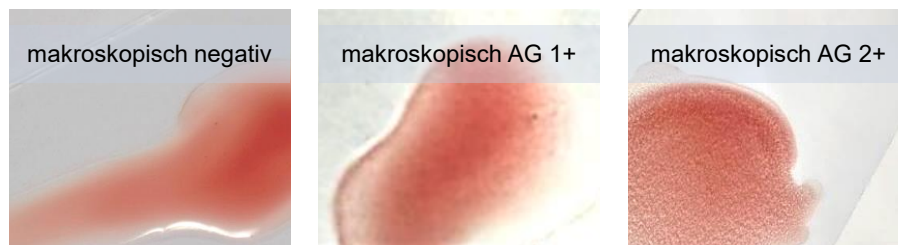


Abbildung 3: Makroskopische Auswertung von Kreuzproben mit dem Röhrchen-Agglutinationsverfahren: negativ und positiv mit makroskopischen Agglutinationsgraden (AG) 1+ - 2+

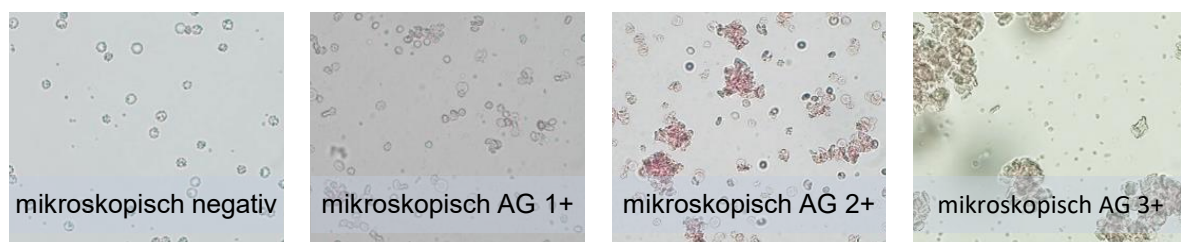


Abbildung 4: Mikroskopische Auswertung von Kreuzproben mit dem Röhrchen-Agglutinationsverfahren: negativ und positiv mit mikroskopischen Agglutinationsgraden (AG) 1+ - 3+

4.2.3. Gel-Röhrchen Verfahren (GR)

Mit dem GR-Verfahren waren 19 Kreuzproben kompatibel, 9 waren inkompatibel (Abbildung 5). Eine Kreuzprobe war verglichen mit dem Röhrchen-Agglutinationsverfahren falsch positiv. Die Spezifität lag bei 90% (95% Konfidenzintervall 60% – 98%). Bei 3/10 Kreuzproben, welche

mit dem Röhrchen-Agglutinationsverfahren lediglich eine mikroskopische Agglutination zeigten, wurde mit dem Gel-Röhrchen Verfahren ebenfalls eine Inkompatibilität nachgewiesen. Zudem wurden 5/8 Proben (62,5%), bei denen mit dem Röhrchen-Agglutinationsverfahren bereits makroskopisch eine Agglutination sichtbar war, ein inkompatibles Ergebnis mit der Gel-Röhrchen Methode deutlich (Tabelle 5). Die Sensitivität lag bei 44 % (95% Konfidenzintervall 25% - 66%). Insgesamt wurde bei 17/28 Proben (60,7%) eine Übereinstimmung der Ergebnisse festgestellt ($k=0,29$, $p=0,06$). Die Abweichung der Ergebnisse des Gel-Röhrchen Verfahrens zu denen des Röhrchen-Agglutinationsverfahrens war signifikant ($p=0,01$). Die Durchführung des Gel-Röhrchen Tests ist sehr einfach und beanspruchte lediglich 14 – 17 Minuten (M 17 Minuten). Jedoch war die Auswertung bei drei Proben erschwert. Nach weiterer Beratung durch den Hersteller, wurden diese Proben als inkompatibel gewertet. Die Ergebnisse blieben bei 26/28 Proben über mindestens 24 Stunden stabil.

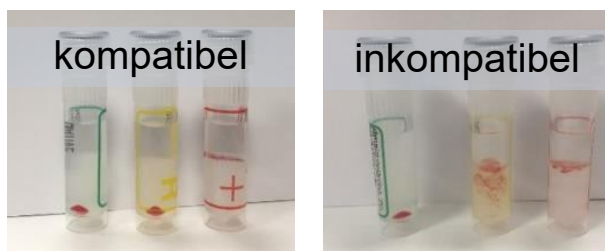


Abbildung 5: Kreuzprobenergebnisse mit dem Gel-Röhrchen Verfahren: kompatibel und inkompatibel

4.2.4. Durch Antiglobuline verstärktes Gel-Röhrchen Verfahren (AGR)

Durch das AGR Verfahren wurde bei 14 Kreuzproben eine Inkompatibilität (AG 1+ [n=6], AG 2+ [n=3], AG 3+ [n=4], AG4+ [n=1]) festgestellt (Abbildung 6). Insgesamt stimmten 85,7% der Ergebnisse bei diesem Verfahren mit denen des Röhrchen-Agglutinationsverfahrens überein. Im Vergleich zeigte dieses Verfahren eine starke Übereinstimmung ($k=0,71$, $p<0,01$). Bei allen Proben, welche mit dem Röhrchen-Agglutinationsverfahren kompatibel waren, wurde auch mit dem durch Antiglobuline verstärkten Gel-Röhrchen Verfahren eine kompatible Kreuzprobe angezeigt. Es wurde eine Spezifität von 100% erreicht (95% Konfidenzintervall 72% - 100%). Von 10 Proben, welche mit dem Röhrchen-Agglutinationsverfahren lediglich eine mikroskopische Agglutination aufwiesen, wurden 6 Proben (AG 1+ [n=2/5], AG 2+ [n=3/4], AG 3+ [n=1/1]) mit dem durch Antiglobuline verstärkten Gel-Röhrchen Verfahren als inkompatibel

erkannt. Zudem war bei jeder Probe, welche mit dem Röhren-Agglutinationsverfahren makroskopisch inkompatibel war, auch Agglutinate im Gel sichtbar (Tabelle 5). Die Sensitivität lag insgesamt bei 77% (95% Konfidenzintervall 54% - 91%). Die Ausprägung der Ergebnisse war in 10 Fällen geringer, in 17 Fällen identisch und in 1 Fall stärker ausgeprägt als die mikroskopische Auswertung mit dem Röhren-Agglutinationsverfahren. Die Durchführung war sehr einfach und beanspruchte 21 – 23 Minuten (M 22,5 Minuten). Die Auswertung war in einem Großteil der Proben eindeutig. Lediglich 2 Proben waren fraglich schwach inkompatibel und wurden nach Beratung durch den Hersteller als inkompatibel (AG 1+) gewertet. Bei allen Proben waren die Ergebnisse mindestens über 24 Stunden stabil.



Abbildung 6: Kreuzprobenergebnisse mit dem durch Antiglobuline verstärktem Gel-Röhrchen Verfahren: negativ und positiv (Grad 1+ - 4+)

4.2.5. Immunchromatographisches Verfahren (ICS)

Mit dem ICS-Verfahren waren alle Proben kompatibel (Abbildung 7). Nur bei den Kreuzproben, welche mit dem Röhren-Agglutinationsverfahren kompatibel waren, stimmten die Ergebnisse überein (Tabelle 5). Dies war bei 10/28 Proben (37,5%) zutreffend. Die Spezifität lag bei 100% (95% Konfidenzintervall 72% - 100%). Die Sensitivität lag bei 0%; 95% Konfidenzintervall 0% – 18%). Die Cohens Kappa Analyse war bei diesem Verfahren nicht signifikant ($k=0,00$, $p=1,00$). Die Durchführung des McNemar Tests war aufgrund der Probenverteilung nicht möglich. Die Ergebnisse waren teilweise nicht eindeutig. So war bei einer Probe ein fraglich schwach inkompatibles Ergebnis sichtbar. Auf Grundlage einer Beratung durch den Hersteller wurde diese Probe als kompatibel gewertet. Auch bei diesem Testverfahren waren die Ergebnisse über mindestens 24 Stunden stabil. Die Durchführung ist durch den Waschvorgang aufwendiger und beanspruchte 29 – 36 Minuten (M 30,5 Minuten).

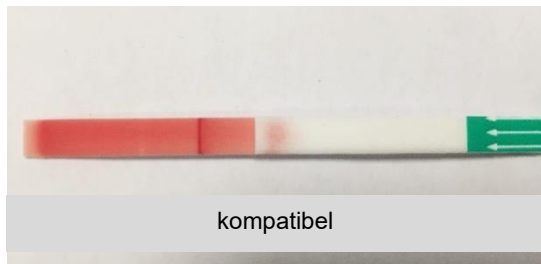


Abbildung 7: Kreuzprobenergebnis mit dem immunchromatographischen Verfahren: kompatibel

Tabelle 5: Übereinstimmung verschiedener Kreuzproben Methoden [Gel-Röhrchen Verfahren (GR), Antiglobulin verstärktes Gel-Röhrchen Verfahren (AGR) und immunchromatographisches Verfahren (ICS)] im Vergleich zum Röhrchen-Agglutinationsverfahren

	GR	AGR	ICS
Negativ	9/10 (90%)	10/10 (100%)	10/10 (100%)
Mikr. positiv	3/10 (30%)	6/10 (60%)	0/10 (0%)
Makr. positiv	5/8 (62,5%)	8/8 (100%)	0/8 (0%)
Gesamtheit	17/28 (60,7%)	24/28 (85,7%)	10/28 (35,7%)

5. Diskussion

Diese Dissertation beschreibt die Durchführung von Kreuzproben bei Hunden zur Kompatibilitätstestung vor einer Transfusion. Dieses Testverfahren ermöglicht es, die serologische Kompatibilität von Spender- und Empfängerblut zu ermitteln und so das Risiko einer akuten oder verzögerten hämolytischen Transfusionsreaktion zu reduzieren. Obgleich dieses Testverfahren einen wichtigen Beitrag für eine sichere Transfusionstechnik liefert, wurde bisher nur teilweise evaluiert, in welchen Fällen die Durchführung von Kreuzproben indiziert ist. Bisherige Guidelines (Davidow et al. 2021b) beziehen sich auf eine 4-Tage-Regel, welche allerdings bisher beim Hund nicht untersucht wurde.

Weiterhin wird für die Durchführung von Kreuzproben häufig das Röhrchen-Agglutinationsverfahren als Referenzmethode angesehen. Daneben stehen verschiedene andere Methoden zur Verfügung.

Im ersten Teil dieser Arbeit sollte durch die serielle Durchführung von Kreuzproben sowohl vor einer Transfusion als auch direkt nach der Transfusion untersucht werden, ab wann beim Hund nach einer Transfusion eine positive Kreuzprobe auftritt. Im zweiten Teil wurden verschiedene Kreuzproben Verfahren im Vergleich zum Röhrchen-Agglutinationsverfahren auf Übereinstimmung der Ergebnisse und Praxistauglichkeit untersucht.

5.1. Transfusionsreaktionen

In dieser Arbeit wurden 163 Erythrozyten-Transfusionen bei 99 Hunden ausgewertet. Bei 5 Transfusionen wurde eine akute Transfusionsreaktion festgestellt. Verspätete Transfusionsreaktionen wurden nicht beobachtet. Diese sind allerdings teilweise schwierig zu erfassen. In der bisherigen Literatur betrug die Rate für Transfusionsreaktionen bei Hunden zwischen 3,3% und 28%, (Kerl und Hohenhaus 1993, Callan et al. 1996, Reitemeyer 2000, Holowaychuk et al. 2014, Maglaras et al. 2017, Haines et al. 2022), bei massiven Transfusionen sogar bis zu 40% (Jutkowitz et al. 2002). Im Vergleich war die Transfusionsreaktionsrate in dieser Arbeit mit 3% relativ niedrig. Aufgrund unterschiedlicher Grunderkrankungen der Patienten war jedoch die Detektion insbesondere verzögerter hämolytischer Transfusionsreaktionen erschwert. Der Hämatokritanstieg durch die Transfusion lag im Median 0,01 l/l unter dem zu erwartenden Hämatokritanstieg (0,01 l/l pro transfundiertem 1 ml pRBC) und es wurde häufig eine Abweichung festgestellt (Standardabweichung 0,04 l/l). Auch während des weiteren Untersuchungszeitraums wurde teilweise ein fortbestehender Abfall des Hämatokrits beobachtet. Möglicherweise könnte ein deutlich niedrigerer Hämatokritanstieg im Vergleich zur Berechnung oder ein Abfall des Hämatokrits sowie ein Anstieg der Bilirubinkonzentration innerhalb der ersten Tage nach der Transfusion einen Hinweis auf eine Transfusionsreaktion geben. Der tatsächliche

Hämatokritanstieg ist jedoch von mehreren Faktoren abhängig und variiert je nach der jeweiligen Grunderkrankung. So kann ein deutlich niedrigerer Hämatokrit nach der Transfusion im Vergleich zur Berechnung Hinweise auf weiterbestehende Verluste/ Hämolyse oder auf eine hämolytische Transfusionsreaktion geben, während sich ein höherer Hämatokritanstieg durch Resorptionsmechanismen, Freisetzung von Erythrozyten aus dem Milzspeicher, Dehydratation oder Regeneration erklären lässt (Weingart et al. 2004).

Des Weiteren stehen zur Berechnung des zu erwartenden Hämatokritanstiegs mehrere Formeln zur Verfügung. In der Klinik wird meist ein Hämatokritanstieg von 0,01l/l pro transfundiertem 1 ml Erythrozytenkonzentrat bzw. 2 ml Vollblut erwartet (Day und Kohn 2012).

Auch in dieser Arbeit wurde der zu erwartende Hämatokritanstieg mit dieser Formel berechnet. In einer Studie, in welcher verschiedene Formeln für die Berechnung des zu transfundierenden Erythrozytenkonzentrat-Volumens bei Hunden verglichen wurden, haben sich folgende Formeln als nutzbar herausgestellt (Short et al. 2012): $\text{Volumen [ml]} = 90\text{ml} \times \text{kg BW} \times (\text{geplanter Hämatokrit-Anstieg} / \text{Hämatokrit des Spenders})$ oder $\text{Volumen [ml]} = 1,5\text{ml} \times \text{kg BW} \times \% \text{ geplanter Hämatokrit-Anstieg}$. Der Hämatokrit des Spenders wurde in dieser Arbeit nicht ausgewertet, sodass erstere Formel nicht angewendet werden konnte. Bei Berechnung des zu erwartenden Hämatokritanstiegs mit 1,5ml transfundiertem Volumen pro kg Körpergewicht des Empfängers konnte mit einer Differenz zum tatsächlichen Hämatokritanstieg von -0,1 l/l – 0,26 l/l (M 0,05 l/l; Standardabweichung 0,05 l/l) keine genauere Aussage über den zu erwartenden Hämatokritanstieg getroffen werden.

5.2. Kreuzproben vor der Transfusion

Kreuzproben konnten vor 46 initialen, sowie 16 weiteren Transfusionen durchgeführt werden. Da Kreuzproben in der Kleintierklinik kein Bestandteil der Kompatibilitätstestung vor jeder Transfusion waren, sondern lediglich im Rahmen dieser Arbeit angewandt wurden, wurden diese teilweise zeitversetzt zur Transfusion durchgeführt, sodass teilweise auch kreuzprobeninkompatible Konserven transfundiert wurden. Vor 6 Transfusionen war die Major-Probe positiv, vor 5 Transfusionen lediglich schwach mikroskopisch, vor 1 Transfusion jedoch auch makroskopisch positiv. Ein Hund entwickelte als Folge dieser Kreuzprobeninkompatiblen Bluttransfusion (makr. AG 1+, mikr. AG 3+) eine akute hämolytische Transfusionsreaktion, welche sich durch Ikterus, Bilirubinurie und Hämaturie äußerte. Es konnte jedoch keine signifikante Korrelation zwischen dem Kreuzprobenergebnis und dem Auftreten von Transfusionsreaktionen ($p=0,27$) oder dem Hämatokritanstieg ($p=0,84$) festgestellt werden.

In der vorliegenden Arbeit wurde zwar bei 4 Hunden bereits vor einer vermeintlich initialen Transfusion eine inkompatible Kreuzprobe detektiert, jedoch lag bei diesen Hunden keine lückenlose Krankengeschichte vor, sodass eine vorherige Transfusion nicht gänzlich

ausgeschlossen werden konnte. Während Kreuzproben in der Humanmedizin routinemäßig vor jeder Transfusion durchgeführt werden, sind diese beim Hund selten fester Bestandteil der Kompatibilitätstestung vor einer Ersttransfusion. Laut einer Umfrage wird die Kreuzprobe lediglich in 15% der Kliniken routinemäßig vor jeder Transfusion, unabhängig von der jeweiligen Situation, durchgeführt (Jagodich und Holowaychuk 2016). Dennoch wurden in einer Studie an 169 Hunden ohne Transfusionsvorgeschichte bei 17% natürliche Alloantikörper durch eine Kreuzproben-Inkompatibilität nachgewiesen (Odunayo et al. 2017). Des Weiteren wurden natürlich vorkommende Alloantikörper gegen DEA 3, 5 und 7 beschrieben (Hale 1995, Hale und Werfelmann 2006, Spada et al. 2016b). Obgleich die klinische Relevanz natürlich vorkommender Alloantikörper fraglich ist, wird die Integrierung der Kreuzprobe in die Kompatibilitätstestung auch vor einer initialen Transfusion von mehreren AutorInnen diskutiert (Spada et al. 2016a, Spada et al. 2016b, Odunayo et al. 2017). Bisher konnte keine Korrelation zwischen der Durchführung von Kreuzproben vor einer initialen Transfusion und dem Auftreten von akuten Transfusionsreaktionen nachgewiesen werden (Maglaras et al. 2017, Davidow et al. 2021b). Allerdings wird in mehreren Studien vermutet, dass es durch die Transfusion kreuzproben-inkompatibler Bluttransfusionen zu einem Anstieg des Antikörpertiters kommen könnte. Dies könnte eventuell zu verzögerten Transfusionsreaktionen oder auch bei weiteren Transfusionen zu Komplikationen führen (Tocci 2010, Spada et al. 2016a, Odunayo et al. 2017). Durch den Vergleich von Transfusionen, bei denen Empfänger und Spender zuvor durch die Durchführung von Kreuzproben auf Kompatibilität getestet wurden, sowie solchen, vor deren Anwendung keine Kreuzproben durchgeführt wurden, konnte ein signifikant höherer Transfusionserfolg durch die Kompatibilitätstestung mittels Kreuzproben nachgewiesen werden (Odunayo et al. 2017).

5.3. Alloimmunisierung infolge einer Transfusion

Kreuzproben werden beim Hund vor einer Transfusion meist lediglich durchgeführt, wenn eine initiale Transfusion länger als vier Tage zurück liegt oder die Transfusionsvorgeschichte unbekannt ist (Davidow et al. 2021b). Diese 4-Tage-Regel wurde nach Wissen der Autorin bisher noch nicht evaluiert. Die Verlaufsuntersuchung beschreibt erstmals eine serielle Kreuzproben-Auswertung und Anzeichen einer möglichen Alloimmunisierung innerhalb der ersten 4 Tage nach einer DEA 1 kompatiblen Bluttransfusion beim Hund. In dieser Arbeit wurde bei 12/21 Hunden (57%) eine schwach positive Kreuzprobe innerhalb von 4 Tagen nach Transfusion, bei einem Hund sogar innerhalb von 12 Stunden nach der Transfusion, festgestellt. Insgesamt wurde bei 16 von 21 Hunden (76%) eine schwach positive Kreuzprobe nach einmaliger Transfusion nachgewiesen. Bei 4 Hunden wurden zudem neben mikroskopisch schwach positiven Major-Kreuzproben (AG 1+ - 2+) eine bzw. zwei mikroskopisch schwach positive Empfängerkontrollen (AG 1+) innerhalb des

Untersuchungszeitraums nachgewiesen. Eine Agglutination in der Empfängerkontrolle könnte auf eine Immunreaktion infolge der Transfusion, jedoch auch auf eine sekundäre immunmedierte Hämolyse hinweisen.

Um Hinweise auf eine mögliche Bildung von Alloantikörpern zu detektieren, wurden in dieser Arbeit Kreuzproben seriell vor und nach der Transfusion mit dem Röhrchen-Agglutinationsverfahren durchgeführt. Dabei wurden lediglich schwach positive Kreuzproben nachgewiesen. Obgleich angenommen wird, dass auch durch die Bildung niedriger Titer von Alloantikörpern eine verminderte Lebensspanne der Erythrozyten, verzögerte Transfusionsreaktionen oder bei weiteren Transfusionen auch akute Reaktionen provoziert werden können (Zaremba et al. 2019), ist die klinische Relevanz schwach positiver Kreuzproben bisher noch unklar (s. Kapitel 5.8). Des Weiteren ist zu berücksichtigen, dass die Durchführung von Kreuzproben zwar der Testung der serologischen Kompatibilität von Spender- und Empfängerblut dient, dieses Verfahren jedoch keinen direkten Antikörper-Nachweis darstellt (s. Kapitel 5.7).

In dieser Arbeit wurde bei 76% der Hunde mindestens eine positive Kreuzprobe als Hinweis auf eine mögliche Alloimmunisierung beobachtet. In einer früheren Studie wurden bei 20% der Hunde innerhalb von 11 – 26 Tagen und bei 46% innerhalb von 26 – 129 Tagen nach der Transfusion Anzeichen einer Alloimmunisierung durch eine Inkompatibilität in der Kreuzprobe nachgewiesen (Goy-Thollot et al. 2017). In einer weiteren Studie wurde bei 10/14 Empfänger-Spender-Paaren eine Inkompatibilität 13 – 99 Tage nach der Transfusion festgestellt (Kessler et al. 2010).

Bei Katzen wurden Hinweise auf natürlich vorkommende Alloantikörper bei 15% - 23% und nach einer Transfusion bei 25 - 27% der Katzen nachgewiesen (Hourani et al. 2017, Goy-Thollot et al. 2018, McClosky et al. 2018). Die Entwicklung einer Inkompatibilität wurde bereits innerhalb von 2 Tagen nach der Transfusion durch die Durchführung von Kreuzproben vermutet (Hourani et al. 2017, McClosky et al. 2018). Nach den Guidelines der AVHTM und ISFM wird die Durchführung von Kreuzproben bei Katzen daher möglichst vor jeder Transfusion, jedoch spätestens ab dem 2. Tag nach initialer Transfusion angeraten (Davidow et al. 2021b, Taylor et al. 2021).

In der Humanmedizin wird eine Alloimmunisierungsrate von 1,8 – 20% beschrieben (Alves et al. 2012, Zalpuri et al. 2014, Evers et al. 2016, Furuseth et al. 2021). Infolge einer Transfusion gebildete Alloantikörper ließen sich in bisherigen Studien zum Teil bereits innerhalb der ersten 14 Tage, jedoch zum Großteil erst nach einem größerem Zeitintervall nach der Transfusion nachweisen. Nur bei wenigen Patienten (2,3 – 6,7% der Patienten mit Alloimmunisierung) konnte bereits innerhalb von 4 Tagen nach einer Transfusion eine Bildung von Alloantikörpern

beobachtet werden (Schonewille et al. 2006, Alves et al. 2012). Allerdings wird angenommen, dass aufgrund häufig fehlender oder unvollständiger Kontrolluntersuchungen, bei denen das Blut der Patienten auf die Bildung irregulärer Alloantikörper untersucht wird, lediglich 1/3 der gebildeten Alloantikörper auch tatsächlich detektiert werden (Stack und Tormey 2016).

Die Alloimmunisierung ist von verschiedenen Faktoren abhängig: So ist das Risiko einer Alloimmunisierung bei Patienten in der Humanmedizin mit Infektionen, Autoimmunerkrankungen oder bestimmten Erkrankungen, wie beispielsweise Sichelzellanämie erhöht (Cox 1988, Evers et al. 2016, Ryder et al. 2016). Des Weiteren spielt die Anzahl an benötigten Transfusionen eine bedeutende Rolle bei der Alloimmunisierung. Daneben lässt sich das Risiko einer Alloimmunisierung durch die Erweiterung der Blutgruppentypisierung, der Durchführung von Kreuzproben sowie die Behandlung mit Immunsuppressiva reduzieren (LaSalle-Williams et al. 2011, Zalpuri et al. 2012, Pujani et al. 2014, Zalpuri et al. 2014, Makarovska-Bojadzieva et al. 2017, Fasano et al. 2019).

5.4. Rückgang der sichtbaren Reaktion in der Kreuzprobe während des weiteren Untersuchungsverlaufs

Interessanterweise konnte während der Verlaufsuntersuchungen bei 9 Hunden ein Rückgang und bei 6 von diesen Hunden sogar eine Auflösung der Agglutination in der Majorprobe im Verlauf nachgewiesen werden. Dies könnte ein Hinweis auf die Bildung instabiler Antikörper sein, welche frühzeitig nach der Bildung wieder abgebaut wurden. Der Rückgang oder das Verschwinden der Agglutination wurde bereits in mehreren humanmedizinischen Studien beschrieben (Ramsey und Larson 1988, Tormey und Hendrickson 2019). Hier konnte ein Rückgang unter ein detektierbares Level wenige Monate bis Jahre nach Auftreten festgestellt werden. Bei erneutem Kontakt mit dem jeweiligen Antigen wird ein erneuter Anstieg des Antikörpertiters beschrieben. Durch einen Rückgang der Agglutination unter ein detektierbares Level besteht ein hohes Risiko, eine frühere Alloimmunisierung zu übersehen und bei einer weiteren Transfusion eine Transfusionsreaktion zu provozieren. Ein Rückgang der Agglutination bei Hunden wurde ebenfalls bereits in einer Studie bei 3 von 10 Empfänger-Spender-Paaren während der zweiten Folgeuntersuchung (21 – 99 Tage nach der Transfusion) beschrieben (Kessler et al. 2010). Gegen welche Antigene die beschriebenen Antikörper gebildet wurden, wurde in dieser und auch in unserer Studie nicht untersucht. Antikörper gegen die Blutgruppe Dal wurden in bisherigen Studien bis zu einem Zeitraum von 2 Jahren und gegen die Blutgruppe DEA 1 sogar bis zu 4,5 Jahre nach der Transfusion nachgewiesen (Goulet und Blais 2018, Guidetti et al. 2019). Wie sich Antikörper gegen andere Blutgruppenantigene im weiteren Verlauf verhalten, wurde bisher noch nicht untersucht.

5.5. Möglicher Einfluss der Gabe von Immunsuppressiva auf

Alloimmunisierung

Ein Teil der Studienpopulation wurde während des Untersuchungszeitraums mit Immunsuppressiva behandelt. Da der Einfluss einer Behandlung mit Immunsuppressiva auf das Auftreten von Transfusionsreaktionen in einer bisherigen Studie beim Hund nicht nachgewiesen werden konnte (Bruce et al. 2015), wird eine Prämedikation mit Glukokortikoiden vor einer Transfusion in der Veterinärmedizin nicht empfohlen (Odunayo et al. 2021). Allerdings ist fraglich, ob die Behandlung Auswirkungen auf die Alloimmunisierung haben könnte. In der Humanmedizin wurde bereits in mehreren Studien eine niedrigere Alloimmunisierungsrate durch die Behandlung mit Immunsuppressiva beschrieben (Zalpuri et al. 2014, Pirenne 2019). Der Einfluss der Gabe von Immunsuppressiva bei den beschriebenen Patienten ist unklar. In dieser Arbeit wurden neun Hunde mit Immunsuppressiva behandelt. Die Therapie wurde zu unterschiedlichen Zeitpunkten begonnen. Dadurch war der Einfluss der Immunsuppressiva zum Zeitpunkt der Alloimmunisierung variabel. Es konnte keine signifikante Korrelation mit einer Bildung von Alloantikörpern innerhalb von 4 Tagen oder der Abnahme einer Agglutination im weiteren Verlauf nachgewiesen werden. Dennoch wurde bei zwei Hunden, welche mit Prednisolon (2 mg/kg) behandelt wurden, eine Abnahme der Agglutinationsstärke direkt nach Beginn der Therapie deutlich. Ein Rückgang der Agglutinationsstärke innerhalb des Untersuchungszeitraums konnte jedoch sowohl bei 4/7 behandelten als auch bei 5/9 unbehandelten Empfänger-Spender-Paaren festgestellt werden. Eine Korrelation zwischen der Behandlung mit Immunsuppressiva und dem Rückgang von Alloantikörpern konnte somit nicht nachgewiesen werden.

5.6. Mögliche Auswirkungen der Lagerungsdauer von

Spenderblutproben auf das Kreuzproben-Ergebnis

Ausgehend von einer Studie an Pferden aus dem Jahre 2012 wird ein Einfluss der Lagerung von Blutproben auf das Kreuzprobenergebnis angenommen (Harris et al. 2012). Die Reproduzierbarkeit der Kreuzproben war hier bereits innerhalb einer Woche Lagerung nicht mehr gegeben. In einer kürzlich publizierten Studie zur Auswirkung der Lagerungsdauer von Spenderblutproben auf die Kreuzprobenergebnisse bei Verwendung eines Gel-Röhrchen Verfahrens bei Hunden, konnte keine Korrelation nachgewiesen werden (Thomas-Hollands et al. 2023). In dieser Arbeit wurden die Spenderproben aus den Konserven asserviert und bis zur Durchführung der Kreuzproben bei 4°C gelagert. Während der Verlaufsuntersuchungen betrug die Lagerungsdauer der Spenderproben 0 – 39 Tage (M 12 Tage). Innerhalb der ersten 4 Tage nach der Transfusion entsprach die Lagerungsdauer der Spenderblutproben weitestgehend der Lagerungsdauer der Blutkonserve (+ 0 – 4 Tage). Auswirkungen der Lagerungsdauer der Blutkonserve auf eine Alloimmunisierung bis zum 4. Tag wurden nicht

nachgewiesen. Während des weiteren Untersuchungszeitraums variierte die Lagerungsdauer der Spenderblutproben jedoch zwischen 6 und 39 Tagen (M 19 Tagen). Allerdings war die Korrelation der Lagerungsdauer der Spenderblutproben und dem Ergebnis der Kreuzproben auch während dieses Untersuchungszeitraums nicht signifikant. Während des Vergleichs der verschiedenen Kreuzproben-Techniken kam es zu einer Lagerungsdauer der Spenderproben von bis zu 42 Tagen (M 11,5 Tagen). Dabei überstiegen lediglich 2 Proben eine Lagerungsdauer von 35 Tagen. Bei beiden Proben waren die entsprechenden Kreuzproben mit allen angewandten Verfahren kompatibel, sodass ein Einfluss der längeren Lagerungsdauer auf die Übereinstimmung der verschiedenen Kreuzprobenverfahren ausgeschlossen werden kann.

5.7. Die Kreuzprobe als Nachweisverfahren von Alloantikörpern

In den meisten veterinärmedizinischen Studien, wie auch in dieser Arbeit, wurde die Kreuzprobe als Nachweisverfahren für die Bildung von Antikörpern angewandt (Kessler et al. 2010, Goy-Thollot et al. 2017, Hourani et al. 2017). Jedoch wird diskutiert, ob das Kreuzprobenverfahren eine geeignete Methode für den Nachweis von Antikörpern ist oder unter anderem auch unspezifische Erythrozytenagglutination detektiert (Giger 2023). In der Humanmedizin wird ein Antikörper-Screening zum Nachweis der Bildung irregulärer Antikörper eingesetzt. Darüber hinaus dienen die Durchführung einer erweiterten Blutgruppenbestimmung sowie von Kreuzproben vor einer Transfusion der Reduzierung der Alloimmunisierungsrate (LaSalle-Williams et al. 2011, Makarovska-Bojadzieva et al. 2017, Fasano et al. 2019). Beim Hund sind über 12 verschiedene Blutgruppen bekannt und man geht davon aus, dass noch weitere bisher unbekannte Blutgruppen existieren (Novais und Magron 2018, Zaremba et al. 2019). In der Veterinärmedizin ist der Einsatz einer erweiterten Blutgruppenbestimmung sowie eines Antibody-Screenings im klinischen Rahmen aufgrund der limitierten Verfügbarkeit von Testreagenzien eingeschränkt. Kreuzproben bieten daher die Möglichkeit, Inkompatibilitäten gegen andere Blutgruppen sowie gegen irreguläre Antikörper zu detektieren. Dennoch könnte der Einsatz spezifischer Blutgruppenantigene bei der Untersuchung einer möglichen Alloimmunisierung Aufschluss über die Art und klinische Relevanz der gebildeten Alloantikörper bieten und sollte daher bei weiterführenden Studien in Betracht gezogen werden.

5.8. Relevanz schwacher Reaktionen in der Kreuzprobe

Kreuzproben wurden in dieser Arbeit mit dem konventionellem Röhrchen-Agglutinationsverfahren durchgeführt. Dieses wird häufig als Referenzmethode bezeichnet, jedoch wurde auch vermutet, dass dieses Verfahren eine zu hohe Sensitivität aufweist und auch Antikörper mit einem niedrigen Titer entdeckt, welche nicht zu einer akuten

Transfusionsreaktion führen (Sylvane et al. 2018, Marshall et al. 2021). Jedoch ist es möglich, dass Transfusionen mit einer kreuzproben-inkompatiblen Blutkonserve, auch wenn keine akute Transfusionsreaktion auftritt, den Transfusionserfolg mindern oder in einer verzögerten Transfusionsreaktion resultieren könnten (Spada et al. 2016a, Odunayo et al. 2017). In der Klinik könnte eine reduzierte Überlebensrate oder milde Hämolyse nach einer Transfusion aufgrund der fortbestehenden Grunderkrankungen der Patienten übersehen werden. Aus diesem Grund ist die Evaluierung klinischer Auswirkungen häufig erschwert. Obgleich schwach positive Kreuzproben, welche mit dem Röhrchen-Agglutinationsverfahren nachgewiesen werden, vermeintlich keine akute Transfusionsreaktionen auslösen, könnten diese dennoch eine klinische Relevanz haben (Zaremba et al. 2019).

Jedoch kann auch durch die Transfusion ausschließlich kreuzproben-kompatibler Blutkonserven eine angemessene Überlebensdauer der transfundierten Erythrozyten oder ein Ausschluss einer möglichen immunologischen Transfusionsreaktion nicht garantiert werden. Niedrige Titer möglicherweise vorkommender antierythrozytärer Antikörper könnten eventuell keine ausreichende Reaktion für dessen Nachweis auslösen und bei der Durchführung von Kreuzproben übersehen werden. Diese Antikörper können dennoch zu einer anamnestischen Reaktion, einer frühen Alloimmunisierung oder auch zu einer Transfusionsreaktion führen (Zaremba et al. 2019). Obgleich das Röhrchen-Agglutinationsverfahren in vergleichenden Studien eine sehr gute Sensitivität aufweist (Spada et al. 2018, Marshall et al. 2021, Zaremba et al. 2022), ist es unklar, ob die Verstärkung dieses Verfahrens durch Antiglobuline (Marshall et al. 2021) möglicherweise ein früheres Detektieren von Alloantikörpern erlauben würde oder dadurch eventuell bestehende natürliche Alloantikörper mit einem niedrigen Titer bereits vor der Ersttransfusion nachweisbar gewesen wären.

5.9. Röhrchen-Agglutinationsverfahren

Momentan gilt das Röhrchen-Agglutinationsverfahren als Referenzmethode (Davidow et al. 2021b). In vergleichenden Studien, wie auch in dieser Arbeit, wies das Röhrchen-Agglutinationsverfahren eine sehr gute Sensitivität auf. Auch bei Proben mit einem niedrigen Antikörpertiter konnte mit diesem Verfahren eine Inkompatibilität nachgewiesen werden (Blais et al. 2007, Guzman et al. 2016, Villarnovo et al. 2016, Spada et al. 2018, Marshall et al. 2021). Jedoch kann es auch bei diesem Verfahren zu fehlerhaften Ergebnissen kommen. So könnte Rouleaux-Bildung oder ungenügendes Waschen der Erythrozyten in falsch-positiven Ergebnissen und zu starkes Verdünnen der Erythrozyten oder Zerstörung fragiler Aggregate durch zu starkes Tippen gegen das Röhrchen in falsch-negativen Ergebnissen resultieren (Arnold et al. 2019). Weiterhin werden für dieses Verfahren unterschiedliche Protokolle beschrieben, welche teilweise lediglich eine direkte Zentrifugation, eine Inkubation bei Raumtemperatur, eine Inkubation bei 37°C, den Zusatz von Albumin oder auch von

Antiglobulinen beinhalten. Auf diese Weise variieren Sensitivität und Spezifität dieses Verfahrens je nach angewandtem Protokoll (Caudill et al. 2021). Jedoch wurde in einer Studie, bei der die Ergebnisse zweier Röhrchen-Agglutinationsverfahren verglichen wurden, auch bei Verwendung einer ähnlichen Methode durch zwei unterschiedliche Laboratorien, lediglich eine schlechte Übereinstimmung der Ergebnisse festgestellt (Zaremba et al. 2022). Daraus lässt sich folgern, dass die Ergebnisse dieser Methode durch verschiedene Faktoren beeinflusst werden können und die Auswertung einer gewissen Subjektivität unterliegt. Um die Fehlerquelle möglichst gering zu halten, wurden Kreuzproben in dieser Arbeit immer von derselben Person durchgeführt und die Auswertung wurde zudem durch eine zweite Person, geblindet zu den Ergebnissen der durchführenden Person, reevaluiert.

5.10. Einsatz verschiedener Kreuzproben Methoden

Neben dem Röhrchen-Agglutinationsverfahren finden verschiedene Gel-Röhrchen Verfahren und auch immunchromatographische Verfahren häufig Anwendung und sind zum Teil als kommerzielle Test-Kits verfügbar. Momentan sind ein Gel-Röhrchen Verfahren von Rapid-Vet, ein durch Antiglobuline verstärktes Gel-Röhrchen Verfahren von Alvedia sowie ein immunchromatographisches Verfahren, ebenfalls von Alvedia, kommerziell erhältlich. Die verschiedenen Verfahren wurden bereits in mehreren Studien angewandt und beschrieben (Guzman et al. 2016, Villarnovo et al. 2016, Spada et al. 2018, Guidetti et al. 2019, Marshall et al. 2021) (Tabelle 2), jedoch wurde bisher kein Standardverfahren für die Veterinärmedizin festgelegt (Davidow et al. 2021b). In dieser Arbeit wurde innerhalb einer Pilotstudie eine starke Übereinstimmung des durch Antiglobuline verstärkten Gel-Röhrchen Verfahrens, jedoch lediglich eine schwache Übereinstimmung des Gel-Röhrchen Verfahrens und keine Übereinstimmung des immunchromatographischen Verfahrens mit dem Röhrchen-Agglutinationsverfahren festgestellt.

Das konventionelle Gel-Röhrchen Verfahren ohne Verstärkung durch Antiglobuline, welches als Labormethode sowie auch als Testkit durchgeführt werden kann, weist laut mehreren Studien eine vergleichbare Sensitivität und Spezifität wie das Röhrchen-Agglutinationsverfahren auf (Blais et al. 2007, Luethy et al. 2016, Spada et al. 2018). Während jedoch in einer Studie bei Katzen mehrere Kreuzproben aufgrund von Rouleaux-Bildung mit einem konventionellen Gel Verfahren falsch-positiv ausgewertet wurden (McClosky et al. 2018), wurde in verschiedenen Studien, vermutet, dass diese Methode lediglich starke Agglutination anzeigt und feine Agglutinate durch die Gel-Matrix bis zum Boden des Gel-Röhrchens absinken (Blais et al. 2007, Guzman et al. 2016, Villarnovo et al. 2016, Marshall et al. 2021) (Tabelle 2). In unserer Studie wurde das Gel-Röhrchen Verfahren als Test-Kit von Rapid-Vet® angewandt. Eine Inkompatibilität wurde bei 30% der nur mikroskopisch und bei 62,5% der makroskopisch positiven Kreuzproben festgestellt. Die Übereinstimmung war

insgesamt lediglich schwach ($k=0,29$, $p=0,06$). Auch dieses Verfahren wurde bereits in mehreren vergleichenden Studien eingesetzt: In einer Studie wurden zwar übereinstimmende Ergebnisse von Gel-Röhrchen- und Röhrchen-Agglutinationsverfahren bei hoher Antikörperkonzentration, jedoch eine sinkende Sensitivität bei niedriger Antikörperkonzentration ab einer Verdünnung von 1:1600 festgestellt (Villarnovo et al. 2016). In zwei weiteren Studien, in denen dieses Verfahren im Vergleich zum Röhrchen-Agglutinationsverfahren getestet wurde, wurden keine der mit dem Röhrchen-Agglutinationsverfahren als inkompatibel gewerteten Kreuzproben detektiert (Guzman et al. 2016, Marshall et al. 2021). Jedoch wurden teilweise (in 1,42 – 3,73% der durchgeführten Kreuzproben) falsch-positive Ergebnisse im Vergleich zum Röhrchen-Agglutinationsverfahren beschrieben (Villarnovo et al. 2016, Marshall et al. 2021). Auch in der beschriebenen Studie war eine Kreuzprobe mit dem Gel-Röhrchen Verfahren inkompatibel, während das Röhrchen-Agglutinationsverfahren ein kompatibles Ergebnis anzeigte.

Durch den Zusatz von Antiglobulinen (Coombs'-Reagenz) könnte die Sensitivität des Testverfahrens verstärkt werden (Goy-Thollot et al. 2018, Marshall et al. 2021). Die Verstärkung durch den Zusatz mit Antiglobulinen lässt sich bei verschiedenen Verfahren anwenden. Neben der Verstärkung des Röhrchen-Agglutinationsverfahrens oder der Gel-Röhrchen Methode kann ein durch Antiglobuline verstärktes immunchromatographisches Verfahren Anwendung finden. Dieses Verfahren steht als Testkit der Firma Alvedia® zur Verfügung.

Obgleich in verschiedenen vergleichenden Studien übereinstimmende Ergebnisse mit dem durch Antiglobuline verstärkten Gel-Röhrchen Verfahren erzielt wurden (Goy-Thollot et al. 2017, Guidetti et al. 2019), wies das immunchromatographische Verfahren in mehreren Studien jedoch lediglich eine unzureichende Sensitivität auf (Spada et al. 2018, Marshall et al. 2021, Zaremba et al. 2022) (Tabelle 2). In dieser Arbeit wurde bei keiner Kreuzprobe eine Inkompatibilität mit dem immunchromatographischen Verfahren nachgewiesen.

Die durch Antiglobuline verstärkte Gel-Röhrchen Methode, welche ebenfalls als Labormethode sowie als Testkit Anwendung findet, überzeugte hingegen in bisherigen Studien durch eine 100%ige Übereinstimmung mit dem immunchromatographischen Verfahren bei Verwendung eines Test Kits (Goy-Thollot et al. 2017, Guidetti et al. 2019) oder sogar durch eine höhere Sensitivität im Vergleich zur konventionellen Gel-Röhrchen Methode ohne Verstärkung durch Antiglobuline bei Anwendung der Labormethode (bei 27% der Proben war die Agglutination im Vergleich stärker) (Goy-Thollot et al. 2018) (Tabelle 2). Im Vergleich zum Röhrchen-Agglutinationsverfahren wurde dieses Verfahren in bisherigen Studien noch nicht evaluiert. In dieser Arbeit wurde ein Testkit der Firma Alvedia® angewandt. 2/5 Kreuzproben

mit einem mikroskopischen Agglutinationsgrad von 1+, 3/4 Kreuzproben mit einem mikroskopischen Agglutinationsgrad von 2+ und alle Kreuzproben mit einem stärkeren Agglutinationsgrad wurden mit diesem Verfahren als inkompatibel erkannt. Insgesamt wurde so eine starke Übereinstimmung von 85,7% mit dem Röhren-Agglutinationsverfahren ($k=0,71$, $p<0,01$) festgestellt.

Bei 5 Kreuzproben (makr. AG 2+ - 3+, mikr. AG 3+), war die dazugehörige Empfängerkontrolle bei Durchführung des Röhren-Agglutinationsverfahrens mikroskopisch schwach positiv (mikr. AG 1+). Aufgrund der schwachen Ausprägung dieser Reaktion wurden diese Kreuzproben nicht aus der Vergleichsuntersuchung ausgeschlossen. Jedoch ist der Einfluss einer positiven Empfängerkontrolle auf das Ergebnis der Kreuzprobe insbesondere in Bezug auf die verschiedenen Kreuzproben Verfahren bisher noch unklar.

5.11. Klinische Relevanz verschiedener Ausprägungen der Kreuzproben-Ergebnisse

Während des Methodenvergleichs wiesen 35% der Kreuzproben mit dem Röhren-Agglutinationsverfahren lediglich eine mikroskopisch sichtbare Agglutination auf. Die klinische Relevanz niedriger Antikörper-Titer ist unklar. Das Auftreten akuter Transfusionsreaktionen ist unwahrscheinlich, jedoch ist es möglich, dass auch die Transfusion einer schwach kreuzproben-inkompatiblen Blutkonserve den Transfusionserfolg mindern könnte und eine verzögerte Transfusionsreaktion zur Folge haben könnte. Zudem könnte es zu einer Erhöhung des Antikörpertiters kommen, wodurch bei weiteren Transfusionen Komplikationen entstehen könnten (Spada et al. 2016a, Odunayo et al. 2017). Die Transfusion einer makroskopisch kreuzproben-inkompatiblen Blutkonserve kann jedoch das Auftreten einer akuten hämolytischen Transfusionsreaktion zur Folge haben und stellt somit ein hohes Risiko für den Patienten dar (Callan et al. 1995, Giger et al. 1995). Aus diesem Grund ist besonders die korrekte Erfassung makroskopisch positiver Kreuzprobenergebnisse von klinischer Relevanz. Während durch die durch Antiglobuline verstärkte Gel-Röhren Methode 100% der makroskopisch positiven Kreuzproben als inkompatibel detektiert wurden, erkannte die Gel-Röhren Methode 62,5% und das immunchromatographische Verfahren keine der makroskopisch inkompatiblen Kreuzproben. Falsch-positive Kreuzproben traten in dieser Studie selten auf. Lediglich bei einer Probe, welche mit dem Röhren-Agglutinationsverfahren als kompatibel gewertet wurde, wurde mit dem Gel-Röhren Verfahren eine inkompatible Kreuzprobe detektiert. Das Auftreten falsch-positiver Proben spielt eine untergeordnete Rolle für den Patienten, kann allerdings zur Einschränkung der Verfügbarkeit von Blutprodukten und somit zu einer Verzögerung der Transfusion führen.

5.12. Praxistauglichkeit der verschiedenen Kreuzproben Methoden

Da Bluttransfusionen meist in Notfallsituationen indiziert sind, bleibt häufig nicht genügend Zeit für eine umfassende Kompatibilitätstestung (Tocci und Ewing 2009). Aus diesem Grund ist es essentiell, dass praxistaugliche Verfahren verfügbar sind, welche eine schnelle und einfache Durchführung ermöglichen und eine hohe Sensitivität und Spezifität aufweisen. Die Durchführung der Kreuzproben ist besonders bei den Gelverfahren durch Entfallen des Waschvorgangs und kürzere Inkubationszeiten vereinfacht und deutlich schneller. Während die Durchführung des Röhren-Agglutinationsverfahrens in dieser Studie 36 Minuten in Anspruch nahm und je nach Anzahl der zu kreuzenden Spender auch deutlich länger dauern kann, wurde für das immunchromatographische Verfahren 30,5 Minuten, für die durch Antiglobuline verstärkte Gel-Röhren Methode 22,5 Minuten und für die Gel-Röhren Methode lediglich 17 Minuten benötigt. Einen weiteren Vorteil bieten die beschriebenen Testkits durch die weitgehende Stabilität der Ergebnisse, wodurch eine Reevaluierung zu einem späteren Zeitpunkt ermöglicht wird.

Obgleich Kreuzproben unabhängig von der angewandten Methode mit einem Agglutinationsgrad von $\geq 1+$ als inkompatibel gewertet werden, kann es in der Praxis zu Situationen kommen, in denen aufgrund fehlender Verfügbarkeit von Blutkonserven die Transfusion geringgradig kreuzproben-inkompatibler Blutkonserven unvermeidbar ist. Aus diesem Grund ist die Einteilung in verschiedene Grade der Inkompatibilität von Bedeutung. Diese wird laut Herstellerangaben lediglich für die durch Antiglobuline verstärkte Gel-Röhren Methode beschrieben, jedoch wird in verschiedenen Studien auch die Bandstärke des immunchromatographischen Verfahrens in die Grade 1+ - 4+ eingeteilt. Die Auswertung der Gel-Röhren Methode hingegen ermöglicht lediglich die Einteilung in kompatible und inkompatible Kreuzproben.

5.13. Limitationen

5.13.1. Alloimmunisierung bei Hunden infolge einer Transfusion

Im ersten Teil dieser Arbeit wurde die Bildung von Alloantikörpern infolge einer Transfusion mittels der Durchführung von Kreuzproben evaluiert. Dabei wurde das Röhren-Agglutinationsverfahren angewandt. Dieses Verfahren weist eine sehr hohe Sensitivität auf, jedoch wird vermutet, dass dieses Verfahren auch Antikörper entdeckt, welche keine klinische Relevanz haben. Obgleich jedoch vermutet wird, dass bei lediglich schwacher Ausprägung der Kreuzprobe mit dem Röhren-Agglutinationsverfahren eine Transfusion keine akuten Transfusionsreaktionen zur Folge hat, könnte es dennoch zu einem Anstieg des Antikörpertiters und eventuell auch zu einer reduzierten Überlebenszeit der transfundierten Erythrozyten kommen (Zaremba et al. 2019).

Mit diesem Verfahren wurden bei 12/21 Hunden innerhalb von 4 Tagen nach einer Transfusion eine Reaktion nachgewiesen. Die Agglutination war nur mikroskopisch sichtbar und schwach ausgeprägt. Des Weiteren wurde bei einem Teil der Studienpopulation eine Abnahme der Agglutination direkt nach dessen Auftreten beobachtet. Daraus lässt sich schließen, dass die gebildeten Antikörper nicht stabil sind. Ein Rückgang des Antikörpertiters wurde auch bereits in verschiedenen Studien aus der Humanmedizin beschrieben (Ramsey und Larson 1988, Tormey und Stack 2009). In der Humanmedizin wird das Risiko beschrieben, dass es in diesen Fällen durch eine weitere Transfusion zu einem erneuten und sogar stärkeren Anstieg des Antikörpertiters kommen könnte, wodurch verzögerte oder auch akute Transfusionsreaktionen ausgelöst werden könnten (Tormey und Hendrickson 2019). Eine mögliche klinische Relevanz bei einer eventuell späteren Transfusion konnte in dieser Arbeit aufgrund des limitierten Untersuchungszeitraums nicht untersucht werden.

Zur Studienpopulation zählten anämische Patienten, welche in der Klinik für kleine Haustiere transfundiert wurden. Es wurden Patienten mit unterschiedlichen Grunderkrankungen und zum Teil mit fortbestehenden Blutungen oder Hämolyse eingeschlossen. Aus diesem Grund war die Evaluation der klinischen Relevanz einer Alloimmunisierung erschwert. Veränderungen des Hämatokrits, der Bilirubinkonzentration oder der Leukozytenzahl wurden sowohl von der jeweiligen Grunderkrankung als auch durch die Lagerungsdauer der ausgewählten Blutkonserve und der Transfusionsmenge beeinflusst und konnten daher nicht direkt mit der Bildung von Alloantikörpern in Verbindung gebracht werden.

5.13.2. Evaluation verschiedener Kreuzproben Methoden im Vergleich zum Röhrchen-Agglutinationsverfahren

Der zweite Teil dieser Arbeit stellt einen Vergleich verschiedener kommerzieller Kreuzproben-Test-Kits zum Röhrchen-Agglutinationsverfahren in Bezug auf Übereinstimmung der Ergebnisse sowie Praxistauglichkeit dar. Bei dieser Pilotstudie wurde lediglich eine kleine Anzahl von Proben verglichen, sodass eine statistische Signifikanz nicht immer gegeben war. Zudem wurden keine Kreuzproben mit einem mikroskopischen Agglutinationsgrad von 4+ verglichen. Eine solch starke Reaktion in der Kreuzprobe ist äußerst selten und kommt meist nur bei Hunden vor, welche zuvor gegen eine Blutgruppe mit einer starken Antigenität sensibilisiert wurden. Des Weiteren wurden lediglich einzelne Kreuzproben, unabhängig von dessen klinischer Relevanz, miteinander verglichen. Bereits in mehreren Studien wurde vermutet, dass die mikroskopische Auswertung des Röhrchen-Agglutinationsverfahrens zu sensitiv sein könnte und schwach mikroskopisch positive Kreuzproben möglicherweise keine klinische Relevanz haben (Marshall et al. 2021, Zaremba et al. 2022). Da auch im Rahmen

dieser Studie möglichst kompatible Transfusionen verabreicht wurden, konnte die klinische Relevanz der verglichenen Kreuzproben in dieser Studie nicht untersucht werden.

5.14. Vorschläge für zukünftige Forschung

Die Bildung von Alloantikörpern infolge einer Transfusion und damit verbundene verzögerte hämolytische Transfusionsreaktionen stellen in der Veterinärmedizin eine häufige Komplikation dar (Holowaychuk et al. 2014, Maglaras et al. 2017). Verzögerte hämolytische Transfusionsreaktionen sind durch einen unerwarteten Abfall von Hämoglobin oder Hämatokrit innerhalb von 24 Stunden bis zu 28 Tage nach der Transfusion definiert (Davidow et al. 2021a). Die Prävalenz verzögerter Transfusionsreaktionen ist aufgrund weiter bestehender Verluste durch Blutungen oder Hämolyse bei Transfusionspatienten schwierig zu bestimmen. Möglicherweise könnten durch die Kontrolle des Hämatokrits und der Bilirubinkonzentration sowie durch die Durchführung eines DAT (direct antiglobulin test) oder von Kreuzproben vor und nach der Transfusion weitere Erkenntnisse über die immunologische Reaktion auf Transfusionen erlangt werden.

Die Bildung von Alloantikörpern wird mit dem Auftreten verzögerter Transfusionsreaktion oder bei weiteren Transfusionen auch mit akuten Komplikationen in Verbindung gebracht (Tocci und Ewing 2009, Spada et al. 2016a, Zaremba et al. 2019). Obgleich teilweise vermutet wird, dass die Prävalenz durch die Durchführung von Kreuzproben vor einer Transfusion reduziert und so der Transfusionserfolg erhöht werden kann (Odunayo et al. 2017), ist die klinische Relevanz schwach positiver Kreuzproben bisher noch unklar.

Beim Hund wurden bisher über 12 verschiedene Blutgruppensysteme beschrieben und es wird davon ausgegangen, dass noch weitere, bisher unbekannte, Blutgruppenantigene existieren (Novais und Magron 2018, Zaremba et al. 2019). Für die Blutgruppe DEA 1 stehen mehrere Test-Kits zur Verfügung, welche eine schnelle und einfache Typisierung ermöglichen. Eine erweiterte Blutgruppenbestimmung ist häufig nur in externen Laboratorien möglich, sodass dies einen hohen zeitlichen und kostenintensiven Aufwand bedeutet. Mittlerweile sind Test-Kits zudem zur Typisierung von Dal, DEA 4 und DEA 5 verfügbar. Für eine erweiterte Blutgruppentypisierung im Praxisalltag ist die Entwicklung weiterer Test-Kits erforderlich. Auch in dieser Dissertation wurden neben der Blutgruppe DEA 1 keine weiteren Blutgruppen bei Spender oder Empfänger untersucht, sodass unklar ist gegen welche Blutgruppenantigene die gebildeten Alloantikörper gerichtet waren. Es sind weitere Studien gefordert, um zu untersuchen, gegen welche Blutgruppenantigene nach einer Transfusion zu welchem Zeitpunkt Alloantikörper gebildet werden und welche klinischen Reaktionen mit diesen einhergehen können.

Wie auch in einer vorherigen Studie beobachtet (Kessler et al. 2010), konnte auch in der ersten Studie eine Abnahme der Agglutination im Verlauf beobachtet werden. Dieses Phänomen ist bereits aus der Humanmedizin bekannt. Nach Alloimmunisierung infolge einer Transfusion kommt es hier zu einer Abnahme des Antikörpertiters bis hin zu einem nicht detektierbaren Level. Bei erneuter Auseinandersetzung mit demselben Antigen kommt es zu einem starken Anstieg des Antikörpertiters, wodurch das Risiko einer verzögerten oder akuten hämolytischen Transfusionsreaktion erhöht wird (Ramsey und Larson 1988, Tormey und Stack 2009, Tormey und Hendrickson 2019). Ob dieses Risiko auch in der Veterinärmedizin eine Rolle spielt, ist bisher noch nicht untersucht worden.

In dieser Arbeit überzeugte das durch Antiglobuline verstärkte Gel-Röhrchen Verfahren durch eine gute Praxistauglichkeit sowie eine hohe Sensitivität und Spezifität im Vergleich zum Röhrchen-Agglutinationsverfahren. Die Anzahl an verglichenen Proben in dieser Arbeit war jedoch gering. Darüber hinaus ist die klinische Relevanz mit diesem Verfahren möglicherweise nicht detektierter schwach positiver Antikörpertiter bisher noch unklar, sodass weitere Studien notwendig sind, um eine sichere Aussage zur Kompatibilitätstestung durch dieses Verfahren treffen zu können.

5.15. Schlussfolgerung

Alloimmunisierung ist eine bekannte Komplikation in der Transfusionsmedizin. Durch die Durchführung von Kreuzproben lassen sich mögliche vorhandene Alloantikörper und auch die Bildung neuer Alloantikörper infolge einer Transfusion nachweisen. Im ersten Teil dieser Arbeit wurden Hinweise festgestellt, dass sich Alloantikörper beim Hund bereits früher als bisher angenommen infolge einer Transfusion bilden könnten. Da die Entwicklung einer positiven Kreuzprobe bei einem Hund bereits innerhalb von 12 Stunden nachgewiesen werden konnte, wird empfohlen, Kreuzproben, wenn es der klinische Rahmen ermöglicht, routinemäßig zur Kompatibilitätstestung vor jeder Zweittransfusion einzusetzen. Die Durchführung einer Kreuzprobe erfordert jedoch einen hohen zeitlichen Aufwand, sodass gerade in Notfall-Situationen keine Möglichkeit einer ausgeprägten Kompatibilitätstestung vorhanden ist. In den letzten Jahren wurden verschiedene Test-Kits entwickelt, welche die Durchführung und Auswertung vereinfachen und weniger Zeit in Anspruch nehmen. Im zweiten Teil dieser Dissertation wurden verschiedene Testverfahren im Vergleich zum Röhrchen-Agglutinationsverfahren verglichen. Obgleich das durch Antiglobuline verstärkte Gel-Röhrchen Verfahren von Alvedia teilweise schwache Agglutinate nicht erkannt hat, weist dieses Verfahren eine hohe Sensitivität auf und bietet besonders in Notfall-Situationen den Vorteil einer einfachen und schnellen Durchführung.

6. Zusammenfassung

Die Transfusionsmedizin stellt einen wichtigen Teil der Intensiv- und Notfallmedizin dar. Die fortbestehende Entwicklung neuer Transfusionstechniken sowie die Verbesserung der Kompatibilitätstestung trägt dazu bei, die Transfusionsmedizin möglichst sicher zu gestalten und Transfusionsreaktionen weitgehend zu vermeiden. Diese Dissertation beschreibt die Durchführung von Kreuzproben als Bestandteil der Kompatibilitätstestung beim Hund.

Im ersten Teil dieser Arbeit wurden Kreuzproben mittels des Röhrchen-Agglutinationsverfahrens seriell, sowohl vor als auch in den ersten Tagen direkt nach einer Transfusion, durchgeführt. Ziel war es zu untersuchen, ab welchem Zeitpunkt beim Hund eine Reaktion in der Kreuzprobe als möglichen Hinweis auf eine Alloimmunisierung infolge einer Transfusion nachweisbar ist. Bei 16 Hunden wurde innerhalb von 1 bis 13 Tagen (Median Tag 4) eine schwach positive Kreuzprobe gegen das Blut ihres ursprünglichen Spenders nachgewiesen. Interessanterweise wurde bei 12 Hunden bereits innerhalb von vier Tagen nach einer initialen Transfusion eine schwach positive Kreuzprobe festgestellt. Dies könnte auf eine frühe Alloimmunisierung infolge der Transfusion hinweisen, allerdings ist eine unspezifische Agglutination nicht auszuschließen.

Transfusionsreaktionen traten in diesem Teil der Studie nicht auf. Wie jedoch bereits in mehreren Studien vermutet, könnte es durch die Bildung von Alloantikörpern gegen Blutgruppenantigene mit einer niedrigen Antigenität zu einer verkürzten Lebensspanne der transfundierten Erythrozyten oder auch bei weiteren Transfusionen zu akuten Komplikationen kommen. Aus diesem Grund wird empfohlen, Kreuzproben, wenn es der klinische Rahmen ermöglicht, routinemäßig zur Kompatibilitätstestung vor jeder Zweittransfusion durchzuführen.

Im zweiten Teil dieser Dissertation wurden verschiedene kommerziell erhältliche Kreuzproben-Test-Kits im Vergleich zum Röhrchen-Agglutinationsverfahren bei verschiedenen Agglutinationsgraden auf Übereinstimmung der Ergebnisse sowie auf Praxistauglichkeit untersucht. Im Rahmen einer Pilotstudie wurden ein Gel-Röhrchen Verfahren [GR] von Rapid-Vet und ein durch Antiglobuline verstärktes Gel-Röhrchen Verfahren [AGR] sowie ein immunchromatographisches Verfahren [ICS] von Alvedia an 28 verschiedenen Empfänger-Spender-Paaren evaluiert. Im Vergleich zum Röhrchen-Agglutinationsverfahren war die Durchführung der verschiedenen Test-Kits einfacher und nahm durch eine kürzere Inkubationszeit weniger Zeit in Anspruch. Die Evaluierung ergab insgesamt eine 85,7%ige Übereinstimmung der AGR-, 60,7%ige Übereinstimmung der GR- und 35,7%ige Übereinstimmung der ICS-Methode mit dem Röhrchen-Agglutinationsverfahren. Bei alleiniger Betrachtung der makroskopisch positiven Testergebnisse war die Übereinstimmung zwischen dem Röhrchen-Agglutinationsverfahren und den Test-Kits entsprechend 100%, 62,5% und

0%. Die klinische Relevanz schwach positiver Kreuzproben ist bisher noch unklar, jedoch kann die Transfusion inkompatibler Blutprodukte zur Auslösung hämolytischer Transfusionsreaktionen führen. Sowohl das Gel-Röhrchen Verfahren als auch das immunchromatographische Verfahren zeigten daher eine ungenügende Sensitivität. Mit dem durch Antiglobuline verstärkten Gel-Röhrchen Verfahren wurden lediglich 4/9 schwach positive Kreuzproben, bei welchen mit dem Röhrchen-Agglutinationsverfahren eine mikroskopische Agglutination mit einem Agglutinationsgrad von 1+ - 2+ sichtbar wurde, als kompatibel gewertet. Bei allen weiteren Kreuzproben mit einem stärkeren Agglutinationsgrad stimmten die Ergebnisse mit denen des Röhrchen-Agglutinationsverfahrens überein. Die Durchführung hingegen war durch Entfall des Waschschrtes und eine kürzere Inkubationszeit vereinfacht und nahm im Vergleich zum Röhrchen-Agglutinationsverfahren deutlich weniger Zeit in Anspruch (Median 13,5 Minuten weniger). Aus diesem Grund bietet dieses Verfahren besonders in Notfall-Situationen eine gute Alternative zur Labormethode.

7. Summary

Canine transfusion medicine - alloimmunization after transfusion: serial crossmatching study and evaluation of different crossmatching techniques

Transfusion medicine is an important aspect of intensive care and emergency medicine. To prevent potential complications and to maintain the highest possible safety standards during transfusions, guidelines and testing procedures for compatibility testing have been developed. This dissertation describes the performance of crossmatching as part of compatibility testing in dogs.

In the first part of this work, serial crossmatch tests were performed using the tube agglutination method, both before and within the first few days directly after a transfusion. The aim was to investigate the point in time at which a reaction, as a possible sign of alloimmunization as a result of a transfusion, was detectable. 16 dogs developed a weakly positive crossmatch test to their original donor's blood within 1 to 13 days (median day 4). Interestingly, a weak positive crossmatch test was detected in 12 dogs within four days after an initial transfusion. This could indicate an early alloimmunization as a result of a transfusion, although non-specific agglutination cannot be ruled out.

Despite these findings, we did not observe a transfusion reaction in this part of the study. Nevertheless, as already suspected in several studies, the formation of alloantibodies against blood group antigens with low antigenicity could lead to a shortened life span of the transfused erythrocytes or acute complications in further transfusions. For this reason, it is recommended that crossmatching should be performed before each secondary transfusion as a part of routine compatibility testing when the clinical setting allows it.

In the second part, various commercially available crossmatch test kits were compared to the tube agglutination method at different degrees of agglutination for agreement of the results and practicability. In a pilot study, a gel-tube procedure [GR], an antiglobulin-enhanced gel-tube procedure [AGR], and an immunochromatographic procedure [ICS] were evaluated with 28 different recipient-donor pairs. Compared to the tube agglutination method, the various test kits were easier to perform and were more time-efficient, due to a shortened incubation time. Overall, the evaluation revealed 85.7% agreement of the AGR, 60.7% agreement of the GR, and 35.7% agreement of the ICS method with the tube agglutination method. When focusing solely on macroscopically positive test results, the agreement between the tube agglutination method and the test kits was 100%, 62.5%, and 0%, respectively. The clinical relevance of weakly positive crossmatch tests is still unclear, but the transfusion of incompatible blood products can trigger hemolytic transfusion reactions. Therefore, the gel tube as well as the

Summary

immunochromatographic procedure had an insufficient sensitivity. Using the antiglobulin-enhanced gel-tube method instead, only 4/9 weak positive crossmatch tests, in which only microscopic agglutination with a grade of agglutination of 1+ - 2+ was visible with the tube agglutination method, were determined to be compatible. All other crossmatch test results were concordant with those of the tube agglutination method. Nevertheless, this procedure was significantly less time-consuming compared to the tube agglutination method (median 13,5 minutes less). For this reason, it offers a viable alternative to the laboratory method, especially in emergency situations.

8. Literaturverzeichnis

Abrams-Ogg AC. (2003) Triggers for prophylactic use of platelet transfusions and optimal platelet dosing in thrombocytopenic dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2003 Nov;33(6):1401-1418

Acierno MM, Raj K, Giger U. (2014) DEA 1 expression on dog erythrocytes analyzed by immunochromatographic and flow cytometric techniques. *J Vet Intern Med.* 2014 Mar-Apr;28(2):592-598

Aktaran Bala D, Özcan M. (2016) The effects of freezing on long-term storage of canine erythrocytes. *Pol J Vet Sci.* 2016 19(2):401–406

Alves VM, Martins PR, Soares S, Araújo G, Schmidt LC, Costa SS, Langhi DM, Moraes-Souza H. (2012) Alloimmunization screening after transfusion of red blood cells in a prospective study. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2012 34(3):206-211

Appleman EH, Sachais BS, Patel R, Drobatz KJ, Groman RP, Kennedy DR, O'Donnell PA, Bryan C, Callan MB. (2009) Cryopreservation of canine platelets. *J Vet Intern Med.* 2009 Jan-Feb;23(1):138-1345

Arnold JE, Camus MS, Freeman KP, Giori L, Hooijberg EH, Jeffery U, Korchia J, Meindel MJ, Moore AR, Sisson SC, Vap LM, Cook JR. (2019) ASVCP Guidelines: Principles of Quality Assurance and Standards for Veterinary Clinical Pathology (version 3.0): Developed by the American Society for Veterinary Clinical Pathology's (ASVCP) Quality Assurance and Laboratory Standards (QALS) Committee. *Vet Clin Pathol.* 2019 Dec;48(4):542-618

Bank AS, Farrell KS, Epstein SE. (2023) Prevalence of dog erythrocyte antigen 1 in a population of dogs tested in California. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio).* 2023 Mar;33(2):267-271

Barth C, Straubinger RK, Sauter-Louis C, Hartmann K. (2012) Prevalence of antibodies against *Borrelia burgdorferi sensu lato* and *Anaplasma phagocytophilum* and their clinical relevance in dogs in Munich, Germany. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 2012 Jul-Aug;125(7-8):337-344

Belizaire RM, Makley AT, Campion EM, Sonnier DI, Goodman MD, Dorlac WC, Friend LA, Lentsch AB, Pritts TA. (2012) Resuscitation with washed aged packed red blood cell units decreases the proinflammatory response in mice after hemorrhage. *J Trauma Acute Care Surg.* 2012 Aug;73(2 Suppl 1):128-133

- Blais MC, Berman L, Oakley DA, Giger U. (2007) Canine Dal blood type: A red cell antigen lacking in some Dalmatians. *J Vet Intern Med.* 2007 Mar-Apr;21(2):281-286
- Blake RR, Lee JH, Ross MK, Archer TM, Wills RW, Mackin AJ, Thomason JM. (2017) Evaluation of eicosanoid concentrations in stored units of canine packed red blood cells. *J Am Vet Med Assoc.* 2017 Jan 15;250(2):191-198
- Blasi-Brugué C, Sanchez IM, Ferreira RR, de Matos AJ, Ruiz de Gopegui R. (2021) Quantitative assessment of infusion pump-mediated haemolysis in feline packed red blood cell transfusions. *J Feline Med Surg.* 2021 Dec;23(12):1149-1154
- Blois SL, Richardson DM, Abrams-Ogg AC. (2013) Comparison of a gel column blood typing method and a point-of-care cartridge for dog erythrocyte antigen 1.1. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio).* 2013 May-Jun;23(3):340-343
- Bosch Lozano L, Blois SL, Wood RD, Abrams-Ogg ACG, Bersenas AM, Bateman SW, Richardson DM. (2019) A pilot study evaluating the effects of prestorage leukoreduction on markers of inflammation in critically ill dogs receiving a blood transfusion. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio).* 2019 Jul;29(4):385-390
- Bovens C, Gruffydd-Jones T. (2013) Xenotransfusion with canine blood in the feline species: review of the literature. *J Feline Med Surg.* 2013 Feb;15(2):62-67
- Brownlee L, Wardrop KJ, Sellon RK, Meyers KM. (2000) Use of a prestorage leukoreduction filter effectively removes leukocytes from canine whole blood while preserving red blood cell viability. *J Vet Intern Med.* 2000 Jul-Aug;14(4):412-417
- Bruce JA, Kriese-Anderson L, Bruce AM, Pittman JR. (2015) Effect of premedication and other factors on the occurrence of acute transfusion reactions in dogs. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio).* 2015 Sep-Oct;25(5):620-630
- Bücheler, J. and Cotter, S.M. (1994) Storage of feline and canine whole blood in CPDA-1 and determination of the post-transfusion viability (abstract). *J Vet Intern Med.* 1994;8,172
- Bujok J, Wajman E, Trochanowska-Pauk N, Walski T. (2022) Evaluation of selected hematological, biochemical and oxidative stress parameters in stored canine CPDA-1 whole blood. *BMC Vet Res.* 2022 Jul 1;18(1):255
- Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL). (2011) Leitlinien zur Gewinnung, Lagerung, Transport und Verabreichung von Blut und Blutprodukten im Veterinärbereich. Fassung vom 6. April 2011

- Cable CA, Razavi SA, Roback JD, Murphy DJ. (2019) RBC Transfusion Strategies in the ICU: A Concise Review. *Crit Care Med.* 2019 Nov;47(11):1637-1644
- Callan MB, Appleman EH, Sachais BS. (2009) Canine platelet transfusions. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio).* 2009 Oct;19(5):401-415
- Callan MB, Jones LT, Giger U. (1995) Hemolytic transfusion reactions in a dog with an alloantibody to a common antigen. *J Vet Intern Med.* 1995 Jul-Aug;9(4):277-279
- Callan MB, Oakley DA, Shofer FS, Giger U. (1996) Canine red blood cell transfusion practice. *J Am Anim Hosp Assoc.* 1996 Jul-Aug;32(4):303-311
- Callan MB, Patel RT, Rux AH, Bandyopadhyay S, Sireci AN, O'Donnell PA, Ruane T, Sikora T, Marryott K, Sachais BS, Hod EA. (2013) Transfusion of 28-day-old leucoreduced or non-leucoreduced stored red blood cells induces an inflammatory response in healthy dogs. *Vox Sang.* 2013 Nov;105(4):319-327
- Callan MB, Thawley VJ, Marryott KA, Shabro A, Fernando S, Kahn S, Hudson KE, Hod EA. (2021) Hemolytic anemia blunts the cytokine response to transfusion of older red blood cells in mice and dogs. *Transfusion.* 2021 Dec;61(12):3309-3319
- Callow CR, Swindell R, Randall W, Chopra R. (2002) The frequency of bleeding complications in patients with haematological malignancy following the introduction of a stringent prophylactic platelet transfusion policy. *Br J Haematol.* 2002 Aug;118(2):677-682
- Cannavino A, LeVine D, Blais MC. (2022) Characterization of post-transfusion anti-FEA 1 alloantibodies in transfusion-naive FEA 1-negative cats. *J Feline Med Surg.* 2022 Jun;24(6):e124-e130
- Carli E, Carminato A, Ravagnan S, Capello K, Antognoni MT, Miglio A, Furlanello T, Proverbio D, Spada E, Stefani A, Mutinelli F, Vascellari M. (2017) Frequency of DEA 1 antigen in 1037 mongrel and PUREBREED dogs in ITALY. *BMC Vet Res.* 2017 Nov 29;13(1):364
- Caudill MN, Meichner K, Koenig A, Berghaus RD, Garner B. (2021) Comparison of serum versus EDTA plasma in canine major crossmatch reactions. *Vet Clin Pathol.* 2021 Sep;50(3):319-326
- Chang CC, Lee TC, Su MJ, Lin HC, Cheng FY, Chen YT, Yen TH, Chu FY. (2017) Transfusion-associated adverse reactions (TAARs) and cytokine accumulations in the stored blood components: the impact of prestorage versus poststorage leukoreduction. *Oncotarget.* 2017 Dec 7;9(4):4385-4394

- Checa R, Fidalgo LE, Montoya A, López AM, Barrera JP, Gálvez R, Sánchez de la Nieta S, Marino V, Sarquis J, Miró G. (2019) The role of healthy dog carriers of *Babesia microti-like piroplasms*. *Parasit Vectors*. 2019 Mar 26;12(1):127
- Chee W, Sharp CR, Boyd CJ, Claus MA, Smart L. (2022) Stability of ex vivo coagulation factor activity in never-frozen and thawed refrigerated canine plasma stored for 42 days. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)*. 2022 Mar;32(2):189-195
- Chirek A, Silaghi C, Pfister K, Kohn B. (2017) The occurrence of *Anaplasma phagocytophilum* in canine blood donors in Berlin/Brandenburg (2006–2012): Retrospective analysis of clinical data and relevance for transfusion medicine. *Berl. Münchener Tierärztliche Wochenschr*. 2017;131: 124–130
- Clancey NP, Murphy MC. (2012) Zinc-induced hemolytic anemia in a dog caused by ingestion of a game-playing die. *Can Vet J*. 2012 Apr;53(4):383-386
- Claus MA, Poh D, Smart L, Purcell SL, Boyd CJ, Sharp CR. (2022) Effect of leukoreduction on inflammation in critically ill dogs receiving red blood cell transfusions: A randomized blinded controlled clinical trial. *J Vet Intern Med*. 2022 Jul;36(4):1248-1257
- Coll AC, Ross MK, Williams ML, Wills RW, Mackin AJ, Thomason JM (2022). Effect of washing units of canine red blood cells on storage lesions. *J Vet Intern Med*. 2022 Jan;36(1):66-77
- Conti-Patara A, Ngwenyama TR, Martin LG, Wardrop KJ (2021). Dal-induced red blood cell incompatibilities in a Doberman Pinscher with von Willebrand factor deficiency and ehrlichiosis. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)*. 2021 Mar;31(2):274-278
- Cooley-Lock KM, Williams JP, Williams ML, Elder SH, Wills RW, Olivier AK, Archer TM, Mackin AJ, Thomason JM (2019). Assessment of erythrocyte damage and in-line pressure changes associated with simulated transfusion of canine blood through microaggregate filters. *Am J Vet Res*. 2019 Sep;80(9):852-861
- Corsi R, McMichael MA, Smith SA, O'Brien M, Herring J, Ngwenyama TR, Galligan A, Beloshapka AN, Deng P, Swanson KS. (2014) Cytokine concentration in stored canine erythrocyte concentrates. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)*. 2014 May-Jun;24(3):259-263
- Crawford K, Walton J, Lewis D, Tasker S, Warman SM. (2013) Infectious agent screening in canine blood donors in the United Kingdom. *J Small Anim Pract*. 2013 Aug;54(8):414-417

- Culler CA, Balakrishnan A, Yaxley PE, Guillaumin J (2019). Clinical use of cryopoor plasma continuous rate infusion in critically ill, hypoalbuminemic dogs. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)*. 2019 May;29(3):314-320
- Culler CA, Iazbik C, Guillaumin J. (2017) Comparison of albumin, colloid osmotic pressure, von Willebrand factor, and coagulation factors in canine cryopoor plasma, cryoprecipitate, and fresh frozen plasma. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)*. 2017 Nov;27(6):638-644
- Dacie J. (1979) Evolution of ideas on the life-span of the red blood cell. *J R Soc Med*. 1979 Jun;72(6):447-452
- Davidow B. (2013) Transfusion medicine in small animals. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 2013 Jul;43(4):735-756
- Davidow EB, Blois SL, Goy-Thollot I, Harris L, Humm K, Musulin S, Nash KJ, Odunayo A, Sharp CR, Spada E, Thomason J, Walton J, Wardrop KJ. (2021a) Association of Veterinary Hematology and Transfusion Medicine (AVHTM) Transfusion Reaction Small Animal Consensus Statement (TRACS). Part 1: Definitions and clinical signs. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)*. 2021 Mar;31(2):141-166
- Davidow EB, Blois SL, Goy-Thollot I, Harris L, Humm K, Musulin S, Nash KJ, Odunayo A, Sharp CR, Spada E, Thomason J, Walton J, Wardrop KJ. (2021b) Association of Veterinary Hematology and Transfusion Medicine (AVHTM) Transfusion Reaction Small Animal Consensus Statement (TRACS) Part 2: Prevention and monitoring. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)*. 2021 Mar;31(2):167-188
- Davidow EB, Montgomery H, Mensing M. (2022) The influence of leukoreduction on the acute transfusion-related complication rate in 455 dogs receiving 730 packed RBCs: 2014-2017. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)*. 2022 Jul;32(4):479-490
- Day MJ, Kohn B. (2012) Canine transfusion medicine In: *BSAVA Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine*. Hrsg. Day MJ, Kohn B. 2. Auflage, 2012 S. 289-307; British Small Animal Veterinary Association, Gloucester. ISBN 978-1-905319-29-9
- Deeg HJ, Graham TC, Gerhard-Miller L, Appelbaum FR, Schuening F, Storb R. (1989) Prevention of transfusion-induced graft-versus-host disease in dogs by ultraviolet irradiation. *Blood*. 1989 Nov 15;74(7):2592-2595
- Deschamps JY, Abboud N, Roux FA. (2022) Xenotransfusion of Blood from Dog to Cat: Should Canine Blood Be Our First Choice for Feline Transfusion in Emergency Situations? *Vet Sci*. 2022 Feb 28;9(3):106

- Dhliwayo S, Makonese TA, Whittall B, Chikerema SM, Pfukenyi DM, Tivapasi MT. (2016) A study on the prevalence of dog erythrocyte antigen 1.1 and detection of canine Babesia by polymerase chain reaction from apparently healthy dogs in a selected rural community in Zimbabwe. *J S Afr Vet Assoc.* 2016 Oct 26;87(1):e1-e5
- Dinardo CL, Bonifácio SL, Mendrone A Jr. (2014) Indirect antiglobulin test-crossmatch using low-ionic-strength saline-albumin enhancement medium and reduced incubation time: effectiveness in the detection of most clinically significant antibodies and impact on blood utilization. *Immunohematology.* 2014;30(1):1-5
- Donahue ME, Fernandez AL. (2019) Effects of storage over a 36-month period on coagulation factors in a canine plasma product obtained by use of plasmapheresis. *Am J Vet Res.* 2019 Jun;80(6):578-585
- Dzik WH, Riibner MA, Linehan SK. (1989) Refreezing previously thawed fresh-frozen plasma. Stability of coagulation factors V and VIII:C. *Transfusion.* 1989 Sep;29(7):600-604
- Ebelt AK, Fuchs S, Weber C, Müller E, Giger U. (2020) Survey of Blood Groups DEA 1, DEA 4, DEA 5, Dal, and Kai 1/Kai 2 in Different Canine Breeds From a Diagnostic Laboratory in Germany. *Front Vet Sci.* 2020 Feb 28;7:85
- Ergul Ekiz E, Arslan M, Ozcan M, Gultekin GI, Gulay OY, Kirmizibayrak T, Giger U. (2011) Frequency of dog erythrocyte antigen 1.1 in 4 breeds native to different areas in Turkey. *Vet Clin Pathol.* 2011 Dec;40(4):518-523
- Esteves VS, Lacerda L de A, Lasta CS, Pedralli V, González FHD. (2011) Frequencies of DEA blood types in a purebred canine blood donor population in Porto Alegre, RS, Brazil. *Pesq Vet Bras.* 2011 Feb;31(2):178–81
- Euler CC, Lee JH, Kim HY, Raj K, Mizukami K, Giger U. (2016) Survey of Two New (Kai 1 and Kai 2) and Other Blood Groups in Dogs of North America. *J Vet Intern Med.* 2016 Sep;30(5):1642-1647
- Evers D, van der Bom JG, Tijmensen J, Middelburg RA, de Haas M, Zalpuri S, de Vooght KM, van de Kerkhof D, Visser O, Péquériaux NC, Hudig F, Zwaginga JJ. (2016) Red cell alloimmunisation in patients with different types of infections. *Br J Haematol.* 2016 Dec;175(5):956-966
- Fasano RM, Meyer EK, Branscomb J, White MS, Gibson RW, Eckman JR. (2019) Impact of Red Blood Cell Antigen Matching on Alloimmunization and Transfusion Complications in

- Patients with Sickle Cell Disease: A Systematic Review. *Transfus Med Rev.* 2019 Jan;33(1):12-23
- Ferreira RR, Gopegui RR, Matos AJ. (2011) Frequency of dog erythrocyte antigen 1.1 expression in dogs from Portugal. *Vet Clin Pathol.* 2011 Jun;40(2):198-201
- Ferreira RRF, Graça RMC, Cardoso IM, Gopegui RR, de Matos AJF. (2018) In vitro hemolysis of stored units of canine packed red blood cells. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio).* 2018 Nov;28(6):512-517
- Finlay JR, Wyatt K, North C. (2017) Recovery from Cyclophosphamide Overdose in a Dog. *J Am Anim Hosp Assoc.* 2017 Jul/Aug;53(4):230-235
- Fitzgerald RD, Martin CM, Dietz GE, Doig GS, Potter RF, Sibbald WJ. (1997) Transfusing red blood cells stored in citrate phosphate dextrose adenine-1 for 28 days fails to improve tissue oxygenation in rats. *Crit Care Med.* 1997 May;25(5):726-32
- Foot ML, Brooks MB, Archer TM, Wills RW, Mackin AJ, Thomason JM. (2019) Coagulation factor activity in units of leukoreduced and nonleukoreduced canine fresh-frozen plasma. *Am J Vet Res.* 2019 Sep;80(9):846-851
- Frank MJ, Khattab MR, Wills RW, Archer TM, Mackin AJ, Suchodolski JS, Lidbury JA, Steiner JM, Sullivant AM, Thomason JM. (2021) Effects of leukoreduction on N-methylhistamine concentration in stored units of canine whole blood. *Am J Vet Res.* 2021 Nov;82(11):890-896
- Furuseth MT, Alme C, Garvik LJ, Hellebostad M, Bechensteen AG, Akkøk ÇA. (2021) Alloimmunization in transfused patients with constitutional anemias in Norway. *Transfus Apher Sci.* 2021 Oct;60(5):103257
- Garden OA, Kidd L, Mexas AM, Chang YM, Jeffery U, Blois SL, Fogle JE, MacNeill AL, Lubas G, Birkenheuer A, Buoncompagni S, Dandrieux JRS, Di Loria A, Fellman CL, Glanemann B, Goggs R, Granick JL, LeVine DN, Sharp CR, Smith-Carr S, Swann JW, Szladovits B. (2019) ACVIM consensus statement on the diagnosis of immune-mediated hemolytic anemia in dogs and cats. *J Vet Intern Med.* 2019 Mar;33(2):313-334
- Garg S, Saini N, Bedi RK, Basu S. (2017) Comparison of micro column technology with conventional tube methods for antibody detection. *J Lab Physicians.* 2017 Apr-Jun;9(2):95-99
- Gehrke S, Srinivasan AJ, Culp-Hill R, Reisz JA, Ansari A, Gray A, Landrigan M, Welsby I, D'Alessandro A. (2018) Metabolomics evaluation of early-storage red blood cell rejuvenation at 4°C and 37°C. *Transfusion.* 2018 Aug;58(8):1980-1991

- Ghosal RDK, Bos A. (2019) Successful management of catastrophic peripheral vascular hemorrhage using massive autotransfusion and damage control surgery in a dog. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)*. 2019 Jul;29(4):439-443
- Giger U. (2023) Crossmatch: Alloimmunization versus unspecific agglutination reactions? *J Vet Intern Med*. 2023 Jan;37(1):8-9
- Giger U, Gelens CJ, Callan MB, Oakley DA. (1995) An acute hemolytic transfusion reaction caused by dog erythrocyte antigen 1.1 incompatibility in a previously sensitized dog. *J Am Vet Med Assoc*. 1995 May 1;206(9):1358-1362
- Giger U, Stieger K, Palos H. (2005) Comparison of various canine blood-typing methods. *Am J Vet Res*. 2005 Aug;66(8):1386-1392
- Godinho-Cunha LF, Ferreira RM, Silvestre-Ferreira AC. (2011) Whole blood transfusion in small animals: indications and effects. *An Acad Bras Cienc*. 2011 Jun;83(2):611-617
- Goggs R. (2020) Therapeutic Strategies for Treatment of Immune-Mediated Hemolytic Anemia. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 2020 Nov;50(6):1327-1349
- Goodnough LT, Panigrahi AK. (2017) Blood Transfusion Therapy. *Med Clin North Am*. 2017 Mar;101(2):431-447
- Goubran H, Sheridan D, Radosevic J, Burnouf T, Seghatchian J. (2017) Transfusion-related immunomodulation and cancer. *Transfus Apher Sci*. 2017 Jun;56(3):336-340
- Goulet S, Blais MC. (2018) Characterization of Anti- Dal Alloantibodies Following Sensitization of Two Dal-Negative Dogs. *Vet Pathol*. 2018 Jan;55(1):108-115
- Goulet S, Giger U, Arsenault J, Abrams-Ogg A, Euler CC, Blais MC. (2017) Prevalence and Mode of Inheritance of the Dal Blood Group in Dogs in North America. *J Vet Intern Med*. 2017 May;31(3):751-758
- Goy-Thollot I, Nectoux A, Guidetti M, Chaprier B, Bourgeois S, Boisvineau C, Barthélemy A, Pouzot-Nevoret C, Giger U. (2019) Detection of naturally occurring alloantibody by an in-clinic antiglobulin-enhanced and standard crossmatch gel column test in non-transfused domestic shorthair cats. *J Vet Intern Med*. 2019 Mar;33(2):588-595
- Graf C, Raila J, Schweigert FJ, Kohn B. (2012) Effect of leukoreduction treatment on vascular endothelial growth factor concentration in stored canine blood transfusion products. *Am J Vet Res*. 2012 Dec;73(12):2001-2006

- Greenwalt TJ. (1997) A short history of transfusion medicine. *Transfusion*. 1997 May;37(5):550-563
- Grochowsky AR, Rozanski EA, de Laforcade AM, Sharp CR, Meola DM, Schavone JJ, Brooks MB. (2014) An ex vivo evaluation of efficacy of refrigerated canine plasma. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)*. 2014 Jul-Aug;24(4):388-397
- Guidetti M, Goy-Thollot I, Boisvineau C, Giger U. (2019) Alloimmunization of a dog erythrocyte antigen 1- dog transfused with weakly dog erythrocyte antigen 1+ blood. *J Vet Intern Med*. 2019 Sep;33(5):2037-2045
- Guzman LR, Streeter E, Malandra A. (2016) Comparison of a commercial blood cross-matching kit to the standard laboratory method for establishing blood transfusion compatibility in dogs. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)*. 2016 Mar-Apr;26(2):262-268
- Haines JM, Ngwenyama TR, Martin LG, Wardrop KJ. (2022) Development and implementation of a hemovigilance program at a university veterinary teaching hospital. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)*. 2022 May;32(3):315-321
- Haldane S, Roberts J, Marks SL, Raffe MR. (2004) Transfusion medicine. *Compend Contin Ed Pract Vet*. 2004 Jul;26(7):502-517
- Hale AS. Canine blood groups and their importance in veterinary transfusion medicine. (1995) *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 1995 Nov;25(6):1323-1332
- Hale AS, Werfelmann J. (2006) Incidence of canine serum antibody to known dog erythrocyte antigens in potential donor population (abstract). *J Vet Intern Med* 2006;20:768-769.
- Haley AL, Mann FA, Middleton J, Nelson CA. (2015) Perioperative red blood cell transfusion requirement for various surgical procedures in dogs: 207 cases (2004-2013). *J Am Vet Med Assoc*. 2015 Jul 1;247(1):85-91
- Hann L, Brown DC, King LG, Callan MB. (2014) Effect of duration of packed red blood cell storage on morbidity and mortality in dogs after transfusion: 3,095 cases (2001-2010). *J Vet Intern Med*. 2014 Nov-Dec;28(6):1830-1837
- Hanson KR, Pigott AM, Linklater AK. (2017) Incidence of blood transfusion requirement and factors associated with transfusion following liver lobectomy in dogs and cats: 72 cases (2007-2015). *J Am Vet Med Assoc*. 2017 Oct 15;251(8):929-934
- Harizi H, Corcuff JB, Gualde N. (2008) Arachidonic-acid-derived eicosanoids: roles in biology and immunopathology. *Trends Mol Med*. 2008 Oct;14(10):461-469

- Harris M, Nolen-Walston R, Ashton W, May M, Jackson K, Boston R. (2012) Effect of sample storage on blood crossmatching in horses. *J Vet Intern Med.* 2012 May-Jun;26(3):662-667
- Hébert PC, Wells G, Blajchman MA, Marshall J, Martin C, Pagliarello G, Tweeddale M, Schweitzer I, Yetisir E. (1999) A multicenter, randomized, controlled clinical trial of transfusion requirements in critical care. Transfusion Requirements in Critical Care Investigators, Canadian Critical Care Trials Group. *N Engl J Med.* 1999 Feb 11;340(6):409-417
- Heddle NM. (1999) Pathophysiology of febrile nonhemolytic transfusion reactions. *Curr Opin Hematol.* 1999 Nov;6(6):420-426
- Herring JM, Smith SA, McMichael MA, O'Brien M, Ngwenyama TR, Corsi R, Galligan A, Beloshapka AN, Deng P, Swanson KS. (2013) Microparticles in stored canine RBC concentrates. *Vet Clin Pathol.* 2013 Jun;42(2):163-169
- Hillström A, Tvedten H, Rowe A, Giger U. (2011) Hereditary phosphofructokinase deficiency in wachtelhunds. *J Am Anim Hosp Assoc.* 2011 Mar-Apr;47(2):145-150
- Ho CH, Chan IH. (1995) The influence of time of storage, temperature of storage, platelet number in platelet-rich plasma, packed cell, mean platelet volume, hemoglobin concentration, age, and sex on platelet aggregation test. *Ann Hematol.* 1995 Sep;71(3):129-133
- Holowaychuk MK, Leader JL, Monteith G. (2014) Risk factors for transfusion-associated complications and nonsurvival in dogs receiving packed red blood cell transfusions: 211 cases (2008-2011). *J Am Vet Med Assoc.* 2014 Feb 15;244(4):431-437
- Holst LB, Petersen MW, Haase N, Perner A, Wetterslev J. (2015) Restrictive versus liberal transfusion strategy for red blood cell transfusion: systematic review of randomized trials with meta-analysis and trial sequential analysis. *BMJ.* 2015 Mar 24;350:h1354
- Hourani L, Weingart C, Kohn B. (2017) Alloimmunisation in transfused patients: serial cross-matching in a population of hospitalized cats. *J Feline Med Surg.* 2017 Dec;19(12):1231-1237
- Iazbik MC, O'Donnell M, Marin L, Zaldivar S, Hudson D, Couto CG. (2010) Prevalence of dog erythrocyte antigens in retired racing Greyhounds. *Vet Clin Pathol.* 2010 Dec;39(4):433-435
- Jagodich TA, Holowaychuk MK. (2016) Transfusion practice in dogs and cats: an Internet-based survey. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio).* 2016 May;26(3):360-372
- Jain A, Marwaha N, Sharma RR, Kaur J, Thakur M, Dhawan HK. (2015) Serial changes in morphology and biochemical markers in platelet preparations with storage. *Asian J Transfus Sci.* 2015 Jan-Jun;9(1):41-47

- Jensen J, Simon D, Murua Escobar H, Soller JT, Bullerdiek J, Beelitz P, Pfister K, Nolte I. (2007) *Anaplasma phagocytophilum* in dogs in Germany. Zoonoses Public Health. 2007;54(2):94-101
- Jones AR, Frazier SK. (2014) Increased mortality in adult patients with trauma transfused with blood components compared with whole blood. J Trauma Nurs. 2014 Jan-Feb;21(1):22-29
- Jutkowitz LA, Rozanski EA, Moreau JA, Rush JE. (2022) Massive transfusion in dogs: 15 cases (1997-2001). J Am Vet Med Assoc. 2002 Jun 1;220(11):1664-1669
- Jy W, Ricci M, Shariatmadar S, Gomez-Marin O, Horstman LH, Ahn YS. (2011) Microparticles in stored red blood cells as potential mediators of transfusion complications. Transfusion. 2011 Apr;51(4):886-893
- Kerl ME, Hohenhaus AE. (1993) Packed red blood cell transfusions in dogs: 131 cases (1989). J Am Vet Med Assoc. 1993 May 1;202(9):1495-1499
- Kessler RJ, Reese J, Chang D, Seth M, Hale AS, Giger U. (2010) Dog erythrocyte antigens 1.1, 1.2, 3, 4, 7, and Dal blood typing and cross-matching by gel column technique. Vet Clin Pathol. 2010 Sep;39(3):306-316
- King KE, Shirey RS, Thoman SK, Bensen-Kennedy D, Tanz WS, Ness PM. (2004) Universal leukoreduction decreases the incidence of febrile nonhemolytic transfusion reactions to RBCs. Transfusion. 2004 Jan;44(1):25-29
- Kisielewicz C, Self I, Bell R. (2014) Assessment of clinical and laboratory variables as a guide to packed red blood cell transfusion of euvoletic anemic dogs. J Vet Intern Med. 2014 Mar-Apr;28(2):576-582
- Kisielewicz C, Self IA. (2014) Canine and feline blood transfusions: controversies and recent advances in administration practices. Vet Anaesth Analg. 2014 May;41(3):233-242
- Kohn B, Silaghi C, Galke D, Arndt G, Pfister K. (2011) Infections with *Anaplasma phagocytophilum* in dogs in Germany. Res Vet Sci. 2011 Aug;91(1):71-76.
- Kohn et al. 2012: Kohn B, Classe G, Weingart C. (2012) Clinical evaluation of the QuickVet/RapidVet canine dog erythrocyte antigen 1.1 blood-typing test. J Vet Diagn Invest. 2012 May;24(3):539-545
- Kohn B, Weingart C. (2017) Anämien, Polyzythämien, Gerinnungsstörungen In: Praktikum der Hundeklinik Hrsg.: Kohn B, Schwarz G, 12. aktualisierte Auflage, 2017 S.265-304; Stuttgart: Enke Verlag; ISBN 9783132199613

- Kumar R. (2017) Blood transfusion in veterinary medicine. *Hematol Transfus Int J.* 2017;4(4):116-122
- Lacerda LA, Hlavac NR, Terra SR, Back FP, Jane Wardrop K, González FH. (2014) Effects of four additive solutions on canine leukoreduced red cell concentrate quality during storage. *Vet Clin Pathol.* 2014 Sep;43(3):362-370
- Lanevski A, Wardrop KJ. (2001) Principles of transfusion medicine in small animals. *Can Vet J.* 2001 Jun;42(6):447-454
- Lasalle-Williams M, Nuss R, Le T, Cole L, Hassell K, Murphy JR, Ambruso DR. (2011) Extended red blood cell antigen matching for transfusions in sickle cell disease: a review of a 14-year experience from a single center (CME). *Transfusion.* 2011 Aug;51(8):1732-1739
- Lasta CS, Hlavac N, Marcondes NA, Dalmolin ML, Terra SR, de Almeida Lacerda L, Faulhaber GAM, González FHD. (2020) Quality control in veterinary blood banks: evaluation of canine platelet concentrates stored for five days. *BMC Vet Res.* 2020 Jan 30;16(1):25
- Le Gal A, Thomas EK, Humm KR. (2020) Xenotransfusion of canine blood to cats: a review of 49 cases and their outcome. *J Small Anim Pract.* 2020 Mar;61(3):156-162
- Lee JH, Giger U, Kim HY. (2017) Kai 1 and Kai 2: Characterization of these dog erythrocyte antigens by monoclonal antibodies. *PLoS One.* 2017 Jun 29;12(6):e0179932
- Lu C, Shi J, Yu H, Hou J, Zhou J. (2011) Procoagulant activity of long-term stored red blood cells due to phosphatidylserine exposure. *Transfus Med.* 2011 Jun;21(3):150-157
- Lucas RL, Lentz KD, Hale AS. (2004) Collection and preparation of blood products. *Clin Tech Small Anim Pract.* 2004 May;19(2):55-62
- Luethy D, Owens SD, Stefanovski D, Nolen-Walston R, Giger U. (2016) Comparison of Tube, Gel, and Immunochromatographic Strip Methods for Evaluation of Blood Transfusion Compatibility in Horses. *J Vet Intern Med.* 2016 Nov;30(6):1864-1871
- Lux CN, Culp WT, Mayhew PD, Tong K, Rebhun RB, Kass PH. (2013) Perioperative outcome in dogs with hemoperitoneum: 83 cases (2005-2010). *J Am Vet Med Assoc.* 2013 May 15;242(10):1385-1391
- Lynch AM, O'Toole TE, Hamilton J. (2015a) Transfusion practices for treatment of dogs undergoing splenectomy for splenic masses: 542 cases (2001-2012). *J Am Vet Med Assoc.* 2015 Sep 15;247(6):636-642

- Lynch AM, O'Toole TE, Respass M. (2015b) Transfusion practices for treatment of dogs hospitalized following trauma: 125 cases (2008-2013). *J Am Vet Med Assoc.* 2015 Sep 15;247(6):643-649
- Maglaras CH, Koenig A, Bedard DL, Brainard BM. (2017) Retrospective evaluation of the effect of red blood cell product age on occurrence of acute transfusion-related complications in dogs: 210 cases (2010-2012). *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio).* 2017 Jan;27(1):108-120
- Makarovska-Bojadzieva T, Velkova E, Blagoevska M. (2017) The Impact of Extended Typing On Red Blood Cell Alloimmunization in Transfused Patients. *Open Access Maced J Med Sci.* 2017 Apr 8;5(2):107-111
- Marenzoni ML, Antognoni MT, Baldelli F, Miglio A, Stefanetti V, Desario C, Di Summa A, Buonavoglia C, Decaro N. (2018) Detection of parvovirus and herpesvirus DNA in the blood of feline and canine blood donors. *Vet Microbiol.* 2018 Oct;224:66-69
- Marion RS, Smith JE. (1983) Posttransfusion viability of feline erythrocytes stored in acid-citrate-dextrose solution. *J Am Vet Med Assoc.* 1983 Dec 15;183(12):1459-1460
- Marshall H, Blois SL, Abrams-Ogg ACG, Bersenas AM, Ruotsalo K, Monteith G. (2021) Accuracy of point-of-care crossmatching methods and crossmatch incompatibility in critically ill dogs. *J Vet Intern Med.* 2021 Jan;35(1):245-251
- McClosky ME, Cimino Brown D, Weinstein NM, Chappini N, Taney MT, Marrayott K, Callan MB. (2018) Prevalence of naturally occurring non-AB blood type incompatibilities in cats and influence of crossmatch on transfusion outcomes. *J Vet Intern Med.* 2018 Nov;32(6):1934-1942
- McDevitt RI, Ruaux CG, Baltzer WI. (2011) Influence of transfusion technique on survival of autologous red blood cells in the dog. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio).* 2011 Jun;21(3):209-216
- McMichael MA, Smith SA, Galligan A, Swanson KS, Fan TM. (2010) Effect of leukoreduction on transfusion-induced inflammation in dogs. *J Vet Intern Med.* 2010 Sep-Oct;24(5):1131-1137
- Medina Valentin AA, Gavazza A, Lubas G. (2017) Prevalence of Dog Erythrocyte Antigen 1 in 7,414 Dogs in Italy. *Vet Med Int.* 2017;2017:5914629
- Melzer KJ, Wardrop KJ, Hale AS, Wong VM. (2003) A hemolytic transfusion reaction due to DEA 4 alloantibodies in a dog. *J Vet Intern Med.* 2003 Nov-Dec;17(6):931-933

- Mesa-Sanchez I, Ruiz de Gopegui-Fernández R, Granados-Machuca MM, Galan-Rodriguez A. (2014) Prevalence of dog erythrocyte antigen 1.1 in galgos (Spanish greyhounds). *Vet Rec.* 2014 Apr 5;174(14):351
- Miglio A, Stefanetti V, Antognoni MT, Cappelli K, Capomaccio S, Coletti M, Passamonti F. (2016) Stored Canine Whole Blood Units: What is the Real Risk of Bacterial Contamination? *J Vet Intern Med.* 2016 Nov;30(6):1830-1837
- Morganti G, Miglio A, Moretta I, Misia AL, Rigamonti G, Cremonini V, Antognoni MT, Veronesi F. (2022) Retrospective Longitudinal Survey on Canine Vector-Borne Pathogens: Trends and Challenges of 10 Years of Activities of a Veterinary Blood Bank. *Vet Sci.* 2022 Jun 6;9(6):274
- Morris JL, Bloch CP, Brabson TL. (2021) The effect of time on packed cell volume following packed red blood cell transfusion in anemic dogs. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio).* 2021 Mar;31(2):215-220
- Muszynski JA, Spinella PC, Cholette JM, Acker JP, Hall MW, Juffermans NP, Kelly DP, Blumberg N, Nicol K, Liedel J, Doctor A, Remy KE, Tucci M, Lacroix J, Norris PJ. (2017) Pediatric Critical Care Blood Research Network (Blood Net). Transfusion-related immunomodulation: review of the literature and implications for pediatric critical illness. *Transfusion.* 2017 Jan;57(1):195-206
- Naigamwalla DZ, Webb JA, Giger U. (2012) Iron deficiency anemia. *Can Vet J.* 2012 Mar;53(3):250-256
- Ness PM, Shirey RS, Thoman SK, Buck SA. (1990) The differentiation of delayed serologic and delayed hemolytic transfusion reactions: incidence, long-term serologic findings, and clinical significance. *Transfusion.* 1990 Oct;30(8):688-693
- Ng ZY, Stokes JE, Alvarez L, Bartges JW. (2016) Cryopreserved platelet concentrate transfusions in 43 dogs: a retrospective study (2007-2013). *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio).* 2016 Sep;26(5):720-728
- Nnamdi OH, Ijeoma UR, Okaforx NT. (2019) Stability of hematological parameters of canine blood samples stored with citrate phosphate dextrose adenine-1 anticoagulated plastic vacutainers. *Vet World.* 2019;12(3):449-453
- Novais, A. A, Magron, H. F. (2018) Canine Blood Groups: a review. *Sci Electron Arch.* 2018 11(5), 183–187

- Novinger MS, Sullivan PS, McDonald TP. (1996) Determination of the lifespan of erythrocytes from greyhounds, using an in vitro biotinylation technique. *Am J Vet Res.* 1996 May;57(5):739-742
- Obrador R, Musulin S, Hansen B. (2015) Red blood cell storage lesion. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio).* 2015 Mar-Apr;25(2):187-199
- Odunayo A, Garraway K, Rohrbach BW, Rainey A, Stokes J. (2017) Incidence of incompatible crossmatch results in dogs admitted to a veterinary teaching hospital with no history of prior red blood cell transfusion. *J Am Vet Med Assoc.* 2017 Feb 1;250(3):303-308
- Odunayo A, Nash KJ, Davidow EB, Blois SL, Goy-Thollot I, Harris L, Humm K, Musulin S, Sharp CR, Spada E, Thomason J, Walton J, Jane Wardrop K. (2021) Association of Veterinary Hematology and Transfusion Medicine (AVHTM) transfusion reaction small animal consensus statement (TRACS). Part 3: Diagnosis and treatment. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio).* 2021 Mar;31(2):189-203
- Paglino JC, Pomper GJ, Fisch GS, Champion MH, Snyder EL. (2004) Reduction of febrile but not allergic reactions to RBCs and platelets after conversion to universal prestorage leukoreduction. *Transfusion.* 2004 Jan;44(1):16-24
- Patterson J, Rousseau A, Kessler RJ, Giger U. (2011) In vitro lysis and acute transfusion reactions with hemolysis caused by inappropriate storage of canine red blood cell products. *J Vet Intern Med.* 2011 Jul-Aug;25(4):927-933
- Perez LF, Darrow B. (2023) The effect of flow rate and catheter diameter on hemolysis during blood transfusions using canine packed red blood cells. *J Am Vet Med Assoc.* 2023 Jan 25;261(4):544-550
- Picca SM. (2018) Hyperammonemia After Blood Transfusion. *Ann Intern Med.* 2018 Feb 20;168(4):305
- Piek CJ, Junius G, Dekker A, Schrauwen E, Slappendel RJ, Teske E. (2008) Idiopathic immune-mediated hemolytic anemia: treatment outcome and prognostic factors in 149 dogs. *J Vet Intern Med.* 2008 Mar-Apr;22(2):366-373
- Pineda AA, Vamvakas EC, Gorden LD, Winters JL, Moore SB. (1999) Trends in the incidence of delayed hemolytic and delayed serologic transfusion reactions. *Transfusion.* 1999 Oct;39(10):1097-103. doi: 10.1046/j.1537-2995

- Pirenne F. (2019) Prevention of delayed hemolytic transfusion reaction. *Transfus Clin Biol.* 2019 May;26(2):99-101
- Pogozhykh D, Pakhomova Y, Pervushina O, Hofmann N, Glasmacher B, Zhegunov G. (2017) Exploring the Possibility of Cryopreservation of Feline and Canine Erythrocytes by Rapid Freezing with Penetrating and Non-Penetrating Cryoprotectants. *PLoS One.* 2017 Jan 10;12(1):e0169689
- Polak K, Acierno MM, Raj K, Mizukami K, Siegel DL, Giger U. (2015) Dog erythrocyte antigen 1: mode of inheritance and initial characterization. *Vet Clin Pathol.* 2015 Sep;44(3):369-379
- Press SA, Cooper ES, Stull JW. (2017) Electrolyte, acid-base, and hemoglobin oxygen affinity alterations following irradiation and storage of canine packed red blood cells. *Vet Clin Pathol.* 2017 Dec;46(4):580-588
- Price GS, Armstrong PJ, McLeod DA, Babineau CA, Metcalf MR, Sellett LC. (1988) Evaluation of citrate-phosphate-dextrose-adenine as a storage medium for packed canine erythrocytes. *J Vet Intern Med.* 1988 Jul-Sep;2(3):126-132
- Priolo V, Masucci M, Spada E, Proverbio D, Pennisi MG. (2018) Naturally occurring antibodies in cats against dog erythrocyte antigens and vice versa. *J Feline Med Surg.* 2018 Aug;20(8):690-695
- Prittie JE. (2003) Triggers for use, optimal dosing, and problems associated with red cell transfusions. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2003 Nov;33(6):1261-1275
- Proverbio D, Perego R, Baggiani L, Spada E. (2019) A card agglutination test for dog erythrocyte antigen 1 (DEA 1) blood typing in donor dogs: Determining an appropriate cutoff to detect positivity using a receiver operating characteristic curve. *Vet Clin Pathol.* 2019 Dec;48(4):630-635
- Pujani M, Pahuja S, Dhingra B, Chandra J, Jain M. (2014) Alloimmunisation in thalassaemics: a comparison between recipients of usual matched and partial better matched blood. An evaluation at a tertiary care centre in India. *Blood Transfus.* 2014 Jan;12 Suppl 1(Suppl 1):100-104
- Purcell SL, Claus M, Hosgood G, Smart L. (2015) Effect of leukoreduction on concentrations of interleukin-8, interleukin-1 β , and tumor necrosis factor- α in canine packed red blood cells during storage. *Am J Vet Res.* 2015 Nov;76(11):969-974

- Purcell SL, Claus M, Hosgood G, Smart L. (2017) Interleukin-8, interleukin-1 β and tumour necrosis factor- α in sequential units of packed red blood cells collected from retired racing Greyhounds. *Aust Vet J.* 2017 Jan;95(1-2):26-32
- Raleigh JS, Jandrey KE, Burges J, Kent MS. (2017) Factors Affecting Platelet Concentration in Platelet Concentrates from Canine Blood Donors. *J Vet Intern Med.* 2017 May;31(3):759-763
- Ramsey G, Larson P. (1988) Loss of red cell alloantibodies over time. *Transfusion.* 1988 Mar-Apr;28(2):162-165
- Reitemeyer S. (2000) Etablierung moderner Methoden der Transfusionsmedizin beim Hund an der Kleintierklinik. Dissertation, Veterinärmedizin, Freie Universität Berlin, Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere. 2000
- Remy KE, Hall MW, Cholette J, Juffermans NP, Nicol K, Doctor A, Blumberg N, Spinella PC, Norris PJ, Dahmer MK, Muszynski JA. (2018) Pediatric Critical Care Blood Research Network (Blood Net). Mechanisms of red blood cell transfusion-related immunomodulation. *Transfusion.* 2018 Mar;58(3):804-815
- Riond B, Schuler E, Rogg E, Hofmann-Lehmann R, Lutz H. (2011) Prevalence of dog erythrocyte antigen 1.1 in dogs in Switzerland evaluated with the gel column technique. *Schweiz Arch Tierheilkd.* 2011 Aug;153(8):369-374
- Rodrigues RR, Kayano CY, Dos Santos VP, Moroz LR, Fantoni DT, Ambrósio AM. (2020) Evaluation of hematologic, biochemical, and blood gas variables in stored canine packed red blood cells, and the impact of storage time on blood recipients. *Vet Clin Pathol.* 2020 Jun;49(2):198-206
- Rojas-Temahuay G, Crain S, Benson C, Sharkey L, Nothnagel G. (2014) Cold agglutinin activity in 2 dogs. *Vet Clin Pathol.* 2014 Sep;43(3):330-336
- Rozanski E, de Laforcade AM. (2004) Transfusion medicine in veterinary emergency and critical care medicine. *Clin Tech Small Anim Pract.* 2004 May;19(2):83-87
- Rozanski EA. (2011) Blood transfusion methods: time to reevaluate? *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio).* 2011 Jun;21(3):184-185
- Ryder AB, Hendrickson JE, Tormey CA. (2016) Chronic inflammatory autoimmune disorders are a risk factor for red blood cell alloimmunization. *Br J Haematol.* 2016 Aug;174(3):483-485

- Sainz Á, Roura X, Miró G, Estrada-Peña A, Kohn B, Harrus S, Solano-Gallego L. (2015) Guideline for veterinary practitioners on canine ehrlichiosis and anaplasmosis in Europe. *Parasit Vectors*. 2015 Feb 4;8:75
- Schaarschmidt-Kiener D, Müller W. (2007) Labordiagnostische und klinische Aspekte der kaninen Anaplasrose und Ehrlichiose. *Tierärztliche Prax*. 2007 35,129–136
- Schäfer I, Kohn B, Silaghi C, Fischer S, Marsboom C, Hendrickx G, Müller E. (2023) Molecular and Serological Detection of *Anaplasma phagocytophilum* in Dogs from Germany (2008-2020). *Animals (Basel)*. 2023 Feb 17;13(4):720
- Schneider A. (1995) Blood components. Collection, processing, and storage. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 1995 Nov;25(6):1245-1261
- Schonewille H, van de Watering LM, Loomans DS, Brand A. (2006) Red blood cell alloantibodies after transfusion: factors influencing incidence and specificity. *Transfusion*. 2006 Feb;46(2):250-256
- Schürch O, Willenegger H, Knoll H. (1942) Blutkonservierung und Transfusion von konserviertem Blut. Die Durchführung der Blutkonservierung. 1942. Springer, Wien; ISBN: 978-3-7091-9630-4
- Seth M, Jackson KV, Winzelberg S, Giger U. (2012) Comparison of gel column, card, and cartridge techniques for dog erythrocyte antigen 1.1 blood typing. *Am J Vet Res*. 2012 Feb;73(2):213-219
- Shin HS, Woo HM, Kang BJ. (2017) Optimisation of a double-centrifugation method for preparation of canine platelet-rich plasma. *BMC Vet Res*. 2017 Jun 26;13(1):198
- Short JL, Diehl S, Seshadri R, Serrano S. (2012) Accuracy of formulas used to predict post-transfusion packed cell volume rise in anemic dogs. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)*. 2012 Aug;22(4):428-34
- Simancas-Racines D, Osorio D, Martí-Carvajal AJ, Arevalo-Rodriguez I. (2015) Leukoreduction for the prevention of adverse reactions from allogeneic blood transfusion. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015 Dec 3;2015(12):CD009745
- Sirois M. (2013) Blood groups and immunity. In: *Laboratory procedures for veterinary technicians*. Hrsg Sirois M. 7. Auflage, 2013 S. 130-134; Mosby/Elsevier, St. Louis, Mo. ISBN 9780323595032

- Smith SA, Ngwenyama TR, O'Brien M, Herring JM, Corsi R, Galligan A, Beloshapka AN, Deng P, Swanson KS, McMichael M. (2015) Procoagulant phospholipid concentration in canine erythrocyte concentrates stored with or without prestorage leukoreduction. *Am J Vet Res.* 2015 Jan;76(1):35-41
- Snow SJ, Ari Jutkowitz L, Brown AJ. (2010) Trends in plasma transfusion at a veterinary teaching hospital: 308 patients (1996-1998 and 2006-2008). *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio).* 2010 Aug;20(4):441-445
- Sowemimo-Coker SO. (2002) Red blood cell hemolysis during processing. *Transfus Med Rev.* 2002 Jan;16(1):46-60
- Spada E, Perego R, Viñals Flórez LM, Del Rosario Perlado Chamizo M, Baggiani L, Dall'Ara P, Proverbio D. (2018) Comparison of cross-matching method for detection of DEA 7 blood incompatibility. *J Vet Diagn Invest.* 2018 Nov;30(6):911-916.
- Spada E, Proverbio D, Baggiani L, Canzi I, Perego R. (2016a) Activity, specificity, and titer of naturally occurring canine anti-DEA 7 antibodies. *J Vet Diagn Invest.* 2016 Nov;28(6):705-708.
- Spada E, Proverbio D, Priolo V, Ippolito D, Baggiani L, Perego R, Pennisi MG. (2017) Dog erythrocyte antigens (DEA) 1, 4, 7 and suspected naturally occurring anti-DEA 7 antibodies in Italian Corso dogs. *Vet J.* 2017 Apr;222:17-21
- Spada E, Proverbio D, Viñals Flórez LM, Del Rosario Perlado Chamizo M, Serra Y Gómez de la Serna B, Perego R, Baggiani L. (2016b) Prevalence of naturally occurring antibodies against dog erythrocyte antigen 7 in a population of dog erythrocyte antigen 7-negative dogs from Spain and Italy. *Am J Vet Res.* 2016 Aug;77(8):877-881
- Spada E, Proverbio D, Viñals Flórez LM, Del Rosario Perlado Chamizo M, Perego R, Bagnagatti De Giorgi G, Baggiani L. (2015) Prevalence of dog erythrocyte antigens 1, 4, and 7 in galgos (Spanish Greyhounds). *J Vet Diagn Invest.* 2015 Jul;27(4):558-561
- Spada E, Proverbio D, Viñals Flórez LM, Serra Gómez de la Serna B, Del Rosario Perlado Chamizo M, Baggiani L, Perego R. (2016c) Prevalence of Dog Erythrocyte Antigens 1, 4, and 7 in Podenco Ibicenco (Ibizan Hounds) from Ibiza Island. *Vet Med Int.* 2016;2016:1048257
- Stack G, Tormey CA. (2016) Detection rate of blood group alloimmunization based on real-world testing practices and kinetics of antibody induction and evanescence. *Transfusion.* 2016 Nov;56(11):2662-2667

- Stefanetti V, Miglio A, Cappelli K, Capomaccio S, Sgariglia E, Marenzoni ML, Antognoni MT, Coletti M, Mangili V, Passamonti F. (2016) Detection of bacterial contamination and DNA quantification in stored blood units in 2 veterinary hospital blood banks. *Vet Clin Pathol*. 2016 Sep;45(3):406-410
- Stefani A, Capello K, Carminato A, Wurzbürger W, Furlanello T, Bertazzo V, Marsilio E, Albertin E, La Pietra G, Bozzato E, Mutinelli F, Vascellari M. (2021) Effects of leukoreduction on storage lesions in whole blood and blood components of dogs. *J Vet Intern Med*. 2021 Mar;35(2):936-945
- Stone E, Badner D, Cotter SM. (1992) Trends in transfusion medicine in dogs at a veterinary school clinic: 315 cases (1986-1989). *J Am Vet Med Assoc*. 1992 Apr 1;200(7):1000-1004
- Swann JW, Garden OA, Fellman CL, Glanemann B, Goggs R, LeVine DN, Mackin AJ, Whitley NT. (2019) ACVIM consensus statement on the treatment of immune-mediated hemolytic anemia in dogs. *J Vet Intern Med*. 2019 May;33(3):1141-1172
- Sylvane B, Prittie J, Hohenhaus AE, Tozier E. (2018) Effect of cross-match on packed cell volume after transfusion of packed red blood cells in transfusion-naïve anemic cats. *J Vet Intern Med*. 2018 May;32(3):1077-1083
- Taylor S, Spada E, Callan MB, Korman R, Leister E, Steagall P, Lobetti R, Seth M, Tasker S. (2021) ISFM Consensus Guidelines on the Collection and Administration of Blood and Blood Products in Cats. *J Feline Med Surg*. 2021 May;23(5):410-432
- Thomas-Hollands A, Hess RS, Weinstein NM, Marrayott K, Fromm S, Chappini NA, Callan MB. (2023) Effect of donor blood storage on gel column crossmatch in dogs. *Vet Clin Pathol*. 2023 Mar;52(1):30-37
- Thomovsky EJ, Bach J. (2014) Incidence of acute lung injury in dogs receiving transfusions. *J Am Vet Med Assoc*. 2014 Jan 15;244(2):170-174
- Tinson E, Talbot CT, Humm K. (2022) Incidence of acute haemolysis in cats receiving canine packed red blood cells (xenotransfusions). *J Feline Med Surg*. 2022 Dec;24(12):628-635.
- Tocci LJ. (2010) Transfusion medicine in small animal practice. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 2010 May;40(3):485-494
- Tocci LJ, Ewing PJ. (2009) Increasing patient safety in veterinary transfusion medicine: an overview of pretransfusion testing. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)*. 2009 Feb;19(1):66-73

- Tormey CA, Hendrickson JE. (2019) Transfusion-related red blood cell alloantibodies: induction and consequences. *Blood*. 2019 Apr 25;133(17):1821-1830
- Tormey CA, Stack G. (2009) The persistence and evanescence of blood group alloantibodies in men. *Transfusion*. 2009 Mar;49(3):505-512
- Vamvakas EC, Blajchman MA. (2007) Transfusion-related immunomodulation (TRIM): an update. *Blood Rev*. 2007 Nov;21(6):327-348
- Vascellari M, Ravagnan S, Carminato A, Cazzin S, Carli E, Da Rold G, Lucchese L, Natale A, Otranto D, Capelli G. (2016) Exposure to vector-borne pathogens in candidate blood donor and free-roaming dogs of northeast Italy. *Parasit Vectors*. 2016 Jun 29;9(1):369
- Villarnovo D, Burton SA, Horney BS, MacKenzie AL, Vanderstichel R. (2016) Preliminary evaluation of a gel tube agglutination major cross-match method in dogs. *Vet Clin Pathol*. 2016 Sep;45(3):411-416
- Vriesendorp HM, Albert ED, Templeton JW, Belotsky S, Taylor B, Blumenstock DA, Bull RW, Cannon FD, Epstein RB, Ferrebee JW, Grosse-Wilde H, Hammer C, Krumbacher K, Léon S, Meera Khan P, Mickey MR, Motola M, Rapaport FT, Saison R, Schnappauf H, Scholz S, Schroeder ML, Storb R, Wank R, Westbroek DL, Zweibaum A. (1976) Joint report of the Second International Workshop on Canine Immunogenetics. *Transplant Proc*. 1976 Jun;8(2):289-314
- Waldrop JE, Rozanski EA, Freeman LM, Rush JE. (2003) Packed red blood cell transfusions in dogs with gastrointestinal hemorrhage: 55 cases (1999-2001). *J Am Anim Hosp Assoc*. 2003 Nov-Dec;39(6):523-527
- Wang D, Cortés-Puch I, Sun J, Solomon SB, Kaniyas T, Remy KE, Feng J, Alimchandani M, Quezado M, Helms C, Perlegas A, Gladwin MT, Kim-Shapiro DB, Klein HG, Natanson C. (2014) Transfusion of older stored blood worsens outcomes in canines depending on the presence and severity of pneumonia. *Transfusion*. 2014 Jul;54(7):1712-24
- Wardrop KJ. (1995) Selection of anticoagulant-preservatives for canine and feline blood storage. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 1995 Nov;25(6):1263-1276
- Wardrop KJ. (2007) New red blood cell antigens in dogs and cats--a welcome discovery. *J Vet Intern Med*. 2007 Mar-Apr;21(2):205-206

- Wardrop KJ, Birkenheuer A, Blais MC, Callan MB, Kohn B, Lappin MR, Sykes J. (2016) Update on Canine and Feline Blood Donor Screening for Blood-Borne Pathogens. *J Vet Intern Med.* 2016 Jan-Feb;30(1):15-35
- Wardrop KJ, Brooks MB. (2021) Stability of hemostatic proteins in canine fresh frozen plasma units. *Vet Clin Pathol.* 2001;30(2):91-95
- Wardrop KJ, Lewis D, Marks S, Buss M. (1997a) Posttransfusion purpura in a dog with hemophilia A. *J Vet Intern Med.* 1997 Jul-Aug;11(4):261-263
- Wardrop KJ, Owen TJ, Meyers KM. (1994) Evaluation of an additive solution for preservation of canine red blood cells. *J Vet Intern Med.* 1994 Jul-Aug;8(4):253-257
- Wardrop KJ, Tucker RL, Mugnai K. (1997b) Evaluation of canine red blood cells stored in a saline, adenine, and glucose solution for 35 days. *J Vet Intern Med.* 1997 Jan-Feb;11(1):5-8
- Watkins TR, Rubenfeld GD, Martin TR, Nester TA, Caldwell E, Billgren J, Ruzinski J, Nathens AB. (2008) Effects of leukoreduced blood on acute lung injury after trauma: a randomized controlled trial. *Crit Care Med.* 2008 May;36(5):1493-1499
- Weingart C, Giger U, Kohn B. (2004) Whole blood transfusions in 91 cats: a clinical evaluation. *J Feline Med Surg.* 2004 Jun;6(3):139-148
- Weingart C, Kohn B. (2009) Zinkintoxikation bei einem Yorkshire Terrier nach Aufnahme von Euro-Cent-Münzen. *Schweiz Arch Tierheilkd.* 2009 Feb;151(2):75-81
- Weiss DJ, Evanson OA, Sykes J. (1999) A retrospective study of canine pancytopenia. *Vet Clin Pathol.* 1999;28(3):83-88
- Weltman JG, Fletcher DJ, Rogers C. (2014) Influence of cross-match on posttransfusion packed cell volume in feline packed red blood cell transfusion. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio).* 2014 Jul-Aug;24(4):429-436
- Willi B, Novacco M, Meli M, Wolf-Jäckel G, Boretti F, Wengi N, Lutz H, Hofmann-Lehmann R. (2010) Haemotropic mycoplasmas of cats and dogs: transmission, diagnosis, prevalence and importance in Europe. *Schweiz Arch Tierheilkd.* 2010 May;152(5):237-244
- Yagi K, Holowaychuk MK. (2016) Manual of veterinary transfusion medicine and blood banking. 2016 John Wiley & Sons Inc, Ames, Iowa. ISBN: 978-1-118-93302-2

- Yang H, Kim W, Bae J, Kim H, Kim S, Choi J, Park J, Jung DI, Koh H, Yu D. (2019) Effects of irradiation and leukoreduction on down-regulation of CXCL-8 and storage lesion in stored canine whole blood. *J Vet Sci.* 2019 Jan 31;20(1):72-78
- Yaxley PE, Beal MW, Jutkowitz LA, Hauptman JG, Brooks MB, Hale AS, Parr A. (2010) Comparative stability of canine and feline hemostatic proteins in freeze-thaw-cycled fresh frozen plasma. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio).* 2010 Oct;20(5):472-478
- Yazer MH, Podlosky L, Clarke G, Nahirniak SM. (2004) The effect of prestorage WBC reduction on the rates of febrile nonhemolytic transfusion reactions to platelet concentrates and RBC. *Transfusion.* 2004 Jan;44(1):10-15
- Young LE, Ervin DM, Yule CL. (1949) Hemolytic reactions produced in dogs by transfusion of incompatible dog blood and plasma; serologic and hematologic aspects. *Blood.* 1949 Nov;4(11):1218-1231
- Young LE, O'Brien WA, Swisher SN, Miller G, Yule CL. (1952) Blood groups in dogs--their significance to the veterinarian. *Am J Vet Res.* 1952 Apr;13(47):207-213
- Yuki M, Naitoh E. (2019) Complete Remission of Associative Immune-Mediated Hemolytic Anemia in a Dog Following Surgical Resection of Intestinal Leiomyosarcoma. *Vet Sci.* 2019 Jun 13;6(2):55
- Zalpuri S, Evers D, Zwaginga JJ, Schonewille H, de Vooght KM, le Cessie S, van der Bom JG. (2014) Immunosuppressants and alloimmunization against red blood cell transfusions. *Transfusion.* 2014 Aug;54(8):1981-1987
- Zalpuri S, Zwaginga JJ, le Cessie S, Elshuis J, Schonewille H, van der Bom JG. (2012) Red-blood-cell alloimmunization and number of red-blood-cell transfusions. *Vox Sang.* 2012 Feb;102(2):144-149
- Zaremba R, Brooks A, Thomovsky E. (2019) Transfusion Medicine: An Update on Antigens, Antibodies and Serologic Testing in Dogs and Cats. *Top Companion Anim Med.* 2019 Mar;34:36-46
- Zaremba RM, Brooks AC, Thomovsky EJ, Moore GE, Johnson PA. (2022) Comparison of a commercial immunochromatographic strip crossmatch kit and standard laboratory crossmatch methods for blood transfusion compatibility in dogs. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio).* 2022 Sep;32(5):582-591

9. Publikationen

Teile der Ergebnisse dieser Arbeit wurden wie folgt veröffentlicht:

1. Publikation

Herter L, Weingart C, Merten N, Bock N, Merle R, Kohn B. Alloimmunization in dogs after transfusion: A serial cross-match study. J Vet Intern Med. 2022 Sep;36(5):1660-1668

2. Abstract

Herter L, Weingart C, Merten N, Kohn B. Alloimmunisierung bei transfundierten Hunden: eine Pilotstudie. Proceedings des 66. Jahreskongress der DGK-DVG, Berlin 2020, Kleintierprax. 65: 697

Herter L, Weingart C, Merten N, Bock N, Merle R, Kohn B. Alloimmunisierung bei Hunden infolge einer Transfusion. Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere 2021; 49; 71

Herter L, Weingart C, Merten N, Bock N, Merle R, Kohn B. Alloimmunization in dogs following transfusion: A serial crossmatch study. Research Communications of the 31st ECVIM-CA Online Congress. J Vet Intern Med. 2021 Nov; S.105-106

Herter L, Weingart C, Merten N, Bock N, Merle R, Kohn B. Vergleich verschiedener Kreuzprobenverfahren beim Hund. Tierarztl Prax Ausg K Kleine Heimtiere 2022; 50(02): 148

3. Vorträge/Poster

Herter L, Weingart C, Merten N, Kohn B. Alloimmunisierung bei transfundierten Hunden: eine Pilotstudie. Poster: DVG Kongress, Berlin, 15. – 17.10.2020 (online) (1. Platz)

Herter L, Weingart C, Merten N, Bock N, Merle R, Kohn B. Alloimmunisierung bei Hunden infolge einer Transfusion. Vortrag: 29. Jahrestagung InnLab Leipzig (online), 29.-30.01.2021

Herter L, Weingart C, Merten N, Bock N, Merle R, Kohn B. Alloimmunization in dogs following transfusion: A serial crossmatch study. Poster: ECVIM-CA 31st annual Congress 01. – 04.09.2021 (online congress) (1st price)

Herter L, Weingart C, Merten N, Bock N, Merle R, Kohn B. Studie zur Untersuchung der Übereinstimmung verschiedener Kreuzprobenverfahren beim Hund. Poster: DVG Vet Congress 18. – 20.11.2021 (Berlin + digital) (1. Platz)

Herter L, Weingart C, Merten N, Bock N, Merle R, Kohn B. Vergleich verschiedener Kreuzprobenverfahren beim Hund. Poster: 30. Jahrestagung der Fachgruppe „Innere Medizin und klinische Labordiagnostik“ der DVG 28.-29.01.2022

10. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich die Gelegenheit nutzen, all den Menschen zu danken, die mich während der Anfertigung meiner Dissertation unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. Barbara Kohn für die Überlassung des Themas, die ausgezeichnete Betreuung, die enorme Unterstützung bei der Umsetzung der gesamten Arbeit und die sorgfältigen Korrekturen des Manuskripts. Darüber hinaus danke ich Frau Dr. Christiane Weingart für die jederzeit gewährte Unterstützung während der Arbeit an dem Promotionsthema und die zahlreichen Hilfestellungen. Ich habe während der Zeit sehr viel gelernt und bin sehr dankbar für die Möglichkeit, die mir gegeben wurde.

Außerdem möchte ich mich bei allen MitarbeiterInnen der Klein- und Heimtierklinik bedanken, die mich nicht nur bei der Einarbeitung in das Fachgebiet sowie beim Sammeln der notwendigen Proben unterstützt haben, sondern mir stets mit Rat und Tat zur Seite standen. Insbesondere gilt mein Dank Frau Dr. Nina Merten und Herrn Dr. Ingo Schäfer für die Einarbeitung in den Bereich der Transfusionsmedizin sowie den Mitarbeiterinnen des Labors, Frau Nicole Bock, Frau Anette Mittag und Frau Anett Fleischhauer für die ständige Hilfsbereitschaft, die Durchführung der hämatologischen und klinisch-chemischen Untersuchungen sowie für die sehr angenehme und freundschaftliche Arbeitsatmosphäre.

Bei dieser Gelegenheit muss ich zudem Frau Dr. Roswitha Merle meinen Dank äußern, die mir bei der statistischen Auswertung stets für Fragestellungen zur Seite stand.

Des Weiteren möchte ich meinen Dank der Ernst-Reuter-Stiftung für die finanzielle Unterstützung während der Anfertigung dieser Arbeit aussprechen. An dieser Stelle möchte ich mich darüber hinaus bei den Firmen *Alvedia* und *DMS Laboratories* für die Bereitstellung der Testkits sowie die umfassende Beratung bedanken.

Zu guter Letzt möchte ich mich bei meiner Familie sowie meinen Freunden für ihre Geduld, Ermutigungen und Zusprüche bedanken, ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre. Insbesondere möchte ich mich bei Leonore Herschel, an deren Küchentisch ein Großteil dieser Arbeit entstanden ist, bei Lena Bartels für die zahlreichen Durchsichten des Manuskripts und meiner Schwester, Anna Engel, für das stets offene Ohr, die moralische Unterstützung und die aufbauenden Worte bedanken.

11. Erklärung zu Interessenskonflikten

Alvedia stellte die durch Antiglobuline verstärkten Gel-Röhrchen und die immunchromatographischen Kreuzproben-Kits kostenlos zur Verfügung; DMS stellte die RapidVet-Gel-Kreuzproben-Kits kostenlos zur Verfügung.

12. Selbstständigkeitserklärung

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Berlin, 17.10.2023

Ort, Datum

Lisa Therese Magdalena Herter

Unterschrift



9 783967 292343

mbvberlin mensch und buch verlag

49,90 Euro | ISBN: 978-3-96729-234-3