



Laboratorium testen voor hemolytische anemie

Hemolytische anemie is veelal een regeneratieve anemie (verhoogd aantal reticulocyten, anisocytose en polychromasie) en kan zowel intravasculair als extra vasculair plaatsvinden. Oorzaken voor een intravasculaire hemolyse zijn parasitaire/bacteriële infecties, vaatwand beschadiging (microangiopathiën), oxidatieve beschadiging erythrocyten (Heinz bodies), congenitale erythrocytenafwijkingen, neonatale erytolyse bij de kat en hypofosfatemie. Oorzaken voor extravasale hemolyse zijn infectieuze oorzaken en immuun gemedieerde hemolyse (IHA). Daarnaast kunnen er ook combinaties van intra- en extravasale hemolyse voorkomen.

Testen:

Er zijn diverse laboratorium testen die ons bij de diagnostiek van de hemolytische anemie kunnen helpen, naast natuurlijk de bepaling van het hematocriet, de erythrocyten indices (MCV, MCH, MCHC) en de reticulocyten bepaling. Een afwijkende osmotische resistentie van de erythrocyten ondersteunt de hypothese dat een anemie veroorzaakt wordt door hemolyse.

Osmotische resistentie:

Erythrocyten verliezen in een hypotone zoutoplossing natrium en nemen water op tot de zoutconcentratie binnen en buiten de cel gelijk is. Dit kan door gaan tot een bepaalde minimumconcentratie en dan zal de wateropname de cel doen barsten en is er hemolyse. Bij IHA en sommige aangeboren membraamafwijkingen kunnen de erythrocyten veelal niet tot een heel lage concentratie water opnemen en gaan al eerder barsten. Op dit principe is de osmotische resistentietest gebaseerd, waarbij diverse concentraties zoutoplossing worden gebruikt. Een verkorte versie is echter goed in de praktijk te gebruiken. Instructies hiervoor zijn in Tabel 1 voor de hond en Tabel 2 voor de kat te vinden. Buis 1 en 3 moeten helder zijn, erythrocyten liggen intact op bodem. Buis 2 kan licht gehemolyseerd zijn indien plasma van de patiënt al hemolytisch was. Buis 4 kan ernstiger hemolytisch zijn dan buis 2 als gevolg van verminderde osmotische resistentie. Bevestiging van IHA zal door middel van een Coombs test moeten plaats vinden.

Tabel 1 Osmotische Resistentie Hond

Buis	0.9%NaCl	H ₂ O	Controle bloed	Patiënt bloed
1	5ml	-	5 druppels	-
2	5ml	-	-	5 druppels
3	3ml	2ml	5 druppels	-
4	3ml	2ml	-	5 druppels

Tabel 2 Osmotische Resistentie Kat

Buis	0.9%NaCl	H ₂ O	Controle bloed	Patiënt bloed
1	5,5ml	-	5 druppels	-
2	5,5ml	-	-	5 druppels
3	4ml	1,5ml	5 druppels	-
4	4ml	1,5ml	-	5 druppels

Bloed uitstrijkje:

In het bloeduitstrijkje kan gezocht worden naar parasieten (Babesia, Mycoplasma haemofelis), schistocyten (beschadigde erythrocyten, aanwijzing voor microangiopathische anemie), acanthocyten (abnormale membraan samenstelling, vaak bij leverproblemen), Heinz bodies (oxidatieve schade, bv bij uien of paracetamol intoxicatie) en sferocyten (bij IHA). Zeker bij de kat vereist herkenning van sferocyten ervaring, iets wat de analisten van het UVDL gelukkig veel hebben.

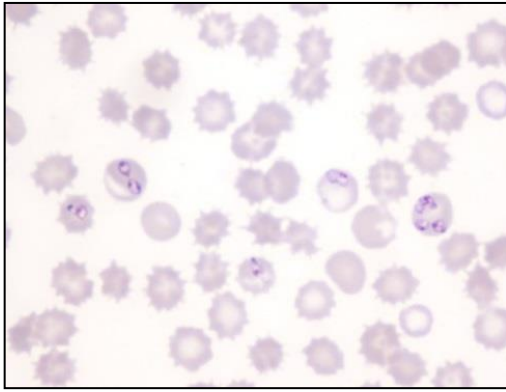


Fig. 1: Babesia canis

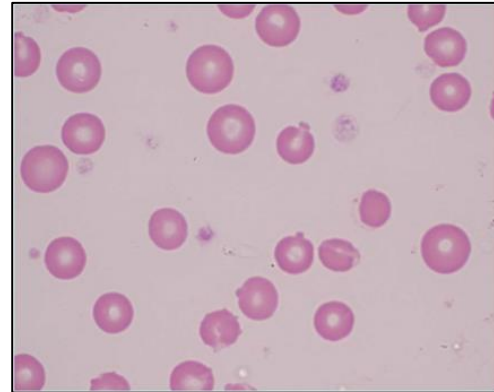


Fig. 2: Heinz bodies

Serologie, PCR:

Bloedparasieten kunnen ook met antilichaamtiter bepalingen (bv Leptospira, Babesia) of door middel van een PCR reactie worden aangetoond (bv Babesia en Mycoplasma haemofelis).

Genetische testen:

Voor een beperkt aantal erfelijke afwijkingen zijn genetische testen beschikbaar. De meest gebruikte test is die voor het aantonen van pyruvaatkinase deficiëntie bij de kat. Deze testen zijn veelal ras afhankelijk en niet voor alle rassen beschikbaar.

Auto-agglutinatie test:

Bij IHA kunnen de antilichamen leiden tot intravasale autoagglutinatie van erythrocyten. Dit kan microscopisch worden waargenomen en is soms ook macroscopisch zichtbaar. Een vals positieve autoagglutinatie-reactie moet onderscheiden worden van een door IHA veroorzaakte agglutinatie door de in de bloedbaan voorkomende niet-pathogene agglutinerende eiwitten "af te wassen" van de erythrocyten. Een druppel bloed wordt met een druppel 0,9% NaCl op een voorwerpglasje gebracht. Na 1-2 seconden mengen wordt er een dekglasje op gelegd en onder de microscoop gekeken naar groepjes erythrocyten die geagglutineerd zijn. Een negatieve test sluit IHA niet uit.

Coombs test

- A: polyvalent Coombs serum
- B: anti-IgG
- C: anti-IgM
- D: anti-C3
- E: controle, 0.9% NaCl

Verdunningen →

Coombs test:

Voor het definitieve bewijs van een IHA wordt de Coombs test gedaan. Hierbij worden antilichamen op erythrocyten aangetoond door toevoeging van antilichamen gericht tegen deze antilichamen. De erythrocyten worden gescheiden van het plasma en gewassen. Daarna wordt het diersoortspecifieke antilichaam toegevoegd. Als er geen antilichamen op de erythrocyten zaten zullen de erythrocyten uitzakken naar de bodem van de buis, anders zullen er complexen gevormd worden welke in oplossing blijven. Door verdunningen uit te voeren kan een titer bepaald worden. Het UVDL is samen met het laboratorium in Bristol het enige laboratorium in Europa die een getitreerde Coombs test doet voor de verschillende antilichamen (IgG, IgM) en niet gebruik maakt van een polyvalent serum, wat minder gevoelig is. Het UVDL biedt een Coombs aan voor hond, kat én paard.