

Állatorvostudományi Egyetem
Belgyógyászati Tanszék

Macskavér tárolása, hosszútávú felhasználhatósága

Király Anna

Témavezető: Dr. Becker Zsolt, egyetemi tanársegéd

Belgyógyászati Tanszék

2024

Absztrakt

Dolgozatom témája a macska vérének eltárolhatósága a transzfúziós gyakorlatban. Ebben a témában eddig kevés kutatás készült világszerte, mind a hosszútávú tárolással kapcsolatban, mind a tárolás alatt bekövetkező változásokat illetően. A transzfúziós gyakorlatban macskák esetében friss, teljes vér adása az elterjedt, mivel a vér tárolása nehezen megoldható. Ennek egyik oka a vérvételi rendszerek tárgyi feltételében rejlik, ugyanis a transzfúziós zsák a macska vérvételhez nehezen elérhető. A másik ok ezzel összefüggésben a vérvétel módja, amely nem zárt rendszerben történik, és ezért nagymértékben megnövekedik a levett vér bakteriális kontaminációjának esélye. Kutatásomban a macskáktól levett vér hosszútávú eltárolhatóságát vizsgáltuk meg 30 napon keresztül hemolízis jelenlétét keresve, illetve mikrobiológiai szempontból. A vérvételt követően két héttel később jelent meg hemolízis, majd újabb egy hét elteltével már telepek is felfedezhetők voltak a mintákban. Az eredményeink kezdetleges támpontot nyújthatnak későbbi kutatásokhoz és felhívják a figyelmet a téma fontosságára.

Abstract

The topic of my thesis is the storage of cat blood in transfusion practices. There has been little research on this subject worldwide so far, both regarding long-term storage and the changes that occur during storage. In transfusion practices, the administration of fresh whole blood is common in cats because blood storage is difficult to achieve. One reason for this is related to the conditions of blood collection systems, as transfusion bags for cat blood collection are hard to obtain. Another factor is the method of blood collection, which is not performed in a closed system, thereby significantly increasing the risk of bacterial contamination of the collected blood. In my research, we investigated the long-term storage of blood collected from cats for 30 days, looking for the presence of hemolysis and microbiological changes. Hemolysis appeared two weeks after blood collection, and one week later, colonies were already detectable in the samples. Our results provide preliminary insights for future research and emphasize the importance of this topic.

Tartalomjegyzék

1	Bevezetés	5
2	Szakirodalmi áttekintés.....	5
2.1	A transzfúzió története.....	6
2.2	Vércsoportok	6
2.2.1	Mik antigén.....	8
2.3	Vércsoport meghatározása	9
2.4	Vérkészítmények	10
2.5	Transzfúziós reakciók	12
2.6	Xenotranszfúzió.....	13
2.7	Vérvételi rendszerek	13
2.8	Vér tárolása	15
2.9	Kutya és macska transzfúzió összehasonlítása.....	15
2.10	Kontaminációk, patogének.....	16
3	Célkitűzések	17
4	Anyag és Módszer	18
4.1	Mintavétel	18
4.2	Mintatárolás.....	20
4.3	Előkészítés a mikrobiológiai vizsgálatra.....	20
5	Eredmények	21
6	Megbeszélés és Következtetések	23
7	Összefoglaló.....	24
8	Summary	26
9	Irodalomjegyzék.....	28
10	Köszönetnyilvánítás	31

1 Bevezetés

A vértranszfúzió életmentő beavatkozás lehet, nemcsak a humán orvoslásban, hanem az állatorvoslásban is egyaránt. A tudomány gyors fejlődésének köszönhetően az elmúlt 60 évben az állatgyógyászati transzfúziós gyógyászat figyelemreméltó fejlődést ért el. A tudás bővülésével azonban a transzfúziós gyakorlat komplexebbé vált, köszönhetően a különböző vérkészítmények elérhetőségének, a kompatibilitás ellenőrzésének („cross-matching”) és a megfelelő donorszűréseknek. Mindezek több lehetőséget biztosítanak a klinikus állatorvosnak a terápia személyre szabására, ezáltal jobban elkerülve a transzfúzióval kapcsolatos reakciókat [1].

Annak ellenére, hogy ilyen gyorsan fejlődött az állatorvosi transzfúziós gyógyászat, a macskák transzfúziós gyakorlatáról mégis keveset tudunk, és a legtöbb információt a humán gyógyászatból vagy a kutyák transzfúziós gyakorlatából vesszük át. A nehézségek alapját adja, hogy a humán transzfúziós gyakorlatban használt standard 450 ml-es transzfúziós zsák míg egy kutyának megfelelő lehet, a macska kevés vértérfogatához túl nagy, így más eszközöket kell használnunk, melyek beszerzése is nehezebb. Ebből kifolyólag nincs elegendő információnk a donor vér eltarthatóságáról [2]. A raktározott vérkészítményeknek egyrészt jó minőségűnek kell lennie, másrészt biztonságosnak, tehát nem tartalmazhat kórokozókat. A kórokozók jelenlétének kizárására már a donor kiválasztásánál ügyelni kell megfelelő szűrésekkel. Ha az egészséges és fertőződésektől mentes donor kiválasztása megtörtént, a következő könnyen kontaminálódó lépés a vér levétele, különböző vérvételi rendszereken keresztül, melyet a lehető legjobban, aszeptikus módon kell kivitelezni. Végül a vér tárolásánál is megjelenhetnek különböző kórokozók, amit a megfelelő idő, hőmérséklet és technikák segítségével ki lehet küszöbölni, ehhez azonban meglapozott tudományos háttérrel és tapasztalatokkal kell rendelkezni. Macskák esetében ez utóbbiból van hiány. Kutatási témám ezen a téren próbál segítséget nyújtani, hogy a jövőben a kutyákhoz hasonlóan, biztonságosan tudják eltárolni a macskák vérének egy vértranszfúzió előtt.

2 Szakirodalmi áttekintés

Ahhoz, hogy megértsük és megfelelően alkalmazzuk a vérkészítmények eltárolását a transzfúziós gyakorlatban, a tudománynak gyors fejlődésre volt szüksége. A szakirodalmi áttekintésben mindazokról a fontos alappillérekről lesz szó, amelyek eljuttatták az

orvosokat addig a pontig, amíg a vértranszfúziót végre biztonságossá tették. Ennek ellenére még mindig vannak olyan területek, amelyek feltérképezetlenek és szükség van tudományos kutatásokra mind az orvoslás, mind az állatorvoslás terén.

2.1 A transzfúzió története

A transzfúzió története már az ókorra nyúlik vissza. Az elveszett vér pótlására tett korai kísérletek során a beteg még a vér megivásával próbálkozott. Később orvosok és fizikusok különböző kísérleteket tettek a vér pótlására vonatkozóan. Eleinte az állatot használták donorként az ember számára, de ennek sikertelenségét hamar felismerték. Mindezek ellenére az állatok modellként megállták a helyüket a humán transzfúziós kutatásokban. Nemcsak azt állapították meg, hogy a különböző fajok vérének keverése komoly problémákkal jár, de rájöttek, hogy az eleinte használt artériás vér helyett (főleg a femorális artériát használták) vénás vér alkalmazása is megfelelő. A vér eltárolásával is próbálkoztak, azonban még ennek sem volt tudományos alapja. Leginkább tapasztalati úton érték sikerek és kudarcok a témával foglalkozó orvosokat [3].

A 20. században nagy áttöréseket értek el a tudósok az AB0 vércsoport és a véralvadásgátló felfedezésével, valamint a donor és a recipiens vérének kompatibilitási próbájával a transzfúzió előtt. Az állatgyógyászatban csak az 1950-es évektől kezdve foglalkoztak komolyan a transzfúziós gyógyászattal és a sok tudományos kutatásnak, valamint a humán transzfúziós gyógyászatban alapuló tapasztalatoknak köszönhetően jutottak el a napjainkban alkalmazott módszerekhez [3], [4].

2.2 Vércsoportok

A macskák legfontosabb vércsoport rendszere az AB rendszer, melyben 3 fenotípus található: A, B, AB. A legdominánsabb az A vércsoport, tehát A/A, A/ab, A/b genotípus esetén is A vércsoportúak az egyedek. B vércsoportú lesz a macska b/b genotípus esetén, illetve ab/ab vagy ab/b genotípus esetén AB vércsoportú [1].

A macskáknál megfigyeltek fajonként eltérő, tipikus vércsoportokat, mint például a legritkábban előforduló B vércsoport gyakori a brit rövidszőrű, Birman, Devon Rex fajtáknál. Ugyanígy földrajzi elhelyezkedés szerint is változó lehet a különböző vércsoportok előfordulási valószínűsége, melyet az 1. táblázat foglal össze [5], [6].

1. táblázat: Macska vércsoportok földrajzi hely és fajta szerinti eloszlása különböző kutatások alapján [5]

Ország/régió	Fajta	Macskák száma	A vércsoport [%]	B vércsoport [%]	AB vércsoport [%]
Egyesült Államok [7]	Nem fajtatizsita	139	87.1	7.9	5.0
	Brit rövidszőrű	121	39.7	58.7	1.6
	Birman	24	62.5	29.2	8.3
	Perzsa	17	88.2	11.8	0
	Egyéb fajták	45	77.8	6.7	15.5
Egyesült Államok [8]	Nem fajtatizsita	105	67.6	30.5	1.9
	Sziámi	13	100.0	0	0
	Egyéb fajták	38	76.3	21.1	2.6
Egyesült Államok [9]	Bengáli	100	100.0	0	0
Dánia [10]	Nem fajtatizsita	105	98.1	1.9	0
	Perzsa	56	96.4	3.6	0
	Brit rövidszőrű	30	66.7	33.3	0
	Abesszin	20	100	0	0
	Egyéb fajták	33	90.9	9.1	0
Ausztrália [11]	Nem fajtatizsita	355	62.0	36.0	1.6
	Sziámi	12	100	0	0
	Devon Rex	70	45.0	54.0	1.4
	Brit rövidszőrű	8	38.0	62.0	0
Új-Zéland [12]	Nem fajtatizsita	245	70.6	13.9	0.8
Franciaország [13]	Nem fajtatizsita	320	83.8	14.4	1.9
	Fajtatizsita	37	89.2	10.8	0
Közép-Olaszország [6]	Nem fajtatizsita	483	89.8	7.0	3.1
Észak-Olaszország [14]	Nem fajtatizsita	233	91.0	5.2	3.8
Dél-Olaszország [14]	Nem fajtatizsita	215	77.2	12.1	10.7
Olaszország [15]	Ragdoll	61	77.1	4.9	18.0

A tesztek alapja a különböző vércsoportok különböző alloantigénjei. Az A vércsoportnak anti-B antitestei vannak, a B vércsoportúnak anti-A, az AB vércsoport esetében pedig nem található antitest [5].

Transzfúzió előtt minden esetben meg kell határozni a donor és a recipiens vércsoportját az AB vércsoport rendszeren belül, hogy elkerüljük a transzfúziós reakciókat. Fatális reakció alakulhat ki, ha B vércsoportú macska kap A vagy AB vércsoportú vért, ugyanis a B vércsoportú macskák erős anti-A antitestekkel rendelkeznek, aminek következtében súlyos intravazális hemolízis alakul ki. Késői hemolízis jelentkezik, ha A vércsoportú egyed kap B, vagy AB vércsoportú vért, vagy akut reakció alakulhat ki B vércsoportú donor anti-A ellenanyagai miatt. AB vércsoportú macskának legjobb csoportazonos vért adni, de ritkasága miatt lehet A vércsoportú vért adni, mert azok plazmájában kevés anti-B ellenanyag van, azonban B vércsoportú donortól nem kaphatnak vért, mert azok plazmájában sok az anti-A ellenanyag [16], [17], [7].

2.2.1 Mik antigén

A fentiekben részletezett AB vércsoport rendszer fontossága vitathatatlan, azonban a vércsoport meghatározása nem áll meg itt. Ugyanis egy 2007-ben megjelent kutatás szerint, melyet a Journal of Veterinary Internal Medicine nevű lapban publikáltak, megfelelő vércsoport tipizálás következtében is előfordult transzfúziós reakció, melyet egy újonnan felfedezett antigénnek tulajdonítottak, a Mik vörösvérsejt antigénnek [18].

A keresztreakciók rutinszerű elvégzése után az AB vércsoportrendszerrel nem összefüggő összeférhetetlenség gyanúja merült fel transzfúzió folytán. Az erre alapozott kutatás következtében az AB kompatibilis macskák esetében az inkompatibilis keresztreakciók eredményei egy újonnan azonosított vérantigénnel szemben természetesen előforduló antitest jelenlétét mutatták ki olyan macskákból, akik korábban soha nem estek át transzfúzión.

A kutatásban használt 65 macskából 3 esetben sikerült kimutatni a Mik antigént. Esetükben nem az AB rendszer inkompatibilitása okozta a problémát, hanem ezek a macskák antitestet képeztek egy olyan vörösvérsejt-antigénnel szemben, amely hiányzik belőlük. Ez a hiányzó, ekkor felfedezett antigén a Mik antigén elnevezést kapta. Későbbi vizsgálatok kimutatták, hogy a Mik antigén hiánya akut hemolitikus transzfúziós reakciót válthat ki egy AB vércsoportrendszerben kompatibilis vérátömlesztést követően.

2.3 Vércsoport meghatározása

Ellentétben a kutyákkal, macskák esetében a donornak és a recipiensnek kötelező meghatározni a vércsoportját transfúzió előtt, hogy elkerüljék a potenciálisan fatális transfúziós reakciókat. Ennek érdekében többféle vércsoport tipizálási módszer elfogadott, de az egyik legelterjedtebb a keresztreakció („cross-matching”).

A keresztreakció („cross-test”) menete: Mind a donortól, mind a recipienstől 1 ml véralvadásban gátolt vért (EDTA-s csőbe) és 1 ml véralvadásban nem gátolt vért kell venni. Centrifugálás során a szérumot és a plazmát elkülönítik a vörösvérsejtektől. A továbbiakban a plazmára nem lesz szükség. A vörösvérsejtekből egy olyan 4%-os szuszpenzió készítése a cél (fiziológiás sóoldattal), mely a szérummal reagálva segít eldönteni, hogy fennáll-e összeférhetetlenség a donor és recipiens vére között. Ennek érdekében az EDTA-s csőben maradt vörösvérsejteket Salsollal kell mosni, centrifugálni, felülúszót eltávolítani, majd ezt megismételni kétszer.

A teszt elvégzése a következőképpen történik: nagy keresztreakciónál 1 csepp recipiens szérumot és 1 csepp donor vörösvérsejt szuszpenziót, míg a kis keresztreakció esetében 1 csepp donor szérumot és 1 csepp recipiens vörösvérsejt szuszpenziót vizsgálunk. Ezek mellett szükség van még 2 kontroll csőre is, 1 csepp recipiens szérum és 1 csepp recipiens vörösvérsejt szuszpenzió, valamint 1 csepp donor szérum és 1 csepp donor vörösvérsejt szuszpenzió formájában. Végül 15 perc, 37 fokos inkubálás, majd centrifugálás után elbírálható az eredmény [1], [5], [19], [20].

Makroszkóposan nem szabad csomósodást, hemolízist, agglutinációt látni. Pozitív esetben a vörösvértestek összezsapódnak, és a cső aljára ülepednek. Negatív esetben, ha a csöveket óvatosan forgatjuk, a vörösvérsejteknek lebegniük kell. A felülúszó is hemolízistól mentes kell legyen, tehát a szérumnak tisztának kell maradnia. Mikroszkóposan a vörösvérsejt alakok láthatóak legyenek, ne legyen összetapadás, deformált alakok [5].

Magyarországon az összeférhetetlenség vizsgálatára a leggyakrabban alkalmazott módszer a háromcsepp próba. 1 csepp donor vért, 1 csepp recipiens vért és 1 csepp fiziológiás NaCl oldatot elegyítenek, majd makroszkópos és mikroszkópos agglutinációs elemzést végeznek [16]. Makroszkópos értékelést a fentiek szerint kell elvégezni. Mikroszkópos elemzés kivitelezésekor, a próba során elkészített elegyből egy csepp vért helyeznek a tárgylemezre, majd mikroszkóp segítségével megvizsgálják. A vörösvérsejteket önálló sejtként kell látni, nem pedig csomókban összezsaportosulva. Mikroszkóp alatt az

úgynevezett Roulex képződés is megkülönböztethető az agglutinációtól. Ilyenkor a vörösvérsejtek egymáshoz tapadnak és érmék halmazára hasonlítanak, de ez nem egyenlő az agglutinációval, amikor a csomókban lévő vörösvérsejtek rendezetlen tömegét lehet látni. A Roulex jelenség tehát nem jelent klinikai problémát, és nem jelent összeférhetetlenséget [5].

Vércsoport meghatározásra macskák esetében gyorseszteszket szoktak alkalmazni. Az egyik ilyen teszt a RapidVet-H[®]. Ez egy olyan gyorseszteszt, ami egér monoklonális antitestet használ anti-A reagensként, és *Triticum vulgare*-ből, (vagyis a közönséges búzából) nyert lektint anti-B reagensként. A kontrollcsoport nem tartalmaz sem anti-A, sem anti-B reagenst, csak fiziológiás sóoldatot használnak. A teszt elvégzéséhez a következőt kell tenni: 1 csepp higítót és 1 csepp alvadásban gátolt vért kell cseppenteni a lemezre. A csomaghoz járó fapálcika segítségével el kell keverni az elegyet, majd két perc múlva elbírálni. A kontroll autoagglutinációnál nem szabad agglutinációt látni. Ha a „Type A” -nál figyelhető meg agglutináció, akkor az egyed vércsoportja A, ha a „Type B” -nél, akkor B-s vércsoportú. Ha mindkettőnél, akkor AB vércsoportú [5], [21].

A másik elterjedt gyorseszteszt neve QuickTest A+B[®]. Ez a teszt szintén monoklonális ellenanyagot használ a vércsoport meghatározásához, de itt egy tesztsík segít ebben. A teszt csomagjában található vérgyűjtő csíkot bele kell mártani az alvadásban gátolt vércsőbe, majd meg kell várni, amíg a papír csík magába szívja, ezután ezt 3 csepp puffer oldatba kell mártani. A teszten a vérszuszenzió végigfutása után elbírálható az eredmény. Ehhez segítségül szolgál szintén egy, a csomagban található műanyag eszköz [5], [17].

2.4 Vérekészítmények

A vértranszfúzió során nem csak teljes vér adható a másik állatnak, hanem különböző indikációkor különböző komponensek lehetnek alkalmasak. Teljes vér adása javasolt, ha a hematokrit 20% alatti, az összfehérje koncentrációja 25 g/L alatti, illetve vérvesztés esetén [16].

Vörösvérsejt-koncentrátum elsősorban anaemia kezelésére használandó, amikor nincs hypovolaemia. Ilyenkor a hemoglobin (Hb) pótlása a cél.

Tisztított-sűrített vörösvérsejt-készítmény azon anaemiás esetekben lehet első választás, ahol a recipiens normovolaemiás. Ez különösen hasznos szív- vagy vesebetegségben szenvedő egyedeknél, akiknél a teljes vér beadása a keringés túlterhelésének kockázatát

jelentené. A vörösvérsejt-készítményt a plazma kivonásával nyerik a teljes vérből. Egy kutatásban leírták, hogy a vörösvérsejt-koncentrátumot sóoldattal keverik, hogy javítsák a katéteren keresztül történő áramlási sebességet, azonban ezt a gyakorlatban nem szokták alkalmazni. A sóoldat hozzáadása nem eredményez ugyanolyan térfogatbővülést, mint egy azonos mennyiségű plazma, mivel a sóoldat gyorsan újra eloszlik mind az intravaszkuláris, mind az extravaszkuláris térben. Kalciumot tartalmazó krisztalloid oldatokat nem szabad használni, mivel a kalcium hozzáadása vérrögképződést eredményezhet [22], [23].

Plazmakészítmények adása több esetben is javasolt, például coagulopathia, DIC, dikumarol toxikózis miatt. Albuminpótlásra, mikrokoaguláció javítására (pl. sokk, pancreatitis esetén) is ez a megfelelő készítmény [1]. A plazma albumint, globulint, véralvadásgátlókat tartalmaz. Azon egyedeknél is plazma komponenst adnak, akiknek ismert véralvadási faktor hiánya van. A plazmát súlyos hasnyálmirigy-gyulladásban szenvedő betegeknél is használják az alfa-makroglobulinok pótlására és az albuminszint fenntartására, mivel a humán gyógyászatban ismert, hogy az alacsony alfa-makroglobulin szintű betegeknél csökkent a túlélési esély [1]. Az állatorvoslásban egy nemrégiben végzett tanulmányban a kutyák esetében értékelték a friss fagyasztott plazma alkalmazását hasnyálmirigy-gyulladás esetén [24]: a plazma beadása nem javította a mortalitást.

Trombocitopéniában szenvedő beteg esetében nagy mennyiségű friss vérre van szükség. Mivel a vérlemezkeszám nem állítható helyre transzfúzió segítségével, csak az akut vérzés elállítására használható, teljes vér adása akkor indokolt, ha egyidejűleg vérzés, hypovolamia vagy vérszegénység is fennáll. Alacsony sebességű centrifugálás során állítanak elő olyan plazmát, mely sok trombocitát tartalmaz. Általában a súlyos vérvesztést okozó vérszegénységet kezelik a leghatékonyabban vérátömlesztéssel [22].

Ha nem teljes vért adunk a recipiensnek, akkor a vért érdemes komponenseire bontani. Ilyenkor a teljes vért centrifugálással egyes elemeire osztják. A centrifugálás 3000-es fordulatszámon történik, 15 percen keresztül, majd ezt követően történik meg a plazma szeparálása.

Macskák esetében azonban a levett vér kis mennyisége és a vérelemek szétválasztásának nehézségei miatt a friss, teljes vér transzfúziója elterjedt. Az elsődleges és másodlagos hemosztázis és a hipoalbuminémia klinikailag jelentős zavarai ritkábbak macskáknál, mint kutyáknál, ezért a plazma- és vérlemezke-készítmények iránti igény lényegesen kisebb [25].

2.5 Transzfúziós reakciók

Nem megfelelő vagy elmulasztott vércsoport-meghatározás következtében különböző súlyosságú transzfúziós reakciók következhetnek be. Vércsoportegyeztetés esetében azonban ugyancsak bekövetkezhetnek komplikációk. Ezek a reakciók a következők lehetnek [26]:

- Lázás, nem hemolitikus transzfúziós reakció. Ez egy akut, nem immunológiai reakció, melyet akkor állapítunk meg, ha recipiens hőmérséklete $39\text{ }^{\circ}\text{C}$ fölé emelkedik, vagy több, mint $1\text{ }^{\circ}\text{C}$ -t emelkedett a hőmérséklete a transzfúzió előtti testhőmérséklethez képest.
- Légzőszervi reakciók közül több fajta is előfordulhat, úgy, mint transzfúzióval összefüggő nehézlégzés, transzfúzióval összefüggő keringési túlterhelés és transzfúzióval összefüggő akut tüdősrülés. Ezek mind transzfúzió közben vagy 4-6 órával utána következhetnek be [27].
- Allergiás reakciónál I. típusú hiperszenzitivitás figyelhető meg. Ez egy akut, immunológiai folyamat, mely szintén a transzfúzió közben, vagy utána 4 órával jelentkezik. Macska esetében megfigyelhető a légzőszervi traktus ödémája, bronchoconstrictio, túlzott nyálkatermelés, emésztőszervi tünetek, pruritus.
- Hemolitikus reakciók közül kétfélét különböztetnek meg, az akut, illetve a késői formát. Az akut oka lehet vércsoport inkompatibilitás, termikus-, ozmotikus-, mechanikus-, kémiai tényezők, amelyek károsítják a vörsejteket. Késői hemolitikus reakció a transzfúzió után 24 órától kezdve akár 28 napig is jelentkezhet, például xenotranszfúzió miatt [28].

A transzfúzióhoz kötött fertőzések kutatásomban kiemelt szerepet töltenek be. Fontos lenne, hogy a donortól kapott vér, mindenképpen fertőzésektől mentes legyen. Előfordulhat FIV, FeLV, *Bartonella hensale*, *Mycoplasma haemofelis*, *Mycoplasma haemominutum*, *Candisatus* spp., *Cytauxzoon* spp stb. fertőzés. Azonban nem csak a donor fertőzött vére lehet a fertőzés forrása, a vérvétel közbeni bakteriális kontamináció még nagyobb veszélyt jelenthet. Ezen felül a tárolás során túlél/elszaporodott baktériumok is okozhatnak fertőzést. Humán vonalon és kutyák esetében van nagyobb jelentősége a tárolás során keletkezett kontaminációnak, kutatásomban azonban a macskák vérének tárolása során elszaporodott baktériumok vizsgálata kapott fontos szerepet.

Transzfúzió során a vérvétel előtt minden esetben el kell végezni egy részletes fizikális vizsgálatot, és meg kell győződni róla, hogy a donor egészséges, fertőzésektől, külső és

belső élősködőktől mentes. Ha a vérvételhez szedáció szükséges, kerülni kell az acepromazin használatát, mert hatással lehet a vérlemezkék működésére [1].

Macskák esetében 10-15 ml/kg vér levétele biztonságos, míg kutyáknál ez akár 20ml/kg is lehet. Vérvétel során a vért egy véralvadástgátlóval ellátott rendszerbe kell gyűjteni, ami általában CPDA-1, azaz citrát-foszfát dextróz-adenin komplex. Macskák esetében gyakran fecskendővel történik a vérvétel, azonban a levett vért nem szabad sokáig a fecskendőben tárolni, minél hamarabb aseptikusan lezárt vérvételi zsákba vagy a recipiensbe kell juttatni [1].

2.6 Xenotranszfúzió

Xenotranszfúciónak hívják azt a transzfúziót, amikor egy másik állatfaj vérének adják be transzfúzió során. Esetünkben ez akkor lényeges, amikor macska kap kutyától származó vért. Ezt csak abban az esetben lehet elvégezni, ha életveszélyről van szó, és mindenképpen szükséges (hiszen a kutya vére tárolva jobban és nagyobb mennyiségben elérhető), illetve, ha egyszeri transzfúzióról van szó. A xenotranszfúzió lehetséges indikációi közé tartozik a macskából származó vérkészítményekre adott korábbi transzfúziós reakció, a megfelelő mennyiségű macskából származó vérkészítmények hiánya, valamint a vérszegény macskák rövid távú stabilizálása, hogy időt hagyjanak a vizsgálatokra vagy a kompatibilis macskavér beszerzésére. A kutyavérnek a macskába történő ismételt transzfúziója súlyos transzfúziós reakciót, anafilaxiát és valószínűleg halált eredményezne [5], [29].

Egy kutatásban 49 macska esetén végeztek el xenotranszfúziót. Az indikációk a következők voltak: műtét során bekövetkező vérvesztés, immunmediált hemolitikus vérszegénység, valamint daganatos betegségek. Hat macska esetében lázas, nem hemolitikus reakció lépett fel, 10 macska elpusztult vagy eutanáziát kellett végezni rossz állapotuk miatt. Késleltetett hemolitikus transzfúziós reakció lépett fel 25 macska esetében. Összesen 15 macska maradt életben 173 nappal a xenotranszfúzió után [30].

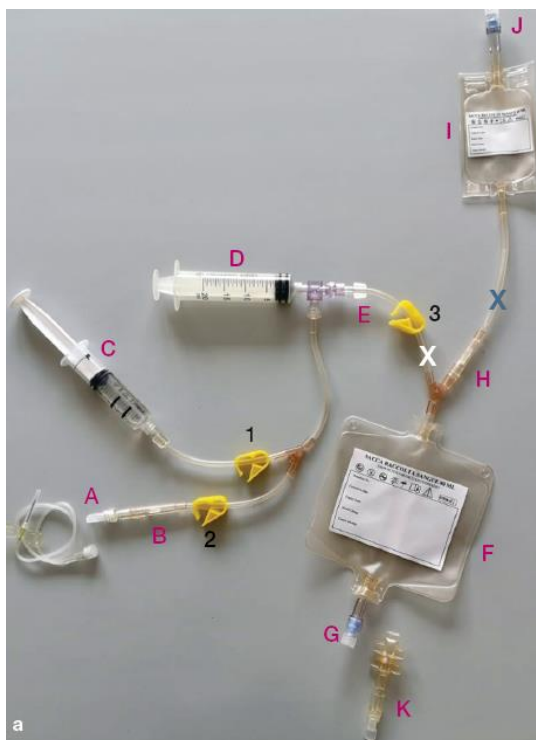
2.7 Vérvételi rendszerek

Kétféle vérvételi rendszer létezik: a nyílt és a zárt rendszer. A kettő leginkább abból a szempontból különbözik, hogy mennyire van kizárva a kontaminációnak a veszélye.

A nyílt rendszer esetén aseptikusan előkészítik a területet, ahonnan a vért kívánják venni, ez általában a vena jugularis. A vénába a vérvételhez pillangós tűt vagy kanült vezetnek be, és ehhez csatlakoztatják a már véralvadástgátlót tartalmazó fecskendőket. A vérvétel

során ügyelni kell arra, hogy a vérrel teli fecskendőket finoman mozgatni szükséges, hogy biztosan összekeveredjen a véralvadástgátló és a vér. A gyakorlatban legtöbb transfúzióra szoruló macska teljes vért kap, de lehetőség van a plazma és a vörösvérsejtek elkülönítésére. A plazmát egy transfúziós zsákba át lehet tenni, és maximum 8 órán keresztül le lehet fagyasztani, ha nincs mód azonnali felhasználásra. A fecskendőben maradt vörösvérsejt készítmény – amennyiben adalékanyagot (például SAGM= sóoldatot, adenint, glükózt, mannitolt) adnak hozzá – szintén eltárolható a hűtőszekrényben néhány órán át.

Ezzel szemben a zárt vérvételi rendszer több komponensből áll, melyeket már a vérvétel előtt aseptikus módon összecsatlakoztatnak, hogy elkerüljék a kontaminációt. Ez a rendszer a pillangós véna katéterből, a véralvadástgátlót tartalmazó fecskendőből, a vérvételt szolgáló fecskendőből és a transfúziós zsákból áll, valamint egy másik transfúziós zsákból, melyet a későbbiekben a plazma elkülönítésére lehet használni. A rendszer úgy van összeállítva, hogy a folyamatokat el lehessen különíteni egymástól, és le lehessen zárni az éppen nem használt részt egy szeleppel, ezzel biztosítva, hogy a donor vére semmiképp ne érintkezzen a levegővel, és egy zárt rendszer maradjon [5], [31]. Ennek a rendszernek az összeállítása az 1. ábrán látható.



1. ábra: Zárt vérvételi rendszer

Egy kutatásban megvizsgálták a nyílt és a zárt vérvételi rendszert, és azt a következtetést vonták le, hogy nincs szignifikáns különbség a két rendszer között. Vizsgálták, hogyan reagál a donor, a hemolízis mértékét, a véradás idejét, valamint a baktériumkultúrákat. A klinikai gyakorlatban mindkét módszer elfogadott, azonban macskák esetében a nyílt vérvételi rendszereket alkalmazzák [31].

2.8 Vér tárolása

A vér tárolásával kapcsolatos kutatások már az 1910-es évekre nyúlnak vissza. Elsőként a nátrium-citrát véralvadásgátló hatását fedezték fel, mellyel el tudták tárolni a levett vért 2 napig. Később dextróz oldattal, adeninnel és a mannitollal is sikereket értek el. Az 1970-es évekre eljutott a tudomány a ma is leggyakrabban használt CPDA-1 (citrát- foszfát- dextróz- adenin) véralvadásgátlóhoz [32]. Eleinte üvegből készült eszközökbe, később már műanyag zsákba tárolták el a vért, ami lehetővé tette a vér komponenseire való bontását is.

A vörösvérsejtek tárolás közben sokféle elváltozáson mennek keresztül, mint például alakváltozások, membránvesztés, metabolikus hatások, lipidek és fehérjék oxidatív károsodása, oxigén-affinitás és -szállítás változása, vörösvérsejtek élettartalmának csökkenése [33]. Vizsgálatok kimutatták, hogy hűtve tárolás során a morfológiai indexszel mért vörösvértestek alakja lineárisan változik, degenerálódik [34]. Valamint, hogy minél tovább tároljuk a levett vért, annál több anyagot veszítenek a vörösvérsejtek diffúzió során, mint például foszfátot, káliumot. Azt is megállapították a kutatások, hogy a tárolás során a lipidek és a fehérjék oxidatív károsodása hozzájárul a vörösvérsejtek károsodásához [32]. Mindezen vizsgálatokból hozott példákban látszik, hogy a vérkészítmények megfelelő tárolási körülményei elengedhetetlenek a helyes transzfúziós gyakorlatban, hogy a tárolás során bekövetkező negatív változásokból eredő különböző transzfúziós reakciókat elkerüljék.

2.9 Kutya és macska transzfúzió összehasonlítása

Kutyák esetében is elterjedt a vértranszfúzió a gyakorlatban. Náluk a legjelentősebb vércsoport rendszer a DEA vércsoport, mely a kutya vörösvérsejt antigén (Dog Erythrocyte Antigen) alapján lett elnevezve. A 8 vércsoport közül a DEA 1.1, illetve a DEA 1.2 a legjelentősebb, leginkább elterjedt vércsoport. Ezek az antigének a vörösvérsejtek felszínén találhatók meg, a keringő vérben nincsenek DEA elleni antitestek, így első véradásukkor nem szükséges a vércsoport-meghatározás, mert nem jelentkezik akut

hemolitikus reakció [35]. Második transzfúzió alkalmával feltétlenül szükséges a vércsoport-meghatározás, hogy elkerüljék a transzfúziós reakciókat. Ez egy lényeges különbség a macskák és kutyák között, macskáknál már az első transzfúzió előtt elengedhetetlen a vércsoport-tipizálás [36].

Másik jelentős különbség, hogy a kutyák vére akár 25- 30 napig is eltárolható, így szükség esetén a vérbankokból beszerezhető. Ezzel szemben macskáknál egyidejűleg történik a donortól való vérvétel és a recipiens transzfúziója. A friss teljes vér a lehető legrövidebb időn belül felhasználandó, és kerülni kell a hűtőben való tárolását. A tárolt teljes vér, mely tartalmazza a vörösvérsejteket és plazmafehérjéket 28-35 napig is eltárolható hűtőszekrényben 4 °C-on, szigorúan ellenőrzött körülmények között. A vörösvérsejt koncentrátum az előbb említett szigorú szabályok betartása mellett szintén eltárolható hűtve 28-35 napig. A friss fagyasztott plazma, a teljes vér levétele után 8 órán belül alacsony hőmérsékleten szeparált és fagyasztott plazma, mely 1 évig tárolható -20 °C alatt. A fagyasztott plazma pedig a teljes vér levételétől számítva több mint 8 óra után szeparált és fagyasztott plazma, valamint 1 évnél tovább tárolt friss fagyasztott plazma [37]. A vér hosszútávú eltárolhatósága nagyban megkönnyíti a transzfúziót a gyakorlatban, hiszen sürgős esetben egyszerűbben beszerezhető, mint macskák esetében, akiknél megfelelő donort kell találni a beavatkozáshoz.

2.10 Kontaminációk, patogének

Egy transzfúzió során több ponton is veszélyt jelent a különböző kórokozók előfordulása, elszaporodása, így különös figyelmet kell fordítani a transzfúzió megfelelő kivitelezésére.

Az első lényeges szempont a donor kiválasztása. Fontos, hogy bent tartott vagy kijáró macskáról van-e szó, külső élősködők ellen védve van-e, milyen fertőző betegségekre szűrték, illetve milyen az oltási státusza. Vannak bizonyos baktériumok, amiket a donor át tud adni a recipiensnek a vérével, így tesztelni szükséges azokat. Ilyen baktérium a *Mycoplasma haemofelis*, ami ugyan megtalálható a vérben, de egy hetes fagyasztott tárolás után inaktiválódik. A *Mycoplasma* családon belül érdemes még PCR vizsgálatot végezni a *Mycoplasma haemominutum* és a *Mycoplasma turcensis* jelenlétére is. *Bartonella hensale* szintén életképes a vérben, és átvihető a recipiensnek, de még a tárolást is túléli, és nem inaktiválódik, mint az előbb említett fajok. Fontos, hogy minden donor szűrve legyen a *Macska leukózis vírusa (FeLV)* és a *Macska immunhiányos betegsége*, más néven a *Macska Aids (FIV)* ellen. Mindkét vírus már maternálisan is előfordulhat a macskában,

illetve könnyen fertőződhet a vértranszfúzió által. A további ágensek veszélyt jelenthetnek a recipiens számára, ha a donor fertőzött, azonban inkább csak endémiás területeken érdemes szűrni őket. Ilyen a *Cytauxzoon felis*, *Babesia felis*, *Ehrlichia canis*, *Leishmania infantum*, *Neorickettsia risticii*, *Anaplasma phagocytophilum* [5], [38, o. 2], [39], [40].

A megfelelő donor kiválasztása után ügyelni kell arra, hogy a vérvétel során elkerüljük a kontaminációt. A fentiekben részletezett nyílt és zárt vérvételi rendszerek helyes alkalmazása segít a kontamináció minimalizálásában. Macskák esetében a gyakorlatban nyílt vérvételi rendszert alkalmaznak. Döntő fontosságú, hogy a folyamat minden egyes lépése a legszigorúbb aszeptikus körülmények között történjen. Minél hosszabb a vérvétel és a transzfúzió között eltelt idő, annál nagyobb a levett vér szennyeződésének kockázata. A vérvételi zsákok szennyeződése is megtörténhet, például hidegtűrő baktériumokkal, mint egyes *Pseudomonas* fajok, vagy a coliform baktériumok közé tartozó *Serratia marcescens* által. Az általuk termelt endotoxinok azonnali lázas reakciót, vagy súlyosabb tüneteket válthatnak ki a recipiensből [41]. Egy 1997-es kutatásban *Serratia marcescens* baktériummal kontaminálódott, alkoholba áztatott vattapamacsokat tartalmazó tégely és egy vénapunkció során használt sóoldatot tartalmazó zacskó okozott súlyos reakciókat a transzfúzió során. A 14 macskából 6 esetében tapasztaltak hányást, hasmenést, mint kezdetleges transzfúziós reakció, továbbá 4 macska meg is halt [42].

3 Célkitűzések

Kutatásom célja volt megvizsgálni, hogyan lehet eltárolni a macskák vérének a transzfúziós gyakorlatban. Erről kevés információval rendelkezünk világszerte. A gyakorlatban térben és időben egy helyen történő, teljes vér adása elterjedt a macskák körében. A levett vér eltárolására így kevesebb kutatás és kisebb figyelem fordult. Elsődleges célom az volt, hogy a tárolás sikerességét megvizsgáljam, és pozitív eredmény esetén nagyobb esetszámmal folytassam a kutatást a későbbiekben.

4 Anyag és Módszer

A vizsgálatba tulajdonossal rendelkező macskákat vontuk be, és a kutatáshoz szükséges vért rutin vérvizsgálatkor vettük le. Így külön engedélyre nem volt szükség.

A 40/2013. Kormányrendelet kimondja, hogy a rendelet hatálya kiterjed az élő gerinces állatok és az élő lábasfejúek kísérletben történő felhasználására, kísérleti célú felhasználás érdekében való tartására, tenyésztésére vagy szaporítására, szerveik vagy szöveteik kifejezetten tudományos vagy oktatási célú felhasználásra történő tenyésztésére. Azonban nem terjed ki a helyes állatorvosi gyakorlat szerint kivitelezett tűszúrás által okozottal azonos vagy annál magasabb szintű fájdalmat, szenvedést, félelmet vagy maradandó egészségkárosodást valószínűsíthetően nem okozó gyakorlatra, és a nem kísérleti jellegű klinikai állatorvosi gyakorlatra [43]. Mindezek következtében az egyébként is elvégzendő rutin vérvizsgálatkor levett vér nem minősül állatkísérletnek.

Kutatásomban 3 egyed vére került megvizsgálásra. A tulajdonossal rendelkező macskák ugyanazon a napon érkeztek az Állatorvostudományi Egyetemre a vérvétel céljából. Egészséges, rendszeresen oltott és vizsgált macskák voltak. Mindhárom európai rövidszőrű, házimacska volt. Az egyik 2021-ben született, a másik 2022-ben, a harmadik pedig 2023-as születésű volt.

4.1 Mintavétel

A vérvétel során a phlebotomia szabályai szerint jártunk el minden esetben [44].

A vérvétel lényege a test felszínéhez közeli vénát használni, hogy megfelelő mennyiségű vért tudjunk levenni, elkerülve a vérsejtek károsodását, valamint, hogy az állatot a lehető legkevesebb diszkomfort érje [45]. A vérvétel során használt véna a v. jugularis volt. Macskák esetében a következő vénákból történő vérvétel javasolt: v.jugularis, v. cephalica és a v. saphena. A gyakorlatban, nagyobb mennyiségű vér levétele a v. jugularisból történik leggyakrabban.

A vérvétel során az eljárást aseptikus módon kell elvégezni. Ez magában foglalja a következőket: a mintavételi területen lévő szőr lenyírása, a terület aseptikus előkészítése, kézmosás, steril tű és fecskendő használata [45].

A vérvétel helyét nyírógéppel lenyírtuk, hogy a szőr nagy részét eltávolítsuk, így biztosítva a megfelelő aszepszist. A bőrnek azon területe, ahonnan a vért levesszük, mentesnek kell

lennie nyilvánvaló gyulladásról és fertőzéssel. Kézi borotvát nem használtunk az esetleges mikrosérülések elkerülése miatt. A területet ezután bőrfertőtlenítésre használandó alkohollal (Bradoderm®) fertőtlenítettük. Az alkohol használata a bőrön vagy a szőrön több előnnyel is jár: segít eltávolítani a bőr felszíni szennyeződéseit, valamint vasodilatációt okoz, és ezáltal javítja a véna láthatóságát [46]. A mintavétel során steril kesztyűt viseltünk.

Az állat megfelelő pozicionálása elengedhetetlen. Mindig figyelni kell arra, hogy ne nyomjuk össze a légcsövet, és ne akadályozzuk a légzést semmilyen módon. Mindemellett a macskák túl erős rögzítése sem javasolt, ne okozunk felesleges félelmet az állatnak. Az állatok védelméről és kíméletéről szóló 1998. évi XXVIII. törvény 9. §-a kimondja, hogy az állaton fájdalommal vagy károsodással járó beavatkozást – az állat érdekében szükséges azonnali beavatkozások kivételével – kizárólag szakirányú végzettséggel, illetve az állattartók körében szokásos beavatkozás esetében csak gyakorlattal rendelkező személy végezhet. A beavatkozás érzéstelenítés nélkül csak akkor végezhető, ha az érzéstelenítés, illetőleg az ehhez szükséges rögzítés legalább akkora fájdalommal járna, mint a beavatkozás [47].

Megfelelő helyzetben a véna tapintható és/vagy látható. Az alkoholos fertőtlenítés után pár perc várakozást követően a vénát a mellkas bejáratánál leszorítottuk, a tűt rostralis irányban bevezettük. A vérvételhez 21G-s tűt használtunk, 10 ml-es fecskendővel vettük a vért zárt rendszerrel. A vérvételünk zárt rendszernek minősült, de transzfúziós szempontból mégis egy nyílt rendszert hoztunk létre, mivel a fecskendőbe levett vért később transzfúziós zsákba helyeztük át. A vérvételt követően a mintavételi területet mull-lappal leszorítottuk, a mintát pedig szétszítottuk a vérvételi zsák és a transzport táptalajt tartalmazó cső között.

Az kutatásunkhoz használt vérvételi zsákot a Medical Instrumentation for Animals (MILA) nevű cégtől rendeltük meg az Egyesült Államokból. Ők rendelkeznek macskák számára gyártott 30 ml térfogatú vérvételi zsákkal. A kis méret megfelelő a macska vérvételkor gyűjtött kis mennyiségű vér eltárolására, ezzel is csökkentve a kontamináció kockázatát. Minden zacskó fóliázott, ami hosszabb eltarthatóságot eredményez. A vérvételi zsákban CPDA-1 nevű véralvadástgátló található. 100 ml CPDA-1 tartalmaz: 0,299g citromsavat, 2,63g nátrium-citrátot, 0,222g monobázikus nátrium- foszfátot, 3,19g dextrózt, 0,0275g adenint, valamint 100 ml injekcióhoz szükséges vizet. Az ajánlott

térfogati arányok, 7 ml vér: 1 ml CPDA-1. A vizsgálatunkban használt transzfúziós zsák a 2. ábrán látható.



2. ábra: Transzfúziós zsák

4.2 Mintatárolás

A mintákat a vérvételt követően azonnal hűtőszekrénybe helyeztük. A hűtési hőmérséklet napi szinten került naplózásra, mely a vizsgálat ideje alatt 6-8 °C között változott. A hűtőszekrény csak a minta vizsgálatakor került kinyitásra.

4.3 Előkészítés a mikrobiológiai vizsgálatra

A vérmintát a transzport táptalajt tartalmazó csőbe csak a feldolgozás napján töltöttük át. Az első minta a vérvétel pillanatában készült, a további vérminta a hűtőszekrényben tárolt vérvételi zsákból származott. A vizsgálat napján steril, 21G-s tűvel vettünk vért a vérvételi zsákból, és tettük a táptalajt tartalmazó csőbe.

A macskákból gyűjtött alvadásban gátolt vért 6-8 °C fokon tároltuk a teljes vizsgálat ideje alatt a minőség romlásának megakadályozása és a minél hosszabb eltarthatóság érdekében, valamint a gyakorlatban alkalmazott tárolási módszert utánozva. A vértasakokból minden alkalommal 1 ml vért nyertünk. A vér leszívását megelőzően percekig enyhe homogenizálást alkalmaztunk, hogy a vér a tasakban minél egyenletesebb eloszlású legyen a tárolás során kialakult szedimentációt követően. Továbbá a vértasakból kiágazó csőben lévő tartalmat mechanikusan összekevertük a vértasakban lévő vérrel, hogy a csőből való

mintavétel során szintén a vértasakról nyerjük információt, ne csak a csőben lévő állapotról.

A vér leszívását megelőzően alapos fertőtlenítőszeres lemosást alkalmaztunk a vértasak mintavételi cső végén található gumidugón, hogy a levett minta és a vértasak kontaminációját lehetőség szerint elkerüljük, illetve minimalizáljuk, és az eltarthatóság valódi értékét kapjuk, ne a véletlenül okozott befertőződésről származzanak az információink.

A levett 1 ml vérből 0,1 ml vérmennyiséget közvetlenül a véres agar felületén elszélesztettük, a maradék 0,9 ml vért pedig 5 ml LB (Luria-Bertani) táplevesbe szuszpendáltuk. Mindkét minta kioltása során figyelemmel voltunk arra is, hogy habzást és a sejtek sérülését okozó plusz mechanikai lépéseket mellőzzük. A véres agart és a táplevest ezt követően 37 °C fokon inkubáltuk 24 óráig aerob körülmények között.

A véres agar felületén létrejött baktériumnövekedést ezt követően leolvastuk. A táplevesből az alapos összekeverést követően 100 µl-t kioltottunk a véres agar felületére. Mind az első kioltásból származó véres agart (a netán lassabban nöövő bakteriális növekedés leolvasása érdekében) és a táplevesből való kioltást további 24 óráig 37 °C-on aerob körülmények között inkubáltuk, majd leolvastuk az esetlegesen kialakult bakteriális növekedést. A táplevesből kioltott véres agar esetében szintén egy további 24 órás inkubációt alkalmaztunk az éppenséggel lassan nöövő baktériumok kimutatására.

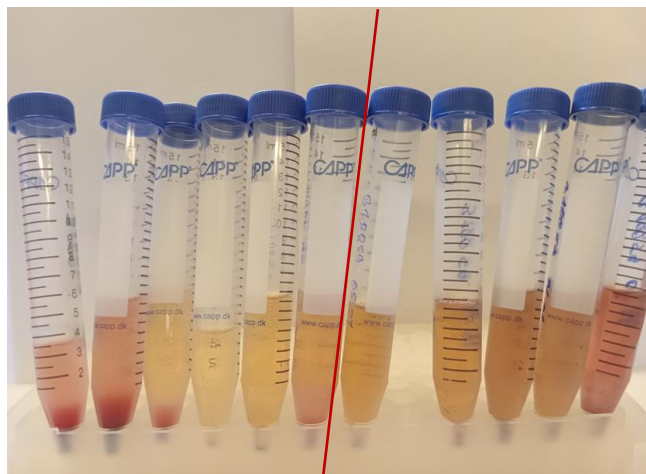
A beoltott tápleveseket 6-8 °C fokon tovább tároltuk, és ezek makroszkópos elváltozásait fényképesen is dokumentáltuk, annak érdekében, hogy egy esetleg már érzékszervekkel is tapasztalható minőségromlás detektálására információkkal szolgáljunk.

5 Eredmények

A kutatás során 3 macska vérének eltárolhatóságát vizsgáltuk meg. Mindhárom macska európai rövidszőrű házimacska, 2021, 2022 és 2023-as születéssel. A macskák egészségügyi és oltási státusza megfelelő volt. Az egyetemi adatbázisba való felvételt követően az állatok rendelkeznek egy egyetemi nyilvántartási számmal, úgynevezett állatkóddal. Ez egy 6 jegyű szám, melynek alapján a mintáinkat is elneveztük.

Az első mintát már a vérvétel napján vizsgáltuk, és transzport táptalajt tartalmazó csőbe töltöttük. Ezt követően további 30 napon keresztül tartott a vizsgálatunk, melynek során

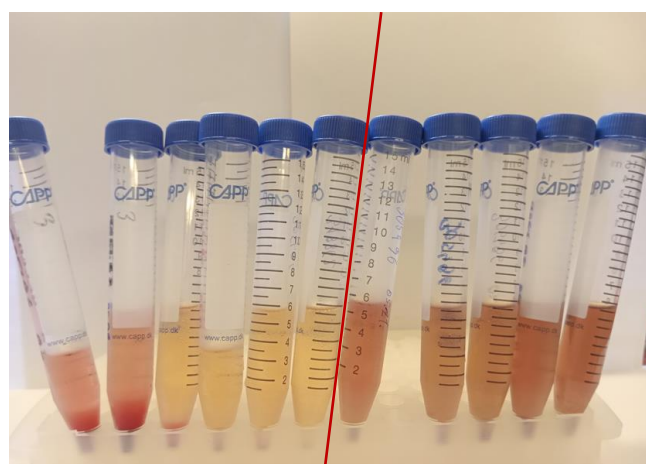
minden alkalommal elvégeztük a fentiekben részletezett mintavételi módszert, hogy a táplevesbe szuszpendált, illetve a véres agar felületén szétszételt mintákat tanulmányozni tudjuk.



3. ábra Első egyed mintái

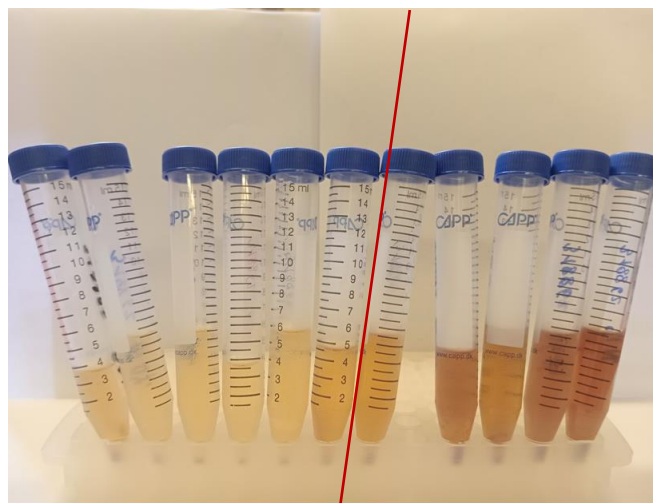
A 3., 4., és 5. ábrán a három egyed mintái látszanak. A csövek időrendi sorrendben követik egymást és a piros vonal jelzi a vizsgálatunkban bekövetkezett változás kezdetét. Az első két hétben nem tapasztaltunk eltéréseket. A cső alján leülepedtek a vörösvérsejtek, de a felette lévő plazma tiszta, tehát hemolízis nem történt. Ezen túlmenően sem a táptalajos levesben, sem a véres agaron semmilyen jelét nem láttuk mikrobiológiai szennyeződésnek.

Két héttel az első mintavételt követően, mindhárom minta hemolizálni kezdett a levesben, így a vér minősége kétségesnek látszott. Mindhárom ábrán jól látható, a vörösvérsejtek lízise, a plazma zavaros, sötét színű. Ezen felül mikrobiológiai eltéréseket továbbra sem tapasztaltunk.



4. ábra Második egyed mintái

Egy héttel később mindhárom vérminta esetében sok apró telep jelent meg a tenyésztés során, mind a levesből, mind a közvetlen véres agaros kioltás esetében. A hemolízis mértéke tovább nőtt, a vércsővekben egyre sötétebb plazma-vörösvérsejt elegy látható. Vizsgálatunkat még 9 napig folytattuk. Ez idő alatt egyre több telep jelent meg a mintákban, valamint a hemolízis mértéke is nőtt.



5. ábra Harmadik egyed mintái

6 Megbeszélés és Következtetések

A macska vérenek eltárolásával kapcsolatban kevés tudományos kutatás készült. Mivel nincs megbízható tudományos eredmény, így a gyakorlatban nem is alkalmazzák a tárolt, hűtött vagy fagyasztott vér transfúzióját macskák esetében.

2019-ben a milánói egyetemen végeztek egy kutatást, melyben a tárolt vér hematológiai és biokémiai változásait vizsgálták 35 napig. A kutatók mérései minden egyes napon, azonos időpontban a következők voltak: hematológiai paraméterek, hemolízis százalékos aránya, morfológiai index egy 3 pontos rendszerben, valamint kiválasztott biokémiai paraméterek. A tárolás nem eredményezett statisztikailag szignifikáns változásokat a mért hematológiai paraméterekben. A 21. naptól kezdődően statisztikailag jelentősen nőtt a hemolízis százalékos aránya és a morfológiai index, a glükóz szint azonban döntő mértékben csökkent. A kálium szint jelentékeny mértékben nőtt már a 7. naptól, és a nátrium szint is szignifikánsan nőtt a 28. naptól. Baktériumokat azonban nem izoláltak.

Következtetésképpen a nyitott rendszerrel levett vér tárolása közben számos változás következett be, amelyek időfüggőek voltak. Mivel ezek a változások befolyásolhatják a

macskák transzfúziós gyógyászatában használt tárolt teljes vér minőségét és hasznosságát, további vizsgálatokra lett volna szükség klinikai jelentőségük megállapításában [2].

Az általam elvégzett kutatás eredményeiből azt a következtetést vonhatjuk le, hogy a 30 ml-es transzfúziós zsákban tárolt macskavérben – a milánói egyetemen végzett kutatáshoz hasonlóan – egy ideig látszólag változás nem történt, azonban ez nem azt jelenti, hogy biztonsággal beadható lett volna a vér egy másik csoportazonos macskának. A hemolízis megjelenését követően azonban biztosan mondhatjuk, hogy a vér alkalmatlan lett volna transzfúziós felhasználásra. Azt is megfigyelhettük, hogy a vérvétel során aseptikusan levett vér kontaminációtól mentes volt, hiszen mikrobiológiai szempontból csak a harmadik héten következett be változás. Kutatásomban számos paraméterre nem volt lehetőségünk kitérni, de két jelentős szempontot megvizsgáltunk: a hemolízis és a baktériumok megjelenését. Mivel kis macskapopulációval dolgoztunk, a kevés mintaszám nem ad lehetőséget messzemenő következtetések levonására, további vizsgálatok szükségesek. A jövőben nagyobb hangsúlyt kell fektetni a macskák transzfúziós gyakorlatára, ezen belül is vérük eltárolhatóságára, hiszen a kezdetleges kutatások bizonyítják, hogy lehetséges lenne hosszabb távon is kivitelezni ezt. Azonban ehhez jóval nagyobb macskapopuláció vizsgálatára lenne szükség, valamint a macskák transzfúziójához könnyen beszerezhető, biztonságos tárolási lehetőségre.

7 Összefoglaló

A vértranszfúzió életmentő beavatkozás lehet, így az állatorvoslásban is nagy figyelmet kapott az elmúlt 60 évben. Az alapokat a humán gyógyászatból vette át az állatorvosi gyógyászat, és sok tudományos kutatásnak köszönhetően jutott el oda, hogy napjainkban biztonságosan alkalmazzák világszerte azok a klinikák, amelyek megfelelő felszereltséggel és tudással rendelkeznek. A társállat gyógyászatban az egyik legjobban feltérképezett terület a kutyák transzfúziós gyakorlata. A kutatásomban központi szerepet kapott macskák esetében ugyan nagy biztonsággal alkalmazzák a vértranszfúziót a gyakorlatban, de számos terület még feltérképezetlen, például a vér biztonságos eltárolása hosszú távon. Ennek elsődleges oka, hogy a vérvétel során vett vér mennyisége jóval kisebb, mint egy kutya vagy ember esetében, így a gyakorlatban elterjedt transzfúziós zsák nem alkalmas az eltárolására.

Vértranszfúzió megkezdése előtt első és legfontosabb dolog a donor és a recipiens vércsoportjának meghatározása. Ezt számos módszer teszi lehetővé, azonban macskák körében a RapidVet-H® és a QuickTest A+B® gyors teszt a legelterjedtebb. Ha sikerült megfelelő donort találni a transzfúzióra váró macska számára, a macskák esetében használt nyílt vérvételi rendszerrel megtörténik a vér levétele, ügyelve az aseptikus körülményekre. Mivel a tárolás feltételei még nem adóttak a macskák vonatkozásában, így a recipiensnek maximum néhány órán belül meg kell kapnia a levett vért. Ezt a szűk időszávot lenne szükséges bővíteni a gyakorlatban, azonban még nincs megfelelő tudományos háttér a biztonságos kivitelezéshez.

Szakedolgozatomban ennek a területnek a feltérképezésére irányult a kutatásom. Egészséges, rendszeresen oltott, fiatal, európai rövidszőrű macskák vérvételét végeztük el. A vér levételére három macska esetében az Állatorvostudományi Egyetem Kisállat Klinikáján került sor, ugyanazon a napon. Minden állattól 10 ml vért vettünk zárt rendszerben, fecskendőbe. A levett vért a Medical Instrumentation for Animals (MILA) cégtől rendelt, CPDA-1 véralvadásgátlót tartalmazó, 30 ml térfogatú transzfúziós zsákba töltöttük. A mintákat 30 napon keresztül vizsgáltuk. Minden alkalommal 1 ml alvadásban gátolt vért szívtunk le a transzfúziós zsákból, melyből 0,1 ml-t véres agar felületén szélesztettünk szét, a maradékot pedig táplevesbe szuszpendáltuk.

Az első mintavételt követően 2 hétig nem tapasztaltunk elváltozást egyik mintában sem. Baktériumok szaporodására jellemző telepektől mentesek voltak, valamint makroszkóposan hemolízis jelenlétére utaló elváltozásokat sem tapasztaltunk. A 15. napon mindhárom mintában hemolízis volt megfigyelhető, a vörösvérsejtek lízise következett be. Mikrobiológiai szempontból nem tapasztaltunk elváltozást. A 21. napon már nem csak a hemolízis volt megfigyelhető, hanem apró telepek jelentek meg, mind a táplevesben, mind a véres agaron.

Kutatásomban a kis mintaszám ellenére olyan eredményekre jutottam, melynek következtében mindenképp érdemes lenne egy nagyobb populációval, illetve részletesebb laboratóriumi módszerekkel folytatni a macska vérének eltárolásával kapcsolatos vizsgálatokat.

8 Summary

Blood transfusion can be a life-saving intervention, which is why it has received significant attention in veterinary medicine over the past 60 years. Veterinary medicine adopted its foundations from human medicine and, thanks to numerous scientific studies, has reached a point where blood transfusions are now safely performed worldwide by clinics equipped with the necessary tools and expertise. In small animal medicine, one of the most thoroughly explored areas of transfusion is in dogs. In my research, I focused on cats, where, although blood transfusions are safely practiced, several areas remain unexplored—for example, the safe long-term storage of blood. The primary reason for this is that the amount of blood collected during sampling is much smaller than in dogs or humans, making the commonly used transfusion bags unsuitable for storage.

Before initiating a blood transfusion, the first and most critical step is determining the blood type of both the donor and the recipient. This can be done using various methods, but among cats, the RapidVet-H® and QuickTest A+B® quick tests are the most widely used. Once a suitable donor has been identified for the cat requiring a transfusion, blood is collected using an open collection system specifically designed for cats, ensuring aseptic conditions. Since proper storage conditions for feline blood are not yet established, the recipient must receive the collected blood within a few hours. Expanding this narrow time frame would be desirable in practice, but there is currently insufficient scientific evidence to ensure safe implementation.

The aim of my thesis was to investigate this area. We collected blood samples from healthy, regularly vaccinated, young European shorthair cats. Blood sampling was performed on three cats at the Small Animal Clinic of the University of Veterinary Medicine on the same day. Ten milliliters of blood were collected from each animal using a closed system and syringes. The collected blood was transferred into 30 mL transfusion bags containing CPDA-1 anticoagulant, ordered from the Medical Instrumentation for Animals (MILA) company. The samples were examined over a 30-day period. Each time, 1 mL of anticoagulated blood was drawn from the transfusion bags, of which 0.1 mL was spread onto blood agar plates, and the remainder was suspended in culture media.

For the first two weeks following the initial sampling, no abnormalities were observed in any of the samples. They were free of bacterial colonies indicative of bacterial growth, and

no macroscopic changes suggesting hemolysis were detected. On the 15th day, hemolysis was observed in all three samples, indicating the lysis of red blood cells. From a microbiological perspective, no abnormalities were detected. By the 21st day, in addition to hemolysis, small colonies had appeared in both the culture media and on the blood agar plates.

Despite the small sample size in my research, the results suggest that further studies on the storage of feline blood should be conducted with a larger population and more detailed laboratory methods.

9 Irodalomjegyzék

- [1] L. Tocci, „Transfusion Medicine in Small Animal Practice”, *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, köt. 40, o. 485–94, máj. 2010, doi: 10.1016/j.cvsm.2010.02.005.
- [2] E. Spada, R. Perego, L. Baggiani, P. Martino, és D. Proverbio, „Hematological, biochemical and microbiological evaluation of feline whole blood units collected using an open system and stored for 35 days”, *The Veterinary Journal*, köt. 254, o. 105396, nov. 2019, doi: 10.1016/j.tvjl.2019.105396.
- [3] S. M. COTTER, „History of Transfusion Medicine”, in *Comparative Transfusion Medicine*, köt. 36, S. M. Cotter, Szerk., in *Advances in Veterinary Medicine*, vol. 36, Academic Press, 1991, o. 1–8. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-039236-0.50006-0>.
- [4] A. N. Kaadan és M. Angrini, „Blood Transfusion in History”, *JISHIM*, o. 62, 2009.
- [5] S. Taylor és mtsai., „2021 ISFM Consensus Guidelines on the Collection and Administration of Blood and Blood Products in Cats”, *Journal of feline medicine and surgery*, köt. 23, o. 410–432, máj. 2021, doi: 10.1177/1098612X211007071.
- [6] M. Di Tommaso, A. Miglio, P. Crisi, A. Boari, M. Antognoni, és A. Luciani, „Frequency of Blood Types A, B and AB in a Population of Non-Pedigree Domestic Cats from Central Italy”, okt. 2020, doi: 10.3390/ani10101937.
- [7] C. M. Knottenbelt, D. D. Addie, M. J. Day, és A. J. Mackin, „Determination of the prevalence of feline blood types in the UK”, *Journal of Small Animal Practice*, köt. 40, sz. 3, o. 115–118, 1999, doi: <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.1999.tb03051.x>.
- [8] Y. Forcada, J. Guitian, és G. Gibson, „Frequencies of feline blood types at a referral hospital in the south east of England”, *Journal of Small Animal Practice*, köt. 48, sz. 10, o. 570–573, 2007.
- [9] D. A. Gunn-Moore, K. E. Simpson, és M. J. Day, „Blood types in Bengal cats in the UK”, *Journal of Feline Medicine & Surgery*, köt. 11, sz. 10, o. 826–828, 2009.
- [10] A. Jensen, A. Olesen, és J. Arnbjerg, „Distribution of feline blood types detected in the Copenhagen area of Denmark”, *Acta Veterinaria Scandinavica*, köt. 35, sz. 2, o. 121, 1994.
- [11] R. Malik és mtsai., „The prevalence of feline A/B blood types in the Sydney region”, *Australian veterinary journal*, köt. 83, sz. 1–2, o. 38–44, 2005.
- [12] R. Cattin, „Distribution of blood types in a sample of 245 New Zealand non-purebred cats”, *New Zealand veterinary journal*, köt. 64, sz. 3, o. 154–157, 2016.
- [13] A. Nectoux, M. Guidetti, A. Barthélemy, C. Pouzot-Nevoret, G. L. Hoareau, és I. Goy-Thollot, „Assessment of risks of feline mismatched transfusion and neonatal isoerythrolysis in the Lyon (France) area”, *Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports*, köt. 5, sz. 2, o. 2055116919863175, 2019.
- [14] E. Spada és mtsai., „Prevalence of blood types and alloantibodies of the AB blood group system in non-pedigree cats from northern (Lombardy) and southern (Sicily) Italy”, *Animals*, köt. 10, sz. 7, o. 1129, 2020.
- [15] D. Proverbio, E. Spada, R. Perego, A. Della Pepa, G. Bagnagatti De Giorgi, és L. Baggiani, „Assessment of blood types of Ragdoll cats for transfusion purposes”, *Veterinary clinical pathology*, köt. 42, sz. 2, o. 157–162, 2013.
- [16] K. Vörös, *Állatorvosi belgyógyászat*, 1. kiad., köt. 1. Budapest: Magyar Állatorvosi Kamara, 2019.
- [17] M. Seth, K. Jackson, és U. Giger, „Comparison of five blood-typing methods for the feline AB blood group system”, *American journal of veterinary research*, köt. 72, o. 203–9, febr. 2011, doi: 10.2460/ajvr.72.2.203.

- [18] N. Weinstein, M.-C. Blais, K. Harris, D. Oakley, L. Aronson, és U. Giger, „A Newly Recognized Blood Group in Domestic Shorthair Cats: The Mik Red Cell Antigen”, *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, köt. 21, o. 287–92, márc. 2007, doi: 10.1892/0891-6640(2007)21[287:ANRBGI]2.0.CO;2.
- [19] L. Vap és mtsai., „ASVCP quality assurance guidelines: Control of preanalytical and analytical factors for hematology for mammalian and nonmammalian species, hemostasis, and crossmatching in veterinary laboratories”, *Veterinary clinical pathology / American Society for Veterinary Clinical Pathology*, köt. 41, o. 8–17, márc. 2012, doi: 10.1111/j.1939-165X.2012.00413.x.
- [20] B. Safrany és S. Adamantos, „Is a cross-match necessary before a cat’s first blood transfusion?”, *Veterinary Evidence*, köt. 5, máj. 2020, doi: 10.18849/ve.v5i2.306.
- [21] E. Maniaki, S. Tasker, és C. Maunder, „Feline Blood Types and Blood Transfusions Part I: Introduction and Donor Selection”, márc. 2019.
- [22] C. Knottenbelt és A. Mackin, „Blood transfusions in the dog and cat Part 2: Indications and safe administration”, *In Practice*, köt. 20, ápr. 1998, doi: 10.1136/inpract.20.4.191.
- [23] Rafael Obrador 1, Sarah Musulin, Bernie Hansen, „Red blood cell storage lesion”, 0 2014, doi: 10.1111/vec.12252.
- [24] R. Rodrigues, C. Kayano, V. Santos, L. Moroz, D. Fantoni, és A. Ambrósio, „Evaluation of hematologic, biochemical, and blood gas variables in stored canine packed red blood cells, and the impact of storage time on blood recipients”, *Veterinary Clinical Pathology*, köt. 49, jún. 2020, doi: 10.1111/vcp.12865.
- [25] B. Kohn és C. Weingart, „Feline blood typing and transfusion-a practical approach.”, 2006.
- [26] E. B. Davidow és mtsai., „Association of Veterinary Hematology and Transfusion Medicine (AVHTM) Transfusion Reaction Small Animal Consensus Statement (TRACS). Part 1: Definitions and clinical signs”, *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, köt. 31, sz. 2, o. 141–166, 2021, doi: <https://doi.org/10.1111/vec.13044>.
- [27] A. Peters, D. Stein, és A. Vlaar, „Antibody-mediated transfusion-related acute lung injury; from discovery to prevention”, *British journal of haematology*, köt. 170, ápr. 2015, doi: 10.1111/bjh.13459.
- [28] A. Koenig, C. Maglaras, és U. Giger, „Acute hemolytic reaction due to A-B mismatched transfusion in a cat with transient AB blood type”, *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, köt. 30, márc. 2020, doi: 10.1111/vec.12937.
- [29] T. Weingram, „Xenotransfusion of Canine Blood to a Cat”, *Israel Journal of Veterinary Medicine*, köt. 69, márc. 2014.
- [30] A. Le Gal, E. K. Thomas, és K. R. Humm, „Xenotransfusion of canine blood to cats: a review of 49 cases and their outcome”, *Journal of Small Animal Practice*, köt. 61, sz. 3, o. 156–162, 2020, doi: <https://doi.org/10.1111/jsap.13096>.
- [31] M. Binvel, J.-H. Fairbrother, V. Lévesque, és M.-C. Blais, „Comparison of a closed system and an open system for blood collection in feline donors”, *Journal of Feline Medicine and Surgery*, köt. 22, o. 1098612X2090717, márc. 2020, doi: 10.1177/1098612X20907171.
- [32] K. Pavenski, E. Saidenberg, M. Lavoie, M. Tokessy, és D. R. Branch, „Red Blood Cell Storage Lesions and Related Transfusion Issues: A Canadian Blood Services Research and Development Symposium”, *Transfusion Medicine Reviews*, köt. 26, sz. 1, o. 68–84, 2012, doi: <https://doi.org/10.1016/j.tmr.2011.07.003>.

- [33] J. R. Hess, „Red cell storage”, *Journal of proteomics*, köt. 73, sz. 3, o. 368–373, 2010.
- [34] B. Gleiss, V. Gogvadze, S. Orrenius, és B. Fadeel, „Fas-triggered phosphatidylserine exposure is modulated by intracellular ATP”, *FEBS letters*, köt. 519, sz. 1–3, o. 153–158, 2002.
- [35] A. Dr. Szilágyi, „Állatorvosi transzfúziós ismeretek”, HemoVet. [Online]. Elérhető: <https://ebugatta.hu/egeszseg/allatorvosi-verellato-ismerteto>
- [36] R. Kumar, „Blood transfusion in veterinary medicine”, *Hematol Transfus Int J*, köt. 4, sz. 4, o. 116–122, 2017.
- [37] HemoVET, „Véradó program - donorok”. [Online]. Elérhető: <https://www.allatorvosilabor.hu/verbank>
- [38] E. Davidow és mtsai., „Association of Veterinary Hematology and Transfusion Medicine (AVHTM) Transfusion Reaction Small Animal Consensus Statement (TRACS) Part 2: Prevention and monitoring”, *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, köt. 31, márc. 2021, doi: 10.1111/vec.13045.
- [39] A. Gary, H. Richmond, S. Tasker, T. Hackett, és M. Lappin, „Survival of *Mycoplasma haemofelis* and »Candidatus *Mycoplasma haemominutum*« in blood of cats used for transfusions”, *Journal of feline medicine and surgery*, köt. 8, o. 321–6, nov. 2006, doi: 10.1016/j.jfms.2006.04.005.
- [40] M. Silva és mtsai., „Bartonella henselae transmission by blood transfusion in mice”, *Transfusion*, köt. 56, márc. 2016, doi: 10.1111/trf.13545.
- [41] M. G. Pennisi és mtsai., „BLOOD TRANSFUSION IN CATS ABCD guidelines for minimising risks of infectious iatrogenic complications”, *Journal of feline medicine and surgery*, köt. 17, o. 588–93, júl. 2015, doi: 10.1177/1098612X15588449.
- [42] H. Ae, L. M. Drusin, és G. Ms, „Serratia marcescens contamination of feline whole blood in a hospital blood bank.”, *Journal of the American Veterinary Medical Association*, köt. 210 6, o. 794–8, 1997.
- [43] 40/2013. (II. 14.) Korm. rendelet az állatkísérletekről. [Online]. Elérhető: <https://net.jogtar.hu/jogszabaly?docid=a1300040.kor>
- [44] World Health Organization, *WHO guidelines on drawing blood: best practices in phlebotomy*. 2010. [Online]. Elérhető: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241599221>
- [45] T. Mothershaw, M. O’Leary, S. Crampton, és C. Harvey-Stevenson, *Best Practice for Collection, Testing and Understanding of Blood Results*, 2018. [Online]. Elérhető: <https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?pId=22915&id=8896575>
- [46] Karen M Roach, RVT, VTS, *Phlebotomy: Beyond the cephalic*. [Online]. Elérhető: <http://www.apvc.ca/notes/2023Techs/Roach-2-Phlebotomy-BeyondtheCephalic.pdf>
- [47] 1998. évi XXVIII. törvény az állatok védelméről és kíméletéről. [Online]. Elérhető: <https://net.jogtar.hu/jogszabaly?docid=99800028.tv>

10 Köszönetnyilvánítás

Dr. Becker Zsolt témavezetőmnek hozzáértő, szakmai segítségéért, a szakdolgozatom során adott hasznos ötleteiért és tanácsaiért. Dr. Adorján Andrásnak a kutatási fázisban végzett laboratóriumi munkájáért. Kántor Yvette-nek a stiláris és nyelvhelyességi lektorálásért, valamint Kovács Gergelynek és Családomnak a szakdolgozatom elkészítése során tanúsított folyamatos támogatásért.



Diplomamunka konzultációs lap állatorvostan hallgatók részére

A hallgató neve: Király Anna

Neptun-kódja: 3U3NXL

A témavezető neve és beosztása: Dr. Becker Zsolt, egyetemi tanársegéd

Tanszék: Belgyógyászati Tanszék

A diplomadolgozat címe: Macskavér tárolása, hosszútávú
..... felhasználhatósága

Konzultáció - 1. félév

	Időpont			Téma/Témavezető megjegyzése	Témavezető aláírása
	Év	Hó	Nap		
1.	2024	03	07	A dolgozat felépítésének átbeszélése	
2.	2024	04	18	Szakirodalmi áttekintés átbeszélése	
3.	2024	05	30	Vérvételi nap megtervezése	
4.	2024	06	05	Laboratóriumi munka átbeszélése	
5.	2024	06	19	Előrehaladás összegzése	

Érdemjegy az első félév végén: 5

Konzultáció - 2. félév

	Időpont			Téma/Témavezető megjegyzése	Témavezető aláírása
	Év	Hó	Nap		
1.	2024	09	19	Eredmények átbeszélése, véglegesítése	
2.	2024	09	25	Összefoglaló elkészítése	
3.	2024	11	13	Summary és abstract elkészítése	
4.	2024	11	21	Formai követelmények áttekintése	
5.	2024	11	28	Véglegesítés	

Érdemjegy a második félév végén: 5

A nyomtatvány a hallgatói és a tanszéki ügyintézői aláírás, valamint az átvétel dátuma nélkül nem érvényes. A konzultációs lap a diplomamunka mellékletét képezi!



A diplomamunka - a szakra vonatkozóan - a Tanulmányi- és Vizsgaszabályzatban, valamint az Útmutató a szakdolgozatok/diplomamunkák készítéséhez című mellékletében leírt követelményeknek megfelel.

A diplomamunka befogadható, védésre alkalmasnak találtam.

Hallgató aláírása:

.....

témavezető aláírása

Tanszéki előadó aláírása: Átvétel dátuma: 2024. 11. 28.