Diagnose van immuungemedieerde hemolytische anemie (IMHA) bij honden en katten.

Immuungemedieerde hemolytische anemie (IMHA) is een aandoening die regelmatig gezien wordt als oorzaak van ernstige anemie bij honden en katten. De ziekte is echter soms moeilijk te diagnosticeren aangezien geen enkele diagnostische test 100% betrouwbaar is. Om deze reden is het dan ook zeer belangrijk om de diagnose te baseren op de klinische bevindingen in combinatie met het routine bloedonderzoek en specifieke diagnostische labo testen. In deze nieuwsbrief willen we jullie aan de hand van een praktisch algoritme, tesamen met uitleg over de beschikbare diagnostische testen de tools geven om deze ziekte gemakkelijker te herkennen/diagnosticeren.

Routine bloedonderzoek en IMHA

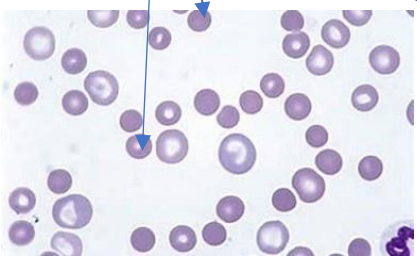
- Meestal matige tot uitgesproken anemie
- De anemie is bij de meeste honden met IMHA regeneratief (het beenmerg heeft wel 3-5 dagen nodig om te reageren, dus in het beginstadium is de anemie vaak niet regeneratief)
- De anemie is bij ongeveer 55% van de katten met IMHA niet regeneratief
- Leucocytose met neutrofilie en linksverschuiving is vaak aanwezig
- Monocytose is aanwezig bij 50% van honden met IMHA
- Een uitgesproken lymfocytose wordt vaak gezien bij katten met IMHA
- Thrombocytopenie is vaak aanwezig
- Hyperglobulinemie wordt vaak gezien bij katten met IMHA

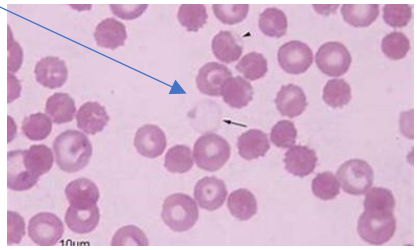
Indicaties voor hemolyse (onderzoek ook steeds de urine!)

- In het geval van EXTRAvasculaire hemolyse zien we typisch hyperbilirubinemie en bilirubinuria
- In het geval van INTRAvasculaire hemolyse is het bilirubine typisch NIET gestegen, maar zien we wel vaak hemoglobinemie en hemoglobinurie
- De aanwezigheid van ghost cellen (zie hieronder) op het bloeduitstrijkje

Specifieke diagnostische testen die wijzen op immuungemedieerde destructive van rode bloedcellen

1. <u>Bloeduitstrijkje</u>
    - Sferocyten: kleine, ronde rode bloedcellen zonder centrale opklaring. Wanneer in grote hoeveelheden aanwezig wijst dit op IMHA. OPGELET: bij katten is het heel moeilijk om sferocyten te identificeren en sferocyten zijn NIET aanwezig in het geval van intravasculaire hemolyse! Sferocyten worden gezien in 67-94% van honden met IMHA
    - Ghost cellen: wijzen op intravasculaire hemolyse





2. <u>Osmotische fragiliteitstest (of osmotische resistentie test)</u>
    - Een eenvoudig testje om na te gaan of sferocyten aanwezig zijn (goed voor katten en/of indien je weinig ervaring hebt met het bekijken van bloeduitstrijkjes)

- Protocol osmotische fragiliteitstest:

Materialen

- ✓ 4 propere lege buisjes (voor in centrifuge)
- ✓ 5 ml spuit
- ✓ Gedestilleerd water en NaCl 0.9%
- ✓ Pipet
- ✓ Vers EDTA/heparine bloed van gezonde hond/kat (controle)
- ✓ Vers EDTA/heparine bloed van patiënt

Methode

Buisje #	NaCl 0.9%	Gedestilleerd water	Bloed gezonde **HOND**	Bloed zieke **HOND**
1	5 ml	-	5 druppels	
2	5 ml	-		5 druppels
3	3 ml	2 ml	5 druppels	
4	3 ml	2 ml		5 druppels

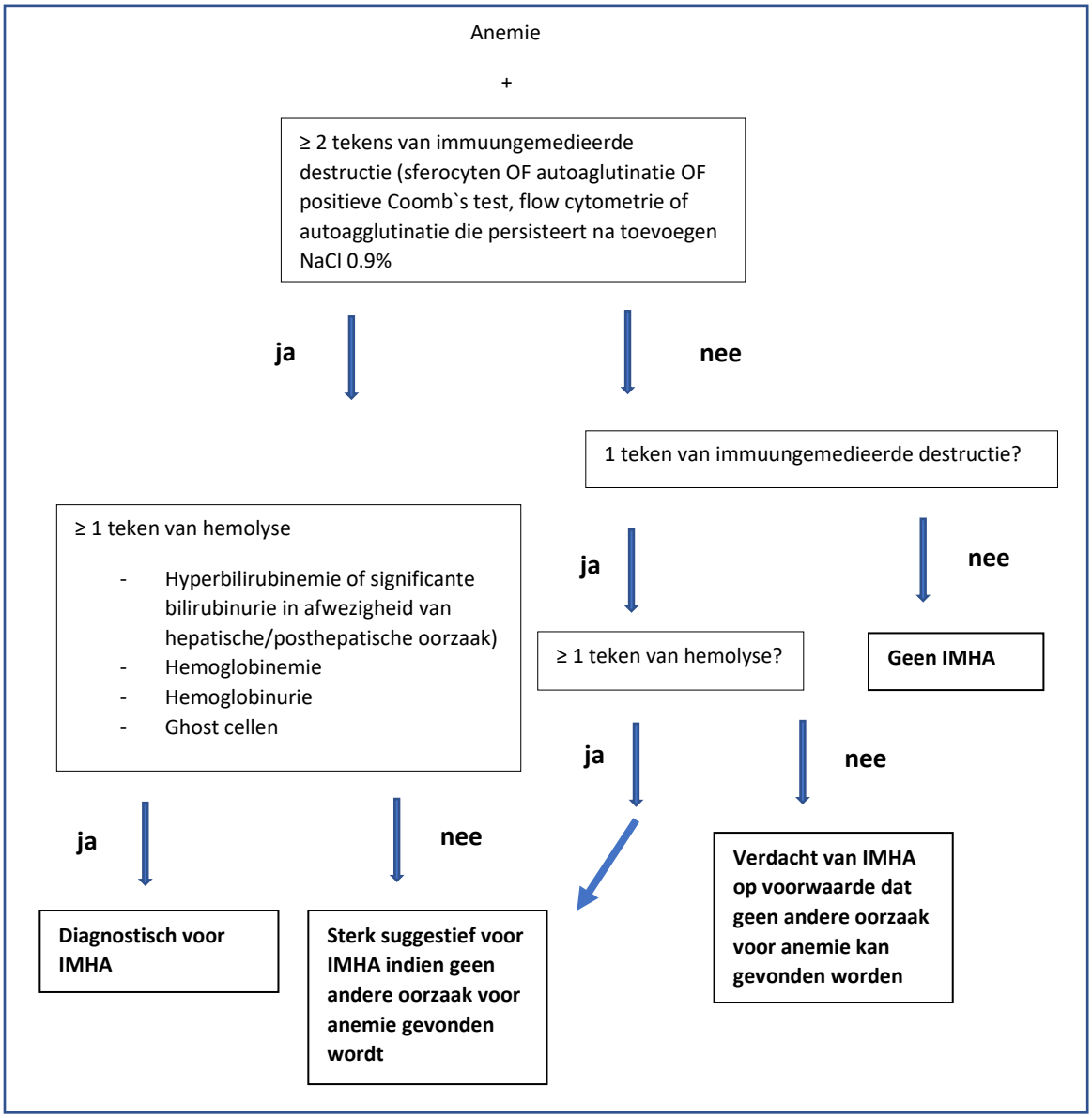
Buisje #	NaCl 0.9%	Gedestilleerd water	Bloed gezonde **KAT**	Bloed zieke **KAT**
1	5 ml	-	5 druppels	
2	5 ml	-		5 druppels
3	3 ml	2 ml	5 druppels	
4	3 ml	2 ml		5 druppels

- ✓ Mix bloed met oplossing
- ✓ Laat 5 minuten rusten bij kamertemperatuur
- ✓ Centrifugeer 5 minuten aan 2431xg
- ✓ Resultaat:
  - Buisje 1 en 3 (controle) moeten een helder supernatans hebben
  - Buisje 2 kan milde verkleuring (rood) van supernatans vertonen indien erge hemolyse aanwezig
  - Wanneer het supernatans van buisje 4 duidelijk donkerder rood gekleurd is dan buisje 2 spreek je van een positieve test

3. Autoagglutinatie test
    - Aanwezigheid van `druiventros` clusters van rode bloedcellen is indicatief voor IMHA
    - Macroscopische autoagglutinatie = als je het ziet met het blote oog
    - Microscopische autoagglutinatie = als je het ziet onder de microscoop (steeds controleren)
    - Ook steeds nagaan of autoagglutinatie persisteert na verdunning van bloed (1 druppel) met NaCl 0.9% (9 druppels) → sensitiviteit = 67% en specificiteit is 70% (dus vals positieve en vals negatieve resultaten komen vaak voor)

4. Coomb`s test of directe antiglobuline test en flow cytometrie
    - Deze test heeft een hoge specificiteit (95-100%), dus indien positief is dit sterk suggestief voor IMHA
    - Net als de andere testen maakt de test geen onderscheid tussen primaire (niet geassocieerde) en secundaire (geassocieerde) IMHA
    - De sensitiviteit van deze test is 82% voor katten en 62-81% voor honden, dus een negatieve Coomb`s test sluit IMHA NIET uit

Algoritme voor diagnose van IMHA (overgenomen uit de ACVIM consensus guidelines over de `diagnosis of immune-mediated hemolytic anemia in dogs and cats`)



Referenties

- Garden OA et al. ACVIM consensus statement on the diagnosis of immune mediated hemolytic anemia in dogs and cats. J Vet Intern Med 2018;33:313-334
- Paes G et al. The use of the rapid osmotic fragility test as an additional test to diagnose canine immune-mediated haemolytic anaemia. Acta Vet Scandin 2013;55:74
- Kohn B et al. Primary immune-mediated hemolytic anemia in 19 cats: diagnosis, therapy and outcome (1998-2004). J Vet Intern Med 2006:20;159-166
- Unity J. Effect of Dilution on Specificity of Saline Agglutination Tests for Diagnosis of Immune-Mediated Hemolytic Anemia. Research abstract presented at ACVIM on demand online forum 2020