

V. Zusammenfassung

Für die Diagnostik von Hämostasestörungen der Katze werden die beim Menschen allgemein üblichen Testverfahren angewendet. Speziell für die Katze konzipierte Testmethoden fehlen. Zur Erarbeitung verlässlicher Gerinnungsanalysen für die Katze wurden 30 klinisch gesunde Tiere hinsichtlich der verschiedenen Abschnitte des Gerinnungssystems untersucht. Von den besonders häufig angewandten Verfahren zur Gerinnungsdiagnostik (Thrombozytenzählung, aktivierte partielle Thromboplastinzeit und Prothrombinzeit) wurden verschiedene Methoden überprüft und teilweise durch Modifikation an die physiologischen Besonderheiten der Katze angepaßt.

Um genaue Ergebnisse zu erhalten, ist ein korrektes Verdünnungsverhältnis von Citratlösung und Blut einzuhalten. Eine Unter- oder Überfüllung ($\pm 0,3$ ml Blut) der Probengefäße hat einen geringen Einfluß auf das Ergebnis der Gerinnungsuntersuchung.

Die Gerinnungsanalyse muß innerhalb von 2 Stunden vorgenommen werden. Nach 24 Stunden beträgt die Aktivität der Prothrombinzeit nur noch 40% und die der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit 75%.

Die automatisierte Thrombozytenzählung mit einem Zellcounter ist für Katzenblut nicht geeignet. Zuverlässig kann sie dagegen visuell mit den Verdünnungslösungen zur Thrombozytenzählung (Thrombo Plus^R und Plaxan) erfolgen. Der bei 30 klinisch gesunden Katzen ermittelte Referenzbereich beträgt 145 000 - 569 000 Thrombozyten/ μ l.

Bei der Untersuchung des Aggregationsverhaltens von Thrombozyten der Katze fällt auf, daß sie auf Induktoren, wie Kollagen, ADP und Thrombin sehr sensibel reagieren. Die durch Kollagen induzierte Aggregation setzt sofort ein, ohne daß ein shape change deutlich wird.

Die aus unverdünntem Katzenplasma aufgestellte Prothrombinzeitkurve verläuft sehr steil. Leichte Abweichungen in der Gerinnungsaktivität sind daher nicht feststellbar. Die Referenzbereiche von Hepato Quick und PTZ (Calcium-Thromboplastin) unterscheiden sich deutlich.

Eine katzenspezifische Modifikation der Prothrombinzeit ist mit einer Verdünnung des Plasmas auf 1:3 oder 1:4 möglich, dadurch wird ein flacherer Kurvenverlauf erreicht, der eine bessere Ablesbarkeit der Gerinnungszeit erlaubt.

Die Ergebnisse der geprüften Methode zur Messung der aktivierten partiellen

Thromboplastinzeit unterscheiden sich ebenfalls. Die Meßergebnisse mit PTT-Reagenz (11 - 14 Sek.) liegen unter denen mit Pathromtin^R gemessenen Zeiten (14 - 20 Sek.). Eine Modifikation der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit durch Plasmaverdünnung erhöht die Sensitivität dieser Methode für die Katze. Eine Mischung von Plasmaprobe zu Gerinnungspuffer (DBA) im Verhältnis 2:3 hat sich bewährt.

Der dritte Globaltest zur Diagnostik plasmatischer Blutgerinnungsstörungen, die Thrombinzeit, kann in der konfektionellen Weise auch bei der Katze angewendet werden. Der ermittelte Referenzbereich liegt bei 14 - 18,5 Sek.

Auch mit der für die Katze geeigneten Fibrinogenmessung nach CLAUSS wurde ein Referenzbereich erstellt, der für Fibrinogen zwischen 54 - 282 mg/dl liegt.

Zur Untersuchung von Hämostasestörungen bei an mit dem Felinen Immundefizienz-Virus erkrankten Katzen wurde außerdem Antithrombin III als wichtiger Indikator einer Verbrauchskoagulopathie auf seine Anwendbarkeit bei der Katze untersucht. Bei 14 klinisch gesunden Katzen wurde ein Mittelwert von 87,9% und eine Standardabweichung von 29,2 ermittelt.

Bei nur 2 von 40 FIV-infizierten Katzen lag klinisch eine hämorrhagische Diathese vor (Hämatemesis, Milzhämatom). Unabhängig von sichtbaren Blutungen fanden sich folgende labordiagnostisch erkennbare Störungen der Hämostase:

- a. Die Mittelwerte von Hepato Quick und PTZ lagen im Vergleich von gesunden und FIV-infizierten Katzen sehr nahe beieinander. In den modifizierten Testansätzen der PTZ zeigten sich jedoch deutlich kürzere Gerinnungszeiten als bei gesunden Katzen.
- b. Die aktivierte partielle Thromboplastinzeit war mit den 3 geprüften Methoden (Pathromtin^R und 2:3-Modifikation, PTT-Reagenz) statistisch nachweisbar gegenüber gesunden Katzen verlängert (Pathromtin^R und 2:3-Modifikation: $p < 0,01$ bzw. $p < 0,001$; PTT-Reagenz: $p < 0,01$). 11 von 40 FIV- und 2 von 8 FIV/FeLV-positiven Katzen waren von dieser Verlängerung der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit betroffen.
- c. Die Thrombinzeit FIV-positiver Katzen war statistisch nachweisbar gegenüber klinisch gesunden Katzen verlängert ($p < 0,001$).
- d. Die Fibrinogenkonzentration war im Mittel bei FIV- und FIV/FeLV-infizierten Katzen gegenüber klinisch gesunden Katzen erhöht.
- e. Die Aktivität von Antithrombin III glich sich nahezu bei gesunden, FIV- und FIV/FeLV-positiven Katzen.

- f. Die Faktor VIII-Aktivität von 4 an FIV erkrankten Katzen lag über das 1,5fache höher als die gesunder Katzen.
- g. Die Faktor XII-Aktivität von 3 Katzen aus einer Gruppe von 20 mit verlängerter aktivierter partieller Thromboplastinzeit bewegte sich in einem Bereich von 20 - 35%.
- h. Die Konzentration von Fibrinogen- und Fibrinospaltprodukten im Serum von 10 FIV-positiven Katzen mit verlängerter aktivierter partieller Thromboplastinzeit lag bei maximal 32 $\mu\text{g/ml}$ (Agglutinationstiter: max. 1:16) im physiologischen Bereich.
- i. Durch die Zugabe von 25% Katzenmischplasma ließ sich die stark verlängerte aktivierte partielle Thromboplastinzeit von 2 FIV-positiven Katzen im Rahmen eines Plasmaaustausches wesentlich verkürzen. Eine durch Hemmkörper induzierte Verlängerung der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit erscheint damit wenig wahrscheinlich.

Insgesamt traten damit bei 23 FIV-seropositiven Katzen Hämostasestörungen auf, die sich durch isolierte (n=20) oder auch kombinierte (n=3) Abweichungen der Gerinnungsanalysen erkennen ließen. Die besonders auffällige Störung innerhalb des intrinsischen Gerinnungssystems konnte mit den zur Verfügung stehenden Analysemethoden nicht genau eingegrenzt werden.

Zehn an FIV bzw. FIV/FeLV erkrankte Katzen wurden mit einem Hemmer der Reversen Transkriptase, Zidovudin (Azidothymidin, AZT, Retrovir^R) in einer Dosierung von 5 mg/kg KGW peroral 3x täglich behandelt. Vor Beginn der Applikation des Medikaments, 2 und 4 Wochen sowie 3 Monate nach Beginn der Behandlung wurden Blutbild und Gerinnungsuntersuchungen angefertigt. Bei 6 von 7 FIV-erkrankten Katzen stellte sich unter der Zidovudin-Behandlung eine Besserung der klinischen Beschwerden ein. Eine Katze sprach auf die Therapie nicht an. Die FIV-positiven Katzen zeigten nach 4 Wochen eine deutliche Abnahme der Erythrozytenzahl, die auch noch nach 3 Monaten bestehen blieb ($p < 0,05$). Der Hämatokritwert und die Hämoglobinkonzentration verminderten sich weniger deutlich. Das plasmatische und thrombozytenabhängige Hämostasesystem wurde durch das Medikament nicht beeinflusst

Bei 2 von 3 FIV/FeLV-seropositiven Katzen wurden starke Nebenwirkungen beobachtet, bei der anderen Katze blieb die Behandlung erfolglos.

Stefan Hart (1991):

Diagnosis of feline plasmatic and platelet-dependent coagulation disorders by example of the FIV infection and its treatment with Zidovudine

VI. Summary

Feline disorders of hemostasis are diagnosed with tests that are widely used in human medicine. Test methods developed especially for cats do not exist. In the present study therefore the different steps in the coagulation cascade were investigated in a total of 30 clinically healthy cats to establish reliable methods for evaluation of feline hemostasis. Additionally various particularly common tests (platelet count, activated partial thromboplastin time and prothrombin time) were examined and partially adapted to feline physiology by modification.

A correct dilution ratio of citrate solution and full blood is important with regard to precise results. Over- or underfilling (± 0.3 ml blood) of sample containers has only a slight effect on the results of the investigated test methods.

Coagulation tests must be performed within 2 hours. After 24 hours, activity of prothrombin time has already decreased by 60%, activated partial thromboplastin time is decreased by 25% after this time.

Platelet counting with a cell counter (Sysmex Microcellcounter F-800, Sysmex Diagnostica AG) is not suitable for feline blood. A reliable platelet count is, however, possible by use of a hemacytometer using special diluents (Thrombo Plus^R and Plaxan). Reference values as determined in the 30 cats of this study were between 145,000 and 569,000 thrombocytes/ μ l.

The aggregation of feline platelets is characterized by a very sensitive reaction to aggregating agents such as collagen, ADP and thrombin. Collagen-mediated platelet aggregation in cats is sudden without a clear shape change.

The prothrombin time curve for feline undiluted plasma is very steep. Slight deviations of coagulation activity are thus not detectable. The reference values for Hepato Quick and PTZ (calcium-thromboplastin) show a considerable variation.

Feline-specific modification of prothrombin time is possible with a plasma dilution ratio of 1:3 or 1:4 respectively, as this flattens the curve and enables a better

readability of clotting time.

Results obtained with the investigated method for determination of activated partial thromboplastin time are also variable. Values found when using PTT-reagent (11-12 sec) are lower than those measured with Pathromtin^R (14-20 sec). Dilution of feline plasma with DBA-buffer at a ratio of 2:3 slightly increases the sensitivity of this method.

The third global coagulation test, thrombin clotting time, can be used for feline patients without modification. Reference values are between 14 and 18.5 sec.

Reference values for determination of fibrinogen with the CLAUSS method are between 54 and 282 mg/dl. This test is also suitable for cats.

Antithrombin III as an important indicator of DIC was also investigated with regard to its suitability for diagnosis in feline patients suffering from FIV. A mean of 87.9% and a standard deviation of 29.2 were determined in 14 clinically healthy cats.

Only 2 of 40 cats with FIV infection displayed clinical signs of a hemorrhagic diathesis (hematemesis, splenic hematoma). Independent from the clinical signs of a disturbed hemostasis, the following laboratory findings were recorded:

- a. Mean values for Hepato Quick and PTZ determined in clinically healthy cats and in cats with FIV infection were very similar. Cats with FIV infection, however, displayed markedly shorter times than healthy cats when using the modified test methods.
- b. In cats with FIV infection, activated partial thromboplastin time measured with all 3 methods (Pathromtin^R and 2:3 modification, PTT-reagent) was longer as compared to healthy cats. This difference was statistically significant (Pathromtin^R and 2:3 modification: $p < 0.01$ and $p < 0.001$; PTT-reagent: $p < 0.01$). The prolongation was seen in 11 of 40 cats with FIV infection and in 2 of 8 cats with FIV/FeLV infection.
- c. In comparison to healthy cats, thrombin time was significantly longer in cats with FIV infection ($p < 0.001$).
- d. The mean fibrinogen concentration of cats with FIV and in animals with FIV/FeLV infection was increased compared to their healthy counterparts.
- e. Activity of antithrombin III was nearly similar in both healthy and cats with FIV and FIV/FeLV infection.
- f. Factor VIII activity of 4 cats with FIV infection was 1.5 times higher than that of healthy cats.

- g. Factor XII activity of 3 cats from a group of 20 cats with a prolonged activated partial thromboplastin time was between 20-35%.
- h. Concentration of fibrinogen and fibrin split products in serum of 10 FIV-positive cats with a prolonged activated partial thromboplastin time was 32 $\mu\text{g/ml}$ (aggregation titer 1:16) and is hence within the physiologic range.
- i. The seriously prolonged activated partial thromboplastin time seen in 2 FIV-positive cats could be shortened considerably by plasma exchange using 25% feline pool plasma. Thus, a prolongation of activated partial thromboplastin time which is suspected to be induced by unclassified inhibitors, is unlikely.

Disorders of coagulation were seen in a total of 23 FIV-positive cats which were characterized by isolated (n=20) or combined (n=3) alterations of coagulation analyses. A clear definition of the especially prominent disorder within the intrinsic system was not possible with the available analytical methods.

10 cats with FIV and FIV/FeLV infection, respectively, were treated with an inhibitor of the enzyme reverse transcriptase, Zidovudine (Azidothymidine, AZT, Retrovir^R), at a dosage of 5 mg/kg B.W. TID. Blood counts and coagulation tests were performed before treatment, and after 2 and 4 weeks as well as after 3 months under therapy. Six of 7 cats with FIV infection showed clinical improvement. One cat did not respond to therapy. 4 weeks after starting Zidovudine treatment there was a significant decrease in the erythrocyte number, which lasts 3 months. PCV and hemoglobin concentration decreased as well. Zidovudine did not influence the hemostatic system.

In 2 of 3 cats with FIV/FeLV infection, serious side effects were observed; one cat did not respond to treatment.