

The first case of feline babesiosis in Poland

Adaszek Ł.¹, Łukaszewska J.², Winiarczyk S.¹, Kunkel M.³, Department of Epizootiology and Clinic of Infectious Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Life Sciences in Lublin¹, Department of Animal Physiology, Faculty of Veterinary Medicine, Wrocław University of Environmental and Life Sciences², Veterinary Surgery "Max-Vet" Toruń³

Babesiosis is a disease caused by the protozoan *Babesia* spp. and transmitted by blood sucking ticks. It became extremely often in dogs in Poland. The aim of this paper was to present a clinical course of babesiosis in 10 years old queen, presented with the symptoms of weakness, anemia, fever and hematuria. Hematological examination revealed anemia, decreased hematocrit and thrombocytopenia. In blood smears a small inclusion bodies inside erythrocytes, resembling *Babesia canis* merozoites, were seen. The PCR has demonstrated genetic material homologous in 87% with *Babesia felis* and in 95% with *Babesia canis*. Then the treatment with imidocarb dipropionate (5 mg/kg b.w.), was introduced. Four injections with 14 days intervals resulted in a full recovery. The results of laboratory examinations, supported by the efficacy of treatment have confirmed the infection with *Babesia* spp. in that female cat.

Keywords: *Babesia* spp., cat, imidocarb

Babeszjoza (piroplazmoza) jest ciężką, transmisyjną chorobą zwierząt, przebiegającą z objawami niedokrwistości hemolitycznej. Wywołwana jest przez pierwotniaki z rodziny Babesidae, których głównym wektorem są kleszcze. Zachorowania na babeszjozę pojawiają się wiosną oraz jesienią i związane są z sezonową aktywnością kleszczy. Do zarażenia zwierząt dochodzi podczas inwazji tymi pajęczakami. Przypadki babeszjozy notuje się na terenach endemicznego występowania pierwotniaków i ich wektorów. Najczęściej są to rejony położone w pobliżu skupisk leśnych, niemniej jednak coraz częściej stwierdza się obecność tych pasożytów w organizmach kleszczy odławianych na terenach miejskich (1). W trakcie pobierania krwi przez kleszcze do organizmu zwierząt zostają wprowadzone sporozycy, które przekształcają się w trofozoity, które w krwinkach czerwonych ulegają podziałom na merozoity. Pojawiająca się w przebiegu choroby niedokrwistość jest następstwem hemolizy zewnętrznej i wewnętrznej oraz niszczenia erytrocytów przez pierwotniaki (2, 3).

Objawy babeszjozy są nieswoiste i mogą manifestować się gorączką, osłabieniem, niedokrwistością, żółtaczką, a niekiedy hemoglobinurią. W przebiegu babeszjozy dochodzi do uszkodzenia wątroby i nerek,

Pierwszy przypadek babeszjozy u kota w Polsce

Łukasz Adaszek¹, Janina Łukaszewska², Stanisław Winiarczyk¹, Maciej Kunkel³

z Katedry Epizootologii i Kliniki Chorób Zakaźnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Lublinie¹, Katedry Fizjologii Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej we Wrocławiu i Przychodni Weterynaryjnej przy ul. Norwida we Wrocławiu² oraz Gabinetu Weterynaryjnego „Max-Vet” w Toruniu³

a nieleczone przypadki zarażenia na ogół kończą się śmiertelnie (4, 5).

Poszczególne przedstawiciele rodziny Babesidae mogą atakować różne gatunki zwierząt, powodując wystąpienie objawów chorobowych. Babeszjozę notuje się u gryzoni, koni, bydła, kotów i psów (6, 7, 8, 9, 10). W Polsce, szczególnie w rejonach wschodnich, powszechnie spotykana jest babeszjoza psów wywołwana przez *Babesia canis canis* (6). Mimo że jest ona wydawałoby się chorobą dobrze poznaną, w wielu przypadkach nadal stanowi dla lekarzy weterynarii problem diagnostyczny i terapeutyczny. Dotychczas brak jest krajowych doniesień na temat występowania babeszjozy u kotów. Także europejskie dane piśmiennictwa na ten temat są skąpe (11, 12, 13, 14, 15). Z przekazów ustnych wiadomo, iż choroba u tego gatunku spotykana jest we Włoszech, Hiszpanii, Portugalii, a pojedyncze jej przypadki notowano także w Niemczech (15). Niewątpliwie kontynentem, na którym babeszjoza kotowatych jest najbardziej rozpowszechniona jest Afryka, a zwłaszcza jej południowe obszary (16, 17).

Taksonomia babeszjozy kotów napotyka znaczne trudności wynikające z wielopostaciowości pasożytów izolowanych od tego gatunku zwierząt oraz braku sprecyzowania wektorów pierwotniaków. Pierwotniaki wykazywane w erytrocytach kotów charakteryzuje różna wielkość. W Sudanie opisano je jako *Babesia felis*; nazwy tej używano później jeszcze wielokrotnie, prawdopodobnie także w stosunku do pasożytów *Cytauxzoon felis*, które, mimo że morfologicznie są podobne, nie należą do rodzaju *Babesia*. Z kolei duże pierwotniaki, wyglądem przypominające *B. canis*, wykazano w erytrocytach kotów pochodzących z terenów Hiszpanii, Portugalii oraz Izraela i określono je mianem *Babesia canis* subsp. *presentii* (18).

Celem artykułu jest przedstawienie przebiegu klinicznego babeszjozy u kota, opis metod rozpoznawania oraz postępowania terapeutycznego z chorym zwierzęciem.

Opis przypadku

Badania przeprowadzono na kocicy, rasy europejskiej, w wieku 10 lat, o masie ciała

4 kg, zgłoszonej do kliniki weterynaryjnej w listopadzie 2007 r. z objawami silnego osłabienia, braku apetytu, zażółcenia błon śluzowych, hemoglobinurii, gorączki oraz średniego stopnia odwodnienia (ok. 6%). W trakcie omacywania zwierzę wykazywało tkliwość okolicy podżeberowej. Kot był poddawany szczepieniom przeciwko chorobom zakaźnym, był zwierzęciem wychodzącym na dwór, żywionym komercyjną karmą. Właściciele zwierzęcia nie odbywali podróży zagranicznych. W trakcie badania klinicznego nie stwierdzono na jego powłokach kleszczy. Od pacjenta pobrano krew do badań hematologicznych, biochemicznych, w celu wykonania szybkich testów immunochromatograficznych oraz do badań molekularnych w kierunku babeszjozy i erlichiozy.

Badania hematologiczne

Wykonywano je w analizatorze Medonic CA 530 Oden. Parametrami ocenianymi w badaniu były: liczba erytrocytów we krwi wyrażona w mln/mm³, wartość hematokrytu wyrażona procentowo, ogólna liczba leukocytów wyrażona w tys./mm³ oraz liczba trombocytów wyrażona w tys./mm³.

Badanie rozmazów krwi

Kroplę krwi pobranej na EDTA nanoszono na odtuszczone szkiełko podstawkowe i wykonywano cienki rozmaz barwiony metodą Giemsy. Preparat po wyschnięciu oglądano w mikroskopie Olympus CH 20, pod okulem o powiększeniu 10x i obiektywem imersyjnym o powiększeniu 100x.

Badania biochemiczne

Badania surowicy krwi wykonano w analizatorze Pointe euro. Parametrami oznaczanymi były: stężenie mocznika wyrażone w mmol/l, stężenie kreatyniny wyrażone w μmol/l, stężenie bilirubiny całkowitej wyrażone w μmol/l, aktywność fosfatazy zasadowej (AP), aminotransferazy alaninowej (ALT) oraz aktywność aminotransferazy asparaginowej (AST) wyrażone w jednostkach międzynarodowych (IU).

Tabela 1. Wyniki badania hematologicznego kota w dniu pierwszego badania i 3 tygodnie po rozpoczęciu leczenia przyczynowego

Wskaźnik	Badanie w dniu zgłoszenia kota do kliniki	Badanie po 3 tygodniach od podania pierwszej dawki imidokarbu
Eryocyty ($10^6/\text{mm}^3$)	4,43	7,68
Hematokryt (%)	19,1	32,2
Leukocyty ($10^3/\text{mm}^3$)	3,9	4,2
Hemoglobina g/dl	6,2	10,4
Trombocyty ($10^3/\text{mm}^3$)	532	620

Badania immunochromatograficzne

Badanie w kierunku białaczki kotów (FeLV), zespołu niedoboru immunologicznego kotów (FIV) oraz zakaźnego zapalenia otrzewnej kotów (FIP) wykonano z zastosowaniem szybkich testów diagnostycznych według procedury podanej przez producenta (BioVeto Test).

Badanie molekularne

Wyizolowane z pełnej krwi DNA poddawano amplifikacji w reakcji PCR dla *Babesia* spp. z użyciem starterów BAB GF 2 i BAB GR 2 zaprojektowanych dla genu 18S RNA pierwotniaków, ograniczających fragment o długości 559 par zasad (19) oraz dla *Ehrlichia* spp. z użyciem starterów EHR 521 i EHR 747 zaprojektowanych dla genu 16S rRNA riketsji o długości 247 par zasad (19). Uzyskane produkty reakcji PCR analizowane były metodą elektroforezy w 1% żelu agarozowym, a następnie poddawane sekwencjonowaniu. Wyniki sekwencjonowania poddawano obróbce w programie komputerowym LaserGene DNA Star i porównywano z sekwencjami izolatów pierwotniaków *Babesia* dostępnymi w banku genów NCIB GeneBank.

Wyniki badań hematologicznych i biochemicznych zebrano w tabelach 1 i 2. Badaniem hematologicznym wykazano niedokrwistość oraz silnego stopnia leukopenię. Mikroskopowa ocena rozmazów krwi pozwoliła na wykazanie w erytrocytach owalnego kształtu tworów, układających się pojedynczo lub parami, wyglądem przypominających trofozoity i merozoity *Babesia canis* (ryc. 1).

Szybkimi testami immunochromatograficznymi wykluczono zakażenie kota wirusem białaczki kotów, wirusem niedoboru immunologicznego kotów oraz wirusem zakaźnego zapalenia otrzewnej kotów. Izolacja DNA z pełnej krwi, a następnie jego amplifikacja z użyciem starterów BAB GF2 i BAB GR2 pozwoliła na uzyskanie w reakcji PCR produktu *Babesia* spp. o wielkości około 560 par zasad (ryc. 2). Nie stwierdzono natomiast obecności we krwi materiału genetycznego *Ehrlichia* spp.

Tabela 2. Wyniki badania biochemicznego

Badany wskaźnik	Wynik
Mocznik (mmol/l)	19,62
Kreatynina ($\mu\text{mol/l}$)	184
Bilirubina całkowita ($\mu\text{mol/l}$)	12,1
Aminotransferaza alaninowa (IU)	111
Aminotransferaza asparaginowa (IU)	56
Transferaza zasadowa (IU)	94

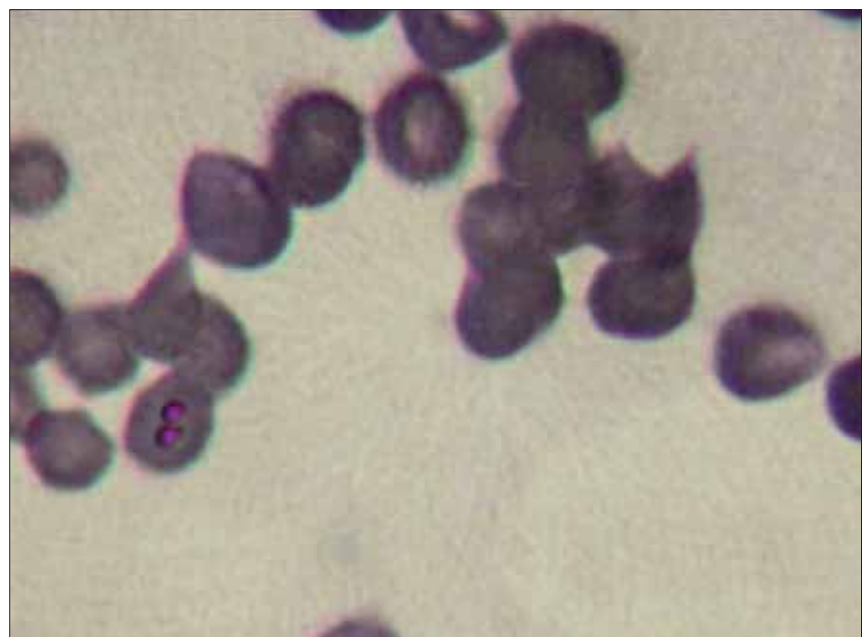
Analiza sekwencji produktu PCR i jej porównanie z sekwencjami fragmentu genu 18S RNA *Babesia canis canis* uzyskanych w badaniach własnych (6) oraz z sekwencją *Babesia felis* dostępną w banku genów GenBank pod nr AY 452706 wykazała podobieństwo rzędu 95% dla *Babesia canis* i 87% dla *Babesia felis*.

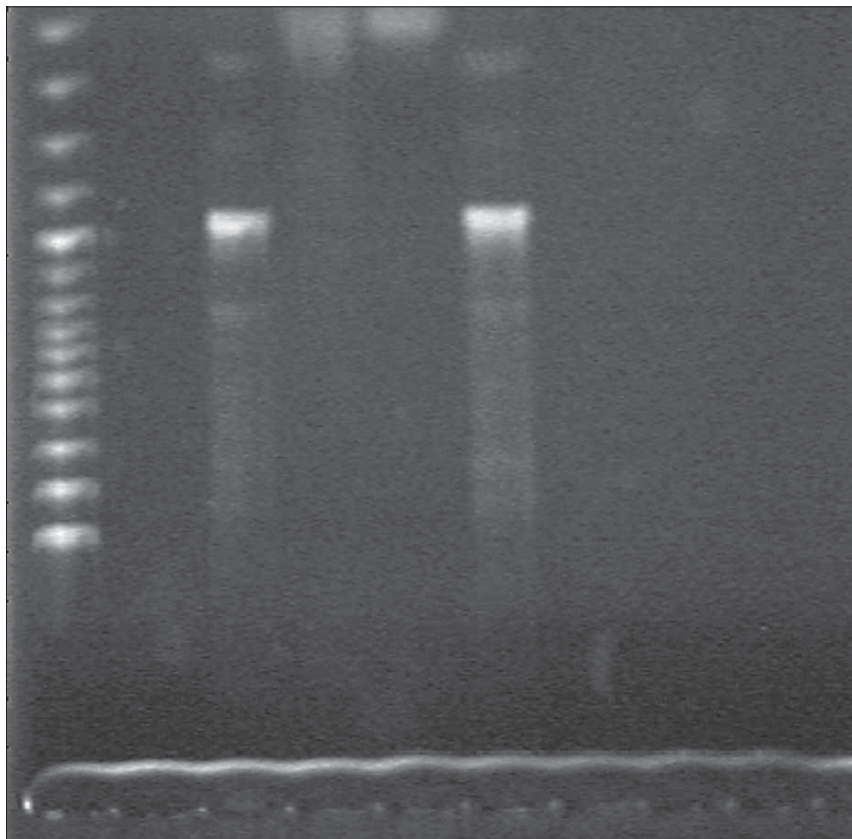
Wyniki badań hematologicznych, mikroskopowych oraz molekularnych wskazywały, że w opisywanym przypadku mieliśmy do czynienia z pierwszym przypadkiem babeszjozy u kota w Polsce. Początkowo, w leczeniu zwierzęcia, w celu pobudzenia hematopoetyzy zastosowano prednizolon (Encortolon) w dawce 2 mg/kg m.c., 2 razy dziennie przez 7 dni. Wspomagająco podawano amoksycylinę z kwasem klawulonowym (Synulox) w dawce 12,5 mg/kg m.c. oraz preparat witaminowy Intravit. Po uzyskaniu wyników badania molekularnego w leczeniu przyczynowym zastosowano imidokarb (Imizol) w dawce 5 mg/kg m.c., podawany czterokrotnie w odstępach 14-dniowych. W następstwie podjętego leczenia stan pacjenta zaczął się stabilizować. Powrócił apetyt, ustąpiła gorączka i hemoglobinuria. Kolejne badanie

hematologiczne, przeprowadzone 21 dni od podania po raz pierwszy imidokarbu, wykazało wzrost hematokrytu i stopniowe zwiększanie się liczby erytrocytów. Kontrolne badanie molekularne przeprowadzone po upływie miesiąca nie wykazało obecności materiału genetycznego pierwotniaków we krwi kota.

Omówienie

Babeszjoza kotów, wywoływana głównie przez pierwotniaki *Babesia felis*, może przebiegać subklinicznie lub ostro z objawami jak u opisywanego pacjenta. Bardzo często zarażeniu ulegają koty w stanie immunosupresji, zakażone wirusem FIV lub FeLV (20), jednak w opisywanym przypadku obie choroby zostały wykluczone szybkimi testami immunochromatograficznymi. Rozpoznawanie choroby jest trudne ze względu na nieswoiste objawy kliniczne towarzyszące zarażeniu pierwotniakami oraz nieznaną etiologię choroby. W diagnostyce różnicowej choroby należy rozważyć białaczkę, zapalenie nerek, erlichiozę, choroby autoimmunologiczne oraz zatrucia warfaryną. Ostateczne

**Ryc. 1.** Merozoity *Babesia* w erytrocytach zarażonego kota



Ryc. 2. Dodatni wynik reakcji PCR dla *Babesia* spp. Na elektroforegramie widoczny produkt reakcji PCR (ścieżka 6) odpowiadający wielkości produktu kontrolnego o wielkości 559 par zasad

rozpoznanie czynnika etiologicznego choroby możliwe jest jedynie dzięki zastosowaniu metod biologii molekularnej, w tym PCR i sekwencjonowaniu uzyskanych produktów amplifikacji.

Stosunkowo niski stopień podobieństwa sekwencji izolatu własnego z sekwencją *B. felis* dostępną w banku genów mógł wynikać z analizy krótkiego fragmentu genu 18 S RNA o długości zaledwie 559 par zasad. Podobne wyniki uzyskali Baneth i wsp (21). Analizując sekwencję fragmentu genu 18 S RNA pierwotniaków *Babesia* izolowanych od kotów wykazali oni dużego stopnia podobieństwo izolatów własnych z *B. canis*. Dopiero analiza sekwencji fragmentu małej jednostki rybosomalnej 5,8 S rRNA wykazała znaczne różnice genetyczne pomiędzy oboma pasożytami.

Odróżnienie obu gatunków na podstawie badania mikroskopowego jest niezwykle trudne z powodu znacznego podobieństwa kształtów zarówno trofozoitów, jak i merozoitów. Obserwacje własne wykazały nieco mniejsze rozmiary merozoitów we krwi chorego kota od merozoitów znajdujących w krwi zarażonych psów. Nie stwierdzono natomiast w erytrocytach struktur określanych mianem krzyża maltańskiego typowych dla zarażenia *B. felis* i *B. leo* (22, 23).

W leczeniu babeszjozy kotów, podobnie jak w leczeniu babeszjozy psów, lekiem

z wyboru jest imidokarb. W opisywanym przypadku podanie leku spowodowało szybką poprawę stanu zdrowia pacjenta; nie obserwowano przy tym objawów niepożądanych, jakie często spotyka się u psów po podaniu tego chemioterapeutyku.

Rozpoznanie po raz pierwszy w Polsce babeszjozy u kota wskazuje na fakt pojawiania się w naszej szerokości geograficznej czynników etiologicznych chorób uważanych do niedawna w pełni za egzotyczne. Zaledwie w ciągu ostatniego roku autorzy zdiagnozowali przypadki erlichiozy i babeszjozy u koni, babeszjozy u kota, a także przypadki zarażeń *Anaplasma phagocytophilum* u bydła (24). Wiedza na temat rozprzestrzeniania się zakaźnych chorób przenoszonych przez kleszcze u zwierząt na terenie naszego kraju wskazuje na konieczność uwzględniania tych jednostek w diagnostyce różnicowej.

Piśmiennictwo

- Zygner W., Jaros S., Wędrychowicz H.: Prevalence of *Babesia canis*, *Borrelia afzelii*, and *Anaplasma phagocytophilum* infection in hard ticks removed from dogs in Warsaw (central Poland). *Vet. Parasitol.* 2008, **153**, 139-142.
- Manzillo V.F., Cappiello S., Oliva G.: Tick-transmitted diseases in dogs: clinicopathological findings. *Parassitologia* 2006, **48**, 135-136.
- Gundlach L.J., Sadzikowski A.B., Tomczuk K.: Babeszjoza psów. *Medycyna Wet.* 1995, **51**, 584-588.
- Futter G.J., Belonje P.C. Studies on feline babesiosis. 2. Clinical observations *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 1980, **51**, 143-146.

- Futter G.J., Belonje P.C., Van den Berg A., Van Rijswijk A.W.: Studies on feline babesiosis. 4. Chemical pathology; macroscopic and microscopic post mortem findings *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 1981, **52**, 5-14.
- Adaszek Ł., Winiarczyk S.: Molecular characterization of *Babesia canis canis* isolates from naturally infected dogs in Poland. *Vet. Parasitol.* 2008, **152**, 235-241.
- Borggraefe I., Yuan J., Telford S.R., Menon S., Hunter R., Shah S., Spielman A., Gelfand J.A., Wortis H.H., Vannier E.: *Babesia microti* primarily invades mature erythrocytes in mice. *Infect. Immun.* 2006, **74**, 3204-3212.
- Hornok S., Edelhofer R., Földvári G., Joachim A., Farkas R.: Serological evidence for *Babesia canis* infection of horses and an endemic focus of *B. caballi* in Hungary. *Acta Vet. Hung.* 2007, **55**, 491-500.
- Kim C., Iseki H., Herbas M.S., Yokoyama N., Suzuki H., Xuan X., Fujisaki K., Igarashi I.: Development of TaqMan-based real-time PCR assays for diagnostic detection of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2007, **77**, 837-841.
- Martins T.M., Pedro O.C., Caldeira R.A., do Rosário V.E., Neves L., Domingos A.: Detection of bovine babesiosis in Mozambique by a novel seminested hot-start PCR method. *Vet. Parasitol.* 2008 (w druku)
- Hoffmann G., Hörchner F., Schein E., Gerber H.C.: Seasonal appearance of ticks and piroplasmids in domestic animals in the Asiatic provinces of Turkey. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 1971, **84**, 152-156.
- Dennig H.K.: *Babesia* infections in exotic cats and the significance of these blood parasites for veterinary research. *Acta. Zool. Pathol. Antverp.* 1969, **48**, 361-367.
- Criado-Fornelio A., Martinez-Marcos A., Buling-Saraña A., Barba-Carretero J.C.: Presence of *Mycoplasma haemofelis*, *Mycoplasma haemominutum* and piroplasmids in cats from southern Europe: a molecular study. *Vet. Microbiol.* 2003, **93**, 307-317.
- Bourdeau P.: Les babesioses felines. *Le Point Vet.* 1996, **27**, 947-953.
- Moik K., Gothe R.: Babesin-infektionen der Feliden und Fallbeschreibung bei einer Katze in Deutschland. *Tierarztl. Prax.* 1997, **25**, 532-535.
- Stewart C., Hackett K. J. W., Collett M.G.: An unidentified *Babesia* of the domestic cat (*Felis domesticus*). *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 1980, **51**, 219-221.
- Bosman A.M., Venter E.H., Penzhorn B.L.: Occurrence of *Babesia felis* and *Babesia leo* in various wild felid species and domestic cats in Southern Africa, based on reverse line blot analysis *Vet. Parasitol.* 2007, **144**, 33-38.
- Uilenberg G.: *Babesia*-a historical overview. *Vet. Parasitol.* 2006, **138**, 3-10.
- Adaszek Ł.: Wybrane aspekty epidemiologii babeszjozy, boreliozy i erlichiozy u psów. Praca doktorska, Lublin 2006.
- Schoeman T., Lobetti R.G., Jacobson L.S., Penzhorn B.L.: Feline babesiosis: signalment, clinical pathology and concurrent infections. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 2001, **72**, 4-11.
- Baneth G., Kenny M.J., Tasker S., Anug Y., Shkap V., Levy A., Shaw S.E.: Infection with a proposed new subspecies of *Babesia canis*, *Babesia canis* subsp. *presentii*, in domestic cats. *J. Clin. Microbiol.* 2004, **42**, 99-105.
- Penzhorn B.L., Schoeman T., Jacobson L.S.: Feline babesiosis in South Africa. *Ann. N Y Acad. Sci.* 2004, **1026**, 183-186.
- Penzhorn, B. L., Kjemtrup A. M., Lopez-Rebollar L. M., Conrad P. A.: *Babesia leo* n. sp. from lions in the Kruger National Park, South Africa, and its relation to other small piroplasmids. *J. Parasitol.* 2001, **87**, 681-685.
- Winiarczyk S., Adaszek Ł., Stefancikova A., Pet'ko B., Puchalski A., Cislakova L.: Badanie serologiczne w kierunku erlichiozy i boreliozy krów i świń na Lubelszczyźnie. *Medycyna Wet.* 2007, **63**, 561-565.

Dr Łukasz Adaszek, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin, e-mail: ukaszek0@wp.pl