

### Treatment of imidocarb-resistant canine babesiosis with chloroquine

Zygmunt W.<sup>1</sup>, Fryderyk M.<sup>2</sup> • Division of Parasitology and Parasitic Diseases, Department of Prediclinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw Agricultural University<sup>1</sup>, Center of Small Animal Health Multiwet Clinic, Warsaw<sup>2</sup>.

Canine babesiosis is a tick-transmitted disease caused by haematotropic parasites of the genus *Babesia*. This malaria-like disease is manifested by acute haemolysis, azotaemia, anorexia, fever and haemoglobinuria. The parasites are localized intracellularly and the laboratory diagnosis is based upon the microscopic identification of the protozoan parasites within the red blood cells in Giemsa stained blood smears. In this article we describe a case of persistent canine babesiosis. 12-years old dog was presented for veterinary care in veterinary clinic. The dog was treated with a single dose of imidocarb dipropionate of 6 mg/kg b. w. given intramuscularly. The dose was repeated in about two weeks. After second treatment we found the protozoan parasites in stained blood smears. Our diagnosis was the imidocarb-resistant babesiosis. Therefore we decided to use chloroquine, an antimalarial drug for humans, which was given orally for 5 days. After five days of treatment the dog remains clinically normal and no *Babesia* parasites were found in its blood. This is the first report of imidocarb-resistant babesiosis in Warsaw.

**Keywords:** canine babesiosis, chloroquine, imidocarb-resistant.

Babeszjoza jest chorobą przenoszona przez kleszcze (1). Czynnikiem sprawczym są pierwotniaki *Babesia canis canis*, *Babesia canis vogeli*, *Babesia canis rossi* oraz *Babesia gibsoni* (2, 3, 4). Taksonomicznie rodzaj *Babesia spp.* zaliczany jest do rodziny *Babesiidae*, typu *Apicomplexa*, klasy *Piroplasma*, rzędu *Piroplasmida* (1, 5). W Europie występuje gatunek *Babesia canis canis* (ryc. 1), którego wektorem jest kleszcz łąkowy *Dermacentor reticulatus* (ryc. 2; 4, 6).

Zarażenie psa następuje podczas żerowania kleszcza, który jest żywicielem ostatecznym tego pierwotniaka. Wraz ze śliną pasożytniczego roztocza do krwi wprowadzane są sporozycy, będące formą inwazyjną dla psa. Wnikają one do wnętrza erytrocytów, gdzie przekształcają się w trofozoity. Postać ta powiększa się, rozpoczynając proces schizogonii (rozmnażanie bezpłciowe), w którego przebiegu powstają potomne merozoity. Opuszczają one erytrocyty i po krótkotrwałej fazie swobodnego przebywania w osoczu wnikają do kolejnych krwinek czerwonych, w których ponownie przekształcają się w trofozoity, rozpoczynając kolejny cykl schizogonii. Takich

## Zastosowanie chlorochiny w leczeniu odpornej na imidokarb babeszjozy u psa

Wojciech Zygmunt<sup>1</sup>, Marcin Fryderyk<sup>2</sup>

z Zakładu Parazytologii i Inwazyjologii Katedry Nauk Przedklinicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie<sup>1</sup> i Centrum Zdrowia Małych Zwierząt Kliniki Multiwet w Warszawie<sup>2</sup>

cykli może być wiele. Z części potomnych merozoitów powstają gamonty będące formą inwazyjną dla żywiciela ostatecznego, którym jest kleszcz. Zaraża się on pobierając krew psa. W nabłonku jelita kleszcza z gamontów powstają męskie i żeńskie gametocyty (mikro- i makrogametocyty). Po ich połączeniu powstaje zygota, która przekształca się w ookinetę. Komórka ta dzieli się na ookinety potomne, które opuszczają nabłonek jelita i wędrują do gruczołów ślinowych i jajników kleszcza. W śliniankach ookinety przekształcają się w sporonty, wewnątrz których w wyniku licznych podziałów powstają tysiące potomnych sporozoitów, zamykających cykl rozwojowy pierwotniaka. Ookinety obecne w jajnikach kleszcza wnikają do jego jaj, prowadząc do zarażenia kolejnego pokolenia tych roztoczy (1, 2, 3, 5).

Okres inkubacji choroby wynosi kilka do kilkunastu dni, sporadycznie kilku miesięcy. Babeszjoza jest chorobą, w przebiegu której występuje wysoka gorączka, ogólne osłabienie i brak apetytu. W badaniu klinicznym można stwierdzić bladość błon śluzowych, czasem ich zażółcenie, powiększenie śledziony, przyspieszenie tętna i oddechów oraz podwyższenie temperatury ciała. W wywiadzie opiekun psa może informować o ciemnym zabarwieniu moczu, bieguncie bądź wymiotach oraz sporadycznie o obecności kleszczy. W przebiegu choroby występuje niedokrwistość i trombocytopenia. W badaniu biochemicznym krwi stwierdza się wzrost aktywności transaminaz oraz fosfatazy zasadowej. Zwiększeniu może ulec stężenie mocznika i kreatyniny we krwi. W przebiegu babeszjozy nie można wyróżnić charakterystycznych objawów. Chorobę można podejrzewać na terenach endemicznych dla babeszjozy, w sezonie żerowania kleszczy u psów z wysoką gorączką i postępującym osłabieniem (2, 3, 4, 7, 8).

### Opis przypadku

We wrześniu 2004 r. do kliniki weterynaryjnej w Warszawie doprowadzono 12-letniego psa samca, o masie ciała 23 kg, leczonego od około pół roku z powodu zespołu Cu-

shinga. U psa jego opiekun zaobserwował osłabienie oraz ciemne zabarwienie moczu. W wywiadzie uzyskano również informację o usunięciu kleszczy kilka dni wcześniej. W badaniu klinicznym stwierdzono temperaturę 39,8°C. Pozostałe parametry nie odbiegały od normy. Postawiono podejrzenie babeszjozy. W badaniu krwi stwierdzono leukopenię (2,4 G/l) oraz trombocytopenię (43 G/l). Liczba erytrocytów, stężenie hemoglobiny, hematokryt, MCV i MCHC zawierały się w przedziałach norm. Aktywność transaminaz oraz fosfatazy zasadowej nie uległy wzrostowi. Mocznik i kreatynina utrzymywały się na prawidłowym poziomie. W mikroskopowym badaniu rozmazu krwi barwionym metodą Giemsa potwierdzono obecność *Babesia canis canis*. Podano następujące leki: imidokarb 138 mg *i.m.*, deksametazon 6 mg *i.m.*, atropina 1 mg *s.c.* Zalecono stosowanie amoksycyliny w dawce dobowej 500 mg, podzielonej na dwa podania, doustnie, przez 8 dni. Po 3 dniach terapii ustalono termin wizyty kontrolnej.

Podczas kolejnej wizyty stwierdzono poprawę. Ustąpiła gorączka, powrócił apetyt. Zabarwienie moczu uległo zmianie, uzyskując barwę słomkową. Po kolejnych 5 dniach zakończono terapię.

Po upływie 8 dni od zakończenia leczenia, pies ponownie został doprowadzony do lecznicy. Opiekun zwierzęcia uskarżał się, że jego podopieczny znowu jest osowiały, nie przyjmuje pokarmów i wody. Kolejnych kleszczy nie znaleziono, a pies został zabezpieczony przed ich inwazją. Mocz, według właściciela psa, miał barwę prawidłową. W badaniu klinicznym stwierdzono temperaturę 40°C, przekrwienie błon śluzowych, przyspieszenie tętna i oddechów oraz nieznaczne stopnia odwodnienie. W badaniu krwi uzyskano następujące zmiany: leukopenia (3,0 G/l) i trombocytopenia (31 G/l) oraz wzrost wartości MCHC (22,9 mmol/l). W badaniu biochemicznym stwierdzono wzrost aktywności fosfatazy zasadowej do 279 U/l. W mikroskopowym badaniu rozmazu krwi stwierdzono obecność *Babesia canis canis*. Pies został nawodniony. Podano imidokarb, deksametazon i atropinę w poprzednich dawkach oraz meta-

mizol 750 mg doodbytniczo. Zalecono też antybiotyk w dawce jak wyżej. Po 2 dniach terapii ustalono termin wizyty kontrolnej, podczas której właściciel zwierzęcia poinformował, że powrócił apetyt, a samopoczucie uległo znacznej poprawie. W badaniu klinicznym stwierdzono ustąpienie gorączki, prawidłowe zabarwienie błon śluzowych, powrót do normy tętna i oddechów. Nie odnotowano cech odwodnienia ani powiększenia węzłów chłonnych.

Po 7 dniach od zakończenia kolejnego leczenia, na życzenie opiekuna psa, przeprowadzono kontrolne morfologiczne badanie krwi oraz badanie rozmazu krwi na obecność *Babesia canis canis*. W badaniach tych stwierdzono leukopenię (3,8 G/l), trombocytopenię (20 G/l), wzrost średniego stężenia hemoglobiny (23,2 mmol/l) oraz obecność *Babesia canis canis*. Na podstawie wyników postawiono podejrzenie lekooporności pasożytniczego pierwotniaka. Za zgodą opiekuna zwierzęcia została podjęta decyzja o zastosowanie eksperymentalnego leczenia przy użyciu stosowanego u ludzi leku przeciwmalarycznego. Zastosowano doustnie fosforan chlorochiny w dawce 250 mg. Następnie po 6 godzinach podano 125 mg tego leku. Przez kolejne 4 dni pies otrzymywał co 24 godziny 125 mg fosforanu chlorochiny doustnie. Właściciel psa nie zgłaszał wystąpienia żadnych objawów niepożądanych podczas leczenia.

Po 7 dniach od zakończenia leczenia chlorochiną przeprowadzono kontrolne badanie krwi. W badaniu krwi stwierdzono nieznaczna leukopenię (5,8 G/l), trombocytopenię (120 G/l) oraz podwyższoną wartość MCHC (23,2 mmol/l). Wynik badania rozmazu krwi na obecność *Babesia canis canis* był negatywny.

Kolejne kontrolne badanie krwi przeprowadzono 3 tygodnie później. W mikroskopowym badaniu rozmazu krwi nie stwierdzono obecności *Babesia canis canis*. Badanie to powtórzono jeszcze po 10 dniach i również uzyskano wynik negatywny.

### Omówienie przypadku

Opisywany przypadek potraktowany został jako babeszjoza oporna na leczenie imidokarbem, który jest podstawowym lekiem stosowanym do jej zwalczania u psów. Mimo stosowania leku zgodnie z zaleceniami producenta, objawy choroby powracały, a we krwi stwierdzano obecność pierwotniaka *Babesia canis canis*. W opisywanym przypadku nie można wykluczyć ponownego zarażenia, jednak długo utrzymujące się we krwi stężenie bójczo dla pierwotniaków powinno zapobiegać rozwojowi kolejnej inwazji pasożyta.

Obecny na rynku imidokarb, zarejestrowany do zwalczania piroplazmozy u psów,



Ryc. 1. *Babesia canis canis*



Ryc. 2. *Dermacentor reticulatus* - samica

w postaci dwuprocionianu stosowany jest w leczeniu przyczynowym babeszjozy psów w dawce 3–6 mg/kg m.c. *i.m.* lub *s.c.* Dawkę można powtórzyć po 14 dniach. Lek może być również stosowany zapobiegawczo w dawce 6 mg/kg m.c. Stężenie terapeutyczne utrzymuje się przez 2–4 tygodni. Należący do karbanilidów imidokarb działa bójczo na pierwotniaki. Znajduje zastosowanie w leczeniu przyczynowym babeszjozy i erlichiozy u psów, koni oraz przeżuwaaczy. Lek powoduje zahamowanie syntezy DNA pasożyta. Po jego zastosowaniu obserwuje się uszkodzenia jądra komórkowego oraz tworzenie wakuoli cytoplazmatycznych w mero- i trofozoitach. Po około 10 minutach od zastosowania imidokarbu pojawiają się może osłabienie, ślinotok, biegunka i wymioty. Objawy te można znieść, stosując atropinę (2, 3, 4, 9, 10, 11, 12).

Zastosowana u opisywanego psa chlorochina jest lekiem stosowanym u ludzi w zwalczaniu malarii, choroby powodowanej przez pierwotniaki z rodzaju *Plasmodium* należące, podobnie jak rodzaj *Babesia*, do typu *Apicomplexa*. Obie choroby mają podobny przebieg i patogenezę (1, 13). W piśmiennictwie obecne są doniesienia o zastosowaniu chlorochiny u psów chorych na babeszjozę (4). Dane te skłoniły do podjęcia próby zastosowania tego leku w opisywanym przypadku. Chlorochina jest syntetycznym lekiem, należącym podobnie jak chinina i meflochina do 4-aminochinolin, działającym bójczo na schizonty z rodzaju *Plasmodium* (stadium wewnątrzerytrocytarne). Lek nie działa na zarodźce obecne poza krwinkami. Powoduje zahamowanie syntezy DNA pierwotniaka, wchodzi w interakcję w procesie degradacji hemoglobi-

ny wewnątrz pasożyta poprzez hamowanie polimeryzacji hematyny (enzymatycznego inhibitora syntezy porfiryn), ogranicza dostępność żelaza dla patogenów wewnątrzkomórkowych oraz aktywuje fagocytozę przez monocyty. Działa również na pierwotniaki *Entamoeba histolytica*. Z przewodu pokarmowego wchłania się dobrze i szybko w obecności treści pokarmowej. Największe stężenie leku występuje między 4 a 6 godziną od podania. Okres półtrwania wynosi 10–30 dni. Podczas leczenia mogą się pojawić: biegunka, wymioty, utrata łaknienia, niedokrwistość hemolityczna i hemoglobinuria (14, 15, 16, 17, 18). W opisanym przypadku zastosowano dawkowanie w pierwszym dniu 10 mg/kg m.c. i po 6 godzinach 5 mg/kg m.c. W kolejnych dniach: drugim, trzecim, czwartym i piątym lek podawano w dawce 5 mg/kg m.c. Preparat stosowany był w formie tabletek doustnych i podawany był razem z pokarmem. U pacjenta nie zaobserwowano działań niepożądanych leku. Wzrost wartości MCHC wskazywać może na hemolizę wewnątrznaczyniową, jednak nie zaobserwowano objawów hemoglobinurii.

Z innych leków stosowanych w leczeniu babeszjozy u ludzi i zwierząt warto wymienić: diminazen, błękit trypanu, amikarbalid, fenamidynę, pentamidynę, primachinę, metronidazol, klindamycynę oraz azitromycynę w skojarzeniu z atowachonem (1, 2, 3, 4, 9, 10, 11, 12, 19).

Diminazen jest lekiem pierwotniakobójczym, wpływając na przemiany cukrów zaburza procesy tlenowe pasożyta. Powoduje zahamowanie syntezy DNA, uszkadza błony organelli komórkowych oraz prowadzi do rozpadu cytoplazmy pierwotniaka. W zwalczaniu babeszjozy stosowany jest domięśniowo w jednorazowej dawce u psów 3–3,5 mg/kg m.c, a u kotów 2 mg/kg m.c. (2, 3, 4, 10).

Błękit trypanu zapobiega wniknięciu pasożyta do wnętrza erythrocytu przez blokadę receptorów dla C3b. Stosowany jest u psów dożylnie w postaci 1% roztworu w dawce 10 mg/kg m.c. (4, 10).

Fenamidyna należy do diamidyn aromatycznych. Działanie leku utrzymuje się od 12 do 48 godzin. Działa babeszjobójczo. Stosowana jest u psów podskórnie lub domięśniowo w dawce 15–18 mg/kg m.c. Dawkę należy powtórzyć po 1–2 do 8 dni (2, 3, 10).

Pentamidyna, kolejny z leków pierwotniakobójczych, działa na pierwotniaki z rodzajów *Babesia*, *Trypanosoma*

i *Leishmania*. Zaburza syntezę DNA, RNA oraz białek pasożyta. U psów stosowana jest domięśniowo w dawce 4 mg/kg m.c. (2, 3, 16, 17).

Primachina, będąca lekiem przeciwalarycznym, skuteczna jest w leczeniu babeszjozy u kotów. Należy do 8-aminochinolin. Stosowana jest doustnie lub domięśniowo w jednorazowej w dawce 0,5 mg/kg m.c. (10, 20).

Metronidazol, będący pochodną 5-nitroimidazolu, jest chemioterapeutyką o działaniu bakteriobójczym i pierwotniakobójczym. Powoduje uszkodzenia DNA patogenu. W leczeniu babeszjozy u psów stosowany jest doustnie w dawce 25 mg/kg m.c., co 8–12 godzin przez 2–3 tygodnie (11, 16, 21).

Klindamycyna (7-chloro-linkomycyna) jest antybiotykiem należącym do linkozamidów. Wiążąc się podjednostką 50 S rybosomu mikroorganizmów hamuje syntezę białka. Stosowana jest w zwalczaniu babeszjozy psów doustnie w dawce 12,5 mg/kg m.c, 2 razy dziennie przez 2–3 tygodnie. U ludzi znajduje zastosowanie w leczeniu zakażeń bakteryjnych oraz pierwotniakowych, w tym babeszjozy. Stosowana w monoterapii oraz w skojarzeniu z chininą (11, 16, 22, 23).

Azytromycyna jest antybiotykiem makrolidowym z podgrupy azalidów. Powoduje zahamowanie syntezy białek patogenych drobnoustrojów poprzez wiązanie się z podjednostką 50 S rybosomu. Działa bakteriostatycznie. Stosowana w połączeniu z atowachonem (hydroksy-1,4-naftochinon) w leczeniu babeszjozy u ludzi (16, 19, 22).

U koni i bydła w leczeniu babeszjozy znalazły zastosowanie amikarbalid, imidokarb i pentamidyna (12).

Opisywany przypadek oraz przykłady alternatywnych leków babeszjobójczych pokazują jak można postąpić w sytuacji niepoddającej się leczeniu babeszjozy u psów. Należy równocześnie zdawać sobie sprawę, że opisany sposób leczenia, stanowić ma alternatywę i nie powinien być nadużywany, ze względu na możliwość pojawienia się oporności pierwotniaka na ten lek.

## Piśmiennictwo

- Homer M. J., Aguilar-Delfin I., Telford S. R. III, Krause P. J., Persing D. H.: Babesiosis. *Clin Microbiol Rev.* 2000, 13, 451–469.
- Kotomski G.: Babesjoza psów. *Magazyn Wet.* 2002, 11, 5–10.

- Bourdeau P., Guelfi J. F.: Babesjoza psów. *Magazyn Wet.* 1998, 7, 35–47.
- Lobetti R. G.: Canine babesiosis. *Parasitology.* 1998, 20, 418–430.
- Furmaga S.: *Choroby pasożytnicze zwierząt domowych.* PWRiL, Warszawa 1985.
- Siuda K.: *Klęszcze Polski, część II. Systematyka i rozmieszczenie.* Polskie Towarzystwo Parazytologiczne, Warszawa 1993.
- Winnicka A.: *Wartości referencyjne podstawowych badań laboratoryjnych w weterynarii.* Wyd. III, Wydawnictwo SGGW, Warszawa 2004.
- Winnicka A.: *Diagnostyka laboratoryjna wybranych jednostek chorobowych u psów.* Wyd. II, Wydawnictwo SI-MA, Warszawa 2000.
- Shaw S. E., Irwin P.: Skutki inwazji kleszczy u psów. *Wal-tham Focus* 2001, 11, 48–55.
- Carter G. R.: Major infectious diseases of dogs and cats. W: Carter G. R., Payne P. A.: *A Concise Guide to Infectious and Parasitic Diseases of Dogs and Cats.* International Veterinary Information Service, Ithaca NY ([www.avis.org](http://www.avis.org)), 2005.
- Lappin M. R.: Infectious diseases. W: Nelson R. W., Couto C. G.: *Small Animal Internal Medicine.* 3<sup>rd</sup> ed., Mosby, 2003. s. 1229–1321.
- Roliński Z.: *Farmakologia i farmakoterapia weterynaryjna.* t. II, PWRiL, Warszawa 2001.
- Kurantowska A., Kurantowski P.: Phylum: Apicomplexa. W: Deryło A.: *Parazytologia i akarontologia medyczna.* Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2002, s. 121–153.
- Munghin M., Bray P. G., Ridley R. G., Ward S. A.: Central role of hemoglobin degradation in mechanisms of action of 4-aminoquinolines, quinoline methanols, and phenanthrene methanols. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1998, 42, 2973–2977.
- Levitz S. M., Harrison T. S., Tabuni A., Liu X.: Chloroquine induces human mononuclear phagocytes to inhibit and kill *Cryptococcus neoformans* by a mechanism independent of iron deprivation. *J Clin Invest.* 1997, 100, 1640–1646.
- Podlewski J.K., Chwalibogowska-Podlowska A.: *Leki współczesnej terapii.* Wydanie XVII. SplitTrading Sp. z o.o., Warszawa 2005.
- Szeniański Z.: Leki przeciw pierwotniakowe. W: Kostowski W., Herman Z. S.: *Farmakologia. Podstawy farmakoterapii.* t. II, wyd. III, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2005, s. 366–376.
- Patrick G. L.: *Chemia medyczna. Podstawowe zagadnienia.* Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa 2003.
- Krause P. J., Lepore T., Sikand V. K., Gadbow J., Burke G., Telford S. R., Brassard P., Pearl D., Azlanzadeh J., Christianson D., McGrath D., Spielman A.: Atovaquone and azithromycin for the treatment of babesiosis. *N. Engl. J. Med.* 2000, 343, 1454–1458.
- Bartlett M. S., Queener S. F., Tidwell R. R., Milhous W. K., Berman J. D., Ellis W. Y., Smith J. W.: 8-Aminoquinolines from Walter Reed Army Institute for Research for treatment and prophylaxis of *Pneumocystis pneumonia* in rat models. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1991, 35, 277–282.
- Meszaros J.: Inne syntetyczne leki chemioterapeutyczne. W: Kostowski W., Herman Z. S.: *Farmakologia. Podstawy farmakoterapii.* t. II, wyd. III, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2005, s. 278–290.
- Kostowski W.: Makrolidy i linkozamidy. W: Kostowski W., Herman Z. S.: *Farmakologia. Podstawy farmakoterapii.* t. II, wyd. III, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2005, s. 324–331.
- Lell B., Kremsner P. G.: Clindamycin as an antimalarial drug: review of clinical trials. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2002, 46, 2315–2320.

Lekarz wet. W. Zygner, Zakład Parazytologii i Inwazyjologii, Katedra Nauk Przedklinikcznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej SGGW, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa