

Vincristine and cyclophosphamide in the treatment of persistent anemia and thrombocytopenia related to *Babesia canis* infection in dog

Zygner W.¹, Gójska-Zygner O.², Szmidt K.²

Division of Parasitology and Parasitic Diseases, Department of Preclinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences – SGGW¹, Small Animals Health Center Multiwet in Warsaw²

The aim of this paper was to present some significant aspects of *Babesia canis* infection therapy in dogs. Canine babesiosis is a tick-borne disease caused by parasites of the genus *Babesia*. Only *Babesia canis* was detected in dogs in Poland. Immune mediated hemolytic anemia and thrombocytopenia are common consequences during the course of this infection. However, in most cases these complications can be resolved by the treatment with glucocorticosteroids. In this case report the authors described a dog with hemolytic anemia and thrombocytopenia after *B. canis* infection, refractory to glucocorticosteroid therapy. The dog was treated with single dose of vincristine at 0.5 mg/m² i.v. with subsequent administration, one week apart, of two 4-day series of oral cyclophosphamide at a dose of 1.7 mg/kg b.w. daily with a 3-day break between these series. This immunosuppressive therapy resulted in restoration of hematological values and recovery of the patient.

Keywords: canine babesiosis, immune-mediated anemia, immune-mediated thrombocytopenia.

Babeszjoza psów jest chorobą powodowaną przez inwazję przenoszonych przez kleszcze pierwotniaków z rodzaju *Babesia*, rodziny Babesiidae, rzędu Piroplasmorida, typu Apicomplexa. Spośród znanych 6 gatunków z tego rodzaju powodujących inwazje u psów na świecie (1, 2, 3) w Polsce endemicznie występuje jedynie gatunek *Babesia canis* (4, 5, 6). Wynika to z faktu endemicznego występowania w Polsce tylko jednego gatunku kleszcza przenoszącego pierwotniaki z rodzaju *Babesia* u psów, jakim jest kleszcz łąkowy (*Dermacentor reticulatus*), będący żywicielem ostatecznym dla *B. canis* (7, 8). Do niedawna gatunek *B. canis* uznawany był za jeden z podgatunków dawnego gatunku *Babesia canis* i określano go nazwą *Babesia canis canis*. Obecnie jednak dawne podgatunki *B. canis* uznawane są za odrębne gatunki (1).

Jednym z powikłań babeszjozy u psów jest niedokrwistość. Główną rolę w rozwoju niedokrwistości w przebiegu tej choroby odgrywa odpowiedź układu immunologicznego prowadząca do powstawania przeciwciał przeciwko krwinkom czerwonym oraz rozwoju stresu oksydacyjnego (9,

Zastosowanie winkrystyny i cyklofosfamidu w leczeniu utrzymującej się niedokrwistości i małopłytkowości po inwazji *Babesia canis* u psa

Wojciech Zygner¹, Olga Gójska-Zygner², Karolina Szmidt²

z Zakładu Parazytologii i Inwazjologii Katedry Nauk Przedklinicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie¹ oraz Centrum Zdrowia Małych Zwierząt Multiwet w Warszawie²

10). Obserwowana w przebiegu babeszjozy hemoliza może być zarówno zewnątrz-, jak i wewnątrznaczyniowa. W wewnątrznaczyniowym niszczeniu krwinek czerwonych rolę odgrywają dopełniacz i wolne rodniki, natomiast hemoliza zewnątrznaczyniowa jest konsekwencją niszczenia krwinek przez makrofagi (11, 12). Warto również dodać, iż w przebiegu choroby może występować przewaga jednego z typów hemolizy, jak również w rozwoju hemolizy wewnątrznaczyniowej przeważać może tylko jeden z czynników odgrywających rolę w uszkodzeniu krwinek czerwonych (9, 11, 12). Rola samego pasożyta w rozwoju niedokrwistości nie jest do końca poznana, a uzyskiwane przez badaczy wyniki się różnią. Przykładem może być tutaj pozytywna korelacja stopnia nasilenia niedokrwistości z poziomem parazytemii w przebiegu eksperymentalnego zarażenia psów pierwotniakami z gatunku *B. rossi* oraz brak takiej korelacji w przebiegu inwazji powodowanej przez *B. canis* (11, 13, 14).

Przebiegająca równocześnie z niedokrwistością autoimmunohemolityczną małopłytkowość u psów zarażonych *B. canis* wynika najprawdopodobniej z powstawania przeciwciał przeciwko płytkom lub z ich zużycia (14, 15). U większości psów zarażonych jednak pierwotniakami z rodzaju *Babesia* nie obserwuje się skłonności do krwawień związanej ze zużyciem płytek i wraz z nimi czynników krzepnięcia, choć stwierdzono u części psów zarażonych *B. rossi* i *B. canis* powikłanie w postaci zespołu rozsianego krzepnięcia wewnątrznaczyniowego (13, 16, 17, 18, 19, 20). Wielu badaczy uważa, że, podobnie jak w przypadku malarii u ludzi, jedną z głównych przyczyn małopłytkowości w przebiegu babeszjozy jest niszczenie płytek przez własny układ immunologiczny (21, 22, 23, 24). Występowanie równocześnie małopłytkowości i niedokrwistości o podłożu immunologicznym nosi nazwę zespołu Evansa, który został po raz

pierwszy opisany w 1951 r. u ludzi, a w późniejszych latach również u psów (25, 26).

Podstawową grupą leków stosowaną w przebiegu babeszjozy u psów, mającą na celu zahamowanie odpowiedzi immunologicznej prowadzącej między innymi do rozwoju hemolizy zewnątrz- i wewnątrznaczyniowej oraz małopłytkowości są glikokortykosteroidy (27). Ich stosowanie w przebiegu tej choroby podawane jest w wątpliwość, jednak leki z tej grupy bezwzględnie zalecane są w leczeniu niedokrwistości i małopłytkowości o podłożu immunologicznym (15, 28, 29, 30). Alternatywą dla tych leków w przypadku ich nieskuteczności są cyklofosfamid oraz winkrystyna (15, 31). W tej pracy opisano przypadek psa z niedokrwistością i małopłytkowością w przebiegu inwazji *B. canis*, które nie poddawały się leczeniu glikokortykosteroidami.

Opis przypadku

Do kliniki weterynaryjnej w Warszawie doprowadzono 7-letniego psa, mieszańca, samicę, o masie ciała 15 kg. W wywiadzie uzyskano następujące informacje: od 2 dni osowiałość i brak apetytu oraz w ostatniej dobie ciemne zabarwienie moczu. Pies nigdy nie wyjeżdżał za granicę. Ponadto w badaniu klinicznym stwierdzono: podwyższenie temperatury ciała, błądność błon śluzowych i odwodnienie około 5%. Na podstawie objawów klinicznych postawiono podejrzenie babeszjozy. W związku z tym od psa pobrano krew do badań laboratoryjnych. W badaniu morfologicznym krwi stwierdzono leukopenię, małopłytkowość oraz niedokrwistość normocytarną hiperbarwliwą. Mikroskopowe badanie rozmazu krwi ujawniło obecność wewnątrz erytrocytów piroplazm dużych. Ponadto w badaniach biochemicznych surowicy psa stwierdzono wzrost aktywności transaminaz wątrobowych, azotemii oraz, pomimo braku apetytu, normoglikemię (tab. 1).

Na podstawie danych, dotyczących występowania u psów w Polsce pierwotniaków z rodzaju *Babesia*, uznano wykrytą w rozmazie krwi piroplazmę za gatunek *B. canis*. Próbkę krwi pobranej do próbki z EDTA, po przeprowadzeniu badań morfologicznych zamrożono w celu izolacji DNA (materiał zbierany na potrzeby innych prac związanych z patologią i epidemiologią chorób psów przenoszonych przez kleszcze). Specjalnie do prezentowanego opisu przypadku część zamrożonej wcześniej krwi rozmrożono i wysłano do komercyjnego laboratorium weterynaryjnego w Niemczech, gdzie w badaniu metodą PCR potwierdzono obecność DNA *B. canis* we krwi chorego psa.

Ze względu na rozpoznaną hemolizę wewnątrzprzynajmniej (hemoglobinuria oraz wzrost MCHC powyżej normy) i wiążące się z tym ryzyko rozwoju zespołu rozsianego krzepnięcia wewnątrzprzynajmniej podjęto decyzję o hospitalizacji psa. We wstępnym leczeniu zastosowano jednorazowo 90 mg imidokarbu, *i.m.*, 4 mg deksametazonu, *i.m.* oraz 0,6 mg atropiny, *s.c.* Ponadto zastosowano płynoterapię (naprzemiennie 0,9% roztwór NaCl z 5% glukozą w stosunku 1:1, roztwór Ringera oraz płyn wieloelektrolitowy) 50 ml/kg/dobę *i.v.* oraz amoksylicynę z kwasem klawulanowym w dawce 12,5 mg/kg *m.c.*, *s.c.* 1 raz dziennie. Poziom glukozy monitorowano przy użyciu pasków testowych do glukometru. Następnego dnia ustąpiła gorączka, pies zaczął pić i interesować się otoczeniem. Kontynuowano płynoterapię i antybiotykoterapię.

Trzeciego dnia stwierdzono znaczne pogorszenie stanu psa: osowiałość, brak zainteresowania otoczeniem, silniejszą w stosunku do obserwowanej pierwszego i drugiego dnia błądź śluzówek przyspieszenie tętna i oddechów oraz temperaturę ciała 36,9°C. Zabarwienie moczu wróciło do normy uzyskując barwę słomkową. Ze względu na pogłębiającą się błądź śluzówek pobrano krew do badania morfologicznego oraz mikroskopowego badania rozmazu na obecność pasożyta. Z laboratorium uzyskano odpowiedź, iż nie jest możliwe wykonanie morfologicznego badania krwi w analizatorze hematologicznym ze względu na masową aglutynację powodującą całkowite zafałszowanie wyników. W rozmazie krwi nie stwierdzono obecności pierwotniaków z rodzaju *Babesia*, stwierdzono natomiast obecność sferocytów oraz występowanie aglutynacji w całym rozmazie. Aglutynacja widoczna była również gołym okiem w postaci formowania się w próbówce drobnych kłaczków. W leczeniu kontynuowano płynoterapię i antybiotykoterapię oraz ponownie zastosowano 4 mg deksametazonu.

Następnego dnia nie stwierdzono poprawy stanu ogólnego. Ponadto moczu ponownie przybrał ciemnobrązową barwę, wskazującą na hemoglobinurię. Ponownie pobrano krew do badania morfologicznego, jednakże, tak jak poprzedniego dnia, nie było możliwe wykonania badania w analizatorze hematologicznym, natomiast w rozmazie nadal stwierdzano aglutynację. W związku z pogłębiającą się błądź śluzówek oraz niemożnością określenia stopnia zaawansowania niedokrwistości podjęto decyzję o przetoczeniu krwi. Przedtem przeprowadzono próby krzyżowe: próbę dużą (krwinki dawcy z osoczem biorcy) i małą (krwinki biorcy z osoczem dawcy), o mniejszym znaczeniu praktycznym. Wynik dużej próby krzyżowej był negatywny, natomiast wynik małej próby krzyżowej był pozytywny, stwierdzono jednak, iż aglutynacja jest nieznaczna. W porozumieniu z właścicielem psa zdecydowano się przetoczyć krew. Zgodnie z zaleceniami literaturowymi 15 minut przed planowanym przetoczeniem krwi podano psu 7,5 mg deksametazonu *i.v.* (32). Przetoczono 0,5 jednostki przetoczeniowej krwi pełnej (225 ml). W trakcie przetaczania krwi oraz bezpośrednio po nim nie stwierdzono występowania objawów związanych z nadwrażliwością bądź o podłożu nieimmunologicznym, takich jak: przyspieszenie tętna i oddechów, duszność, drżenia, wymioty, biegunka, obrzęk naczyńioruchowy czy pokrzywka (32).

Następnego dnia stwierdzono nieznaczną poprawę kliniczną w postaci lekkiego zaróżowienia śluzówek; pozostawały one jednak nadal blade. Pies w dalszym ciągu był apatyczny i ożywał się nieznacznie

jedynie podczas odwiedzin jego opiekunów. Ciemne zabarwienie moczu nadal się utrzymywało. Do leczenia wprowadzono prednizolon 2 mg/kg *m.c.*, *p.o.* co 12 godzin. Pobrano krew do badania morfologicznego i biochemicznego. Badania morfologicznego, tak jak w poprzednich dniach, nie udało się przeprowadzić, natomiast w badaniach biochemicznych stwierdzono obniżenie stężenia mocznika i kreatyniny w stosunku do poprzednich wyników (mocznik 134 mg/dl, kreatynina 1,8 mg/dl). Ponadto stwierdzono obniżenie stężenia potasu (3,2 mmol/l), w związku z czym dodatkowo włączono do leczenia KCl w dawce 28 mEq na 1 l płynów podawanych *i.v.*

W ciągu kolejnych dwóch dni stan psa się nie zmienił. Wykonanie badania morfologicznego krwi nadal nie było możliwe ze względu na utrzymującą się silną aglutynację. W tym czasie nie stwierdzano azotemii, natomiast potas utrzymywał się w zakresie dolnych wartości referencyjnych (4,1 mmol/l). Cały czas moczu miał barwę ciemnobrązową. W ósmym dniu leczenia szpitalnego pobrano krew do ponownego badania metodą PCR na obecność *B. canis* podejrzewając, pomimo niewykrycia w rozmazie krwi pierwotniaków, inwazję pasożyta opornego na leczenie imidokarbem, powodującego ciągłą stymulację antygenową skutkującą utrzymującą się hemolizą wewnątrzprzynajmniej. Równocześnie, w porozumieniu z właścicielem psa, podjęto decyzję o zastosowaniu w leczeniu winkrystyny podejrzewając, iż przyczyną niedokrwistości jest niszczenie krwinek o podłożu immunologicznym. Podejrzanie to

Tabela 1. Wyniki badań morfologicznych krwi oraz biochemicznych surowicy psa uzyskane w pierwszym badaniu przed podaniem leków (objawy choroby od 2 dni)

Oznaczany parametr	Wynik	Wartości referencyjne*
Liczba krwinek czerwonych	4,14 T/l	5,5–8,0 T/l
Stężenie hemoglobiny	6,81 mmol/l	7,45–11,17 mmol/l
Hematokryt	0,30 l/l	0,37–0,55 l/l
MCV	73 fl	60–77 fl
MCHC	22,7 mmol/l	19,8–22,3 mmol/l
Liczba krwinek białych	4,90 G/l	6,0–12,0 G/l
Liczba płytek krwi	27 G/l	200–580 G/l
AST	171 U/l	1–37 U/l
ALT	72 U/l	3–50 U/l
ALP	105 U/l	20–155 U/l
Kreatynina	3,3 mg/dl	1,0–1,7 mg/dl
Mocznik	205 mg/dl	20–45 mg/dl
Glukoza	101 mg/dl	70–120 mg/dl
Uwagi	hemoliza	-

* Wartości referencyjne według komercyjnego laboratorium weterynaryjnego w Warszawie. Objasnienia: MCV – średnia objętość krwinki czerwonej, MCHC – średnie stężenie hemoglobiny w erytrocytach, AST – aminotransferaza asparaginianowa, ALT – aminotransferaza alaninowa, ALP – fosfataza zasadowa

potwierdzać mogą: występowanie aglutynacji oraz wstępnie rozpoznana inwazja pierwotniaków *B. canis*, w przebiegu której główną rolę w rozwoju niedokrwistości odgrywa reakcja układu odpornościowego. Ostateczne postawienie rozpoznania o autoimmunologicznym niszczeniu krwinek czerwonych byłoby możliwe na podstawie badania krwi w teście Coombsa, jednakże właściciel psa nie zgodził się na poniesienie kolejnych kosztów i poprosił o leczenie winkrystyną w oparciu o stwierdzoną aglutynację, sferocytozę oraz fakt, iż test Coombsa nie zawsze daje wynik pozytywny, pomimo obecności przeciwciał skierowanych przeciwko erytrocytom (30, 33).

Wynik drugiego badania metodą PCR był negatywny. Winkrystynę zastosowano w dawce 0,5 mg/m² powierzchni ciała w powolnym wlewie kroplowym. Na podstawie masy ciała psa oszacowano jego powierzchnię na 0,6 m², w związku z czym psu podano 0,3 mg winkrystyny *i.v.* W trakcie podawania leku oraz bezpośrednio po nim nie zaobserwowano żadnych objawów niepożądanych. Prednizolon nadal stosowano w dawce 2 mg/kg m.c. *p.o.* co 12 godzin. Następnego dnia rano po zastosowaniu winkrystyny zaobserwowano wyraźną poprawę stanu ogólnego psa. Ustąpiła hemoglobinuria, mocz był klarowny, barwy słomkowej. Pies wstał, zaczął interesować się otoczeniem i chętnie wyszedł na spacer. Zaczął też chętnie pić wodę, choć nadal nie miał apetytu. Nie stwierdzono gorączki. Śluzówki były nadal blade. Po południu pobrano krew do badania morfologicznego i oznaczeń biochemicznych. Aglutynacji nie było widać gołym okiem w próbówce i na szkiełku podstawowym z dodatkiem kropli 0,9% NaCl. W wynikach badania morfologicznego krwi stwierdzono niedokrwistość makrocytarną, hiperchromatyczną (liczba erytrocytów 2,63 T/l, MCV 82 fl, MCHC 27,5 mmol/l), leukocytozę (neutrofile 36 G/l, pałeczki 7 G/l, limfocyty 15,1 G/l), małopłytkowość (70 G/l). W uwagach dodano jednak informację, iż nadal utrzymywała się aglutynacja, co mogło powodować zafałszowanie wyników. W badaniach biochemicznych nie stwierdzono azotemii bądź hipokaliemii, wzrosła jednak aktywność transaminaz (AST 111 U/l, ALT 297 U/l) oraz znacząco wzrosła aktywność fosfatazy zasadowej (ALP 791 U/l).

Następnego dnia u psa wrócił apetyt. Na żądanie właścicieli pies został wypisany ze szpitala. Decyzję o wypisie właściciel psa uzasadnił ograniczeniami swoich możliwości finansowych. W związku z wyraźną poprawą dawkę prednizolonu obniżono do 20 mg *p.o.* 2 razy dziennie przez 7 dni. Antybiotyk został odstawiony, natomiast potas nadal był suplementowany w dawce 10 mEq co drugi dzień *p.o.*

Równocześnie w okresie doustnego stosowania prednizolonu zalecono doustne podawanie ranitydyny w dawce 0,5 mg/kg m.c. 2 razy dziennie.

Po 4 dniach pies został przyprawiony do lecznicy na wizytę kontrolną. Stan ogólny był dobry. Nie było gorączki. Błony śluzowe były różowe. Pobrano krew do badań. W badaniu morfologicznym krwi stwierdzono niedokrwistość makrocytarną nie dobarwliwą (liczba erytrocytów 3,53 T/l, MCV 103 fl, MCHC 20,3 mmol/l), wskazującą na pojawianie się młodocianych krwinek oraz zatrzymanie hemolizy wewnątrzkrwiny. Ponadto liczba płytek krwi wróciła do zakresu wartości referencyjnych (225 G/l), utrzymywała się jednak w dalszym ciągu leukocytoza (liczba neutrofilów 36,47 G/l, liczba limfocytów 15,63 G/l). Nadal w uwagach zamieszczona była informacja o nieznacznej aglutynacji rozpoznawanej w mikroskopowym badaniu rozmazu krwi. Wynik mikroskopowego badania krwi w kierunku obecności *B. canis* był negatywny. W badaniach biochemicznych surowicy stężenie mocznika, kreatyniny i potasu pozostawał w normie. Aktywność transaminaz i fosfatazy zasadowej nadal były podwyższone (ALT 320 U/l, AST 96 U/l, ALP 1038 U/l).

Ze względu na znaczne koszty na życie właściciela zdecydowano o prowadzeniu dalszej terapii immunosupresyjnej w warunkach domowych. W związku z tym zrezygnowano z kolejnej dawki winkrystyny planowanej za kolejne 2 dni. Zamiast winkrystyny zalecono podawanie cyklofosfamidu w dawce 25 mg na psa przez kolejne 4 dni, a następnie powtórzenie 4-dniowej terapii po 3-dniowej przerwie. Zgodnie z zaleceniami Moore (34) równocześnie z cyklofosfamidem stosowano furosemid w dawce 2 mg/kg m.c. *p.o.* 1 raz dziennie oraz zalecono stały dostęp do wody pitnej w celu skrócenia zalegania moczu z drażniącymi metabolitami cyklofosfamidu w pęcherzu moczowym. W tym czasie utrzymano dawkę prednizolonu 20 mg na psa 2 razy dziennie.

Właściciel psa zgłosił się na kontrolę dopiero po zakończonej terapii cyklofosfamidem. Pies nie wykazywał żadnych objawów choroby. W badaniach morfologicznych stwierdzono łagodną niedokrwistość normocytarną, normobarwliwą (liczba erytrocytów 4,95 T/l, MCV 76,6 fl, MCHC 19,81 mmol/l), leukocytozę (neutrofile 30,422 G/l, pałeczki 4,452 G/l, limfocyty 1,484 G/l, monocyty 0,742 G/l). Liczba płytek krwi wróciła do zakresu wartości referencyjnych (491 G/l). W badaniach biochemicznych surowicy nadal obserwowano podwyższoną aktywność transaminaz i fosfatazy zasadowej (AST 275 U/l, ALT 1880 U/l, ALP 4780 U/l). Zalecono redukcję dawki prednizolonu do 10 mg na psa

2 razy dziennie przez 10 dni, a następnie podawanie 10 mg na psa 2 razy dziennie co drugi dzień przez kolejne 10 dni. Równocześnie z odstawieniem prednizolonu zalecono odstawienie KCl i ranitydyny.

Na kolejną wizytę kontrolną właściciel psa zgłosił się po miesiącu (10 dni po całkowitym odstawieniu prednizolonu). Pies nie wykazywał żadnych objawów chorobowych. W badaniu morfologicznym krwi nie stwierdzono niedokrwistości, małopłytkowości i leukocytozy. W badaniach biochemicznych podwyższona była aktywność transaminaz i fosfatazy zasadowej (AST 82 U/l, ALT 1005 U/l, ALP 1315 U/l), jednakże znacząco niższa względem badań z przed miesiąca.

Psa uznano za wyleczonego, jednakże poproszono o kontrolne badanie krwi 2 tygodnie później ze względu na podwyższone próby wątrobowe. Właściciel psa nie zgodził się jednak na kolejne badania, uzasadniając to poniesieniem znacznych kosztów związanych z dotychczasową diagnostyką i leczeniem.

Dyskusja

W prezentowanej pracy opisano przypadek psa z niepoddającą się leczeniu glikokortykosteroidami małopłytkowością i niedokrwistością, które pojawiły się w wyniku zarażenia pierwotniakiem *B. canis*. Mechanizm powstawania zarówno małopłytkowości, jak i niedokrwistości w przebiegu babeszjozy nie jest do końca poznany. Uszkodzenie krwinek czerwonych może być spowodowane przez samego pasożyta, jak i przez nadmierną reakcję układu odpornościowego na inwazję prowadzącą do rozwoju niedokrwistości o podłożu immunologicznym (10, 30). Z kolei pojawiająca się równocześnie małopłytkowość najprawdopodobniej spowodowana jest niszczeniem płytek krwi przez własny układ immunologiczny i/lub zużycie płytek krwi (14, 15). Według autorów w prezentowanym opisie przypadku najprawdopodobniej doszło do rozwoju niedokrwistości oraz małopłytkowości o podłożu immunologicznym. Na wystąpienie niedokrwistości o podłożu immunologicznym w tym przypadku wskazują: hemoliza wewnątrzkrwiny, aglutynacja oraz sferocytoza (30, 33). Z kolei na małopłytkowość o podłożu immunologicznym w tym przypadku wskazywać mogą: liczba płytek krwi poniżej 30 G/l (według niektórych źródeł liczba płytek poniżej 50 G/l), niestwierdzenie w mikroskopowym badaniu rozmazu krwi agregatów płytek powodujących pseudotrombocytopenię oraz niestwierdzenie skłonności do krwawień, które by się pojawiły w przypadku tak znacznego zużycia płytek z równoczesnym zużyciem czynników

krzepnięcia, co jest obserwowane w przebiegu zespołu rozsianego krzepnięcia wewnątrznaczyniowego (15, 26, 35). Ponadto zarówno w przypadku niedokrwistości, jak i małopłytkowości na ich podłoże immunologiczne wskazywać mogą: rozpoznana równocześnie przebiegająca inwazja *B. canis* oraz prawidłowa reakcja na leczenie winkrystyną i cyklofosfamidem (15, 30, 36, 37). W prezentowanym przypadku odstąpiono od wykonania testu Coombsa oraz testu na obecność przeciwciał skierowanych przeciwko płytkom krwi. Pozytywny wynik zarówno jednego, jak i drugiego testu wskazuje na immunologiczne podłoże niedokrwistości i małopłytkowości, jednakże wynik negatywny w obu testach nie pozwala wykluczyć niszczenia krwinek czerwonych lub płytek krwi przez własny układ odpornościowy, co wynika ze stosunkowo niskiej czułości tych testów (26, 30, 33).

Zastosowane w początkowej fazie leczenia glikokortykosteroidy nie dały odpowiednich rezultatów. W tym czasie pies nie przyjmował żadnych leków doustnie. W związku z tym podjęto decyzję o zastosowaniu winkrystyny, roślinnego alkaloidu uzyskanego z barwinka różowego (*Catharanthus roseus*) stosowanego w terapii przeciwnowotworowej. Winkrystyna jest cytostatykiem blokującym mitotyczne podziały komórkowe na etapie metafazy. Ponadto winkrystyna jest lekiem indukującym rozwój trombocytozy. W małych dawkach wykazuje również umiarkowane działanie immunosupresyjne. Dzięki temu może być lekiem wykorzystywanym w leczeniu małopłytkowości o podłożu immunologicznym oraz zespołu Evansa (31, 37, 38, 39). W prezentowanym przypadku jednorazowe zastosowanie winkrystyny spowodowało ustąpienie objawu hemoglobinurii oraz wyraźną poprawę kliniczną. Według wiedzy autorów nie ma danych literaturowych, w których opisywano by zastosowanie winkrystyny w leczeniu niedokrwistości o podłożu immunologicznym. Opisany przypadek pokazuje jednak, że winkrystyna może również zahamować hemolizę wewnątrznaczyniową o podłożu immunologicznym spowodowaną pierwotnie inwazją *B. canis*.

Jednorazowo zastosowana winkrystyna spowodowała bardzo wyraźną poprawę stanu klinicznego psa. Pozwoliło to na dalsze leczenie psa w warunkach domowych oraz doustne stosowanie leków. Ze względu na stosunkowo wysokie koszty leczenia winkrystyną (związane z podawaniem leku w postaci dożylnego wlewu kroplowego podawanego w lecznicy) oraz możliwość doustnego podawania leków, podjęta została decyzja o zastosowaniu cyklofosfamidu, zamiast winkrystyny w dalszym leczeniu immunosupresyjnym. Cyklofosamid jest alkilującym cytostatykiem

blokującym mitotyczne podziały komórkowe przez hamowanie enzymów biorących udział w syntezie białek oraz nowo powstających nici DNA. Ponadto cyklofosamid wykazuje działanie immunosupresyjne. Poza terapią przeciwnowotworową w weterynarii stosowany jest on m.in. w leczeniu niedokrwistości i małopłytkowości o podłożu immunologicznym u małych zwierząt (15, 30, 36, 39).

Prezentowany przypadek pokazuje skuteczność winkrystyny i cyklofosfamidu, stosowanych równocześnie z glikokortykosteroidami w leczeniu niedokrwistości i małopłytkowości spowodowanej inwazją *B. canis*. Stosując zarówno winkrystynę, jak i cyklofosamid, należy pamiętać o toksyczności tych leków wynikającej w znacznej mierze z supresji szpiku kostnego oraz w przypadku stosowania cyklofosfamidu możliwości wystąpienia krwotocznego zapalenia pęcherza moczowego w wyniku drażniącego działania na śluzówkę pęcherza metabolitów cyklofosfamidu, takich jak akroleina (34, 36, 37). Ponadto ważne jest, by uprzedzić właściciela lub opiekuna zwierzęcia o niebezpieczeństwie związanym ze stosowaniem leków cytostatycznych, wynikającym z faktu wydalania cytostatyków w postaci niezmienionej lub ich metabolitów w zależności od leku wraz z żółcią, moczem czy przez płuca, przy równoczesnej skłonności leczonych zwierząt do wymiotów lub biegunki. Właściciel leczonego zwierzęcia powinien zostać poinstruowany, iż nie powinno się mieć bezpośredniego kontaktu z lekiem oraz wydzielinami i wydalninami zwierząt leczonych, a pomieszczenia, w których przebywają zwierzęta powinny być często wietrzone. Ponadto w sytuacji, gdy leczony pies zwmiecie, odda stolec lub mocz w domu, zanieczyszczone miejsce powinno być umyte wodą z mydłem, a do sprzątania używane gumowe rękawice (34, 36, 37). Środki ostrożności dotyczą zwłaszcza tych właścicieli zwierząt, u których w jednym domu razem z leczonym psem przebywają dzieci, kobiety w ciąży lub osoby z obniżoną odpornością.

Warto również dodać, iż w prezentowanym przypadku poważnym utrudnieniem w diagnostyce i terapii były możliwości finansowe właściciela psa. Ograniczało to znacząco możliwości monitorowania jego stanu, wykonywanie badań diagnostycznych, takich jak test Coombsa, test na obecność przeciwciał antypłytkowych (PF3 test) czy wreszcie przydatnego w diagnostyce różnicowej wykluczenie metodą PCR współistniejącego zakażenia spowodowanego *Anaplasma phagocytophilum*, w przebiegu którego również może dochodzić do rozwoju niedokrwistości o podłożu immunologicznym oraz małopłytkowości wynikającej najprawdopodobniej ze zużycia płytek krwi (29, 40). Biorąc

jednak pod uwagę ustąpienie objawów klinicznych po zastosowanym leczeniu oraz unormowanie się liczby krwinek czerwonych i płytek krwi, wydaje się mało prawdopodobne, żeby zakażenie *A. phagocytophilum* miało miejsce.

Na zakończenie warto również wymienić inne leki immunosupresyjne oraz metody leczenia znajdujące zastosowanie w terapii niedokrwistości i małopłytkowości o podłożu immunologicznym. Do leków tych należą azatiopryna, cyklosporyna oraz danazol. Ostatecznie, gdy inne metody nie przynoszą pożądanych rezultatów, należy rozważyć możliwość usunięcia śledziony, narządu, w którym dochodzi do niszczenia zarówno krwinek czerwonych, jak i płytek krwi (15, 29, 30). Decyzja taka nie może być jednak podejmowana zbyt pochopnie, zwłaszcza w rejonach endemicznych dla babeszjozy, ze względu na fakt, iż w przebiegu tej choroby brak śledziony jest jednym z czynników powodujących jej cięższy przebieg oraz wyższą śmiertelność (1, 41).

Piśmiennictwo

1. Irwin P.J.: Canine babesiosis: from molecular taxonomy to control. *Parasites & Vectors* 2009, 2 (Suppl), doi:10.1186/1756-3305-2-S1-54.
2. Kjemtrup A.M., Wainwright K., Miller M., Penzhorn B.L., Carreno R.A.: *Babesia conradae*, sp. Nov., a small canine *Babesia* identified in California. *Vet Parasitol.* 2006, **138**, 103-111.
3. Taylor M.A., Coop R.L., Wall R.L.: *Veterinary Parasitology*. Blackwell Publishing, Ames, Iowa 2007.
4. Zygmier 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.
5. Zygmier W., Górski P., Wędrychowicz H.: Detection of the DNA of *Borrelia afzelii*, *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia canis* in blood samples from dogs in Warsaw. *Vet Rec.* 2009, **164**, 465-467.
6. Adaszek L., Winiarczyk S.: Molecular characterization of *Babesia canis canis* isolates from naturally infected dogs in Poland. *Vet Parasitol.* 2008, **152**, 235-241.
7. Zygmier W., Wędrychowicz H.: Occurrence of hard ticks in dogs from Warsaw area. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2006, **13**, 355-359.
8. Siuda K.: *Klęszcze Polski. Część II. Systematyka i rozmieszczenie*. Polskie Towarzystwo Parazytologiczne, Warszawa, 1993, 303-315.
9. Taboada J., Lobetti R.: Babesiosis. W: Greene C.E.: *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. 3rd ed. Saunders ELSEVIER, St. Louis, Missouri, 2006, s. 722-736.
10. Chauvin A., Moreau E., Bonnet S., Plantard O., Malandrin L.: *Babesia* and its hosts: adaptation to long-lasting interactions as a way to achieve efficient transmission. *Vet Res.* 2009, **40**, 37 DOI: 10.1051/vetres/2009020
11. Carli E., Tasca S., Trotta M., Furlanello T., Caldin M., Solano-Gallego L.: Detection of erythrocyte binding IgM and IgG by flow cytometry in sick dogs with *Babesia canis canis* or *Babesia canis vogeli* infection. *Vet. Parasitol.* 2009, **162**, 51-57.
12. Kumar A., Varshney J.P., Patra R.C.: A comparative study of oxidative stress in dogs infected with *Ehrlichia canis* with or without concurrent infection with *Babesia gibsoni*. *Vet. Res. Commun.* 2006, **30**, 917-920.
13. Jacobson L.S.: The South African form of severe and complicated canine babesiosis: Clinical advances 1994-2004. *Vet. Parasitol.* 2006, **138**, 126-139.
14. Furlanello T., Fiorio F., Caldin M., Lubas G., Solano-Gallego L.: Clinicopathological findings in naturally occurring cases of babesiosis caused by large form *Babesia*

- from dogs of northeastern Italy. *Vet. Parasitol.* 2005, **134**, 77-85.
15. Lewis D.C.: Immune-mediated thrombocytopenia. W: Day M., Mackin A., Littlewood J.: *Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine*. BSAVA, Gloucester, 2000, s. 219-227.
 16. Barić Rafaj R., Matijatko V., Kiš L., Kučer N., Živičnjak T., Lemo N., Žvorc Z., Brkljačić M., Mrljak V.: Alterations in some blood coagulation parameters in naturally occurring cases of canine babesiosis. *Acta Vet. Hung.* 2009, **57**, 295-304.
 17. Bourdoiseau G.: Canine babesiosis in France. *Vet. Parasitol.* 2006, **138**, 118-125.
 18. Solano-Gallego L., Trotta M., Carli E., Carcy B., Caldin M., Furlanello T.: *Babesia canis canis* and *Babesia canis vogeli* clinicopathological findings and DNA detection by means of PCR-RFLP in blood from Italian dogs suspected of tick-borne disease. *Vet Parasitol.* 2008, **157**, 211-221.
 19. Dantas-Torres F., Figueredo L.A.: Canine babesiosis: A Brazilian perspective. *Vet. Parasitol.* 2006, **141**, 197-203.
 20. Ruiz de Gopegui R., Peñalba B., Goicoa A., Espada Y., Fidalgo L.E., Espino L.: Clinico-pathological findings and coagulation disorders in 45 cases of canine babesiosis in Spain. *Vet. J.* 2007, **174**, 129-132.
 21. Krause P.J., Daily J., Telford S.R., Vannier E., Lantos P., Spielman A.: Shared features in the pathobiology of babesiosis and malaria. *Trends Parasitol.* 2007, **23**, 605-610.
 22. Heseltine J., Carr A.: Overcoming the diagnostic and therapeutic challenges of canine immune-mediated thrombocytopenia. *Vet. Med.* 2007, **102**, 527-538.
 23. Niwetpathomwat A., Techangamsuwan S., Suvarnavibhaja S., Assarasakorn S.: A retrospective study of clinical hematology and biochemistry of canine babesiosis on hospital populations in Bangkok, Thailand. *Comp. Clin. Pathol.* 2006, **15**, 110-112.
 24. Zygmier W., Gójska O., Rapacka G., Jaros D., Wędrychowicz H.: Hematological changes during the course of canine babesiosis caused by large *Babesia* in domestic dogs in Warsaw (Poland). *Vet. Parasitol.* 2007, **145**, 146-151.
 25. Pedersen N.C.: Review of immunologic diseases of the dog. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1999, **69**, 251-342.
 26. Matuszkiewicz M., Winnicka A.: Trombocytopenia tła immunologicznego u psów. *Zycie Wet.* 2006, **81**, 450-454.
 27. Lobetti R.: Canine babesiosis. W: Day M., Mackin A., Littlewood J.: *Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine*. BSAVA, Gloucester 2000, s. 85-91.
 28. Irwin P.: Babesiosis and cytauxzoonosis. W: Shaw S.E., Day M.J.: *Arthropod-borne Infectious Diseases of the Dog and Cat*. Manson Publishing, London, 2005, s. 63-77.
 29. Mitchell K., Kruth S.: Immune-mediated hemolytic anemia and other regenerative anemias. W: Ettinger S.J., Feldman E.C.: *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. 7th ed., Vol. 1. Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri, 2010, s. 761-772.
 30. Mackin A.: Immune-mediated haemolytic anaemia. W: Day M., Mackin A., Littlewood J.: *Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine*. BSAVA, Gloucester 2000, s.67-77.
 31. Plunkett S.J.: *Emergency Procedures for the Small Animal Veterinarian*. 2nd ed. Saunders Elsevier, Edinburgh, 2000, s.108-112.
 32. Abrams-Ogg A.: Practical blood transfusion. W: Day M., Mackin A., Littlewood J.: *Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine*. BSAVA, Gloucester, 2000, s. 263-303.
 33. Balch A., Mackin A.: Canine immune-mediated hemolytic anemia: pathophysiology, clinical signs, and diagnosis. *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.* 2007, **29**, 217-225.
 34. Moore A.S.: Practical chemotherapy. W: Ettinger S.J., Feldman E.C.: *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. 7th ed. Vol. 2. Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri, 2010, s. 2126-2133.
 35. Mischke R.: *Praktyczna hematologia psów i kotów*. Galaktyka, Łódź, 2010, s.156-160.
 36. Plumb D.C.: *Plumb's Veterinary Drug Handbook*. 6th ed. Blackwell Publishing/PharmaVet Inc., Ames, Iowa, 2008, s. 234-237.
 37. Plumb D.C.: *Plumb's Veterinary Drug Handbook*. 6th ed. Blackwell Publishing/PharmaVet Inc., Ames, Iowa, 2008, s. 927-929.
 38. Podlewski J.K., Chwalibogowska-Podlewska A.: *Leki współczesnej terapii*. Wyd. XVII, Split Trading, Warszawa, 2005, s. 685.
 39. Orzechowska-Juzwenko K.: Leki przeciwnowotworowe. W: Kostowski W., Herman Z.S.: *Farmakologia. Podstawy farmakoterapii*. Tom II. Wyd. 3. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, 2005, s. 400-444.
 40. Greig B., Armstrong P.J.: Canine granulocytotropic anaplasmosis (*A. phagocytophilum* infection). W: Greene C.E.: *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. 3rd ed. Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri, 2006, s. 219-224.
 41. Homer M.J., Aguilar-Delfin I., Telford S.R. 3rd, Krause P.J., Persing D.H.: Babesiosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 2000, **13**, 451-469.

Dr Wojciech Zygmier, Zakład Parazytologii i Inwazyjologii, Katedra Nauk Przedklinicznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej SGGW, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa

The feather abnormalities during pigeon circovirus infection

Dolka B.¹, Szeleszczuk P.¹, Ledwoń A.¹, Malicka E.², Sapieryński R.², Koralewski A.³, Szczepańczyk L.⁴, Division of Avian Diseases¹ and Division of Pathomorphology of Animals², Department of Pathology and Veterinary Diagnostics, Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences – SGGW, Private Veterinary Practice in Lubomino³ and Private Veterinary Practice in Pszczyna⁴

The purpose of this paper was to present cases of pigeon circovirus (PiCV) infection in Poland. This infection has been reported worldwide in breeding pigeons. Pigeon circovirus is the major etiological agent of young pigeon disease syndrome – YPDS. The virus has a preferential tropism for lymphoid tissues, especially primary lymphoid organ – the bursa of Fabricius. Then the recognizable consequence of PiCV infection is immunosuppression. The clinical picture of pigeon circovirus usually shows non-specific general signs, which are often associated with and depend on secondary infections. This paper presents PiCV infection in young racing pigeons in poor condition and with feather abnormalities, which are described as psittacine beak and feather disease (Pbfd).

Keywords: pigeon circovirus, young racing pigeons, PCR.

Zmiany w upierzeniu w przebiegu zakażenia cirkowirusem u gołębi

Beata Dolka¹, Piotr Szeleszczuk¹, Aleksandra Ledwoń¹, Elżbieta Malicka², Rafał Sapieryński², Andrzej Koralewski³, Leszek Szczepańczyk⁴

z Zakładu Chorób Ptaków¹ i Zakładu Patomorfologii Zwierząt² Katedry Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie oraz Prywatnej Praktyki Lekarsko-Weterynaryjnej w Lubominie³ i Prywatnej Praktyki Lekarsko-Weterynaryjnej w Pszczynie⁴

Czynnikiem etiologicznym cirkowirozy gołębi jest cirkowirus gołębi (pigeon circovirus – PiCV, columbid circovirus – CoCV), należący do rodziny Circoviridae rodzaju *Circovirus* (1, 2). Dotychczas poznano wiele cirkowirusów izolowanych od ptaków, m.in. gęsi (goose circovirus – GoCV), kaczek (duck circovirus – DuCV; 3), papug (psittacine beak and feather disease virus – PbfdV; 4, 5, 6), kanarków (canary circovirus – CaCV), szpaków (starling circovirus – StCV; 7), łabędzi (swan circovirus – SwCV) (8) oraz tzw. wirusy podobne do cirkowirusów (circovirus-like) izolowane m.in. od strusi, kruków australijskich (raven circovirus – RaCV; 9), mewy dominikańskiej i srebrzystej (gull circovirus – GuCV), amadyny wspaniałej (finch circovirus – FiCV; 10) oraz wirus zakaźnej

niedokrwistości kurcząt (chicken anemia virus), jedyny przedstawiciel z rodzaju *Gyrovirus*. Cirkowirusy to małe, pozbawione otoczki zarazki o średnicy 14–20 nm, ich genom o wielkości ok. 2 kb stanowi jednoniciowy (ss) DNA (11, 12, 13).

Cirkowiroza określana jest jako zespół nabytego braku odporności gołębi (14). Choroba stanowi największe zagrożenie głównie dla młodych gołębi w wieku od 2 do 12 miesięcy. Opisano przypadki zakażenia już u 3-tygodniowych gołębi pociotowych (14, 15, 16).

Cirkowirus wykazuje tropizm do komórek układu odpornościowego (głównie bursy Fabrycjusza), uszkadzając je powoduje, że młody organizm z nierozwiniętymi w pełni mechanizmami obronnymi nie może się przeciwstawiać rozwojowi