

Piroplazmoza koni

Jacek Karamon, Jacek Sroka, Tomasz Cencek, Jolanta Zdybel

z Zakładu Parazytologii i Chorób Inwazyjnych Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach

Piroplazmoza (babeszjoza) koni jest chorobą przenoszoną przez kleszcze, na którą zapadają zwierzęta koniowate (konie, osły, muły, zebry). Choroba ta wywoływana jest przez dwa gatunki pierwotniaków: *Babesia caballi* i *Theileria equi* (opisywana także jako *Babesia equi*), należące do typu Apicomplexa i rzędu Piroplasmida.

Babesia caballi i *Theileria equi* występują endemicznie w rejonach o klimacie tropikalnym i subtropikalnym: w Afryce, w południowych regionach Azji, w Ameryce Południowej i Środkowej i niektórych rejonach południowych Stanów Zjednoczonych Ameryki. Pasożyty te stwierdza się także w Europie Południowej i Południowo-Wschodniej, w Australii, Japonii, Wielkiej Brytanii, Irlandii, ale nie występują tam endemicznie. Według danych OIE w 2008 r. 27 krajów zgłosiło przypadki piroplazmozy koni (1). W Polsce pierwszy przypadek piroplazmozy u konia potwierdzony

został badaniem PCR przez Adaszka i Winiarczyka w 2008 r. (2). Poprzez analizę sekwencji uzyskanego produktu PCR autorzy wykazali, że koń zarażony był pierwotniakiem z gatunku *B. equi*.

Biologia pasożyta

Babesia caballi to pierwotniak stwierdzany w krwinkach czerwonych. Ma kształt gruszkowaty, wymiary $2,5-5 \times 2 \mu\text{m}$, lub ameboidalny, wymiary $1,5 \times 3 \mu\text{m}$. Postacie gruszkowate występują często parami, połączone węższymi końcami.

Theileria equi (*Babesia equi*) jest małym pierwotniakiem, długości ok. $2 \mu\text{m}$, stwierdzanym w erytrocytach, a także w krwinkach białych w postaci ameboidalnych tworów, rzadziej gruszkowatych. W erytrocytach często występują 4 pierwotniaki układające się w charakterystyczny kształt „krzyża maltańskiego”.

Equine piroplasmosis

Karamon J., Sroka J., Cencek T., Zdybel J.,
Department of Parasitology and Parasitic Diseases,
National Veterinary Research Institute, Puławy

The aim of this paper was to describe some important aspects of equine piroplasmosis. This is one of the most important tickborne protozoal diseases of horses and other equids worldwide. The causative agents, *Babesia caballi* and *Theileria equi*, occur mainly in tropical and subtropical areas but global transport of horses facilitates spreading of this disease also to regions of moderate climate. *B. caballi* and *T. equi* are the protozoal parasites transmitted by blood-sucking ticks. These primary, definitive hosts become infected while feeding on diseased horses – secondary, intermediate hosts for these protozoans. Clinically equine piroplasmosis is characterized by acute or chronic syndromes. To prevent and to resist the introduction of infected, symptomless carrier animal, restricted regulatory import rules are established by some countries. To complete the procedure for imported horses, they require serological examination with CFT, ELISA (ELISA) and IF assays.

Keywords: equine piroplasmosis, pathogenesis, diagnosis, treatment, control.

Cykl rozwojowy

Żywicielem ostatecznym tych pierwotniaków może być co najmniej 21 gatunków kleszczy – cztery z nich zdolne są przenosić *T. equi*, osiem – *B. caballi*, a 9 – obydwie gatunki pierwotniaków (3, 4). Gatunek *B. caballi* przenoszony jest głównie przez kleszcze z rodzajów *Dermacentor*, *Hyalomma*, a *T. equi* – przez kleszcze z rodzajów *Ripicephalus* i *Hyaloma*. W organizmie kleszcza ma miejsce faza płciowa cyklu rozwojowego tych pierwotniaków (gamogonia i sporogonia). Występują istotne różnice pomiędzy *B. caballi* i *T. equi* dotyczące namnażania się pasożyta w organizmie kleszcza, co z kolei ma wpływ na możliwości transmisji. *Babesia caballi* może namnażać się w różnych narządach wewnętrznych kleszcza, w tym także w jajnikach. W ten sposób pasożyt może być przenoszony na następne generacje kleszczy poprzez zarazone jaja (przenoszenie transowarialne). Umożliwia to przetrwanie tych pasożytów w populacji kleszczy, bez konieczności kontaktu z żywicielem pośrednim. Zarazona populacja kleszczy przez długi okres może stanowić źródło inwazji dla koni. W przypadku pierwotniaków *T. equi* w organizmie kleszcza nie występuje transmisja transowarialna. Może natomiast wystąpić transmisja transstadialna, gdy zarazony kleszcz przechodzi kolejne etapy rozwoju (larwa, nimfa i osobnik dojrzały), ciągle pozostając żywicielem tych pierwotniaków. Postacie rozwojowe tego gatunku rozwijają się tylko w jednej generacji kleszczy, tzn., aby populacja pasożytów przetrwała, zarazony kleszcz musi mieć kontakt z żywicielem pośrednim (5).

W przypadku obu gatunków pasożytów kontakt zarażonego kleszcza z żywicielem pośrednim (koniowate) i pobranie przez niego krwi jest momentem, w którym dochodzi do stymulacji dojrzewania postaci rozwojowych tych pierwotniaków. Dlatego też, aby doszło do transmisji inwazji, kleszcz musi przebywać na swoim żywicielu aż do czasu, gdy pierwotniaki przekształcają się w postaci inwazyjne – *B. caballi* i *T. equi* często są przenoszone do organizmu konia dopiero po kilku dniach od momentu kontaktu kleszcza z krwią konia. Postacie inwazyjne (sporozoity) gromadzą się w śliniankach kleszczy i są wprowadzone do organizmu i krwiobiegu żywiciela pośredniego (koniowate) wraz ze śliną kleszczy. Sporozoity *B. caballi* atakują krwinki czerwone. Wewnątrz erytrocytów przekształcają się w trofozoity, które powiększają swoje rozmiary i dzielą się na dwa merozoity. Dojrzałe merozoity mogą wnikać do następnych erytrocytów i proces podziału się powtarza. W przypadku inwazji *T. equi* wykazano, że sporozoity najpierw atakują limfocyty (6). W cytoplazmie

limfocytów przekształcają się w schizonty, a powstałe po podziale merozoity atakują następnie erytrocyty, gdzie dochodzi do dalszych podziałów. Uwolnione po podziale i rozpadzie erytrocytu potomne merozoity atakują następne krwinki czerwone. W przypadku inwazji *B. caballi* zarazone jest ok. 1% krwinek, a w przypadku *T. equi* nawet ok. 20%.

Pierwotniaki wywołujące piroplazmozę mogą być także przenoszone bezpośrednio z jednego żywiciela pośredniego na drugiego (bez udziału kleszczy) poprzez zanieczyszczone igły i strzykawki lub podczas transfuzji krwi. Ponadto *T. equi* może być przenoszona transplacentalnie – z kłaczy na źrebki.

Po zarażeniu zwierzęta mogą przez długi okres pozostawać nosicielami. W przypadku *B. caballi* może to trwać do 4 lat, potem dochodzi do eliminacji pasożyta. W przypadku inwazji *T. equi* zakłada się, że pierwotniak pozostaje stale obecny w organizmie zwierzęcia. U nosicieli zwykle nie stwierdza się pierwotniaka we krwi, do wtórnej parazytemii może dojść w momencie spadku odporności lub po wyczerpującym wysiłku.

Patogeneza

Bezpośrednie negatywne oddziaływanie tych pierwotniaków na organizm konia (niszczenie krwinek czerwonych) odgrywa mniejszą rolę w rozwoju choroby niż indukowane przez te pasożyty procesy immunologiczne. W wyniku odpowiedzi układu odpornościowego dochodzi m.in. do wzmożonej fagocytozy krwinek czerwonych w celu wyeliminowania krwinek zawierających pasożyty. Okazuje się, że aktywowane makrofagi fagocytują także w znacznej liczbie erytrocyty niezarażone. Podczas inwazji dochodzi także do destabilizacji błony komórkowej erytrocytów. Ponadto aktywator wytwarzany przez pierwotniaki wywołuje wzrost poziomu kinin, co zaburza krążenie i powoduje uszkodzenia różnych narządów wewnętrznych, głównie nerek. Uwalniana w wyniku rozpadu krwinek hemoglobina jest wydalana z moczem (hemoglobinuria). Zaburzone są także mechanizmy metabolizmu hemoglobiny, co prowadzi do żółtaczki. Okres inkubacji choroby wynosi w przypadku *T. equi* od 12 do 19 dni, a przypadku *B. caballi* 10–30 dni (5, 7)

Objawy kliniczne

Spośród dwóch czynników etiologicznych wywołujących piroplazmozę *T. equi* uważana jest za bardziej patogeny. Piroplazmoza koni może przebiegać w postaciach nadostrej, ostrej, podostrej lub przewlekłej. Postać nadostra występuje bardzo rzadko

i charakteryzuje się nagłym padnięciem zwierzęcia (24–48 godzin po wystąpieniu objawów chorobowych). Częściej stwierdza się postać ostrą. Charakteryzuje ją wysoka gorączka (40°C), brak apetytu, przyspieszony oddech i tętno, przekrwienie błon śluzowych, suchy kał lub biegunka. Ponadto mogą pojawić się: niedokrwistość, hemoglobinuria, trombocytopenia, wybroczyny na spojówkach, łzawienie, obrzęki podskórne w okolicach głowy i szmery sercowe. Mogą także wystąpić objawy nerwowe w postaci braku koordynacji ruchów i niedowładów będących wynikiem zatorów w naczyniach mózgowych. Inwazja może zakończyć się śmiercią zwierzęcia w ciągu kilku do kilkunastu dni. Postać podostra przebiega w podobny sposób, tylko objawy są mniej natężone. Chorujące zwierzęta dodatkowo tracą na wadze, gorączka może być nawracająca, widoczne błony śluzowe są blade, bladożółte, czasami z wybroczynami. Mogą pojawić się objawy morzyskowe. Przewlekła postać piroplazmozy charakteryzuje się zwykle objawami nieswoistymi, takimi jak: lekki spadek apetytu, niewielki spadek masy ciała, mała tolerancja na wysiłek. W badaniu *per rectum* wyczuwalne jest powiększenie śledziony. Choroba może trwać wiele miesięcy. Niektóre zarażone ciężarne kłaczki mogą ronić. Źrebki zarażone przez kłaczki poprzez łożysko rodzą się słabe, z szybko rozwijającą się niedokrwistością, ale mogą też nie wykazywać objawów chorobowych i stać się bezobjawowymi nosicielami (5, 7).

Rozpoznanie

W rozpoznaniu należy uwzględnić objawy kliniczne, a także sytuację epizootyczną na danym terenie. Jednak, ze względu na różnorodny i często nieswoisty obraz kliniczny piroplazmozy, do potwierdzenia rozpoznania konieczne jest przeprowadzenie badań laboratoryjnych zmierzających bądź do wykrycia przeciwciał anty-*Babesia* spp., bądź do wykrycia pasożyta lub jego DNA.

Najstarszą laboratoryjną metodą diagnostyczną jest badanie mikroskopowe rozmazów krwi lub odcisków z narządów barwionych metodą Giemsy i poszukiwanie charakterystycznych pasożytów (merozoitów) w erytrocytach. Jest to jednak metoda zawodna, szczególnie przy niskim poziomie parazytemii występującym często przy przewlekłym przebiegu inwazji.

W badaniach przeglądowych oraz badaniach koni przeznaczonych na eksport wykorzystywane są testy serologiczne. Rozwój globalnego transportu koni umożliwił rozprzestrzenianie piroplazmozy z terenów tropikalnych i subtropikalnych na nowe regiony, gdzie pasożyty te nie występują endemicznie. W związku z tym w wielu krajach

wprowadzono restrykcyjne przepisy mające zapobiec wprowadzeniu na ich terytorium koni zarażonych *B. caballi* lub *T. equi*, mogących stanowić rezerwuuar tych pasożytów. Regulacje prawne dotyczą często obowiązkowego serologicznego badania koni, mającego na celu identyfikację osobników seropozytywnych, których import podlega restrykcjom (8, 9). Opracowano wiele rodzajów metod serologicznych do diagnostyki piroplazmozy koni. Podręcznik OIE zaleca odczyn wiązania dopełniacza (OWD), odczyn immunofluorescencji oraz test ELISA. Obecnie, ze względu na dość częste wyniki fałszywie ujemne oraz reakcje nieswoiste uzyskiwane w OWd, zalecane jest badanie koni testem IFAT lub ELISA (a szczególnie jego bardziej specyficzną odmianą – kompetywnym ELISA, cELISA; 1, 3, 10, 11, 12, 13, 14). W USA od 22 sierpnia 2005 r. oficjalną metodą diagnostyczną wymaganą przy imporcie koni jest cELISA (15). W Polsce metoda IFAT (immunofluorescencji pośredniej) jest w fazie wprowadzania do stosowania w Państwowym Instytucie Weterynaryjnym w Puławach.

Przydatność metod serologicznych jest jednak ograniczona ze względu na ich stosunkowo niską czułość oraz możliwość wystąpienia reakcji krzyżowych. Dlatego w diagnostyce piroplazmozy coraz szerzej ostatnio wprowadzane są metody molekularne, które w założeniu powinny charakteryzować się wyższą czułością i specyficznością niż testy serologiczne oraz umożliwiać rozpoznanie inwazji nawet przy bardzo niskim poziomie parazytemii (3). W tym celu zaadaptowano technikę PCR do wykrywania DNA *B. caballi* i *T. equi* (14, 15, 16, 17, 18, 19), a także technikę real-time PCR (20).

Zwalczanie

Zapobieganie piroplazmozie koni polega na niewprowadzaniu zwierząt chorych na tereny wolne od tej choroby (weryfikacja za pomocą testów serologicznych).

W miarę możliwości należy zapobiegać kontaktowi konia z kleszczami. W związku z tym wskazane jest regularne oglądanie powłok skórnych zwierząt, a w razie stwierdzenia kleszcza szybkie usunięcie go ze skóry (do zarażenia dochodzi czasem dopiero po kilku dniach od kontaktu kleszcza z koniem). W rejonach endemicznych w celu ograniczenia populacji kleszczy stosowane są także akarycydy.

W przypadku potwierdzonej piroplazmozy można podjąć leczenie. Należy zaznaczyć, że wrażliwość *B. caballi* i *T. equi* na poszczególne leki jest różna. Wysoka skuteczność w leczeniu piroplazmozy wywołanej przez *B. caballi* wykazują następujące środki: diminazen (3,5 mg/kg m.c.,

i.m. przez 2 dni), amikarbalid 2,2 mg/kg m.c. *i.m.*), imidokarb (2,2 mg/kg m.c., *i.m.*, 4-krotnie co 3 dni – ze względu na toksyczność leku dawkę dzienną należy podzielić i podawać w odstępach 6-godzinnych) (5) Wymienione leki (skuteczne przeciwko *Babesia caballi*) mogą także zlikwidować lub znacznie ograniczyć objawy chorobowe wywołane przez inwazję *T. equi*, natomiast nie dają satysfakcjonujących wyników w eliminacji pierwotniaków *T. equi*. Najczęściej leczenie tymi środkami nie prowadzi do zlikwidowania wszystkich pasożytów *T. equi* w organizmie zarażonego zwierzęcia, które staje się bezobjawowym nosicielem tego pasożyta (7).

Natomiast efektywne w zwalczaniu *T. equi* (ale nie *B. caballi*) jest zastosowanie antybiotyków tetracyklinowych, np. oksytetracyklina w dawce 5,5 mg/kg m.c., *i.v.*, podawana codziennie przez co najmniej 2 dni (7). Inni autorzy proponują zastosowanie przeciwko *T. equi* pochodnych naftochinonu (parvaquone i buparvaquone) wskazując na wysoką aktywność tych substancji przeciw schizontom tego pierwotniaka. Proponowana jest także terapia skojarzona (buparvaquone + imidokarb; 23).

Jako terapia wspomagająca stosowane są antybiotyki o szerokim spektrum działania oraz wlewy dożyłne płynu wieloelektrolitowego i 5% glukozy, a także transfuzje krwi (7). W przypadku wystąpienia reakcji nadwrażliwości na lek (np. po zastosowaniu imidokarbu lub diminazenu) stosuje się dodatkowo glikokortykosteroidy. Jak dotąd nie opracowano skutecznej szczepionki przeciw inwazji *B. caballi* i *T. equi*.

Piśmiennictwo

- OIE (2009) World Animal Health Information Database Interface. [www.oie.int/wahis/public.php?page=disease_timelines].
- Adaszek L., Winiarczyk S.: Przypadek babeszjozy u konia. *Medycyna Wet.* 2008, **64**, 1317-1320.
- Jaffer O., Abdishakur F., Hakimuddin F., Riya A., Wernery U., Schuster R.K.: A comparative study of serological test and PCR for the diagnosis of equine piroplasmosis. *Parasitol Res.* 2010, **106**, 709-713.
- APHIS (2008) Equine piroplasmosis and the 2010 World Equestrian Games. [www.aphis.usda.gov/vsnahss/equine/]
- Gundlach J.L., Sadzikowski A.B., Studzińska M.B.: Inwazje pierwotniaków u koni. *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska Lublin – Polonia DD*, 2006, **61**, 31-44.
- Schein E., Rehbein G., Voigt W.P., Zweygarth E.: *Babesia equi* Leveran, 1901). Development in horses and in lymphocyte culture. *Tropenmed Parasitol.* 1981, **32**, 223-227.
- Bruning A.: Equine piroplasmosis an update on diagnosis, treatment and prevention. *Br. Vet. J.* 1996, **152**, 139-146.
- Friedhoff, K.T., Tenter, A.M., Müller, I.: Haemoparasites of equines: impact on international trade of horses. *Rev. Sci. Tech.* 1990, **9**, 1187-1194.
- Sluyter, F.J.: Traceability of Equidae: a population in motion. *Rev. Sci. Tech.* 2001, **20**, 500-509.
- Ogunremi O., Georgiadis M.P., Halbert G., Benjamin J., Pfister K., Lopez-Rebollar L.: Validation of the indirect fluorescent antibody and the complement fixation tests for the diagnosis of Theileria equi. *Vet. Parasitol.* 2007, **148**, 102-108.
- Ogunremi O., Halbert G., Mainar-Jaime R.: Accuracy of an indirect fluorescent-antibody test and of

a complement-fixation test for the diagnosis of *Babesia caballi* in field samples from horses. *Prev. Vet. Med.* 2008, **83**, 41-51.

- Camacho A. T., Guitian F. J., Pallas E., Gestal J. J., Olmeda A. S., Habela M. A., Telford S. R.: Theileria (*Babesia*) equi and *Babesia caballi* infections in horses in Galicia, Spain. *Trop Anim. Health Production* 2005, **37**, 293-302.
- Xuana X., Chahan B., Huanga X., Yokoyama N., Makala L. H., Igarashi I., Fujisaki K., Maruyama S., Sakai T., Mikamic T.: Diagnosis of equine piroplasmosis in Xinjiang province of China by the enzyme-linked immunosorbent assays using recombinant antigens. *Vet. Parasitol.* 2002, **108**, 179-182.
- Boldbaatar D., Xuana X., Battsetseg B., Igarashia I., Baturb B., Batsukhb Z., Bayambaab B., Fujisaki K.: Epidemiological study of equine piroplasmosis in Mongolia. *Vet. Parasitol.* 2005, **127**, 29-32.
- Centers for Epidemiology and Animal Health, Veterinary Service, United States Department of Agriculture: Seroprevalence of Equine Piroplasmosis Disease Agents in the United States. APHIS Info Sheet, October 2009. (<http://nahms.aphis.usda.gov/equine/EP%20info%20sheet.pdf>)
- Bashiruddin J.B., Camma C., Rebelo E.: Molecular detection of *Babesia equi* and *Babesia caballi* in horse blood by PCR amplification of part of the 16S rRNA gene. *Vet. Parasitol.* 1999, **84**, 75-83.
- Rampersad J., Cesar E., Campbell M.D., Samlal M., Ammons D.: A field evaluation of PCR for the routine detection of *Babesia equi* in horses. *Vet. Parasitol.* 2003, **114**, 81-87.
- Bhoora R., Franssen L., Oosthuizen M.C., Guthrie A.J., Zweygarth E., Penzhorn B.L., Jongejan F., Collins N.E.: Sequence heterogeneity in the 18S rRNA gene within *Theileria equi* and *Babesia caballi* from horses in South Africa. *Vet. Parasitol.* 2009, **159**, 112-120.
- Sahagun-Ruiz A., Wagnela S.D., Holman P.J., Chieves L.P., Wagner G.G.: Biotin-labeled DNA probe in a PCR-based assay increases detection sensitivity for the equine hemoparasite *Babesia caballi*. *Vet. Parasitol.* 1997, **73**, 53-63.
- Rampersad J., Cesar E., Campbell M.D., Samlal M., Ammons, D.: A field evaluation of PCR for the routine detection of *Babesia equi* in horses. *Vet. Parasitol.* 2003, **114**, 81-87.
- Alhassan A., Pumidomning W., Okamura M., Hirata H., Battsetseg B., Fujisaki K., Yokoyama N., Igarashi I.: Development of a single-round and multiplex PCR method for the simultaneous detection of *Babesia caballi* and *Babesia equi* in horse blood. *Vet. Parasitol.* 2005, **129**, 43-49.
- Bhoora R., Quan M., Franssen L., Butler C., Van der Kolk J.H., Guthrie A.J., Zweygarth E., Jongejan F., Collins N.E.: Development and evaluation of real-time PCR assays for the quantitative detection of *Babesia caballi* and *Theileria equi* infections in horses from South Africa. *Vet. Parasitol.* 2010, **168**, 201-211.
- Zaugg J.L., Lane V.M.: Efficacy of buparvaquone as the therapeutic and clearing agent of *Babesia equi* of European origin in horses. *Am. J. Vet. Res.* 1992, **53**, 1396-1399.

Dr Jacek Karamon, Państwowy Instytut Weterynaryjny, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy