رفع باکتریمی ناشی از *مایکوپلاسما هموفلیس* متعاقب درمان دوگانه با داکسی‌سایکلین و سیپروفلوکساسین

رضا آذرگون*[۱]، وحید محمدی[۱]، محمود محمودی[۲]، شاهین احتشام‌فر[۲]

۱- استادیار، گروه بیماری‌های درونی و کلینیکال پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.
۲- کارشناس ارشد، گروه بیماری‌های درونی و کلینیکال پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

دریافت مقاله: ۱۸ آذر ۱۳۹۹، بازنگری: ۴ بهمن ۱۳۹۹، پذیرش نهایی: ۲۰ اسفند ۱۳۹۹

چکیده

مایکوپلاسما هموفلیس یک باکتری کوچک بدون دیواره با شیوع جهانی است که گلبول‌های قرمز را آلوده می‌کند و بدون درمان مؤثر ممکن است باعث مرگ شود. عدم موفقیت بیشتر پروتکل‌های درمانی آنتی‌بیوتیکی در از بین بردن این عامل بالقوه مشترک بین انسان و دام ضرورت تعیین یک درمان بهینه را برجسته می‌کند. یک گربه موکوتاه خانگی دو ساله با علائم بی‌حالی، تب، زردی و کم‌خونی به بیمارستان دامپزشکی دانشگاه ارومیه ارجاع داده شد. یافته‌های بالینی، نتایج بررسی گسترش خون رنگ‌آمیزی‌شده به روش گیمسا و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز روی ژن 16S rRNA عفونت ناشی از مایکوپلاسما هموفلیس را تأیید کردند. داکسی‌سایکلین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم خوراکی هر ۲۴ ساعت) به مدت ۴ هفته تجویز شد. با این حال، بهبودی بالینی حاصل نشد و در بررسی سیتولوژی تداوم آلودگی با مایکوپلاسما هموفلیس رؤیت گردید. پس از شروع درمان دوگانه با افزودن سیپروفلوکساسین (۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم خوراکی هر ۲۴ ساعت) به مدت دو هفته، رفع باکتریمی با بررسی مجدد سیتولوژی و نتیجه منفی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به‌عنوان روش تشخیصی ارجح، مورد تأیید قرار گرفت. طبق اطلاعات نویسندگان، این اولین گزارش رفع باکتریمی ناشی از مایکوپلاسما هموفلیس با استفاده از درمان دوگانه با داکسی‌سایکلین و سیپروفلوکساسین است. پیشنهاد می‌شود این پروتکل برای بیماران گربه‌سان بیشتری امتحان شود.

واژه‌های کلیدی: *داکسی‌سایکلین، سیپروفلوکساسین، گربه، مایکوپلاسما هموفلیس*

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبه: R.azargoun@urmia.ac.ir

مقدمه

مایکوپلاسموز گربه‌سانان که به‌عنوان کم‌خونی عفونی گربه‌سانان نیز شناخته می‌شود، یک بیماری بالینی خطرناک در گربه‌ها بوده و به طور بالقوه می‌تواند زئونوز نیز باشد (۱). این باکتری‌ها به سطح گلبول‌های قرمز متصل شده و باعث تغییر شکل شدید سلولی و کم‌خونی همولیتیک می‌شوند (۲). تاکنون سه گونه مایکوپلاسما که قادر به ایجاد آلودگی در گربه‌ها بوده شناخته شده و شامل مایکوپلاسما هموفلیس، کاندیداتوس مایکوپلاسما هومومینتوم و کاندیداتوس مایکوپلاسما توریسنسیس می‌باشند (۳). به‌طور معمول مایکوپلاسما هموفلیس بیماری‌زاترین و همچنین شایع‌ترین گونه در گربه‌های ایران محسوب می‌گردد (۴). دو گونه دیگر معمولاً با کم‌خونی یا ناهنجاری‌های بالینی مرتبط نیستند، مگر اینکه بیماری دیگری به صورت همزمان وجود داشته باشد. اگرچه انتقال از طریق ناقلین بندپا پیشنهاد شده است، اما آلودگی می‌تواند از طریق رفتارهای تهاجمی و حین انتقال خون نیز گسترش یابد (۲، ۳).

آنتی‌بیوتیک درمانی باید برای گربه‌هایی در نظر گرفته شود که دارای علائم بالینی و ناهنجاری‌های کلینیکال پاتولوژی مطابق با مایکوپلاسما هموفلیس می‌باشند (۵). پروتکل‌های درمانی فعلی در کاهش میزان آلودگی خون با مایکوپلاسما هموفلیس مؤثر هستند، اما رفع باکتریمی به‌ندرت حاصل می‌شود. تتراسایکلین‌ها یا فلوروکینولون‌ها اغلب برای درمان عفونت ناشی از مایکوپلاسما هموفلیس گزارش می‌شوند (۶). با این حال ممکن است برای بعضی بیماران که در برابر تک درمانی با تتراسایکلین‌ها یا فلوروکینولون‌ها از خود مقاومت نشان می‌دهند، توصیه گردد که یک داروی دیگر نیز در نظر گرفته شود (۷).

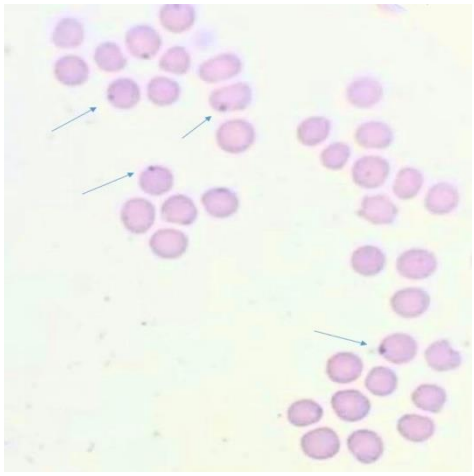
معرفی بیمار: یک گربه موکوتاه خانگی دو ساله نر و عقیم نشده با علائم بی‌حالی و کم‌اشتهایی در ۳ روز گذشته، به بیمارستان دامپزشکی دانشگاه ارومیه ارجاع داده شد. صاحب حیوان ادعا کرد که دوره کامل واکسیناسیون و انگل‌زدایی انجام شده و گربه امکان پرسه زدن آزادانه در بیرون از منزل را داشته است. در معاینه بدنی لاغری، ضعف و پوشش مویی ضعیف مشخص شد. بر اساس یافته‌های بالینی، حیوان دچار کم‌آبی، تب (۳۹/۹ درجه سانتی‌گراد) و زردی خفیف بود (شکل ۱). با استفاده از یک کیت تشخیصی تجاری (تست سریع ترکیبی FIV Ab + FeLV Ag، کوئیکینگ بیوتک، چین) تأیید شد که بیمار فاقد ویروس لوسمی گربه‌سانان و ویروس نقص ایمنی گربه‌سانان می‌باشد. یافته‌های آزمایشگاهی نشان‌دهنده کم‌خونی، آنیزوسیتوز و هماتوکریت پایین (۱۸ درصد) بودند (جدول ۱). پس از بررسی گسترش خونی رنگ‌آمیزی شده به روش گیمسا توسط یک کلینیکال پاتولوژیست دارای مدرک بورد تخصصی، ارگانیسم‌های کوچک کروی در حاشیه گلبول‌های قرمز مشاهده شدند که مؤید مایکوپلاسما هموفلیس بودند (شکل ۲).

شکل ۱- زردی خفیف در مخاط محوطه دهانی گربه مبتلا به *مایکوپلاسما هموفلیس*

جدول ۱- پارامترهای هماتولوژی و بیوشیمیایی سرم گربه مبتلا به *مایکوپلاسما هموفلیس*

پارامتر	مقدار	محدوده مرجع
گلبول‌های سفید (میلی‌لیتر/10^{-3})	۱۳/۷	۴/۰۴-۱۸/۷۰
لنفوسیت (میلی‌لیتر/10^{-3})	۲/۱	۰/۸-۶/۱
مونوسیت (میلی‌لیتر/10^{-3})	۰/۵	۰/۰-۰/۷
ائوزینوفیل (میلی‌لیتر/10^{-3})	۰/۶	۰/۰-۱/۵
بازوفیل (میلی‌لیتر/10^{-3})	۰/۰	۰/۰-۰/۱
گلبول‌های قرمز (میکرولیتر/10^{-6})	*۴/۵	۶/۵۶-۱۱/۲۰
هموگلوبین (گرم/دسی‌لیتر)	*۸/۲	۱۰/۶-۱۵/۶
هماتوکریت (درصد)	❋۱۸	۳۱/۷-۴۸
میانگین حجم گلبول‌های قرمز (فمتولیتر)	*۵۳/۹	۳۶/۷-۵۳/۷
میانگین هموگلوبین گلبول‌های قرمز (پیکوگرم)	❋۱۲	۱۲/۳-۱۷/۳
میانگین غلظت هموگلوبین گلبول‌های قرمز (گرم/دسی‌لیتر)	*۲۹/۶	۳۰/۱-۳۵/۶
پلاکت (میلی‌لیتر/10^{-3})	۳۷۶/۱	۱۷۵-۵۰۰
آلکالین فسفاتاز (واحد/لیتر)	۵۲/۷	۲۲-۸۷
آلانین آمینوترانسفراز (واحد/لیتر)	*۱۵۵/۴	۳۳-۱۵۲
آسپارتات آمینوترانسفراز (واحد/لیتر)	*۳۹/۱	۱-۳۷
پروتئین (گرم/دسی‌لیتر)	۸/۳	۶/۰-۸/۶
آلبومین (گرم/دسی‌لیتر)	۳/۵	۲/۴-۳/۸
نیتروژن اوره (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	*۳۶/۳	۱۵-۳۲
کراتینین (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	*۲/۲	۱-۲
گلوکز (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	۷۴/۹	۶۷-۱۶۸

❋ خارج از محدوده مرجع

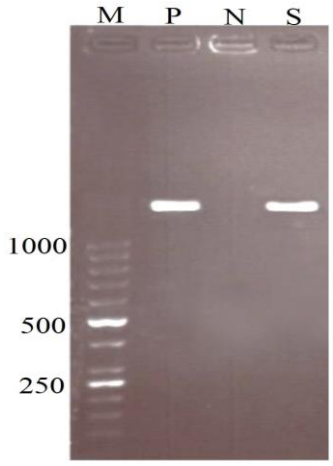


شکل ۲- کوکسی‌های کوچک آبی رنگ نشان‌دهنده آلودگی با *مایکوپلاسما هموفلیس* (رنگ‌آمیزی گیمسا، بزرگنمایی ۱۰۰۰)

به منظور تشخیص قطعی، ژنوم استخراج شده از نمونه خون بیمار با واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) طبق روشی که قبلا توسط ویلی و همکاران در سال ۲۰۰۶ ارائه شده بود، مورد بررسی قرار گرفت (۸). پروتکل و توالی آغازگر PCR در جدول ۲ نشان داده شده است. با الکتروفورز محصول نهایی روی ژل آگارز و بررسی آن با اتیدیوم بروماید آلودگی با مایکوپلاسما هموفلیس تأیید گردید (شکل ۳).

جدول ۲- پروتکل و توالی‌های آغازگر PCR جهت شناسایی *مایکوپلاسما هموفلیس*

ژن هدف	کنترل مثبت (bp)	توالی‌های آغازگر	برنامه PCR
16S rRNA *M. haemofelis*	۱۳۰۹	F: 5′-TCG AAC GGA YYT TGG TTT CG-3′ R: 5′-CAA ATG AAT GTA TTT TTA AAT GCC CAC-3′	98 °C, 3 min; 35 cycles [98 °C, 10 s; 68 °C, 30 s; 72 °C, 1 min]; 72 °C, 10 min



شکل ۳- نتیجه PCR نمونه خون گربه مبتلا به *مایکوپلاسما هموفلیس* (M: مارکر مولکولی، P: کنترل مثبت، N: کنترل منفی و S: نمونه)

آنتی‌بیوتیک درمانی با داکسی‌سایکلین (داکسی‌سایکلین، رازک، تهران، ایران) (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم هر ۲۴ ساعت به صورت خوراکی) به‌عنوان اولین انتخاب برای درمان مایکوپلاسما هموفلیس به مدت ۴ هفته آغاز شد (۶). با این حال پس از یک ماه مصرف داکسی‌سایکلین، بهبود بالینی قابل ملاحظه‌ای در بیمار مشاهده نشد و طی بررسی سیتولوژی نمونه‌های خون محیطی، باکتریمی پایدار بود. بنابراین سیپروفلوکساسین (سیپروفلوکساسین، رزاک، تهران، ایران) (۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم هر ۲۴ ساعت به صورت خوراکی) به پروتکل درمانی اضافه شد و آنتی‌بیوتیک درمانی به صورت دوگانه برای دو هفته دیگر تداوم یافت.

هنگامی که پروتکل جدید درمانی آغاز شد وضعیت بالینی بیمار به تدریج بهبود یافت و در پایان دوره درمان، به‌طور شگفت‌آوری هیچ باکتری در سیتولوژی نمونه‌های خون محیطی مشاهده نشد. به منظور تأیید رفع مؤثر باکتریمی، یک هفته پس از خاتمه پروتکل درمانی جدید، مجدداً آزمایش PCR انجام شد و در پایان هیچ محصولی در راستای باند کنترل مثبت تکثیر نگردید.

بحث و نتیجه‌گیری

مایکوپلاسما هومولیس که قبلاً به نام هموبارتونلا فلیس شناخته می‌شد، یک باکتری گرم منفی و غیر اسید فست بوده که علی‌رغم تلاش‌های فراوان، کشت آن روی محیط‌های مصنوعی ناموفق بوده است (۱). سیتولوژی گسترش خون از روش‌های مرسوم تشخیص مایکوپلاسما هومولیس بوده که در صورت وجود بیماری، کوکسی‌های آبی رنگ با قطر ۰/۳ تا ۰/۸ میکرومتر بر سطح گلبول‌های آلوده در نمای میکروسکوپی قابل مشاهده خواهد بود. اما اخیراً، بررسی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به دلیل حساسیت و ویژگی بالاتر، به‌عنوان روش منتخب برای تشخیص مایکوپلاسما هومولیس معرفی شده است (۷). با استفاده از روش حساس و دقیق PCR قاضی سعیدی و همکاران در سال ۲۰۱۴ شیوع مایکوپلاسماهای هموتروپیک را در ایران حدود ۲۲ درصد در جمعیت گربه‌های موکوتاه ایرانی گزارش نمودند که از این میزان شیوع مایکوپلاسما هومولیس، کاندیداتوس مایکوپلاسما هومینتوم و کاندیداتوس مایکوپلاسما تورینسیس به ترتیب ۶۳/۶۳ درصد، ۵۴/۵۴ درصد و ۱۸/۱۸ درصد بوده است (۴).

رفع مؤثر باکتریمی ناشی از مایکوپلاسما هومولیس برای گربه‌های بیماری که در کنار گربه‌های سالم زندگی می‌کنند، برای گربه‌های دارای نقص ایمنی، برای گربه‌های اهدا کننده خون، برای گربه‌هایی که با انسان‌های مبتلا به ایدز یا لوپوس اریتماتوز سیستمیک زندگی می‌کنند به دلیل پتانسیل مشترک بودن بیماری بین انسان و حیوان، می‌تواند حیاتی باشد (۶). پروتکل‌های مختلفی برای درمان مایکوپلاسموز گربه‌سانان ارزیابی شده‌اند. اکثر این پروتکل‌ها به صورت تک درمانی بوده و هیچ یک از آنها به طور قابل اعتماد آلودگی مایکوپلاسما هومولیس را از بین نمی‌برند. از آنجا که مایکوپلاسماهای گربه‌سانان جزء باکتری‌های فاقد دیواره محسوب می‌شوند، آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام در درمان این عوامل مؤثر نمی‌باشند (۷). در گذشته برای کنترل آلودگی‌های ناشی از مایکوپلاسما هومولیس کلرامفنیکل تجویز می‌گردید، اما امروزه مصرف این دارو به دلیل ایجاد هیپوپلازی اریتروئید وابسته به دوز در مغز استخوان گربه‌ها توصیه نمی‌شود. همچنین آزیترومایسین یا ایمیدوکارب دی‌پروپیونات نیز در درمان آلودگی ناشی از مایکوپلاسماهای هموتروپیک در گربه‌ها مؤثر نشان داده نشده‌اند. امروزه تتراسایکلین‌ها (مثل داکسی‌سایکلین) یا فلوروکینولون‌ها (مثل ماربوفلوکساسین) به‌عنوان آنتی‌بیوتیک‌های ارجح در نظر گرفته می‌شوند (۹).

داکسی‌سایکلین اغلب به‌عنوان خط اول درمان، به مدت ۴ هفته تجویز می‌شود (۲). با این حال در مطالعه Novacco و همکاران در سال ۲۰۱۸، تک درمانی با داکسی‌سایکلین منجر به رفع باکتریمی در تمام گربه‌های آلوده به مایکوپلاسما هومولیس نگردید. این امکان وجود دارد که گونه‌های مختلف مایکوپلاسما، پاسخی متفاوت به درمان‌های آنتی‌بیوتیکی نشان دهند. اخیراً یک مطالعه نشان داد که مایکوپلاسما سوئیس قادر است به درون گلبول‌های قرمز خون خوک نفوذ نماید، که با مقاومت قابل توجه در برابر درمان آنتی‌بیوتیکی ارتباط دارد (۷). برخی دامپزشکان برای افزایش احتمال رفع باکتریمی، دوره‌های طولانی‌تر آنتی‌بیوتیک درمانی (مثلاً ۸ هفته) را پیشنهاد می‌کنند. اما دوره‌های طولانی‌تر آنتی‌بیوتیک درمانی تضمین‌کننده رفع باکتریمی نبوده و ممکن است منجر به بروز عوارض جانبی و مقاومت دارویی در حیوانات تحت درمان شود (۶).

فلوروکینولون‌ها مانند ماربوفلوکساسین، پرادوفلوکساسین و اوربیفلوکساسین توسط برخی از

محققین به‌عنوان خط دوم درمانی توصیه شده‌اند (۱۲-۱۰). انروفلوکساسین به‌عنوان یک جایگزین مناسب برای داکسی‌سایکلین، با موفقیت در کنترل علائم ناشی از مایکوپلاسما همولیس استفاده شده است. اگرچه در برخی از گربه‌ها مسمویت دائمی شبکیه و کوری ناگهانی متعاقب مصرف این دارو گزارش شده است (۵). سیپروفلوکساسین متابولیت انروفلوکساسین بوده که می‌تواند به دلیل طیف فعالیت مشابه، به‌عنوان جایگزین برای انروفلوکساسین تجویز گردد. برجسته‌ترین مزیت سیپروفلوکساسین عدم احتمال رتینوتوکسیکوز است که به دلیل خاصیت لیپوفیلیک کمتر نسبت به انروفلوکساسین می‌باشد (۹).

بر اساس اطلاعات نویسندگان، تاکنون از سیپروفلوکساسین برای درمان آلودگی با مایکوپلاسما همولیس استفاده نشده بود و این اولین گزارش رفع باکتریمی ناشی از مایکوپلاسما همولیس با داکسی‌سایکلین و سیپروفلوکساسین به صورت درمان دوگانه است. با این حال توصیه می‌شود که این پروتکل برای تعداد بیشتری از بیماران و همچنین برای گربه‌های مبتلا به عفونت‌های چند گونه‌ای با مایکوپلاسما آزمایش شود.

References

1- Hicks CA, Willi B, Riond B, Novacco M, Meli ML, Stokes CR, *et al.* Protective immunity against infection with Mycoplasma haemofelis. *Clin Vaccine Immunol*. 2015; 22(1): 108–18.

2- Ameldev P, Tresamol PV. Molecular detection and therapeutic management of feline mycoplasmosis. *Iosr-Javs*. 2017; 10(2): 83-6.

3- Hawley J, Yaaran T, Maurice S, Lappin MR. Amplification of Mycoplasma haemofelis DNA by a PCR for point-of-care use. *J Vet Diagn Investig*. 2018; 30(1): 140-43.

4- Ghazisaeedi F, Atyabi N, Zahrai Salehi T, Gentilini F, Ashrafi Tamai I, Akbarein H, *et al.* A molecular study of hemotropic mycoplasmas (hemoplasmas) in cats in Iran. *Vet Clin Pathol*. 2014; 43(3): 381-86.

5- Sykes JE. Feline hemotropic mycoplasmas. *Vet Clin Small Anim*. 2010; 20(1): 62-9.

6- Novacco M, Sugiarto S, Willi B, Baumann J, Spiri A, Oestmann A, *et al.* Consecutive antibiotic treatment with doxycycline and marbofloxacin clears bacteremia in Mycoplasma haemofelis-infected cats. *Vet Microbiol*. 2018; 217: 112-20.

7- Tasker S, Hofmann-Lehmann R, Belák S, Frymus T, Addie D, Grazia Pennisi M, *et al.* Haemoplasmosis in Cats: European guidelines from the ABCD on prevention and management. *J Feline Med Surg*. 2018; 20(3): 256-61.

8- Willi B, Boretti FS, Baumgartner C, Tasker S, Wenger B, Cattori V, *et al.* Prevalence, risk factor analysis, and follow-up of infections caused by three feline hemoplasma species in cats in Switzerland. *J Clin Microbiol*. 2006; 44(3): 961-69.

9- Greene CE, Calpin J. Antimicrobial Drug Formulary. In: Greene CE, editor. Infectious Diseases of the Dog and Cat. 4th ed. *Elsevier Missouri*. 2012, P: 1234-235.

10- Ishak AM, Dowers KL, Cavanaugh MT, Powell CC, Hawley JR, Radecki SV, *et al.* Marbofloxacin for the treatment of experimentally induced Mycoplasma haemofelis infection in cats. *J Vet Intern Med*. 2008. 22(2): 288-92.

11- Dowers KL, Tasker S, Radecki SV, Lappin MR. Use of pradofloxacin to treat experimentally induced Mycoplasma haemofelis infection in cats. *Am J Vet Res*. 2009; 70(1): 105-11.

12- Lappin M, Miller W, Sellins K. Effect of doxycycline or orbifloxacin administration on Bartonella spp and Hemoplasma assay results in naturally exposed cats. *Int J Appl Res Vet M*. 2012; 10(3): 225-33.

Elimination of bacteremia caused by *Mycoplasma haemofelis* following dual therapy with doxycycline and ciprofloxacin

Reza Azargoun[*1], Vahid Mohammadi[1], Mahmoud Mahmoudi[2], Shahin Ehteshamfa[2]

1- Assistant Professor, Department of Internal Medicine and Clinical Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.
2- Master of Science, Department of Internal Medicine and Clinical Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.

Receive: December 8, 2020; Revise: January 23, 2021; Accept: March 10, 2021

Summary

Mycoplasma haemofelis is a small wall-less bacterium with worldwide prevalence that infects erythrocytes and without effective treatment may cause death. The failure of most antibiotic therapy protocols to effectively eliminate this potentially zoonotic agent highlights the necessity to determine an optimal treatment. A two-year-old domestic shorthair cat was referred to veterinary hospital of Urmia University with symptoms of lethargy, fever, jaundice and anemia. Clinical findings, the results of Giemsa stained blood smear and polymerase chain reaction on 16S rRNA, confirmed the infection caused by *M. haemofelis*. Doxycycline (10 mg/kg PO q24h) was administered for 4 weeks. However, no clinical improvement was achieved and persistence of *M. haemofelis* infection was observed on cytology. After starting dual therapy with the addition of ciprofloxacin (20 mg/kg PO q24h) for two weeks, elimination of bacteremia was confirmed by cytological re-examination and negative result of polymerase chain reaction as the preferred diagnostic method. According to the authors' knowledge, this is the first report of bacteremia elimination caused by *M. haemofelis* using dual treatment with doxycycline and ciprofloxacin. It is suggested that this protocol be tried for more feline patients.

Keywords: *Doxycycline, Ciprofloxacin, Cat, Mycoplasma haemofelis*