

Der Katzenfloh *Ctenocephalides felis* als Vektor von feline Retro- und Caliciviren

The Cat Flea *Ctenocephalides felis* as a Vector of Feline Retro- and Caliciviruses

MICHAEL VOBIS, JOCHEN D'HAESE & HEINZ MEHLHORN

Zusammenfassung: Katzenflöhe *Ctenocephalides felis* wurden mit Hilfe eines künstlichen Fütterungssystems mit dem feline Leukosevirus (FeLV) oder dem feline Calicivirus (FCV) infiziert. Nach Entfernen der Blutquelle wurde der Titer an Viren über die Zeit gemessen. Beide Virustypen waren für 30 h bei Raumtemperatur oder für mehr als 168 h bei 4 °C im Floh nachweisbar. Im Flohkot war die Abnahme der Virusmenge geringer. Nach 360 h konnte mehr als die Hälfte der ursprünglich vom Floh ausgeschiedenen Virusmenge nachgewiesen werden. Infektiositätstests zeigen, dass der Flohkot im Falle des FCV für 8 d infektiös ist.

Schlüsselwörter: *Ctenocephalides felis*, Übertragung, Calicivirus, Leukosevirus

Summary: Cat fleas *Ctenocephalides felis* were fed via artificial membranes and infected with the feline leukaemia virus (FeLV) or the feline calicivirus (FCV). After removing the fleas from the blood source, the quantity of virus in the flea and its faeces was measured over a defined period of time. Both viruses were detectable in the fleas for up to 30 h at room temperature and at least for up to 168 h at 4°C. In the flea's faeces, the amount of virus decreased much more slowly. After 360 h half of the initial amount of shed virus could still be detected. Test of infectiousness showed that the flea faeces are infective for 8 d in case of the FCV.

Keywords: *Ctenocephalides felis*, transmission, calicivirus, leukosis virus

1. Einleitung

Das feline Leukosevirus FeLV gehört zur Klasse der Retroviren und ist Auslöser der als Katzenleukose bezeichneten Krankheit. FeLV ist ein hochinfektiöses Virus, welches über Speichel, Blut und zahlreiche andere Körperflüssigkeiten eines infizierten Tieres von Katze zu Katze übertragen wird (HARDY et al. 1975; HOOVER & MULLINS 1991). Ebenso ist eine Übertragung über die Muttermilch möglich (HOOVER & MULLINS 1991). Die Übertragung des FeLV ist damit horizontal (von Tier zu Tier), vertikal (von der Mutter auf die Jungen) und transplazentar (im Uterus) möglich. Eine Infektion mit dem FeLV führt zu vielfältigen Krankheitsbildern, von denen

Blutarmut, Fieber und ständige Durchfälle am häufigsten beobachtet werden (WILLIS 2000). Die Erkrankung von Organen mit Tumorbildung, insbesondere im Darmtrakt und der inneren Organe, wird meist nur bei älteren Tieren angetroffen und ist eher selten. Das feline Calicivirus FCV ist Auslöser des so genannten Katzenschnupfens und wird von infizierten Katzen mit einer Reihe von Körperflüssigkeiten ausgeschieden, wie zum Beispiel dem Speichel oder Nasensekret (POVEY & JOHNSON 1970; WARDLEY & POVEY 1976). Dadurch ist die vornehmlich oronasale Übertragung von Tier zu Tier ebenso möglich wie eine Infektion durch kontaminierte Gegenstände (WARDLEY & POVEY 1977). Eine Infektion mit feline Caliciviren führt häufig

zu Geschwüren der Mundschleimhaut und der Zunge (WARDLEY & POVEY 1976). Diese Symptome sind bei einigen Katzen die einzigen (POVEY & JOHNSON 1970), während sich bei anderen schwere interstitielle Pneumonien ausprägen, die bis zum Tode führen können (KAHN & GILLESPIE 1971; WARDLEY & POVEY 1977).

Die vielfältigen Übertragungsmöglichkeiten beider Viren lassen vermuten, dass es weitere mögliche Übertragungswege gibt, zum Beispiel durch Blut saugende Ektoparasiten wie den Katzenfloh *Ctenocephalides felis*.

Flöhe übertragen zahlreiche Pathogene, darunter Bakterien, Bandwürmer und Viren (SHEPHERD & EDMONDS 1977; HINAIDY 1991; MEHLHORN 2001). Darüber hinaus sind die zahlreichen Stiche von Flöhen eine Eintrittspforte für pathogene Bakterien (KEEP 1983). Besonders bekannt ist der Rattenfloh *Xenopsylla cheopis*, der das Pestbakterium *Yersinia pestis* überträgt. Die Pest, auch als der „schwarze Tod“ bezeichnet, hat in zahlreichen Epidemien Millionen von Toten gefordert. Aus dem Bereich der Viren ist zumindest bekannt, dass das Myxomatosevirus wilder und domestizierter Kaninchen, Auslöser der tödlich verlaufenden Myxomatose, durch den Kaninchenfloh *Spylopsyllus cuniculi* übertragen werden kann (SOBEY et al. 1973, 1974; vgl. auch HOFMANN-LEHMANN et al. 2001).

Das Potential des Katzenfloh als Vektor von Viren und deren Stabilität und Infektiosität im Floh selbst sind jedoch weitgehend unbekannt. In der vorliegenden Arbeit wurde daher der Katzenfloh als viraler Vektor am Beispiel des felinen Leukosevirus und des felinen Calicivirus näher untersucht.

2. Material und Methoden

2.1. Fütterungssystem

Zur Fütterung der Katzenflöhe wurde der so genannte „Artificial Dog“ („Künstlicher Hund“) der Firma FleaData Inc. benutzt (MATTHIES & HIEPE 1996). Das Gerät besteht

aus einem Acrylkasten, in den ein Heizblock eingelassen ist, der über einen Ventilator angewärmte Luft gleichmäßig verteilt. Die Flöhe selbst werden in runden Acrylbehältern gehalten, die zwischen zwei gelochten Platten im Gerät fixiert werden. Die Flohbehälter sind von beiden Seiten durch feine Gaze begrenzt. Die Blutquelle wird über dem Flohbehälter angebracht. Dazu wird ein rundes, 2,5 cm hohes und aus Edelstahl bestehendes Rohrstück an einer Seite mit Parafilm als Membran überspannt und mit Blut gefüllt. Dieser Blutbehälter wird durch die gelochte Platte mit dem Parafilm nach unten auf den Flohbehälter gestellt. Die Flöhe können nun nach oben an die Gaze springen und durch den Parafilm in die Blutquelle stechen. Das System wurde auf eine Temperatur von 38 °C bei einer Luftfeuchte zwischen 70 % und 80 % eingestellt. Der Blutbehälter aus Edelstahl wird ständig durch zirkulierende warme Luft vom Heizblock beheizt. Das zur Fütterung der Flöhe verwendete und mit Viren versetzte Rinderblut enthielt zur Gerinnungshemmung eine Citrat-Konzentration von 0,8 %. Bei Verwendung anderer Antikoagulanzen wie EDTA oder Heparin nehmen die Flöhe deutlich weniger Blut zu sich. Oxalat als Gerinnungshemmer erwies sich als ungeeignet, da fast alle Flöhe nach der ersten Blutmahlzeit innerhalb von 24 h starben.

2.2. Isolierung viraler RNA

Für die Präparation viraler RNA aus den Proben wurde das QIAamp® Viral RNA Mini Kit der Firma Qiagen (Hilden) verwendet. RNA-Präparationen aus Blutplasma und Kulturüberstand wurden laut Vorschrift des Herstellers durchgeführt. Zur Präparation viraler RNA aus Flöhen wurden die Tiere in flüssigem Stickstoff kurz schockgefroren und im Stahlmörser zerrieben. Das daraus resultierende Pulver wurde in 140 µl PBS (8 g NaCl / 0,2 g KCl / 1,44 g Na₂HPO₄ / 0,24 g KH₂PO₄ ad 1 L H₂O) aufgenommen und mit 560 µl Puffer AVL (Qiagen) versetzt. Dieser Ansatz

wurde dann laut Protokoll für Blutplasma weiterverarbeitet. Viruspartikel, die sich im Magen oder Darmtrakt des Flohs befinden, werden so für den Lyse-Puffer zugänglich. Kotproben wurden in 140 µl PBS aufgenommen, mit einem Vibrationsschüttler bis zur vollständigen Lösung geschüttelt und laut Protokoll für Blutplasma weiterverarbeitet.

2.3. Reverse Transkription und Quantifizierung viraler RNA

Die reverse Transkription der viralen RNA und die anschließende Real-Time-PCR wurde mit dem QuantiTect SYBR Green RT-PCR Kit (Qiagen) auf einem ABI SDS7700 Real-Time-Cycler durchgeführt. Die Quantifizierung der Ausgangsmenge viraler RNA erfolgte mit der Software des SDS7700 (Version 1.91) anhand einer 6-stufigen Verdünnungsreihe und der daraus erstellten Regressionsgeraden. Die PCR wurde laut Herstellerprotokoll mit 40 Zyklen und den Primerpaaren TAA TTC GGT GTT TGA TTT GGC CTG GGC T und CAT ATG CGG CTC TGA TGG CTT GAA ACT G (HELPS & HARBOUR 2003) für das FCV und mit dem Primerpaar ACC TGG GCC CCG GCT und GCG GCC TTG AAA CTT CTG CT (HOFMANN-LEHMANN et al. 2001) für das FeLV durchgeführt.

2.4. Infektiositätstest mit CRFK-Zellen

Zum Nachweis infektiöser feline Caliciviren wurden Crandall-Reese Feline Kidney (CRFK-)Zellen verwendet. Eine Infektion mit dem FCV zeigt sich in einer Abrundung der CRFK-Zellen, die sich dadurch aus dem Zellverband lösen, so dass der Zellrasen sukzessiv zerstört wird. Die Zellen zeigen so einerseits infektiöse Viruspartikel an und dienen gleichzeitig der Zucht neuer, infektiöser Viren. Die CRFK-Zellen wurden in 250 ml Zellkulturflaschen in 30 ml Medium (1 l Medium: 500 ml DMEM mit 4,5 g/L D-Glucose und 3,7 g/L NaHCO₃/55 ml hitzeinaktiviertes FBS/5 ml Penicillin-Streptomycinsul-

fat-Lösung 10 000 IE/5 ml nicht-essentieller Aminosäuren-Mix 100x) bei 37 °C und 5% CO₂ angezogen.

3. Ergebnisse

3.1. Virustiter im Floh

Zur Bestimmung des Virustiters im Floh wurde pro Messpunkt die virale RNA von je zehn Tieren präpariert. Dabei wurden die Tiere bis zur Messung nach initialer Fütterung bei Raumtemperatur oder 4 °C ohne weitere Blutmahlzeit gehalten. Es zeigte sich, dass eine Haltung der Tiere bei 4 °C und die damit verbundene Herabsetzung des Metabolismus zu einer längeren Verweildauer und Nachweisbarkeitsgrenze der Viren im Floh führten (Abb. 1).

3.2. Virustiter im Flohkot

Um das FCV auf Infektiosität im Flohkot zu testen, wurden 1000 Flöhe für 24 h mit FCV-Blut gefüttert. Anschließend wurde der ausgeschiedene Flohkot abgesammelt, durchmischt und halbiert. Eine Hälfte wurde bei Raumtemperatur, die andere bei 4 °C gelagert. An den entsprechenden Messpunkten wurden je 15 mg Kot von der Gesamtmenge abgenommen und der Virustiter bestimmt. Es zeigte sich, dass die Lagerung des Kots bei 4 °C zu einer leicht verlangsamten Abnahme des Virustiters über die Zeit führt (Abb. 2). Auch bei Raumtemperatur sind jedoch nach 15 Tagen noch mehr als 50 % der ursprünglich ausgeschiedenen Viren im Kot nachweisbar.

3.3. Virusinfektiosität im Floh und Flohkot

Um das FCV im Floh auf Infektiositätserhalt zu testen, wurden 10 Flöhe für 24 h mit FCV-Blut gefüttert und anschließend ohne weitere Blutmahlzeit für 24 h bei Raumtemperatur gehalten. Danach wurden die Tiere

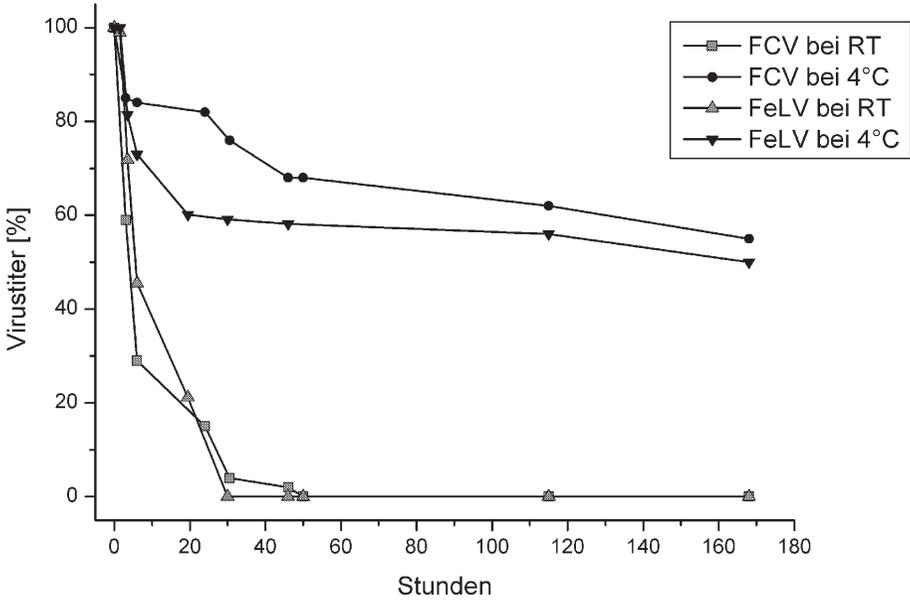


Abb. 1: Virustiter des FCV und des FeLV im Floh bei Raumtemperatur (RT) und 4 °C.

Fig. 1: Viral titer of FCV and FeLV in fleas at room temperature (RT) and at 4 °C.

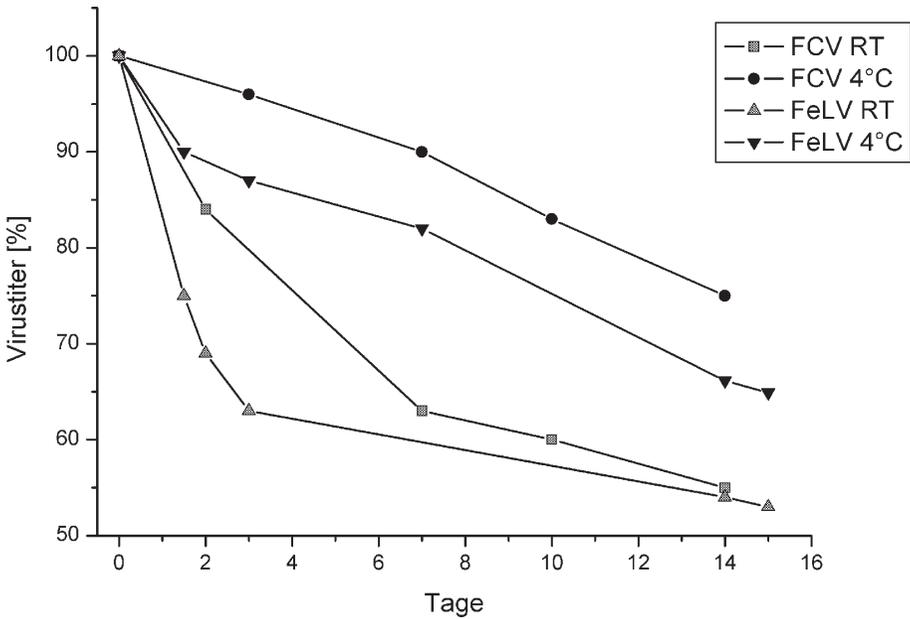


Abb. 2: Virustiter des FCV und des FeLV in Flohkot bei Lagerung bei Raumtemperatur und 4 °C.

Fig. 2: Viral titer of FCV and FeLV in flea faeces stored at room temperature and at 4 °C.

im Stahlmörser zerrieben, mit 1 ml PBS gemischt und die daraus resultierende Lösung in 30 ml Zellkulturmedium auf einem intakten CRFK-Monolayer für 48 h bei 37 °C inkubiert. Um das FCV auf Infektiosität im Flohkot zu testen, wurden 200 Flöhe für 24 h mit FCV-Blut gefüttert. Anschließend wurde der ausgeschiedene Flohkot abgesammelt und für acht Tage bei Raumtemperatur gelagert. Danach wurden 15 mg Kot von der Gesamtmenge abgenommen, in 1 ml PBS gelöst und zusammen mit 30 ml Zellkulturmedium auf einem intakten CRFK-Monolayer für 48 h bei 37 °C inkubiert. Es zeigte sich, dass das FCV sowohl im Floh als auch im Flohkot keinen Infektiositätsverlust erleidet. Der CRFK-Monolayer wird durch die 24 h bei Raumtemperatur oder 120 h bei 4 °C im Flohdarm persistierenden Viren, aber auch durch 8 d alten infizierten Flohkot innerhalb von 48 h vollständig zerstört (Abb. 3).

4. Diskussion

Die vielfältigen Übertragungsmöglichkeiten von Viren lassen den Katzenfloh als idealen viralen Vektor erscheinen. Dies konnte an-

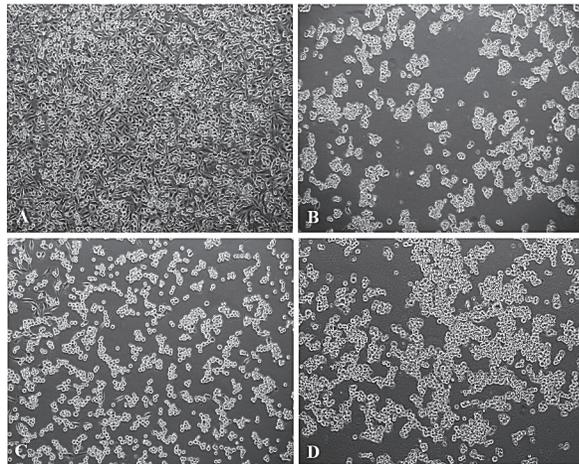
hand des FCV und des FeLV in der vorliegenden Studie aufgezeigt werden. Beide Viren könnten aktiv durch den Flohstich (z.B. durch den Flohspeichel) oder passiv (z.B. durch den massenhaft von Flöhen produzierten Kot) übertragen werden. Bereits bekannt ist, dass das FeLV vom Katzenfloh in vitro von einer infizierten auf eine uninfizierte Blutprobe übertragen werden kann (VOBIS et al. 2003a, b), auch wenn die übertragene Virusmenge äußerst gering ist.

Katzenflöhe, die mit FeLV-infiziertem Blut gefüttert werden, scheiden die aufgenommenen Viren zu etwa 70 % wieder mit dem Kot aus (VOBIS et al. 2005). Flohkot (und die mit ihm ausgeschiedenen Viren) stellen somit ein großes Infektionsrisiko dar. Die Viren sind über einen langen Zeitraum im Kot nachweisbar, und zwar mehr als 50 % der ursprünglich ausgeschiedenen Viren nach 14 Tagen Lagerung bei Raumtemperatur. Wird die Umgebungstemperatur auf 4 °C herabgesetzt, sind die Viren nach 14 Tagen noch in etwa 65 % (FeLV) oder 75 % (FCV) der Ursprungsmenge vorhanden.

Nach einer Blutmahlzeit mit FeLV oder FCV infiziertem Blut sind beide Virustypen

Abb. 3: Infektiosität des FCV im Floh (B, C) und Flohkot (D). **A:** Kontrolle: uninfizierter Monolayer. **B:** Monolayer nach Inkubation mit zermörserten Flöhen (einmal mit FCV-Blut gefüttert, dann für 24 h ohne weitere Blutmahlzeit bei Raumtemperatur gehalten). **C:** Dito, aber für 120 h ohne weitere Blutmahlzeit bei 4 °C gehalten. **D:** Monolayer nach Inkubation mit 8 Tage altem Kot von einmal mit FCV-Blut gefütterten Flöhen.

Fig. 3: Infectiousness of FCV in fleas (B, C) and flea faeces (D). **A:** Control: non-infected monolayer of CRFK cells. **B:** Monolayer after incubation with grinded fleas fed once with FCV-blood and kept 24 h without feeding at room temperature. **C:** Ditto, but kept 120 h without feeding at 4 °C. **D:** Monolayer after incubation with 8 day old faeces of fleas fed once with FCV-blood.



pen für etwa 30 h bei Raumtemperatur und für mehr als 168 h bei 4 °C im Floh selbst nachzuweisen. Bei 4 °C führt die Reduktion des Stoffwechsels des Flohs durch die niedrige Umgebungstemperatur zu einer längeren Verweildauer des Virus im Floh, da auch die Kotausscheidung vermindert wird.

Ein Infektiositätstest mit CRFK-Zellen zeigt, dass ein Floh nach Aufnahme des FCV bei einer Blutmahlzeit für mindestens 24 h bei Raumtemperatur infektiös bleibt (Abb. 3). Wird die Umgebungstemperatur auf 4 °C herabgesetzt, sind die Flöhe für mindestens 120 h infektiös. Durch Zerbeißen des Flohs durch das Wirtstier können die im Flohdarm vorhandenen Viren freigesetzt werden und so ebenfalls zu einer Infektion führen.

Eine viel größere Gefahr geht jedoch vom Flohkot aus. Das FCV ist in dem von Flöhen in der näheren Umgebung des Wirtstiers verteilten Kot bei Raumtemperatur für acht Tage infektiös. Ein Infektiositätsverlust der Caliciviren durch die Darmpassage im Katzenfloh scheint also nicht oder nur bedingt stattzufinden. Die durch Katzenflöhe auf einer infizierten Katze aufgenommenen Viren werden so mit dem Flohkot verteilt und stellen ein erhebliches Infektionsrisiko für gesunde Tiere dar, da die im trockenen Flohkot vorliegenden Viren auch als Aerosol aufgenommen werden könnten.

Die vorliegende Studie belegt, dass der Katzenfloh ein geeigneter Vektor für Viren sein kann. Vom Floh aufgenommene Viren sind über einen längeren Zeitraum im Floh selbst nachweisbar und werden ohne Infektiositätsverlust mit dem Kot wieder ausgeschieden. Infektiöse Viren werden so in der näheren Umgebung einer Flohpopulation oder eines mit Flöhen befallenen, infizierten Tieres verteilt. Diese Tatsache gewinnt an Bedeutung, wenn man an sehr stabile Viren denkt (z.B. Parvoviren), die auf diese Weise weiträumig verbreitet werden und eine massive Infektionsgefahr für den Menschen und seine Haustiere darstellen.

Literatur

- HARDY, W.D., HESS, P.W., ESSEX, M., COTTER, S., MCCLELLAND, A.J., & MAC EWEN, G. (1975): Horizontal transmission of feline leukemia virus in cats. *Bibliotheca Haematologica* 40: 67-74.
- HELPS, C., & HARBOUR, D. (2003): Detection of nucleotide polymorphisms in feline calicivirus isolates by reverse transcription PCR and a fluorescence resonance energy transfer probe. *Journal of Virological Methods* 109: 261-263.
- HINAIDY, H.K. (1991): The biology of *Dipylidium caninum*. *Zentralblatt für Veterinärmedizin* 38: 329-336.
- HOFMANN-LEHMANN, R., HUDER, J.B., GRUBER, S., BORETTI, F., SIGRIST, B., & LUTZ, H. (2001): Feline leukaemia provirus load during the course of experimental infection and in naturally infected cats. *The Journal of General Virology* 82: 1589-1596.
- HOOVER, E.A., & MULLINS, J.I. (1991): Feline leukemia virus infection and diseases. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 199: 1287-1297.
- KAHN, D.E., & GILLESPIE, J.H. (1971): Feline viruses: pathogenesis of picornavirus infection in the cat. *American Journal of Veterinary Research* 32: 521-531.
- KEEP, K.M. (1983): Flea allergy dermatitis. *New South Wales Veterinary Proceedings* 19: 24-27.
- MATTHES, H.F., & HIEPE, T. (1996): In vitro breeding of lice and fleas. *Altex* 13: 130-135.
- MEHLHORN, H. (Hrsg., 2001): *Encyclopedic reference of parasitology*. Second Edition. Springer; Berlin, Heidelberg, New York.
- POVEY, R.C., & JOHNSON, R.H. (1970): Observations on the epidemiology and control of viral respiratory disease in cats. *The Journal of Small Animal Practice* 11: 485-494.
- SHEPHERD, R.C., & EDMONDS, J.W. (1977): Myxomatosis: the transmission of a highly virulent strain of myxoma virus by the European rabbit flea *Spilopsyllus cuniculi* (Dale) in the Mallee region of Victoria. *The Journal of Hygiene* 79: 405-409.
- SOBEY, W.R., ADAMS, K.M., JOHNSTON, G.C., GOULD, L.R., SIMPSON, K.N., & KEITH, K. (1973): Macquarie Island: the introduction of the European rabbit flea *Spilopsyllus cuniculi* (Dale) as a possible vector for myxomatosis. *The Journal of Hygiene* 71: 299-308.

- SOBEY, W.R., MENZIES, W., & CONOLLY, D. (1974): Myxomatosis: some observations on breeding the European rabbit flea *Spilopsyllus cuniculi* (Dale) in an animal house. *The Journal of Hygiene* 72: 453-465.
- VOBIS, M., D'HAESE, J., MEHLHORN, H., & MENCKE, N. (2003a): The feline leukemia virus (FeLV) and the cat flea (*Ctenocephalides felis*). *Parasitology Research* 90: 132-134.
- VOBIS, M., D'HAESE, J., MEHLHORN, H., & MENCKE, N. (2003b): Evidence of horizontal transmission of feline leukemia virus by the cat flea (*Ctenocephalides felis*). *Parasitology Research* 91: 467-470.
- VOBIS, M., D'HAESE, J., MEHLHORN, H., & MENCKE, N. (2005): Experimental quantification of the feline leukaemia virus in the cat flea (*Ctenocephalides felis*) and its faeces. *Parasitology Research* 97: 102-106.
- WARDLEY, R.C., & POVEY, R.C. (1976): The clinical disease and patterns of excretion associated with three different strains of feline caliciviruses. *Research in Veterinary Science* 23: 7-14.
- WARDLEY, R.C., & POVEY, R.C. (1977): Aerosol transmission of feline caliciviruses. An assessment of its epidemiological importance. *The British Veterinary Journal* 133: 504-508.
- WILLIS, A.M. (2000): Feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus. *The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 30: 971-986.

Michael Vobis
Prof. Dr. Jochen D'Haese
Prof. Dr. Heinz Mehlhorn
Institut für Zoomorphologie,
Zellbiologie und Parasitologie
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Universitätsstr. 1
D-40225 Düsseldorf
E-Mail: mvobis@t-online.de
dhaese@uni-duesseldorf.de
mehlhorn@uni-duesseldorf.de

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Entomologie heute](#)

Jahr/Year: 2006

Band/Volume: [18](#)

Autor(en)/Author(s): Vobis Michael, D'Haese Jochen, Mehlhorn Heinz

Artikel/Article: [Der Katzenfloh Ctenocephalides felis als Vektor von felinen Retro- und Caliciviren. The Cat Flea Ctenocephalides felis as a Vector of Feline Retro- and Caliciviruses 105-111](#)