

Zum Stand der *in vitro* Züchtung von Läusen und Flöhen*

Hans-Frieder Matthes¹ und Theo Hiepe²

¹Forschungszentrum für Medizintechnik und Biotechnologie e.V., D-Bad Langensalza

²Institut für Parasitologie und Tropenveterinärmedizin, Freie Universität, D-Berlin

Zusammenfassung

Laborzuchten von Läusen, Flöhen und anderen blutsaugenden Arthropoden werden benötigt zur Entwicklung und Erprobung der Wirksamkeit von Insektiziden und alternativen Bekämpfungsverfahren, zum Studium ihrer Rolle als Vektoren von Krankheitserregern und zur Entwicklung von Diagnose und Therapieverfahren der durch sie ausgelösten oder übertragenen Erkrankungen. Derzeit ist es noch nicht möglich, Kaninchen als Quelle von Blutnahrung für Menschenläuse (*Pediculus* spp.) durch Methoden der *in vitro* Züchtung zu ersetzen. Nach dem heutigen Kenntnisstand bestehen aber gute Voraussetzungen, eine solche Methode in einem absehbaren Zeitraum zu entwickeln. Für die *in vitro* Züchtung von Katzenflöhen (*Ctenocephalides felis*) existiert seit etwa drei Jahren ein als „artificial dog“ bezeichnetes Halte- und Fütterungsequipment, das in den USA kommerziell hergestellt wird und nach den vorliegenden Informationen günstige Voraussetzungen bietet, um die in großen Pharmaunternehmen und anderen Forschungseinrichtungen zur Flohzüchtung gehaltenen Katzen zu einem beträchtlichen Teil zu ersetzen.

Summary: The state of in vitro breeding of lice and fleas. Laboratory breeding of lice, fleas and other bloodsucking arthropods is necessary for developing and testing the efficacy of new drugs and alternative arthropod control methods. They are necessary to investigate their role as vectors of pathogens and to develop methods for diagnosis and therapy of arthropod caused or transmitted diseases. To date, it is not possible to replace rabbits as natural blood sources for breeding lice colonies (Pediculus spp.). But on the base of the knowledge about lice feeding and about in-vitro-breeding of other arthropods it would be possible to develop an in-vitro-feeding method for lice. For about three years an equipment is available in the USA for in-vitro-breeding of cat fleas (Ctenocephalides felis). Using this so called „Artificial dog“ it would be possible to replace numerous of cats used as hosts of laboratory flea colonies in pharmaceutical companies and other research laboratories.

Keywords: *in-vitro-breeding, in-vitro-feeding, membrane feeding, flea, Siphonaptera, Ctenocephalides spp., louse, Anoplura, Pediculus spp.*

1 Einleitung

Läuse, Flöhe und andere blutsaugende Arthropoden werden zur Entwicklung und zur Erprobung der Wirksamkeit von Insektiziden und alternativen Bekämpfungsverfahren (z.B. biologische Bekämpfung, Vakzinierung) benötigt. Sie sind auch unentbehrlich bei der Erarbeitung neuer Methoden zur Diagnose und Therapie durch sie ausgelöster Erkrankungen und Folgeerscheinungen (z.B. Allergien) bei Mensch und Tieren. Zu diesem Zweck züchten Pharmaunternehmen und andere For-

schungseinrichtungen blutsaugende Arthropoden, denen lebende Wirtstiere als Quelle ihrer Blutnahrung dienen. Darüber hinaus schreibt § 10c des Bundesseuchengesetzes (BSG) vor, daß bei behördlich angeordneten Entseuchungen und Entwesungen nur Mittel und Verfahren verwendet werden dürfen, die von den zuständigen Bundesoberbehörden auf Brauchbarkeit geprüft und in eine zu veröffentlichende Liste aufgenommen sind. Aus dem Grund werden in den entsprechend autorisierten Bundeseinrichtungen blutsaugende Arthropoden wie Flöhe, Läu-

se, Wanzen, Mücken und Zecken ständig gehalten und über regelmäßige Blutmahlzeiten an Spendertieren (Kaninchen, Hamster, Meerschweinchen, Hühner) gefüttert. Das Blutsaugen der Läuse an Kaninchen bzw. der experimentelle Flohbefall, vor allem bei Katzen und Hamstern, stellt eine Belastung der Wirtstiere dar und kann Leiden und Schmerzen verursachen. Insbesondere bei Katzen kommt es häufig zur Ausprägung von Flohallergien, so daß die betroffenen Tiere einige Tage bis Wochen nach Beginn des experimentellen Flohbefalls ausgesondert werden müssen. Das sind neben anderen wesentliche Gründe für die Suche nach alternativen Ernährungs- und Züchtungsmethoden, um lebende Wirtstiere als Nahrungsquelle für

* ergänzt nach einem Vortrag auf dem Workshop der „Stiftung zur Förderung der Erforschung von Ersatz- und Ergänzungsmethoden zur Einschränkung von Tierversuchen“ am 24.11.1993 im Robert von Ostertag-Institut (Institut für Veterinärmedizin des ehemaligen BGA) Berlin

blutsaugende Arthropoden zu ersetzen.

Im folgenden soll der gegenwärtige Stand der Entwicklung alternativer *in vitro* Fütterungs- und *in vitro* Züchtungsmethoden bei Läusen und Flöhen dargestellt werden. Zunächst zu Begriffsbestimmungen: Unter „*in vitro* Fütterung“ versteht man nach Klunker (1979) die Fütterung blutsaugender Arthropoden in Abwesenheit eines lebenden Wirtsorganismus, die zum Überleben des Arthropoden als Individuum bzw. als Entwicklungsstadium führt. Die „*in vitro* Züchtung“ umfaßt darüber hinaus die Weiterentwicklung sämtlicher Entwicklungsstadien der Arthropoden einschließlich der Vermehrung der geschlechtsreifen Formen, wodurch die Züchtung einer Population ohne Blutmahlzeit an lebenden Wirtsorganismen über Generationen ermöglicht wird. Das Prinzip der hier beschriebenen Methoden der *in vitro* Fütterung besteht in jedem Falle darin, daß Arthropoden mit ihren Mundwerkzeugen eine Membran durchstechen und das dahinter befindliche Nahrungssubstrat (in der Regel Blut) zu sich nehmen.

2 In vitro Fütterung und -Züchtung von Läusen

2.1 Aktuelle Verbreitung von Kleider- und Kopflaus

Die Kleiderlaus, *Pediculus humanus*, ist Überträger von *Rickettsia prowazekii*, dem Erreger des Fleckfiebers. Während bzw. als Folge des ersten Weltkrieges gab es 30 Millionen Infizierte und 3 Millionen Fleckfieber-tote. Auch im und wenige Jahre nach dem Zweiten Weltkrieg traten Läuseplagen in Europa auf. Bis Ende der 60er/Anfang der 70er Jahre hatte Läusebefall beim Menschen in Deutschland praktisch keine Bedeutung mehr. Anfang bis Mitte der 70er Jahre kam es zu einem drastischen Anstieg des Vorkommens von Kopfläusen, *Pediculus capitis*, einer der Kleiderlaus sehr ähnlichen Art. Heute spielt Läusebefall in Deutschland, besonders bei Klein- und Schulkin-

dern, eine beachtenswerte Rolle. Kopf- und Kleiderläuse sind in vielen Teilen der Erde (v.a. Afrika, Südamerika) verbreitet. Ihre Vektorfunktion ist nach wie vor aktuell, wie Daten aus den 70er Jahren zeigen. Danach gibt es jährlich 15.000 Fleckfieberfälle mit jeweils einigen Hundert Toten pro Jahr. Auch existieren Läusestämme, die gegen DDT, Malathion und/oder chlorierte Kohlenwasserstoffe resistent sind und auf deren Einschleppung nach Europa man jederzeit vorbereitet sein muß, wie auch auf die Einschleppung des Fleckfiebererregers durch infizierte Läuse.

Vor diesem Hintergrund erscheint es aus wissenschaftlicher wie aus gesundheitspolitischer Sicht notwendig, ständig Menschenläuse zur Verfügung zu haben, um zum einen die Wirksamkeit von Insektiziden zu ihrer Bekämpfung zu prüfen und zum anderen auftretende Insektizidresistenzen bei importierten oder einheimischen Läusestämmen rechtzeitig zu erkennen.

2.2 Stand der Entwicklung von in vitro Fütterungs- und Züchtungsmethoden bei Läusen

Die Fütterung und Haltung von Menschenläusen war bis Mitte der 40er Jahre nur am Menschen selbst möglich. So liegen Berichte vor, wonach Läuse an Kriegsgefangenen, Freiwilligen oder im Selbstversuch gefüttert wurden (Sikora, 1915; Bacot, 1914; Nuttall, 1917). Während sich anfangs relativ kleine Kolonien in speziellen Käfigen in ständigem Hautkontakt am Menschen befanden, konnten später mit dem Einsatz von Inkubatoren relativ große Kolonien an einem Tag an Hunderten Freiwilliger gefüttert und danach bis zum Folgetag im Brutschrank aufbewahrt werden (Moore und Hirshfelder, 1919; Culpepper, 1946). Die Ablösung des Menschen als Wirt für die Haltung von *Pediculus sp.* gelang erstmals in den 40er Jahren. Culpepper (1948) fand einen Läusestamm, der in großen Kolonien im Inkubator gehalten und alle 12 Stunden an der geschorenen Bauchhaut von Kanin-

chen gefüttert wurde. Für die Läusefütterung eignen sich aber nur bestimmte Kaninchenrassen.

Versuche zur *in vitro* Fütterung von Läusen wurden mittels rektaler Verabreichung von defibriniertem Blut von Weigl (1920) und Buxton (1946) vorgenommen. Auch eine intracoelomale Injektionsmethode kam zum Zwecke der Fütterung und Infektion der Parasiten zur Anwendung (Weigl, 1920). Zur Fütterung von Menschen- und auch von Tierläusen über Membranen liegt eine Reihe von Berichten vor, wie von Moore und Hirshfelder (1919), Psechinov (1943), Snyder und Wheeler (1945), Buxton (1946), Fuller et al. (1949), Fuller (1953), Nelson (1955), Puchta (1955), Haddon (1956a, b) sowie Lauer und Sonenshine (1978) nebst anderen. Meist wurden bei den beschriebenen Untersuchungen Häute von Tieren wie Mäusen, Kücken oder Flughörnchen benutzt. Psechinov (1943) verwendete von Leichen entnommene Menschenhaut. Als künstliche Membran zur Läusefütterung kam Gutta percha (Haddon, 1956a, b), später auch Parafilm zum Einsatz. Aussagen über die Reproduzierbarkeit der Versuche zur *in vitro* Fütterung von Läusen werden allgemein nicht getroffen oder sind wenig präzise und z.T. spekulativ. Meist findet man nur die Aussage: *P. humanus* nimmt Blut über die verwendete Membran auf.

Herausragendes Ergebnis der *in vitro* Fütterungsversuche sämtlicher genannter Autoren ist dasjenige von Haddon (1956a, b), dem die Haltung von *P. humanus* während 48 Tagen mittels Fütterung über Gutta percha, eine kautschukähnliche künstliche Membran, gelang. Angesichts der strengen Wirtsspezifität von Läusen überrascht die Tatsache, daß Kleiderläuse über Membranen nicht nur Blut, sondern auch Humanserum, 0,85%ige Salzlösung und sogar destilliertes und demineralisiertes Wasser aufnehmen (Haddon, 1956a, b). Die bis heute durch andere Publikationen nicht präzisierten wesentlichen Aussagen von Haddon (1956a, b) sind:

Die optimale Dicke der Fütterungsmembran sowohl für Entwicklungsstadien als auch für geschlechtsreife *P. humanus* beträgt 23 bis 25 µm.

Das Anstechen der Membran durch die Läuse wird hauptsächlich durch Beschaffenheit der Membranoberfläche und die Umgebungstemperatur stimuliert, die Blutaufnahme selbst hängt dagegen vor allem vom Entwicklungsstadium der Läuse sowie von Temperatur und Dicke der Membran ab.

Die aufgenommene Nahrungsmenge wird nicht von der Medienzusammensetzung bestimmt und unterscheidet sich nicht vom Volumen der an Kaninchen oder am Menschen aufgenommenen Nahrung.

Das Verhalten von Läusen auf der Membran (Nahrungsaufnahme, Häutung, Kopulation, Eiablage usw.) ähnelt demjenigen am Menschen oder am Kaninchen.

Erwähnenswert sind schließlich die Arbeitsergebnisse von Lauer und Sonenshine (1978), die die Membranfütterung (keine Züchtung) von Eichhörnchenflöhen, Eichhörnchenläusen und Kleiderläusen mit Hilfe eines relativ komplizierten Fütterungsapparates (Blutkammer mit 3 ml Fassungsvermögen, über Pumpe getriebene Blutzirkulation usw.) erprobten. Dabei waren die Saugraten von *P. humanus* an der Membran mit 77,1% im Vergleich zur Nahrungsaufnahme am Kaninchen relativ hoch, während das aufgenommene Blutvolumen nur 6,2% des am Kaninchen aufgenommenen entsprach.

Auch die Membranfütterung von Schweineläusen, *Haematopinus suis*, über Parafilm als künstliche Membran ist erprobt und dabei das Ziel der Eiablage durch die Läuseweibchen über einen Zeitraum von 9 bis 15 Tage erreicht worden (Häfner und Ludwig, 1969); eine *in vitro* Züchtung wurde nicht angestrebt.

2.3 Resultate

Aus der vorliegenden Literatur zur *in vitro* Fütterung von Läusen und bei Berücksichtigung des Erkenntnis-

standes zur *in vitro* Fütterung und -züchtung anderer blutsaugender Arthropoden kann zusammengefaßt und eingeschätzt werden:

Die *in vitro* Fütterung von Läusen über Membranen ist prinzipiell möglich.

Es liegen Ansätze und gute Voraussetzungen vor, eine Methode zur *in vitro* Züchtung von *Pediculus* spp. in einem abschabaren Zeitraum zu entwickeln.

Bis heute ist der in den 40er Jahren publizierte Ersatz von Menschen durch Kaninchen als Blutquelle für Laborzuchten von *Pediculus* spp. (Culpepper, 1948) die einzig bekannte und erfolgreiche Methode zur Laborzüchtung von Menschenläusen.

3 *In vitro* Fütterung und -Züchtung von Flöhen

Flohbefall spielt weltweit bei Wild- und Haustieren sowie bei Menschen eine bedeutende Rolle. In Europa treten Flöhe vor allem bei Hunden und Katzen häufig auf und verdienen deshalb von seiten der Insektizidhersteller wie von seiten der Tierbesitzer und Veterinärmediziner ständige Beachtung. Nicht selten sind Flohallergien bei Hund und Katze sowie Flohplagen des Menschen Begleiterscheinungen dieser Ektoparasitose. Flöhe besitzen im Unterschied zu Läusen ein breites Wirtsspektrum. Deshalb ist ihre Fütterung und Züchtung weniger kompliziert und an verschiedenen Säugetierspezies möglich. Aus veterinärmedizinischer und medizinischer Sicht werden die Spezies *Ctenocephalides felis* (Katzenfloh) und *Xenopsylla cheopis* (Rattenfloh) wegen ihres gehäuft Vorkommens bzw. ihrer gesundheitspolitischen Rolle als besonders bedeutsam angesehen und deshalb in Forschungseinrichtungen an Katzen bzw. Hamstern erfolgreich und in großen Populationen gehalten.

3.1 Stand der Entwicklung von *in vitro* Fütterungs- und Züchtungsmethoden von Flöhen

Ausgangspunkt für Untersuchungen zur *in vitro* Fütterung von Flöhen war wie bei Menschenläusen ihre Rolle als Vektoren von Krankheitserregern. Dabei stand *X. cheopis* als Hauptüberträger des Pesterregers, *Yersinia pestis* (früher *Pasteurella pestis*), im Mittelpunkt des Interesses (Lauer und Sonenshine, 1978; Kartman, 1954). Darüber hinaus gelten *Pulex irritans* (Menschenfloh) und die Gattung *Ctenocephalides* (Katzen- und Hundeflöhe) als Überträger verschiedener Bandwurmart (Hiepe und Ribbeck, 1982).

Der Erfolg der *in vitro* Züchtung von Flöhen wird wie bei anderen blutsaugenden Arthropoden vor allem durch drei Komponenten beeinflusst: das Nahrungsmedium, die Membran und die physikochemischen Bedingungen, denen die Flöhe zur Haltung und Nahrungsaufnahme ausgesetzt sind.

Nahrungsmedium:

Neben einer Vielzahl von Säugetieren sind auch Rinder als Wirte für Katzenflöhe beschrieben worden (Kulkarni et al., 1974; Blackmoon und Nolan, 1984), und Rinderblut hat sich als geeignetes Nahrungsmedium für die Membranfütterung von *C. felis* erwiesen (Wade und Georgi, 1988). Das bei der *in vitro* Fütterung von *X. cheopis* phagostimulierende ATP (Galun, 1966) zeigte als Zusatz zu Rinderblut keine signifikante Wirkung auf die Nahrungsaufnahme von *C. felis* (Wade und Georgi, 1988). Auch mit täglich frisch entnommenem Menschenblut konnten Pullen und Meola (1995) bei der *in vitro* Fütterung von *C. felis* Ergebnisse erzielen, bei denen sich keine signifikanten Unterschiede zu an Katzen gehaltenen Flöhen bezüglich Mortalität, Eiproduktion, Schlupfrate der Larven und Imagines ergaben.

Membran:

Zur *in vitro* Fütterung von Flöhen sind wie bei Läusen verschiedene Membranen natürlichen Ursprungs

verwendet bzw. auf ihre Eignung geprüft worden, wie die Haut von Ratten, Mäusen, Kaninchen, Flughörnchen und Kücken, sowie Schweineblasen und die aus Rinderblinddarm hergestellte, sogenannte Baudruche-Membran (Kartman, 1954; Tarshis, 1958; Bar-Zeev und Sternberg, 1962; Rutledge et al., 1964; Galun, 1966; Gerberg und Kutz, 1971; Wade, 1976; Lauer und Sonenshine, 1978). Als künstliche Membranen kamen unter anderen Cellophan, Haushaltfolie, Agar, Guttapercha und Parafilm zur Anwendung (Totze, 1934; Kartman, 1954; Tarshis, 1958; Rutledge et al., 1964; Lauer und Sonenshine, 1978; Wade und Georgi, 1988; Moyses und Schenker, 1993; Pullen und Meola, 1995). Bei den in den 90er Jahren bisher benutzten *in vitro* Fütterungsmethoden von Flöhen wurde Parafilm als geeignete Membran zur Erzielung reproduzierbarer Ergebnisse der *in vitro* Züchtung von *C. felis* beschrieben (Moyes und Schenker, 1993; Georgi, 1995; Pullen und Meola, 1995).

Physikalische und chemische Umgebungsparemeter:

Bei *in vitro* Fütterung und *in vitro* Züchtung von Flöhen haben physikalische und chemische Bedingungen wesentlichen Einfluß auf die Reproduzierbarkeit von Parametern wie Saugrate, Mortalität und Legerate erwachsener Flöhe, Schlupfrate der Larven und andere. Nachdem bei *in vitro* Fütterung in den 50er Jahren über eine breite Streuung von Saugraten (prozentualer Anteil der Flöhe, die Blutmahrung aufnehmen) zwischen 0 bis 90% berichtet wurde (Kartman, 1954; Wheeler et al., 1956) dienten die Untersuchungen von Bar-Zeev und Sternberg (1962) dem Ziel, die Bedingungen der Membranfütterung zu optimieren, um klare Aussagen zur Wirkung von chemischen Substanzen (Repellentien, Insektizide, Hormone) auf die Flöhe treffen zu können. Neben anderen Bedingungen wurden vor allem eine Bluttemperatur von 38 °C, eine bestimmte Flohdichte im Füt-

rungsapparat und eine Luftfeuchtigkeit von etwa 85% als wesentlich für die Reproduzierbarkeit von Saugraten ermittelt.

3.2 Ersatz von Katzen zur Flohzüchtung in großem Umfang möglich

Nachdem es Lauer und Sonenshine (1978) gelungen war, Eichhörnchenflöhe, *Orchopeas howardii*, nach *in vitro* Fütterung zur Kopulation, Eiablage und zum Schlupf lebensfähiger Larven zu führen, beschrieben erstmals Wade und Georgi (1988) eine praktikable Methode, Flöhe über Generationen ohne jeden Kontakt zu Säugetierwirten *in vitro* zu züchten. Während sämtliche Autoren zuvor Fütterungszeiten von wenigen Minuten bis Stunden pro Tag erprobt hatten (Totze, 1934; Kartman, 1954; Bar-Zeev und Sternberg, 1962; Galun, 1966; Lauer und Sonenshine, 1978), entwickelten Wade und Georgi (1988) einen Fütterungsapparat, in welcher pro Fütterungskäfig 100 weibliche und 20 männliche Flöhe 15 Tage lang kontinuierlich Kontakt mit dem Nahrungsmedium (Rinderblut) hatten. Blut und Membran (Parafilm) wurden täglich gewechselt und bei einer konstanten Temperatur von 37°C gehalten. Im Vergleich zur Flohhaltung an Katzen wiesen die membrangefütterten Insekten keine signifikanten Unterschiede der Schlupfraten, Verpuppungsraten oder Überlebenszeiten auf. Die Eiproduktion an Katzen gehaltener Flöhe war jedoch 5 bis 9 mal höher als bei der *in vitro* Züchtung. Bis Mai 1988 (Publikation der Ergebnisse) hatten die Autoren 14 Generationen ununterbrochen über Membranfütterung gezüchtet.

Moyes und Schenker (1993) berichteten über eine *C. felis-in vitro* Zucht, die sie in Anlehnung an die von Wade und Georgi (1988) beschriebene Methodik installierten. Bis zur Publikation (Juli 1993) hatten sie insgesamt 39 Generationen gezüchtet. Dabei wurden die Fütterungskammern täglich neu mit Rinderblut beschickt. Die Blutgewinnung erfolgte einmal wöchentlich;

das Blut wurde mit 0,7% Natriumzitrat versetzt und bis zum Gebrauch bei 4°C gelagert. Über Details wie Reproduktionsrate und Mortalität, Vergleich der Populationsentwicklung *in vitro* und *in vivo* usw. liegen keine Angaben von Moyses und Schenker vor. Nach Mitteilung von Moyses (1993) war die Methode zu der Zeit funktionsfähig, aber noch nicht in einem solchen Maße ausgereift, daß sie zur Massenhaltung von Flöhen verwendet werden und die *in vivo* Züchtung an Katzen ersetzen konnte.

Georgi (1994) entwickelte die 1988 publizierte Methode zur Floh-*in vitro* Züchtung (Wade und Georgi, 1988) weiter zu einem sogenannten „artificial dog“. Der von der Firma FleaData, Inc. (132 Starr Stanton Road, Freeville, NY 13068-9631, USA) hergestellte und vertriebene „artificial dog“ besteht aus einem wahlweise mit 24, 25 oder 32 Zuchtkäfigen bestückten Plastikbehälter. Die im unteren Teil gehaltenen Flöhe können jederzeit durch ein GazeNetz die daraufliegende Parafilmmembran durchstechen und das auf 37°C temperierte Rinderblut aufnehmen. Jedes Zuchtgefäß wird mit 300 nüchternen Katzenflöhen bestückt, die bei täglichem Wechsel von Membran und Blutmahlzeit (10 ml Rinderblut je Käfig) 14 Tage lang im Käfig bleiben. Die Parafilmmembran ist gedehnt und dadurch ihre Originaldicke von etwa 0,13 mm auf 0,05 mm reduziert. Die Eiproduktion setzt am Tag 2 ein, kann bis zu 15 Eier pro Tag und Weibchen erreichen und sinkt nach 14 Tagen auf die Hälfte der initialen Eizahl ab. Die Eier werden alle zwei Tage gesammelt und unter geeigneten Bedingungen (Temperatur, Luftfeuchtigkeit, Nahrungsmedium) in Anlehnung an Methoden von Hudson und Prince (1958) bzw. Silverman et al. (1981) über Larven und Puppenstadien zur nächsten Flohgeneration gezüchtet. Bei einer Haltungsdauer von 14 Tagen (Eiablagezeit 12 Tage) und der beschriebenen Besatzdichte von 300 Flöhen je Käfig erhielt Georgi (1995) eine Reproduktionsleistung

von 42 adulten Nachkommen je eingesetztem Floh (Männchen und Weibchen). Das sind 3,5 Nachkommen pro Floh und Eiablagetag.

FleaData hatte bis August 1995 insgesamt 14 „artificial dogs“ einschließlich Zusatzequipment zum Handling der Flöhe (FleaSeparators, FleaLoaders, FleaShooters) verkauft, davon drei nach Europa (England, Frankreich, Deutschland). Die Firma produziert mit einem „artificial dog“ (25 Zuchtkäfige) wöchentlich 80.000 bis 100.000 nüchterne *C. felis* zum Verkauf (Georgi, 1995).

Der „artificial dog“ bietet gute Möglichkeiten, die Bedingungen zur Floh-*in vitro* Züchtung weiter zu untersuchen. So wiesen Pullen und Meola (1995) unter Verwendung des „artificial dog“ nach, daß die Anwesenheit von Hundhaaren im Zuchtkäfig signifikanten Einfluß auf die Reproduktionsleistung von *C. felis* hat und daß über Membranfütterung mit frischem Menschenblut Schlupfraten von Larven und Adulten erzielt werden, die sich nicht signifikant von denen auf Katzen gehaltenen Flöhen unterscheiden.

Mit der *in vitro* Züchtung großer Populationen eröffnen sich neue Möglichkeiten, die mit der Flohzüchtung an Katzen mehr oder weniger verschlossen blieben oder nur mit hohem Aufwand zu realisieren waren. Das betrifft die genaue Dosierung von Substanzen über die Blutmahlzeit vor allem bei Insektizidprüfungen, die Untersuchung der Funktion der Flöhe als Vektoren für Viren, Bakterien und Protozoen, die Untersuchung flohpathogener Mikroorganismen, die Gewinnung von Flohallergenen und die Untersuchung der Allergenität verschiedener Flohspezies, die Testung von Anti-Floh-Vakzinen und nicht zuletzt die weitere Aufdeckung der Physiologie von *Siphonaptera* und anderen blutsaugenden Arthropoden.

4 Resultate

Der Entwicklungsstand von Methoden der *in vitro* Züchtung von *C.*

felis erlaubt es bereits heute, Katzen als Versuchstiere in großem Umfang zu ersetzen. Die vollständige Ablösung von Katzen als Wirtstiere für Flohzuchten ist aber nach dem derzeitigen Wissensstand noch nicht möglich. Zur Flohbekämpfung bei Katzen neu entwickelte Wirkstoffe müssen zur Zulassung an flohbefallenen Katzen auf Wirksamkeit und Verträglichkeit geprüft werden. Daneben wird es über lange Zeiträume notwendig sein zu prüfen, ob sich durch *in vitro* Züchtung Eigenschaften wie Reproduktionsfähigkeit, Wirtsspezifität, Empfindlichkeit gegenüber Insektiziden und andere im Vergleich zu den auf Wirtstieren gehaltenen Flohpopulationen verändern.

5 Schlußbemerkungen

Abschließend sei darauf hingewiesen, daß sowohl in der durchgesehenen Literatur als auch in Diskussionen mit Mitarbeitern verschiedener Pharmaunternehmen Aspekte des Tierschutzes nahezu keine Rolle als Motivation zur Entwicklung von *in vitro* Züchtungsmethoden blutsaugender Arthropoden spielten. Bei den erwähnten Diskussionen ist der Eindruck entstanden, daß allein ökonomische Gesichtspunkte entscheidend sind. Es bleibt zu hoffen, daß die Verantwortungsträger der großen Pharmaunternehmen sich zukünftig mehr als bisher ethischen Aspekten des Tierschutzes verpflichtet fühlen und größere Bereitschaft zeigen, auch solche Forschungsvorhaben zu unterstützen (auch Grundlagenforschung!), deren Ergebnisse sich nicht kurzfristig in ökonomischen Nutzen umwandeln lassen, die andererseits aber essentiell sind für den Erkenntniszuwachs auf dem Wege zur Ablösung von Versuchstieren als lebende Nahrungsquelle für blutsaugende Arthropoden.

Literatur

Bacot, A. (1914). A study of the bionomics of the common rat fleas and other species associated with human habitation,

with special reference to the influence of temperature and humidity at various periods in the life history of the insects. *J. Hygiene* 13 (Plague Suppl. 3), 557–654.

Bar-Zeev, M. und Sternberg, S. (1962). Factors effecting the feeding of fleas (*Xenopsylla cheopis* Rothschild) through a membrane. *Ent. exp. & appl.* 5, 60–68.

Blackmon, D. M. und Nolan, M. P. (1984). *Ctenocephalides felis* infestation in Holstein calves. *Agri Practice* 5, 5–6.

Buxton, P. A. (1946). *The louse, an account of lice which infest man: Their medical importance and control*. Second edition. Baltimore: Williams & Wilkins, cit. by Haddon, 1956b.

Culpepper, G. H. (1946). Factors influencing the rearing and maintenance of a laboratory colony of the body louse. *J. Econ. Entomol.* 39, 472–474.

Culpepper, G. H. (1948). Rearing and maintaining a laboratory colony of body lice on rabbits. *Am. J. Trop. Med.* 28, 499–504.

Fuller, H. (1953). Studies of human body lice, *Pediculus humanus corporis*. II. Quantitative comparisons of the susceptibility of human body lice and cotton rats to experimental infection with epidemic typhus rickettsiae. *Amer. J. Hyg.* 58, 188–206.

Fuller, H. S., Murray, E. S. und Snyder, J. C. (1949). Studies of human body lice, *Pediculus humanus corporis*. I. A method for feeding lice through a membrane and experimental infection with *Rickettsia prowazeki*, *R. mooseri* und *Borrelia novyi*. *Publ. Hlth. Reports, Washington* 64, 1287–1291, cit. by Wade (1976).

Galun, R. (1966). Feeding stimulants of the rat flea *Xenopsylla cheopis* Roth. *Life Sci.* 5, 1335–1342.

Georgi, J. R. (1994, 1995). Persönliche Mitteilungen.

Gerberg, E. J., Kutz, F. W. (1971). A large scale artificial feeding technique for infecting mosquitoes and its application to screening antimalarial chemicals. *J. Med. Entomol.* 8, 610–612.

Haddon, W. (1956a). An artificial membrane and apparatus for the feeding of the human body louse, *Pediculus humanus corporis*. *Amer. J. trop. Med. Hyg.* 5, 315–325.

Haddon, W. (1956b). The maintenance of the human body louse *Pediculus humanus corporis* through complete cycles of growth by serial feeding through artificial membranes. *Amer. J. trop. Med. Hyg.* 5, 326–330.

Häfner, P. und Ludwig, H. W. (1969). Eine Methode zur Membranfütterung der Schweinelaus *Haematopinus suis*. *Z. Parasitenk.* 33, 177–182.

Hiepe, Th. und Ribbeck, R. (1982). *Lehr-*

- buch der Parasitologie. Band 4. Veterinärmedizinische Arachno-Entomologie (404). Jena: Gustav Fischer Verlag.
- Hudson, B. W. und Prince, F. M. (1958). A method for large-scale rearing of the cat flea, *Ctenocephalides felis felis* (Bouche). *Bull. World. Hlth. Or.* 19, 1126–1129.
- Kartman, L. (1954). Studies on *Pasteurella pestis* in fleas. I. An apparatus for experimental feeding of fleas. *Exper. Parasitol.* 3, 525–537.
- Klunker, R. (1979). Überblick über die in vitro Fütterung blutsaugender Arthropoden. *Angew. Parasitol.* 20, 88–108.
- Kulkarni, S. M., Bhat, H. R. und Dhanda, V. (1974). A survey of haematophagous arthropods in western Himalayas, Sikkim, and hill districts of West Benegal fleas (Siphonaptera). *Indian J. Med. Res.* 62, 1061–1088.
- Lauer, D. M. und Sonenshine, D. E. (1978). Adaptations of membrane feeding techniques for feeding the squirrel flea, *Orchopeas howardi*, and the squirrel louse, *Neohaematopinus sciuropteri*, with notes on the feeding of the human body louse, *Pediculus humanus var. corporis*. *J. Med. Entomol.* 14, 595–596.
- Moore, W. A. und Hirschfelder, A. D. (1919). An investigation of the louse problem. *Res. Publ. Univ. Minnesota* 8, 1–17.
- Moyses, E. W. (1993). Persönliche Mitteilung.
- Moyses, E. W. und Schenker, R. (1993). *Ctenocephalides felis* (Bouche): lufenuron and fenthion baselines in an artificial feeding system. Poster, 14th International Conference of the WAAVP „Understanding and control of parasitic diseases of animals“, Cambridge, 8th – 13th August 1993, Cambridge, UK
- Nelson, W. A. (1955). Artificial feeding of certain ectoparasites through membranes. *J. Parasitol.* 41, 635–636.
- Nuttall, G. H. F. (1917). The Biology of *Pediculus humanus*. *Parasitology* 10, 80–185.
- Psechinov, A. V. (1943). A universal method for studying infections transmitted to man by blood sucking insects and a new vaccine against spotted typhus. *Zh. Microbiol. Nos.* 1–2, 43–48, zit. nach Häfner und Ludwig, 1969.
- Puchta, O. (1955). Experimentelle Untersuchungen über die Bedeutung der Symbiose der Kleiderlaus *Pediculus vestimenti* Burm. *Z. Parasitenk.* 17, 1–40.
- Pullen, S. R. und Meola, R. W. (1995). Survival and reproduction of the cat flea (Siphonaptera: Pulicidae) fed human blood on an artificial membrane system. *J. Med. Entomol.* 32, 467–470.
- Rutledge, L. C., Ward, R. und Gould, D. J. (1964). Studies on the feeding response of mosquitoes to nutritive. *Mosq. News* 24, 407–419, cit. by Wade (1976).
- Sikora, H. (1915). Beiträge zur Biologie von *Pediculus vestimenti*. *Zbl. Bakt., I. Abt. Orig.* 76, 523–537.
- Silverman, J., Rust, M. K. und Reiersen, D. A. (1981). Influence of temperature and humidity on survival and development of the cat flea *Ctenocephalides felis*. *J. Med. Entomol.* 18, 78–83.
- Snyder, J. C. und Wheeler, C. M. (1945). The experimental infection of the human body louse, *Pediculus humanus corporis*, with murine and epidemic louseborne typhus strains. *J. Exp. Med.* 82, 1–20.
- Tarshis, I. B. (1958). Feeding techniques for bloodsucking arthropods. *Proc. 10th Intern. Congr. Entomol.* 1956, 3, 767–784.
- Totze, R. (1934). Blutsaugen unter rein experimentellen Bedingungen. *Zbl. Bakt. Parasitenk. u. Infektionskrh.* 132, 382–384.
- Wade, J. O. (1976). A new design of membrane feeder incorporating an electrical blood stirring device. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 70, 113–120.
- Wade, S. E. und Georgi, J. R. (1988). Survival and reproduction of artificially fed cat fleas, *Ctenocephalides felis* Bouche (Siphonaptera: Pulicidae). *J. Med. Entomol.* 25, 186–190.
- Weigl, R. (1920). Untersuchungen und Experimente an Fleckfieberläusen: Die Technik der Rickettsia-Forschung. Beiträge zur Klinik der Infektionskrankheiten, Bd. 8, 4, 353–376.
- Wheeler, C. W., Suyemoto, W., Cavanaugh, D. C., Shimada, T. und Yamakawa, Y. (1956). Studies on *Pasteurella pestis* in various fleas species. II. Simplified method for the experimental infection of fleas. *J. Infect. Dis.* 98, 107–111.

Korrespondenzadresse

PD Dr. H.-F. Matthes
Forschungszentrum für Medizintechnik und Biotechnologie e.V.
Geranienweg 7
D-99947 Bad Langensalza

