

Streszczenie

Pchły psie i kocie jako rezerwuary patogenów wybranych zoonoz

Mgr Olga Pawelczyk

Promotor: Prof. dr hab. n. biol. Krzysztof Solarz

Promotor pomocniczy: Dr n. med. Marek Asman

Zakład Parazytologii, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny, Poniatowskiego 15, Katowice 40-055

Wstęp

Zwierzęta towarzyszące mogą ulegać infestacji przez różne gatunki owadów pasożytniczych. Pchła kocia (*Ctenocephalides felis felis*) i psia (*Ctenocephalides canis*) należą do poliksenicznych pasożytów zewnętrznych ssaków, występujących najczęściej na kotach (*Felis catus*) oraz psach domowych (*Canis lupus familiaris*). Gatunki te stanowią zagrożenie zarówno dla zwierząt, na których pasożytują, jak i ludzi znajdujących się w ich bliskim otoczeniu. Pchły z rodzaju *Ctenocephalides* mogą być wektorami i rezerwuarami wielu czynników chorobotwórczych, do których zaliczane są - *Yersinia pestis*, *Bartonella henselae*, *Rickettsia typhi*, czy *R. felis*. Dodatkowo, ich larwy mogą odgrywać rolę żywicieli pośrednich dla tasiemców - *Dipylidium caninum*, *Hymenolepis diminuta* i *H. nana*. Istnieją badania sugerujące, że przedstawiciele tego rzędu owadów mogą być rezerwuarami, a także wektorami dla innych patogenów zoonotycznych, między innymi dla tych wywołujących choroby odkleszczowe.

Cele badań

Celami niniejszej pracy były - detekcja pierwotniaków *Babesia microti* i *Toxoplasma gondii* u imagines pcheł *Ctenocephalides felis felis* i *Ctenocephalides canis*; - detekcja riketsji *Anaplasma phagocytophilum* i *Rickettsia helvetica*, oraz krętków *Borrelia burgdorferi* sensu lato u imagines pcheł *Ctenocephalides felis* i *Ctenocephalides canis*; - ocena badanych gatunków pcheł jako potencjalnych rezerwuarów badanych pierwotniaków i drobnoustrojów chorobotwórczych; - próba ustalenia możliwości transmisji wymienionych patogenów zoonotycznych przez analizowane gatunki pcheł z rodzaju *Ctenocephalides*; - ocena potencjalnego ryzyka narażenia właścicieli zwierząt zainfestowanych przez pchły psie i kocie

na badane zoonotyczne czynniki chorobotwórcze; - ustalenie frekwencji występowania badanych patogenów wybranych zoonoz u pcheł kocich i psich.

Material i metody

Pchły zostały zebrane ze zwierząt domowych w lecznicach weterynaryjnych, schroniskach dla zwierząt i w salonie pielęgnacji, zlokalizowanych w czterech miastach województwa śląskiego - Będzinie, Sosnowcu, Rudzie Śląskiej i Zawierciu. Materiał przechowywano w probówkach z zawartością 70%-go alkoholu etylowego, a następnie oznaczono do gatunku i płci. DNA było izolowane z pojedynczych prób za pomocą metody amoniakalnej. W celu detekcji *Borrelia burgdorferi* sensu lato użyto pary starterów specyficznych dla fragmentu genu kodującego flagelinę. *Anaplasma phagocytophilum* była wykrywana za pomocą pary specyficznych starterów dla genu 16S rRNA, natomiast w celu detekcji *Rickettsia helvetica* użyto pary starterów specyficznych dla genu *gltA* kodującego syntazę cytrynianową. *Babesia microti* była wykrywana za pomocą starterów specyficznych dla sekwencji 18S rRNA w reakcji nested PCR. *Toxoplasma gondii* była wykrywana za pomocą komercyjnego zestawu PK40 kit (Blirt DNA Gdańsk) za pomocą specyficznych starterów do detekcji fragmentu genu kodującego 65 kDa białko antygenowe dla tego pierwotniaka, a także za pomocą reakcji nested PCR z użyciem starterów kodujących fragment genu B1. Produkty amplifikacji zostały oddzielone elektroforetycznie na 2%-wym żelu agarozowym z bromkiem etydyny, a następnie dokonano ich wizualizacji w świetle UV. Oczekiwane produkty amplifikacji i reamplifikacji wynosiły: 482 pz dla *B. burgdorferi* s. l., 274 pz dla *A. phagocytophilum*, 381 pz dla *R. helvetica*, 308 pz (Blirt DNA Gdańsk) i 531 pz dla *T. gondii* oraz 154 pz dla *B. microti*.

Wyniki

W latach 2013-2017 odłowiono 155 pcheł z kotów i psów domowych na terenie województwa śląskiego. Wśród nich oznaczono 4 gatunki, do których należały *Ctenocephalides felis felis* (68,39%), *Ctenocephalides canis* (28,39%), *Pulex irritans* (1,94%) i *Archaeopsylla erinacei* (1,29%). Samice pcheł występowały w zdecydowanej przewadze, stanowiąc aż 84,52% całości zebranego materiału. Analizie molekularnej poddano 150 pcheł, w tym 106 - *C. felis felis* i 44 - *C. canis*. Najczęściej stwierdzanym czynnikiem patogennym była riketsja *Anaplasma phagocytophilum*, która występowała aż u 29,25% pcheł *C. felis felis* i 15,91% *C. canis*. Drugim najczęściej wykrywanym czynnikiem patogennym, zarówno w przypadku pcheł kocich (*C. felis felis*), jak i psich (*C. canis*) był pierwotniak *Babesia*

microti. Gatunek ten występował u 11,32% *C. felis felis* oraz 11,36% *C. canis*. Ponadto, w analizowanym materiale stwierdzono występowanie gatunków *Rickettsia helvetica* i *Toxoplasma gondii*. 2,83% pcheł *C. felis felis* oraz 6,82% *C. canis* było zakażonych *R. helvetica*, natomiast *T. gondii* stwierdzono u 1,89% pcheł kocich i 2,27% pcheł psich. W badaniach odnotowano również współwystępowanie gatunków *A. phagocytophilum* i *B. microti* u *C. felis felis* (12,5%), koinwazję *T. gondii* i *B. microti*, zarówno u pcheł kocich (2,5%), jak i psich (6,67%) oraz wspólne występowanie trzech patogenów - *A. phagocytophilum*, *B. microti* i *T. gondii* u jednego osobnika *C. felis felis*.

Wnioski

W wyniku przeprowadzonych badań sformułowano następujące wnioski: zarówno pchła kocia (*Ctenocephalides felis felis*), jak i psia (*Ctenocephalides canis*) mogą spełniać rolę rezerwuaru dla riketsji *Anaplasma phagocytophilum* i *Rickettsia helvetica* oraz pierwotniaków *Babesia microti* i *Toxoplasma gondii*; istnieje potencjalne ryzyko transmisji riketsji *Anaplasma phagocytophilum* i *Rickettsia helvetica* oraz pierwotniaków *Babesia microti* i *Toxoplasma gondii* przez badane gatunki pcheł z rodzaju *Ctenocephalides*; *Anaplasma phagocytophilum* jest patogenem odkleszczowym najczęściej izolowanym z pcheł kocich i psich, zebranych z psów i kotów domowych na terenie województwa śląskiego; ekspozycja ludzi na inwazje pcheł *Ctenocephalides felis felis* i *Ctenocephalides canis*, których żywicielami są zarażone nimi koty domowe (*Felis catus*) lub psy domowe (*Canis lupus familiaris*) może stwarzać ryzyko infekcji *Anaplasma phagocytophilum* i *Rickettsia helvetica* lub inwazji *Babesia microti* i *Toxoplasma gondii*.

Słowa kluczowe: *Ctenocephalides felis felis*, *Ctenocephalides canis*, *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum*, *Rickettsia helvetica*, *Babesia microti*, *Toxoplasma gondii*

Abstract

Dog and cat fleas as reservoirs of selected zoonotic pathogens

PhD student Olga Pawelczyk

Supervisor: Professor Krzysztof Solarz

Second Supervisor: PhD Marek Asman

Department of Parasitology, School of Pharmacy with the Division of Laboratory Medicine in Sosnowiec, Medical University of Silesia, Poniatowskiego 15, Katowice 40-055, Poland

Background

Companion animals can be infested by various species of parasitic insects. Cat flea (*Ctenocephalides felis felis*) and dog flea (*Ctenocephalides canis*) belong to multihost external parasites of mammals, which most frequently occur on domestic cats (*Felis catus*) and dogs (*Canis lupus familiaris*). These species pose a threat to animals on which they parasitize and to people in their close surrounding. Fleas from the genus *Ctenocephalides* may be vectors and reservoirs of many pathogenic factors, including - *Yersinia pestis*, *Bartonella henselae*, *Rickettsia typhi* and *R. felis*. In addition, their larvae may be indirect hosts of tapeworms - *Dipylidium caninum*, *Hymenolepis diminuta* and *H. nana*. There are studies suggesting that representatives of this order of insects can be reservoirs and vectors for other zoonotic pathogens, for instance Tick-Borne Diseases.

Aims of the study

The aims of this study were the detection of *Babesia microti* and *Toxoplasma gondii* protozoans in adult *Ctenocephalides felis felis* and *Ctenocephalides canis* fleas. Secondly, the detection of rickettsiae *Anaplasma phagocytophilum* and *Rickettsia helvetica*, and spirochetes *Borrelia burgdorferi* sensu lato in adult *Ctenocephalides felis* and *Ctenocephalides canis* fleas. Thirdly, the evaluation of the examined flea species as potential reservoirs of examined protozoans and other pathogenic microorganisms. Furthermore, the attempt was made to determine the possibility of transmission listed zoonotic pathogens by examining *Ctenocephalides* flea species. Moreover, trying to assess the potential risk of exposure for pet owners, which dog and cat fleas were infested with examined zoonotic pathogenic agents. Finally, the establishment of the prevalence examined zoonotic pathogens in cat and dog fleas was made.

Material and methods

Fleas were collected from pets in veterinary clinics, animal shelters and pet grooming salon located in four cities of the Silesia Province – Będzin, Sosnowiec, Ruda Śląska and Zawiercie. The material was conserved in plastic tubes with 70% ethyl alcohol, and was determined to species and sex. DNA was isolated from single flea by using the ammonia method. For the detection of *Borrelia burgdorferi* sensu lato a pair of primers specific for gene fragment encoding the flagellin was used. *Anaplasma phagocytophilum* was detected by using a pair of primers specific for 16S rRNA gene, and for the detection of *Rickettsia helvetica* pair of primers specific for *glTA* gene encoding citrate synthase was used. *Babesia microti* was detected by nested PCR using specific primers for the 18S rRNA sequence. *Toxoplasma gondii* was detected by using commercial PK40 kit (Blirt DNA Gdańsk, Poland) by using specific primers to detection gene encoding 65 kDa antigenal protein for this protozoa, and also by nested PCR, with using primers for the detection fragment of B1 gene. The amplification products were separated electrophoretically on a 2% agarose gel stained with ethidium bromide, and were visualized in UV light. The expected amplification and reamplification products were: 482 base pairs for *B. burgdorferi* s. l., 274 bp for *A. phagocytophilum*, 381 bp for *R. helvetica*, 308 bp (Blirt DNA Gdańsk, Poland) and 531 bp for *T. gondii* and 154 bp for *B. microti*.

Results

In 2013-2017, 155 fleas were captured from domestic dogs and cats in Silesia Province. Among them, 4 species were determined, which were *Ctenocephalides felis felis* (68,39%), *Ctenocephalides canis* (28,39%), *Pulex irritans* (1,94%) and *Archaeopsylla erinacei* (1,29%). Female fleas occurred in the vast majority, constituted 84,52% of total collected material. 150 fleas were molecularly analyzed, including 106 of *C. felis felis* and 44 of *C. canis* fleas. The most often detected pathogenic species was rickettsia *Anaplasma phagocytophilum*, which was in 29,25% *C. felis felis* and 15,91% of *C. canis*. The second most frequently detected pathogenic species both in cat fleas (*C. felis felis*), and dog fleas (*C. canis*) was protozoan *Babesia microti*. This species was found in 11,32% *C. felis felis* and 11,36% *C. canis*. Moreover, in the examined material *Rickettsia helvetica* and *Toxoplasma gondii* were found. 2, 83% of *C. felis felis* and 6, 82% *C. canis* fleas were infected by *R. helvetica*, whereas *T. gondii* was found in 1,89 % cat fleas and in 2,27% dog fleas. This study has showed the co-existence of *A. phagocytophilum* and *B. microti* in *C. felis felis* (12,5%), the co-occurrence of *T. gondii* and *B. microti* both in cat fleas (2,5%) and dog

fleas (6,67%) and the co-existence of three pathogens - *A. phagocytophilum*, *B. microti* and *T. gondii* in one individual of *C. felis felis*.

Conclusions

As a result of the conducted study, the following conclusions were formulated – both cat flea (*Ctenocephalides felis felis*) and dog flea (*Ctenocephalides canis*) can play a role of reservoirs for rickettsia *Anaplasma phagocytophilum* and *Rickettsia helvetica*, as well as protozoans *Babesia microti* and *Toxoplasma gondii*. There is a potential risk of transmission rickettsiae *Anaplasma phagocytophilum* and *Rickettsia helvetica*, as well as protozoans *Babesia microti* and *Toxoplasma gondii* by examined *Ctenocephalides* flea species. The Tick-Borne Pathogen - *Anaplasma phagocytophilum* is the most frequently isolated pathogen from cat and dog fleas, collected from domestic cats and dogs in the Silesia Province. The exposition of people to fleas *Ctenocephalides felis felis* and *Ctenocephalides canis*, which hosts are domestic cats (*Felis catus*) and dogs (*Canis lupus familiaris*) can pose a risk of infection of rickettsiae *Anaplasma phagocytophilum* and *Rickettsia helvetica* or protozoans *Babesia microti* and *Toxoplasma gondii* in humans.

Key words: *Ctenocephalides felis felis*, *Ctenocephalides canis*, *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum*, *Rickettsia helvetica*, *Babesia microti*, *Toxoplasma gondii*