

Teză de doctorat

Ecologia căpușelor și a patogenilor transmiși de căpușe în mediul urban în România

Doctorand: **Silvia-Diana Borșan**

Conducător de doctorat: **Prof. Dr. Andrei Daniel Mihalca, Dipl ECZM**



REZUMAT

Caracterizate de cicluri de dezvoltare complexe, căpușele sunt paraziți hematofagi temporari ai vertebratelor și vectori ai unei mari diversități de agenți patogeni care provoacă numeroase boli animalelor și populației umane la nivel global (RIZZOLI ET AL., 2014). Impulsionat de procesul intens de urbanizare de la nivel mondial, un număr tot mai mare de cercetări a început să se concentreze asupra prezenței populațiilor de căpușe în habitatele urbane și asupra impactului acestor schimbări pentru sănătatea publică.

Prezența căpușelor în fauna urbană este deja binecunoscută, cu un număr mare de studii care raportează prezența acestora în special în zonele periurbane (USPENSKY, 2014). În ultimele decenii, creșterea globală a urbanizării a modificat în mod semnificativ nivelurile de biodiversitate și a avut un impact atât asupra relațiilor căpușe-gazdă, cât și asupra ratelor de infectare a căpușelor (ESTRADA-PEÑA ȘI DE LA FUENTE, 2014). Ca urmare a activităților umane legate de această schimbare, multe zone urbane și periurbane din Europa sunt considerate ca fiind habitate favorabile pentru contactul dintre oameni și căpușe. În încercarea de a crește calitatea vieții urbane pentru locuitorii orașelor, numeroase spații verzi precum păduri, grădini, parcuri, cimitire și proprietăți private de mari dimensiuni din zonele periurbane din interiorul multor orașe europene au fost conservate. Astfel de locații oferă condiții de mediu adecvate și o densitate suficientă de gazde pentru dezvoltarea căpușelor, respectiv pentru menținerea focarelor de patogeni transmiși de acestea (GINSEBERG AND FAULDE, 2008; RIZZOLI ET AL., 2014; USPENSKY, 2014).

Până în prezent au fost descrise aproximativ 700 de specii de căpușe Ixodidae. Cele mai relevante genuri pentru sănătatea publică sunt *Ixodes*, *Haemaphysalis*, *Dermacentor*, *Rhipicephalus*, *Hyalomma* și *Amblyomma* (PFÄFFLE ET AL., 2013). *Ixodes ricinus*, cea mai răspândită specie de căpușă în Europa, principalul vector pentru numeroși patogeni zoonotici (RIZZOLI ET AL., 2014) și cea mai comună specie de căpușă raportată de pe oameni în România (BRICIU ET AL., 2014; ANDERSSON ET AL., 2018), preferă în mod obișnuit habitatele cu subarboret și acoperire de arbuști, cum ar fi pădurile de foioase, care pot asigura condiții adecvate de dezvoltare. Cu toate acestea, recent, un număr din ce în ce mai mare de studii raportează prezența populațiilor de *I. ricinus* stabilite în zonele urbane, cum ar fi parcurile și grădinile publice (RIZZOLI ET AL., 2014), locuri frecventate pe scară largă de un număr mare de cetățeni.

Cu toate acestea, nu toate habitatele sunt favorabile dezvoltării căpușelor, respectiv circulației patogenilor transmiși de acestea. Pentru a fi adecvată pentru transmiterea patogenilor, o anumită zonă trebuie să îndeplinească în primul rând cerințele abiotice și biotice fundamentale ale căpușelor și ale gazdelor lor. Acești factori specifici mediază dezvoltarea căpușelor și a patogenilor asociați lor, precum și prezența, diversitatea și abundența gazdelor și interacțiunile acestora cu căpușele (PFÄFFLE ET AL., 2013).

Borrelioza Lyme, infecția cauzată de complexul *B. burgdorferi* s.l., este cea mai frecventă boală zoonotică transmisă de căpușele *Ixodes* spp. în Europa și America de Nord (STRNAD ET AL., 2017). Alți agenți patogeni transmiși de căpușe și vehiculați de *Ixodes* spp. precum bacteriile din ordinul Rickettsiales, sau *Bartonella* spp., protozoarele din genul *Babesia*, sau virusul encefalitei transmise de căpușe pot provoca infecții umane și, în unele cazuri, pot produce sechele severe pe termen lung sau chiar permanente (HAGLUND ȘI GÜNTHER, 2003).

Luând în considerare comportamentul generalist de hrănire al lui *I. ricinus*, la această specie de căpușă sunt raportate frecvent coinfecții cu mai multe microorganisme (REIS ET AL., 2011). Căpușele pot prelua diverse bacterii, paraziți și virusuri fie de la o gazdă cu infecții multiple, fie prin hrănirea consecutivă pe mai multe gazde (împreună cu dezvoltarea individuală), fie prin hrănirea simultană cu alte căpușe infectate pe aceeași gazdă (PIESMAN AND HAPP, 2001). Transmiterea transstadială sau, în cazul unor patogeni (de exemplu, *Borrelia* spp., *Rickettsia* spp. și virusul encefalitei transmise de căpușe), transmisia transovariană la căpușe poate contribui, de asemenea, la ecologia acestor

agenți patogeni (SPRONG ET AL., 2009; RIZZOLI ET AL., 2011; KARBOWIAK ȘI BIERNAT, 2016). Mai mult, transmiterea agenților patogeni de la căpușe coinfectate poate modifica gravitatea semnelor clinice ale bolii la oameni sau animale, provocând uneori întârzieri sau chiar erori de diagnosticare (CUTLER ET AL., 2020). Prin urmare, din cauza impactului potențial al coinjecțiilor la căpușele urbane și a probabilității de transmitere simultană a unor patogenilor, este esențial să se identifice ciclurile enzootice locale, cu atât mai mult în zonele de agrement.

Până în prezent, un număr de 532 de cazuri de boală Lyme au fost diagnosticate serologic în România la pacienți umani pe parcursul anului 2018 (NCSCC, 2018). În ceea ce privește ordinul Rickettsiales, *A. phagocytophilum* nu a fost încă descrisă la om, cu toate acestea, au fost raportate rickettsii din grupul febrei pătate la pacienți umani (ȘERBAN ET AL., 2009; ZAHARIA ET AL., 2016). Riscul ca oamenii să dobândească virusul encefalitei transmise de căpușe în România este încă necunoscut din cauza unui sistem de supraveghere pasivă a acestei boli și a faptului că nu există screening regulat disponibil (CHITIMIA-DOBLER ET AL., 2020). Cu toate acestea, sunt descrise rate variabile de seropozitivitate față de acest virus la oameni și animale în mai multe județe din România (IONESCU ET AL., 2008; SALAT ET AL., 2017).

Ecologia căpușelor și a patogenilor transmiși de acestea a reprezentat un subiect de interes la nivel mondial în ultimele decenii. Încălzirea globală, despădurirea, gestionarea defectuoasă a faunei sălbatice și urbanizarea sunt unii dintre principalii factori care au orientat atenția oamenilor de știință către habitatele urbane și anume evaluarea diversității, abundenței și a activității sezoniere a căpușelor și a patogenilor asociați lor în aceste medii. Până în prezent, un număr considerabil de studii descriu ecologia (SONENSHINE ȘI ROE, 2013) și agenții patogeni transmiși de *I. ricinus* la nivel mondial (KEESING ET AL., 2010; RIZZOLI ET AL., 2014; STRNAD ET AL., 2017). În ciuda unui număr destul de mare de rapoarte care analizează diversitatea și prevalența patogenilor în căpușele din mediu sau de pe gazde (colectate de la oameni sau animale), precum și a probelor colectate de la oameni în România, încă ne lipsesc informații importante și, în unele cazuri, de bază, în special în ceea ce privește situația din zonele urbane și periurbane. Prin cercetările noastre sperăm să acoperim aceste lacune științifice, astfel că obiectivele acestei lucrări au fost următoarele:

- Evaluarea factorilor ecologici care influențează diversitatea, abundența și activitatea sezonieră a căpușelor din mediu în zonele urbane și periurbane din România
- Analiza influenței factorilor ecologici la micro- și macro-scală asupra distribuției căpușelor într-o selecție de microlocații urbane
- Detectarea patogenilor în: căpușele colectate din mediu și de pe gazde și în probe recoltate de la fauna sălbatică din zone urbane și periurbane
- Determinarea ratelor de coinjecție cu patogeni în tipurile de probe menționate anterior
- Efectuarea unei analize statistice comparative a ratelor de infecție și a diversității agenților patogeni în căpușele din habitatele urbane și periurbane
- Evaluarea impactului restricțiilor de circulație generate de pandemia COVID-19 asupra comportamentului recreațional, a percepțiilor de risc și a practicilor de protecție privind căpușele în rândul populației din România, utilizând un chestionar online.

Prima parte a acestei teze (1. Introducere) prezintă informații sintetizate din literatura de specialitate cu privire la aspectele generale ale biologiei și ecologiei căpușelor Ixodidae, împreună cu o prezentare generală a patogenilor transmiși de căpușe raportați din mediile urbane din Europa și a principalelor gazde implicate în ecologia căpușelor în habitate urbane. A doua parte a tezei (2. Cercetări originale) conține un total de 4 manuscrise originale și este divizată în două părți. Prima parte cuprinde studiile noastre privind factorii care influențează ecologia căpușelor din mediu și a patogenilor transmiși de căpușe (din căpușe din mediu și de pe gazde) în mai multe zone urbane și periurbane din Cluj-Napoca, România (trei manuscrise), în timp ce a doua parte descrie atitudinea publicului român față de căpușe în timpul carantinei naționale impusă de pandemia de COVID-19 (un

manuscris). La finalul tezei, am rezumat concluziile și, în cele din urmă, am inclus referințele enumerate în studiile noastre.

În primul capitol al celei de-a doua părți a acestei teze (2.1.1) ne-am propus să colectăm informații cu privire la factorii abiotici și biotici care influențează distribuția, abundența și sezonalitatea căpușelor Ixodidae în Cluj-Napoca, al treilea cel mai populat oraș din România. Rata de urbanizare din România a fost într-o creștere constantă în ultimii ani. Cu toate acestea, există încă o lipsă generală de informații cu privire la ecologia populațiilor de căpușe și la riscul de a contacta boli transmise de căpușe în zonele urbane de agrement din România. Eceptând un studiu realizat în județul Iași (PAVEL ET AL., 2014), nu există date publicate disponibile privind ecologia căpușelor în mediul urban, studiul de față raportând aceste date pentru prima dată din regiunea de nord-vest a României. În acest sens, am selectat șapte locații din patru tipuri de habitate din Cluj-Napoca: parcuri, grădini, un cimitir și păduri periurbane, care au fost analizate pentru prezența căpușelor prin metoda steagului. În plus, utilizând metode standard (de exemplu, căutări nocturne cu ajutorul lanternelor frontale, plase ornitologice, capcane “snap-traps” etc.), am analizat și recoltat probe (căpușe, țesut) de la arici, păsări și micromamifere și am evaluat vegetația în zonele cercetate. Prezența căpușelor a fost confirmată în toate zonele urbane analizate, cu variații în ceea ce privește diversitatea și abundența, fiind influențate în principal de climă și de disponibilitatea locală a gazdelor adecvate. O abundență mai mare de căpușe a fost observată în parcurile și grădinile urbane în comparație cu pădurile periurbane. Deoarece *I. ricinus* a fost cea mai abundentă specie de căpușe detectată atât în mediu, cât și pe gazde, subliniem importanța implementării în orașe a unor politici de gestionare a căpușelor pentru a controla riscul bolilor transmise de căpușe la care sunt expuși locuitorii.

Al doilea manuscris (2.1.2) este o continuare firească a lucrării menționate anterior. Din nou, în ciuda existenței unor rapoarte din diferite județe din România privind patogeni cu potențial zoonotic detectați în căpușe din mediu sau de pe gazde și în probe recoltate de la diverse gazde animale, în fapt se cunosc puține lucruri despre diversitatea, prevalența sau ratele de coinfectie cu patogeni ale căpușelor din mediu și de pe gazde (fauna sălbatică) din habitate urbane și periurbane din România (RAILEANU ET AL., 2017; 2018). Astfel, am selectat aleatoriu și am izolat ADN-ul din 443 de probe colectate în cadrul studiului anterior și, utilizând o metodă moleculară de procesare cu spectru larg și de mare capacitate, le-am analizat pentru prezența a 44 de agenți patogeni transmiși prin vectori. Un total de 15 agenți patogeni au fost identificați la nivel de specie și 6 la nivel de gen. Șapte specii de *Borrelia* spp. au fost identificate în căpușele din mediu și cinci în căpușele recoltate de pe gazde. Alți agenți patogeni din ordinul Rickettsia au fost, de asemenea, prezenți cu prevalență variabilă. Obiectivele noastre au fost de a contribui la evaluarea prezenței și diversității patogenilor și a ratelor de coinfectie în căpușele din mediu și de pe gazde în zone urbane. Având în vedere rezultatele obținute, accentuăm necesitatea de a stabili programe adecvate de supraveghere a căpușelor în orașe și de a include coinfecțiile în planul de management al bolilor transmise de căpușe în România.

Ideea care a stat la baza celui de-al treilea manuscris (2.1.3) a fost de asemenea motivată de rezultatele obținute în primul nostru studiu. Am descoperit în cercetarea anterioară că locațiile urbane sunt opțiuni viabile pentru dezvoltarea și menținerea populațiilor de căpușe chiar și în absența unor gazde animale mari. Cu toate acestea, factorii ecologici de micro- și macrohabitat care influențează căpușele să favorizeze un microsite în detrimentul altuia din aceeași locație sunt încă în mare parte neexplorate. Campusul Universității de Științe Agricole și Medicină Veterinară din Cluj-Napoca (Campusul USAMV) s-a clasat pe locul al doilea în ceea ce privește numărul de căpușe colectate în campania anterioară de supraveghere și având în vedere activitatea umană intensă pe care o primește această locație, am considerat că este o zonă importantă pentru investigații ulterioare. Ținând cont de aceste aspecte, am selectat trei zone distincte în cadrul Campusului USAMV, unde am colectat căpușe prin metoda steagului, am înregistrat caracteristici ale micro și

macrohabitatului precum variabile climatice (termohigrometre), activitatea faunei (capcane „snap-traps” și camere de înregistrat) și compoziția vegetației (estimare vizuală). Conform relatărilor anterioare, *I. ricinus* a fost și de această dată specia predominantă de căpușe colectată în toate cele trei zone. De asemenea au existat diferențe semnificative între cele trei locații în ceea ce privește numărul de căpușe colectate, care par să fie influențate în principal de variabile climatice precum temperatura medie zilnică și deficitul de saturație și frecvența vizitelor faunei. Cu toate acestea, în ciuda faptului ca nu am înregistrat corelații statistice între structurile/speciile de vegetație sau abundența locală a rozătoarelor și numărul total de căpușe, impactul acestor variabile asupra distribuției căpușelor în anumite microhabitate nu ar trebui minimizat. În continuare sunt necesare investigații pe termen lung pentru o mai bună înțelegere a modului în care factorii ecologici influențează densitatea căpușelor în microhabitatele urbane într-un context climatic aflat în continuă schimbare.

Cea de-a doua parte a cercetării originale (2.2.1) explorează atitudinea publicului român față de căpușe într-o perioadă plină de schimbări și incertitudini cu care se confruntă omenirea, respectiv în timpul carantinei naționale impusă de pandemia de COVID-19. Multe țări au implementat măsuri de carantină timpurie ca o metodă de a controla răspândirea virusului (RUBIN AND WESSELY, 2020). Programele de izolare la nivel național au pus la încercare viața de zi cu zi și bunăstarea populației umane, oamenii din întreaga lume confruntându-se cu diverse suferințe psihosociale. Obținerea unei perspective asupra percepției riscurilor și a evoluției cunoștințelor publicului față de riscurile de sănătate emergente sau aflate în schimbare este vitală pentru îmbunătățirea strategiilor de sănătate publică. În ciuda rapoartelor la nivel național privind prezența căpușelor în diverse medii, atitudinile publicului român în ceea ce privește căpușele și bolile transmise de căpușe sunt în mare parte necunoscute. Astfel, ne-am propus să evaluăm impactul restricțiilor de circulație generate de pandemia de COVID-19 asupra comportamentului recreațional, percepțiilor de risc și practicilor de protecție privind căpușele ale publicului român. Utilizând un chestionar online, am ajuns la concluzia că, deși majoritatea respondenților au petrecut mai puțin timp în aer liber, au raportat că au găsit căpușe pe ei înșiși sau pe câinii lor mai frecvent. Schimbările în preferințele pentru locurile de recreere, ratele de utilizare a metodelor de protecție, timpul petrecut în anumite zone sau activitatea sezonieră a căpușelor sunt factori care ar fi putut contribui la acest rezultat. Cei mai mulți participanți au considerat că riscul de a intra în contact cu căpușe, respectiv patogeni vehiculați de acestea, nu s-a schimbat sau a scăzut în timpul perioadei de izolare. Este posibil ca acest risc să fi fost considerat mai puțin important sau mai puțin îngrijorător de către majoritatea respondenților, comparativ cu riscul de infectare cu Sars-CoV-2. În ceea ce privește grupurile de risc, bărbații de toate vârstele, seniorii și locuitorii din mediul rural ar trebui să fie vizați de către autoritățile române relevante atunci când promovează campanii locale sau naționale de conștientizare cu privire la căpușe. De asemenea, sunt necesare eforturi mai mari pentru a încuraja utilizarea comportamentelor de prevenire, care au fost, în general, chiar mai puțin utilizate pe perioada carantinei decât în mod uzual.

Concluzii generale și recomandări

Scopul principal al acestei teze de doctorat a fost de a investiga ecologia căpușelor și a agenților patogeni transmiși de căpușe în mediul urban din România. Prin studiile noastre am reușit să aducem noi informații cu privire la riscurile potențiale cu care se confruntă oamenii în locații utilizate în principal în scopuri recreative. Am concluzionat că, căpușele au capacitatea să stabilească sau au stabilit deja populații în parcurile și grădinile din orașe, un număr considerabil dintre aceste căpușe dovedindu-se a fi purtătoare a unuia sau a mai multor agenți patogeni zoonotici. Mai mult, în contextul climatic actual, luând în considerare toți factorii care contribuie la nivel global (factori socio-demografici, ecologici), căpușele își adaptează și ele comportamentul conform schimbărilor, ceea ce înseamnă că, dacă factorii ecologici de micro și macrohabitat sunt adecvați, căpușele pot utiliza o varietate de spații verzi, chiar și locații aparent neprielnice cu un grad crescut de

fragmentare, o activitate intensă a oamenilor, cu lipsa gazdelor animale de dimensiuni mari și în care are loc gestionarea periodică a vegetației.

Astfel, în afară de beneficiile incontestabile ale creșterii spațiului verde în zone urbane și ale promovării utilizării acestuia în orașele în curs de dezvoltare, locuitorii orașelor ar trebui să fie atenți la faptul că aceste zone servesc, de asemenea, drept habitat pentru fauna sălbatică urbană și căpușele asociate acesteia. Este convingerea personală a autorului că rezultatul studiilor efectuate în Cluj-Napoca cu privire la eco-epidemiologia căpușelor din spațiile urbane ar putea fi transpuse și în cazul altor orașe din România. Subliniem încă o dată necesitatea eforturilor sporite din partea autorităților române în promovarea campaniilor de conștientizare despre căpușe prin diverse canale, nu doar social-media, cu un accent deosebit pe importanța utilizării metodelor de prevenire a contactului cu căpușele.

Referințe:

1. ANDERSSON, M.O., G. MARGA, T. BANU, G. DOBLER, L. CHITIMIA-DOBLER, 2018B, Tick-borne pathogens in tick species infesting humans in Sibiu County, central Romania, *Parasitology Research*, 5 (117): 1591-597
2. BRICIU, V. T., F. MEYER, D. SEBAH, D. F. TATULESCU, G. COROIU, M. LUPSE, ET AL., 2014, Real-time PCR-based identification of *Borrelia burgdorferi* sensu lato species in ticks collected from humans in Romania, *Ticks and Tick-borne Diseases*, 5 (5): 575-81
3. CHITIMIA-DOBLER, L, A. HRISTEA, W. ERBER, T. VUKOVIĆ-JANKOVIĆ, 2020, TBE in Romania, Chapter 12b. In: G. DOBLER, W. ERBER, M. BRÖKER, H. J. SCHMITT (eds), *The TBE Book, 3rd ed.*, Singapore: Global Health Press, 290
4. CUTLER, S. J., M. VAYSSIER-TAUSSAT, A. ESTRADA-PEÑA, A. POTKONJAK, A. D. MIHALCA, H. ZELLER, 2020, Tick-borne diseases and co-infection: current considerations, *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 12:101607
5. ESTRADA-PEÑA, A., AND J. DE LA FUENTE, 2014, The ecology of ticks and epidemiology of tick-borne viral diseases, *Antiviral research*, 108: 104-128
6. GINSBERG, H. S, AND M. K. FAULDE, 2008, Ticks, 303-345
7. HAGLUND, M, AND G. GÜNTHER, 2003, Tick-borne encephalitis—pathogenesis, clinical course and long-term follow-up, *Vaccine*, 21 (Supplement 1): S11-8
8. IONESCU, L, M. NECSULESCU, A. ALEXSE, C. CEIANU, D. POPESCU, S. BICHERU, ET AL., 2008, Infection with tick-borne encephalitis virus in Romania, *Revista Romaneasca de Medicina Veterinara*, 3: 69-79 (in Romanian)
9. KARBOWIAK, G., AND B. BIERNAT, 2016, The role of particular tick developmental stages in the circulation of tick-borne pathogens affecting humans in Central Europe, 2, Tick-borne encephalitis virus, *Annals of Parasitology*, 1 (62): 3-9
10. KEESING, F., L. K. BELDEN, P. DASZAK, A. DOBSON, C. D. HARVELL, R. D. HOLT, ET AL., 2010, Impacts of biodiversity on the emergence and transmission of infectious diseases, *Nature*, 7324 (468): 647-952
11. NCSCC, 2018, Evolution Analysis of Communicable Diseases Under Surveillance in Romania. Report for 2018, Romania: National Center for Surveillance and Control of Communicable Diseases-NCSCC, (in Romanian)
12. PAVEL, I., L. MIRON, C. RĂILEANU, I. I. MACOVEI, C. TRONCIU, D. M. ACATRINEI, ET AL., 2014, Seasonal dynamics of ixodid ticks in Iași urban area, *Scientific Papers-Veterinary Medicine, University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine "Ion Ionescu de la Brad" Iași city*, 57: 135-39
13. PFÄFFLE, M., N. LITWIN, S. V. MUDERS, T. N. PETNEY, 2013, The ecology of tick-borne diseases *International Journal for Parasitology*, 12-13 (43): 1059-1077
14. PIESMAN, J., AND C. M. HAPP, 2001, The efficacy of co-feeding as a means of maintaining *Borrelia burgdorferi*: a North American model system, *Journal of Vector Ecology: Journal of the Society for Vector Ecology*, 2 (26): 216-220
15. RAILEANU, C., S. MOUTAILLER, D. POREA, L. OSLOBANU, D. ANITA, A. ANITA, ET AL., 2018, Molecular Evidence of *Rickettsia* spp., *Anaplasma phagocytophilum*, and "Candidatus *Neoehrlichia mikurensis*" in ticks from natural and urban habitats in Eastern Romania, *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 7 (18): 343-49
16. RAILEANU, C., S. MOUTAILLER, I. PAVEL, D. POREA, A.D. MIHALCA, G. SAVUTA, ET AL., 2017, *Borrelia* diversity and co-infection with other tick borne pathogens in ticks, *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 7: 36
17. REIS, C., M. COTE, R. E. PAUL, S. BONNET, 2011, Questing ticks in suburban forest are infected by at least six tick-borne pathogens, *Vector- Borne and Zoonotic Diseases*, 7 (11): 907-916
18. RIZZOLI, A., C. SILAGHI, A. OBIEGALA, I. RUDOLF, Z. HUBÁLEK, G. FÖLDVÁRI, ET AL., 2014, *Ixodes ricinus* and its transmitted pathogens in urban and peri-urban areas in Europe: new hazards and relevance for public health, *Frontiers in Public Health*, 2: 251
19. RIZZOLI, A., H. HAUFFE, G. CARPI, H. G. VOURC, M. NETELER, R. ROSA, 2011, Lyme borreliosis in Europe, *Eurosurveillance*, 27 (16): 19906

20. RUBIN, G. J., AND S. WESSELY, 2020, The psychological effects of quarantining a city, *Bmj*, 368
21. SALAT, J, A. D. MIHALCA, M. MIHAIU, D. MODRÝ, D. RUZEK, 2017, Tick-borne encephalitis in sheep, Romania, *Emerging Infectious Diseases*, 12 (23): 2065–7
22. SERBAN, R., A. PISTOL, M. NEGUȚ., R. CUCUIU, 2009, *Rickettsia conorii* infection in Romania, 2000-2008. *Bacteriologia, Virusologia, Parazitologia, Epidemiologia*, 54, 177–183
23. SONENSHINE, D. E, AND R. M. ROE, 2013, *Biology of ticks*, Vol. 2, New York, US: *Oxford University Press*
24. SPRONG, H., P. R. WIELINGA, M. FONVILLE, C. REUSKEN, A. H. BRANDENBURG, F. BORGSTEEDE, 2009, *Ixodes ricinus* ticks are reservoir hosts for *Rickettsia helvetica* and potentially carry flea-borne *Rickettsia* species, *Parasites & Vectors*, 1 (2): 41
25. STRNAD, M., V. HÖNIG, D. RUŽEK, L. GRUBHOFFER, R. O. REGO, 2017, Europe- wide meta-analysis of *Borrelia burgdorferi* sensu lato prevalence in questing *Ixodes ricinus* ticks, *Applied and Environmental Microbiology*, 15 (83): e00609–17
26. USPENSKY, I, 2014, Tick pests and vectors (Acari: Ixodoidea) in European towns: Introduction, persistence and management, *Ticks and Tick-borne Diseases*, 1 (5): 41-7
27. ZAHARIA, M., C . P . POPESCU, S. A. FLORESCU, E. CEAUSU, D. RAOULT, P. PAROLA, ET AL., 2016, *Rickettsia massiliae* infection and SENILAT syndrome in Romania, *Ticks and Tick-Borne Disease*, 7, 759–762