

TEZĂ DE DOCTORAT

---

# Identificarea vectorilor și a speciilor cu potențial de rezervor natural pentru genul *Rickettsia*

(REZUMAT AL TEZEI DE DOCTORAT)

---

Doctorand **Talida-Maria Holmic (căs. Ivan)**

---

Conducător de doctorat **Prof. univ. dr. Ionel Papuc**

---





## INTRODUCERE

Căpușele reprezintă un grup semnificativ de ectoparaziți hematofagi, fiind considerate vectori importanți ai unor boli infecțioase în Europa. Căpușele sunt vectori ai mai multor agenți patogeni parazitari, bacterieni sau virali, cu un puternic impact asupra sănătății umane și animale. Secolul al XX-lea este martorul creșterii incidenței și diversității bolilor vectoriale (BOULANGER ȘI COLAB., 2019). Patogenii bacterieni transmiși de căpușe au fost descriși în întreaga lume ca fiind un risc potențial atât pentru sănătatea animală, cât și pentru cea umană. Populația și structura comunității de căpușe, precum și abundența acestora sunt legate de originea geografică, fiind influențate de o mare varietate de factori precum caracteristicile climatice, gradul de acoperire cu vegetație (DANTAS-TORRES ȘI COLAB., 2012; TAGLIAPIETRA ȘI COLAB., 2011) sau disponibilitatea gazdelor (HOFMEESTER ȘI COLAB., 2017). Condițiile climatice la care aceste specii s-au adaptat includ clima subarctică a Europei de Nord (PEEL ȘI COLAB., 2007), precum și clima caldă și umedă din Sud (DANTAS-TORRES ȘI OTRANTO, 2012). *Ixodes ricinus*, una dintre cele mai răspândite specii de căpușe în Europa în ultimii 30 de ani, posedă o mare capacitate de a traversa diferite forme de relief, având o adaptabilitate crescută (CICCULLI ȘI COLAB., 2019), caracterizată ca plasticitate ecologică (ROSĂ ȘI COLAB., 2018).

Unii dintre agenții patogeni transmiși prin căpușe sunt agenți ai unor zoonoze importante: *Borrelia burgdorferi*, agentul etiologic al bolii Lyme, o boală transmisă prin vectori cu o largă răspândire inclusiv în România (KALMÁR ȘI COLAB., 2013), care a fost descrisă pentru prima dată în anul 1977 de reumatologul Allen Steere (BUSH ȘI COLAB., 2018); *Anaplasma phagocytophilum*, agentul etiologic al anaplasmozei granulocitare, larg răspândită și în Europa și în România (MATEI ȘI COLAB., 2016), dar și *Babesia microti*, *Babesia divergens*, agenții etiologici ai babesiozei (GORENFLOT ȘI COLAB., 1998).

Speciile de *Rickettsia* sunt transmise în principal prin vectori artropode, un număr important dintre ele fiind transmise de căpușe. În cadrul bolilor grupului febrei pătate (SFG), transmise de căpușe, genul *Rickettsiae*, poate provoca simptome nespecifice care îngreunează diagnosticul clinic. *Rickettsia* spp. sunt bacterii intracelulare gram-negative, aparținând clasei  $\alpha$ -proteobacterii, ordinul Rickettsiales, familia Rickettsiaceae (NCBI TAXONOMIE, 2022).

Speciile de *Rickettsia* de interes medical transmise de căpușe, descrise până acum în Europa sunt: *R. rickettsii* agentul etiologic al febrei pătate a Munților Stâncoși

(RMSF) (WILSON ȘI CHOWNING, 1904), *R. conorii* agentul etiologic al febrei pătate Mediteraneene (MSF) (BRUMPT, 1932), *R. sibirica mongolitimonaе*, care include printre principalele manifestări clinice limfangita, astfel fiind propus acronimul LAR (limfangită asociată rickettsiosis) (OTEO ȘI PORTILLO, 2012), *R. slovacă* agentul etiologic al escarei scalpului și limfadenopatiei gâtului după mușcătura de căpușă (SENLAT) (LAKOS, 1999), *R. monacensis* agentul etiologic al „MSF-like“ (OTEO ȘI PORTILLO, 2012), *R. helvetica* (OTEO ȘI PORTILLO, 2012), *R. aeschlimannii* (TOSONI ȘI COLAB., 2016) și *R. massiliae* (OTEO ȘI PORTILLO, 2012). În *I. ricinus*, una dintre cele mai răspândite specii de căpușe din Europa (OTRANTO ȘI COLAB., 2018), au fost identificate: *R. helvetica* (BORAWSKI ȘI COLAB., 2019), *R. monacensis*, *R. raoultii*, (KLITGAARD ȘI COLAB., 2019, WALLMÉNIUS ȘI COLAB., 2012), *R. slovacă*, *R. sibirică* și *R. sibirica mongolotimonaе* (WALLMÉNIUS ȘI COLAB., 2012). În plus, specii cu patogenitate necunoscută precum Candidatus „*R. mendelii*“ (HAJDUSKOVA ȘI COLAB., 2016), *R. bellii* (STAŃCZAK ȘI COLAB., 2018) au fost raportate la această specie de căpușă, în țări precum Cehia (HAJDUSKOVA ȘI COLAB., 2016), Germania (PAROLA ȘI COLAB., 2013), Polonia, (STAŃCZAK ȘI COLAB., 2018) și Suedia (WALLMÉNIUS ȘI COLAB., 2012).

România posedă o biodiversitate ridicată având 21 de ecoregiuni în cele cinci regiuni biogeografice (ANPM, 2022), cu o mare diversitate de specii de căpușe și potențialele gazde ale acestora (MIHALCA ȘI COLAB., 2012a, 2012b).

Până în prezent, în România au fost detectate mai multe rickettsii parte a SFG în căpușe colectate din mediu sau de la diferite gazde și mai puțin în probe de țesut. O analiză a diversității speciilor de *Rickettsia*, a asocierii și distribuției gazdelor în România a arătat prezența următoarelor specii de *Rickettsia*: *R. helvetica*, *R. raoultii* (ANDERSSON ȘI COLAB., 2018B; RĂILEANU ȘI COLAB., 2018; ZAHARIA ȘI COLAB., 2016), *R. conorii* (BORȘAN ȘI COLAB., 2021; IONITĂ ȘI COLAB., 2016; PIȚIGOI ȘI COLAB., 2013), *R. monacensis* (ANDERSSON ȘI COLAB., 2018B; MĂRCUȚAN ȘI COLAB., 2016; BORȘAN ȘI COLAB., 2021; MATEI ȘI COLAB., 2021), *R. slovacă* (IONITĂ ȘI COLAB., 2016, ANDERSSON ȘI COLAB., 2018B; ZAHARIA ȘI COLAB., 2016), *R. aeschlimannii* (ANDERSSON ȘI COLAB., 2018B), *R. felis* (BORȘAN ȘI COLAB., 2021), *R. massiliae* (MĂRCUȚAN ȘI COLAB., 2016; ZAHARIA ȘI COLAB., 2016). Detectarea s-a făcut fie în căpușe colectate din mediu, precum: *D. marginatus* și *D. reticulatus* (BORȘAN ȘI COLAB., 2021; MATEI ȘI COLAB., 2018), *I. ricinus*, *H. punctata* (BORȘAN ȘI COLAB., 2021), *D. reticulatus* (RĂILEANU ȘI COLAB., 2018), *H. punctata* (BORȘAN ȘI COLAB., 2021), fie în căpușe hrănite sau chiar în probe de țesut de la păsări sau mamifere mici (MĂRCUȚAN ȘI COLAB., 2016; BORȘAN ȘI COLAB., 2021) sau la gazde umane (ZAHARIA ȘI COLAB., 2016; PIȚIGOI ȘI COLAB., 2013; ȘERBAN ȘI COLAB., 2009).

Deși, România este clasată în top 15 în Europa, prin prisma suprafeței, caracteristică la care se adaugă o populație ridicată a căpușelor și prezența unei importante diversități de gazde, datele despre diversitatea bacteriană a acestora, în ceea ce privește genul *Rickettsia* spp. sunt relativ puține. Cunoașterea speciilor din marele grup al căpușelor cu potențial de vector și/sau rezervor natural pentru genul *Rickettsia* va permite dezvoltarea unei baze de date privind distribuția lor și capacitatea acestora de a fi rezervor natural sau vector.

**Scopul** acestei cercetări a fost de a identifica diversitatea speciilor de *Rickettsia* în România și asocierile dintre căpușe-specii de *Rickettsia* și dintre aceste și gazdele vertebrate, în vederea evaluării capacității acestor specii de artropode și vertebrate de a fi considerate potențiale gazde rezervor natural și/sau vectori ai speciilor din genul *Rickettsia* spp.

În acest context, în cadru cercetării au fost stabilite mai multe obiective generale și specifice.

**Obiectivele generale:**

1. Stabilirea asocierilor dintre speciile de căpușe-specii de *Rickettsia*;
2. Stabilirea asocierilor dintre speciile de vertebrate-specii de *Rickettsia*;
3. Stabilirea diversității speciilor de *Rickettsia* în România.

**Obiectivele specifice:**

1. Alegerea probelor ce vor fi incluse în studiu și crearea bazelor de date;
2. Amplificarea ADN-ului specific prin reacția PCR și electroforeză;
3. Purificarea și secvențierea probelor pozitive;
4. Stabilirea asocierilor între căpușe și patogeni din genul *Rickettsia* cu potențial zoonotic în România;
5. Implicarea căpușelor cu potențial de vector în epidemiologia rickettsiozelor;
6. Detectarea speciilor de *Rickettsia* în probele recoltate din țesuturi de la mamifere mici și lilieci de pe teritoriul țării noastre;
7. Stabilirea importanței mamiferelor mici și liliecilor în epidemiologia *Rickettsia* spp.;
8. Evaluarea prezenței agenților rickettsiali la carnivore domestice și sălbatice din România;
9. Conturarea populației rezervor în lanțul epidemiologic al rickettsiozelor;
10. Analiza statistică a datelor obținute pentru a oferi un argument științific robust cercetărilor și pentru elaborarea unor articole științifice.

## STRUCTURA TEZEI DE DOCTORAT

Teza intitulată „Identificarea vectorilor și a speciilor cu potențial de rezervor natural pentru genul *Rickettsia*” are un număr de 153 de pagini scrise conform normelor actuale de editare la nivel academic și național. Teza de doctorat este structurată în două părți formate din 10 capitole și conține 28 de figuri, 18 tabele și 388 de referințe bibliografice.

Prima parte a tezei de doctorat intitulată „Stadiul actual al cunoașterii” este structurată în 3 capitole și cuprinde 30 de pagini. Această parte sintetizează informații privind taxonomia, caracteristicile morfologice, patogenitatea, epidemiologia, vectorii și rezervoarele pentru *Rickettsia*, dar și asocierile dintre *Rickettsia*, căpușe și distribuția lor geografică în Europa (**Capitolul 1**). De asemenea, sunt prezentate cele mai importante specii de rickettsii zoonotice sau cu potențial zoonotic din Europa, precum: *R. rickettsii*, *R. conorii*, *R. sibirica mongolitimonae*, *R. slovacca*, *R. helvetica*, *R. monacensis*, *R. aeschlimanii* și *R. massiliae* (**Capitolul 2**). Ultimul capitol al acestei părți (**Capitolul 3**) include date referitoare la instrumentele de diagnostic pentru infecția cu *Rickettsia* spp., bazate pe metode serologice, moleculare sau chiar de cultivare a *Rickettsia*.

**A doua parte** a tezei de doctorat este alocată cercetărilor proprii. Acesta este structurat în 7 capitole și cuprinde 100 de pagini.

**Capitolul 4** prezintă motivația, scopul și obiectivele cercetării. Ne-am propus să evaluăm și să revizuiem prezența ADN-ului rickettsial în toate tipurile de probe biologice colectate în timpul cercetărilor anterioare, pentru înțelegerea diversității speciilor SFG *Rickettsia* din România.

**Capitolul 5** al acestei părți sintetizează materialele și metodele de lucru utilizate. Toate studiile au fost efectuate în România, utilizând căpușe colectate din mediu sau hrănite, probe de țesut recoltate din carcase de lilieci insectivori, mamifere mici și carnivore sălbatice ucise accidental, în principal prin coliziuni, și sânge recoltat de la carnivore domestice. Căpușele au fost testate pentru prezența ADN-ului rickettsial prin tehnica PCR care amplifică fragmente ale genelor *gltA* și *17-D* ale *Rickettsia* spp., mostre de țesut de la mamifere mici, lilieci insectivori și carnivore sălbatice, precum și sângele colectat de la carnivore domestice au fost testate utilizând detecția PCR amplificând un fragment de 381 bp al genei *gltA*. Pentru amplificarea fragmentului genei *17-D* a *Rickettsia* spp. a fost utilizat un protocol PCR nested.

**Capitolul 6** este alocat **Studiului I**, intitulat: Diversitatea *Rickettsia* spp. parte a SFG în populația de căpușe și prima raportare a *Rickettsia hoogstraalii* în Romania, și a avut ca scop evaluarea diversității SFG *Rickettsiae* la căpușe aparținând a cinci specii. Toate căpușele *Ixodes ricinus*, *Dermacentor marginatus*, *D. reticulatus*, *Haemaphysalis*

*punctata* incluse în acest studiu au fost căpușe colectate prin metoda flagging. Având în vedere lipsa datelor despre SFG *Rickettsia* la *Rhipicephalus rossicus*, o specie prezentă în regiunea de stepă din sud-estul României, au fost incluse în studiu și căpușe *R. rossicus* colectate de la câini cu stăpân (*Canis familiaris*). Un total de 2028 de căpușe au fost testate prin tehnica PCR urmărindu-se amplificarea fragmentelor genelor *gltA* și *17-D* ale SFG *Rickettsia*.

**Capitolul 7** include **Studiul II**: Screeningul rickettsiozelor parte a SFG în rândul populației de mamifere mici și a speciilor de lilieci insectivori. Motivați de diversitatea și ubicuitatea mare a mamiferelor mici și a liliecilor din România, precum și de faptul că aceștia sunt gazde rezervor cunoscute pentru virusi zoonotici importanți și datorită potențialului lor de a adăposti SFG *Rickettsia*, scopul acestui studiu a fost de a detecta speciile de *Rickettsia* din probele de țesut. Toate cele 20 de specii de lilieci și 31 de specii de mamifere mici au fost identificate folosind chei morfologice. Probele utilizate de la lilieci ( $n = 322$ ) au fost reprezentate de țesut cardiac, iar pentru mamiferele mici ( $n = 791$ ) de țesut splenic. Toate animalele utilizate în acest studiu au fost ucise accidental, în principal prin coliziuni.

**Capitolul 8** este alocat **Studiului III**: Implicarea carnivorelor domestice și sălbatice în ecoepidemiologia *Rickettsia* spp. În acest studiu s-a evaluat prezența agenților rickettsiali la carnivorele domestice și sălbatice în România, având în vedere rolul potențial al acestora ca specii santinelă pentru bolile transmise de căpușe. Studiul a inclus 357 de probe de sânge de la carnivore domestice și mai mult de 1200 de probe provenite din carcasele carnivorelor sălbatice.

În **Capitolul 9** sunt prezentate concluziile și recomandările formulate în baza rezultatelor cercetării. În **capitolul 10** sunt prezentate originalitatea și contribuțiile inovatoare ale tezei.

## REZULTATELE CERCETĂRII PROPRII

**Capitolul 6.** Scopul acestui studiu a fost de a revizui diversitatea SFG *Rickettsia* în căpușe colectate din toate cele 41 de județe din România. Un total de 2028 de căpușe, aparținând a cinci specii, hrănite sau colectate din vegetație au fost incluse în studiu: *Ixodes ricinus* ( $n=1128$ ), *Dermacentor marginatus* ( $n =507$ ), *D. reticulatus* ( $n=165$ ), *Haemaphysalis punctata* ( $n =100$ ) și *Rhipicephalus rossicus* ( $n=128$ ) fiind testate prin tehnica PCR urmărindu-se amplificarea fragmentelor genelor *gltA* și *17-D* ale SFG *Rickettsia* spp. Pentru căpușele *Ixodes ricinus* și *H. punctata* s-au evaluat toate stadiile de dezvoltare, iar pentru *Dermacentor* spp. și *R. rossicus* au fost evaluați doar adulții.

Prevalența totală a infecției cu *Rickettsia* spp. a fost de 5.82% (118/2028; 95% CI: 4,88–6,92). Deși, prevalența a variat considerabil (între 7 și 24,22%) la speciile de căpușe, cea mai mare valoare s-a înregistrat pentru căpușele *R. rossicus*. Conform analizei BLAST, cea mai prevalentă specie a fost *R. monacensis*, cu o prevalență de 43,22% (51/118; 95% CI: 34,13–52,66%) din totalul căpușelor pozitive. Secvențele au fost detectate la *I. ricinus* (7 femele, 11 masculi și 12 nimfe), *R. rossicus* (12 femele și 2 masculi) și la căpușe *Hae. punctata* (1 mascul, 2 nimfe și 1 larvă). A doua specie în ordinea prevalenței a fost *R. helvetica*, reprezentând 38,14% (45/118, 95% CI: 29,35–47,53) dintre căpușele pozitive. A fost izolat de la *I. ricinus* (12 femele, 13 masculi și 10 nimfe) și căpușele *R. rossicus* (6 femele și 4 masculi). *Rickettsia raoultii* a fost identificată la 15,25% dintre căpușele pozitive (18/118, 95% CI: 9,3–23,03%), *Rickettsia raoultii* a fost detectată la *D. marginatus* (4 femele și 4 masculi), *I. ricinus* (2 masculi și 3 nimfe), *R. rossicus* (2 femele și 1 mascul) și căpușe *Hae. punctata* (1 mascul, nimfă și larvă). *Rickettsia slovacica* a avut o prevalență de 1,69% (2/118, 95% CI: 0,21–5,99%). A fost detectată doar la căpușele *D. marginatus* (1 femelă și 1 mascul). *Rickettsia hoogstraalii* a fost detectată într-o secvență izolată la o căpușă *R. rossicus* colectată de la un câine, înregistrând o prevalență de 0,85%.

Infecția cu *Rickettsia* spp. a fost depistată în 22 din cele 41 de județe din România (53,66%; 95% CI: 37,42–69,34), cu o prevalență variabilă între 1,35% și 50%.

**Capitolul 7.** Pe baza diversității și ubicuității ridicate a mamiferelor mici și a liliecilor, la care se adaugă raportarea în România a șapte din cele opt specii de rickettsii parte a SFG cu potențial zoonotic, scopul acestui studiu a fost detectarea speciilor de *Rickettsia* în probe de țesut la mamifere mici și lilieci. În studiile anterioare, un număr de 791 de mamifere mici din 31 de specii au fost colectate dintr-o varietate de habitate din România (14 județe). Totodată, au fost examinate 322 de mostre de lilieci aparținând a 20 de specii provenind din 13 locații și peșteri. De la fiecare mamifer mic a fost colectată probă de țesut splenic. Organul de referință pentru lilieci a fost reprezentat de cord.

Toate cele 791 de mamifere mici testate au prezentat rezultate negative pentru prezența ADN-ului rickettsial. ADN-ul rickettsial din SFG a fost detectat în 14,6% (n=47/322, 95% CI: 11,02–19,04) din probe. Au fost detectate probe pozitive la *Nyctalus noctula* (22 din 188 testate), *Pipistrellus pipistrellus* (n=13/55), *Myotis alcaethoe* (n=5/12), *P. nathusii* (n=4/25), *Plecotus auritus* (n=5/12). =1/6), *Vespertilio murinus* (n=1/4) și *P. pygmaeus* (n=1/2). Prevalența globală a *Rickettsia* spp. a fost de 23,64% (IC 95%: 13,23–37,02) la *P. pipistrellus* și de 11,7% (IC 95%: 7,48–17,18) la *N. noctula*. Dintre cele 47 de probe, doar 17 au fost potrivite pentru secvențiere (concentrație de ADN > 30 ng/μl). Analiza secvențelor a arătat o similaritate de 99,7% până la 100% cu *R. monacensis*. Patru secvențe obținute de fragmente gltA



(MT741493-MT741496) au fost depuse în baza de date GenBank. Prevalența generală a *R. monacensis* a fost de 5,28% (n=17, IC 95%: 3,2-8,84); 9,09% (n=5, IC 95%: 3,02-19,95) la *P. pipistrellus* și 6,38% (n=12, 95%CI: 3,34-10,88) la *N. noctula*. Toate probele confirmate pozitiv au provenit din două locații distincte: *N. noctula* din Cheile Bicazului și *P. pipistrellus* din Peștera „Huda lui Papara”.

**Capitolul 8.** Acest capitol alocat studiului III a avut ca scop evaluarea prezenței agenților rickettsiali la carnivorele domestice și sălbatice din România, având în vedere rolul potențial al acestora ca specii santinelă pentru bolile transmise de căpușe. În plus, motivat de inconsecvența în detectarea agenților patogeni transportați de vectori și a detectării *Rickettsia* spp. în probele de țesut, în cadrul acestui studiu s-a comparat prezența ADN-ului rickettsial în diferite tipuri de probe.

Probe de sânge de la 357 de câini au fost recoltate pe parcursul a 2 ani în alte proiecte anterioare. Subiecții aleși au provenit din zone aflate în patru intervale de altitudine: 0 până la 5 m, câmpie 6-100 m, deluros 200 până la 400 m și munți de înălțime joasă > 500 m. Au fost colectate 1215 de probe de la 550 de carnivore sălbatice. Probele prelevate au constat în cheaguri de sânge, țesut cardiac, țesut hepatic, pulmonar, splenic, renal, ganglioni limfatici și măduvă osoasă. Au rezultat 833 de probe de la 95 de animale. Pentru restul animalelor a fost testată doar splina.

Amplificarea AND-ului extras din sânge, țesut cardiac, țesut hepatic, țesut pulmonar, țesut splenic, țesut renal, ganglioni limfatici și probele de măduvă osoasă recoltate de la carnivore domestice și sălbatice a condus la rezultate negative pentru *Rickettsia* spp. la toate probele testate.

## CONCLUZII GENERALE

În **capitolul 9** al tezei, pe baza rezultatelor obținute, sunt prezentate concluziile generale.

Prevalența medie a *Rickettsia* spp. în căpușe, în România a prezentat o valoare moderată (~5%), încadrată în limitele europene.

Diversitatea speciilor de rickettsia, aparținând grupului febrei pătate conform rezultatelor obținute prin screening-ul căpușelor atât din mediu, cât și hrănite, a fost, reprezentată de: *R. helvetica*, *R. hoogstraalii*, *R. monacensis*, *R. raoultii* și *R. slovacă*.

*Rickettsia hoogstraalii* a fost pentru prima dată detectată în România; pentru prima dată într-o căpușă colectată de pe câine și pentru prima dată în *Rh. rossicus*.

Raportarea *R. hoogstraalii* în România, completează diversitatea rickettsiilor cunoscute pe teritoriul țării noastre, reprezentate de: *R. asemonensis*, *R. conorii*, *R. helvetica*, *R. massiliae*, *R. monacensis*, *R. raoultii* și *R. slovacă*.

Importanța detectării *R. helvetica*, *R. monacensis*, *R. raoultii* și *R. slovacca*, în procente semnificative (peste 98% din totalul probelor pozitive) rezită din caracterul zoonotic al acestor specii, reprezentând astfel, un risc major la adresa sănătății publice.

În țara noastră, specia cu cea mai mare prevalență, conform studiilor prezentate, pare să fie *R. monacensis*, atât în cazul căpușelor, cât și în cazul gazdelor vertebratelor.

Detectarea *R. monacensis* și *R. raoultii* în larve nehrănite de *Hae. punctata*, sugerează posibilă transmitere transovariene a celor două specii de *Rickettsia* în specia de căpușe *Hae. punctata*. Aceste observații vin în completarea detectării *R. monacensis* și *R. helvetica*, în larve de *I. ricinus*, raportate în studii anterioare.

Detectarea mai multor specii de rickettsii, și anume: *R. helvetica*, *R. monacensis*, *R. hoogstraalii* și *R. raoultii* în *Rh. rossicus*, colectate de pe câine, sugerează, fie implicarea speciei *Rh. rossicus* în epidemiologia acestor rickettsii, fie implicarea câinilor în epidemiologia acestora.

Detectarea *R. monacensis* în probe de țesut biologic de la liliecii insectivori (*P. pipistrellus* și *N. noctula*) cu o prevalență relativ mare, sugerează posibilă implicare a liliecilor în epidemiologia acestei rickettsii.

Nedetectarea rickettsiilor în probe de țesut colectat de la mamiferele mici, în ciuda prezenței căpușelor pozitive recoltate de pe acestea, raportate într-un studiu anterior, sugerează, existența unei rickettsiemii de scurtă durată și neimplicarea acestora ca și rezervoare în epidemiologia rickettsiilor.

Nedetectarea rickettsiilor în țesuturi recolate de la carnivore domestice și sălbatice în România, sugerează fie neimplicarea, fie rolul minor al acestor specii în epidemiologia rickettsiilor cu prevalență semnificativă în România, ca și gazde competente și/sau rezervor.

## RECOMANDĂRI

Având în vedere rezultatele obținute este recomandată supravegherea rickettsiilor în România, în special a speciilor cu caracter zoonotic. De asemenea, recomandăm creșterea conștientizării riscurilor asupra sănătății publice reprezentate de prezența speciilor zoonotice pe teritoriul țării noastre.

Este necesară creșterea conștientizării prin popularizarea acestor rezultate, în rândul medicilor practicieni, în vederea unui diagnostic diferențial corespunzător al bolilor transmise de căpușe la câine.

Având în vedere detectarea *R. hoogstraalii* pe teritoriul țării noastre și lipsa datelor referitoare la potențialul patogen pentru om și animale al acestei specii, cât și

epidemiologia în mare parte necunoscută, este recomandat, să se efectueze studii ulterioare, care să clarifice aceste aspecte.

Având în vedere detectarea *R. monacensis*, o specie zoonotică fiind agentul Febrei Mediteraneene-like, în probe de țesut de la lilieci, este necesară evaluarea acestor specii pe animale, în epidemiologia *R. monacensis* și a posibilului risc asupra sănătății umane, reprezentat de liliac.

## BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. ANDERSSON, M.O.; MARGA, G.; BANU, T.; DOBLER, G.; CHITIMIA-DOBLER, L., 2018a, Tick-borne pathogens in tick species infesting humans in Sibiu County, central Romania. *Parasitol Res.* 117:1591-1597, doi.org/10.1007/s00436-018-5848-0.
2. BORAWSKI, K., DUNAJ, J., PANCEWICZ, S., KRÓL, M., CZUPRYNA, P., MONIUSZKO-MALINOWSKA, A. 2019, Tick-borne rickettsioses in Europea review. *Przegł Epidemiol.* 73(4):523-530.
3. BORȘAN, S.D.; IONICĂ, A.M.; GALON, C.; TOMA-NAIC, A.; PEȘTEAN, C.; SÂNDOR, A.D.; MOUTAILLER, S.; MIHALCA, A.D., 2021, High Diversity, Prevalence, and Co-infection Rates of Tick-Borne Pathogens in Ticks and Wildlife Hosts in an Urban Area in Romania. *Front. Microbiol.* 12, doi: 10.3389/fmicb.2021.645002.
4. BOULANGER, N.; BOYER, P.; TALAGRAND-REBOUL, E; HANSMANN, Y., 2019, Ticks and tick-borne diseases. *Med Mal Infect.* 49(2):87-97, doi:10.1016/j.medmal.2019.01.007.
5. BRUMPT, E., 1932, Longevity of the Virus of Fièvre boutonneuse in *R. sanguineus*, *Compte rendu des seances de la Societe de biologie*, 110(28):1199-1202.
6. CICCULLI, V., MAESTRINI, O., CASABIANCA, F., VILLECHENAUD, N., CHARREL, R., DE LAMBALLERIE, X. AND FALCHI, A., 2019. Molecular detection of spotted-fever group rickettsiae in ticks collected from domestic and wild animals in Corsica, France, *Pathogens*, 8(3):138.
7. DANTAS-TORRES, F.; CHOMEL, B.B.; OTRANTO, D., 2012,. Ticks and tick-borne diseases: a One Health perspective. *Trends Parasitol.* 28:437-446, doi:10.1016/j.pt.2012.07.003.
8. HAJDUSKOVA, E.; LITERAK, I.; PAPOUSEK, I.; COSTA, F.B.; NOVAKOVA, M.; LABRUNA, M.B.; ZDRAZILOVA-DUBSKA, L., 2016, 'Candidatus *Rickettsia mendelii*', a novel basal group rickettsia detected in *Ixodes ricinus* ticks in the Czech Republic. *Ticks Tick Borne Dis.* 7:482-486, doi:10.1016/j.ttbdis.2016.02.004.
9. HOFMEESTER, T.R.; SPRONG, H.; JANSEN, P.A.; PRINS, H.H.; VAN WIEREN, S.E. 2017, Deer presence rather than abundance determines the population density of the sheep tick, *Ixodes ricinus*, in Dutch forests. *Parasit Vectors.* 10:1-8, doi:10.1186/s13071-017-2370-7.
10. IONIȚĂ, M.; SILAGHI, C.; MITREA, I. L.; EDOUARD, S.; PAROLA, P.; PFISTER, K. 2016, Molecular detection of *Rickettsia conorii* and other zoonotic spotted fever group rickettsiae in ticks, Romania. *Ticks Tick Borne Dis.* 7:150-153, doi: 10.1016/j.ttbdis.2015.10.006.
11. KALMÁR, Z., MIHALCA, A.D., DUMITRACHE, M.O., GHERMAN, C.M., MAGDAȘ, C., MIRCEAN, V., OLTEAN, M., DOMȘA, C., MATEI, I.A., MĂRCUȚAN, D.I. AND SÂNDOR, A.D., 2013. Geographical distribution and prevalence of *Borrelia burgdorferi* genospecies in questing *Ixodes ricinus* from Romania: a countrywide study, *Ticks and tick-borne diseases*, 4(5):403-408.
12. KLITGAARD, K.; KJÆR, L.J.; ISBRAND, A.; HANSEN, M.F; BØDKER, R., 2019, Multiple infections in questing nymphs and adult female *Ixodes ricinus* ticks collected in a

- recreational forest in Denmark. *Ticks Tick Borne Dis.* 10:1060-1065, doi:10.1016/j.ttbdis.2019.05.016.
13. LAKOS, A., 1999, Tick-borne lymphadenopathy (TIBOLA)—a new, probably rickettsial infection. *Inf Dis Rev*, 1(2):114-116.
  14. MATEI, IOANA ADRIANA, KALMÁR, ZSUZSA, LUPS,E, MIHAELA, D'AMICO, GIANLUCA, IONICÁ, ANGELA MONICA, DUMITRACHE, MIRABELA OANA, GHERMAN, CĂLIN MIRCEA, MIHALCA, ANDREI DANIEL, 2016, The risk of exposure to rickettsial infections and human granulocytic anaplasmosis associated with *Ixodes ricinus* tick bites in humans in Romania: a multiannual study, *Ticks and Tick-borne Diseases*, 8(3):375–378.
  15. MIHALCA, A.D.; DUMITRACHE, M.O.; MAGDAŞ, C.; GHERMAN, C.M.; DOMŞA, C.; MIRCEAN, V.; GHIRA, I.V.; POCORA, V.; IONESCU, D.T.; BARABÁSI, S.S.; COZMA V., 2012a, Synopsis of the hard ticks (Acari: *Ixodidae*) of Romania with update on host associations and geographical distribution. *Exp. Appl. Acarol.* 58, 183-206, doi:10.1007/s10493-012-9566-5.
  16. MIHALCA, A.D.; GHERMAN, C.M.; MAGDAŞ, C.; DUMITRACHE, M.O.; GYÖRKE, A.; SÁNDOR, A.D.; DOMŞA, C.; OLTEAN, M.; MIRCEAN, V.; MĂRCUŢAN, D.I.; D'AMICO, G., 2012b, *Ixodes ricinus* is the dominant questing tick in forest habitats in Romania: the results from a countrywide dragging campaign. *Exp. Appl. Acarol.* , 58, 175-182, doi:10.1007/s10493-012-9568-3.
  17. OTEO, J.A. AND PORTILLO, A., 2012, Tick-borne rickettsioses in Europe, *Ticks and tick-borne diseases*, 3(5-6):271-278.
  18. PAROLA, P., PADDOCK, C.D., SOCOLOVSCHI, C., LABRUNA, M.B., MEDIANNIKOV, O., KERNIF, T., ABDAD, M.Y., STENOS, J., BITAM, I., FOURNIER, P.E. AND RAOULT, D., 2013, Update on tick-borne rickettsioses around the world: a geographic approach, *Clinical microbiology reviews*, 26(4):657-702.
  19. ROSÀ, R.; ANDREO, V.; TAGLIAPIETRA, V.; BARÁKOVÁ, I.; ARNOLDI, D.; HAUFFE, H.C.; MANICA, M.; ROSSO, F.; BLAŇAROVÁ, L.; BONA, M; DERDÁKOVÁ, M., 2018, Effect of climate and land use on the spatio-temporal variability of tick-borne bacteria in Europe. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 15:732, doi:10.3390/ijerph15040732.
  20. STAŇCZAK, J., BIERNAT, B., RACEWICZ, M., ZALEWSKA, M. AND MATYJASEK, A., 2018, Prevalence of different *Rickettsia* spp. in *Ixodes ricinus* and *Dermacentor reticulatus* ticks (Acari: *Ixodidae*) in north-eastern Poland, *Ticks and tick-borne diseases*, 9(2):427-434.
  21. TAGLIAPIETRA, V.; ROSÀ, R.; ARNOLDI, D.; CAGNACCI, F.; CAPELLI, G.; MONTARSI, F.; HAUFFE, H.C.; RIZZOLI, A., 2011, Saturation deficit and deer density affect questing activity and local abundance of *Ixodes ricinus* (Acari, *Ixodidae*) in Italy. *Vet. Parasitol.* 183:114–124, doi:10.1016/j.vetpar.2011.07.022.
  22. TOSONI, A., MIRIJELLO, A., CIERVO, A., MANCINI, F., REZZA, G., DAMIANO, F. AND ADDOLORATO, G., 2016, Human *Rickettsia aeschlimannii* infection: first case with acute hepatitis and review, *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 20:2630-2633.
  23. WALLMÉNIUS, K.; PETTERSSON, J.H.O.; JAENSON, T.G; NILSSON, K., 2012, Prevalence of *Rickettsia* spp., *Anaplasma phagocytophilum*, and *Coxiella burnetii* in adult *Ixodes ricinus* ticks from 29 study areas in central and southern Sweden. *Ticks Tick Borne Dis.* 3:100-106, doi: 10.1016/j.ttbdis.2011.11.003.
  24. WILSON, L.B. AND CHOWNING, W.M., 1904, Studies in Pyroplasmosis Hominis. ("Spotted Fever" or "Tick Fever" of the Rocky Mountains, *The Journal of Infectious Diseases*, pp.31-57.
  25. ZAHARIA, M.; POPESCU, C.P.; FLORESCU, S.A.; CEAUSU, E.; RAOULT, D.; PAROLA, P.; SOCOLOVSCHI, C., 2016, *Rickettsia massiliae* infection and SENLAT syndrome in Romania, *Ticks Tick Borne Dis.* 7:759-762, doi:10.1016/j.ttbdis.2016.03.008.