**Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.**

Серія: Ветеринарні науки

**Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.**

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print
ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet9603
<http://nvlvet.com.ua>

UDC 619:616.99:595.421

Monitoring of vector-borne diseases in the west part of Ukraine

V.A. Levytska, A.B. Mushinsky

State Agrarian and Engineering University in Podilya, Kamianets-Podilskyi, Ukraine

Article info

Received 01.10.2019
Received in revised form
30.10.2019
Accepted 31.10.2019

State Agrarian and Engineering
University in Podilya,
Shevchenko Str., 13, Kamianets-
Podilskyi, 32300, Ukraine.
Tel.: +38-067-381-20-12
E-mail: Levytska28@gmail.com

Levytska, V.A., & Mushinsky, A.B. (2019). Monitoring of vector-borne diseases in the west part of Ukraine. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 21(96), 14–18. doi: 10.32718/nvlvet9603

During recent years, infectious and invasive animal diseases caused by viruses, bacteria, and protozoa and transmitted by ticks have been a new problem in medical and veterinary practice. Many of these diseases are zoonoses and lead to the disability and mortality of humans and animals. *Ixodes ricinus* and *Dermacentor reticulatus* are species of ticks that are commonly attack animals and humans in Europe. These ticks are spread throughout the EU and are involved in the transmission of a large number of vector-borne diseases. To date, relatively limited data on the circulation of tick-borne diseases and their transmission in western Ukraine are presented. The purpose of this study was to monitor the types of ixodid ticks, as well as to identify pathogens in ticks collected from the environment in urban parks and from dogs and cats. A total of 215 ticks (22 *Ixodes ricinus* and 193 *Dermacentor reticulatus*) collected in two regions of Lviv and Ivano-Frankivsk were investigated. Pathogens, namely, *Rickettsia* spp., *Candidatus Neorhlichia mikurensis*, *Anaplasma phagocytophilum* and *Bartonella* spp., were detected in 64.0% of the *I. ricinus* ticks. Overall, 18.2% of *I. ricinus* ticks were positive for *Rickettsia* spp., 54.5% for *Candidatus Neorhlichia mikurensis*, 9.1% for *A. phagocytophilum* and *Bartonella* spp. confirmed in 4.5% of the studied ticks. Mixed infestations were found in 5 samples of *I. ricinus* DNA, representing 22.7%. In addition, 74.6% of *D. reticulatus* ticks were infested with these pathogens. Overall, 30.0% of *D. reticulatus* ticks were positive for *Rickettsia* spp., *Candidatus Neorhlichia mikurensis* was confirmed in 54.9%, *A. phagocytophilum* in 1.6%, and *Bartonella* spp. in 6.2% of the studied ticks. Mixed infestations were found in 35 *D. reticulatus* DNA samples, representing 18.1%. The prevalence of *Rickettsia* spp. in two regions of Lviv and Ivano-Frankivsk, among the studied ticks was 28.8%, *Bartonella* spp. – 6.0%, *A. phagocytophilum* – 2.3%, *Candidatus Neorhlichia mikurensis* – 54.9%. Our data indicate the presence of pathogens in urban populations of ticks of *I. ricinus* and *D. reticulatus* in west part of Ukraine. Monitoring of tick-borne diseases is an important tool in the prevention and control of infections transmitted to humans and animals.

Key words: *Ixodes ricinus*, *Dermacentor reticulatus*, *Rickettsia* spp., *Candidatus Neorhlichia mikurensis*, *Bartonella* spp., *Anaplasma phagocytophilum*, Western Ukraine.

Моніторинг трансмісивних захворювань, що передаються іксодовими кліщами, в західних областях України

В.А. Левицька, А.Б. Мушинський

Подільський державний аграрно-технічний університет, Кам'янець-Подільський, Україна

Протягом останніх років інфекційні та інвазійні захворювання тварин, викликані вірусами, бактеріями і найпростішими, що передаються кліщами, є новою проблемою охорони здоров'я і ветеринарної практики. Багато таких захворювань є зоонозами і призводять до інвалідності та смертності людей і тварин. *Ixodes ricinus* і *Dermacentor reticulatus* – види кліщів, які часто нападають на тварин і людей у Європі. Ці кліщі поширені по всій території ЄС і беруть участь у передачі великої кількості трансмісивних захворювань. На сьогодні маємо досить обмежені дані щодо циркуляції іксодових кліщів і захворювань, які вони переносять, у західній частині України. Метою даного дослідження був моніторинг видів іксодових кліщів, а також виявлення збудників кро-

вопаразитарних захворювань у кліщах, зібраних з природного середовища в міських парках, а також на собаках і котках. Всього було досліджено 215 кліщів (22 *Ixodes ricinus* і 193 *Dermacentor reticulatus*), зібраних у двох областях: Львівській та Івано-Франківській. Збудники кровопаразитарних захворювань, а саме: *Rickettsia* spp., *Candidatus Neoehrlichia mikurensis*, *Anaplasma phagocytophilum* і *Bartonella* spp., були виявлені у 64,0% досліджуваних кліщів *I. ricinus*. Загалом 18,2% кліщів *I. ricinus* були позитивними щодо *Rickettsia* spp., 54,5% – *Candidatus Neoehrlichia mikurensis*, 9,1% – *A. phagocytophilum* і *Bartonella* spp. підтверджено у 4,5% досліджених кліщів. Змішані інвазії виявили в 5 зразках ДНК *I. ricinus*, що становить 22,7%. Крім того, 74,6% кліщів *D. reticulatus* були інвазовані даними збудниками. Загалом 30,0% кліщів *D. reticulatus* виявились позитивними на *Rickettsia* spp., *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* було підтверджено у 54,9%, *A. phagocytophilum* у 1,6% і *Bartonella* spp. у 6,2% досліджених кліщів. Змішані інвазії виявили в 35 зразках ДНК *D. reticulatus*, що становить 18,1%. Виявлено, що поширеність *Rickettsia* spp. у двох областях – Львівській та Івано-Франківській, серед досліджуваних кліщів становила 28,8%, *Bartonella* spp. – 6,0%, *A. phagocytophilum* – 2,3%, *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* – 54,9%. Наші дані свідчать про наявність збудників кровопаразитарних хвороб у міських популяціях кліщів *I. ricinus* та *D. reticulatus* в Україні. Моніторинг патогенів, що передаються кліщами, є важливим інструментом у запобіганні інвазії та боротьбі з хворобами, що передаються людям і тваринам.

Ключові слова: *Ixodes ricinus*, *Dermacentor reticulatus*, *Rickettsia* spp., *Candidatus Neoehrlichia mikurensis*, *Bartonella* spp., *Anaplasma phagocytophilum*, Західна Україна.

Вступ

Протягом останніх років інфекційні та інвазійні захворювання тварин, викликані вірусами, бактеріями і найпростішими, що передаються кліщами, є новою проблемою охорони здоров'я і ветеринарної практики. Багато таких захворювань є зоонозами і призводять до інвалідності та смертності людей і тварин (Harrus & Baneth, 2005). У країнах ЄС було проведено багато досліджень щодо вивчення поширення іксодових кліщів і патогенів, які вони можуть передавати (Bonnet et al., 2013; Reye et al., 2013; Elsheikha, 2016; Kybicova et al., 2017; Roczeń-Karczmarz et al., 2018; Duplan et al., 2018). Щодо України, то нещодавно почали з'являтися повідомлення стосовно поширеності даних патогенів на території нашої держави (Karbowiak et al., 2013; Didyk et al., 2016; Rogovsky et al., 2017; Weiner et al., 2018).

Ixodes ricinus і *Dermacentor reticulatus* – види кліщів, які часто нападають на тварин і людей у Європі. Ці кліщі поширені по всій території Європи і беруть участь у передачі великої кількості трансмісивних захворювань.

Дані про поширеність патогенів серед кліщів Західної України майже відсутні. Були повідомлення про 3,6% і 5,2% інфікованості *A. phagocytophilum* досліджених кліщів *I. ricinus* у східній Україні та Києві відповідно (Movila et al., 2009; Karbowiak et al., 2013; Hamel et al., 2013; Didyk et al., 2016; Rogovsky et al., 2017). Ці дані можна порівняти з опублікованими даними з сусідніх країн, які повідомляють, що 2,0–2,7% *I. ricinus* були ПЛР-позитивними на *A. phagocytophilum*. Для порівняння: поширеність *A. phagocytophilum* серед досліджених *I. ricinus* становила 4,2% у Білорусі, 2,9% у Литві, 5,1–9,0% у Молдові, 2,3–13,7% у Польщі та 8,8% у Росії (Grzeszczuk et al., 2004; Movila et al., 2009; Olav et al., 2009; Reye et al., 2013; Livanova et al., 2018). У Словаччині ДНК *A. phagocytophilum* була виявлена в декількох міських і приміських районах з показниками інвазії від 1,4 до 5,5% (Pangráčová et al., 2013). Показники поширеності *A. phagocytophilum* серед іксодових кліщів залежать від наявності резервуарних господарів, малих або середніх ссавців, а також птахів (Keesing et al., 2012). Останні дані свідчать, що лисиці та снотові собаки можуть бути важливим резервуаром трансмісивних

хвороб (Karbowiak et al., 2013; Härtwig et al., 2014), вони також можуть заноситись в міські парки з навколишніх лісів (Zagorodniuk, 2003).

Щодо дослідження патогенів, які можуть переносити кліщі *Dermacentor* spp., в Україні опубліковано дані Karbowiak et al. (2014). Досить високу поширеність *A. phagocytophilum* (25,4%) виявлено у кліщів *D. reticulatus* з Чорнобильської зони відчуження. Кровопаразити роду *Babesia* також спостерігалися у 3,4% досліджуваних кліщів. У цьому ж дослідженні 10,1% кліщів *D. reticulatus*, зібраних в парковій зоні Чубинський Хутір Заказник, були позитивними на *R. raoultii*. Поширеність інвазії була нижчою, ніж у сусідніх країнах, наприклад 22–27% у Словаччині (Spitalská et al., 2012), 57% у Польщі (Chmielewski et al., 2009) або 22,6% у Білорусі (Reye et al., 2013). Аналогічно вищі показники інвазованості *Rickettsia* spp і в Західній Європі, а саме 27% кліщів були позитивними у Великобританії (Tijssse-Klasen et al., 2013), 23% у Німеччині (Dautel et al., 2006), 14% у Нідерландах (Nijhof et al., 2007). Такі розбіжності можна пояснити методами відбору зразків та різними молекулярними методиками дослідження, що використовуються для діагностики.

Candidatus Neoehrlichia mikurensis є трансмісивною зоонозною бактерією з сімейства Anaplasmataceae, яка нещодавно з'явилась у Європі (Kawahara et al., 2004; Blaňarová et al., 2015). Це облигатний внутрішньоклітинний грамнегативний організм, що передається кліщами *Ixodes* у помірних районах північної півкулі (Schouls et al., 1999; Vichova et al., 2014; Derdakova et al., 2014). В Європі *Candidatus N. mikurensis* було виявлено в личинках, німфах і дорослих кліщах *I. ricinus* у Німеччині та Швейцарії, поширеність від 2,6% до 6,4% відповідно (Silaghi et al., 2012; Burri et al., 2014). У Словаччині *Candidatus N. mikurensis* було виявлено у 2,4% німф та і 2,6% дорослих особин *I. ricinus*.

Ще до недавнього часу даних щодо виявлення *Bartonella* spp. серед кліщів з України не було. Але нещодавне дослідження продемонструвало, що 1,0 і 2,7% досліджених дорослих кліщів *D. reticulatus* і *I. ricinus* відповідно були позитивними на *Bartonella* spp. з парків Києва. Іншими дослідженнями також виявлено наявність ДНК *B. henselae* в 11,8 і 0,5 – 2,9% досліджених німф і дорослих *I. ricinus* в Німеччині,

32,3 і 0% в Португалії і 38,2 і 12,0% у Франції відповідно (Dietrich et al., 2010).

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводилося в західній Україні протягом 2017–2019 років. Всього було зібрано 215 кліщів з природних стацій, а також з тварин. Протягом весняного та осіннього періодів активності кліщів їх збирали на типових пішохідних маршрутах та у міських парках за допомогою білого фланелевого прапора (1 × 1 м) з трави, чагарників та кущів (до 1,5 м у висоту). Зібраний матеріал зберігали в пластикових пробірках. Другу групу кліщів збирали з котів та собак у ветеринарних клініках міст Львова та Івано-Франківська. Паразитів видаляли з тварин пінцетом і поміщали в пробірку Еппендорфа. До подальших досліджень кліщів зберігали в 70% етиловому спирті. Далі визначали стадію розвитку, рід і вид кожного кліща, використовуючи світлові мікроскопи і потім зберігали для подальших молекулярно-генетичних досліджень.

ДНК виділили з 215 іксодових кліщів. Кліщів промивали від етанолу і подрібнювали. Виділення ДНК проводили, використовуючи набір DNeasy Blood & Tissue Kit (250) (QIAGEN, Німеччина), згідно з інструкціями виробника. Кліща подрібнювали скальпелем в пробірці, центрифугували, додавали 180 мкл буферного розчину (T1) і 25 мкл протеїнази, змішували в вортексі, потім центрифугували і поміщали в термостат при 56 °C протягом 1–3 годин. Зразки ДНК зберігали при -20 °C до подальших аналізів.

Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР).

Реакції ПЛР проводили на наявність *Anaplasma phagocytophilum*, *Rickettsia* spp., *Bartonella* spp., *Candidatus Neoehrlichia mikurensis*. Ампліфікацію проводили з використанням термоциклера MyCycler (BioRad, США). Кожну реакцію ПЛР проводили в 25 мкл об'єму, що містить 5 мкл 5х суміші FIREPol (Solis BioDyne, Естонія), 1 мкл кожного праймера, 5 мкл ДНК (зразок) і 13 мкл стерильної води для PCR Master Mix. У кожній ПЛР як позитивний контроль використовували раніше виявлені зразки ДНК патогенів. Сте-

рильну воду додавали в ПЛР-суміш замість зразка ДНК як негативного контролю.

Продукти ПЛР аналізували за допомогою електрофорезу в 1,5% агарозному гелі, забарвленому GoodView Nucleic Acid Stain (Beijing SBS Genetech, Пекін, Китай), і візуалізували ультрафіолетовим світлом.

Результати та їх обговорення

Всього було зібрано 215 кліщів, серед них було ідентифіковано *Ixodes ricinus* – 22 (14 самок, 8 самців) та *Dermacentor reticulatus* – 193 (126 самок, 67 самців), зібраних з рослинності (34) і від кішок (19) та собак (162).

Серед досліджених кліщів *I. ricinus* збудники кровопаразитарних захворювань були виявлені у 64,0% (14/22). Загалом 18,2% (4/22) кліщів *I. ricinus* були позитивними до *Rickettsia* spp., 54,5% (12/22) – до *Candidatus Neoehrlichia mikurensis*, 9,1% (2/22) – до *A. phagocytophilum* і 4,5% – до (1/22) *Bartonella* spp.. Змішані інвазії були виявлені у 5 досліджених зразках, що становить 22,7%, одночасно були виявлені збудники *Rickettsia* spp. і *A. phagocytophilum* у кліщів.

Що стосується *D. reticulatus*, то у 74,6% (144/193) досліджуваних кліщів було виявлено патогени, а саме 30,0% (58/193) кліщів *D. reticulatus*, були позитивними до *Rickettsia* spp., *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* було підтверджено у 54,9% (106/193), *A. phagocytophilum* – у 1,6% (3/193) і *Bartonella* spp. – у 6,2% (12/193) досліджуваних кліщів. Коінвазування було виявлено у 35 кліщів, що становить 18,1% від загальної кількості *D. reticulatus*. Тут виявляли і поєднання *Rickettsia* spp. та *A. phagocytophilum*, а також *Rickettsia* spp. і *Bartonella* spp. та *A. phagocytophilum* і *Bartonella* spp.

Усі збудники були виявлені як у кліщів, зібраних на природі, так і в знятих з тварин. *Rickettsia* spp. були присутні в 7 зразках від кліщів, зібраних на природі, та у 55, знятих з тварин, *Bartonella* spp. виявлені в 3 кліщів з природи і 10 кліщів від тварин, *A. phagocytophilum* – у 1 і 4, *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* – у 10 і 120 відповідно, зібраних на природі та з тварин (табл. 1).

Таблиця 1

Поширеність збудників трансмісивних хвороб серед дорослих кліщів *I. ricinus* і *D. Reticulatus*

Вид тварин/ Збудник	<i>Rickettsia</i> spp.		<i>Bartonella</i> spp.		<i>A. phagocytophilum</i>		<i>Candidatus Neoehrlichia mikurensis</i>	
	DR	IR	DR	IR	DR	IR	DR	IR
Собаки, коти	52/162	3/19	9/162	1/19	3/162	1/19	109/162	11/19
Вегетація	6/31	1/3	3/31	0/3	0/31	1/3	9/31	1/3
Всього	58/193	4/22	12/193	1/22	3/193	2/22	118/193	12/22

Висновки

Отже, підсумовуючи всі отримані дані, виявлено, що поширеність *Rickettsia* spp. у двох областях: Львівській та Івано-Франківській серед досліджуваних кліщів становила 28,8%, *Bartonella* spp. – 6,0%,

A. phagocytophilum – 2,3%, *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* – 54,9%.

Наші дані свідчать про наявність збудників кровопаразитарних хвороб у міських популяціях кліщів *I. ricinus* та *D. reticulatus* в Україні. Моніторинг патогенів, що передаються кліщами, є важливим інстру-

ментом у запобіганні інвазій та боротьбі з інвазійними хворобами, що передаються людям і тваринам.

Планується проведення подальших досліджень кліщів для визначення інших патогенів.

References

- Harrus, S., & Baneth, G. (2005). Drivers for the emergence and re-emergence of vector-borne protozoal and bacterial diseases. *International journal for parasitology*, 35(11-12), 1309–1318. doi: 10.1016/j.ijpara.2005.06.005.
- Bonnet, S., de la Fuente, J., Nicolle, P., Liu, X., Madani, N., Blanchard, B., Maingourd, G., Alongi, A., Torina, A., Fernández de Mera, I.G., Vicente, J., George, J.C., Vayssier-Taussat, M., & Joncour, G. (2013). Prevalence of tick-borne pathogens in adult *Dermacentor* spp. ticks from nine collection sites in France. *Vector-Borne Zoonotic Dis*, 13(4), 226–236. doi: 10.1089/vbz.2011.0933.
- Roczeń-Karczmarz, M., Dudko, P., Demkowska-Kutrzepa, M., Meisner, M., Studzińska, M., Junkuszew, A., Sopińska, A., & Tomczuk, K. (2018). Comparison of the occurrence of tick-borne diseases in ticks collected from vegetation and animals in the same area. *Medycyna Weterynaryjna*, 74, 484–488. doi: 10.21521/mw.6107.
- Duplan, F., Davies, S., Filler, S., Abdullah, S., Keyte, S., Newbury, H., R Helps, C., Wall R., & Tasker, S. (2018). *Anaplasma phagocytophilum*, *Bartonella* spp., *haemoplasma* species and *Hepatozoon* spp. in ticks infesting cats: A large-scale survey. *Parasites & Vectors*. 11(1), 201. doi: 10.1186/s13071-018-2789-5.
- Elsheikha, H. (2016). Tick-borne diseases in dogs. *The Veterinary Nurse*, 7. doi: 10.12968/vetn.2016.7.8.440.
- Reye, A., Stegny, V., P Mishaeva, N., Velhin, S., Hübschen, J., Ignatyev, G., & Muller, C. (2013). Prevalence of Tick-Borne Pathogens in *Ixodes ricinus* and *Dermacentor reticulatus* Ticks from Different Geographical Locations in Belarus. *PloS one*, 8, e54476. doi: 10.1371/journal.pone.0054476.
- Kybicova, K., Baštová, K., & Malý, M. (2017). Detection of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Anaplasma phagocytophilum* in questing ticks *Ixodes ricinus* from the Czech Republic. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 8(4), 483–487. doi: 10.1016/j.ttbdis.2017.02.007.
- Karbowiak, G., Vichová, B., Slivinska, K., Werszko, J., Didyk, Y., & Pet'ko, B. (2013). The infection of *Dermacentor reticulatus* ticks with *Babesia canis* and *Anaplasma phagocytophilum* in Chernobyl exclusion zone. *Annals of Parasitology*, 59, 171.
- Didyk, Y., Blaňarová, L., Pogrebnyak, S., Akimov, I., Pet'ko, B., & Vichová, B. (2016). Emergence of tick-borne pathogens (*Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum*, *Rickettsia raoultii* and *Babesia microti*) in the Kyiv urban parks, Ukraine. *Ticks and Tick-borne Diseases*. 8(2), 219–225. doi: 10.1016/j.ttbdis.2016.10.002.
- Rogovskyy, A., Batool, M., Gillis, D., Holman, P., Nebogatkin, I., Rogovska, Y., & Rogovskyy, M. (2017). Diversity of *Borrelia spirochetes* and other zoonotic agents in ticks from Kyiv, Ukraine. *Ticks and Tick-borne Diseases*. 9(2), 404–409. doi: 10.1016/j.ttbdis.2017.12.006.
- Weiner, M., Żukiewicz-Sobczak, W., Tokarska-Rodak, M., Plewik, D., Pańczuk, A., Siłuch, M., Zagórski, J., Sobczak, P., Chmielewski, T., Tylewska-Wierzbanowska, S., Shkilna, M., Korda, M., Klishch, I., Andreychyn, M., & Pavliuk, M. (2018). Prevalence of *Borrelia burgdorferi* Sensu Lato in Ticks from the Ternopil Region in Ukraine. *Journal of Veterinary Research*, 62(3), 275–280. doi: 10.2478/jvetres-2018-0039.
- Movila, A., Rolain, J.M., Podavalenko, A., Toderas, I., Tkachenco, L., Naglov, V., & Raoult, D. (2009). Detection of spotted fever group rickettsiae and family Anaplasmataceae in *Ixodes ricinus* ticks from Republic of Moldova and Eastern Ukraine. *Clin. Microbiol. Infect*, 15(2), 32–33. doi: 10.1111/j.1469-0691.2008.02152.x.
- Hamel, D., Silaghi, C., Zapadynska, S., Kudrin, A., & Pfister, K. (2013). Vector-borne pathogens in ticks and EDTA-blood samples collected from client-owned dogs, Kiev, Ukraine. *Ticks Tick Borne Dis*, 4(1-2), 152–155. doi: 10.1016/j.ttbdis.2012.08.005.
- Grzeszczuk, A., Ziarko, S., Prokopowicz, D., & Radziwon, P.M. (2004). Zakazenie z ubrow z Puszczy Bialowieskiej bakteriami *Anaplasma phagocytophilum*. *Med. Wet.*, 60, 600–601 (in Polish).
- Koci, J., Movila, A., Taragelova, V. et al. (2007). First detection of *Anaplasma phagocytophilum* and its coinfections with *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks (Acari: Ixodidae) from Republic of Moldova. *Exp Appl Acarol*, 41, 147–152.
- Olav, R., Paulauskas, A., & Radzijejskaja, J. (2009). Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Anaplasma phagocytophilum* in questing *Ixodes ricinus* ticks in relation to the density of wild cervids. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 51, 47. doi: 10.1186/1751-0147-51-47.
- Livanova, N., Fomenko, N., Akimov, I., Ivanov, M., Tikunova, N., Armstrong, R., & Konyaev, S. (2018). Dog survey in Russian veterinary hospitals: Tick identification and molecular detection of tick-borne pathogens. *Parasites & Vectors*. 11(1). doi: 10.1186/s13071-018-3161-5.
- Pangrácová, L., Derdákova, M., Pekárik, L., Hviscová, I., Vichová, B., Stanko, M., Hlavatá, H., & Pet'ko, B. (2013). *Ixodes ricinus* abundance and its infection with the tick-borne pathogens in urban and suburban areas of Eastern Slovakia. *Parasit. Vectors*, 6, 238–246.
- Keesing, F., Hersh, M.H., Tibbetts, M., Mc Henry, D.J., Duerr, S., Brunner, J., Killilea, M., Lo Giudice, K., Schmidt, K.A., & Ostfeld, R.S. (2012). Reservoir competence of vertebrate hosts for *Anaplasma phagocytophilum*. *Emerg. Infect. Dis*, 18, 2013–2016.
- Härtwig, V., von Loewenich, F.D., Schulze, C., Straubinger, R.K., Dauschies, A., & Dyachenko, V. (2014). Detection of *Anaplasma phagocytophilum* in red foxes (*Vulpes vulpes*) and raccoon dogs (*Nyctereutes pro-*

- cyonoides) from Brandenburg, Germany. *Ticks Tick Borne Dis*, 5(3), 277–280.
- Zagorodniuk, I.V. (2003). Wild mammal fauna of the Kyiv city and its vicinities, and trends in its urbanization. *Vestnik zoologii*, 37(6), 29–38.
- Spitalská, E., Stefanidesová, K., Kocianová, E., & Boldis, V. (2012). *Rickettsia slovaca* and *Rickettsia raoultii* in *Dermacentor marginatus* and *Dermacentor reticulatus* ticks from Slovak Republic. *Experimental & applied acarology*, 57, 189–197. doi: 10.1007/s10493-012-9539-8.
- Chmielewski, T., Podsiadly, E., Karbowski, G., & Tylewska-Wierzbanska, S. (2009). *Rickettsia* spp. in ticks, Poland. *Emerg Infect Dis.*, 15(3), 486–488. doi: 10.3201/eid1503.080711.
- Tijssse-Klasen, E., Hansford, K.M., Jahfari, S., Phipps, P., Sprong, H., & Medlock, J.M. (2013). Spotted fever group rickettsiae in *Dermacentor reticulatus* and *Haemaphysalis punctata* ticks in the UK. *Parasit Vectors*, 6, 212. doi: 10.1186/1756-3305-6-212.
- Dautel, H., Dippel, C., Oehme, R., Hartelt, K., Frfr, V., & Schenck, E. (2006). Evidence for an increased geographical distribution of *Dermacentor reticulatus* in Germany and detection of *Rickettsia* sp. RpA4. *International journal of medical microbiology: IJMM*, 296(40), 149–156. doi: 10.1016/j.ijmm.2006.01.013.
- Nijhof, A.M., Bodaan, C., Postigo, M., Nieuwenhuijs, H., Opsteegh, M., Franssen, L., Jebbink, F., & Jongejan, F. (2007). Ticks and associated pathogens collected from domestic animals in the Netherlands. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 7(4), 585–595. doi: 10.1089/vbz.2007.0130.
- Kawahara, M., Rikihisa, Y., Isogai, E., Takahashi, M., Misumi, H., Suto, C., Shibata, S., Zhang, C. & Tsuji, M. (2004). Ultrastructure and phylogenetic analysis of ‘*Candidatus Neoehrlichia mikurensis*’ in the family Anaplasmataceae, isolated from wild rats and found in *Ixodes ovatus* ticks. *Int J Syst Evol Microbiol* 54, 1837–1843. doi: 10.1099/ijms.0.63260-0.
- Blaňarová, L., Stanko, M., Miklisová, D., Víchová, B., Mošanský, L., Kraljik, J., Bona, M., Derdakova, M. (2015). Presence of *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* and *Babesia microti* in rodents and two tick species (*Ixodes ricinus* and *Ixodes trianguliceps*) in Slovakia. *Ticks and Tick-borne Diseases*. 7(2), 319–326. doi: 10.1016/j.ttbdis.2015.11.008.
- Schouls, L.M., Van De Pol, I., Rijpkema, S.G., & Schot, C.S. (1999). Detection and identification of *Ehrlichia Borrelia burgdorferi sensu lato*, and *Bartonella* species in Dutch *Ixodes ricinus* ticks. *J. Clin. Microbiol*, 37(7), 2215–2222. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10364588>.
- Vichova, B., Majlathova, V., Novakova, M., Stanko, M., Hviscova, I., Pangracova, L., Chrudimsky, T., Curlik, J., & Petko, B. (2014). *Anaplasma* infections in ticks and reservoir host from Slovakia. *Infect. Genet. Evol.*, 22, 265–272. doi: 10.1016/j.meegid.2013.06.003.
- Derdakova, M., Vaclav, R., Pangracova-Blanarova, L., Selyemova, D., Koci, J., Walder, G., & Spitalska, E. (2014). *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* and its co-circulation with *Anaplasma phagocytophilum* in *Ixodes ricinus* ticks across ecologically different habitats of Central Europe. *Parasites Vectors* 7, 160. <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/1756-3305-7-160>.
- Silaghi, C., Woll, D., Hamel, D., Pfister, K., Mahling, M., & Pfeffer, M. (2012). *Babesia* spp. and *Anaplasma phagocytophilum* in questing ticks, ticks parasitizing rodents and the parasitized rodents-analyzing the host-pathogen-vector interface in a metropolitan area. *Parasites Vectors* 5, 191. <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/1756-3305-5-191>.
- Jahfari, S., Fonville, M., Hengeveld, P., Reusken, C., Scholte, E.J., Takken, W., Heyman, P., Medlock, J., Heylen, D., Kleve, J., & Sprong, H. (2012). Prevalence of *Neoehrlichia mikurensis* in ticks and rodents from North-west Europe. *Parasites Vectors* 5, 74. doi: 10.1186/1756-3305-5-74.
- Burri, C., Schumann, O., Schumann, C., & Gern, L. (2014). Are *Apodemus* spp. mice and *Myodes glareolus* reservoirs for *Borrelia miyamotoi*, *Candidatus Neoehrlichia mikurensis*, *Rickettsia helvetica* R. monacensis and *Anaplasma phagocytophilum*? *Ticks Tick Borne Dis*, 5(3), 245–251. doi: 10.1016/j.ttbdis.2013.11.007.
- Dietrich, F., Schmidgen, T., Maggi, R., Richter, D., Matuschka, F., Vonthein, R., Breitschwerdt, E., & Kempf, V. (2010). Prevalence of *Bartonella henselae* and *Borrelia burgdorferi* Senu Lato DNA in *Ixodes ricinus* Ticks in Europe. *Applied and environmental microbiology*, 76, 1395–1398. doi: 10.1128/AEM.02788-09.