

Katja Strašek Smrdel<sup>1</sup>

## ***Candidatus Neoehrlichia mikurensis* – porajajoč se patogen?**

### ***Candidatus Neoehrlichia Mikurensis* – An Emerging Pathogen?**

#### **IZVLEČEK**

KLJUČNE BESEDE: *Candidatus Neoehrlichia mikurensis*, porajajoč se patogen, s klopi prenosljiva bakterija, imunsko oslABLJENE osebe

Znotrajcelična bakterija *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* je porajajoča se bakterija, ki je do sedaj zelo slabo poznana. Predvsem pri imunsko oslABLJENIH ljudeh povzroča sistemski vnetni sindrom. Okužbo pri ljudeh, ki imajo drugo osnovno bolezen (hematološke ali avtoimunske bolezni), se pogosto napačno diagnosticira kot poslabšanje osnovne bolezni ali kot nepovezan pojav žilnega obolenja. *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* se prenaša s trdoščitastimi klopi rodu *Ixodes* spp., mali sesalci so njen naravni gostitelj. Razširjena je po vsej Evropi in Aziji, zato predstavlja za imunsko oslABLJENE ljudi resno težavo. Okužba je ozdravljiva, v kolikor se antibiotik doksiciklin pravočasno uporabi.

#### **ABSTRACT**

KEY WORDS: *Candidatus Neoehrlichia mikurensis*, emerging pathogen, tick-borne disease, immunocompromised persons

The intracellular bacterium *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* is an emerging pathogen. It causes system inflammatory syndrome, mostly in immunocompromised patients. It is not a well-known pathogen, therefore, it might be misdiagnosed in patients with underlying disease (hematologic or autoimmune disease) as a recurrence of the underlying disease, or as an unrelated arteriosclerotic vascular event. *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* is transmitted by hard ticks *Ixodes* spp.; small mammals are its natural host. It is widespread in Europe and Asia, therefore, it represents a threat to immunocompromised people. The infection is treatable if the administration of the antibiotic doxycycline is timely.

<sup>1</sup> Asist. dr. Katja Strašek Smrdel, univ. dipl. mikrobiol., Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana; katja.strasek@mf.uni-lj.si

## UVOD

Bakterijo *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* (CNM) so kot človeški patogen prepoznali šele leta 2010 (1). Od takrat je objavljenih že nekaj primerov okužb v Evropi in tudi na Kitajskem (2, 3). Povzročča sistemsko vnetno okužbo pri imunsko oslabljenih osebah, ki se jo pogosto zamenja s poslabšanjem osnovne bolezni ali z nepovezanimi aterosklerotičnimi žilnimi zapleti. To zakasni postavitev diagnoze in dodatno ogroža življenje bolnika. Ob prejemu ustreznega antibiotika je okužba ozdravljiva.

## OPIS PATOGENA

CNM je majhen (0,5–1,2 µm), po Gramu negativen, večinoma pleomorfen kok (4). Je znotrajcelična bakterija, ki jo prenašajo klopi. Filogenetsko so jo z analizo genov 16S ribosomalne RNA (angl. *ribosomal ribonucleic acid*, rRNA) in *groEL* uvrstili v družino *Anaplasmataceae*, poleg rodov *Ehrlichia* in *Anaplasma* (4). Raziskovalci so s transmisijsko elektronsko mikroskopijo v endotelij-skih celicah žil v tkivu vranice eksperimentalno okuženih podgan odkrili z membrano obdane bakterijske vključke, ki so značilni za predstavnike družine *Anaplasmataceae* (4, 5). Pred opisom japonskih raziskovalcev je bila CNM poznana z imeni *Ehrlichia-like organism*, *Ehrlichia-like Schotti variant*, *Ehrlichia-like sp. Rattus variant* in *Candidatus Ehrlichia walikerii* (4, 6–8). Ime je dobila po japonskem otoku Mikura (južna Japonska), kjer so bakterijo odkrili (4). Šele leta 2019 so švedski raziskovalci prvič uspeli namnožiti bakterijo v človeških primarnih endotelij-skih celicah in tako potrdili, da so endotelij-ske celice žil tarčne celice CNM. Predlagali so, da se bakterijo CNM preimenuje v *Neoehrlichia mikurensis* (5).

## EPIDEMIOLOGIJA, PRENAŠALCI, NARAVNI GOSTITELJI

CNM se prenaša s trdoščitastimi klopi rodu *Ixodes* spp., njeni naravni gostitelji pa so mali sesalci. Našli so jo v večini evropskih držav in tudi v Aziji (9).

V Evropi je glavni prenašalec CNM gozdni klop *Ixodes ricinus*, ki je najpogostejši klop tudi v Sloveniji. Je pogost prenašalec številnih klopno prenosljivih patogenov, kot so *Borrelia burgdorferi sensu lato*, *Anaplasma phagocytophilum*, virus klopnega meningoencefalitisa (KME), *Rickettsia* spp. in drugi (2). Pregledali so klope nabrane z rastlinja, z divjih živali (divjih prašičev, muflonov, jelenov) domačih živali (ovc, krav), malih sesalcev, psov, ptičev, ježev in prav tako klope na ljudeh (10–52). CNM so ugotovili še v drugih vrstah klopov (od manj kot 1 % do več kot 20 %), a je prevalenca najvišja ravno pri gozdnem klopju (19, 20, 32, 45, 49, 53–55). V Sloveniji so pregledali klope v več regijah (gorenjska, jugovzhodna slovenska ter osrednjeslovenska). Prisotnost CNM so ugotovili tako pri odraslih klopih kot tudi pri nimfah (56). Okužbo ljudi predstavlja vbod okuženega klopa, čeprav se številni bolniki vboda ne spominjajo (57).

Mali sesalci so naravni gostitelji CNM. Bakterijo so našli pri številnih rodovih in vrstah malih sesalcev (voluharice, poljske miši, gozdne miši, podgane, celo čipmunki) (9). V Sloveniji so testirali rumenogre miši, navadne belonoge miši, dimaste miši, gozdne voluharice ter travniške voluharice. Vse imenovane vrste so bile okužene s CNM v vseh slovenskih regijah (56). V evropskem prostoru je prevalenca okuženih malih sesalcev tudi do 65 % (19, 20, 22, 30, 39, 43, 53, 58–62). O okuženih malih sesalcih poročajo tudi Kitajska, Japonska in Rusija (3, 4, 7, 63–65). Mali sesalci ne kažejo kliničnih znakov okužbe, poleg tega naj ne bi bili vseživljenjsko okuženi (9, 62).

CNM ni patogena le za ljudi, ampak tudi za pse (66). Opisan je primer osemletnega psa, ki je po težji operaciji zbolel s kliničnimi znaki neoerlichioze. Predvidevajo, da je bil pes brezsimptomni nosilec bakterije. Klinične znake okužbe naj bi sprožilo znižanje imunske obrambe zaradi težje kirurške operacije (66). V nemški raziskavi psov, ki so prišli na pregled in odvzem krvi k vete-

rinarju zaradi drugih razlogov, so ugotovili 0,3 % okuženost s CNM. Žal podatka o zdravstvenem stanju okuženih psov ni bilo (67). Nedavno so na Hrvaškem opravili retrospektivno raziskavo, v kateri so pregledali 19 psov, ki so poginili zaradi hemolitične anemije. Pri enem psu, tri in pol meseca starem mladiču, so ugotovili okužbo s CNM (68).

## OKUŽBE LJUDI

Prve primere okužb s CNM so opisali leta 2010 (1, 69, 70). Do sedaj je bilo opisanih 18 potrjenih primerov okužb s CNM v Evropi, najpogosteje pri imunsko oslabljenih osebah (2). S številnimi raziskavami na različnih skupinah ljudi pa odkrivajo nove primere okužb, ki so bili predhodno napačno diagnosticirani, neprepoznani ali brezsimptomni (tabela 1) (2, 3, 52, 71, 72). Večinoma se objavljajo zapisi o okužbah bolnikov, ki imajo oslabilen imunski sistem zaradi presaditve tkiv ali organov, malignega obolenja, splenektomije, avtoimunskega obolenja, revmatoidnega artritisa ali zaradi zdravljenja s kortikosteroidnimi zdravili ali kemoterapijami (tabela 1). Prav tako je verjetnost pojava simptomatske okužbe večja pri starejših osebah (9). Pri teh bolnikih se okužba lahko kaže z neznačilnimi znaki, zato jo zelo pogosto zamenjajo za poslabšanje osnovnega obolenja. Najpogostejši znaki so vročina neznanega izvora, mrazenje, nočno potenje, bolečine v sklepih in mišicah, žilna obolenja, pri nekaterih tudi izpuščaj, kašelj in izguba telesne teže. Manj kot polovica se jih spomni vboda klopa (57). Ker se simptomi pojavijo več mesecev ali let po vbodu klopa, redkokateri zdravnik pomisli na okužbo s klopno prenosljivim patogenom. Pri nezdravljeni ali prepozno odkriti okužbi lahko bolnik tudi umre (69). Imunsko zdravi ljudje so v večini primerov brez simptomov okužbe, lahko pa imajo kožni izpuščaj, podoben borelijskemu eritemu, v redkih primerih bolečine v sklepih, glavobol ali druge neznačilne simptome (52, 71–73).

V kitajski raziskavi imunsko zdravih oseb z vročinsko boleznijo po vbodu klopa (622 oseb) iz leta 2010 so našli sedem okuženih bolnikov (1,1 %), katerih znaki okužbe so bili vročina, glavobol, slabo počutje, bolečine v mišicah, eritem, tudi bruhanje, trd vrat, driska in kašelj (tabela 1). Pri osebah, vključenih v raziskavo, so ugotavljali tudi prisotnost protiteles (angl. *immunoglobulin*, Ig) razreda G proti *A. phagocytophilum*, *Ehrlichia chaffeensis*, *B. burgdorferi*, *Rickettsia heilongjiangensis* in virusu KME v času akutne okužbe in obdobju okrevanja. Posredni imunofluorescenčni testi proti omenjenim patogenom so bili negativni. Vseh sedem bolnikov je živel v vaseh province Mudanjiang in so bili kmetje. Okužbo s CNM pri teh osebah so potrdili tudi s sekvenciranjem. Prav tako so v tej provinci potrdili prisotnost CNM pri klopah in glodavcih (3).

Na Poljskem so leta 2012 opravili raziskavo pri gozdarskih delavcih, ki so močno izpostavljeni vbodom klopov in posledično klopno prenosljivim okužbam. Pregledali so 316 gozdarjev, od katerih jih je bilo pet okuženih s CNM (1,6 %), a brez kliničnih simptomov okužbe (tabela 1). Okužbo so potrdili tudi s sekvenciranjem (72).

Sledila je objava raziskave na Nizozemskem (med letoma 2007 in 2008), kjer so pregledali 626 vzorcev krvi oseb, ki so prišle na pregled k zdravniku zaradi vboda klopa in/ali eritema. Najpogostejši patogen, ki so ga ugotovili, je bila CNM; pri sedmih bolnikih (1,1 %) so potrdili okužbo tudi s sekvenciranjem (tabela 1). Poleg CNM so v krvi drugih bolnikov ugotovili prisotnost še *A. phagocytophilum*, *Babesia divergens*, *Borrelia miyamotoi* in *B. burgdorferi sensu lato* (52).

Raziskovalci z Norveške so leta 2017 objavili raziskavo oseb, ki so imele simptome okužbe po vbodu klopa. Kriterije raziskave je izpolnjevalo 70 bolnikov. Najpogostejši patogen, ki so ga ugotovili v krvi oseb, je bila CNM (10 %), poleg *B. burgdorferi sensu lato*.

**Tabela 1.** Potrjeni primeri okužb s *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* v Evropi in Aziji ter klinične značilnosti pri potrjenih primerih (1, 3, 36, 52, 57, 69, 70-78).

Država	Leto	Starost (leta)	Zdravstveno stanje	Klinični znaki	Terapija
Češka	2008	55	limfom plasičnih celic v napredovalnem stadiju, odsotnost vranice	vročina, bolečine v sklepih, gležnji in kolena otekli, občutljivi in eritematozni – <i>erythema nodosum</i> , vbod klopa nekaj tednov prej	doksiciklin 2 × 200 mg/dan 2 tedna doksiciklin 2 × 100 mg/dan 2 tedna
Nemčija	2007	69	sum na kronično vnetno demielinizirajočo polinevropatijo	vročina neznanega izvora, nočno potenje, kašelj, driska, globoka venska tromboza roke	doksiciklin 200 mg/dan 3 tedne
Švedska	2009	77	kronična limfocitna anemija, odsotnost vranice	vročina, mrazenje, driska, šen, globoka venska tromboza noge, pljučna embolija, anemija, sum na sepsa	doksiciklin 2 × 200 mg/dan 2 tedna
2011	67	sistemski eritematozni lupus, folikularni limfom, odsotnost vranice	vročina, mrazenje, nočno potenje itd.	doksiciklin 2 × 100 mg/dan 3–6 tednov	
					2013
2013	67	psoriatični artritis, levkemija velikih granuliranih limfocitov T, odsotnost vranice	vročina, mrazenje, nočno potenje itd.	doksiciklin 2 × 100 mg/dan 3–6 tednov	
					2013
2013	59	revmatoidni artritis, difuzni velikocelični limfom B, odsotnost vranice	vročina, mrazenje, nočno potenje itd.	doksiciklin 2 × 100 mg/dan 3–6 tednov	

2015	68	zdrav	izpuščaj na dojki (diagnoza <i>erythema migrans</i> ), vbod klopa dva meseca prej	ni podatka	ni podatka
2015	57	alerģije, lymska borelijoza pred osmimi leti	izpuščaj na dojki ( <i>erythema migrans</i> ), vbod klopa en mesec in pol prej (diagnoza <i>erythema migrans</i> )	ni podatka	ni podatka
2017	57	multipla skleroza	vročina	doksiciklin 2 x 100 mg/dan 2–3 tedne	
2018	69	kronična limfocitna levkemija, odsotnost vranice	vročina	doksiciklin 2 x 100 mg/dan 2–3 tedne	
Švica	2009	61	kirurška revaskularizacija srčne mišice z obvodni, rekonstrukcija mitralne zaklopke	slabo počutje, vročina, mrazenje, dispneja	doksiciklin 2 x 100 mg/dan 6 tednov + rifampin 2 x 450 mg/dan 6 tednov
2011	68	kronična limfocitna levkemija, odsotnost vranice	ponavljajoča se vročina z mrazenjem, nočno potenje, izguba teže, bolečine v sklepih	ponavljajoča se vročina z mrazenjem, nočno potenje, izguba teže, bolečine v sklepih	doksiciklin 2 x 100 mg/dan 6 tednov
2012	58	limfom	vročina, mrazenje, nočno potenje, ponavljajoča se globoka venska tromboza	vročina, mrazenje, nočno potenje, ponavljajoča se globoka venska tromboza	doksiciklin 2 x 100 mg/dan 6 tednov
Slovenija	2020	66	difuzni velikocelični limfom B	vročina, mrazenje, nočno potenje, slabo počutje	doksiciklin 2 x 100 mg/dan 4 tedne
Poljska	2012	povprečno 44 (5 oseb)	zdravi (gozdarij)	brez simptomov	ni podatka
Norveška	2014–2015	>18 (7 oseb)	ni podatka	7-krat <i>erythema migrans</i> , 1-krat tudi utrujenost	2 x doksiciklin 5 x penicilin
Nizozemska	2007–2008	40–79 (7 oseb)	zdravi	2-krat brez simptomov 1-krat bolečine v sklepih, 4-krat izpuščaj – <i>erythema migrans</i> , mravljinčenje v okončinah 1-krat glavobol, bolečine v mišicah in okončinah	4 x doksiciklin 100 mg/dan 10–14 dni
Kitajska	2010	29–67 (7 oseb)	zdravi	vročina, glavobol, slabo počutje, v manjši meri tudi slabost, bruhanje, boleče mišice, otrdeli tlinik, driska, kašelj, zmedenost, eritem	ni podatka

Vsi bolniki, okuženi s CNM, so imeli eritem, ena oseba je poročala tudi o izčrpanosti (tabela 1). Ostalih klopno prenosljivih patogenih mikroorganizmov (*A. phagocytophilum*, *B. miyamotoi*, skupina rikecijskih pegavic ali mrzlic, *Francisella tularensis*, *Coxiella burnetii*, *Bartonella* spp.) v krvi bolnikov niso ugotovili (71).

## DIAGNOSTIKA

Zaradi pogosto neznačilnih znakov je diagnostika okužbe s CNM močno otežena. Zelo pomemben je podatek o vbodu klopa, ki pa se ga večina bolnikov ne spomni, saj lahko preteče več mesecev od vboda do klinično izražene okužbe. Pomembno je tudi imunsko stanje bolnika in osnovna bolezen, zaradi katere se zdravi.

Pomembni laboratorijski kazalci pri imunsko oslabljenih osebah so povečano število belih krvnih celic, nevtrofilija, povišana koncentracija vnetnih markerjev (C-reaktivna beljakovina (angl. *C reactive protein*, CRP)), prokalcitonin, stopnja sedimentacije eritrocitov, anemija. Pri nekaterih bolnikih se pojavi tudi rahla trombocitopenija, limfopenija in hiponatriemija, rahlo povišane jetrne transaminaze in laktatna dehidrogenaza (9). Zgolj dve poročili pri imunsko zdravih osebah sta poročali podobno: levkocitoza, nevtrofilija ter povišan CRP (9).

Kljub pripadnosti CNM družini *Anaplasmataceae*, kamor sodijo tudi predstavniki rodov *Anaplasma* in *Ehrlichia*, ni jasno dokazane navzkrižne reaktivnosti protiteles med pripadniki te družine. Odsotnost specifičnih ali navzkrižnih protiteles pri bolniku je lahko tudi posledica njegovega imunosupresivnega stanja. Testiranje humoralnega imunskega odziva dveh imunsko zdravih oseb z neoerlihiozo, kjer so kot antigen uporabili sorodno bakterijo *A. phagocytophilum*, ni dalo zanesljivih rezultatov okužbe (73). V raziskavi na Kitajskem so imunsko zdravim bolnikom poleg prisotnosti genoma CNM ugotavljali tudi proti-

telesa razreda IgG proti sorodnim bakterijam *A. phagocytophilum* in *E. chaffeensis* v serumu v času akutne okužbe in v obdobju okrevanja (3). Specifičnih ali navzkrižno reaktivnih protiteles proti tema patogenu niso dokazali (3). Posredna diagnostika okužbe z dokazovanjem specifičnih protiteles proti CNM za zdaj ni mogoča, saj serološki testi z antigenom CNM (encimski imunski test (angl. *enzyme linked immunosorbent assay*, ELISA) ali posredna imunofluorescenca) še niso razviti, kajti bakterije se trenutno še ne da gojiti v celični kulturi (2). A tudi tu se kaže napredek (5).

Mikrobiološka diagnostika neoerlihioze temelji torej na molekularnih tehnikah. Navadno je vsebakterijska verižna reakcija s polimerazo (angl. *polymerase chain reaction*, PCR) prvi izbor za tovrstno diagnostiko, ki mu sledi sekvenčna analiza gena za 16S rRNA (57). Za nadaljnje sledenje bakteriemije in uspešnosti zdravljenja pa je bolj uporaben kvantitativen PCR v realnem času za gen *groEL*, predvsem zaradi večje občutljivosti in možnosti kvantifikacije genoma CNM v krvi/plazmi (2). Najbolj primerni vzorci za molekularno diagnostiko okužbe so kri z dodanim antikoagulantom etilendiamintetraoacetna kislina (angl. *ethylenediaminetetraacetic acid*, EDTA), plazma, serum, redko kostni mozeg. V možgansko-hrbtenjačni tekočini genoma CNM še niso dokazali kljub simptomom okužbe osrednjega živčevja (57).

## ZDRAVLJENJE

CNM spada med znotrajcelične bakterije, katerih okužbe zdravimo z antibiotikom doksiciklinom. Za zdravljenje neoerlihioze učinkovito deluje že oralna uporaba 100 mg doksiciklina dvakrat dnevno. Rifampin (300 mg dvakrat dnevno) so uspešno uporabili pri bolniku z domnevno preobčutljivostjo na doksiciklin, učinkovita je tudi kombinacija rifampina (450 mg dvakrat dnevno) in doksiciklina (100 mg dvakrat dnevno) (9). Najustreznejši čas zdravljenja

neorlihioze ni znan, večinoma traja dva do tri tedne. Pomembno je, da so imunsko oslabiljeni bolniki pravočasno zdravljeni, kajti pri njih lahko različni hematološki zapleti vodijo v smrt ali poslabšanje osnovne bolezni. Klinični simptomi okužbe izzvenijo povprečno že v nekaj dneh po pričetku zdravljenja (9). Sočasno z zdravljenjem priporočajo ugotavljanje prisotnosti genoma CNM s PCR v realnem času za kvantifikacijo (2). Po uspešnem zdravljenju s sledenjem z molekularnimi metodami ne poročajo o ponovitvi bolezni.

## ZAKLJUČEK

CNM je klopno prenosljiv porajajoč se patogen tako v Evropi kot tudi v Aziji. Številna poročila o okuženosti malih sesalcev in klopih, med drugim tudi v okolici potrjenih primerov okužb, govorijo o izpostavljenosti ljudi in živali temu patogenu (2). Še posebej so v nevarnosti osebe z raznolikimi imunskimi oslabeledostmi, katerih število raste zaradi vse boljše zdravstvene oskrbe in medicinskega napredka. Neznane simptome okužbe in vročino neznanega izvora pogosto zamenjajo za zaplete osnovne bolezni ali tudi poslabšanja stanja bolezni, kar vodi do nepotrebnega zdravljenja zapletov in morebitno nevarne uporabe imunosupresivnih zdravil, kortikosteroidov (57). S pravočasno diagnozo in uvedbo antibiotika simptomi in zapleti v nekaj dneh izzvenijo (2). Diagnostika temelji na molekularnih metodah, saj bakterije še ne znamo gojiti na celični kulturi. Zato tudi ni možno raziskovati medse-

bojnega učinkovanja bakterije z gostiteljevimi celicami, kot tudi ne njenih virulenčnih dejavnikov in imunopatoloških mehanizmov. Trenutno na trgu ni zanesljivih seroloških testov, s katerimi bi lahko na posreden način dokazovali okužbo ali ugotovili izpostavljenost ljudi (in živali) novemu patogenu (73). Zanimiv bi bil tudi podatek, ali so možne prikriti okužbe, ki se izrazijo ob pojavu imunske oslabeledosti okužene osebe. Tako bi se s testiranjem lahko izognili številnim zapletom, ki se lahko pojavijo zaradi osnovne bolezni ob uvedbi imunosupresije in hkratne nediagnosticirane okužbe s CNM. V slovenskem prostoru je dokazana prisotnost CNM, tako pri malih sesalcih kot pri klopih. Tako so številne osebe izpostavljene možnosti okužbe. Hkrati tudi narašča število imunsko oslabeledjenih oseb, tako zaradi napredka medicine kot tudi zaradi številnih možnosti terapevtskega zdravljenja osnovnih bolezni. Narašča tudi ogroženost teh bolnikov v Sloveniji.

S preglednim člankom želimo povečati osveščenost osebnih zdravnikov in specialistov onkologije, revmatologije, infektologije, hematologije o tem novo porajajočem se mikroorganizmu. Najbolj ogrožene so imunsko oslabeledjene osebe, pri katerih ta patogen povzroči okužbo z zapleti, ki se odražajo kot poslabšanje ali zaplet osnovne bolezni. S pravočasno diagnozo se lahko izognemo zapletom, ki niso prepoznani kot del infekcijskega poteka popolnoma ozdravljive bolezni.

**LITERATURA**

1. Welinder-Olsson C, Kjellin E, Vaht K, et al. First case of human »*Candidatus Neoehrlichia mikurensis*« infection in a febrile patient with chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Microbiol.* 2010; 48 (5): 1956–9.
2. Portillo A, Santibáñez P, Palomar AM, et al. '*Candidatus Neoehrlichia mikurensis*' in Europe. *New Microbes New Infect.* 2018; 22: 30–6.
3. Li H, Jiang JF, Liu W, et al. Human infection with *Candidatus Neoehrlichia mikurensis*, China. *Emerg Infect Dis.* 2012; 18 (10): 1636–9.
4. Kawahara M, Rikihisa Y, Isogai E, et al. 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.* 2004; 54 (5): 1837–43.
5. Wass L, Grankvist A, Bell-Sakyi L, et al. Cultivation of the causative agent of human neoehrlichiosis from clinical isolates identifies vascular endothelium as a target of infection. *Emerg Microbes Infect.* 2019; 8 (1): 413–25.
6. Schouls LM, Van De Pol I, Rijpkema SG, et al. Detection and identification of *Ehrlichia*, *Borrelia burgdorferi sensu lato*, and *Bartonella* species in dutch *Ixodes ricinus* ticks. *J Clin Microbiol.* 1999; 37 (7): 2215–22.
7. Pan H, Liu S, Ma Y, et al. *Ehrlichia*-like organism gene found in small mammals in the suburban district of Guangzhou of China. *Ann N Y Acad Sci.* 2003; 990 (1): 107–11.
8. Brouqui P, Sanogo YO, Caruso G, et al. *Candidatus Ehrlichia walkerii*: A new *Ehrlichia* detected in *Ixodes ricinus* tick collected from asymptomatic humans in northern Italy. *Ann N Y Acad Sci.* 2003; 990: 134–40.
9. Wennerås C. Infections with the tick-borne bacterium *Candidatus Neoehrlichia mikurensis*. *Clin Microbiol Infect.* 2015; 21 (7): 621–30.
10. Glatz M, Müllegger RR, Maurer F, et al. Detection of *Candidatus Neoehrlichia mikurensis*, *Borrelia burgdorferi sensu lato* genospecies and *Anaplasma phagocytophilum* in a tick population from Austria. *Ticks Tick Borne Dis.* 2014; 5 (2): 139–44.
11. Derdákóvá M, Václav R, Pangrácova-Blaňárová L, et al. *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* and its co-circulation with *Anaplasma phagocytophilum* in *Ixodes ricinus* ticks across ecologically different habitats of Central Europe. *Parasit Vectors.* 2014; 7: 160.
12. Schötta AM, Wijnveld M, Stockinger H, et al. Approaches for reverse line blot-based detection of microbial pathogens in *Ixodes ricinus* ticks collected in Austria and impact of the chosen method. *Appl Environ Microbiol.* 2017; 83 (13): e00489–17.
13. Richter D, Matuschka FR. »*Candidatus Neoehrlichia mikurensis*,« *Anaplasma phagocytophilum*, and Lyme disease spirochetes in questing European vector ticks and in feeding ticks removed from people. *J Clin Microbiol.* 2012; 50 (3): 943–7.
14. Vencliková K, Mendel J, Betášová L, et al. Neglected tick-borne pathogens in the Czech Republic, 2011–2014. *Ticks Tick Borne Dis.* 2016; 7: 107–12.
15. Vencliková K, Rudolf I, Mendel J, et al. *Rickettsiae* in questing *Ixodes ricinus* ticks in the Czech Republic. *Ticks Tick Borne Dis.* 2014; 5 (2): 135–8.
16. Fertner ME, Molbak LM, Boye Pihl TP, et al. First detection of tick-borne »*Candidatus Neoehrlichia mikurensis*« in Denmark 2011. *Euro Surveill.* 2012; 17 (8): 20096.
17. Michelet L, Delannoy S, Devillers E, et al. High-throughput screening of tick-borne pathogens in Europe. *Front Cell Infect Microbiol.* 2014; 4: 103.
18. Ivanova A, Geller J, Katargina O, et al. Detection of *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* and *Ehrlichia muris* in Estonian ticks. *Ticks Tick Borne Dis.* 2011; 8 (1): 13–7.
19. Silaghi C, Woll D, Mahling M, et al. *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* in rodents in an area with sympatric existence of the hard ticks *Ixodes ricinus* and *Dermacentor reticulatus*, Germany. *Parasit Vectors.* 2012; 5: 285.
20. Obiegala A, Pfeffer M, Pfister K, et al. *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* and *Anaplasma phagocytophilum*: Prevalences and investigations on a new transmission path in small mammals and ixodid ticks. *Parasit Vectors.* 2014; 7: 563.
21. Hornok S, Meli ML, Gönczi E, et al. First evidence of *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* in Hungary. *Parasit Vectors.* 2013; 6: 267.
22. Szekeres S, Coipan CE, Rigó K, et al. *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* and *Anaplasma phagocytophilum* in natural rodent and tick communities in Southern Hungary. *Ticks Tick Borne Dis.* 2015; 6 (2): 111–6.
23. Capelli G, Ravagnan S, Montarsi F, et al. Occurrence and identification of risk areas of *Ixodes ricinus*-borne pathogens: A cost-effectiveness analysis in north-eastern Italy. *Parasit Vectors.* 2012; 5: 61.



24. Movila A, Toderas I, Uspenskaja I, et al. Molecular detection of tick-borne pathogens in *Ixodes ricinus* from Moldova collected in 1960. *Ticks Tick Borne Dis.* 2013; 4 (4): 359–61.
25. Jenkins A, Kristiansen BE, Allum AG, et al. *Borrelia burgdorferi sensu lato* and *Ehrlichia* spp. in *Ixodes* ticks from southern Norway. *J Clin Microbiol.* 2001; 39 (10): 3666–71.
26. Welc-Faleńczyk R, Kowalec M, Karbowski G, et al. *Rickettsiaceae* and *Anaplasmataceae* infections in *Ixodes ricinus* ticks from urban and natural forested areas of Poland. *Parasit Vectors.* 2014; 7: 121.
27. Kalmár Z, Sprong H, Mihalca AD, et al. *Borrelia miyamotoi* and *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* in *Ixodes ricinus* ticks, Romania. *Emerg Infect Dis.* 2016; 22 (3): 550–1.
28. Raileanu C, Moutailler S, Pavel I, et al. *Borrelia* diversity and co-infection with other tick borne pathogens in ticks. *Front Cell Infect Microbiol.* 2017; 7: 36.
29. Potkonjak A, Gutiérrez R, Savić S, et al. Molecular detection of emerging tick-borne pathogens in Vojvodina, Serbia. *Ticks Tick Borne Dis.* 2016; 7 (1): 199–203.
30. Spitalská E, Boldis V, Kostanová Z, et al. Incidence of various tick-borne microorganisms in rodents and ticks of central Slovakia. *Acta Virol.* 2008; 52 (3): 175–9.
31. Pangráčová L, Derdákova M, Pekárik L, et al. *Ixodes ricinus* abundance and its infection with the tick-borne pathogens in urban and suburban areas of eastern Slovakia. *Parasit Vectors.* 2013; 6 (1): 238.
32. Blaňarová L, Stanko M, Miklišová D, et al. Presence of *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* and *Babesia microti* in rodents and two tick species (*Ixodes ricinus* and *Ixodes trianguliceps*) in Slovakia. *Ticks Tick Borne Dis.* 2016; 7 (2): 319–26.
33. Hamšíková Svitáľková Z, Haruštiaková D, Mahriková L, et al. *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* in ticks and rodents from urban and natural habitats of South-Western Slovakia. *Parasit Vectors.* 2016; 9 (1): 2.
34. Andersson M, Bartkova S, Lindestad O, et al. Co-infection with '*Candidatus Neoehrlichia mikurensis*' and *Borrelia afzelii* in *Ixodes ricinus* ticks in southern Sweden. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2013; 13 (7): 438–42.
35. Lommano E, Bertaiola L, Dupasquier C, et al. Infections and coinfections of questing *Ixodes ricinus* ticks by emerging zoonotic pathogens in Western Switzerland. *Appl Environ Microbiol.* 2012; 78 (13): 4606–12.
36. Maurer FP, Keller PM, Beuret C, et al. Close geographic association of human neoehrlichiosis and tick populations carrying »*Candidatus Neoehrlichia mikurensis*« in eastern Switzerland. *J Clin Microbiol.* 2013; 51 (1): 169–76.
37. Van Overbeek L, Gassner F, Van Der Plas CL, et al. Diversity of *Ixodes ricinus* tick-associated bacterial communities from different forests. *FEMS Microbiol Ecol.* 2008; 66 (1): 72–84.
38. Coipan EC, Jahfari S, Fonville M, et al. Spatiotemporal dynamics of emerging pathogens in questing *Ixodes ricinus*. *Front Cell Infect Microbiol.* 2013; 3: 36.
39. Jahfari S, Fonville M, Hengeveld P, et al. Prevalence of *Neoehrlichia mikurensis* in ticks and rodents from North-west Europe. *Parasit Vectors.* 2012; 5 (1): 74.
40. Silaghi C, Pfister K, Overzier E. Molecular investigation for bacterial and protozoan tick-borne pathogens in wild boars (*Sus scrofa*) from southern Germany. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2014; 14 (5): 371–3.
41. Palomar AM, García-Álvarez L, Santibáñez S, et al. Detection of tick-borne '*Candidatus Neoehrlichia mikurensis*' and *Anaplasma phagocytophilum* in Spain in 2013. *Parasit Vectors.* 2014; 7 (1): 57.
42. Baráková I, Derdákova M, Selyemová D, et al. Tick-borne pathogens and their reservoir hosts in northern Italy. *Ticks Tick Borne Dis.* 2018; 9 (2): 164–70.
43. Burri C, Schumann O, Schumann C, et al. 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.* 2014; 5 (3): 245–51.
44. Schreiber C, Krücken J, Beck S, et al. Pathogens in ticks collected from dogs in Berlin/Brandenburg, Germany. *Parasit Vectors.* 2014; 7: 535.
45. Król N, Obiegala A, Pfeffer M, et al. Detection of selected pathogens in ticks collected from cats and dogs in the Wrocław Agglomeration, South-West Poland. *Parasit Vectors.* 2016; 9 (1): 351.
46. Labbé Sandelin L, Tolf C, Larsson S, et al. *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* in ticks from migrating birds in Sweden. *PLoS one.* 2015; 10 (7): e0133250.
47. Lommano E, Dvořák C, Vallotton L, et al. Tick-borne pathogens in ticks collected from breeding and migratory birds in Switzerland. *Ticks Tick Borne Dis.* 2014; 5 (6): 871–82.
48. Heylen D, Fonville M, Docters van Leeuwen A, et al. Pathogen communities of songbird-derived ticks in Europe's low countries. *Parasit Vectors.* 2017; 10 (1): 497.
49. Jahfari S, Ruyts SC, Frazer-Mendelewska E, et al. Melting pot of tick-borne zoonoses: The European hedgehog contributes to the maintenance of various tick-borne diseases in natural cycles urban and suburban areas. *Parasit Vectors.* 2017; 10 (1): 134.

50. Otranto D, Dantas-Torres F, Giannelli A, et al. Ticks infesting humans in Italy and associated pathogens. *Parasit Vectors*. 2014; 7: 328.
51. Andersson M, Zaghdoudi-Allan N, Tamba P, et al. Co-infection with '*Candidatus Neoehrlichia mikurensis*' and *Borrelia afzelii* in an *Ixodes ricinus* tick that has bitten a human in Romania. *Ticks Tick Borne Dis*. 2014; 5 (6): 706–8.
52. Jahfari S, Hofhuis A, Fonville M, et al. Molecular detection of tick-borne pathogens in humans with tick bites and *erythema migrans*, in the Netherlands. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016; 10 (10): e0005042.
53. Krücken J, Schreiber C, Maaz D, et al. A novel high-resolution melt PCR assay discriminates *Anaplasma phagocytophilum* and »*Candidatus Neoehrlichia mikurensis*«. *J Clin Microbiol*. 2013; 51 (6): 1958–61.
54. Movila A, Alekseev AN, Dubinina HV, et al. Detection of tick-borne pathogens in ticks from migratory birds in the Baltic region of Russia. *Med Vet Entomol*. 2013; 27 (1): 113–7.
55. Silaghi C, Beck R, Oteo JA, et al. Neoehrlichiosis: An emerging tick-borne zoonosis caused by *Candidatus Neoehrlichia mikurensis*. *Exp Appl Acarol*. 2016; 68 (3): 279–97.
56. Strašek Smrdel K, Ravnik Verbič U, Tozon N, et al. Filling the gap on the knowledge of *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* in Europe, Slovenia. In: Fournier PE, eds. International congress on Rickettsiae and other intracellular bacteria. Marseille; 2017. p. 152.
57. Grankvist A, Andersson PO, Mattsson M, et al. Infections with the tick-borne bacterium »*Candidatus Neoehrlichia mikurensis*« mimic noninfectious conditions in patients with B cell malignancies or autoimmune diseases. *Clin Infect Dis*. 2014; 58 (12): 1716–22.
58. Víchová B, Majláthová V, Nováková M, et al. *Anaplasma* infections in ticks and reservoir host from Slovakia. *Infect Genet Evol*. 2014; 22: 265–72.
59. Vayssier Taussat M., Le Rhun D, Buffet JP, et al. *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* in bank voles, France. *Emerg Infect Dis*. 2012; 18 (12): 2063–5.
60. Beninati T, Piccolo G, Rizzoli A, et al. *Anaplasmataceae* in wild rodents and roe deer from Trento Province (northern Italy). *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2006; 25 (10): 677–8.
61. Andersson M, Raberg L. Wild rodents and novel human pathogen *Candidatus Neoehrlichia mikurensis*, southern Sweden. *Emerg Infect Dis*. 2011; 17 (9): 1716–8.
62. Andersson M, Scherman K, Råberg L. Infection dynamics of the tick-borne pathogen »*Candidatus Neoehrlichia mikurensis*« and coinfections with *Borrelia afzelii* in bank voles in southern Sweden. *Appl Environ Microbiol*. 2014; 80 (5): 1645–9.
63. Li H, Jiang J, Tang F, et al. Wide distribution and genetic diversity of »*Candidatus Neoehrlichia mikurensis*« in rodents from China. *Appl Environ Microbiol*. 2013; 79 (3): 1024–7.
64. Tabara K, Arai S, Kawabuchi T, et al. Molecular survey of *Babesia microti*, *Ehrlichia* species and *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* in wild rodents from Shimane Prefecture, Japan. *Microbiol Immunol*. 2007; 51 (4): 359–67.
65. Rar VA, Livanova NN, Panov VV, et al. Genetic diversity of *Anaplasma* and *Ehrlichia* in the Asian part of Russia. *Ticks Tick Borne Dis*. 2010; 1 (1): 57–65.
66. Diniz PPVP, Schulz BS, Hartmann K, et al. »*Candidatus Neoehrlichia mikurensis*« infection in a dog from Germany. *J Clin Microbiol*. 2011; 49 (5): 2059–62.
67. Liesner JM, Krücken J, Schaper R, et al. Vector-borne pathogens in dogs and red foxes from the federal state of Brandenburg, Germany. *Vet Parasitol* 2016; 224: 44–51.
68. Beck R, Čurik Čubrić V, Ivana R, et al. Identification of '*Candidatus Neoehrlichia mikurensis*' and *Anaplasma* species in wildlife from Croatia. *Parasit Vectors*. 2014; 7: 028.
69. Von Loewenich FD, Geißdorfer W, Disqué C, et al. Detection of »*Candidatus Neoehrlichia mikurensis*« in two patients with severe febrile illnesses: Evidence for a European sequence variant. *J Clin Microbiol*. 2010; 48 (7): 2630–5.
70. Fehr JS, Bloemberg GV, Ritter C, et al. Septicemia caused by tick-borne bacterial pathogen *Candidatus Neoehrlichia mikurensis*. *Emerg Infect Dis*. 2010; 16 (7): 1127–9.
71. Quarsten H, Grankvist A, Høyvoll L, et al. *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* and *Borrelia burgdorferi sensu lato* detected in the blood of Norwegian patients with erythema migrans. *Ticks Tick Borne Dis*. 2017; 8 (5): 715–20.
72. Welc-Faleciak R, Siński E, Kowalec M, et al. Asymptomatic »*Candidatus Neoehrlichia mikurensis*« infections in immunocompetent humans. *J Clin Microbiol*. 2014; 52 (8): 3072–4.
73. Grankvist A, Sandelin LL, Andersson J, et al. Infections with *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* and cytokine responses in 2 persons bitten by ticks, Sweden. *Emerg Infect Dis*. 2015; 21 (8): 1462–5.

74. Pekova S, Vydra J, Kabickova H, et al. *Candidatus* Neoehrlichia mikurensis infection identified in 2 hematooncologic patients: Benefit of molecular techniques for rare pathogen detection. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2011; 69 (3): 266–70.
75. Andréasson K, Jönsson G, Lindell P, et al. Recurrent fever caused by *Candidatus* Neoehrlichia mikurensis in a rheumatoid arthritis patient treated with rituximab. *Rheumatology*. 2014; 54 (2): 369–71.
76. Dadgar A, Grankvist A, Wernbro L, et al. Fever of unknown origin in a multiple sclerosis patient on immunomodulatory therapy was due to neoehrlichiosis. *Lakartidningen*. 2017; 114: EM6L.
77. Wass L, Grankvist A, Mattsson M, et al. Serological reactivity to *Anaplasma phagocytophilum* in neoehrlichiosis patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2018; 37 (9): 1673–8.
78. Lenart M, Simoniti M, Strašek Smrdel K, et al. Case report: First symptomatic *Candidatus* Neoehrlichia mikurensis infection in Slovenia. *BMC Infect Dis*. 2021; 21 (1): 579.

Prispelo 16. 8. 2021