

Morfološka karakterizacija krpelja šikare rodova Dermacentor, Hyalomma i Rhipicephalus važnih vektora uzročnika bolesti na području Republike Hrvatske

Kvesić, Tea

Master's thesis / Diplomski rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:178:831829>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-24**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Veterinary Medicine -](#)
[Repository of PHD, master's thesis](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
VETERINARSKI FAKULTET

TEA KVESIĆ

**MORFOLOŠKA KARAKTERIZACIJA KRPELJA ŠIKARE RODOVA
DERMACENTOR, *HYALOMMA* I *RHIPICEPHALUS* VAŽNIH VEKTORA
UZROČNIKA BOLESTI NA PODRUČJU REPUBLIKE HRVATSKE**

Diplomski rad

Zagreb, 2017.

VETERINARSKI FAKULTET SVEUČILIŠTA U ZAGREBU
ZAVOD ZA PARAZITOLOGIJU I INVAZIJSKE BOLESTI S KLINIKOM

Predstojnik: izv. prof. dr. sc. Dagny Stojčević Jan

Mentor: prof. dr. sc. Tatjana Živičnjak

dr. sc. Franjo Martinković

Članovi povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. prof. dr. sc. Albert Marinculić

2. dr. sc. Franjo Martinković

3. prof. dr. sc. Tatjana Živičnjak

4. prof. dr. sc. Frane Božić (zamjena)

Zahvaljujem mentorici, prof. dr. sc. Tatjani Živičnjak i komentoru, neposrednom voditelju, dr. sc. Franji Martinkoviću na uloženom trudu, vremenu i stručnim savjetima koji su mi pomogli u izradi ovog diplomskog rada. Zahvaljujem svojim roditeljima na podršci i ohrabrenju, te sestri Vanji i teti Mariji koje su stalni vjetar u leđa.

SADRŽAJ

	Stranica
1. UVOD	1
2. PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA	2
2.1. Krpelji šikare (Ixodidae)	2
2.1.1. Morfologija	2
2.1.2. Razvojni ciklus	4
2.2. Rod: <i>Dermacentor</i>	5
2.2.1. <i>Dermacentor marginatus</i>	5
2.2.2. <i>Dermacentor reticulatus</i>	6
2.3. Rod: <i>Hyalomma</i>	7
2.3.1. <i>Hyalomma marginatum</i>	7
2.4. Rod: <i>Rhipicephalus</i>	7
2.4.1. <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	8
2.4.2. <i>Rhipicephalus bursa</i>	9
3. MATERIJALI I METODE	10
3.1. Prikupljanje krpelja te determinacija roda i spola	11
3.2. Identifikacija i opis vrsta krpelja	11
4. REZULTATI	11
4.1. <i>Dermacentor marginatus</i>	11
4.2. <i>Dermacentor reticulatus</i>	20

4.3.	<i>Hyalomma marginatum</i>	29
4.4.	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	36
5.	RASPRAVA	43
6.	ZAKLJUČCI	44
7.	LITERATURA	45
8.	SAŽETAK	48
9.	SUMMARY	49
10.	ŽIVOTOPIS	50

1. UVOD

Krpelji pripadaju koljenu člankonožaca (Phylum: Arthropoda), razredu paučnjaka (Classis: Arachnida) i podrazredu grinja (Subclassis: Acari). Acari su podijeljeni u nadredove (Supraordo) Parasitiformes i Acariformes. Grinje nadreda Parasitiformes (sin. Anactinotrichidea) u koji spadaju krpelji, ne posjeduju aktinohitin (optički aktivna tvar) i trihobotrije (vrsta osjetnih dlačica) (Mehlhorn, 2016.; Dhooria, 2008.). S obzirom na smještaj i funkciju stigmalnih otvora, razlikuju se podredovi: Metastigmata, Mesostigmata, Prostigmata i Astigmata. Grinje iz podreda Metastigmata (sin. Ixodida), tj. krpelji, imaju stigme iza četvrte kokse. Od tri postojeće porodice krpelja, sa veterinarsko-medicinskog stajališta, su važne dvije porodice krpelja i to Ixodidae i Argasidae, odnosno krpelji šikare i krpelji nastambi (Eckert i sur., 2008.). Porodica Ixodidae, tzv. krpelji šikare (eng., *hard ticks*) je najveća i najznačajnija te sadržava 14 rodova i nešto više od 700 vrsta (Guglielmone i sur., 2014). Glavna značajka koja je razlikuje od drugih porodica krpelja je tvrdi hitinski štit smješten na dorzalnoj strani tijela (*idiosoma*). U ženki, nimfi i larvi prekriva samo dio tijela na području podosome i naziva se skutum (*scutum*), a u mužjaka prekriva cijelu dorzalnu površinu tijela i naziva se konskutum (*conscutum*). Porodica Argasidae (krpelji nastambi) sadržava pet rodova te približno 190 vrsta i ne posjeduje hitinizirani štit, a usni organi i ovratnik ne vide se s dorzalne strane za razliku od krpelja šikare (Estrada-Pena i sur., 2010.). Treća porodica Nuttalliellidae sadrži samo jednu vrstu koja nije od veterinarsko-medicinskog značaja (Eckert i sur., 2008). Krpelji su povremeni obligatni hematofagni ektoparaziti sisavaca, ptica, gmazova i vodozemaca (Eckert i sur., 2008). Važnost krpelja šikare (Ixodidae) se očituje u njihovoj ulozi bioloških prenositelja virusa, bakterija, oblića i protozoa, uzročnika zaraznih i parazitarnih bolesti domaćih i divljih životinja, te ljudi (Jongejan i sur., 2004.). Točna identifikacija vrste krpelja važan je čimbenik u otkrivanju i dijagnozi bolesti prenosivih krpeljima i preduvjet je za suzbijanje krpelja (Bowman i Nutall, 2008.).

Prema postojećoj literaturi, na području Republike Hrvatske ne postoje istraživanja koja obuhvaćaju detaljne opise pojedinih vrsta krpelja šikare s popratnim fotografijama. Nadalje, s obzirom da su krpelji šikare važni vektori uzročnika bolesti u životinja i ljudi, pravovremeni nalaz i identifikacija vrste krpelja može pobuditi sumnju te omogućiti brzu dijagnostiku bolesti. Stoga je cilj ovog istraživanja morfološki opisati neke najznačajnije vektore uzročnika bolesti, a zbog jednostavnosti pristupa, u ovom istraživanju će biti morfološki opisani, tj. prikazani

ključevi za determinaciju adulta nekih najznačajnijih vrsta rodova *Dermacentor*, *Rhipicephalus* i *Hyalomma*.

2. PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA

Prva istraživanja na području iksodidologije u Republici Hrvatskoj provedena su još davne 1934. godine (Babić, 1934.). Od tada pa do danas provedena su brojna istraživanja na tom području. Ona su bila temeljena na identifikaciji i pojavnosti određenih vrsta krpelja na određenim područjima Republike Hrvatske (Krčmar, 2012). Jedan dio istraživanja tih davnih godina dao je uvid u detaljnu morfologiju pojedinih vrsta krpelja šikare (Mikačić, 1961.; 1963.; 1965.; Oswald 1940.; 1941.), no samo nekolicina njih prikazuju skromne, tj. nekompletne ilustracije morfologije u vidu crteža (Mikačić, 1961.; 1963.).

2.1. KRPELJI ŠIKARE (IXODIDAE)

2.1.1. MORFOLOGIJA

Krpelji šikare su veliki, do 3 cm dugi akari. Nečlankovito tijelo krpelja (*idiosoma*) je kod nenasisanih jedinki dorzoventralno spljošteno. Na tijelu razlikujemo podosomu, tj. područje iz kojeg izlaze noge i opistosomu tj. beznožno područje na kojem se nalazi ostali dio tijela. Na leđnim i trbušnim dijelovima tijela nalaze se područja građena od tvrdog hitina. Ovaj je hitin crveno-smeđe, kestenjasto-smeđe do gotovo crne boje. Apikalno, s jedne strane iz tijela izlazi gnatosoma (*capitulum*) na kojoj se nalaze organi za hranjenje. Od tvrdog su hitina građeni svi organi gnathosome (ovratnik, palpi, helicere i hipostom) koja je vidljiva je s leđne strane, tj. strši iz tijela terminalno. Sastoji se od ovratnika (*basis capituli*) iz kojeg izlazi neparni, ventralno smješten, nazubljeni hipostom, parne nečlankovite helicere škarastog oblika ili oblika noža i na dorzalnoj strani ovijene epistomom te parni četveročlani palpi smješteni sa strane hipostoma i helicera. Posljednji članak palpa (*palptarsus*) ne izlazi terminalno iz prethodnoga, nego je ventralno uvučen u udubinu i veoma je malen.

Tvrde hitinske ploče smještene s dorzalne strane tijela nose posebne nazive. Okrugao ili srcolik štiti koji prekriva oko trećine površine tijela, dorzalno na podosomi ženke, nimfe i larve zovemo skutum (*scutum*), dok se mekani dio kutikule kod ženke naziva se alloskutum (*alloscutum*), a zbog njegove elastičnosti volumen tijela se može povećati 200 puta i više prilikom hranjenja. Kod mužjaka ta tvrda hitinska ploča prekriva cijelu leđnu stranu, pa taj štiti nazivamo konskutum (*conscutum*). U različitim rodovima krpelja šikare štiti se razlikuje po obliku, obojenosti različitim šarama i nekim drugim karakteristikama kako što je npr., prisutnost ili izostanak jednostavnih očiju smještenih posterolateralno na rubovima štita. Nadalje, kod mužjaka u nekim vrstama krpelja, sa ventralne strane tijela nalaze se tvrde hitinske ploče, tj., dodatni štiti koji se prema položaju zovu: analni, adanalni, subanalni, pregenitalni, genitoanalni, epimeralni štiti. Stigmalni otvori mogu biti ovalni, zaobljeni ili u obliku zareza i smješteni su laterokaudalno od četvrtog para nogu, te pokriveni šupljikavom, stigmalnom pločom (peritrema). Površina peritrema je sivkasta. Stigmalni otvori su vidljivi kod nimfi i kod odraslih stadija.

Četverouglasta polja na stražnjem rubu tijela nazivamo (festuni). Od tvrdog su hitina građeni obrub anusa i noge. Polukružna analna brazda zakrivljuje se uokolo ispred (*Ixodes*), iza analnog otvora (*Dermacentor*, *Haemaphysalis*, *Hyalomma*, *Rhipicephalus*) ili je nema (*Boophilus*). Kod odraslih stadija spolni otvor se nalazi na ventralnoj strani idiosome, između nasuprotnih određenih parova nogu u ovisnosti o vrsti krpelja. Odrasli stadiji (mužjaci i ženke) i nimfe posjeduju četiri para nogu, dok larve posjeduju tri para nogu. U bazalnom dijelu noge, kod kuka, tj. koksa (*coxa*) mogu se nalaziti izbočine koje pomažu u identifikaciji. Noge počinju plosnatom nepokretnom koksom, iza koje slijede valjkasti članci (trochanter, femur, genu, tibia i tarsus). Na dorzalnoj površini tarzusa prvog para nogu nalazi se Hallerov organ koji predstavlja osjetni organ odgovoran za pronalaženje, tj. lociranje nositelja. Iz tarzusa svih nogu izlazi sitni pretarzus, koji nosi jastučić za prijanjanje (*pulvillum*) i dvije kandže. Prva kokska može imati jedan ili dva trna, a četvrta kokska može biti naročito široka. Noge obično posjeduju više taktilnih i senzoričkih dlaka te mogu biti jednoboje ili obojene različitim nijansama iste boje. (Eckert i sur., 2008.).

Svi krpelji, uključujući i one bez očiju (*Aponomma*, *Ixodes*, *Haemaphysalis*) imaju dobro razvijene fotoreceptore, optički živac i optički ganglij u mozgu. U gnatosomi krpelja nije lociran niti jedan dio središnjeg živčanog sustava već se nalazi na sredini tijela između drugih koksa. Prijenos podražaja u krpelja odvija se neurotransmiterima, npr. dopaminom, noradrenalinom, norepinefrinima i acetilkolinom (Mehlhorn, 2016.).

2.1.2. RAZVOJNI CIKLUS

Razvojni ciklus krpelja šikare se odvija preko pasivnih (jaje) i aktivnih (larva, nimfa, odrasli) razvojnih stadija pri čemu svi aktivni razvojni stadiji žive parazitski, tj. hrane se krvlju domaćih i divljih životinja. Sisanje krvi traje dugo, obično tri do pet, pa do 15 i više dana. Razvojni ciklus započinje u okolišu gdje ženka polaže jaja iz kojih se izlegnu ličinke. One traže nositelja, prihvaćaju se za njega i sišu krv. Nakon što se ličinke nasišu krvi, zapadnu u letargično stanje i presvuku se u nimfe, koje se opet moraju hraniti krvlju kako bi se presvukle u odrasle stadije, tj. mužjake i ženke. Ženke sišu krv u velikim količinama u odnosu na veličinu njihova tijela, dok mužjaci sišu krv u manjim količinama. Mužjaci nekih vrsta krpelja ne žive parazitski, tj. ne sišu krv, te ih stoga i ne nalazimo na nositeljima. U tom slučaju se oplodnja odvija u okolišu. Neovisno o mjestu kopulacije, oplodene ženke tijekom određenog vremenskog perioda (oko 15 dana) polože tisuće jaja u okolišu nakon čega iscrpljene uginu (Eckert i sur., 2008.).

S obzirom na broj različitih nositelja koje krpelji šikare koriste u svom razvoju, oni su podijeljeni u tri različite skupine: monokseni, dikseni i trikseni krpelji. Za razvoj monoksenih krpelja potreban je samo jedan nositelj, pri čemu se na njemu razvijaju svi stadiji i odvijaju sva presvlačenja. U monoksene krpelje ubrajamo one iz roda *Boophilus*. Dikseni krpelji za svoj razvoj koriste dva različita nositelja. Naime, larve se nakon sisanja krvi na nositelju presvlače u nimfe, koje isto tako sišu krv, međutim, one se otpuštaju s nositelja i otpadaju na tlo gdje se i presvlače u odrasle. Nakon presvlačenja odrasli krpelj traži novog nositelja. Tipični predstavnici diksenih krpelja su *Rhipicephalus evertsi* i *R. bursa*. Trikseni krpelji se hrane na tri različita nositelja, pri čemu se svaki nasيسان razvojni stadij otpušta sa nositelja i presvlači na tlu. Među triksene krpelje ubrajamo *Dermacentor reticulatus*, *D. marginatus*, *Rhipicephalus sanguineus*, *Ixodes ricinus*, itd. Najveći broj vrsta krpelja šikare i pripada triksenim krpeljima (Eckert i sur., 2008.).

Dužina razvojnog ciklusa varira od vrste do vrste krpelja pa tako krpelji roda *Rhipicephalus* mogu imati razvoj kraći čak od šest mjeseci dok *Ixodes* ima razvoj koji može trajati i više od tri godine. Naime, klimatski uvjeti mogu otežati pronalazak nositelja, razvoj ili početak polaganja jaja (dijapauza), tako da samo jedan stadij može biti razvijen unutar godine dana. Tako okolišna ograničenja mogu produžiti razvojni ciklus krpelja i do tri godine (Eckert i sur., 2008.). Krpelji koriste dva načina za pronalazak nositelja, aktivni i pasivni. Pasivne vrste miruju u svom habitatu

i ovise o životinjama koje prolaze. Aktivne vrste aktivno traže nositelja. Većina krpelja traži nositelja tako da se popne do vrha travke ili grančice i postavi se u specifičan položaj sa ispruženim prvim parom nogu. Kad se adekvatan nositelj dotakne njihovih prednjih nogu krpelji se brzo uspinju na tijelo, pronadu adekvatno mjesto za hranjenje i buše kožu da bi sisali krv. Stimulansi sa karakteristično ponašanje krpelja prilikom potrage za nositeljem su ugljični dioksid, amonijak, toplina i pokreti nositelja. Vizualni podražaji u vidu promjene sjena, tj. promjena intenziteta svjetla igraju veliku ulogu u vrsta koje imaju oči, odnosno vrste koje aktivno pronalaze nositelja. Tako primjerice *Hyalomma dromedarii* može registrirati svojeg potencijalnog nositelja čak na 18 metara udaljenosti (Eckert i sur., 2008.).

2.2. ROD: *DERMACENTOR*

Vrste krpelja roda *Dermacentor* najčešće parazitiraju na konjima i psima, ali mogu i kod drugih životinja i ljudi. To su šareni krpelji, koji posjeduju oči i festune, ovratnik je pravokutan dorzalno (Estrada-Pena i sur., 2004.). Unutar roda postoji oko 35 vrsta (Guglielmone i sur., 2014.) od kojih su samo dvije vrste prisutne na području Mediterana, a to su: *Dermacentor marginatus* i *Dermacentor reticulatus* (Estrada-Pena i sur., 2004.).

2.2.1. *DERMACENTOR MARGINATUS*

Ova vrsta je poznata pod imenom kao „ukrašeni krpelj ovaca“ (eng. *ornate sheep tick*). *D. marginatus* je rasprostranjen po cijeloj Europi, i može ga se naći u Sjevernoj Africi. Na području Europe nalazi se u gustom grmlju te u podnožju stabala, često se nalazi ispod hrasta i bora. U sjevernoj Africi ovaj krpelj je ograničen na isti tip staništa kao i *Ixodes ricinus*, a nađen je u hladnijim i vlažnijim mjestima mediteranskog klimatskog područja, područja Atlas planina (Maroko i Tunis) (Estrada-Pena i sur., 2004.). Odrasli stadiji *D. marginatus* najčešće od domaćih životinja invadiraju ovce, no mogu se naći i na psima, govedima kozama i konjima. a od divljih životinja invadiraju jelensku divljač, zečeve, ježeve, vukove i divlje svinje (Rubel i sur., 2016.). Povremeno mogu invadirati i ljude. Nezreli (juvenilni) stadiji se uglavnom hrane na malim

sisavcima kao što su glodavci, srednje velike zvijeri i ptice. On je trikseni krpelj, a cijeli razvojni ciklus može biti završen u godinu dana. Odrasli krpelji su aktivni tijekom proljeća i krajem jeseni te dijelom zimi u toplijim područjima. U hladnijim područjima sezonska aktivnost odraslih stadija može započeti ranije tijekom godine i imati period bez aktivnosti sredinom zime. *D. marginatus* je najznačajniji vektor Q-groznice na Mediteranskom području, može biti vektor virus krpeljnog meningoencefalitisa, rikecija kao što su *Anaplasma ovis*, *Rickettsia sibirica*, *R. slovaca*, *R. conori*, bakterije *Francisella tularensis*, protozoa *Babesia caballi* i *Theileri equi* (Punda-Polić i sur., 2002.; Estrada-Pena i sur., 2004.; Eckert i sur., 2008.).

2.2.2. *DERMACENTOR RETICULATUS*

U Europi je rasprostranjen na hladnim i vlažnim područjima. Južna Europa predstavlja južnu granicu njegove rasprostranjenosti dok je čest u sjevernoj Europi i Britanskim Otocima. Nema ga u Sjevernoj Africi (Estrada-Pena i sur., 2004.). *D. reticulatus* je nađen na relativno uskom području na staništima koja osiguravaju veliku količinu vlage. U vlažnim uvjetima, u Mediteranskom području, odrasli stadiji mogu se hraniti od listopada do ožujka. U sjevernijim granicama njegove rasprostranjenosti krpelji su aktivniji ljeti. Ovaj trikseni krpelj parazitira na konju, govedu, ovci, kozi, svinji, psu, cervidima i zecu, te povremeno na ljudima. Ličinke i nimfe žive na glodavcima (Eckert i sur. 2008.). Razvojni ciklus može završiti u jednoj godini, ali obično traje više, i do tri godine. *D. marginatus* i *D. reticulatus* preferiraju različite nositelje, međutim ponekad se obje vrste mogu naći na istom nositelju, stoga je razlikovanje obiju vrsta jako bitno. Mužjak je dug do 4 mm, gladna ženka 4 mm, a nasisana 16 mm. Drugi članak palpa je proširen lateralno, a na dorzalnoj strani ima jasno vidljiv trn usmjeren unatrag. Ovratnik je znatno uži od prednjih usnih organa. Kod mužjaka je koksa IV. jako proširena, a na konskutumu je često ucertan tzv. presudoskutum, koji daje utisak kao da se radi o skutumu u ženke. Ima 11 festuna. U ženki najistaknutiji detalj je oblik poroznih područja, veličina udubine između unutarnjeg i vanjskog trna prvog članka i morfologija usana genitalnog otvora. Rogovi (*cornua*) u mužjaka su dugi, a kratki u *D. marginatus*. Dokazan je vektor virusa Omsk - hemoragične groznice, rikecija *Rickettsia helvetica*, *R. slovaca*, *R. raoulti*, protozoa *Babesia caballi*, *B. microti*, *B. divergens*, *B. bigemina*, *B. canis canis* i *Theileria equi*. Nadalje, u ovoj vrsti krpelja

dokazan je Kimerovo virus, virus krpeljnog meningoencefalitisa, *Anaplasma phagocytophilum*, *A. marginale*, *Borelia burgdorferi*, *Coxiella burnetii*, *Francisella tularensis*, *Bartonella henselae*, (Rubel i sur., 2016.; Dobec i sur., 2009.).

2.3. ROD: *HYALOMMA*

Vrste krpelja roda *Hyalomma* su najveći krpelji unutar porodice. Posjeduju dugačku gnatosomu i konveksne oči, te šarene noge, pri čemu kokse I imaju dva trna. Analna brazda je smještena kaudalno od anusa, a na kraju idiosome se nalaze festuni (Estrada-Pena i sur., 2004.). Unutar roda postoji oko 27 vrsta (Guglielmone i sur., 2014.).

2.3.1. *HYALOMMA MARGINATUM MARGINATUM*

H. m. marginatum je dikseni krpelj također poznat pod imenom kao mediteranska *Hyalomma*. Nenasisane ženke su dužine 5 - 6.5 mm, a nasisane čak i više od 20 mm. Odrasli su aktivni cijele godine. Nezreli oblici su aktivni ljeti, između svibnja i rujna (Estrada-Pena i sur., 2004.). Odrasli parazitiraju na stražnjim dijelovima tijela govedima, konjima, psima, lisicama, divljim svinjama i zečevima (Eckert i sur., 2008.). Nezreli stadiji parazitiraju na malim životinjama, najčešće na ušima zečeva i kunića, te na glavi ptica i ježeva (Estrada-Pena i sur., 2004.). Ovaj krpelj je biološki vektor uzročnika Q groznice, virusa Crimean-Congo hemoragične groznice, protozoa *B. caballi* i *T. equi* (Punda-Polić i sur., 2002.; Estrada-Pena i sur., 2004.; Eckert i sur., 2008.).

2.4. ROD: *RHIPICEPHALUS*

Krpelji ovog roda su krpelji srednje veličine (3-5mm), uglavnom su jednobojni, i posjeduju oči i festune. Hipostom i palpi su kratki, ovratnik je u obliku šesterokuta (heksagonalan). Na koksama I su dobro vidljiva dva trna. Analna brazda smještena je sa stražnje strane anusa (Estrada-Pena i sur., 2004.). Unutar roda postoji oko 84 vrsta (Guglielmone i sur., 2014.). Najznačajnije vrste

ovog roda za naše podneblje su *Rhipicephalus bursa*, *Rhipicephalus sanguineus* i *Rhipicephalus turanicus*.

2.4.1. RHIPICEPHALUS SANGUINES

Tzv. "smeđi pseći krpelj" je jedan od najraširenijih krpelja u svijetu. Ova triksena vrsta je postala najrasprostranjeniji krpelj u tropima i subtropima, zbog svoje specijalizirane hranidbe na psima (Estrada-Pena i sur., 2004.). On je gotovo isključivo parazit pasa, no može se naći i u mačaka i drugih životinja, ali u manjoj mjeri (manje od 10%). Adulte nalazimo na ušima, vratu i ramenima, nimfe nalazimo na ušima i ramenima, dok se larve nalaze na trbušnom području. Na ostalim nositeljima, uključujući i ljude se hrane samo kad su prisutni i psi na kojima se populacija krpelja održava. S vremenom se ova vrsta krpelja prilagodila na ljudsko okruženje i uspostavila endemska žarišta na određenim mjestima kao što su utočišta za životinje, hoteli za životinje, veterinarske ambulante pa čak i stanovi ili kuće. Pri tome se svi razvojni stadiji krpelja mogu se naći čak i u namještaju i pukotinama zidova (Eckert i sur., 2008.). Krpelji su najaktivniji u periodu od ožujka do listopada, no ako se nalaze u zatvorenim prostorima s grijanjem, njihova aktivnost se produžuje na zimu. Cijeli razvoj može trajati u idelanim uvjetima samo tri mjeseca, te se tako može u jednoj godini razviti i više od jedne generacije krpelja. Odrasli krpelji mogu živjeti do godinu i pol bez hrane (Estrada-Pena i sur., 2004.).

Mužjak je dug 3.5 mm, gladna ženka 7 mm, a nasisana 10 mm. Boje je smeđe- crvenkaste boje, a samo kod sitnih ženki aloskutum dobiva sivkastu boju. Heksagonalni ovratnik je širi od palpa. Na leđnom štitu su rijetko položene rupice. Ima 11 festuna, a medijalni festun je često izbočen u obliku tzv. „repnog privjeska“. Zbog svoje morfološke sličnosti s drugim vrstama (npr., *R. turanicus*) ova vrsta krpelja je smještena u *R. sanguineus* grupu (*R. sanguineus* s. l.). *R. sanguineus* je vektor bakterija *Ehrlichia canis*, *R. conori*, protozoa *B. canis*, *B. gibsoni*, *Haemobartonella felis* i oblića *Dipetalonema dracunculooides* (Estrada-Pena i sur., 2004.; Eckert i sur., 2008.). Protozoon *Hepatozoon canis* se prenosi sa krpelja na psa kada pas proguta krpelja tijekom lizanja (Estrada-Pena i sur., 2004.; Mulić i sur., 2011.).

2.4.2. RHIPICEPHALUS BURSA

Ovog se krpelja može naći na području mediteranske klimatske regije u bazenima Mediterana, Crnog i Kaspijskog mora. U Europi je uobičajen u svakoj mediteranskoj zemlji, a u Africi je ograničen na obale Maroka i Libije (Estrada-Pena i sur., 2004.). Vrsta *R. bursa* je jedna od čestih vrsta krpelja roda *Rhipicephalus* koji se mogu naći na ovcama, govedima, kozama i konjima, a nešto je rjeđi na psima i ljudima. Kod ovaca infestira uške, perianalno i ingvinalno područje. Dobro se prilagodio na ovce, te gotovo da i ne uzrokuje lokalnu kožnu reakciju (Eckert i sur., 2008.) Ima dikseni razvojni ciklus, pri čemu samo jedan razvojni ciklus bude završen unutar godine dana (Eckert i sur., 2008.). Nezreli stadiji se mogu hraniti na malim sisavcima (glodavci i kunići), no uobičajeno je da se hrane svi stadiji na istoj vrsti životinja. *R. bursa* se jednostavno razlikuje od ostalih vrsta iz ovog roda. Boje je smeđe - crvenkaste. Ovratnik je širi od palpa. Konkutum je gusto posut točkicama, cervikalna polja nisu uočljiva, te posjeduje široke adanalne štitove. Na koksama I, mužjak posjeduje prednji trn, jasno vidljiv s dorzalne strane tijela (Estrada-Pena i sur., 2004.).

R. bursa je vektor protozoa *Babesia bigemina*, *B. bovis*, *B. caballi*, *B. ovis*, *T. equi*, te rikecije *A. marginatum* i *A. ovis* (Estrada-Pena i sur., 2004.; Eckert i sur., 2008.).

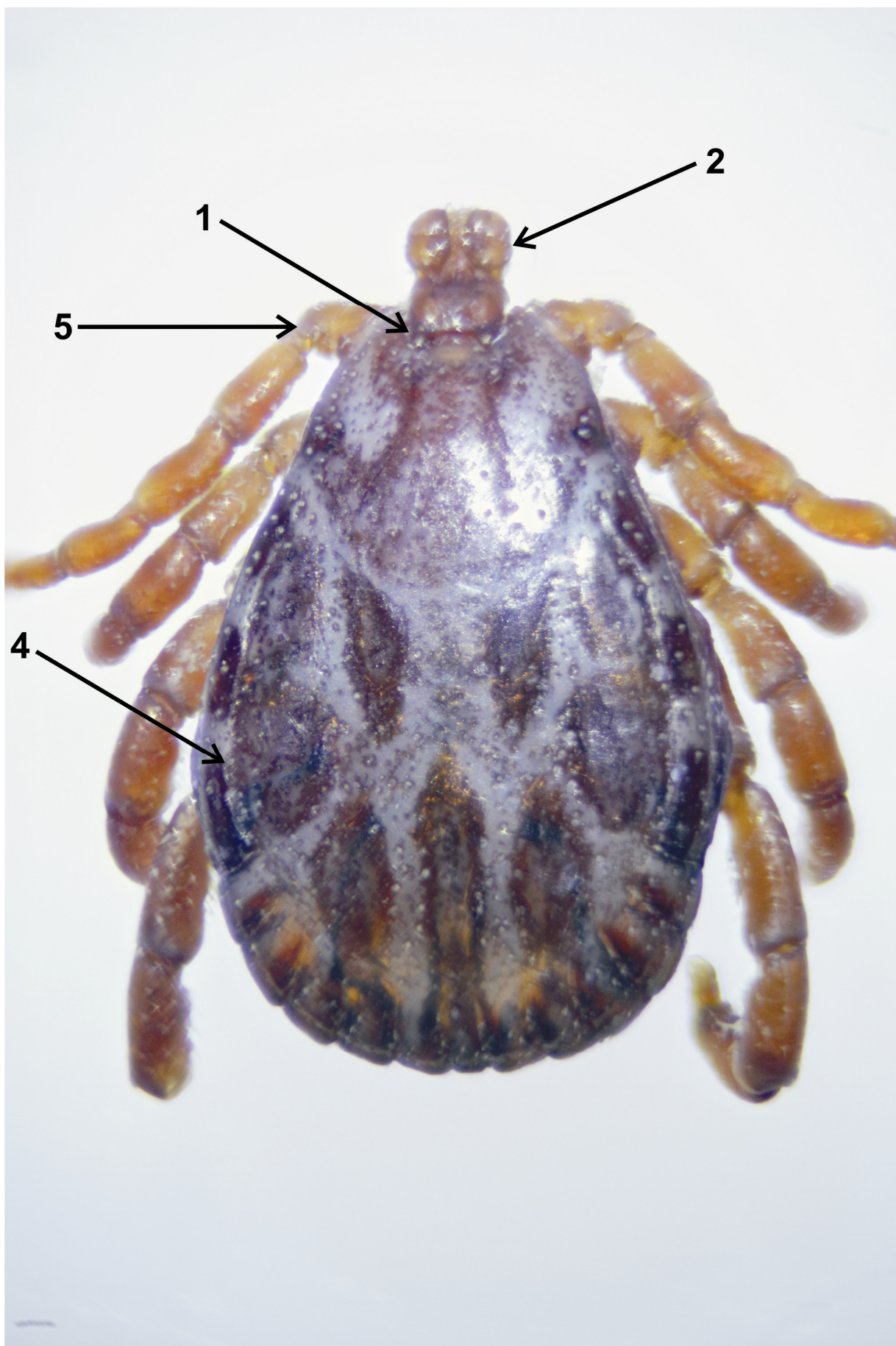
3. MATERIJALI I METODE

3.1. Prikupljanje krpelja te determinacija roda i spola.

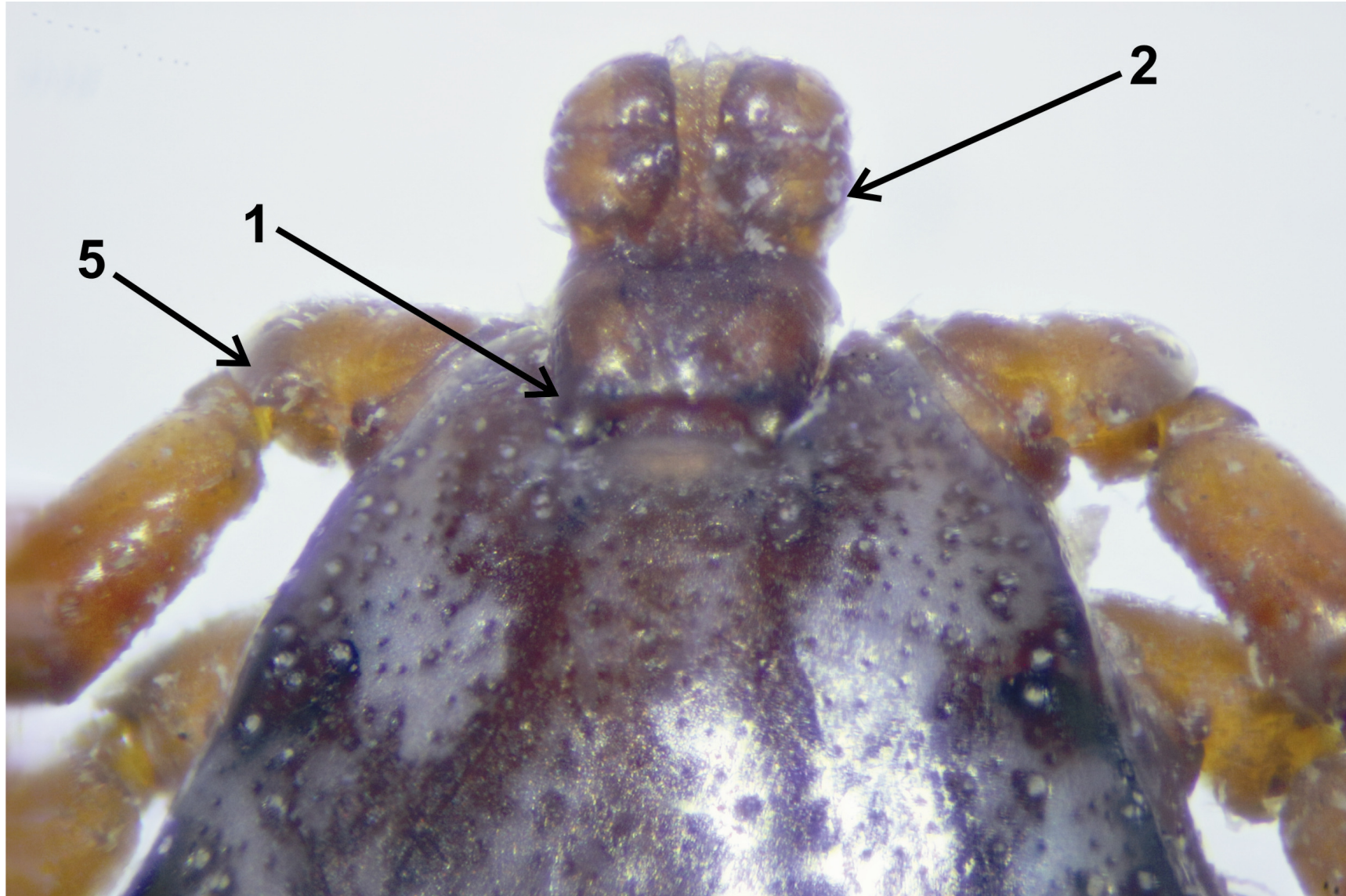
Krpelji su prikupljeni iz arhive Zavoda za parazitologiju i invazijske bolesti s klinikom. Pripadnost rodovima je određena temeljem morfoloških ključeva (Estrada-Pena i sur., 2004.) uz korištenje lupe i povećanja 10-30x. Za manje primjerke krpelja korišteno je veće povećanje, a za veće primjerke krpelja korišteno je manje povećanje. Različiti stadiji krpelja su determinirani prema broju nogu i prisutnosti genitalnog otvora. Razlikovanje mužjaka od ženki je provedeno temeljem karakteristične građe idiosome (Estrada-Peña i sur., 2004.).

3.2. Identifikacija i opis vrsta krpelja

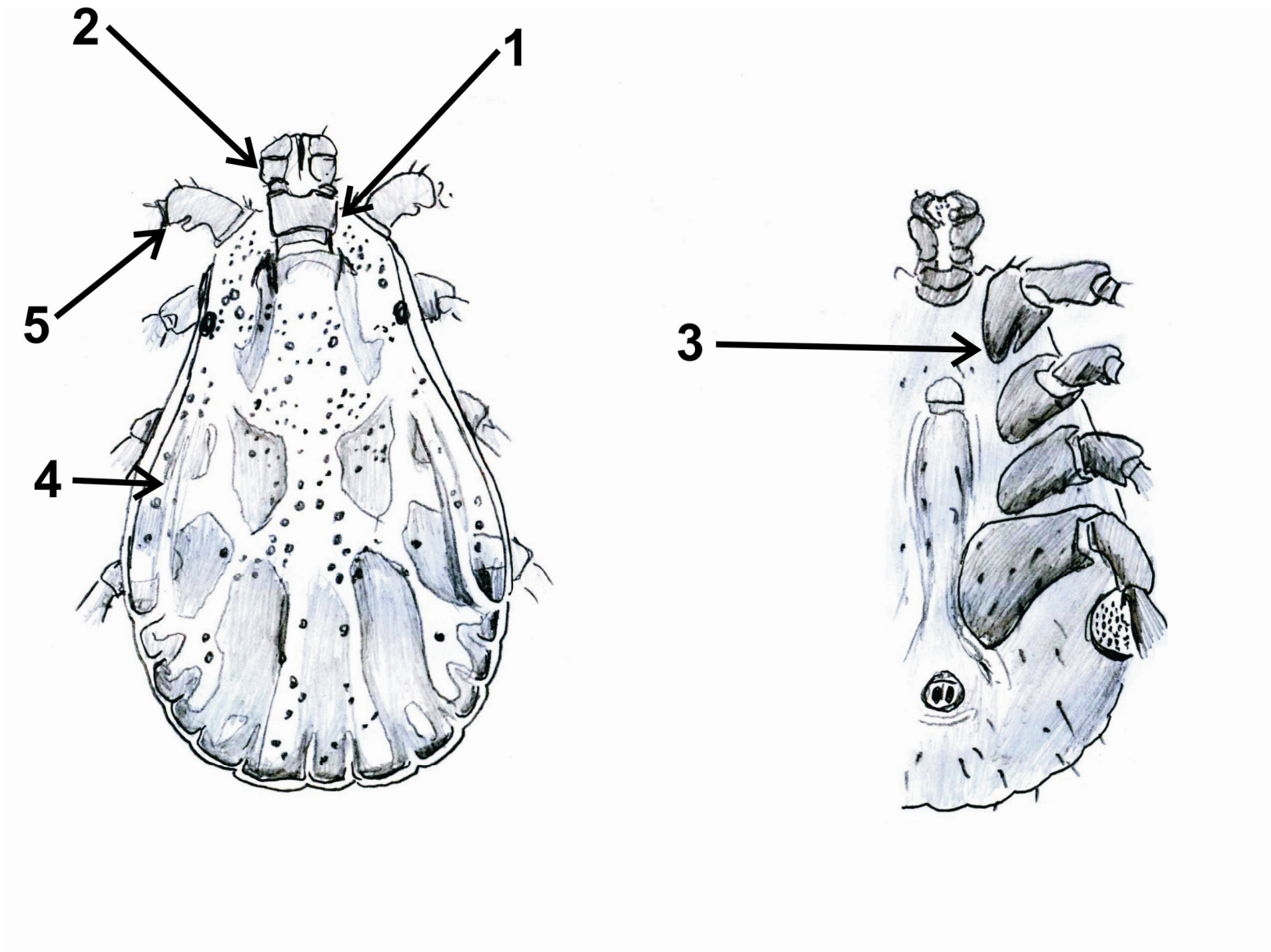
Identifikacija i detaljan opis vrsta *D. reticulatus*, *D. marginatus*, *H. m. marginatum*, *R. sanguineus* i *R. bursa* je proveden prema Estrada-Peña i sur. (2004.). Odabrani su mužjaci i ženke navedenih vrsta, skicirani olovkom i fotografirani digitalnom kamerom. Svaki primjerak je fotografiran 5-10 puta. Naime, svaki primjerak je izoštren i fotografiran u različitim slojevima kako bi stapanjem tih fotografija u jednu, pojedine morfološke karakteristike bile oštro prikazane. Potom je određeni broj potrebnih i odabranih fotografija spojen u jednu pomoću računalnog programa "Zarene Stacker". S time je dobivena tzv., trodimenzionalnost fotografije, tj. mogućnost prikazivanja svih značajnih karakteristika za identifikaciju na jednoj fotografiji. Na tako dobivenoj trodimenzionalnoj fotografiji i skiciranim crtežima, strelicama su označene pojedine morfološke karakteristike uz pomoć računalnog programa "Corel Draw X3".



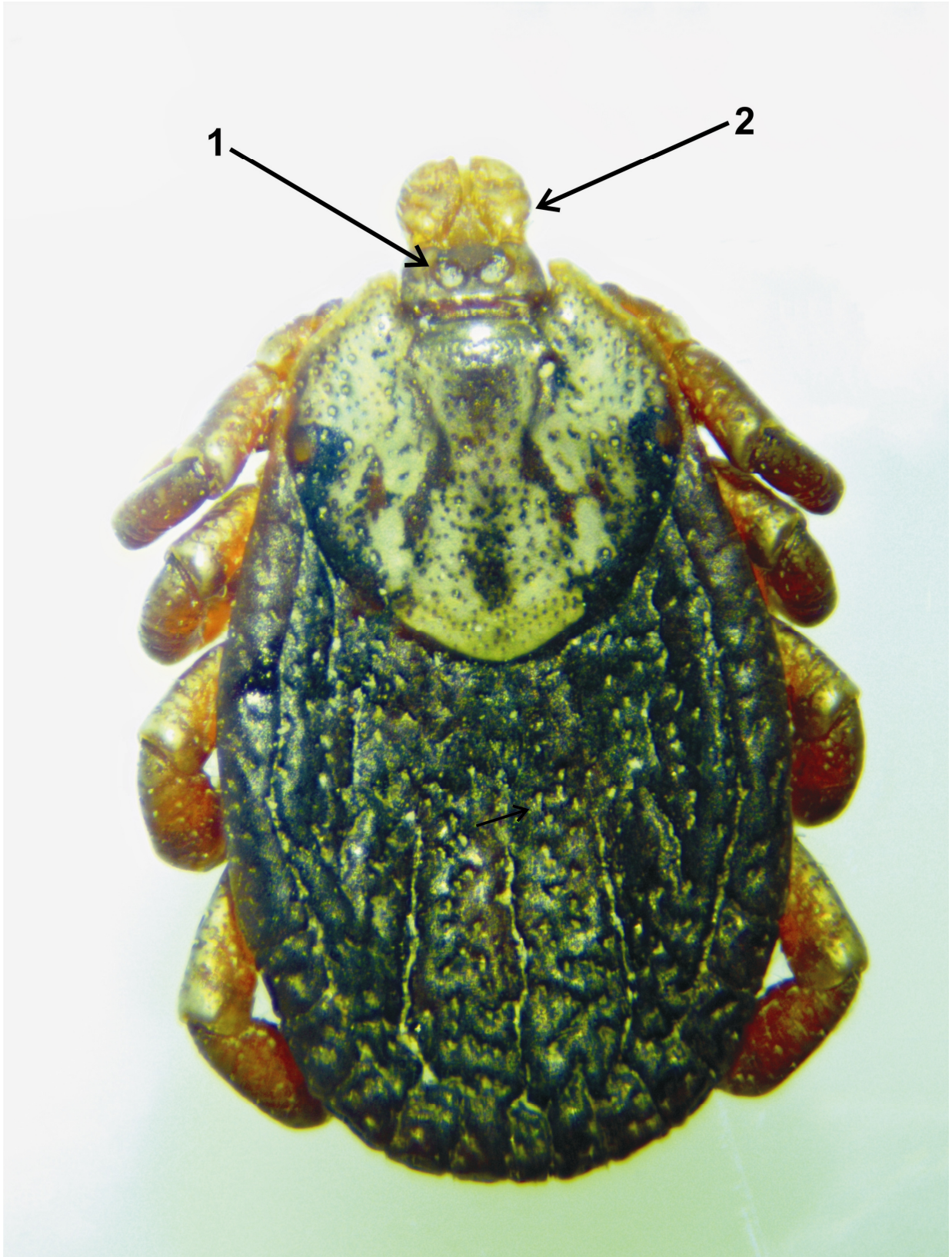
Slika 01. Prikaz mužjaka *D.marginatus* (dorzalna strana, original).



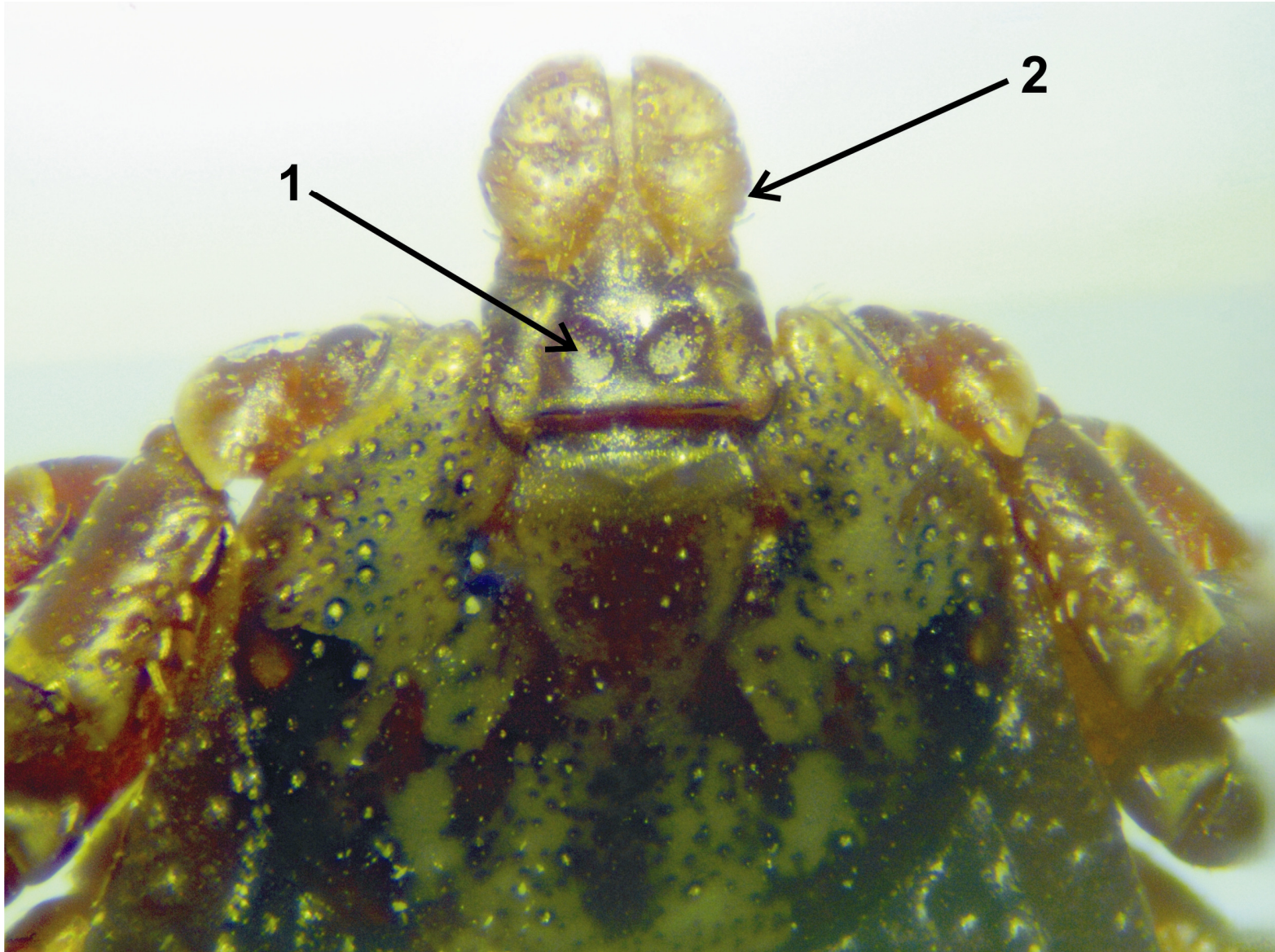
Slika 02. Prikaz mužjaka *D. marginatus* (dorzalna strana, detalj, original).



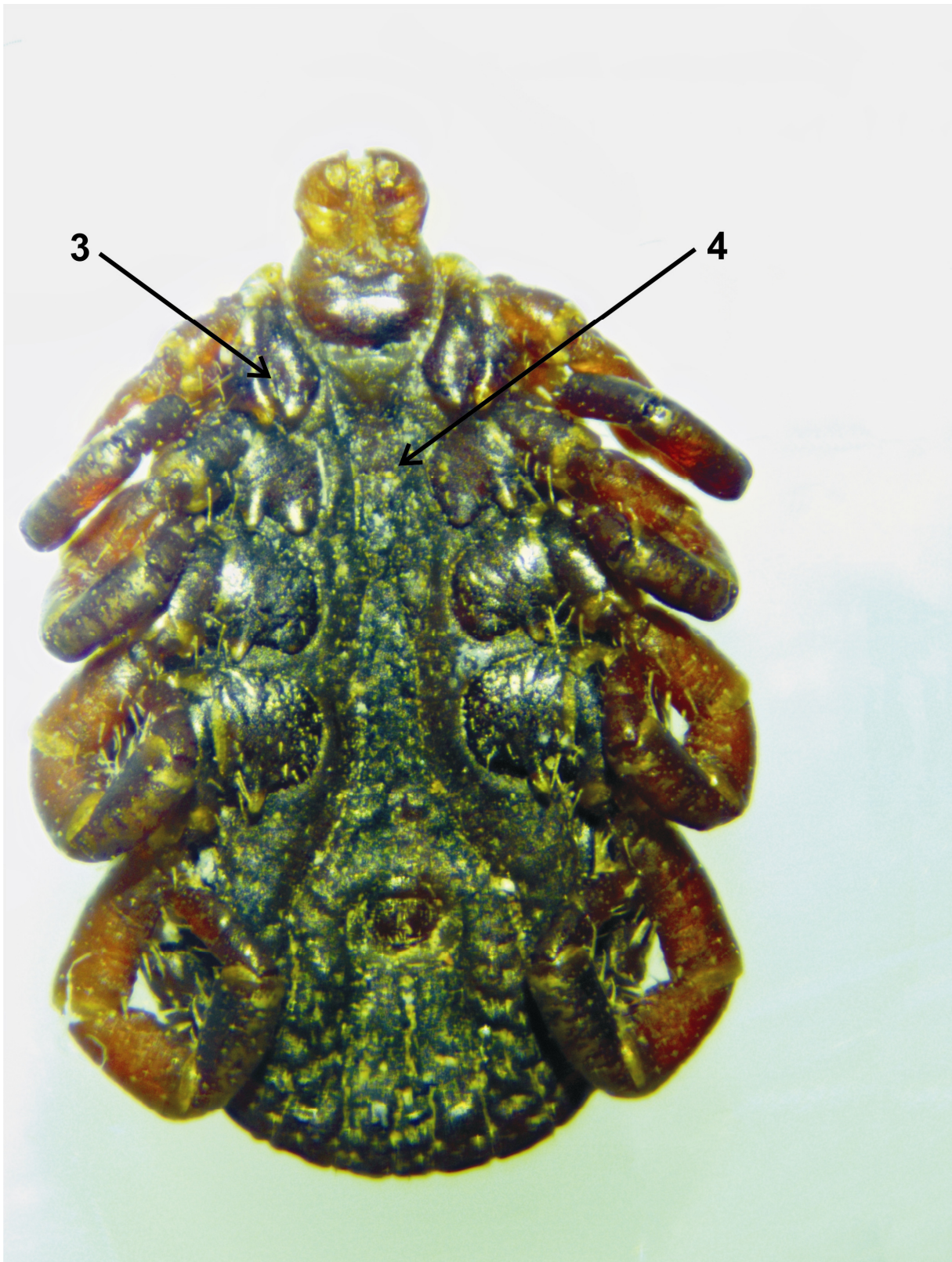
Slika 03. Prikaz mužjaka *D. marginatus* (dorzalna strana, detalj, original).



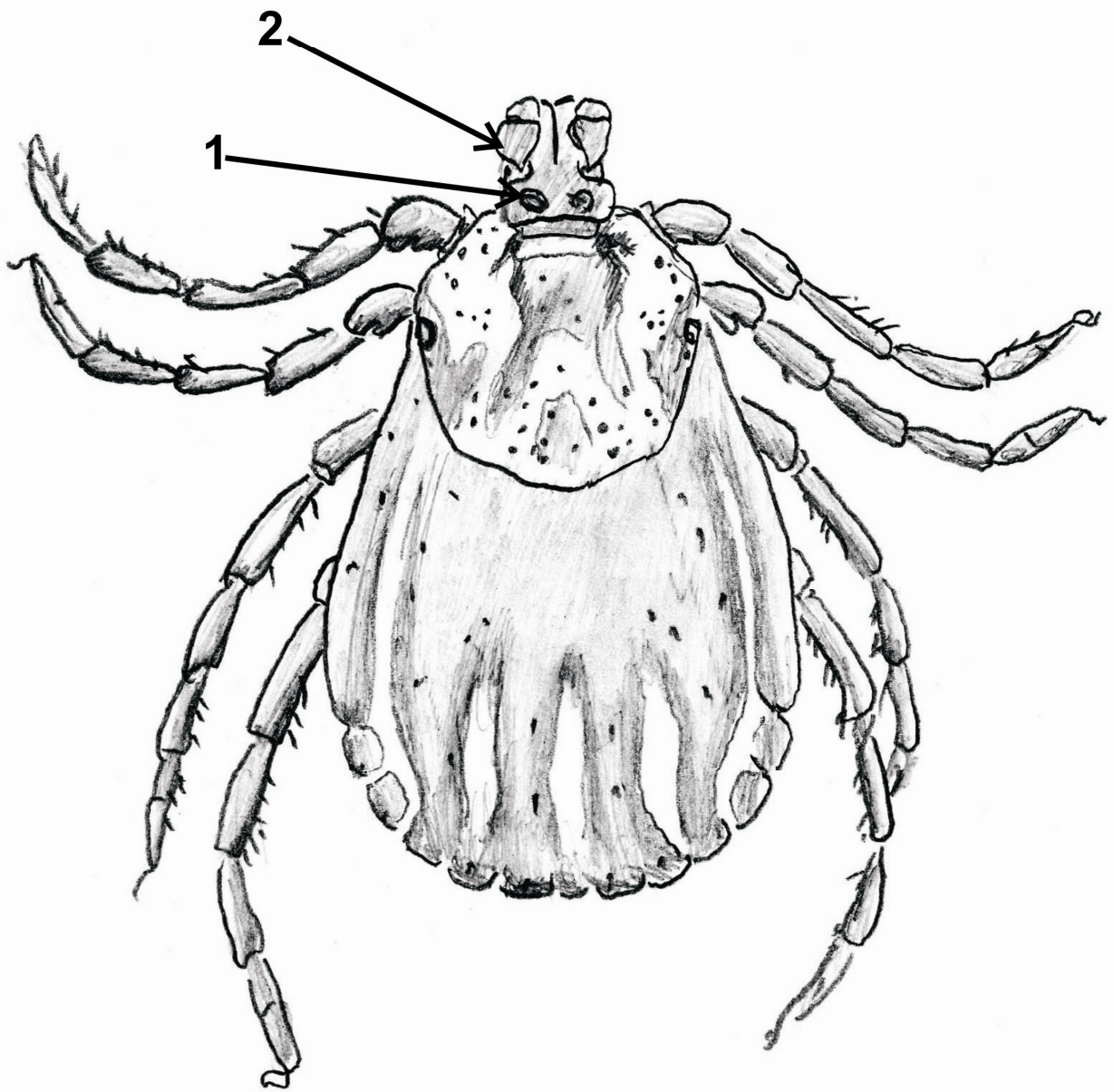
Slika 04. Prikaz ženke *D. marginatus* (dorzalna strana, original).



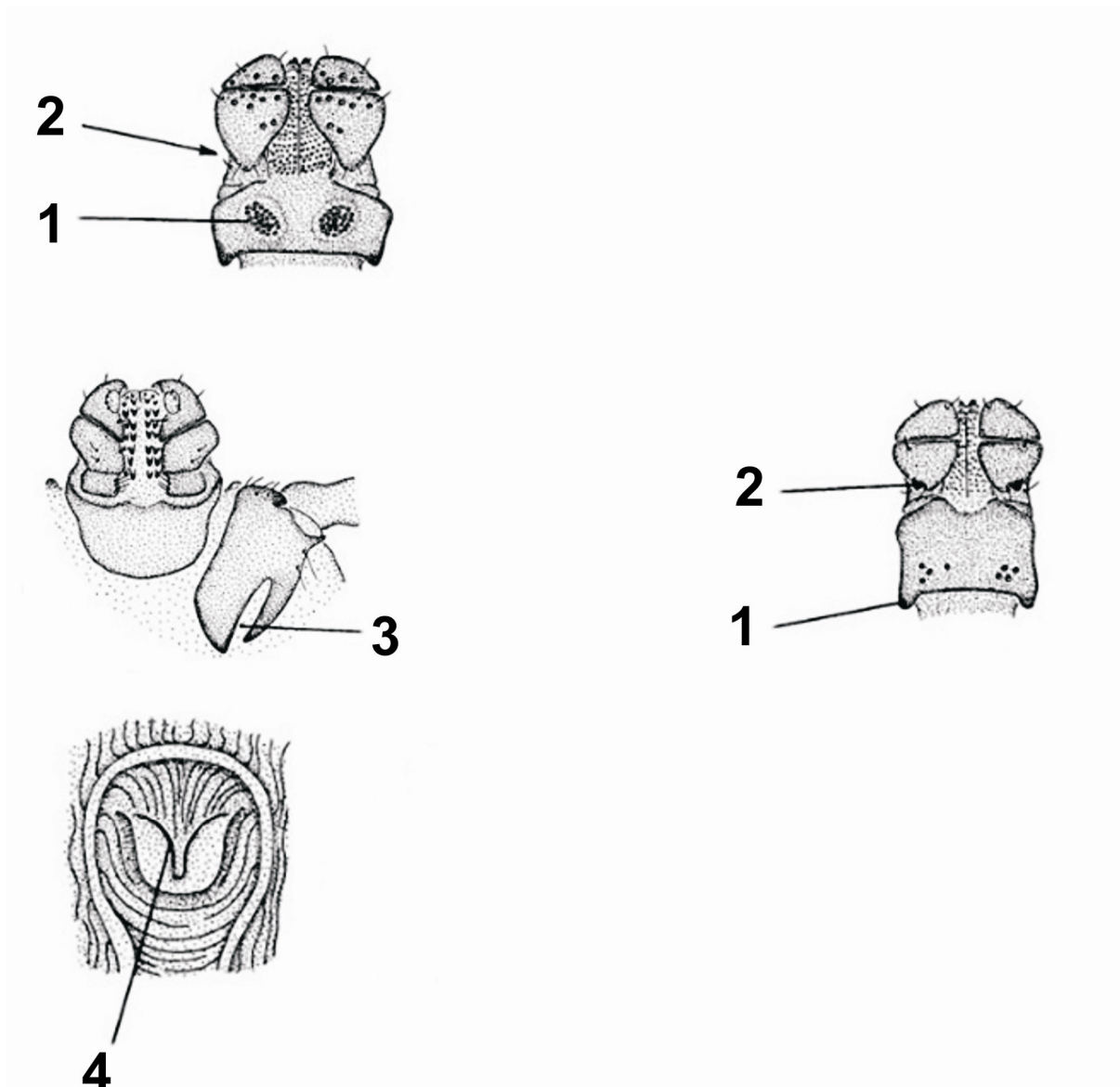
Slika 05. Prikaz ženke *D. marginatus* (dorzalna strana, detalj, original).



Slika 06. Prikaz ženke *D. marginatus* (ventralna strana, original).



Slika 07. Prikaz ženke *D. marginatus* (dorzalna strana, original).



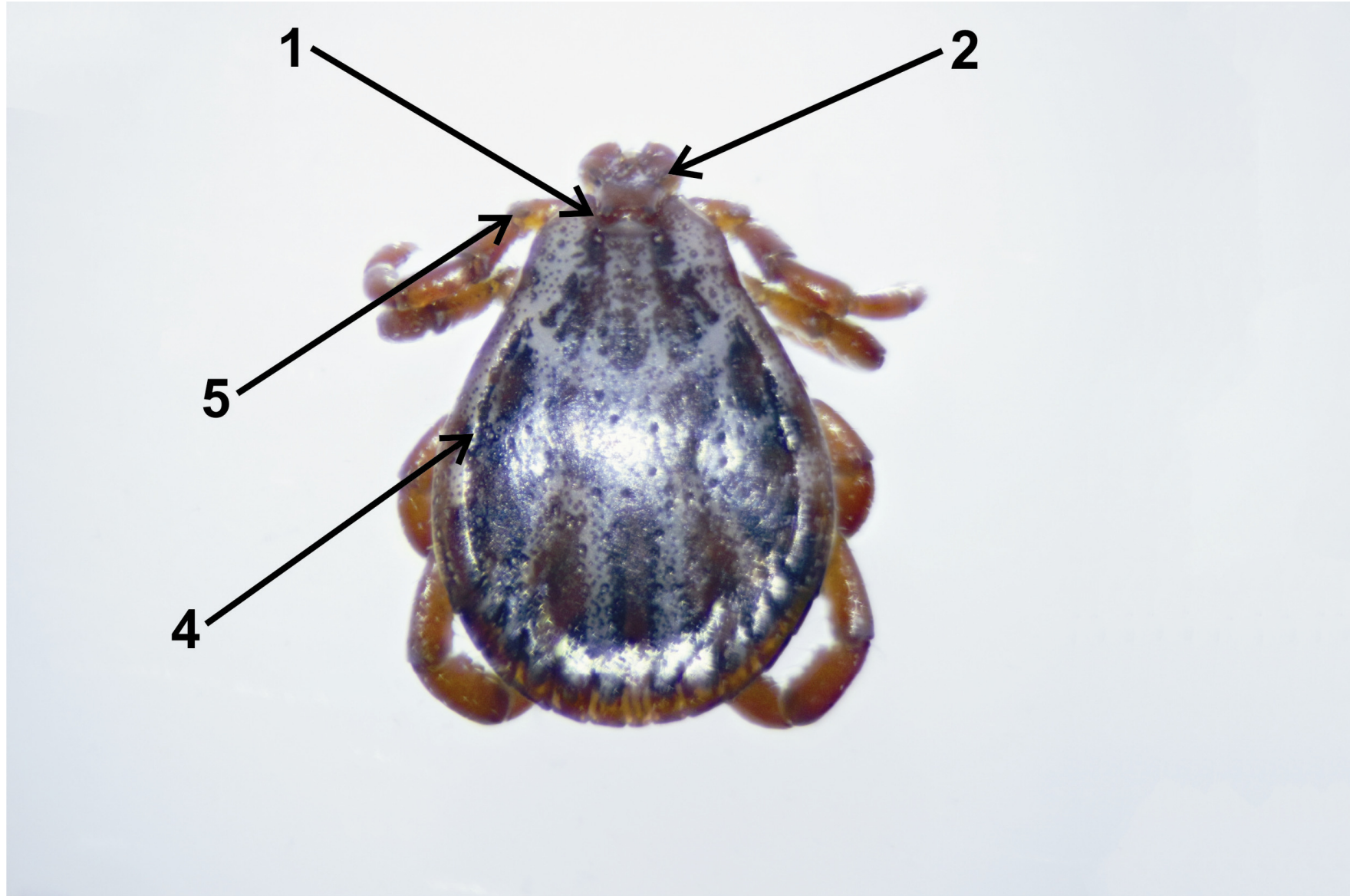
Slika 08. Prikaz detalja ženke *D. marginatus* (lijevo) i mužjaka (desno) (Estrada-Pena i sur., 2004.).

D. marginatus mužjak (Slika 01, Slika 02, Slika 03, Slika 08)

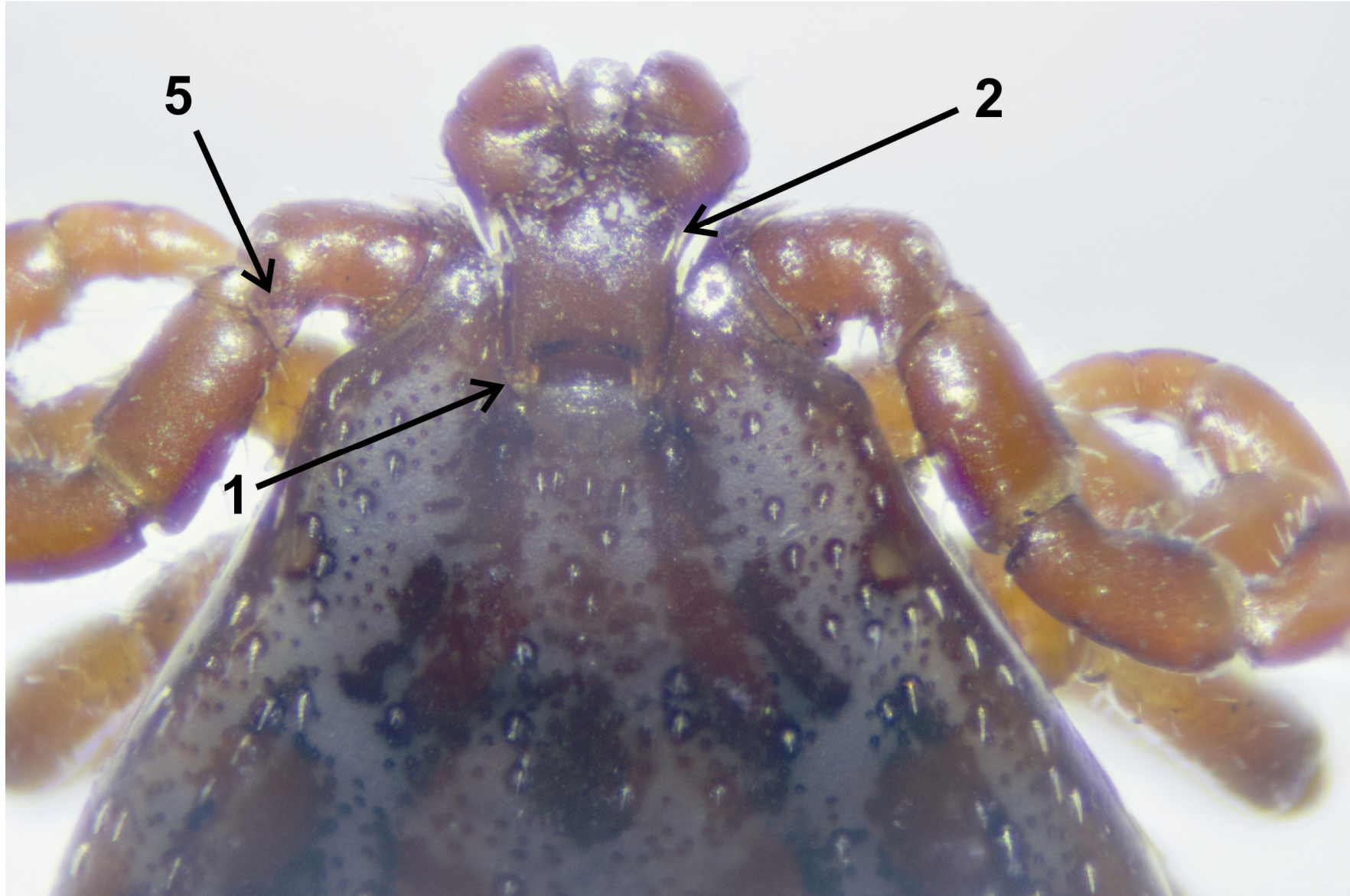
1. Rogovi su kratki.
2. Na dorzalnoj strani drugog članka palpa nalazi se kratak trn.
3. Prazno područje između eksternog i internog trna na koksi I je srednje veličine (eksterni trn je blago kraći nego interni trn. S obzirom da je ova morfološka karakteristika ista za mužjake i ženke, prikazana je samo ventralna strana ženke.
4. Tip lateralnog žlijeba je nejasan (žlijeb je uočljiviji od točkica koje sadrži).
5. Stražnji trn trohantera I je kratak.

D. marginatus ženka (Slika 04, Slika 05, Slika 06, Slika 07, Slika 08)

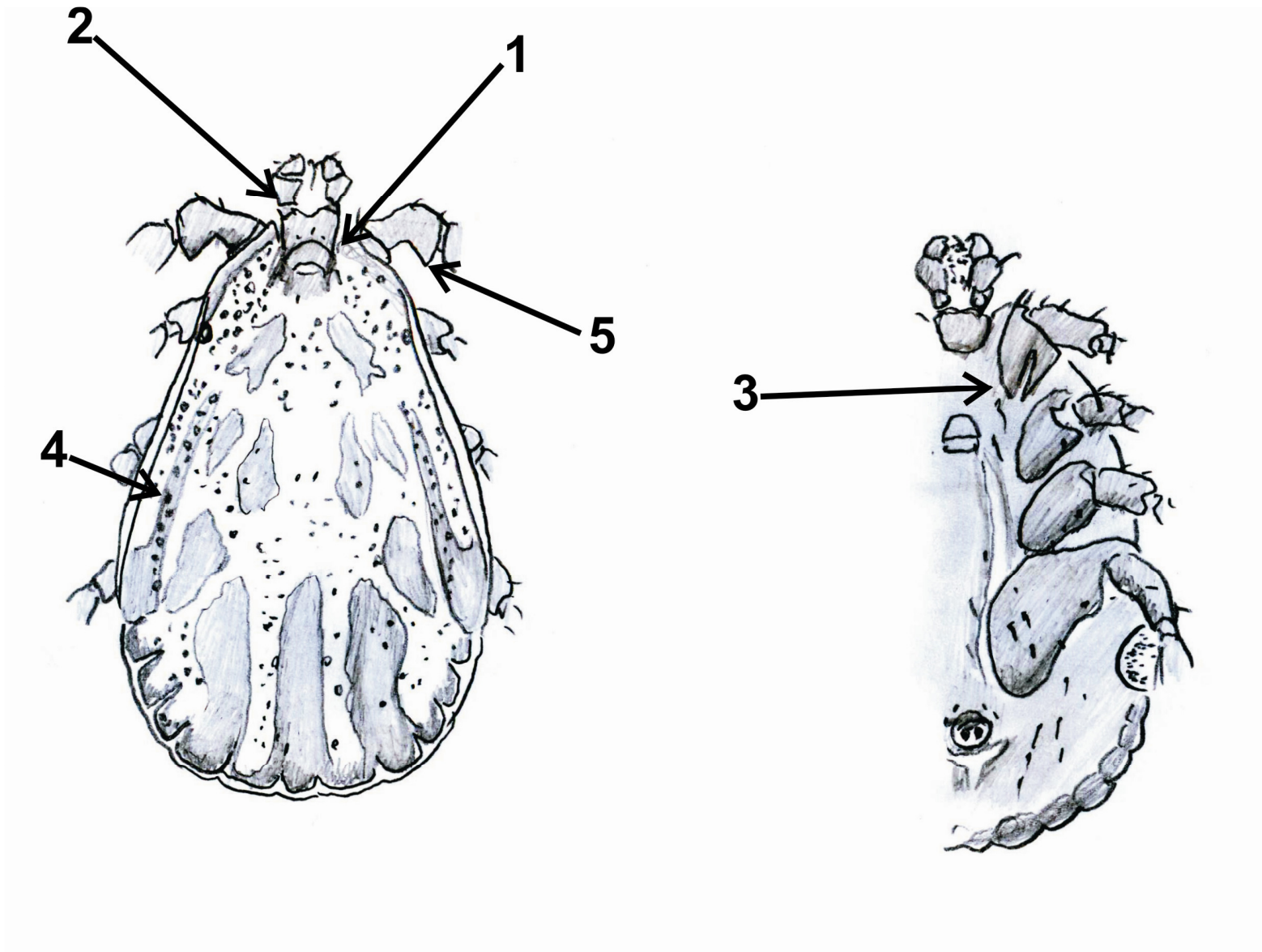
1. Oblik poroznih područja je ovalno uzak i ukoso.
2. Na dorzalnoj strani drugog članka palpa nema trna.
3. Prazno područje između eksternog i internog trna na koksi I je srednje veličine (eksterni trn je blago kraći nego interni trn.
4. Posteriorne usne genitalnog otvora su uskog V - oblika.



Slika 09. Prikaz mužjaka *D. reticulatus* (dorzalna strana, original).



Slika 10. Prikaz mužjaka *D. reticulatus* (dorzalna strana, detalj, original).



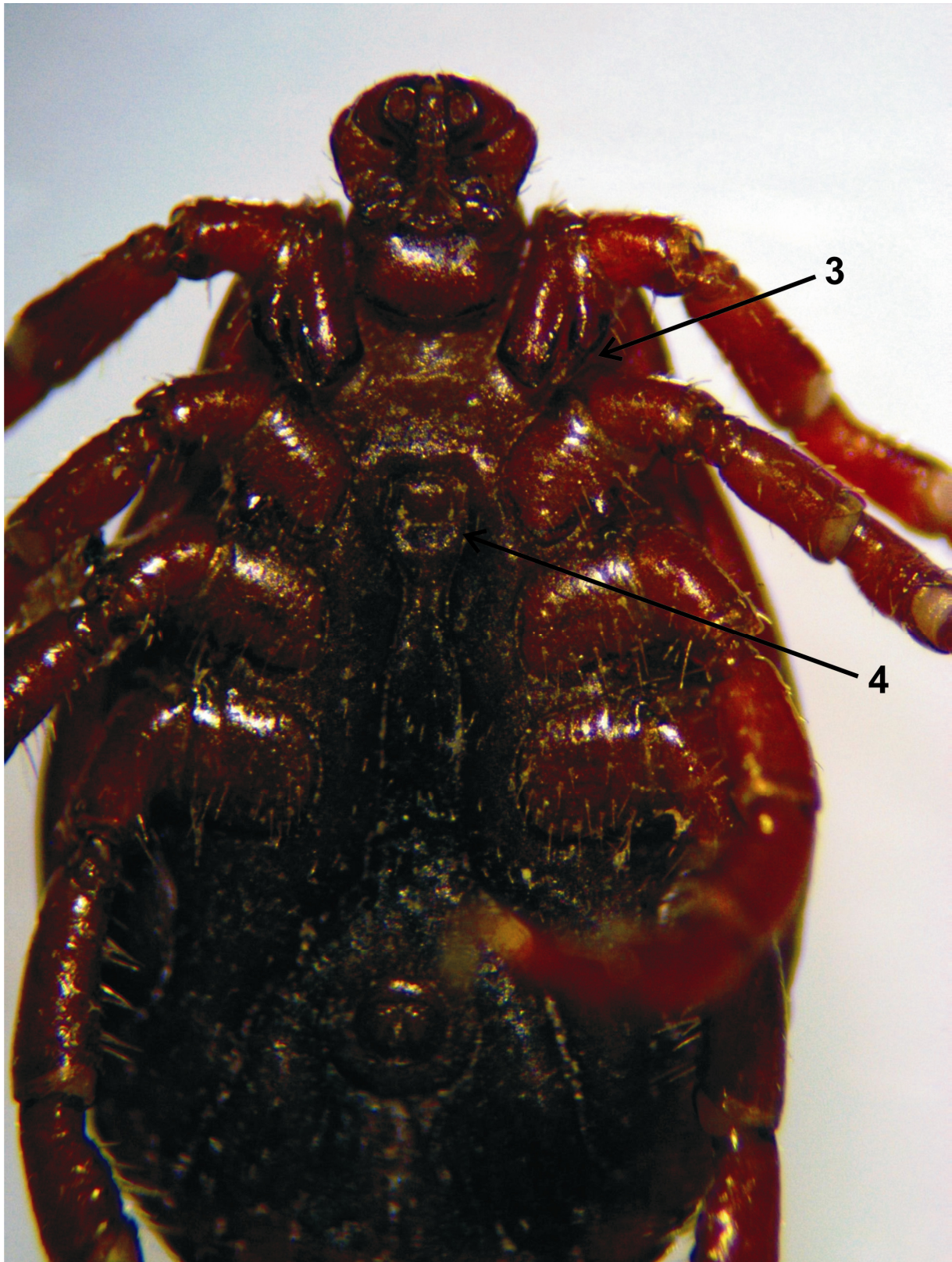
Slika 11. Prikaz mužjaka *D. reticulatus* (dorzalna strana, original).



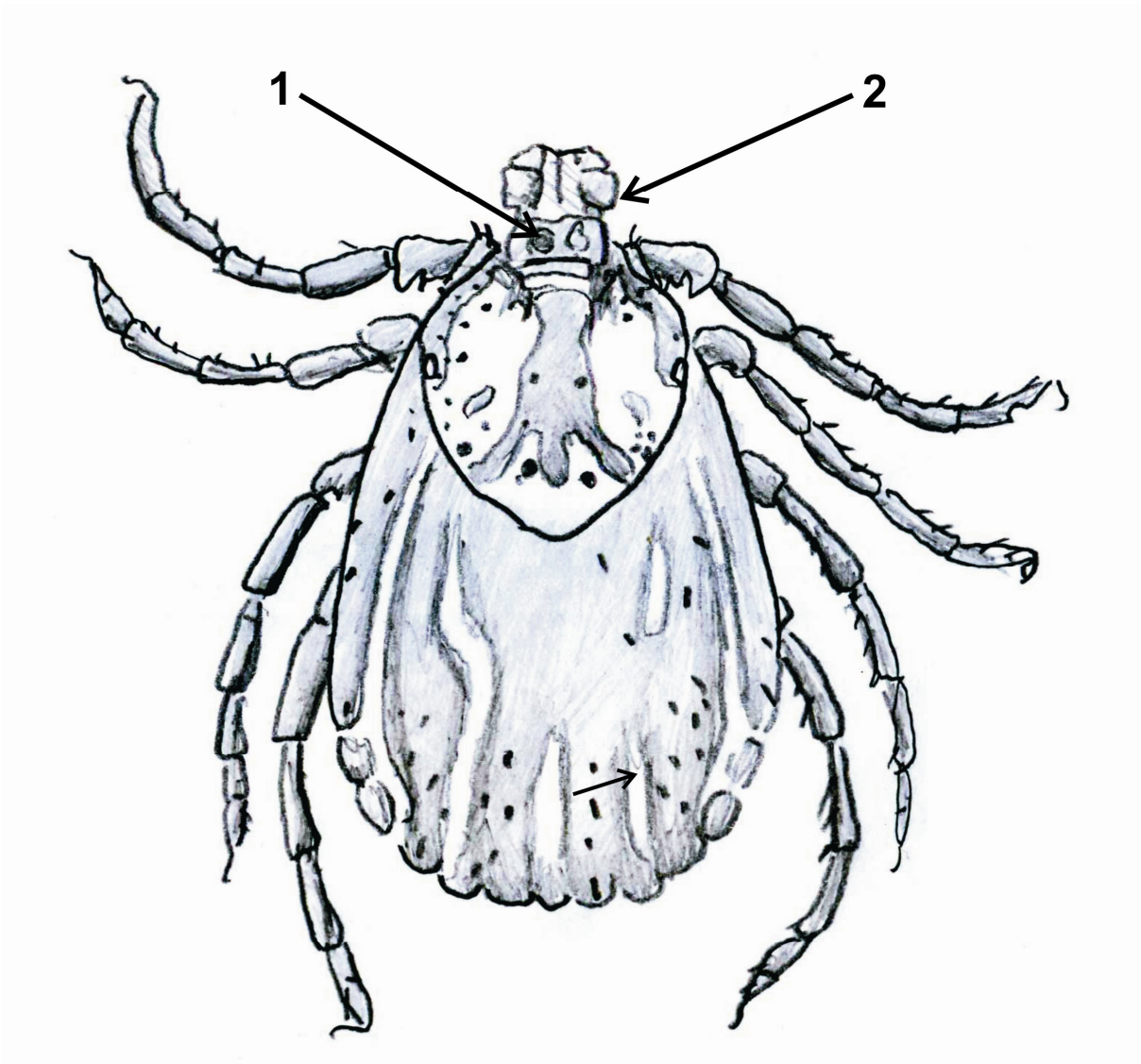
Slika 11. Prikaz ženke *D. reticulatus* (dorzalna strana, original).



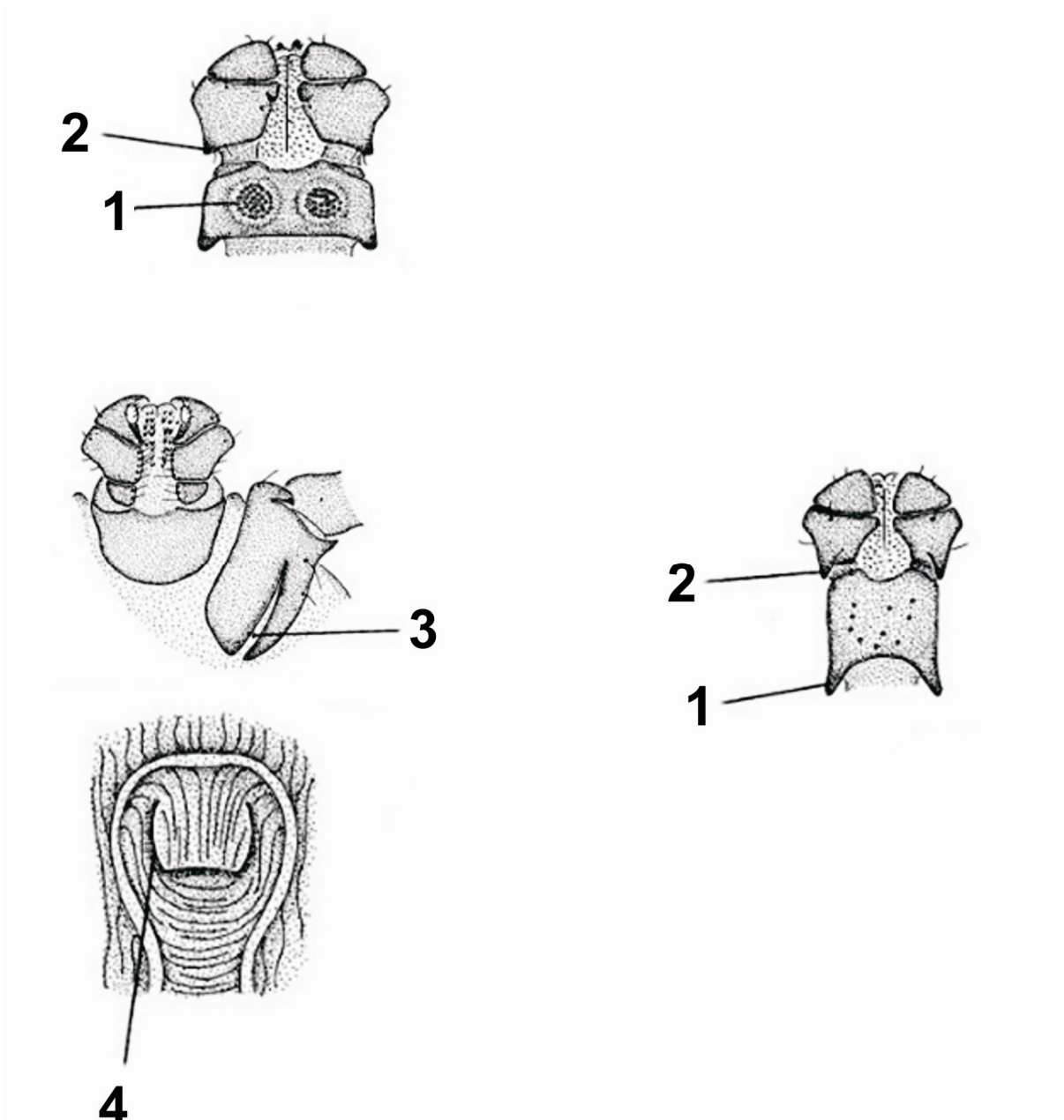
Slika 12. Prikaz ženke *D. reticulatus* (dorzalna strana, detalj, original).



Slika 13. Prikaz ženke *D. reticulatus* (ventralna strana, detalj, original).



Slika 14. Prikaz ženke *D. reticulatus* (dorzalna strana, original).



Slika 15. Prikaz detalja ženke *D. reticulatus* (lijevo) i mužjaka (desno) (Estrada-Pena i sur., 2004.).

D. reticulatus mužjak (Slika 09, Slika 10, Slika 11, Slika 15)

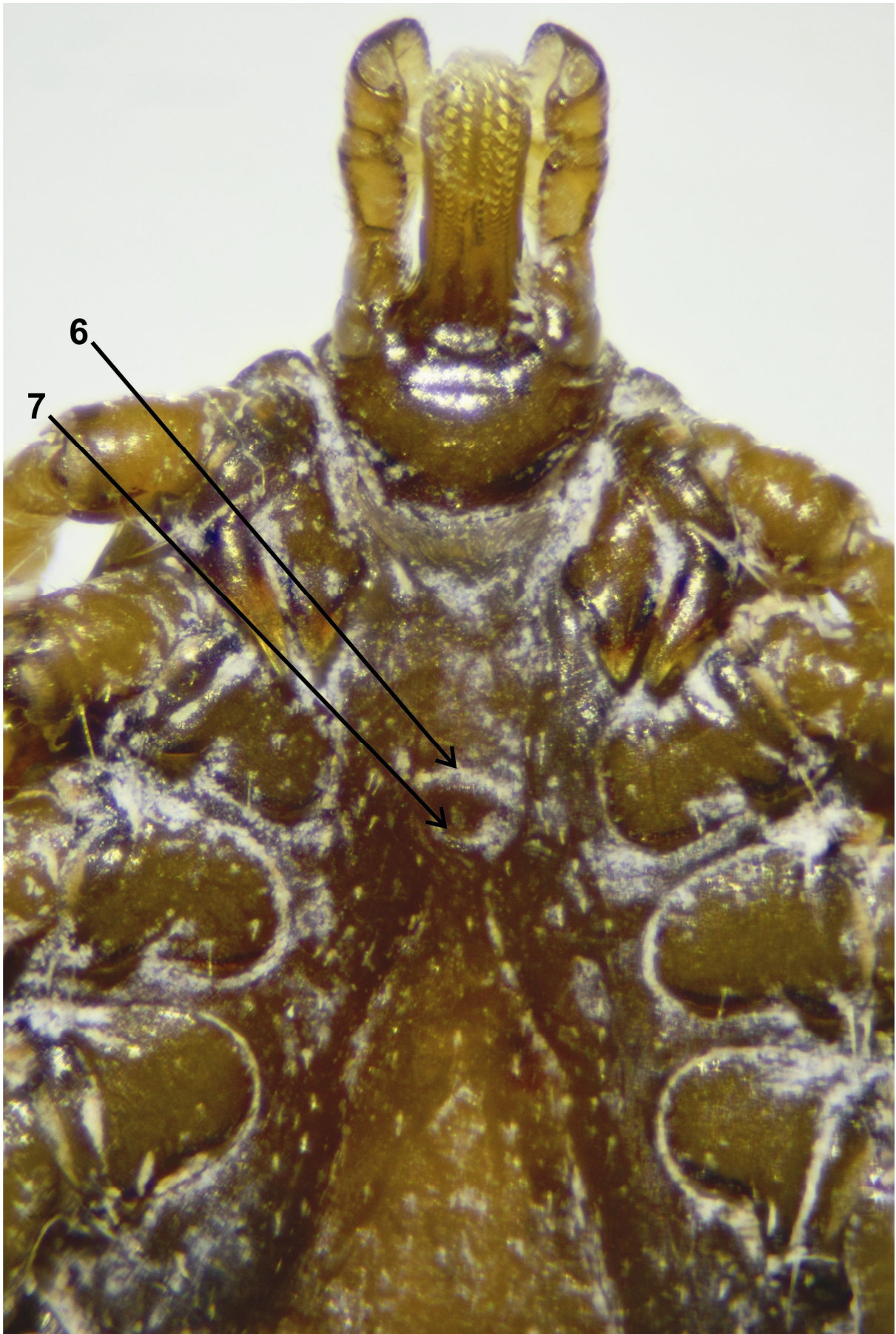
1. rogovi su dugi.
2. na dorzalnoj strani drugog članka nalazi se dugi trn.
3. prazno područje između eksternog i internog trna na koksi I je usko (eksterni trn je iste dužine kao i interni trn. S obzirom da je ova morfološka karakteristika ista za mužjake i ženke, prikazana je samo ventralna strana ženke.
4. tip lateralnog žlijeba je u obliku točkica (žlijeb nije vidljiv).
5. Stražnji trn trohantera I je dug.

D. reticulatus ženka (Slika 12, Slika 13, Slika 14, Slika 15)

1. Oblik poroznih područja je široko ovalan, gotovo okrugao.
2. Na dorzalnoj strani drugog članka palpa prisutan je trn.
3. Prazno područje između eksternog i internog trna na koksi I je usko (eksterni trn je iste dužine kao i interni trn.
4. Posteriorne usne genitalnog otvora su širokog U - oblika (taj oblik je odsječen na stražnjoj strani).

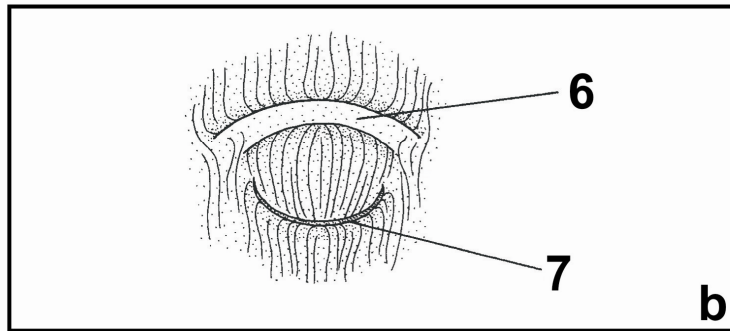
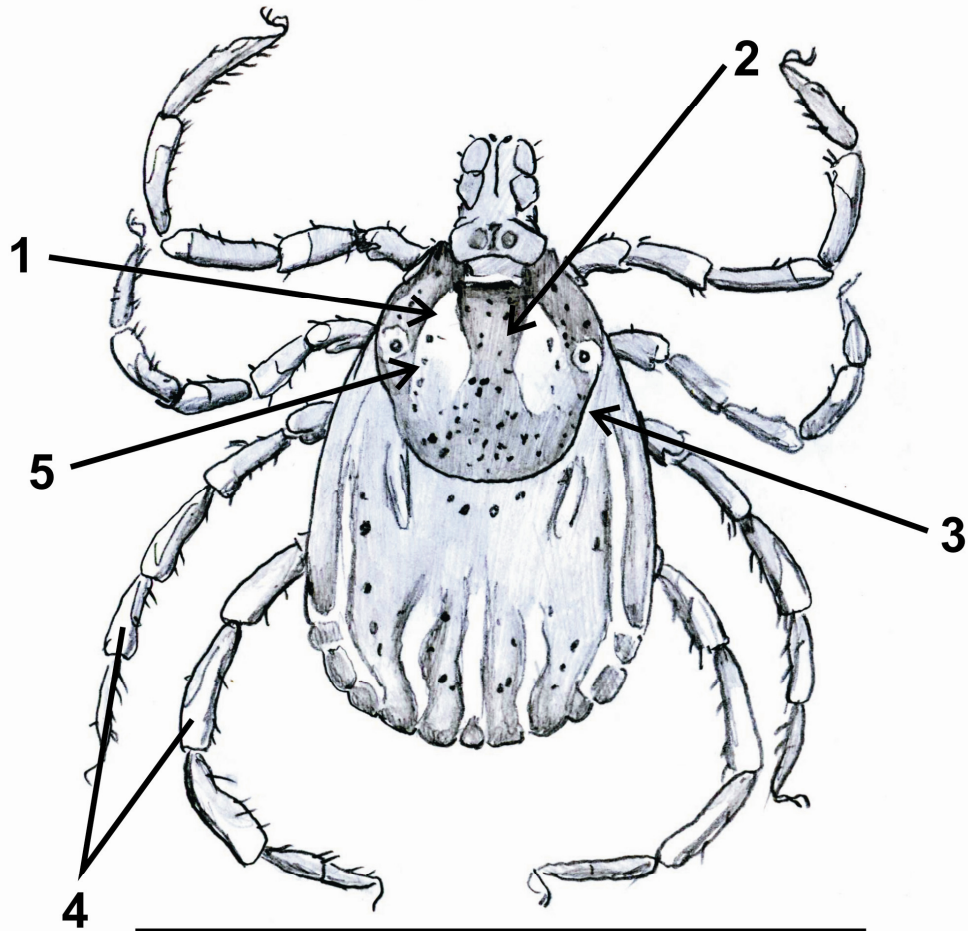


Slika 16. Prikaz ženke *H. m. marginatum* (dorzalna strana, original).

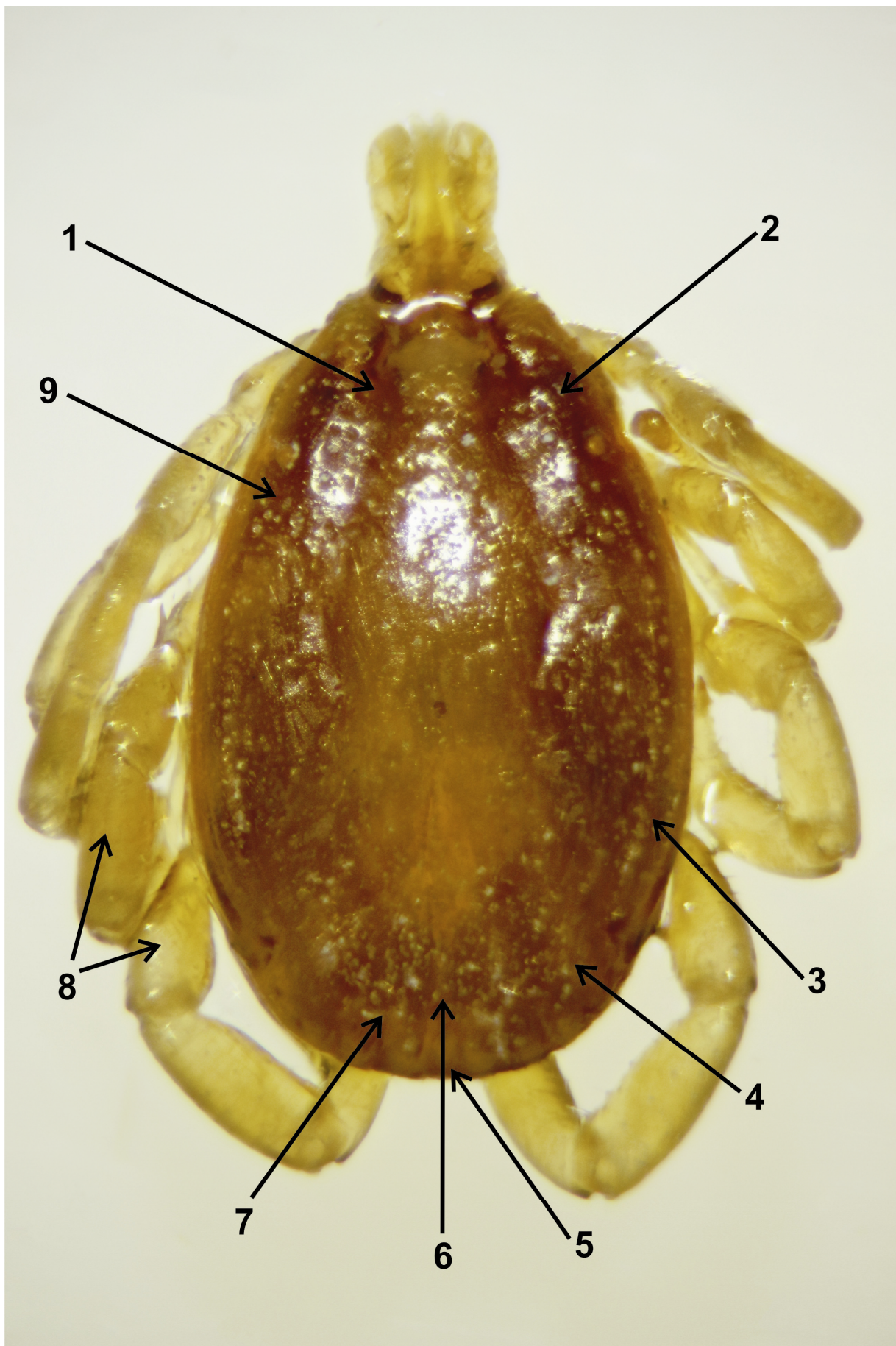


Slika 17. Prikaz ženke *H. m. marginatum* (ventralna strana, detalj, original).

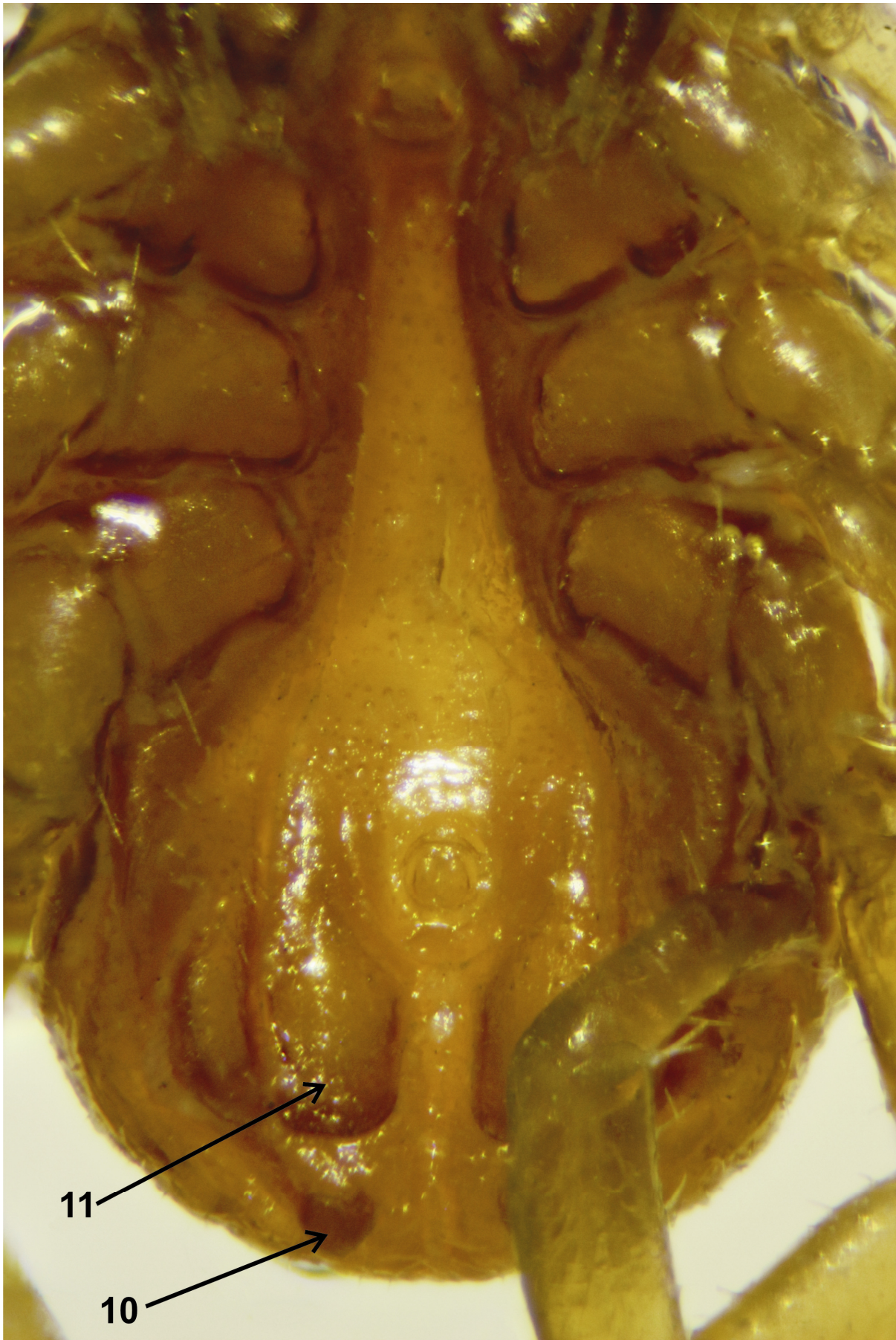
a



Slika 18. Prikaz ženke *H. m. marginatum* (a - dorzalna strana, original; b - ventralna strana, Estrada-Pena i sur., 2004.).

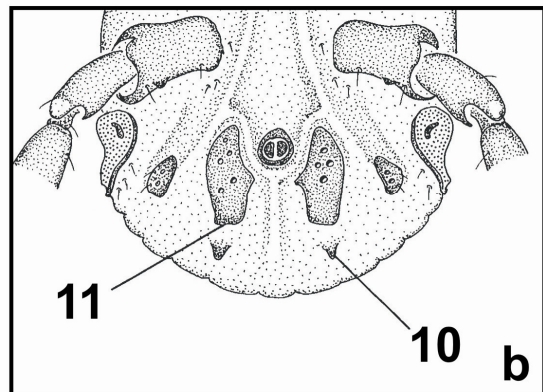
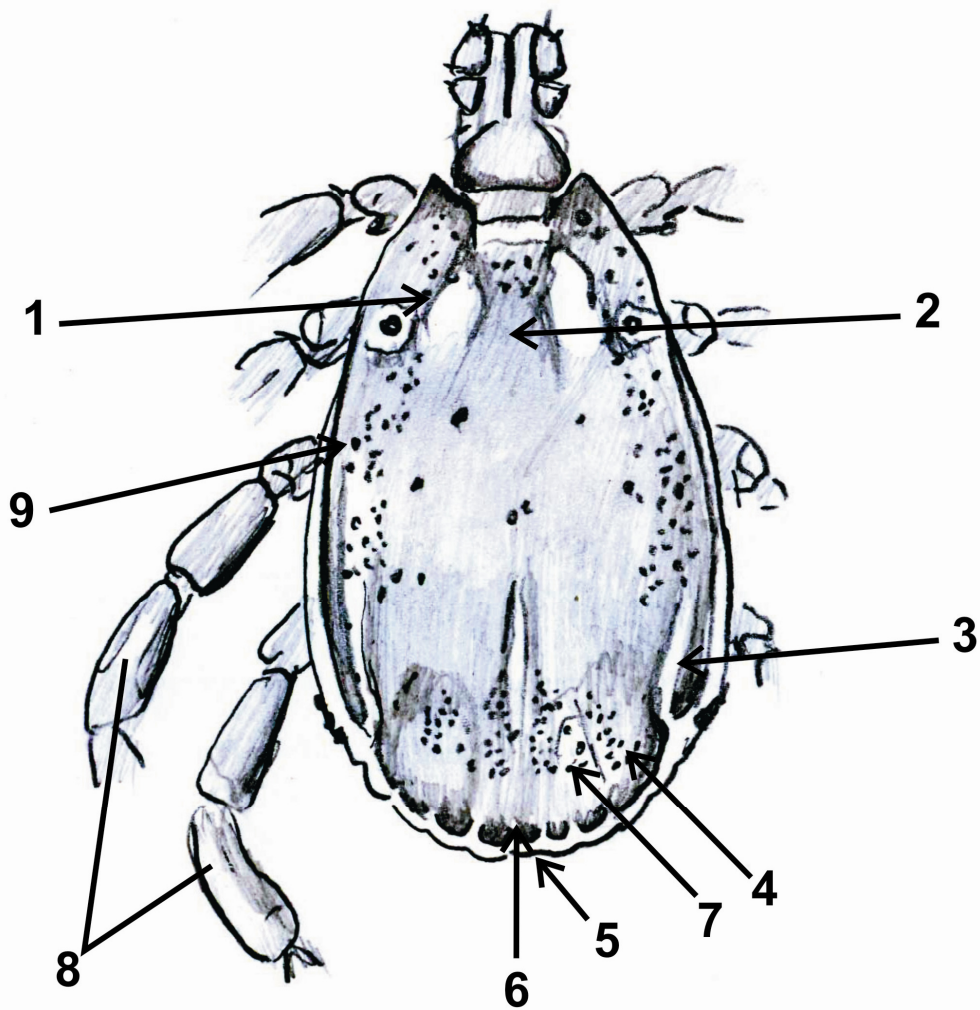


Slika 19. Prikaz mužjaka *H. m. marginatum* (dorzalna strana, original).



Slika 20. Prikaz mužjaka *H. m. marginatum* (ventralna strana, detalj, original).

a



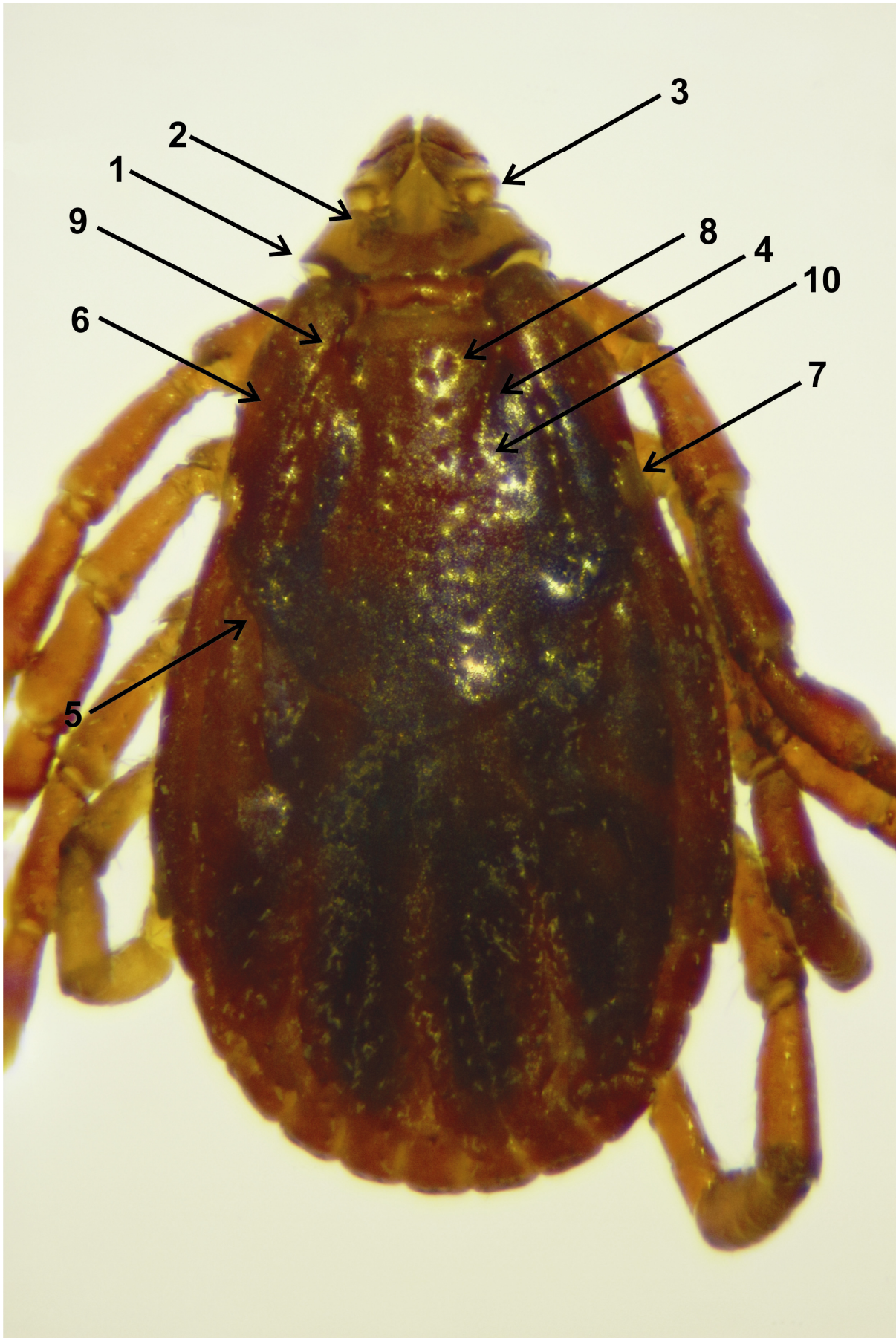
Slika 21. Prikaz mužjaka *H. m. marginatum* (a - dorzalna strana, original; b - ventralna strana, Estrada-Pena i sur., 2004.).

H. m. marginatum ženka (Slika 16, Slika 17, Slika 18)

1. Skapularni žlijeb u profilu je strm (on ne doseže stražnji rub skutuma)
2. Skutum je tamno obojen
3. Stražnji rub skutuma je jasno vijugav.
4. Noge su obojene s blijedim prstenovima (također postoje mrlje blijede boje uzduž dorzalne površine središnjeg članka svih nogu).
5. Točkice su malene i rijetko rasprostranjene.
6. Prednji žlijeb genitalnog otvora je dubok.
7. Posteriorne usne genitalnog otvora su širokog U - oblika

H. m. marginatum mužjak (Slika 19, Slika 20, Slika 21)

1. Udubljenje na vratnim poljima je uočljivo.
2. Konskutum je tamno obojen.
3. Lateralni žlijebovi su dugi (nastavljaju se prema očima kao istočkana linija).
4. Prisutna dva stražnja grebena dva, kaudalna depresija je prisutna (ali plitka).
5. Središnji festun je tamno obojen. Paracentralni festuni su odvojeni anteriorno.
6. Posteromediani žlijeb je prisutan.
7. Paramedijani žlijebovi su mali (svi stražnji žlijebovi su plitki i mogu biti nejasni).
8. Noge su obojene blijedim prstenima (također postoje mrlje blijede boje uzduž dorzalne površine).
9. Malene rijetko rasprostranjene točkice (neke populacije imaju gušće rasprostranjene točkice nego što je to prikazano).
10. Subanalne ploče su u ravnini adanalnih ploča. Adanalne ploče su jasno vidljive.
11. Stražnji kraj adanalnih ploča je četverokutnog oblika.

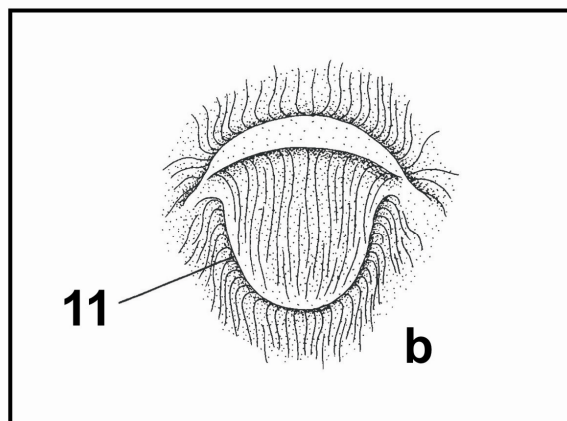
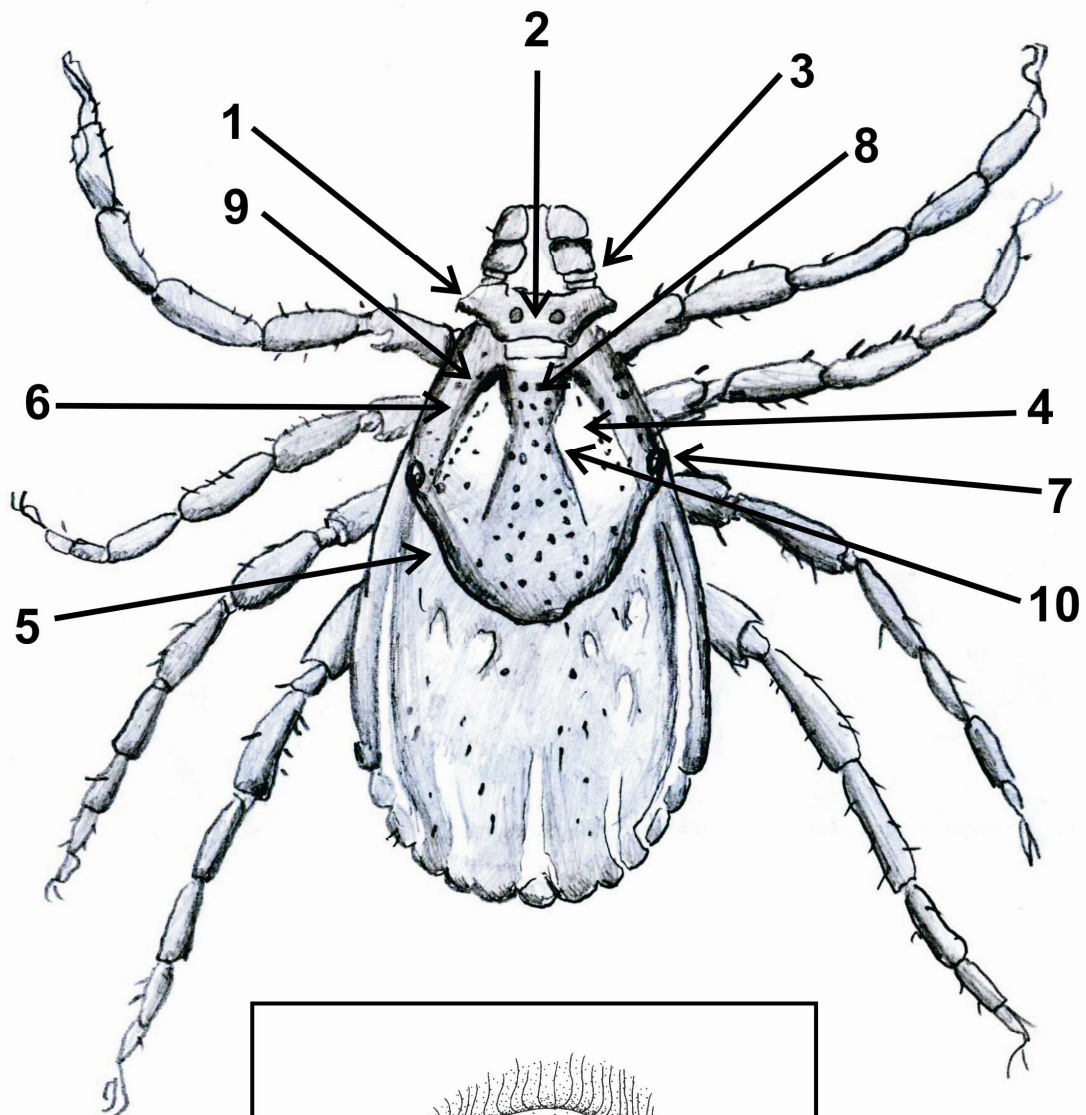


Slika 22. Prikaz ženke *R. sanguineus* (dorzalna strana, original).

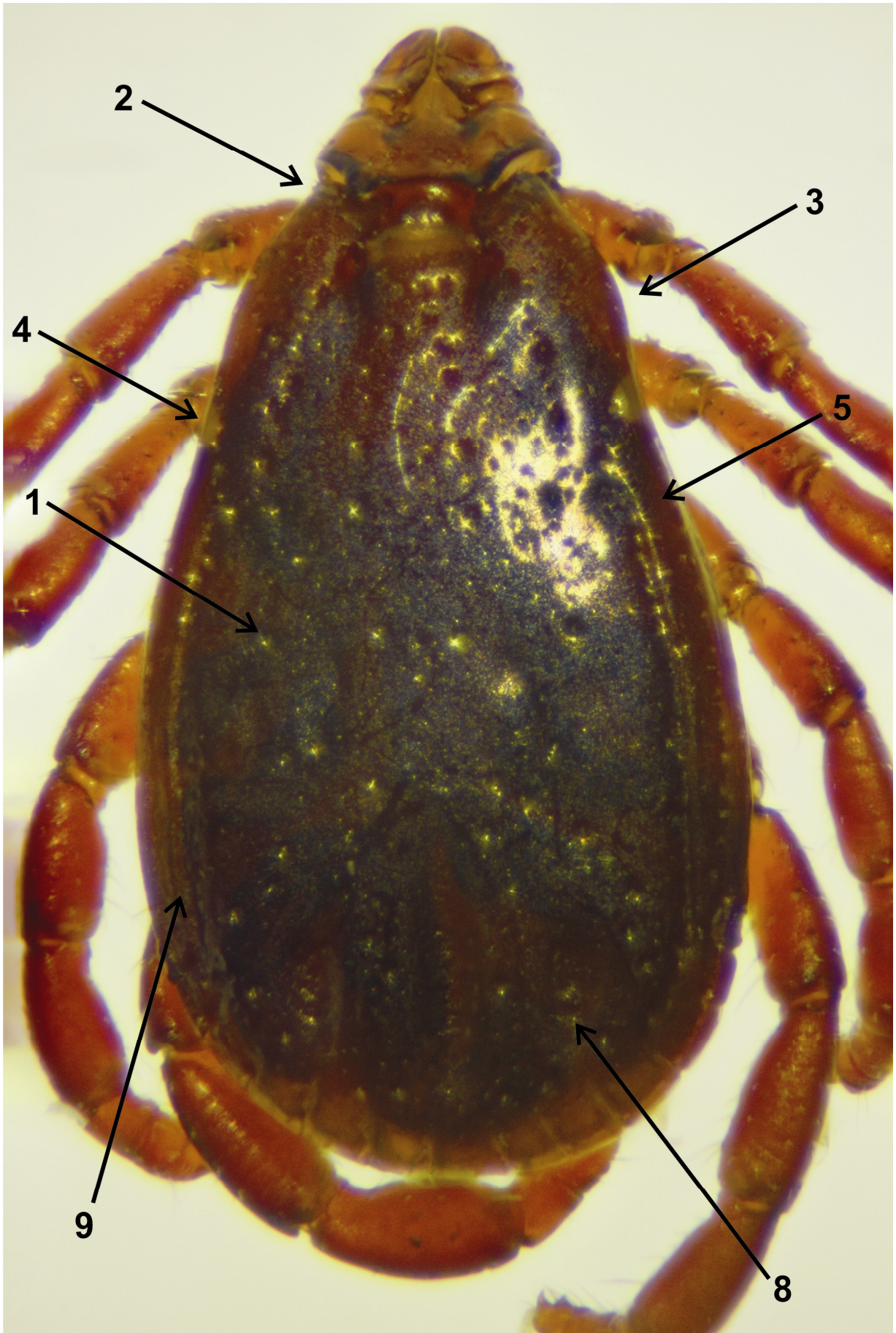


Slika 23. Prikaz ženke *R. sanguineus* (ventralna strana, original).

a



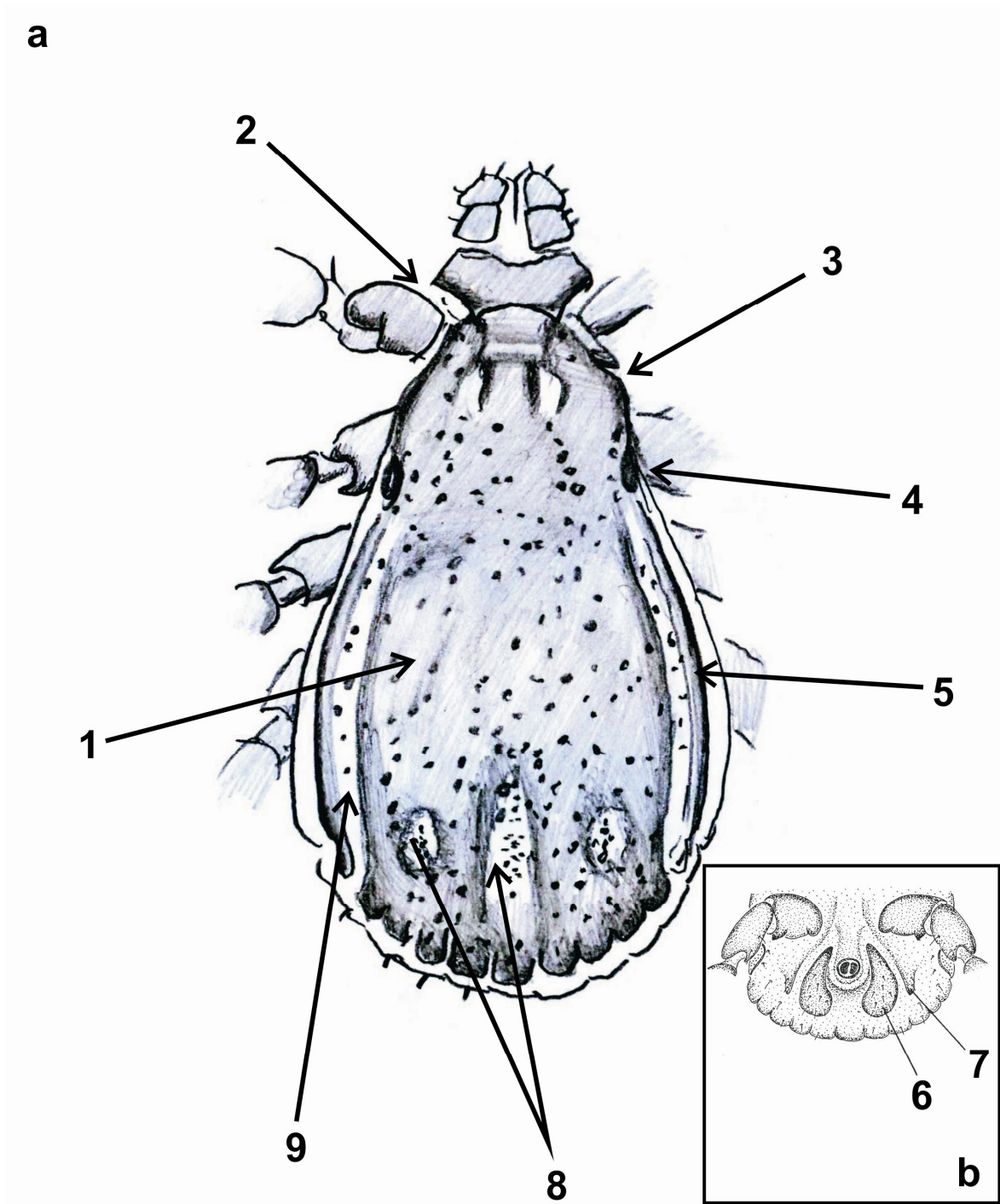
Slika 24. Prikaz ženke *R. sanguineus* (a - dorzalna strana, original, b - ventralna strana, Estrada-Pena i sur., 2004.)



Slika 25. Prikaz mužjaka *R. sanguineus* (dorzalna strana, original).



Slika 26. Prikaz mužjaka *R. sanguineus* (ventralna strana, original).



Slika 27. Prikaz mužjaka *R. sanguineus* (a - dorzalna strana, original, b - ventralna strana, Estrada-Pena i sur., 2004.).

Ženka *R. sanguineus* (Slika 22, Slika 23, Slika 24)

1. Bočni kutevi ovratnika su oštri.
2. Razmak između poroznih područja je širok.
3. Palpi su kratki.
4. Cervikalna područja su velika i ravna.
5. Stražnji rub skutuma je jasno vijugav (s jasnim konkavnim lukom iza očiju).
6. Štit je blijed (u nekih populacija može biti taman).
7. Oči su blago konveksne.
8. Rijetko raspoređene intersticijalne točkice su malene do srednje velike (gustoća tih točkica može biti varijabilna).
9. Profil skapularnih žljebova je strm.
10. Cervikalna polja sadrže naborana područja.
11. Stražnje usne genitalnog otvora su uskog širokog U - oblika (mogu biti i širokog V - 1

Mužjak *R. sanguineus* (Slika 25, Slika 26, Slika 27)

1. Rijetko raspoređene intersticijalne točkice su malene do srednje velike (gustoća tih točkica može biti varijabilna).
2. Prednji trn koksa I nije vidljiv s dorzalne strane.
3. Udubljenja cervikalnih polja nisu uočljiva. Cervikalna polja ne sadrže naborana područja.
4. Oči su blago konveksne (kao što je prikazano na ženki).
5. Konskutum je blijed (može biti taman u nekih populacija).
6. Akcesorne adanalne ploče su velike.
7. Oblik adanalnih ploča je uzak i trapeziodan.
8. Posteriorni žljebovi su jasno izraženi (duboki i naborane strukture).
9. Tip lateralnih žljebova je jasan žlijeb. Struktura lateralnih žljebova je glatka.

5. RASPRAVA

U ovom istraživanju morfološki su prikazani mužjaci i ženke krpelja *D. reticulatus*, *D. marginatus*, *H. m. marginatum* i *R. sanguineus*. Prikazom fotografija i crteža te njihovom međusobnom usporedbom, dobiven je kompletan uvid u morfološke detalje pojedinih vrsta krpelja. Kvaliteta crteža ovisi o sposobnosti primjećivanja morfoloških karakteristika što je često subjektivne naravi i ovisi o talentu osobe (Lewington, 2011.). Za usporedbu se može uzeti u obzir prikaz crteža ženke *R. sanguineus* iz dva različita izvora (Estrada-Peña i sur., 2004.; Babos, 1964.). U konačnici, crtež može biti lošiji ili bolji, tj. prikazivati lošije ili bolje nacrtane primjerke jedinki krpelja. Za razliku od crteža, fotografija prikazuje realan izgled jedinke krpelja (položaj tijela, da li su nasisani ili nenasisani, prirodne boje itd). Međutim, prilikom fotografiranja krpelja može doći do krive refleksije svjetlosti ili preslabog osvjetljenja što može dovesti do zakrivljanja nekih morfoloških osobitosti. Primjerice u ovom istraživanju, na fotografiji ženke *D. reticulatus* sa dorzalne strane (Slika 09), slabije se uočavaju morfološke karakteristike vrste (rogovi ovratnika i palpalni trn) nego kao što je to prikazano na crtežu (Slika 15). Kako bi bile proizvedene fotografije koje prikazuju sve morfološke osobitosti, uz intenzitet i refleksiju svjetlosti, potrebno je jedinke krpelja fotografirati u nekoliko slojeva, u ovisnosti o njihovoj visini. Jednom kvalitetno proizvedene fotografije mogu dati uvid u prirodno stanje morfoloških osobitosti. Naime, može se postići trodimenzionalnost, za razliku od dvodimenzionalnih crteža. U konačnici, i za crtanje i za fotografiranje je potrebna stručnost (Lewington, 2011.).

Nadalje, ako determinaciju vrsta na temelju crteža radi neprofesionalna osoba, često vrste krpelja mogu biti krivo identificirane. Laicima je teško uočiti morfološke osobitosti uspoređujući crtež sa slikom ispod lupe ili mikroskopa. To se jednostavno može kompenzirati korištenjem i fotografija za determinaciju vrsta krpelja (Lewington, 2011.).

Ovim istraživanjem, uz već postojeće literaturne podatke, proizvedene trodimenzionalne fotografije krpelja ponajprije bi trebale olakšati njihovu identifikaciju i omogućiti pravovremenu sumnju te ranu dijagnostiku krpeljima prenosivih bolesti na području Republike Hrvatske u ljudi i životinja.

6. ZAKLJUČCI

1. Na nekim primjercima krpelja se neke morfološke karakteristike ne primjećuju, ili su slabije izražene, za razliku od crteža koji krpelje prikazuju u idealnom položaju i sa svim jasno naglašenim morfološkim karakteristikama.
2. Za razliku od crteža, fotografije prikazuju krpelje u stvarnosti, npr., prikazuju prirodne boje i položaj tijela.
3. Morfološki detalji ponekad mogu ostati nejasni prilikom izrade fotografija. Stoga je potrebno obratiti pozornost na intenzitet i kut refleksije svjetlosti.
4. Jednom producirane, trodimenzionalne fotografije pružaju kvalitetniji uvid u morfološke osobitosti krpelja, te omogućuju lakšu identifikaciju vrsta.

7. LITERATURA

- Babić, I. (1934.): Parazitička acarina i insecta ustanovljena kod domaćih životinja u Jugoslaviji. Vet. Arhiv 4., 190.-195.
- Babos, S (1964.): Die Zeckenfauna des Mitteleuropas. Akademiai Kiado, Budapest, 410 s.
- Bowman, A., P. Nuttall (2008): Ticks: Biology, Disease and Control. Cambridge University Press, 518 s.
- Cupp, E. W. (1991): Biology of Ticks. Vet Clin North Am Small Anim Pract. 21., 1.-26.
- Dhooira, M. S. (2008.): Ane's Encyclopedic Dictionary of General & Applied Entomology, Springer Netherlands, 320 s.
- Dobec, M., D. Golubić, V. Punda-Polić, F. Kaeppli, M. Sievers (2009.): *Rickettsia helvetica* in *Dermacentor reticulatus* ticks. Emerg. Inf. Dis. 15., 98.-100.
- Eckert, J., K. T. Friedhoff, H. Zahner, P. Deplazes (2008.): Lehrbuch der Parasitologie für die Tiermedizin. Enke Verlag Stuttgart, 2. Aufl., 632 s.
- Estrada-Peña, A., A. Bouattour, J. L. Camicas, A. R. Walker (2004.): Ticks of domestic animals in the Mediterranean Region: A guide to identification of species. 131 s.
- Estrada-Pena, A., A. J. Mangold, S. Nava, J. M. Venzal, M. Labruna, A. A. Guglielmone (2010.): A review of the systematics of the tick family Argasidae (Ixodida). Acarologia 50, 317-333.
- Guglielmone, A. A., R. G. Robbins, D. A. Apanaskevich, T. N. Petney, A. Estrada-Peña, I. G. Horak (2014.): The Hard Ticks of the World. Springer Science+Business Media Dordrecht, Springer Netherlands. 738 s.

Jongejan, F., G. Uilenberg (2004.): The global importance of ticks. *Parasitology* 129., 3.-14.

Krčmar, S. (2012.): Hard ticks (Acari, Ixodidae) of Croatia. *ZooKeys*. 234., 19.–57.

Lewington, R. (2011): Artwork versus photography. *Atropos* 43, 1.-11.

Mehlhorn, H. (2016.): *Encyclopedia of Parasitology*. 4th ed., Springer Verlag, Berlin Heidelberg, 3084 s.

Mikačić, D. (1961.): The ticks of the littoral zone in Yugoslavia. I. The morphology of the species from the genus *Hyalomma*. *Vet. arhiv* 31., 305.–310.

Mikačić, D. (1963.): The ticks of the littoral zone of Yugoslavia. II. The genus *Haemaphysalis* with reference to the distinction between *H. punctata* and *H. chlodkovskyi*. *Vet. arhiv* 33., 133.–136.

Mikačić, D. (1965.): Ticks in the littoral belt of Yugoslavia III. Distribution and dynamics of species in the course of the year. *Vet. arhiv* 35., 155.–170.

Mulić, R., B. Petković, Z. Klišmanić-Nuber, I. Jerončić (2011): Bolesti koje se prenose krpeljima na području Hrvatske. *Lijec. vjesn.* 133., 89.-95.

Oswald, B. (1940): Determination of Yugoslavian (Balkan) Ticks (Ixodoidea). *Vet. arhiv* 10., 297.–304.

Oswald, B. (1941.): Additional notes on the morphology and classification of ticks of the genera *Dermacentor* and *Haemaphysalis*. *Vet. arhiv* 11., 201.–205.

Punda-Polić, V., M. Petrovec, T. Trilar, D. Duh, N. Bradarić, Z. Klišmanić, T. Avšič-Županc (2002): Detection and identification of spotted fever group rickettsiae in ticks collected in southern Croatia. *Exp. Appl. Acarol.* 28., 169.-176.

Rubel, F., K. Brugger, M. Pfeffer, L. Chitimia-Dobler, Y. M. Didyk, S. Leverenz, H. Dautel, O. Kahl (2016.): Geographical distribution of *Dermacentor marginatus* and *Dermacentor reticulatus* in Europe. *Ticks Tick Borne Dis.* 7. 224.-233.

8. SAŽETAK

Krpelji šikare su obligatni, hematofagni ektoparaziti koji prenose uzročnike bolesti na ljude i životinje (viruse, bakterije, protozoe i oblice) te mogu sadržajem svoje slinje direktno uzrokovati ozbiljne toksikoze, paralize, iritacije i alergijske reakcije. S obzirom da su samo određene vrste krpelja vektori određenih uzročnika bolesti na području Republike Hrvatske i na složenost morfološke determinacije, cilj ovog istraživanja je bio prikazati morfološke karakteristike samo nekih vrsta krpelja. Prikazane su vrste *Dermacentor reticulatus*, *D. marginatus*, *Hyalomma marginatum* i *Rhipicephalus sanguineus*. Krpelji su determinirani pomoću produciranih vlastitih crteža i vlastitih fotografija. Usporedbom ova dva pristupa, determinacija vrsta krpelja je najjednostavnije provedena koristeći kombinaciju crteža i fotografija s time da jednom proizvedena adekvatna fotografija može olakšati determinaciju krpelja čak i laicima.

9. SUMMARY

MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF IXODID TICKS FROM GENERA *DERMACENTOR*, *HYALOMMA* AND *RHIPICEPHALUS* IMPORTANT CAUSATIVE AGENTS VECTORS IN CROATIA

Hard ticks are obligate haematophagous ectoparasites which transmit causative agents to humans and animals (viruses, bacteria, protozoa and helminthes) and can directly with its saliva contents cause severe toxicosis, irritation and allergy. According to the fact that only some hard tick species are vectors of some causative agents in Croatia, and the complexity of morphological determination, aim of this study was to describe morphological characteristics of only some tick species. *Dermacentor reticulatus*, *D. marginatus*, *Hyalomma marginatum* and *Rhipicephalus sanguineus* were presented. Ticks were determined with the help of custom made drawings and photographs. By comparing these two approaches, determination of tick species was simplest conducted using combination of drawings and photographs. In fact, when once produced, good photography can ease the tick species determination even for the inexperienced persons.

10. ŽIVOTOPIS

Tea Kvesić, rođena sam 18.05.1988. u Mostaru, Bosna i Hercegovina. Obrazovanje: pohađala sam osnovnu školu “Druga osnovna škola Široki Brijeg” te “Glazbenu školu Široki Brijeg” nakon koje sam upisala opću gimnaziju “fra Dominika Mandića”. Poznavanje jezika: engleski jezik, govor, čitanje, pisanje, te njemački jezik, čitanje. Ostale vještine: rad na računalu, Word, Excel, Internet te vozačka dozvola kategorija B. 2007. godine upisujem Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.