

# GENSKA TIPIZACIJA KRPELJA I PATOGENA PRENOSIVIH KRPELJIMA NA PODRUČJU REPUBLIKE HRVATSKE

---

**Jurković, Daria**

**Doctoral thesis / Disertacija**

**2021**

*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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:178:482342>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-24**



*Repository / Repozitorij:*

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





Sveučilište u Zagrebu  
VETERINARSKI FAKULTET

Daria Jurković

**GENSKA TIPIZACIJA KRPELJA I  
PATOGENA PRENOSIVIH KRPELJIMA  
NA PODRUČJU REPUBLIKE HRVATSKE**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2021.



University of Zagreb

FACULTY OF VETERINARY MEDICINE

Daria Jurković

**GENOTYPING OF TICKS AND TICK  
BORNE PATHOGENS ON THE  
TERRITORY OF THE REPUBLIC OF  
CROATA**

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2021



Sveučilište u Zagrebu

VETERINARSKI FAKULTET

Daria Jurković

**GENSKA TIPIZACIJA KRPELJA I  
PATOGENA PRENOSIVIH KRPELJIMA  
NA PODRUČJU REPUBLIKE HRVATSKE**

DOKTORSKI RAD

Mentori:

dr.sc. Relja Beck

prof. dr. sc. Tatjana Živičnjak

Zagreb, 2021.



University of Zagreb

FACULTY OF VETERINARY MEDICINE

Daria Jurković

**GENOTYPING OF TICKS AND TICK  
BORNE PATHOGENS ON THE  
TERRITORY OF THE REPUBLIC OF  
CROATA**

DOCTORAL THESIS

Supervisors:

Relja Beck, PhD

Full Professor Tatjana Živičnjak, PhD

Zagreb, 2021

## **ZAHVALA**

Zahvaljujem mentorima dr. sc. Relji Becku i prof. dr. sc. Tatjani Živičnjak na mentorstvu i znanstvenoj stručnoj pomoći, te savjetima tijekom izrade doktorskog rada.

Posebno zahvaljujem dr. sc. Relji Becku, svom šefu i voditelju Laboratorija za parazitologiju, Hrvatskog veterinarskog instituta u Zagrebu na savjetima, nesebičnoj pomoći, podršci i velikom razumijevanju u svim fazama izrade doktorskog rada.

Veliko hvala mojim kolegama i suradnicima u Laboratoriju za parazitologiju, dr. sc. Sanji Bosnić, dr. med. vet. i tehničkim suradnicima Kristini Skrbin, Mariji Cvetnić i Mariu Vinkešlu na podršci, razumijevanju i susretljivosti.

Najveća zahvala mojoj obitelji, koji su uvijek uz mene.

## SAŽETAK

### GENSKA TIPIZACIJA KRPELJA I PATOGENA PRENOSIVIH KRPELJIMA NA PODRUČJU REPUBLIKE HRVATSKE

Krpelji se nakon komaraca smatraju najvažnijim biološkim vektorima uzročnika bolesti u svijetu. Dosadašnja podjela se temeljila na identifikaciji vrsta temeljem specifičnih morfoloških obilježja. Učestalija primjena molekularnih metoda dovela je do promjena u sistematizaciji, ali i do dokaza novih patogena u krpeljima, životinjama i ljudima.

Kako bi se utvrdio značaj, vektorski potencijal i raznolikost krpelja na području RH istraživanje je provedeno na 509 arhivskih prethodno morfološki determiniranih krpelja. Krpelji su pojedinačno analizirani sekvenciranjem odsječka *16S rRNA* gena. U svakog pojedinačnog krpelja istražena je prisutnost patogena iz rodova *Babesia*, *Theileria*, *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Hepatozoon*, *Mycoplasma*, *Borrelia*, *Rickettsia*, *Francisella* i *Coxiella*, te je provedeno mapiranje krpelja i dokazanih patogena.

Sekvenciranjem je dokazano šest vrsta krpelja iz roda *Ixodes*: *I. gibbosus*, *I. canisuga*, *I. kaiseri*, *I. ventalloi*, *I. hexagonus* i *I. ricinus*. Unutar vrsta *I. hexagonus* i *I. ricinus* su dokazana tri i 24 različita genotipa. Rod *Dermacentor* je bio zastupljen sa dvije vrste, *D. marginatus* i *D. reticulatus*. Unutar roda *Rhipicephalus* dokazana je vrsta *R. bursa* i skupina *R. sanguineus* sensu lato (s.l.), sa četiri različita genotipa. Tri skupine sekvenci tri genotipa su bile slične sekvencama *R. turanicus*, a četvrta *R. sanguineus* sensu stricto (s.s.). *Hyalomma marginatum* je bila jedina vrsta roda *Hyalomma*, dok su unutar roda *Haemaphysalis* dokazane: *H. parva*, *H. inermis* i *H. concinna*.

Vrste iz rodova *Babesia* i *Theileria* su dokazane u 6,3% i 6,1% krpelja. Rod *Babesia* je bio zastupljen s osam skupina sekvenci koje su odgovarale *B. canis*, *B. vulpes*, *B. microti*, *B. venatorum*, *Babesia* sp. „Badger type A” i „Badger type B”, *B. ovis*, *Babesia* cf. *crassa* i *Babesia* sp. „tavsan”. Unutar roda *Theileria* dokazane su četiri vrste: *T. ovis*, *T. orientalis* (buffeli/sergenti), *T. equi* i *T. capreoli*. U 18% krpelja su dokazane proteobakterije iz porodice Anaplasmataceae: *Anaplasma capra*, *A. phagocytophilum*, *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia* sp., „*Candidatus* *Neoehrlichia lotoris*” i endosimbionti *Wolbachia* sp. i *Mitochondria mitochondrii*. *Anaplasma capra* je dokazana u *R. bursa*, te

*R.turanicus* 2 i *R. turanicus* 3, a *E. canis* u *R. bursa*. Tri vrste iz roda *Hepatozoon* su sekvenciranjem dokazane u 6,1% krpelja: *H. canis*, *H. felis* i *Hepatozoon* „Badger type“. Pet vrsta iz roda *Rickettsia*, *R. slovaca*, *R. raoultii*, *R. aeschlimannii*, *R. massiliae* i *R. monacensis* su dokazane u 11,7% krpelja. U *R. turanicus* 3 s Pelješca dokazana je *Francisella tularensis* subsp. holartica, dok je endosimbiont „*Francisella*-sličan“ dokazan u 1,5% *D.reticulatus* i *D. marginatus*. Na području kontinentalne Hrvatske u genotipovima *I. ricinus* su dokazane *Borrelia afzelii* i *B. valaisiana* u 1,9% i 0,8% krpelja. Istraživanjem nisu dokazane bakterije iz roda *Mycoplasma* i vrsta *Coxiella burnetii*. Ovo istraživanje predstavlja prvo opsežno istraživanje krpelja i patogena u krpeljima u Hrvatskoj.

**Ključne riječi:** krpelji, patogeni, *16S rRNA*, PCR, sekvenciranje, mapiranje, Hrvatska



## **ABSTRACT**

University of Zagreb

Faculty of Veterinary medicine

Doctoral thesis

## **GENOTYPING OF TICKS AND TICK BORNE PATHOGENS ON THE TERRITORY OF THE REPUBLIC OF CROATA**

Jurković, D.

Croatian Veterinary Institute

10 000 Zagreb, Savska 143

Ticks are obligate hematophagous ectoparasites of mammals, birds, amphibians and reptiles, and currently are after mosquitoes considered as most important biological vectors of pathogens in the world. Overall 920 species of ticks have been described so far, classified within three families (Ixodidae, Argasidae and Nuttalliellidae), among which Ixodidae (hard ticks) represents the most important family. About 10% of known tick species can transmit various pathogens such as viruses, rickettsiae, bacteria and parasites. With development of molecular methods, a new species, strains or genetic variants of pathogens/microorganisms, are being detected in ticks worldwide, and the spectrum of potential tick transmitted pathogens affecting domestic animals and humans that can cause disease important not only in veterinary medicine but also within public health aspects, continues to increase.

Current classification of ticks was based on species identification according to morphological features, but frequent use of molecular methods has led to changes in systematization. For example, sequence analysis of *12S rRNA* gene, classified the genus *Boophilus* in the genus *Rhipicephalus*, while analysis of *12S rRNA*, *16S rRNA* and *COX1* showed that *Rhipicephalus sanguineus* is considered a complex group (sensu lato) and includes at least 17 related species.

So far in Croatia, studies based on morphological determination of ticks have described 21 tick species grouped within five genera, while molecular studies are scarce. The first genetic study on ticks within *R. sanguineus* complex showed presence of two genetic lines *Rhipicephalus* sp. phylogenetically classified in group II with subgroups *Rhipicephalus* sp. IIa and *Rhipicephalus* sp. IIb. Within the genus *Ixodes*, two species of ticks, *I. canisuga* and *I. hexagonus* have been confirmed. Numerous studies in Croatia focused on detection of tick transmitted pathogens in animals, while studies on pathogens in tick, and even tick species present in Croatia are lacking.

The aim of the study was to investigate tick species present in Croatia based on sequencing of *16S rRNA* gene fragment and to compare results with results of morphological determination. Furthermore, to investigate pathogens in individual ticks in order to obtain more precise data on ticks and pathogens in ticks they may carry for the first time in Croatia and to compare detected pathogens with tick “genetic” lines. One of the aims was to visualize ticks and detected pathogens by mapping, as well.

The study was carried out on 509 archived morphologically identified ticks. Ticks from different locations were collected from domestic and wild animals, dogs, cats, humans and environment during period of 2014 to 2017. DNA was extracted manually from each tick and analyzed individually based on PCR amplification of *16S rRNA* gene fragment. All extracted DNA from each tick was screened for presence of *Babesia*, *Theileria*, *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Hepatozoon*, *Mycoplasma*, *Borrelia*, *Rickettsia*, *Francisella* and *Coxiella* DNA using conventional PCR and subsequent sequencing. Amplified products were analysed using capillary electrophoresis, purified with *ExoSAP-IT*<sup>®</sup> PCR Clean-Up Reagent kit and sequenced in both directions in Macrogen Europe. Sequences were assembled using *Lasergene*<sup>®</sup> software, edited with Seqman<sup>™</sup>, and compared with available sequences in *GenBank*<sup>®</sup> using the *BLAST*<sup>®</sup>. Obtained results were visualised by mapping with QGIS<sup>®</sup> software.

In the current study we have detected 15 tick species belonging to five genera. Genus *Ixodes* (31,2%; 159/509) was the most representative genus with six species: *I. ricinus*, *I. canisuga*, *I. hexagonus*, *I. gibbosus*, *I. kaiseri* and *I. ventalloi*. *Ixodes gibbosus*, *I. kaiseri* and *I. ventalloi* were confirmed molecularly for the first time in Croatia. The number of species is not surprising, because previous studies morphologically described eight species in Croatia.

Out of the five known species in Europe, three species from subgenus *Pholeoixodes*, *I. canisuga*, *I. hexagonus*, and *I. kaiseri* were detected in this study. Presence of *I. kaiseri* from red fox in the continental region represents the first confirmation of species in Croatia, but also one of the rarest findings in Europe. So far has been detected from foxes and dogs from Germany, Romania, Hungary and Serbia.

*Ixodes canisuga* (4,5%; 23/509) ticks were geographically limited to continental Croatia, and as other species from subgenus *Pholeoixodes*, were collected from red foxes, except one tick from environment. Sequences were identical to sequences from other European countries, including neighboring countries such as Serbia, Bosnia and Herzegovina and Hungary.

The last species, *I. hexagonus* (3,7%, 19/509) was detected in all regions, except Istria. Unlike *I. canisuga*, sequence analysis showed presence of three different groups of sequences grouped within three isolates *I. hexagonus* 1, *I. hexagonus* 2 and *I. hexagonus* 3. Sequences showed up to two nucleotide differences from each other and shared 99% similarity. *Ixodes hexagonus* 1 dominated in all areas and was present in southern Adriatic (Mljet). In central Adriatic, it appeared together with *I. hexagonus* 2, while in the continental region with *I. hexagonus* 2 and *I. hexagonus* 3. Detection of *I. hexagonus* in central and southern Adriatic represents the first finding of tick species in the coastal region. Sequences of *I. hexagonus* 1 and *I. hexagonus* 3 were identical to sequences from European countries, while *I. hexagonus* 2 with the same sequences shared a slightly lower similarity of 99,7%.

One of the interesting findings represent genetic confirmation of *I. ventalloi* (1,2%; 6/509) from European hares from Vir. Besides its first molecular confirmation in Croatia, represents the first finding in Southeastern Europe. Current study confirmed presence of *I. gibbosus* (0,8%, 4/509) in Croatia. So far has been described only on Brač, therefore its finding on sheep from Cres, Rab and Pag indicates its possible presence in other coastal areas. Sequences shared 99% similarity with sequences from Turkey and Greece.

Sequencing confirmed 24 different groups of sequences of *I. ricinus* (20,8%; 106/509), similar to other European studies, for the first time in Croatia. Sequences shared 98% similarity and differed up to two nucleotides. Genotypes were geographically located in continental region, besides two ticks from Gorski kotar and central Adriatic. Ticks were mostly collected from the environment, but also from canids and wild ruminants, except for one tick collected from humans. The most frequent isolate was *I. ricinus* 1 (71,7%; 76/106), followed by *I. ricinus* 7 (4,7%; 5/106), *I. ricinus* 6 (2,8%; 3/106) and *I. ricinus* 3 (1,9%; 2/106). The remaining 20 genotypes were detected each in one tick. Sequences of *I. ricinus* 1,

*I. ricinus* 7, *I. ricinus* 15, *I. ricinus* 16 and *I. ricinus* 20 were identical to *I. ricinus* sequences in Europe, while sequences of 19 isolates showed similarity from 98% to 99%.

*Dermacentor reticulatus* is considered as tick species which has the fastest expansion throughout Europe, and whose southern limits have not been determined precisely. This study confirmed its presence in all investigated areas, besides Istria and southern Adriatic. Confirmation of tick in northern (Senj, mouflon) and central Adriatic (Vir, european hare) represents the southernmost finding of the species in Croatia. All *16S rRNA* sequences were identical and shared 99% to 100% similarity with *D. reticulatus* sequences from Europe. Another member of genus, *D. marginatus* has been detected southwards, on Hvar from wild boar and throughout continental Croatia.

*Rhipicephalus bursa* and *R. sanguineus* sensu lato (s.l.) were confirmed within genus *Rhipicephalus*. *Rhipicephalus bursa* (11,2%; 57/509) was present in almost entire coastal area. In continental region was collected from foxes in Zagreb and Daruvar and from sheep from Slunj, which represents its first confirmation outside coastal area and evidence of its spreading from south to north. Sequences shared 99% similarity with sequences of *R. bursa* from Europe, such as Turkey, France and Spain.

One third of the ticks belonged to the *Rhipicephalus sanguineus* s.l. (32,2%; 164/509). Group of 149 sequences belonged to the *R. turanicus*. Differences within sequences varied up to three nucleotides and were classified into three groups: *R. turanicus* 1, *R. turanicus* 2 and *R. turanicus* 3. The most frequent isolate *R. turanicus* 3 was found in central and southern Adriatic, but also in Zagreb area. Confirmation of *R. turanicus* in Zagreb from fox is the first description of species in continental Croatia. Remaining two genotypes have been confirmed throughout central and southern Adriatic, as well. Sequences were identical to the sequences of *R. turanicus* from Turkey and *R. turanicus* found on Murter.

Fourth group of sequences (9,1%; 15/164) shared similarity of 94% with the other sequences and corresponded to the sequences of *R. sanguineus* s.s. *Rhipicephalus sanguineus* s.s. was collected only from dogs from the northern (Rovinj, Premantura) and central Adriatic (Zadar, Obrovac Sinjski, Hvar), and in continental region (Zagreb, Vinkovci). Sequences were identical to sequences of *Rhipicephalus sanguineus* from dogs from Serbia and Croatia.

*Hyalomma marginatum* (6,9%; 35/509) was the only species from the genus *Hyalomma*. Ticks were present in coastal region and collected mainly from cows, then horses, goats, donkeys and dogs. Sequences were identical to each other but also to other sequences from Europe but at the same time shared 99,7% similarity with the *16S rDNA* sequences of *Hy. rufipes* from Afrika and *Hy. turanicum* from Irak.

For the first time in Croatia three species from *Haemaphysalis* genus were confirmed: *H. parva* (1,5%; 8/509), *H. inermis* (1,2%; 6/509) and *H. concinna* (0,4%; 2/509). Ticks from eastern Croatia were collected from the environment, except *H. concinna* from foxes (Požega) and *H. inermis* from foxes and horses (Jastrebarsko, Zadar). Sequences of *H. concinna* were identical with sequences from Hungary, while sequences of *H. inermis* and *H. concinna* shared 99,5% similarity with sequences from Australia and Turkey.

Members from family *Anaplasmataceae* were the most commonly detected microorganisms occurring in 18% (92/509) of ticks. Sequencing revealed several species of anaplasma *Anaplasma capra*, *A. phagocytophilum*, *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia* sp., “*Candidatus* Neoehrlichia lotoris” and endosymbionts *Wolbachia* sp. and *Midichloria mitochondrii*. The most significant finding is the detection of DNA of *A. capra* and *E. canis* for the first time in Croatia. Zoonotic *A. capra* was detected in 5,1% of ticks belonging to *R. bursa*, *R. turanicus*, *D. marginatus* and *H. inermis*. Ticks from *Rhipicephalus* genus were present in central and southern Adriatic (sheeps, goats), while *D. marginatus* and *H. inermis* in continental Croatia (sheep, fox). DNA of *Ehrlichia canis* was detected in 0,4% of *R. bursa* from sheep and goats from central Adriatic.

Piroplasms (12,4%; 63/509) were the second most common group of pathogens detected in 12,4% of ticks in this study. Sequencing showed almost equal prevalence of *Babesia* spp. (6,3%) and *Theileria* spp. (6,1%). *Babesia* genus included eight group of sequences corresponding to *B. canis*, *B. vulpes*, *B. microti*, *B. venatorum*, *Babesia* sp. “Badger type A” and “Badger type B”, *B. ovis*, *Babesia* cf. *crassa* and *Babesia* sp. "tavsan". *Babesia canis* represents well known piroplasm in dogs from Croatia. Sequencing revealed two genotypes of *B. canis*, *B. canis* 1 (1,9%) and *B. canis* 2 (0,4%). *Babesia canis* DNA was detected in *D. reticulatus* (fox, brown bear, dog) as expected, but also in *D. marginatus* (dog, human), *R. bursa* (goat, cattle), *R. turanicus* (goat), *I. hexagonus* (fox) and *I. ricinus* (fox).

Zoonotic babesia *B. venatorum* and *B. microti* were detected in *I. ricinus* from foxes and environment in continental Croatia.

Within the genus *Theileria*, four species have been detected: *T. ovis*, *T. orientalis* (buffeli/sergenti), *T. equi* and *T. capreoli*. The most common species *T. ovis* was detected in 3,5% of ticks: *R. turanicus* (sheep), *D. reticulatus* (foxes), *R. bursa* (cow, sheep), *Hy. marginatum* (dog) and *I. ricinus* (red deer). Pathogen was more abundant in central and southern Adriatic. *Theileria orientalis* (buffeli/sergenti) was detected in 1,9% of ticks: *D. reticulatus*, *D. marginatus* and *I. gibbosus*. Pathogen was geographically limited to continental Croatia, with the southernmost finding in *D. reticulatus* from Otočac and *I. gibbosus* from Cres. *Theileria capreoli* was so far confirmed in grey wolves but and dogs in Croatia, but never in ticks. Detection in one *D. marginatus* from environment represents its first detection in ticks in Europe.

Three species of genus *Hepatozoon* were confirmed in 6,1% of ticks: *H. canis*, *H. felis* and *Hepatozoon* „Badger type". Sequence analysis showed two different *H. canis* genotypes, *H. canis* 1 and *H. canis* 2. Both genotypes were geographically limited to continental region, except one *H. canis* 1 detected in *R. sanguineus* s.s. from central Adriatic (Medviđa). Pathogen was detected in ticks collected from foxes (*I. hexagonus*, *I. ricinus*, *I. canisuga*, *D. reticulatus*), horse (*I. ricinus*), environment (*I. ricinus*) and in two ticks from dogs, *I. ricinus* and *R. sanguineus* s.s. *Rhipicephalus turanicus* 3 from cats from Dugi otok was found to harbour DNA of *H. felis* (0,4%).

Five species from *Rickettsia* genus were detected in 11,7% of ticks namely: *R. slovaca*, *R. raoultii*, *R. aeschlimannii*, *R. massiliae* and *R. monacensis*. The causative agents of TIBOLA syndrome *R. slovaca* and *R. raoultii* have been detected in 0,9% and 4,7% of ticks. *Rickettsia slovaca* DNA was found in *D. reticulatus* (fox, mouflon) from northern Adriatic and *D. marginatus* (human, cattle, sheep) from continental Croatia. *Rickettsia raoultii* was expectedly frequent in *D. reticulatus* collected from various animal species and environment. Besides *D. reticulatus*, rickettsia DNA was present in *D. marginatus* and *H. parva* from environment in continental region. So far, DNA of zoonotic rickettsia from spotted fever group *R. aeschlimannii* was detected in Split and Sinj area. This study confirmed its DNA in *Hy. marginatum* throughout coastal area. *Rickettsia* DNA was also present in *R. turanicus* from southern Adriatic. *Rickettsia massiliae* was detected in 2,4% *R. turanicus* ticks

from domestic ruminants from southern Adriatic. *Rickettsia monacensis* (0,9%) was detected in *I. ricinus* from continental region and in *Hy. marginatum* from Sinj.

*Francisella tularensis* (0,2%) was detected in one *R. turanicus* 3 from Pelješac. Sequence was identical to *F. tularensis* subsp. *holartica* from *D. marginatus* (BIH, Portugal), *H. concinna* (Hungary), *I. ricinus* (Germany, Serbia) and european hare (Spain). In 1,5% of *D. reticulatus* (golden jackal, wild boar, horse, fox, environment) and *D. marginatus* (human) from continental Croatia sequences were identical to „*Francisella*-like“ endosymbiont from *D. reticulatus* collected from environment in Poland.

*Borrelia burgdorferi* s.l. DNA was detected in 2,7% ticks. Sequencing revealed higher prevalence of *B. afzelii* (1,9%) than *B. valaisiana* (0,8%). Similar to previous studies, both species have been detected in various genotypes of *I. ricinus* in continental Croatia. Most ticks were collected from environment, except two ticks from dog and fox. Bacteria from *Mycoplasma* genus, as well as *Coxiella burnetti* were not detected.

This study is one of the most comprehensive studies on genetic diversity of ticks collected from different species of domestic and wild animals, dogs, cats, humans, and the environment, not only in Croatia but also in Europe, which includes comparison of morphological determination and genotyping of *16S rDNA* gene fragment. Sequencing of *16S rRNA* and comparison with the BLAST<sup>®</sup> has shown to be the most suitable method for detecting tick species and at the same time the analyzed gene is sufficiently heterogeneous to enable the differentiation of potential genotypes within the species. This study confirmed presence of *D. reticulatus*, *D. marginatus*, *I. ricinus*, *I. hexagonus*, *I. canisuga*, *R. bursa*, *R. turanicus* sensu lato, *R. sanguineus* sensu stricto, *Hy. marginatum*, but for the first time species such as *I. gibbosus*, *I. kaiseri*, *I. ventalloi*, *H. concinna*, *H. inermis* and *H. parva*, have been confirmed molecularly. The genetic approach showed genetic diversity within the population of *I. ricinus* and *R. turanicus* in Croatia, and also the presence of at least two species within the *R. sanguineus* sensu lato complex. The systematic approach in detection of tick transmitted pathogens in individual ticks showed presence on numerous pathogens, important not only in veterinary medicine but also within public health aspects. This research contributed to the knowledge of tick species, their distribution and tick transmitted pathogens.

**Key words:** ticks, pathogens, *16S rRNA*, PCR, sequencing, mapping, Croatia

## POPIS KORIŠTENIH KRATICA I ZNAKOVA

KRATICA	ZNAČENJE
BiH	Bosna i Hercegovina
BLAST	<i>Basic Local Alignment Search Tool</i> , engl.
pb	parova baza ( <i>base pairs</i> , engl.)
CO <sub>2</sub>	ugljikčni dioksid
° C	Stupnjeva Celzija
cytB	citokrom b ( <i>cytchrome b</i> , engl.)
DNK	deoksiribonukleinska kiselina
ECDC	Europski centar za prevenciju i kontrolu bolesti ( <i>European Centre for Disease control and prevention</i> , engl.)
GPS	<i>Global Positioning System</i> , engl.
groESL	<i>Chaperone protein encoding gene</i> , engl.
gltA	<i>Citrate synthase encoding gene</i> , engl.
HRZZ	Hrvatska zaklada za znanost
HVI	Hrvatski veterinarski institut
HZJZ	Hrvatski zavod za javno zdravstvo
Hz	herca
IGS	<i>Intergenic spacer region</i> , engl.
IS1111	Transposon-like repetitive region, engl.
ITS1	<i>Internal transcribed spacer 1</i> , engl.
ITS2	<i>Internal transcribed spacer 2</i> , engl.
min	minuta
mtDNK	Mitochondrijska deoksiribonukleinska kiselina
NCBI	<i>National Center for Biotechnology Information</i> , engl.
Osp	<i>Outer membrane surface proteins</i> , engl.
OspA	<i>Outer membrane surface protein A</i> , engl.
OspC	<i>Outer membrane surface protein C</i> , engl.
PCR	lančana reakcija polimerazom ( <i>polymerase chain reaction</i> , engl.)
QGIS	<i>Open Source Geographic Information System</i> , engl.
RH	Republika Hrvatska
rOmpA	<i>Outer membrane protein A</i> , engl.
rRNK	ribosomska ribonukleinska kiselina



s.l.	<i>sensu lato</i>
s.s.	<i>sensu stricto</i>
SAD	Sjedinjene Američke Države
Salp15	<i>Secreted salivary protein 15</i> , engl.
sek	sekunda
SENILAT	<i>Scalp eschar neck lymphadenopathy</i> , engl.
SFG	<i>Spotted fever group</i> , engl.
sin.	sinonim
TIBOLA	<i>Tick-borne lymphadenopathy</i> , engl.
VLSe	<i>Variable major proteine like sequence, epressed</i> , engl.
12S rRNK	12S ribosomalna RNA
16S rRNK	16S ribosomalna RNA
18S rRNK	18S ribosomalna RNA

# SADRŽAJ

<b>1.UVOD</b>	1
<b>2.PREGLED DOSADASNJIH SPOZNAJA</b>	4
2.1. SISTEMATIZACIJA KRPELJA	5
2.2. MORFOLOŠKE KARAKTERISTIKE KRPELJA IZ PORODICE IXODIDAE	8
2.3. BIOLOŠKE KARAKTERISTIKE KRPELJA IZ PORODICE IXODIDAE	17
2.3.1. Razvoj krpelja	17
2.3.2. Prijenos patogena	20
2.4. PROŠIRENOST I VEKTORSKI ZNAČAJ NAJZNAČAJNIJIH RODOVA PORODICE IXODIDAE	22
2.4.1. Rod <i>Ixodes</i>	22
2.4.1.1. Proširenost i vrste krpelja iz roda <i>Ixodes</i>	22
2.4.1.2. Genska istraživanja krpelja iz roda <i>Ixodes</i>	26
2.4.1.3. Vektorski kapacitet krpelja iz roda <i>Ixodes</i>	27
2.4.1.3.1. <i>Ixodes ricinus</i>	27
2.4.1.3.2. <i>Ixodes hexagonus</i>	34
2.4.1.3.3. Ostale vrste krpelja iz roda <i>Ixodes</i>	35
2.4.2. Rod <i>Dermacentor</i>	36
2.4.2.1. Proširenost i vrste krpelja iz roda <i>Dermacentor</i>	36
2.4.2.2. Genska istraživanja krpelja <i>Dermacentor reticulatus</i> i <i>Dermacentor marginatus</i>	39
2.4.2.3. Vektorski značaj krpelja iz roda <i>Dermacentor</i>	40
2.4.2.3.1. <i>Dermacentor reticulatus</i>	40
2.4.2.3.2. <i>Dermacentor marginatus</i>	44
2.4.3. Rod <i>Rhipicephalus</i>	45
2.4.3.1. Proširenost i vrste krpelja iz roda <i>Rhipicephalus</i>	45
2.4.3.2. Genska istraživanja krpelja iz roda <i>Rhipicephalus</i>	47
2.4.3.3. Vektorski značaj krpelja iz roda <i>Rhipicephalus</i>	49
2.4.3.3.1. <i>Rhipicephalus sanguineus</i> sensu lato	49
2.4.3.3.2. <i>Rhipicephalus bursa</i>	54
2.4.4. Rod <i>Hyalomma</i>	55
2.4.4.1. Proširenost i vrste krpelja iz roda <i>Hyalomma</i>	55
2.4.4.2. Genska istraživanja krpelja iz roda <i>Hyalomma</i>	57

2.4.4.3.	Vektorski značaj krpelja iz roda <i>Hyalomma</i> .....	58
2.4.5.	Rod <i>Haemaphysalis</i> .....	59
2.4.5.1.	Proširenost i vrste krpelja iz roda <i>Haemaphysalis</i> .....	59
2.4.5.2.	Genska istraživanja krpelja iz roda <i>Haemaphysalis</i> .....	61
2.4.5.3.	Vektorski značaj krpelja iz roda <i>Haemaphysalis</i> .....	61
2.4.6.	Istraživanja patogena u krpeljima.....	64
<b>3.</b>	<b>OBRAZLOŽENJE TEME</b> .....	<b>71</b>
<b>4.</b>	<b>MATERIJAL I METODE</b> .....	<b>73</b>
4.1.	ARHIVSKI PRIMJERC I KRPELJA .....	74
4.1.1.	Porijeklo.....	74
4.1.2.	Pohrana.....	74
4.1.3.	Lokacija.....	75
4.1.4.	Zemljopisno porijeklo .....	76
4.1.5.	Rezultati morfološke determinacije pohranjenih primjeraka krpelja.....	77
4.1.5.1.	Rod <i>Ixodes</i> .....	77
4.1.5.2.	Rod <i>Dermacentor</i> .....	77
4.1.5.3.	Rod <i>Rhipicephalus</i> .....	77
4.1.5.4.	Rod <i>Hyalomma</i> .....	78
4.1.5.5.	Rod <i>Haemaphysalis</i> .....	78
4.1.5.6.	Nedeterminirani primjerci .....	79
4.2.	LANČANA REAKCIJA POLIMERAZOM (PCR).....	80
4.2.1.	Izdvajanje deoksiribonukleinske kiseline (DNK) i molekularno dokazivanje krpelja.....	80
4.2.1.1.	Izdvajanje DNK iz pojedinačnih primjeraka krpelja.....	80
4.2.1.2.	Umnažanje odsječka <i>16S rRNA</i> gena krpelja .....	81
4.2.2.	Molekularno dokazivanje mikroorganizama.....	81
4.2.2.1.	Umnažanje odsječka <i>18S rRNA</i> gena piroplasm i <i>Theileria</i> .....	81
4.2.2.2.	Umnažanje odsječka <i>16S rRNA</i> gena proteobakterija iz porodice <i>Anaplasmataceae</i> .....	81
4.2.2.3.	Umnažanje odsječka <i>18S rRNA</i> gena protozona iz roda <i>Hepatozoon</i> .....	82
4.2.2.4.	Umnažanje odsječka <i>16S rRNA</i> gena hemotropnih bakterija iz roda <i>Mycoplasma</i> .....	82
4.2.2.5.	Umnažanje odsječka <i>rOmpA</i> gena bakterija iz roda <i>Rickettsia</i> .....	82

4.2.2.6. Umnažanje odsječka TUL4 gena bakterija iz kompleksa <i>Francisella tularensis</i> .....	82
4.2.2.7. Umnažanje odsječka IGS regije bakterija iz kompleksa <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato (s.l.).....	82
4.2.2.8. Umnažanje odsječka IS1111 gena bakterije <i>Coxiella burnetti</i> .....	83
4.3. ODREĐIVANJE NUKLEOTIDNIH SLIJEDOVA GENA.....	85
4.4. MAPIRANJE KRPELJA I PATOGENA.....	85
<b>5.REZULTATI</b> .....	86
5.1. REZULTATI ANALIZE SEKVENCI 16S rRNA GENA KRPELJA.....	87
5.1.1. Zastupljenost rodova krpelja .....	87
5.1.2. Rod <i>Ixodes</i> .....	88
5.1.2.1. <i>Ixodes canisuga</i> .....	88
5.1.2.2. <i>Ixodes gibbosus</i> .....	89
5.1.2.3. <i>Ixodes ventalloi</i> .....	89
5.1.2.4. <i>Ixodes kaiseri</i> .....	89
5.1.2.5. <i>Ixodes hexagonus</i> .....	90
5.1.2.6. <i>Ixodes ricinus</i> .....	92
5.1.3. Rod <i>Dermacentor</i> .....	94
5.1.4. Rod <i>Rhipicephalus</i> .....	95
5.1.4.1. <i>Rhipicephalus bursa</i> .....	95
5.1.4.2. <i>Rhipicephalus sanguineus sensu lato</i> .....	96
5.1.5. Rod <i>Hyalomma</i> .....	98
5.1.6. Rod <i>Haemaphysalis</i> .....	99
5.2. PIROPLAZME IZ RODOVA <i>BABESIA</i> I <i>THEILERIA</i> .....	100
5.3. PROTEOBAKTERIJE IZ PORODICE <i>ANAPLASMATACEAE</i> .....	105
5.4. PROTOZOONI IZ RODA <i>HEPATOZOON</i> .....	108
5.5. HEMOTROPNE BAKTERIJE IZ RODA <i>MYCOPLASMA</i> .....	110
5.6. BAKTERIJE IZ RODA <i>RICKETTSIA</i> .....	110
5.7. BAKTERIJE IZ KOMPLEKSA <i>FRANCISELLA TULARENSIS</i> .....	113
5.8. BAKTERIJE IZ KOMPLEKSA <i>BORRELIA BURGENDORFERI</i> SENSU LATO (S.L.).....	114
5.9. BAKTERIJA <i>COXIELLA BURNETTI</i> .....	115
5.10. ZBIRNI PRIKAZ PATOGENA U VRSTAMA KRPELJA .....	115
5.10.1. Rod <i>Ixodes</i> .....	115
5.10.2. Rod <i>Dermacentor</i> .....	115

5.10.3. Rod <i>Rhipicephalus</i> .....	116
5.10.4. Rod <i>Hyalomma</i> .....	116
5.10.5. Rod <i>Haemaphysalis</i> .....	116
<b>6.RASPRAVA</b> .....	<b>124</b>
<b>7.ZAKLJUČCI</b> .....	<b>141</b>
<b>8.POPIS LITERATURE</b> .....	<b>143</b>
<b>9.PRILOZI</b> .....	<b>187</b>
<b>10.ŽIVOTOPIS AUTORA S POPISOM OBJAVLJENIH ZNANSTVENIH RADOVA</b> .....	<b>192</b>

## **1. UVOD**

Krpelji su obligatni hematofagni ektoparaziti sisavaca, ptica, gmazova i vodozemaca, nakon komaraca se smatraju najvažnijim vektorima uzročnika bolesti prenosivih na domaće i divlje životinje, kućne ljubimce i ljude (DANTAS-TORRES i sur., 2012.). Do danas je opisano čak 920 vrsta krpelja, svrstanih u tri porodice (Ixodidae, Argasidae i Nuttalliellidae), među kojima su Ixodidae (krpelji šikare) najznačajnija i najbrojnija porodica (BARKER i MURRELL, 2008.). Oko 10% od trenutno poznatih 920 vrsta krpelja prenosi različite vrste patogena poput virusa, rikecija, bakterija, protozoa i helminata (JONGEAN i UILENBERG, 2004.).

Podjela krpelja se tradicionalno temeljila na morfološkoj identifikaciji vrsta, no učestala primjena molekularnih metoda dovodi do učestalijih promjena sistematizacije. Tako je na primjer rod *Boophilus* analizom nukleotidnih sljedova *12S rRNA* (BEATI i KEIRANS, 2001.) svrstan u rod *Rhipicephalus*, a analizom *12S rRNA*, *16S rRNA* i *COX1* gena dokazano je da *Rhipicephalus sanguineus* čini složenu grupu krpelja (*sensu lato*) koja uključuje barem 17 srodnih vrsta (DANTAS-TORRES i sur., 2013.).

U dosadašnjim istraživanjima na području Republike Hrvatske (RH) morfološkom determinacijom opisano je pet rodova i 21 vrsta krpelja unutar porodice Ixodidae (KRČMAR, 2012.) dok su molekularna istraživanja oskudna. Prvim genskim istraživanjem krpelja unutar kompleksa *R. sanguineus* dokazane su dvije genetske linije *Rhipicephalus* sp. koje su filogenetski razvrstane u skupinu II sa podskupinama *Rhipicephalus* sp. IIa i *Rhipicephalus* sp. IIb (HORNOK i sur., 2017a.). Unutar roda *Ixodes* sekvencioniranjem odsječaka *16S rRNA* i *COX1* gena potvrđene su još dvije vrste *I. canisuga* i *I. hexagonus* (HORNOK i sur., 2017b.).

Patogeni su specijalizirani samo za pojedine vrste krpelja što ujedno određuje njihov vektorski potencijal. Redovita primjena molekularnih metoda, omogućila je otkrivanje novih uzročnika bolesti u vektorima, životinjama i ljudima, poput *Borrelia myamotoii* i „*Candidatus Neohrlichia mikurensis*“ (SILAGHI i sur., 2016.; CUTLER i sur., 2019.). U posljednjih nekoliko godina također su otkriveni novi patogeni koji se povezuju sa slučajevima mediteranske pjegave groznice u ljudi, poput *Rickettsia massillae*, *R. monacensis* i *R. aeschlimannii* (PAROLA i sur., 2013.).

Najznačajnije krpeljima prenosive bolesti ljudi u Europi su krpeljni encefalitis uzrokovan istoimenim virusom, borelioza uzrokovana bakterijama iz kompleksa *Borrelia burgdorferi* *sensu lato* (s.l.), te krimsko-kongoanska hemoragijska groznica uzrokovana virusima iz roda *Nairovirus* (porodica Bunyaviridae). Uzročnici borelioze i krpeljnog encefalitisa dominiraju na području kontinentalne Hrvatske (TIJSSE-KLASSEN i sur., 2013a.), dok uzročnik krimsko-kongoanske hemoragijske groznice nije dokazan bez obzira na

prisutnost vektora *Hyalomma marginatum* na području priobalja (BECK i sur., 2016b.). Krpeljima prenosive rikecioze su zoonoze uzrokovane bakterijama iz roda *Rickettsia* (PAROLA i sur., 2013.). U RH su u ljudi dokazane *R. conori* i *R. monacensis* (TIJSSE-KLASSEN i sur., 2013b.; DŽELALIJA i sur., 2016.), a u krpelja *R. aeschlimanni*, *R. monacensis*, *R. masillae*, *R. slovacae*, *R. helvetica*, *R. raoulti* i *R. hoogstraalii* sp. nov. (DUH i sur., 2006., 2010.; DŽELALIJA i sur., 2016.).

Na području RH provedena su istraživanja o učestalosti patogena prenosivih krpeljima u životinja. U pasa su osim *Babesia canis* dokazane piroplazme poput *B. vogeli*, *B. vulpes*, *B. gibsoni*, *Theileria equi* (BECK i sur., 2009.). Piroplazme su dokazivane u domaćih i divljih životinja, poput *B. cabali* i *T. equi* u konja (GOTIĆ, 2015.); *B. vulpes* i *T. capreoli* u lisica (DEŽDEK i sur., 2010.); *B. canis* i *T. capreoli* u vukova (BECK i sur., 2017a.); *T. capreoli*, *B. venatorum*, *B. divergens* i genotip sličan *B. divergens* u divljih cervida (PINTUR, 2012a.); te *B. microtti* u šumskih glodavaca (BECK i sur., 2010a.). Uzročnik granulomatozne anaplazmoze ljudi i životinja, te uzročnik infektivne cikličke trombocitopenije pasa, *A. phagocytophilum* i *A. platys* su u pasa dokazane sa učestalosti od 0,3% i 2,5% (HUBER i sur., 2017.). *Anaplasma phagocytophilum* je dokazana i u konja (GOTIĆ i sur., 2017.), divljih preživača, šumskih glodavaca, te lisica (BECK i sur., 2016a.). *Anaplasma marginale*, *A. bovis* i *A. centrale*, uzročnici anaplazmoze goveda su dokazani u goveda, lisica i divljih preživača (BECK i sur., 2016a.; JURKOVIĆ i sur., 2020.). Od pripadnika roda *Ehrlichia* genski je dokazana samo *Ehrlichia* sp. u divokoze i srne (BECK i sur., 2016a.), a postojanje *E. canis* je upitno jer unatoč dokazu protutijela u pasa (MRLJAK i sur., 2017.; JURKOVIĆ i sur., 2019a.), uzročnik nije potvrđen molekularnim metodama (HUBER i sur., 2017.).

Većina istraživanja u RH temeljena je na učestalosti krpeljno-prenosivih patogena u životinja, dok je vrlo malo dostupnih podataka o prisutnosti patogena u krpelja i samim vrstama krpelja na području RH. Cilj ovoga rada je istražiti vrste krpelja na području RH sekvenciranjem odsječaka *16S rRNA* gena, te usporediti dobivene rezultate sa rezultatima morfološke determinacije. Nadalje, u pojedinačnim krpeljima istražiti prisutnost patogena kako bi po prvi puta u RH imali točne podatke o krpeljima i patogenima koje nose, usporediti dokazane patogene s genskom „linijom“ krpelja i u konačnici provesti mapiranje krpelja i dokazanih patogena na području RH.



## **2. PREGLED DOSADAŠNJIH SPOZNAJA**

## 2.1. SISTEMATIZACIJA KRPELJA

Krpelji su obligatni hematofagni ektoparaziti koji pripadaju koljenu člankonožaca (Arthropoda), razredu paučnjaka (Arachnida) i redu grinja (Acarina).

Do danas je opisano, prema posljednoj objavljenjnoj sistematizaciji, približno 920 vrsta krpelja svrstanih u tri porodice i to Ixodidae (krpelji šikare), Argasidae (krpelji nastambi) i Nuttalliellidae (BARKER i MURRELL, 2008.; GUGLIELMONE i sur., 2010.). Najznačajnija i najveća porodica Ixodidae uključuje približno 720 vrsta unutar 14 rodova od kojih su najznačajniji: *Ixodes* (249 vrsta), *Haemaphysalis* (166 vrsta), *Amblyomma* (143 vrste), *Rhipicephalus* (82 vrste), *Dermacentor* (36 vrste) i *Hyalomma* (27 vrsta) (BARKER i MURRELL, 2008.; GUGLIELMONE i sur., 2010.; NCBI, 2020.). Porodica Argasidae sadržava oko 193 vrsta svrstanih u pet rodova: *Argas*, *Antricola*, *Carios*, *Ornithodoros* i *Otobius* (BARKER i MURRELL, 2008.; GUGLIELMONE i sur., 2010.; NCBI, 2020.). Porodica Nuttalliellidae zastupljena je sa svega jednim rodom *Nuttalliella* i jednom vrstom krpelja *N. namaqua* koja je do sada dokazana na području Tanzanije i južne Afrike (BARKER i MURRELL, 2008.; GUGLIELMONE i sur., 2010.; MANS i sur., 2011.).

Podjela krpelja se tradicionalno temeljila na morfološkim karakteristikama (CAPORALE i sur., 1995.; GUGLIELMONE i sur., 2006.) pojedinih vrsta. U vrsta koje posjeduju slična morfološka obilježja, kao primjerice vrste unutar *R. sanguineus* s.l. skupine (DANTAS-TORRES i sur., 2013.; NAVA i sur., 2018.; BAKKES i sur., 2020.) morfološka determinacija može biti pogrešna (ESTRADA-PEÑA i sur., 2017b.).

Genska istraživanja krpelja su znatno pridonijela novim podjelama u sistematizaciji i otkrivanju novih vrsta, a istovremeno omogućuju razumijevanje biologije vektora i patogena koje prenose (ARAYA-ANCHETTA i sur., 2015.). Najčešće primjenjivani molekularni markeri koji se koriste za gensku karakterizaciju krpelja i filogenetska istraživanja su mitohondrijski geni poput *COX1* i *COX2* (citokrom c oksidaza, *cytochrome c oxidase*, engl.), *16S rRNA*, *12S rRNA* i *Cyt B* (citokrom b, *cytochrome b*, engl.) i nuklearni poput *18S rDNA*, te *ITS1* i *ITS2* regija (*internal transcribed spacer*, engl.) (DANTAS-TORRES i sur., 2013.; LV i sur., 2014a., 2014b.; ARAYA-ANCHETTA i sur., 2015.; HORNOK i sur., 2017a., 2017b.; NOUREDDINE i sur., 2011.; NAVA i sur., 2018.; BAKKES i sur., 2020.).

Prvo filogenetsko istraživanje u kojemu je primijenjen pristup analiziranja sekvenci su proveli BLACK i PIESMAN 1994. godine. Zaključili su da sekvenciranje mitohondrijske *16S rRNA* predstavlja učinkovitu metodu za razlikovanje rodova i vrsta, te da postoje različite

sekvencijske varijante unutar samih populacija krpelja. Također su potvrdili osnovnu filogenetsku podjelu krpelja HOOGSTRAALA i AESCHLIMANNA (1982.) koja se temeljila na specifičnim morfološkim obilježjima, zemljopisnoj proširenosti, razvojnom ciklusu krpelja i njihovim nositeljima. Isto tako su zaključili da je potrebno provoditi daljnja molekularna istraživanja sekvenciranjem sa ciljem detaljnog poznavanja populacija krpelja. WESSON i sur., (1993.) su godinu dana ranije proveli sekvenciranje *ITS1* i *ITS2* regije tri različite vrste unutar *Ixodes ricinus* kompleksa u SAD-u. Zaključuju da vrste *Ixodes dammani* i *I. scapularis* predstavljaju istu vrstu i istovremeno različitu od vrste *I. pacificus*. Primijetili su da postoje genske različitosti populacija ovisne o područjima uzorkovanja i da *I. dammani* ne postoji kao vrsta. Kasnija genska istraživanja krpelja i poznavanje vrsta su izuzetno značajna za razumijevanje vektorskog značaja pojedinih vrsta krpelja.

Iako postoje nesuglasice vezane uz sistematizaciju pojedinih vrsta unutar porodica Ixodidae i Argasidae (ESTRADA-PEÑA i sur., 2010.; GUGLIELMONE i sur., 2010.), prema trenutnoj sistematizaciji „National Center for Biotechnology Information“ (NCBI), predstavnici porodica Ixodidae, Argasidae i Nuttalliellidae sistematizirani su na slijedeći način:

**Carstvo: ANIMALIA**

**Koljeno: ARTHROPODA**

**Potkoljeno: CHELICERATA**

**Razred: ARACHNIDA**

**Podrazred: ACARINA**

**Nadred: PARASITIFORMES**

**Red: IXODIDA**

**Nadporodica: IXODOIDEA**

**Porodica: ARGASIDAE** (Koch, 1844.)

**Rod: ANTRICOLA** (Mcintosh, 1935.)

**Rod: ARGAS** (Latreille, 1795.)

**Rod: NOTHOASPIS** (Keirans& Clifford, 1975.)

**Rod: ORNITHODOROS** (Koch, 1844.)

**Rod: OTOBIUS** (Banks, 1912.)

**Porodica: IXODIDAE** (Koch, 1844.)

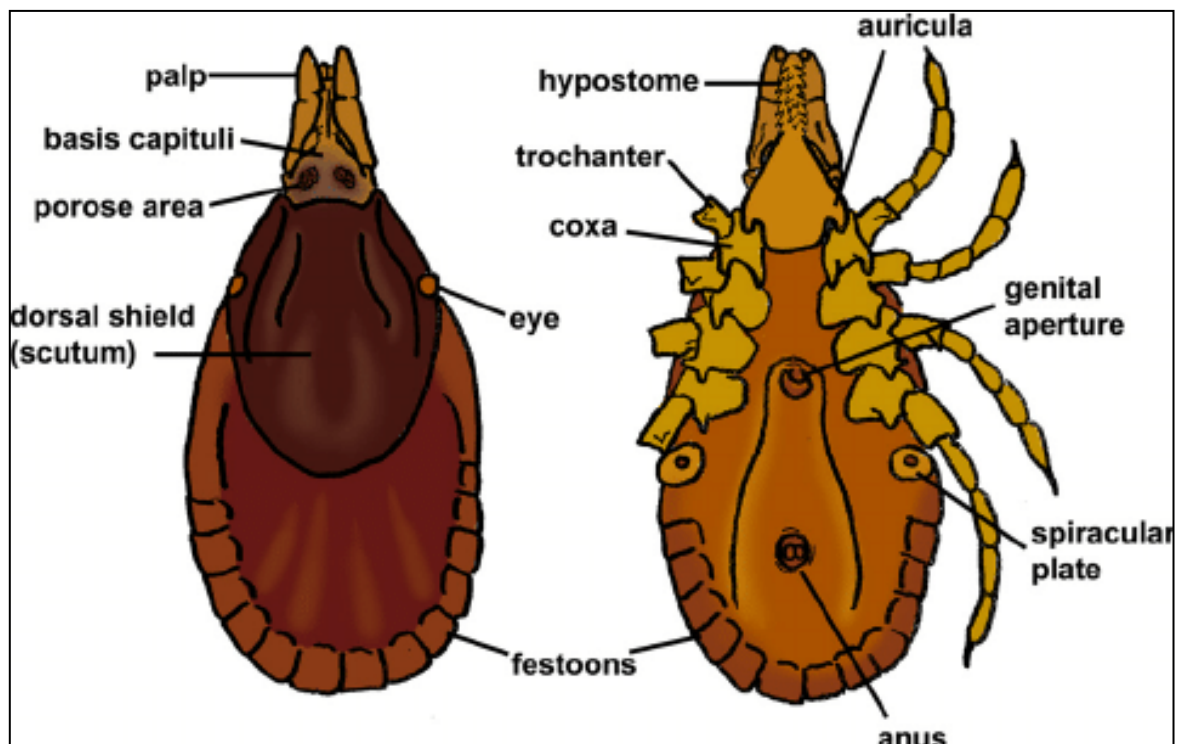
**Rod: AMBLYOMMA** (Koch, 1844.)

**Rod: ARCHAEOCROTON**(Dumbleton, 1943)  
**Rod: BOTHRIOCROTON** (Kierans& King &Sharrad, 1994.)  
**Rod: HAEMAPHYSALIS** (Koch, 1844.)  
**Rod: HYALOMMA** (Koch, 1844.)  
**Rod: NOSOMMA** (Shulze, 1919.)  
**Rod: IXODES** (Latreille, 1795.)  
**Rod: DERMACENTOR** (Koch, 1844.)  
**Rod: RHIPICENTOR** (Nuttall & Warburton, 1908.)  
**Rod: RHIPICEPHALUS** (Koch, 1844.)  
**Podrod: BOOPHILUS**  
**Podrod: RHIPICEPHALUS**  
**Rod:ROBERTSICUS** (Price, 1959)  
**Porodica: NUTTALLIELLIDAE** (Shulze, 1935.)  
**Rod: NUTTALLIELLA** (Bedford, 1931.)

## 2.2. MORFOLOŠKE KARAKTERISTIKE KRPELJA IZ PORODICE IXODIDAE

Tijelo krpelja sastavljeno je od prednjeg dijela na kojem se nalaze usni organi (*gnathostoma*) i ovalnog, stražnjeg dijela (*idiosoma*) na kojemu se nalaze noge, spolni, analni i stigmalni otvori (Slika 1.).

Veličina krpelja, ovisno o vrsti, razvojnom stadiju, spolu i stupnju nasisanosti iznosi od nekoliko mm do 4 cm. Nenasisani krpelji imaju ovalno dorzoventralno spljošteno tijelo, dok su nasisani jajoliki ili okrugli. Boja tijela može biti žuta, smeđa ili tamno-smeđa, te sivkasta do crvenkasta u nasisanih krpelja. Hitinski skelet pripadnika rodova *Dermacentor* i *Amblyomma* je višebojan, što ih morfološki razlikuje od ostalih rodova unutar porodice Ixodidae (ESTRADA-PEÑA i sur., 2004., 2017a.) (Slika 2.).

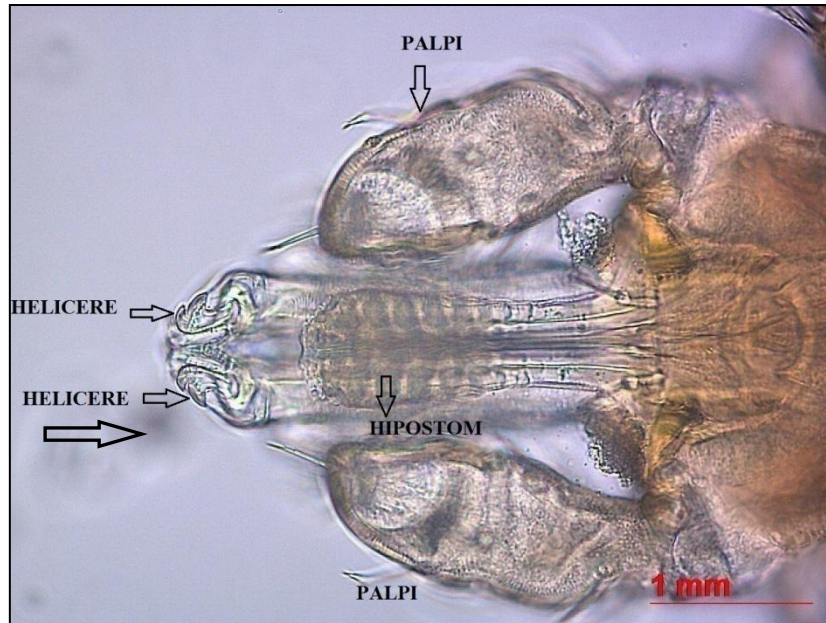


Slika 1. Shematski prikaz građe krpelja šikare (fam. Ixodidae)

(Izvor: MATHISON i PRITT, 2014.).

Gnatosomu sačinjavaju ovratnik (*basis capituli*) i usni aparat (glavica, *capitulum*) koji se sastoji od para helicera, hipostoma (rila) i para četveročlanih palpi (Slika 2.). Krpelji iz rodova *Ixodes*, *Hyalomma* i *Amblyomma* imaju dugačak usni aparat, dok je kod krpelja iz rodova *Dermacentor*, *Rhipicephalus*, *Hyalomma* i *Haemaphysalis* kraći (Slika 3.).

Hipostom je središnja cjevasta struktura usnog aparata smještena ispod helicera (Slika 2.). Prekrivena je zubićima (kukicama), koje su raspoređene u pravilnim podužnim redovima (od 2 do 6) usmjerenim prema tijelu krpelja (ESTRADA-PEÑA i sur., 2004., 2017a.).



Slika 2. Prikaz građe usnog aparata krpelja  
(Izvor: Laboratorij za parazitologiju, HVI, Zagreb).



Slika 3. Jednobojan hitinski skelet i dugi usni aparat ženke krpelja *Ixodes ricinus* (lijevo);  
višebojan hitinski skelet i kratak usni aparat ženke *Dermacentor reticulatus* (desno)  
(Izvor: Laboratorij za parazitologiju, HVI, Zagreb).

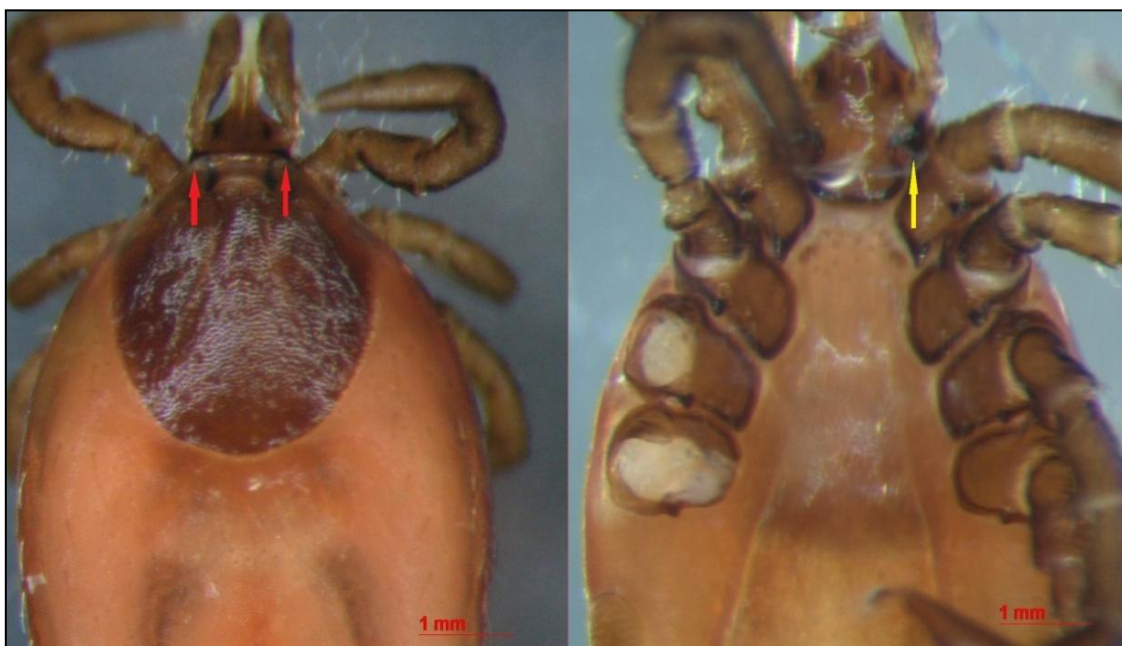
Ovratnik predstavlja čvrstu hitinoznu kapsulu koja je ispunjena mišićima palpi, aparatom za gutanje, kroz koju prolaze osnove helicera, ždrijelo i slinski kanali. Oblik ovratnika može biti heksagonalan, trapeziodan, pravokutan ili trokutast i specifičan je za pojedine rodove. Pravokutan ovratnik imaju krpelji iz rodova *Dermacentor*, *Haemaphysalis* i *Ixodes*, dok krpelji iz roda *Rhipicephalus* imaju heksagonalan ovratnik (Slika 4.) (ESTRADA-PEŃA i sur., 2004., 2017a.).



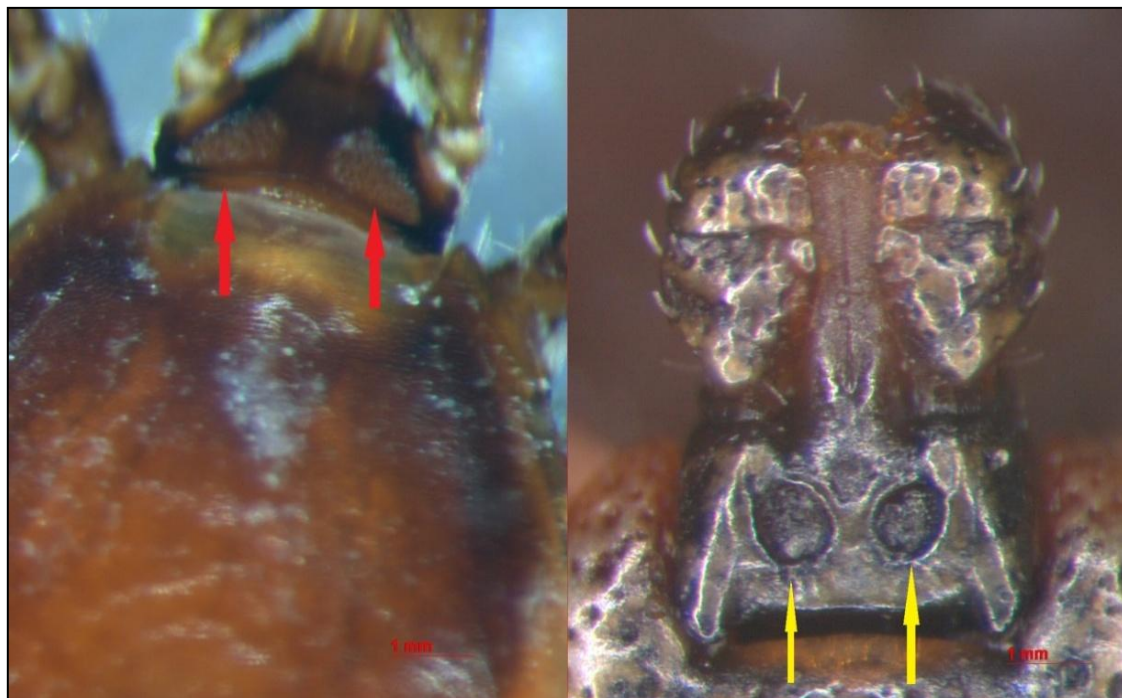
Slika 4. Heksagonalan ovratnik krpelja iz roda *Rhipicephalus*  
(Izvor: Laboratorij za parazitologiju, HVI, Zagreb).

Na dorzalnoj površini stražnjeg dijela ovratnika mogu se naći kornue (*cornua*), a na ventralnoj površini lateralne izbočine (*auriculae*) (Slika 5.). Prisutstvo ili odsutstvo, te duljina kornua i/ili aurikula ima važnu ulogu prilikom morfološke determinacije vrsta iz roda *Dermacentor* i *Ixodes* (ESTRADA-PEŃA i sur., 2004., 2017a.).

U ženki se dorzalno nalaze parna šupljikava područja (*area porosa*), različitog oblika (ovalan, okrugao, kruškast, trokutast) (Slika 6.) (ESTRADA-PEŃA i sur., 2004., 2017a.). *Area porosa* luče antioksidativne tvari koje sprječavaju razgradnju zaštinog voštanog sekreta kojeg izlučuje Geneov organ (smješten dorzalno, između skutuma i glave) prilikom polaganja jaja (NICHOLSON i sur., 2019.).



Slika 5. Izražene kornue (crvene strelice, lijevo) i aurikule (žuta strelica, desno) krpelja *Ixodes accuminatus* (Izvor: Laboratorij za parazitologiju, HVI, Zagreb).



Slika 6. Trokutaste (lijevo, *Ixodes ricinus*) i ovalne (desno, *Dermacentor marginatus*) area porosa (Izvor: Laboratorij za parazitologiju, HVI, Zagreb).



Glavno obilježje krpelja šikare (Ixodidae) je tvrdi hitinski štit smješten na dorzalnoj strani idiosome. Kod ženki, ličinki i nimfi štit od tvrdog hitina prekriva samo dio dorzalne površine tijela (*scutum*), dok je preostali dio tijela pokriven mekanim, rastezljivim hitinom (*alloscutum*) koji se povećava prilikom uzimanja krvnog obroka (Slika 1.). Čitava dorzalna površina tijela mužjaka prekrivena je tvrdim hitinom koji se naziva konskutum (*conscutum*) (ESTRADA-PEÑA i sur., 2004.; 2017a.).

Lateralno na skutumu/konskutumu kod krpelja iz rodova *Dermacentor*, *Rhipicephalus*, *Hyalomma* i *Amblyomma* su smještene oči, dok kod rodova *Ixodes* i *Haemaphysalis* nisu prisutne. Na leđnom štitu se mogu uočiti cervikalne brazde smještene medijalno prema sredini skutuma i lateralne brazde. Površina leđnog štita mužjaka i ženki često je prekrivena punktacijama, različite gustoće ili veličine. Iako mogu biti prisutne u većine krpelja, najbitnije su za razlikovanja vrsta unutar rodova *Haemaphysalis* i *Rhipicephalus* (ESTRADA-PEÑA i sur., 2004., 2017a.).

Na stražnjem rubu idiosome u mužjaka i ženki se nalazi do 11 izbočina (festuna) (Slika 1.). Izraženi su kod vrsta iz rodova *Amblyomma*, *Dermacentor*, *Hyalomma*, *Haemaphysalis* i *Rhipicephalus*, dok kod vrsta iz roda *Ixodes* nedostaju (ESTRADA-PEÑA i sur., 2004., 2017a.).

Dišni (stigmalni) otvori su smješteni lateralno iza četvrtog para koksi (*coxa IV*) okruženi pločicama (*peritremae*) koje mogu biti okrugle, ovalne, poput zareza, sa ili bez dlačica (Slika 1., Slika 7.) (ESTRADA-PEÑA i sur., 2004., 2017a.).

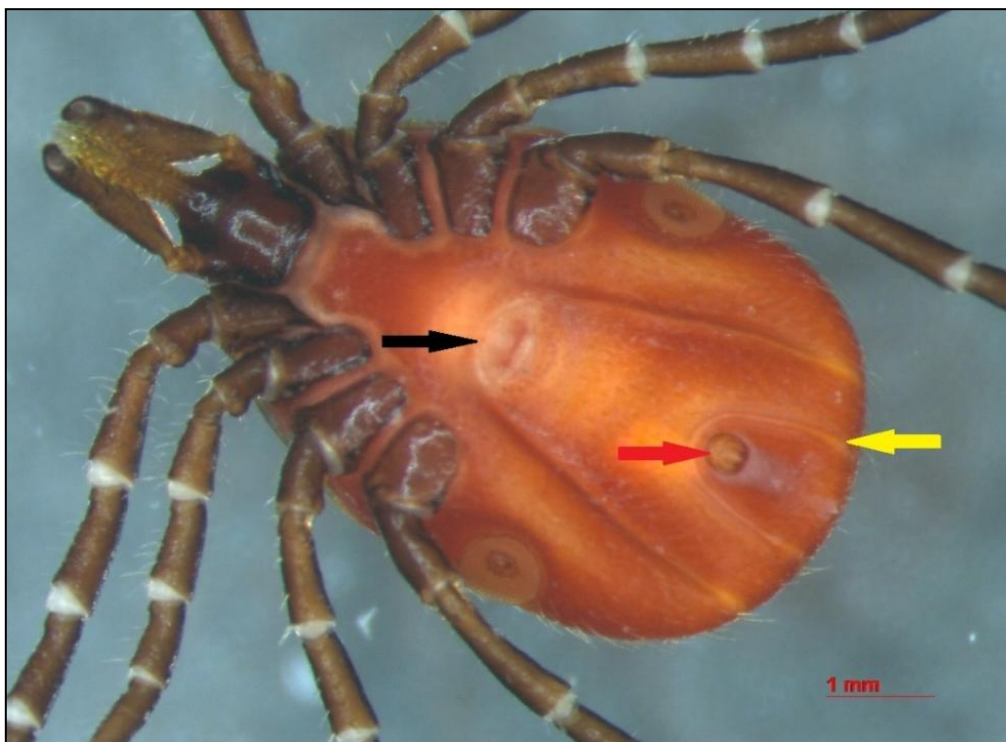


Slika 7. Dišni otvori okruženi peritremama  
(Izvor: Laboratorij za parazitologiju, HVI, Zagreb).

Na ventralnoj površini idiosome nalaze se analni i spolni otvor, analne brazde te analni štitovi/ploče u mužjaka nekih rodova (Slika 1.).

Spolni otvor je smješten u prednjoj trećini tijela samo u odraslih oblika dok u ličinki i nimfi nije prisutan. Ima izgled poprečne pukotine i obično se u nenasisanih krpelja nalazi u ravnini drugog para koksi, osim u krpelja iz roda *Ixodes* kod kojih je smješten u ravnini trećeg ili četvrtog para. Prekriven je hitinskom pločicom, a s prednje strane je ograničen brazdom. Spolni otvor u ženki formiraju dvije lateralne usne koje mogu imati izgled uskog ili širokog slova „U“ ili „V“, dok sam otvor može biti ravan, udubljen ili ispupčen i koriste se prilikom determinacije ženki rodova *Dermacentor*, *Rhipicephalus* i *Hyalomma* (ESTRADA-PEŃA i sur., 2004., 2017a.).

Analni otvor je smješten u stražnjoj trećini tijela i omeđen je sa prednje ili stražnje strane analnom brazdom. Analna brazda je u većine krpelja smještena sa stražnje, dok je jedino u krpelja iz roda *Ixodes* smještena sa prednje strane analnog otvora (Slika 8.).



Slika 8. Spolni otvor (crna strelica), analna brazda (žuta strelica) i analni otvor (crvena strelica) krpelja *Ixodes ricinus* (Izvor: Laboratorij za parazitologiju, HVI, Zagreb).

Mužjaci na ventralnoj strani idiosome mogu imati različito raspoređene sklerotizirane štitove. U mužjaka iz roda *Ixodes* izgledaju poput ravnih ploča, ima ih 7 (1 pregenitalna, 1 medijalna, 2 adanalne, 2 epimeralne, 1 analna) i prekrivaju cijelu ventralnu površinu idiosome (Slika 9.). Ventralni štitovi su u mužjaka iz rodova *Rhipicephalus* i *Hyalomma* su vidno izbočeni i formiraju adanalne (2), akcesorne (2) i subanalne (2 ili 4) ploče (Slika 9.), dok u mužjaka rodova *Dermacentor* i *Haemaphysalis* nisu izraženi (ESTRADA-PEÑA i sur., 2004., 2017a.).



Slika 9. Ventralne ploče mužjaka *Ixodes ricinus* (lijevo) i *Hyalommamarginatum* (desno)  
(Izvor: Laboratorij za parazitologiju, HVI, Zagreb).

Noge krpelja sastoje se od 6 članaka: prvi uz tijelo je koksa (*coxa*), zatim trohanter (*trochanter*), femur (*femur*), genu (*genu*), tibija (*tibia*) i posljednji tarsus (*tarsus*). Ličinke imaju tri, dok nimfe i adulti imaju četiri para nogu. Krpelji iz rodova *Amblyomma* i *Hyalomma* jedini imaju šarene noge (Slika 10.).

Koksa je spojena sa tijelom, a na njoj mogu biti jedan ili dva trnovita šiljka. Prvi par koksi se obično razlikuje po izgledu i broju šiljaka. Na prvoj koksi u krpelja iz roda *Haemaphysalis* prisutan je jedan, dok su dva šiljka prisutna u rodova *Dermacentor*, *Hyalomma* i *Rhipicephalus*. Većina vrsta iz roda *Ixodes* na prvoj koksi ima jedan šiljak, međutim u nekih vrsta mogu biti prisutna dva šiljka ili pak u potpunosti nedostajati. Trohanter

je manji, cilindričan i prvi pokretni članak nogu. U vrsta iz roda *Haemaphysalis* na trohanteru može biti prisutan mali trnoviti šiljak.

Na dorzalnoj površini tarzusa prvog para nogu nalazi se osjetni organ, tzv. Hallerov organ. Na završetku tarzusa nalazi se jastučić za prijanjanje (*pulvillum*) te 2 kandže (ESTRADA-PEÑA i sur., 2004., 2017a.).



Slika 10. Šarene noge krpelja *Hyalomma marginatum*

(Izvor: Laboratorij za parazitologiju, HVI, Zagreb).

Unutarnji organi krpelja su smješteni u cirkulirajućoj hemolimfi, koja predstavlja vodeni medij bogat solima, aminokiselinama, proteinima i hemocitima. Jednostavno srce je smješteno dorzalno u srednjem dijelu tijela (NICHOLSON i sur., 2019.). Probavni sustav krpelja sastoji se od usnog otvora koji počinje u rilu, slinskih žlijezda, ždrijela, kratkog jednjaka i crijeva koji se dijele na želudac, tanko i stražnje crijevo (NICHOLSON i sur., 2019.). Želudac ima nekoliko bočnih slijepih ogranaka koji preuzimaju znatnu količinu usisane krvi.

Parne slinske žlijezde su grozdaste, žuto bijele boje, razmještene bočno unutar tijela krpelja, između rila i stigmalnih otvora. Sastoje se od mnogobrojnih okruglastih mjehurića od kojih polaze tanke izvodne cijevi koje se ulijevaju u zajednički slinski kanal, koji završava u rilu (NICHOLSON i sur., 2019.).

Ekskretorni sustav krpelja sastoji se od tzv. Malpigijevih cjevčica koje se izljevaju u srednji dio crijeva i rektalni mjehur. Respiratorni sustav se sastoji od traheja, koje u vidu tankih cjevčica prolaze kroz kožu i bočne dijelove tijela i završavaju stigmalnim otvorima. Živčani sustav se sastoji od mozga, dva ždrijelna i niza ventralnih ganglija (NICHOLSON i sur., 2019.).

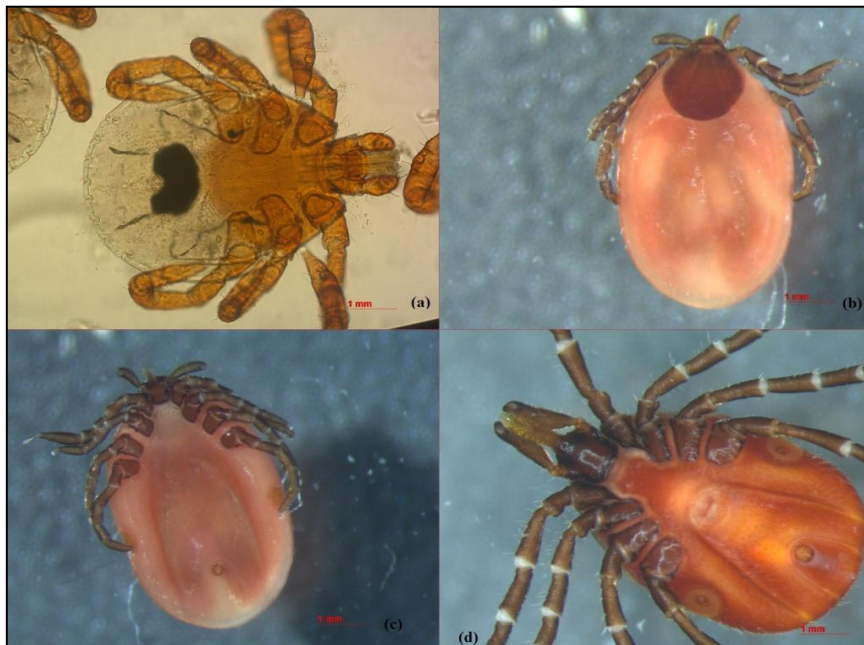
Reproduktivni organi mužjaka sastoje se od sjemenika, sjemenovoda, spolnog otvora i akcesornih spolnih žlijezda. Od njihovog sekreta formira se specijalna vrećica (spermatofora) u kojoj se nalaze spermatozoidi. Spolni sustav ženke sastoje se od ovarija, jajovoda, uterusa, vagine, spolne žlijezde, Geneovog organa i spolnog otvora (NICHOLSON i sur., 2019.).

## 2.3. BIOLOŠKE KARAKTERISTIKE KRPELJA IZ PORODICE IXODIDAE

### 2.3.1. Razvoj krpelja

Razvoj krpelja porodice Ixodidae je složen i uključuje tri stadija: ličinka (larva), nimfa i adult (mužjak i ženka) (Slika 11.).

Krpelji trebaju jednog, dva ili tri nositelja, te se dijele na monoksene, diksene ili triksene (ESTRADA-PEŃAISUR., 2004.). Monokseni krpelji poput *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus* čitav razvoj završavaju na jednom nositelju na kojemu se svi stadiji hrane i presvlače, a oplodena i nasisana ženka otpušta na tlo da bi položila jaja. Dikseni krpelji, primjerice *R. bursa* i *Hy. marginatum* trebaju dva nositelja. Ličinke se hrane i presvlače u nimfe na jednom nositelju, nakon hranjenja se nimfe otpuštaju na tlo gdje se presvlače u adulte koji se prihvaćaju na drugog nositelja gdje se hrane i pare (ESTRADA-PEŃAISUR., 2004., 2017a.). Treća i najbrojnija skupina su trikseni krpelji koji za potpuni razvoj parazitiraju na tri različita nositelja. Svaki razvojni stadij se nakon hranjenja otpušta, da bi se na tlu presvukao u idući stadij. Karakterističan je za krpelje iz rodova *Ixodes*, *Dermacentor*, *Haemaphysalis* i za neke vrste iz rodova *Rhipicephalus* (*R. sanguineus* s.l.) i *Hyalomma* (*Hy. lusitanicum*) (ESTRADA-PEŃAISUR., 2004., 2017a.).



Slika 11. Prikaz razvojnih stadija krpelja (ličinka (a), nimfa dorzalno (b), nimfa ventralno(c) i ženka (d)) (Izvor: Laboratorij za parazitologiju, HVI, Zagreb).

Prije parenja, ženke se hrane 5 do 20 dana povećavajući svoju veličinu 100 do 120 puta. Nakon parenja na nositelju, oplodene i nasisane ženke se otpuštaju na tlo i traže tamna, zaštićena mjesta sa dovoljno vlage za polaganje jaja najčešće ispod suhog lišća, pri korijenu grmlja i drugog raslinja te u pukotinama u zemlji ili gnijezdima glodavaca. Jaja polažu 10 do 15 dana nakon otpuštanja te potom ugibaju (ESTRADA-PEÑA i sur., 2004.). Prilikom polaganja jaja važnu ulogu ima Geneov organ koji izlučuje zaštitni voštani sekret i prekriva površinu jaja povećavajući njihovu otpornost na uvjete okoliša. Osim što osigurava zaštitu jaja od vlage i temperature, posjeduje i antimikrobna svojstva (XAVIER i sur., 2019.). Broj položenih jaja varira ovisno o vrsti krpelja od 1.500 do 20.000 (ESTRADA-PEÑA i sur., 2004.). Tako na primjer ženke *R. sanguineus* mogu položiti od 1.500 do 4.000 (DANTAS-TORRES i sur., 2013.), a ženke *D. reticulatus* od 3.000 do 7.200 jaja (FÖLDVÁRI i sur., 2016.).

Razvoj ličinki unutar jaja prosječno traje oko 10 dana, što ovisi o vrsti krpelja i uvjetima okoliša, a ponajviše o toplini i vlazi. Iz jaja izlazi ličinka koja se nakon hranjenja krvlju presvlači u nimfu. Embrioniranje jaja *R. sanguineus* s.l. može trajati 6 do 23 dana. Razvoj (presvlačenje) od ličinke nakon što izađe iz jaja do nimfe 5 do 15 dana, a nimfi do adultnog stadija od 9 do 47 dana (DANTAS-TORRES, 2008.). Ličinke se hrane 3 do 7 dana, a nimfe 4 do 10 dana. Po završetku hranjenja volumen tijela ličinki i nimfi se povećava 10 do 20 puta. Konačno, nimfa se presvlači u mužjake i ženke (adulti) (Slika 11.) (ESTRADA-PEÑA i sur., 2004.).

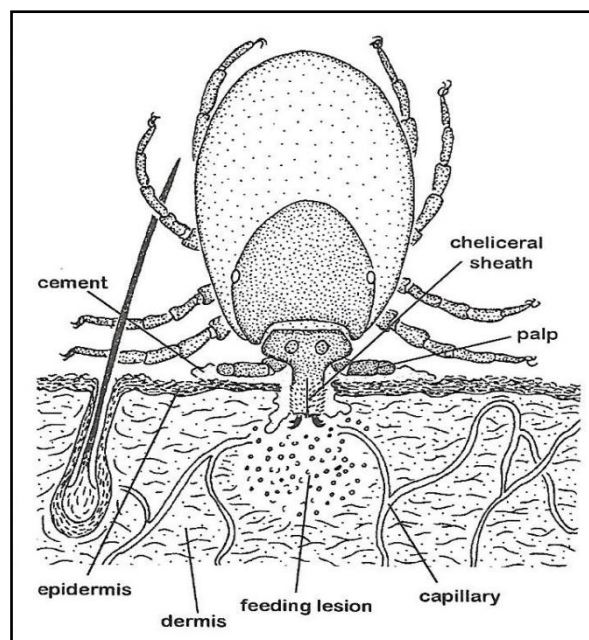
Trajanje razvojnog ciklusa ovisi o okolišnim čimbenicima (temperatura, relativna vlažnost, duljina dana), prisutnosti nositelja i vrsti krpelja (DANTAS-TORRES i sur., 2013., MEDLOCK i sur., 2013.). Razvoj monoksenih krpelja (*R. annulatus*) traje kraće od 2 mjeseca (ESTRADA-PEÑA i sur., 2017a.). Razvoj diksenih krpelja može trajati 73 do 97 dana kod *Hy. marginatum* ili čak do godine dana kod *R. bursa* (ESTRADA-PEÑA i sur., 2017a.). Trikseni krpelj, *R. sanguineus* s.l. ima razvoj kraći od 6 mjeseci (63 do 91 dan) (DANTAS-TORRES, 2008.), dok razvoj *I. ricinus*, *D. reticulatus* ili *H. punctata* traje od 1 do 3 godine (FÖLDVÁRI i sur., 2016.; ESTRADA-PEÑA i sur., 2017a.; SPRONG i sur., 2018.).

Krpelji imaju ograničenu sposobnost kretanja, ovisno o vrsti. Vrste iz rodova *Hyalomma* i *Amblyomma* su aktivni lovci, dok vrste iz rodova *Ixodes*, *Dermacentor* i *Haemaphysalis* uglavnom čekaju nositelja na vršnim dijelovima vegetacije (ESTRADA-PEÑA i sur., 2004.; DANTAS-TORRES, 2010.). Važnu ulogu ima tzv. Hallerov organ (osjetni organ), pomoću

kojeg osjete promjenu koncentracije ugljičnog dioksida (CO<sub>2</sub>) ili amonijaka u okolini (dah i/ili mokraća nositelja), toplinsko zračenje ili pak kretanje nositelja kroz obližnu vegetaciju.

Nakon pronalaska nositelja krpelji traže odgovarajuće mjesto za prihvaćanje, najčešće na području glave (uši, njuška), podbradka, aksile (pazuhi), ingvinalnog (prepone, mliječna žlijezda) ili interdigitalnog područja. Kožu nositelja zarezuju pomoću helicera i hipostoma, pri čemu dolazi do oštećenja tkiva, kapilara i stvaranja hranidbene lezije (Slika 12.) (ESTRADA-PEÑA i sur., 2004.). Krpelji iz rodova *Hyalomma* i *Amblyomma* zbog duljine hipostoma uzrokuju značajnija oštećenja u odnosu na vrste iz roda *Rhipicephalus* (JONGEJAN i UILENBERG, 2004.).

Učvršćuju se izlučivanjem tzv. "cementne" tvari koja se skrućuje i prodire kroz prvi sloj epidermisa (*stratum corneum*) (SZAZBÓ i sur., 1999.). Hranjenje započinje inokulacijem slinе kojom se osim prijenosa mikroorganizama, izlučuju brojne farmakološki aktivne tvari poput anestetika, vazodilatatora, antikoagulansa, inhibitora agregacije trombocita, antihistaminika ili inhibitora sustava komplementa. Na ovaj način inhibiraju koagulaciju krvi, upalne i imunološke reakcije organizma nositelja, te omogućavaju uspješno hranjenje. Ženke vrsta iz rodova *Ixodes* i *Dermacentor* slinom mogu izlučivati neurotoksin koji uzrokuje krpeljnu paralizu (ŠIMO i sur., 2017.).



Slika 12. Hranjenje ženke krpelja iz porodice Ixodidae  
(Izvor: ESTRADA-PEÑA i sur., 2004.).



### 2.3.2. Prijenos patogena

Krpelji mogu prenijeti različite vrste virusa, rikecija, bakterija i parazita te uzrokovati razvoj bolesti u primljivog nositelja. Poznato je da oko 10% od 920 do danas opisanih vrsta krpelja prenose patogene na životinje i ljude (JONGEAN i UILENBERG, 2004.; BARKER i MURRELL, 2008.). Postoji specijaliziranost patogena za pojedine vrste krpelja što ujedno određuje njihov vektorski potencijal, a posljedica je evolucijske prilagodbe vektora i patogena, a ne slučajnosti.

Mikroorganizmi se između razvojnih stadija krpelja prenose transstadijski. Svaki razvojni stadij krpelja može unijeti i prenijeti mikroorganizme koji se u njima umnažaju na novi stadij i/ili nosioca. Osim transtadijskog prijenosa, mogu se prenositi i transovarijski ili zajedničkim bliskim hranjenjem na istom nosiocu („*co-feeding*“, engl.). „*Co-feeding*“ je poseban način prijenosa patogena između krpelja prilikom zajedničkog bliskog hranjenja inficiranih ličinki i neinficiranih nimfi na istom nosiocu. Posebice je značajan za prijenos virusa krpelnog encefalitisa krpeljima vrste *Ixodes ricinus* (LABUDA i sur., 1993.; HAVLÍKOVÁ i sur., 2013.).

Transovarijski prijenos je rjeđi i omogućava dugotrajnije održavanje mikroorganizama unutar populacije krpelja i njihov prijenos bez ponovnog hranjenja na inficiranoj životinji (CHAUVIN i sur., 2009.; PANTCHEV i sur., 2015.). Dokazan je kod većine vrsta iz roda *Babesia* (CHAUVIN i sur., 2009.; BONNET i sur., 2007.; SOLANO-GALLEGU i BANETH, 2011.), rikecija kao *R. conori*, *R. raoultii* i *R. helvetica* (SPRONG i sur., 2009.; SOCOLOVSCHI i sur., 2009.; PAROLA i sur., 2013.), *B. burgdorferi* s.l. (ROLLENDISUR., 2013.; VAN DUIJVENDIJK i sur., 2016.) i virusa krpelnog encefalitisa (DANIELOVÁ i sur., 2002.).

Gotovo se svi mikroorganizmi prenose slinom krpelja prilikom hranjenja krvlju, osim vrsta iz roda *Hepatozoon* koji se prenose ingestijom krpelja s invazijskim stadijima. Jedan od dobro istraženih primjera predstavlja prijenos vrste *H. canis* krpeljem *R. sanguineus* s.l. u pasa (BANETH, 2011.).

Prijenos s krpelja na žrtvu ovisi ponajprije o vrsti samog patogena. Virus krpelnog encefalitisa se prenosi u trenutku prihvaćanja, dok je ostalim patogenima potrebno od nekoliko sati do nekoliko dana. *Babesia canis* se prenosi unutar 48 do 72 sata, međutim pokusno je dokazan mehanički prijenos unutar 8 do 24 sata mužjacima koji su prethodno

započeli hranjenje i prešli na novu žrtvu (VARLOUD i sur., 2018.). Isto tako uzročnik monocitne erlihioze pasa *Ehrlichia canis* se može adultima (ženkama i mužjacima) *Rhipicephalus sanguineus* prenijeti već unutar 3 sata od početka hranjenja (FOURIE i sur., 2013.).

Učinkovitost prijenosa ovisi i o brzini razvoja imunološkog odgovora nositelja i sposobnosti patogena da izbjegne imunološku reakciju organizma. Mehanizam uspješnog izbjegavanja imunološkog odgovora je najbolje objašnjen kod bakterija iz kompleksa *B. burgdorferi* s.l.. Borelije sadrže različite vrste membranskih proteina (Osp, *outer membrane surface proteins*, engl.). U crijevima krpelja je ključan protein OspA (*outer membrane surface protein A*, engl.) pomoću kojeg se vežu za receptore stanične stijenke. Prilikom uzimanja krvnog obroka potaknute krvlju migriraju u slinske žlijezde. Unutar 36 do 48 sati počinju izlučivati OspC (*outer membrane surface protein C*, engl.) koji se veže za proteine slinske žlijezde i inducira proizvodnju proteina Salp15 (*secreted salivary proteins*, engl.) (KENEDY i sur., 2012.; ŠIMO i sur., 2015.). Zajedno s VLSe proteinom (*Variable major proteine like sequence expressed*, engl.) štiti borelije jer inhibiraju imunološki odgovor nositelja (PANTCHEV i sur., 2015.; ŠIMO i sur., 2015.).

Povišena temperatura okoliša ubrzava metabolizam iskraćuje život krpelja što dovodi do povećanog intenziteta hranjenja na nositeljima i mogućnost prijenosa patogena (DANTAS-TORRES i sur., 2013.; MEDLOCK i sur., 2013.).

Patogeni se mogu prenositi i bez prihvaćanja ili ingestije krpelja. Dokazan je transplacentarni prijenos *B. gibsoni* (FUKUMOTO i sur., 2005.), te prijenos direktnim kontaktom između pasa ugriznim ranama, posebice u borbenih pasa (pitbul, tosa inu) (JEFFERIES i sur., 2007.; YEAGLEY i sur., 2009.). Dokazan je i prijenos transfuzijom krvi *B. canis* i *B. gibsoni* (STEGEMAN i sur., 2003.).

## **2.4. PROŠIRENOST I VEKTORSKI ZNAČAJ NAJZNAČAJNIJIH RODOVA PORODICE IXODIDAE**

Porodica Ixodidae uključuje približno 720 vrsta unutar 14 rodova od kojih su na području Europe najznačajniji: *Ixodes* (249 vrsta), *Haemaphysalis* (166 vrsta), *Amblyomma* (143 vrste), *Rhipicephalus* (82 vrste), *Dermacentor* (36 vrsta) i *Hyalomma* (27 vrsta) (BARKER i MURRELL, 2008.; GUGLIELMONE i sur., 2010.).

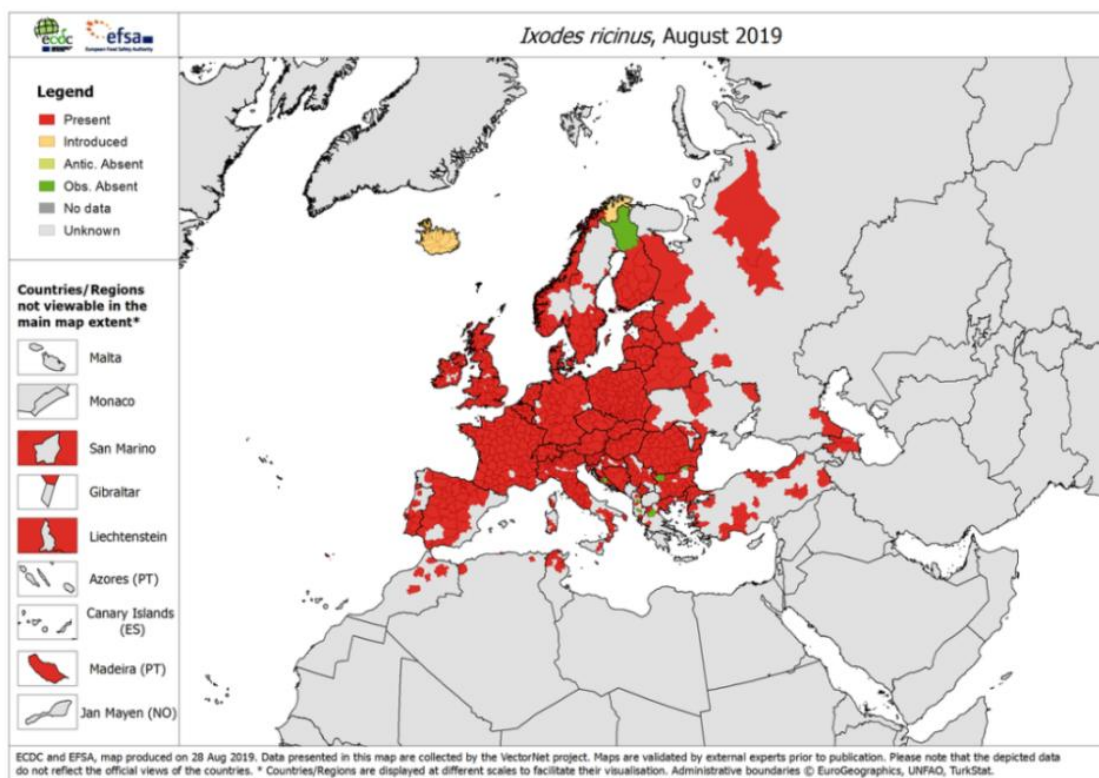
Prve studije o poznavanju krpelja porodice Ixodidae na području RH je proveo OSWALD prije gotovo 80 godina (1940., 1941a., 1941b.), dok je KRČMAR 2012. godine u preglednom radu dao cjelovit popis pet rodova i 21 vrste krpelja unutar porodice Ixodidae do sada opisanih u RH. Najrasprostranjeniji rod čine krpelji iz roda *Ixodes* sa osam opisanih vrsta, potom *Harmaphysalis* sa šest, *Rhipicephalus* sa četiri, dok su rodovi *Dermacentor* i *Hyalomma* zastupljeni sa po dvije vrste (KRČMAR, 2012.).

### **2.4.1. Rod *Ixodes***

#### **2.4.1.1. Proširenost i vrste krpelja iz roda *Ixodes***

Krpelji iz roda *Ixodes* predstavljaju najbrojniji rod unutar porodice Ixodidae sa opisanih 249 vrsta koje su grupirane u devet podredova (BARKER i MURRELL, 2008.; GUGLIELMONE i sur., 2010.; ESTRADA-PEÑA i sur., 2017a.). U Tablici 1. je zbirni prikaz proširenosti 23 vrste dokazane na području Europe.

Najistraživaniji i najrasprostranjeniji krpelj *Ixodes ricinus* je vektor najznačajnijih uzročnika u Europi, lajmske bolesti i krpeljnog encefalitisa (PETNEY i sur., 2012.; ECDC, 2019a.). Rasprostranjen je diljem cijele Europe, od Velike Britanije do Turske na istoku, južne Finske na sjeveru te južne Italije na jugu. Na području sjevero-istočne Europe (Finska, Estonija, Latvija, Litva) se preklapa s distribucijom srodne vrste *I. persulcatus* (Slika 13.). Istraživanja koja su proveli MATERNA i sur. (2008.), JORE i sur., (2011.) i MEDLOCK i sur., (2013.) ukazuju na širenje *I. ricinus* prema sjeveru, a u Skandinavskim zemljama na više nadmorske visine u planinskim područjima.



Slika 13. Proširenost *I. ricinus* na području Europe (Izvor: ECDC, 2019a.).

U istraživanjima temeljenim na morfološkoj determinaciji u Hrvatskoj je opisano osam vrsta krpelja roda *Ixodes*: *I. ricinus*, *I. hexagonus*, *I. gibbosus*, *I. frontalis*, *I. vespertilionis*, *I. trianguliceps*, *I. arboricola* i *I. canisuga* (RIJPKEMA i sur., 1996.; PUNDA-POLIĆ i sur., 2002.; DUH i sur., 2003., 2008.; BECK i sur., 2010b., 2016b.; KRČMAR i sur., 2012., 2014., 2019.; PINTUR i sur., 2012b.; TIJSSE-KLASSEN i sur., 2013a.; JEMERŠIĆ i sur., 2014.). U Tablici 2. je prikazana proširenost morfološki determiniranih vrsta roda *Ixodes* i njihovih nositelja.

Tablica 1. Vrste krpelja iz roda *Ixodes* opisane na području Europe.  
(Preuzeto iz: PETNEY i sur., 2012.; ESTRADA-PEÑA i sur., 2017a.).

PODVRSTA	VRSTA KRPELJA	VRSTA ŽIVOTINJE	PROŠIRENOST
<i>Ixodes</i>	<i>I. ricinus</i>	Većina životinjskih vrsta, ljudi	Europa
	<i>I. persulcatus</i>	Ovca, govedo, konj, pas, jelen, čovjek, ptice, mali glodavci	sjeveroistočna Europa
	<i>I. gibbosus</i>	Govedo, ovca, koza, pas, divlji kopitari	južna (Italija) i jugoistočna (Grčka, Turska) Europa
	<i>I. ventraloi</i>	Zec, ris, lisica, jež, mačka, ljudi	Engleska, Francuska, Španjolska, Portugal, Italija
	<i>I. acuminatus</i>	Mali glodavci, lisice, jazavac, kuna, čovjek	Engleska, Belgija, Italija, Mađarska, Portugal, Španjolska, Rumunjska, Bugarska, Francuska
	<i>I. apronophorus</i>	Mali glodavci, ptice, lisice, divlje svinje	zapadna (Engleska, Francuska), središnja (Češka, Njemačka, Švicarska, Poljska, Mađarska, Austrija Slovačka, ), sjeverna (Latvija) i jugoistočna Europa (Rumunjska, Moldavija, Ukrajina, Bugarska)
	<i>I. inopinatus</i>	Lisica	Španjolska, Portugal, Njemačka, Austrija, Rumunjska
	<i>I. laguri</i>	Mali glodavci, jež, mali mesojedi	Austrija, Bugarska, Estonija, Mađarska, Latvija, Litva, Moldavija, Rumunjska, Slovačka, Ukrajina
<i>Pholeoixodes</i>	<i>I. hexagonus</i>	Jež, lisica, tvor, kuna, bjelica, pas, mačka, ovca, konj	zapadna, srednja, jugoistočna i južna Europa
	<i>I. canisuga</i>	Lisica, jazavac, kuna, bjelica, tvor, pas, mačka, ovca	zapadna (Francuska, Engleska, Nizozemska), srednja (Švicarska, Mađarska, Austrija), južna (Španjolska) i jugoistočna (Rumunjska) Europa
	<i>I. arboricola</i>	Ptice	zapadna (Engleska, Francuska, Belgija, ), središnja (Njemačka, Nizozemska, Austrija, Češka, Poljska Slovačka, Švicarska, Mađarska), sjeverna (Finska, Danska, Norveška, Švedska, ) južna (Italija), istočna (Rusija) i jugoistočna (Rumunjska) Europa
	<i>I. crenulatus</i>	Lisica, jazavac, jež, čagalj, pas	Poljska, Rumunjska, Bugarska
	<i>I. lividus</i>	Ptice	zapadna (Irska, Engleska, Francuska, Belgija, Nizozemska), središnja (Njemačka, Mađarska, Slovenija, Češka), sjeverna (Danska, Norveška, Švedska) i jugoistočna (Rumunjska, Bugarska)
	<i>I. rugicolis</i>	Kune, pas, mačka, lisica	Francuska, Švicarska, Njemačka, Austrija, Poljska, Rumunjska
	<i>I. kaiseri</i>	Lisice, psi	Njemačka, Mađarska, Rumunjska, Srbija, Malta
<i>Trichotoixodes</i>	<i>I. frontalis</i>	Ptice, jazavci, kune	zapadna (Engleska, Francuska, Belgija, Nizozemska, ), središnja (Njemačka, Mađarska, Češka, Slovačka, Poljska, Švicarska, austrija), sjeverna (Danska, Norveška, Švedska, Finska), južna (Italija, Španjolska, Portugal, ), istočna (Rusija, Ukrajina) i jugoistočna (Srbija, Bugarska)
<i>Eschatocephalus</i>	<i>I. vespertilionis</i>	Šišmiši	Europa (osim Finske i Švedske)
	<i>I. simplex</i>	Šišmiši	središnja (Njemačka, Poljska, Češka, Mađarska, Slovačka), južna (Portugal, Španjolska) i jugoistočna (Grčka, Rumunjska, Srbija, Bugarska)
	<i>I. ariadnae</i>	Šišmiši	Mađarska, Njemačka, Belgija
<i>Exopalpiger</i>	<i>I. trianguliceps</i>	Glodavci, jež, voluharice	zapadna (Engleska, Francuska, Nizozemska, ), središnja (Njemačka, Poljska, Austrija, Švicarska, Češka, Mađarska), sjeverna (Danska, Švedska, Norveška, Finska), južna (Italija, Španjolska, ) i jugoistočna (Bugarska, Rumunjska) Europa
<i>Ceratixodes</i>	<i>I. uriae</i>	Ptice	Engleska, Island, Francuska, Norveška, Finska
<i>Scaphixodes</i>	<i>I. caledonicus</i>	Ptice	Francuska, Švicarska, Njemačka, Poljska, Danska
	<i>I. unicavatus</i>	Ptice	Engleska, Francuska, Nizozemska, Švedska
<i>Multidentatus</i>	<i>I. rothschildi</i>	Ptice	Francuska, Engleska

Tablica 2. Vrste krpelja iz roda *Ixodes* morfološki determinirane na području Hrvatske.

VRSTA KRPELJA	VRSTA ŽIVOTINJE	LOKACIJA PRIKUPLJANJA	REFERENCA
<i>I. arboricola</i>	Kos	Zagreb	KRČMAR, 2012.
<i>I. frontalis</i>	Kuna bjelica; kugara	Velebit, Zagreb; Dubrovnik	KRČMAR, 2012.
<i>I. gibbosus</i>	Ovca, okoliš	Brač	KRČMAR, 2012.
<i>I. hexagonus</i>	Konj, govedo	Dugo Selo, Zagreb	KRČMAR, 2012.
	Jež, kuna zlatica	Velika Kapela; Dugo Selo	
	Pas	Đakovo	
	Okoliš, jež	Lug, Zmajevac	KRČMAR, 2019.
	Lisica	Zagrebačka, Varaždinska, Krapinsko-Zagorska županija	JEMERŠĆ i sur., 2014.
	Lisica	Jastrebarsko	HORNOK i sur., 2017a.
<i>I. ricinus</i>	Ovca, koza, govedo, konj, magarac	Pula, Cres, Lošinj, Zadar, Split, Brač, Dubrovnik	KRČMAR, 2012.
	Konj	Vinkovci, Vukovar, Otok	KRČMAR, 2019.
	Ovca	Pag	BECK i sur., 2016b.
	Krška gušterica	Rovinj, Unije	KRČMAR, 2012.
	Primorska gušterica	Tovarjež, Lakal, Kaversada, Figarola, Banjol, Sveti Ivan, Velika Sestrica, Pišulj, Zeča, Susak, Oruda, Školjić, Sveti Petar	
	Okoliš	Zagreb, Dugo Selo, Stručec, Petrinja, Stara Ves, Mikleuš	KRČMAR, 2012.
		Zagreb, Čakovec, Slavonski Brod, Haljevo, B. Manastir, Lug, Sv. Đurad, Draž, Zmajevac, P. Moslavina, Spačva, Tompojevci, Topoline, Podravlje, Podolje, V. Kopanica, Koška, Čeminac, Erdut	RIJPKEMA i sur., 1996.; BECK i sur., 2010b.; TIJSSE-KLASSEN i sur., 2013a.; KRČMAR i sur., 2014., 2019.
	Kuna zlatica; kuna bjelica	Zagreb; Haljevo, Spačva,	KRČMAR, 2012., 2019.
	Mali glodavci	Velika Kapela, Vratovo, Plitvice, Vukomeričke Gorice, Kozjak	KRČMAR, 2012.
	Srna obična	Dugo Selo, Dekanovec, Nedelišće	KRČMAR, 2012.
		Gorski kotar (Lipov vrh)	PINTUR i sur., 2012b.
	Jelen obični	Haljevo, Beli Manastir, Spačva, Sotin, Podravska Moslavina, Podravlje	KRČMAR, 2019.
	Obični škanjac	Dubrovnik	KRČMAR, 2012.
	Svraka; svilorepa	Stara Ves, Baćinska jezera	
	Slavuj, kos; drozd	Biograd (Vrana), Metković	
	Mačka	Zmajevac, Vinkovci, Otok, Donji Andrijevi, Lug, Vukovar, Erdut, Orahovica, Bilje, Piškorevci, Popovac	KRČMAR, 2012., 2019.
	Pas	Đakovo, Sungerski Lug, Mikleuš	KRČMAR, 2012.
		Haljevo, Beli Manastir, Zmajevac, Grabovac, Lug, D. Andrijevi, Vukovar, Vinkovci, Sotin, Orahovica, Lovas, Kunjevci, Otok, Vrbanja, P. Moslavina	KRČMAR i sur., 2014., 2019.
	Čovjek	Zmajevac	KRČMAR, 2012.
	Mali šumski glodavci	Velebit, Učka, Gorski kotar, Velika Kapela, Plitvice, Križevci Medvednica, Vukomeričke gorice	KRČMAR, 2012.
Lisica	Varaždinska, Krapinsko-Zagorska, Zagrebačka, GradZagreb, Bjelovarsko-Bilogorska, Sisačko-moslavačka i Karlovačka županija; Haljevo, Spačva, Lug	JEMERŠIĆ i sur., 2014.; KRČMAR, 2019.	
<i>I. vespertilionis</i>	Šišmiš	Dubrovnik, Cres	KRČMAR, 2012.
<i>I. canisuga</i>	Okoliš, jazavac, lisica	Mitrovac, Vukovar; Jastrebarsko	KRČMAR, 2019.; HORNOK i sur., 2017a.
<i>I. trianguliceps</i>	Šumska voluharica	Rijeka, Učka, Lika, Velebit, Split, Medvednica, Križevci	KRČMAR, 2012.

#### 2.4.1.2. Genska istraživanja krpelja iz roda *Ixodes*

Do danas je provedeno nekoliko genskih istraživanja krpelja iz roda *Ixodes*. Genetsku raznolikost najrasprostranjenijeg krpelja *I. ricinus* istraživali su XU i sur., (2003.), CASATI i sur., (2008.), NOUREDDINE i sur., (2011.), ROED i sur., (2016.) i VIKSE i sur.,(2020.).

XU i sur., (2003.) smatraju da se radi o složenoj vrsti *Ixodes ricinus* kompleks koja se sastoji od 15 blisko povezanih vrsta rasprostranjenih u različitim dijelovima svijeta sa gotovo identičnim morfološkim obilježjima i vektorskim kapacitetom.

Istraživanje CASATIJA i sur., (2008.) se temeljilo na sekvenciranju više mitohondrijskih gena poput *Cyt B*, *12S rDNA*, *COI*, *COII* i visoko polimorfnoj kontrolnoj regiji (*CR*) 26 krpelja *I. ricinus* prikupljenih u šest europskih zemalja. Autori su pokazali postojanje niske genetske varijacije u svih pet mtDNA (*mitochondrial DNA*, engl.) sekvenci i da ne postoji korelacija između identificiranih haplotipova sa njihovim zemljopisnim podrijetlom. NOUREDDINE i sur., (2011.) su istraživali genetske razlike između populacija *I. ricinus* u Euroaziji i sjevernoj Africi analizom dva mitohondrijska i četiri jezgrina gena. Zaključili su da postoji veliki broj različitih haplotipova u Europi s vrlo niskom nukleotidnom razlikom. Uočili su da su slične razlike i na mikro i na makro razini populacija bez obzira na mjesto uzorkovanja. Također su izvijestili izostanak jasne filogeografske strukture između različitih europskih haplotipova *I. ricinus*, dok su uzorci iz sjeverne Afrike tvorili divergentnu filogensku grupu.

ROED i sur., (2016.) su analizom mitohondrijskih gena (*Cyt B* i *CR*) potvrdili postojanje tri genetske linije i to one iz Velike Britanije, potom Zapadne Norveške, dok treću predstavljaju uzorci iz Sjeverozapadne Europe (Švedska, Danska, Finska, Njemačka, Poljska, Češka). Najnovijim istraživanjem cjelokupne mitohondrijske DNK VIKSE i sur. (2020.) su potvrdili rezultate istraživanja CASATIJA i sur., (2008.) i NOUREDDINEA i sur. (2011.).

LATROFA i sur., (2016.) su proveli morfološka i genetska istraživanja 96 krpelja *Ixodes ventalloi* sa Sicilije. Po prvi puta su objektivno povezali morfologiju krpelja sa genskim istraživanjem te su zaključili da postoji 16 različitih haplotipova sa genskom varijabilnosti od 5% unutar istraživane populacije, ali bez morfološke različitosti.

WODECKA i sur., (2016.) su istraživali vrste roda *Ixodes* umnažanjem odsječaka *ITS-2* regije i njihove restrikcije u Poljskoj sa lisica i rankunskih pasa. Pokazali su primijenjivost metode

za razlikovanje vrsta *I. ricinus*, *I. hexagonus* i *I. canisuga* temeljem veličine restrikcijskih odsječaka bez dodatnog sekvenciranja.

Heterogenost populacija *I. canisuga*, *I. kaiseri* i *I. hexagonus* dokazali su i HORNOK i sur. (2017b.). Analizirali su krpelje sekvenciranjem odsječaka *COXI* i *16S rDNA* iz različitih zemalja Europe te su dokazali veći broj haplotiva korištenjem *COXI* gena nego *16S rDNA*. Ovim istraživanjem su po prvi puta molekularno dokazane vrste *I. canisuga* i *I. hexagonus* s lisica iz Jastrebarskog u Hrvatskoj.

### **2.4.1.3. Vektorski kapacitet krpelja iz roda *Ixodes***

#### **2.4.1.3.1. *Ixodes ricinus***

*Ixodes ricinus* je vektor protozoa, bakterija i virusa: *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi* s.l., *Borrelia myamotoi*, „*Candidatus* Neoehrlichia mikurensis”, *Babesia divergens*, *B. venatorum*, *B. microtti*, *Theileria capreoli*, virusa krpeljnog encefalitisa te rikecija *R. monacensis* i *R. helvetivca* (SPRONG i sur., 2018.). Svi navedeni patogeni, izuzev *T. capreoli* su zoonoze.

Najznačajnije krpeljno prenosive bolesti ljudi u Europi su lajmska bolest uzrokovana bakterijama iz kompleksa *Borrelia burgdorferi* s.l. i krpeljni encefalitis uzrokovan istoimenim virusom (RIZZOLI i sur., 2011.; RICCARDI i sur., 2019.). Obje bolesti dominiraju kontinentalnom Hrvatskom gdje je *I. ricinus* najučestaliji (RIJPKEMA i sur., 1996.; MULIĆ i sur., 2011.).

Rod *Borrelia* se sastoji od dvije skupine: uzročnika lajmske bolesti i povratne groznice (*relapsing fever group*, engl.) (CUTLER i sur., 2019.; RIZZOLI i sur., 2011.). Kompleks *B. burgdorferi* s.l. se sastoji od 18 genetskih vrsta od kojih je sedam dokazano patogenih za ljude prisutno u Europi: *B. afzeli*, *B. garinii*, *B. bavariensis*, *B. spielmanii*, *B. burgdorferi* sensu stricto, *B. lusitaniae*, *B. valasiana* i *B. bissetii* (RIZZOLI i sur., 2011.). Osim karakterističnog simptoma „*erithema migrans*“, povezuju se i sa drugim kliničkim manifestacijama poput artritisa i neuroborelioze uzrokovane s *B. burgdorferi* s.s., neuroborelioze uzrokovane s *B. garinii* i atrofičnim kroničnim akrodermatitisom s *B. afzeli* (RIZZOLI i sur., 2011.).



Prve slučajevne bolesti ljudi opisane tada kao *erythema chronicum migrans* u Hrvatskoj opisao je FORENBACHER, 1940. godine. Endemskim područjem se danas smatra sjeverozapadna Hrvatska, a sporadični slučajevi bolesti dokazani su na području Gorskog kotara, okolice Rijeke i Slavenskog Broda (BORČIĆ i sur., 1999., 2001.; POLJAK i sur., 2000.; MULIĆ i sur., 2011.; TIJSSE–KLASEN i sur., 2013a.). U istraživanju koje su proveli TIJSSE–KLASEN i sur., (2013a.) iz biopsata kože ljudi s „*erythema migrans*“ dokazane su 3 genetske vrste. Najučestalija je bila *B. afzelli*, potom *B. garinii* na području Čakovca i Slavenskog Broda, dok je *B. bavariensis* dokazana na području Rijeke. Prema podacima Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo (HZJZ) u 2017. godini je bilo 429, dok je u 2016. godini taj broj bio nešto viši, sa ukupno 468 prijavljenih slučajeva (ZBHRV16.; ZBHRV17.).

Genetske vrste kompleksa *B. burgdorferi* s.l. dokazane u *I. ricinus* u Europi su *B. afzelii*, *B. garinii* i *B. valasiana*, potom *B. spielmanii* i *B. burgdorferi* s.s., te *B. lusitaniae* (RAUTER i HARTUNG, 2005.; ESTRADA-PENJA i sur., 2018.). ESTRADA-PENA i sur. (2018.) su objedinili rezultate istraživanja *B. burgdorferi* s.l. u krpelju *I. ricinus* iz okoliša periodu od 2010. do 2017. godine u Europi. U ukupno 82.004 pretraženih krpelja *I. ricinus* najučestalija vrsta je bila *B. afzelli* (558), potom *B. garinii* (552), *B. burgdorferi* s.s. (404), *B. valaisiana* (373), *B. lusitaniae* (78) i *B. spielmanii* (61), čime su potvrdili rezultate istraživanja RAUTERA i HARTUNGA (2005.).

U Hrvatskoj je provedeno nekoliko molekularnih istraživanja *B. burgdorferi* s.l. u krpelja *I. ricinus* iz okoliša (RIJPKEMA i sur., 1996.; BECK i sur., 2010b.; TIJSSE-KLASEN i sur., 2013a.). Prvo istraživanje su proveli RIJPKEMA i sur., 1996. godine području Čakovca. Autori su dokazali DNK četiri genetske vrste: *B. afzeli* (21%; 26/124), *B. garinii* (4%; 5/124), *B. valasiana* (4%; 5/124) i *B. burgdorferi* s.s. (0,8%; 1/124) (RIJPKEMA i sur., 1996.). U preliminarnom istraživanju na području Zagreba BECK i sur., (2010b.) su u skupnim uzorcima *I. ricinus* iz okoliša sekvenciranjem dokazali DNK *B. garinii*, *B. afzelii*, *B. burgdorferi* s.s. i *B. valaisiana*. Slične rezultate istraživanja dobili su TIJSSE-KLASEN i sur. (2013a.). Na području Slavenskog Broda u *I. ricinus* iz okoliša dokazali su DNK *B. afzeli* (51%; 55/108), *B. garinii* (27%; 29/108), *B. lusitaneae* (9,2%; 10/108), *B. valasiana* (7,4%; 8/108), *B. spielmanii* (0,9%; 1/108) i *B. burgdorferi* s.s. (4,6%; 5/108).

Osim istraživanja u krpeljima, provedena su dva sustavna istraživanja o seroprevalenciji *B. burgdorferi* s.l. u pasa. JURKOVIĆ i sur., (2019a.) su dokazali nisku učestalost protutijela od 0,4% (6/1.433) na *B. burgdorferi* s.l. u istraživanju na tri skupine pasa (naizgled zdravi, bolesni i uginuli psi) sa sličnom distribucijom među skupinama. MRLJAK i sur., (2017.) su u naizgled zdravih pasa utvrdili nešto višu učestalost od 0,7%

(3/435). Najveća učestalost je utvrđena na području kontinentalne Hrvatske, no protutijela su dokazana i u tri naizgled zdrava psa na području Rijeke, Dubrovnika (MRLJAK i sur., 2017.) i Splita (JURKOVIĆ i sur., 2019a.).

Tijekom posljednjeg desetljeća, otkrivene su nove vrste borelija, poput vrste *Borrelia miyamotoi* (CUTLER i sur., 2019.). Prvi slučaj bolesti u ljudi potvrdili su PLATONOV i sur., 2011. godine u Rusiji, a nedavno su CUTLER i sur., (2019.) u preglednom radu opisali slučajeve u pacijenta sa znakovima meningoencefalitisa u Nizozemskoj i Njemačkoj. Spada u skupinu uzročnika povratne groznice i prenosi se krpeljima šikare. Prvi puta je dokazana u krpelju *I. persulcatus* 1994. godine u Japanu (FUKUNAGA i sur., 1995.). Do danas je dokazana u krpeljima *I. ricinus* iz okoliša u zemljama diljem Europe, kao što je Italija (RAVAGNAN i sur., 2018.), Španjolska (REMESAR i sur., 2019a.), Francuska (BOYER i sur., 2020.), Švicarska (OECHSLIN i sur., 2017.), Njemačka (SZEKERES i sur., 2017.), Slovačka (HAMŠÍKOVÁ i sur., 2017.), Poljska (KUBIAK i sur., 2019.), Rumunjska (KALMÁR i sur., 2016.) i Srbija (POTKONJAK i sur., 2019.).

Krpeljni encefalitis je endemičan na području središnje i sjeverne Europe, te Rusije. U Europi je u periodu od 2012. do 2016. godine bilo 12.500 prijavljenih slučajeva bolesti u ljudi (BEAUTÉ i sur., 2018.; RICCARDI i sur., 2019.). Uzrokovan je kompleksom virusa krpeljnog encefalitisa (Rod *Flavivirus*, Porodica *Flaviviridae*) koji se sastoji od tri podtipa: europski koji prenosi *I. ricinus*, te sibirski i dalekoistočni koje prenosi *I. persulcatus*. Najvažniji rezervoar su mali glodavci (HAVLIKOVA i sur., 2013.), a virus se unutar populacije krpelja prenosi zajedničkim bliskim hranjenjem („*co-feeding*“, engl.) i zatim transtadijski.

Krpeljni encefalitis su prvi puta u ljudi u RH opisali 1953. godine VESENJAK-HIRJAN i sur., (1976.) u sjevero-zapadnoj Hrvatskoj, dok su nakon gotovo 70 godina otkrivena žarišta na području Gorskog kotara (BORČIĆ i sur., 2001.) i srednje Posavine (MILETIĆ-MEDVED i sur., 2011.). Na području RH je i danas endemičan u sjeverozapadnom dijelu (MULIĆ i sur., 2011.; VILIBIĆ-ČAVLEK i sur., 2014.). Tijekom 2017. godine u Hrvatskoj je prijavljeno 10 slučajeva oboljenja ljudi, dok je taj broj u 2016. iznosio svega 6 slučajeva (ZBHRV16.; ZBHRV17.).

JEMERŠIĆ i sur., (2014.) su do sada proveli jedino istraživanje krpelja u RH kojime je virus dokazan u 5,7% *I. ricinus* (20/346) i 17,6% *I. hexagonus* (3/17) sa lisica, te u uzorcima slezena dva jelena (1,1%; 2/182) na području kontinentalne Hrvatske.

*Anaplasma phagocytophilum* je obligatna intracelularna alfa-proteobakterija (Rod *Anaplasma*, Porodica: Anaplasmacetaceae) koju na području Europe prenose *I. ricinus* i *I. persulcatus*. Uzročnik je granulomatozne anaplazmoze ljudi i životinja (DUGAT i sur., 2015.; MATEI i sur., 2019.). Rasprostranjena je na gotovo čitavom području Europe i dokazana u različitim vrstama divljih životinja (divlji preživači, medvjed, lisica, divlja svinja), domaćih životinja (domaći preživači, konj, magarac), malim glodavcima, pticama, psima, mačkama i ljudima (STUEN i sur., 2013.; SAINZ i sur., 2015.; MATEI i sur., 2019.). Danas se smatra složenom vrstom jer je sekvenciranjem *16S rRNA* dokazano 15 genskih varijanti na području Europe, SAD-a i Rusije (RAR i GOLOVLJOVA, 2011.), dok je analizom *groESL* (*chaperone protein encoding gene*, engl.) gena dokazano više različitih ekotipova (I-IV) i osam skupina koje cirkuliraju ovisno o strukturi staništa i prisutnosti odgovarajućih nositelja i/ili rezervoara (JAHFARI i sur., 2014.; JAARSMA i sur., 2019.; MATEI i sur., 2019.).

U Hrvatskoj je provedeno jedno istraživanje anaplazmi u ljudi i nekoliko istraživanja u životinja. ĐAKOVIĆ–RODE i sur.(2015.) su opisali tri slučaja humane anaplazmoze na temelju porasta razine protutijela u parnim serumima, ali bez genske tipizacije uzročnika. U istraživanjima koje su proveli MRLJAK i sur., (2017.) i JURKOVIĆ i sur., (2019a.), učestalost protutijela na *Anaplasma* spp. u pasa je SNAP<sup>®</sup>4Dx i SNAP<sup>®</sup>4Dx<sup>®</sup> Plus testovima iznosila 6,2% (27/435) i 4,5% (64/1433) slično kao u većini europskih studija (SAINZ i sur., 2015.). JURKOVIĆ i sur., (2019a.). su utvrdili višu učestalost protutijela u naizgled zdravih (5,4%, 41/753) nego u bolesnih (3,4%, 21/617) ili uginulih (3,2%, 2/63) pasa.

Molekularnim istraživanjem u krvi naizgled zdravih pasa HUBER i sur., (2017.) su dokazali veću učestalost vrste *A. platys* (2,5%, 27/1.080) nego *A. phagocytophilum* (0,3%, 3/1.080). Učestalost *A. phagocytophilum* je bila nešto veća u pasa u kontinentalnoj Hrvatskoj (0,8%, 2/242) nego u priobalju (0,1%, 1/712). BECK i sur., (2019.) su *A. phagocytophilum* dokazali u uzorcima bubrega, pluća i miokarda tri psa uginulih od posljedica hemolitičke anemije i diseminirane intravaskularne koagulopatije. Osim u pasa molekularno je dokazana u kobile iz Slavonije (GOTIĆ i sur., 2017.), te u uzorcima slezena malih šumskih glodavaca, divljih preživača poput srne, jelena običnog, jelena lopatara, divokoze i muflona, te lisica (BECK i sur., 2016a.).

Sekvenciranjem *16S rRNA* gena BECK i sur., (2016a.) su dokazali dva genotipa *A. phagocytophilum*, nazvana CAP1 i CAP2. Izolat CAP1 dokazan u 85% (62/74) životinja je bio identičan sa sekvencom *A. phagocytophilum* iz jelena iz Danske (pristupni broj: AY776165). Dugi izolat CAP2 je pokazao 99% sličnosti sa izolatom iz jelena iz Japana (pristupni broj: AB196720) i dokazan je u 16,2 % (12/74) životinja: srne, jelena, lisica i

muflona (BECK i sur., 2016a.). JAARSMA i sur., (2019.) su daljnjim sekvenciranjem *groESL* gena ustanovili da svi izolati *A. phagoytophilum* dokazani u RH pripadaju Ekotipu I.

*Candidatus Neoehrlichia* (N.) mikurensis, zoonotska bakterija svrstana u porodicu Anaplasmacetaceae (rod „*Candidatus Neoehrlichia*”) (SILAGHI i sur., 2016.; PORTILLO i sur., 2018.) je krpeljno–prenosiv patogen koji je potvrđen u imunokompromitiranih bolesnika iz Njemačke, Švedske, Češke i Švicarske (SILAGHI i sur., 2016.; PORTILLO i sur., 2018.). Divlji glodavci predstavljaju rezervoare, a vektor je *I. ricinus*. Do danas je dokazana u *I. ricinus* iz okoliša ali i u krpelja prikupljenih s različitih vrsta životinja (glodavci, divlje svinje, psi, ptice, te domaći i divlji preživači) i ljudi u više od 16 zemalja u Europi. Podatci su objavljeni u preglednim radovima koje su proveli SILAGHI i sur., (2016.) i PORTILLIO i sur., (2018.).

U RH je molekularno dokazana preliminarnim istraživanjem u uzorcima slezena malih šumskih glodavaca (18,5%; 22/119), divljih svinja (9,5%; 24/254), medvjeda (30%; 3/10), jazavaca (33%, 10/33), muflona (2%; 1/62) i divokoza (13%; 7/54) (BECK i sur., 2016a.), te u bubregu psa koji je uginuo od posljedica hemolitičke anemije (BECK i sur., 2019.).

*Rickettsia monacensis*, uzročnik bolesti nalik mediteranskoj pjegavoj groznici dokazana u ljudi u Italiji i Španjolskoj (JADO i sur., 2007.; MADEDDU i sur., 2012.) je preliminarnim istraživanjem koje su 2010. godine proveli BECK i sur., (2010b.) sekvenciranjem dokazana u skupnim uzorcima *I. ricinus* (16,7%) iz okoliša u Zagrebu. U okolini Slavenskog Broda TIJSSE-KLASSEN i sur., (2013b.) su u 78% *I. ricinus* iz okoliša sekvenciranjm dokazali DNK *R. helvetica* (79/101), u 21% *R. monacensis* (21/101) i u 1% *R. raoulti* (1/101). U Europi je *R. monacensis* dokazana u *I. ricinus* iz okoliša u Njemačkoj (SIMSER i sur., 2002.), Poljskoj (RYMASZEWSKA i PIOTROWSKI, 2012.), Švicarskoj (LOMMANO i sur., 2012.), Češkoj (HONIG i sur., 2017.), Španjolskoj (REMESAR i sur., 2019a.), Bugarskoj (okoliš, psi, koze; NADER i sur., 2018.) i Italiji (lisice; DA ROLD i sur., 2018.).

*Ixodes ricinus* se u Europi smatra vektorom zoonotskih vrsta *Babesia* kao što su *B. microti*, *B. divergens* i *B. venatorum*. *Babesia microti* je najčešći uzročnik humane piroplazmoze u SAD-u (VANNIER i sur., 2014.), dok je u Europi to *B. divergens* (VANNIER i sur., 2014.). Prvi slučaj piroplazmoze čovjeka u svijetu, opisali su 1957. godine ŠKARBALO i DEANOVIĆ, u splenektomiranog farmera iz okolice Zagreba, sa visokom

temperaturom, anemijom i žuticom. Zbog tvorbi u eritrocitima sličnim onima u *Plasmodium* sp., uzročnika malarije, pretpostavili su da se radilo o vrsti *B. bovis*.

*Babesia microti* su prvi puta u ljudi u Europi molekularno dokazali HILDEBRANDT i sur., 2007. godine u Njemačkoj, a nakon njega HOLLER i sur., (2013.) u Danskoj, MONIUSZKO-MALINOWSKA i sur., (2016.) u Poljskoj, ARSUAGA i sur., (2016.) u Španjolskoj, te STAHL i sur., (2018.) u Francuskoj.

*Babesia divergens* je jedan od najznačajnijih uzročnika piroplazmoze goveda (ZINTL i sur., 2003.). ASENSI i sur., (2018.) su opisali 9 molekularno dokazanih slučajeva *B. divergens* u ljudi u Europi u peroidu od 2003. do 2017. godine u Portugalu, Španjolskoj, Francuskoj i Norveškoj. Osim u goveda u Mađarskoj (HORNOK i sur., 2014a.) Italiji (CASSINI i sur., 2012.) Švedskoj (ANDERSSON i sur., 2017a.) i BIH (STEVANOVIĆ i sur., 2020.), molekularno je dokazana u divljih preživača poput srne i jelena običnog u Slovenij (DUH i sur., 2005.), Irskoj (ZINTL i sur., 2011.), Austriji (CÉZANNE i sur., 2017.) i Češkoj (HRAZDILOVÁ i sur., 2020.).

*Babesia venatorum* (*Babesia* sp. EU1) je u Europi molekularno dokazana uglavnom u divljih preživača poput jelena običnog, srne, muflona i soba u Švedskoj (ANDERSSON i sur., 2016.), Češkoj (HRAZDILOVÁ i sur., 2020.), Njemačkoj (OVERZIER i sur., 2013.; KAUFFMANN i sur., 2017.), Švicarskoj (NOVACCO i sur., 2019.) i Španjolskoj (REMESAR i sur., 2019b.). U ljudi je potvrđena molekularno u svega dva istraživanja, u Italiji (HERWALDT i sur., 2003.) i Njemačkoj (HÄSELBARTH i sur., 2007.).

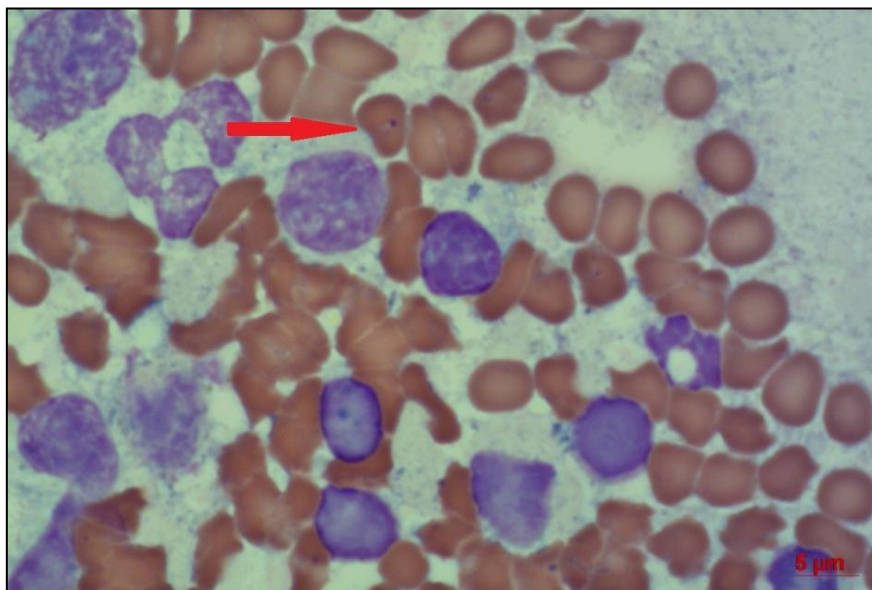
Zoonotske babezije su u istraživanjima u Europi dokazane u *I. ricinus* iz okoliša, ali i u krpeljima prikupljenim s različitih vrsta životinja i ljudi. WIELINGA i sur., (2009.), WÓJCIK-FATILA, i sur., (2015.) i HAMŠIKOVÁ i sur., (2016.) su u *I. ricinus* iz okoliša, u istraživanjima u Nizozemskoj, Poljskoj i Slovačkoj dokazali DNK *B. microti*, *B. divergens* i *B. venatorum*. Osim u *I. ricinus* iz okoliša, DNK sve tri vrste je dokazana u *I. ricinus* s jelena običnog i srne u Belgiji (LEMPEREUR i sur., 2012.) i Njemačkoj (OVERZIER i sur., 2013.); te u Belgiji (LEMPEREUR i sur., 2011.), Engleskoj (SMITH i WALL, 2013.) i Rumunjskoj s pasa i mačaka. U Italiji (DA ROLD i sur., 2018.), Njemačkoj (NAJM i sur., 2014a.) i Rumunjskoj (ANDERSSON i sur., 2017b.) u *I. ricinus* s lisica dokazana je DNK *B. microti* i *B. venatorum*. U krpelja s ljudi u Nizozemskoj (TIJSSE-KLASSEN i sur., 2011.) dokazana je DNK *B. microti*, a *B. venatorum* na području sjeverne Italije (BATTISTI i sur., 2019.). Vrsta *B. microti* je u *I. ricinus* s malih glodavaca dokazana u Bugarskoj (NADER i sur., 2018.) i Njemačkoj (OBIEGALA i sur., 2015.).

U RH su u dva istraživanja u divljih preživača i malih glodavaca molekularno

dokazane zoonotske vrste babezija, dok istraživanja u krpelja nedostaju. PINTUR je 2012. godine u uzorcima slezena srna i jelena običnog na području Gorskog kotara i Moslavine dokazao *B. venatorum*, *B. divergens* i genotip sličan *B. divergens*. U istraživanju koje su proveli BECK i sur., (2010a.) dokazana su dva izolata *B. microti* u voluharica 6% (2/33) (*Myodes glareolus*) i 16,2% (6/37) žutogrlih miševa (*Apodemus flavicolis*).

*Ixodes ricinus* je jedan od mogućih vektora piroplazme *T. capreoli* (Slika 14.) (MANS i sur., 2015.). Piroplazma je u Europi dokazivana u divljih preživača poput jelena lopatara, jelena običnog, srne i muflona u Mađarskoj (HORNOK i sur., 2017c.), Njemačkoj (KAUFFMANN i sur., 2017.), Italiji (GALUPPI i sur., 2011.; ZANET i sur., 2014.), Portugalu (PEREIRA i sur., 2016.) i Španjolskoj (GARCÍA-SANMARTÍN i sur., 2007.). U istraživanju koje su u Italiji proveli GALUPPI i sur., (2011.), *T. capreoli* je dokazana u skupnim uzorcima *I. ricinus* sa jelena lopatara.

U RH *T. capreoli* je molekularno dokazana u studijama provedenim na različitim vrstama divljih životinja. PINTUR (2012a.) je dokazao tajleriju u jelena običnih i srna na području Gorskog kotara, Moslavine i Baranje; BECK i sur., (2017a.) u vukova (13,9%, 15/108; Gorski kotar, Lika i priobalje), a DEŽDEK i sur., (2010.) u lisica (0,5%, 1/191, Zagorje). *Theileria capreoli* je dokazana i u miokardu psa koji je uginuo od posljedica septičnog šoka (BECK i sur., 2019.).



Slika 14. Merozoit piroplazme *T. capreoli* u otisku slezene srne (Giemsa, imerzija)

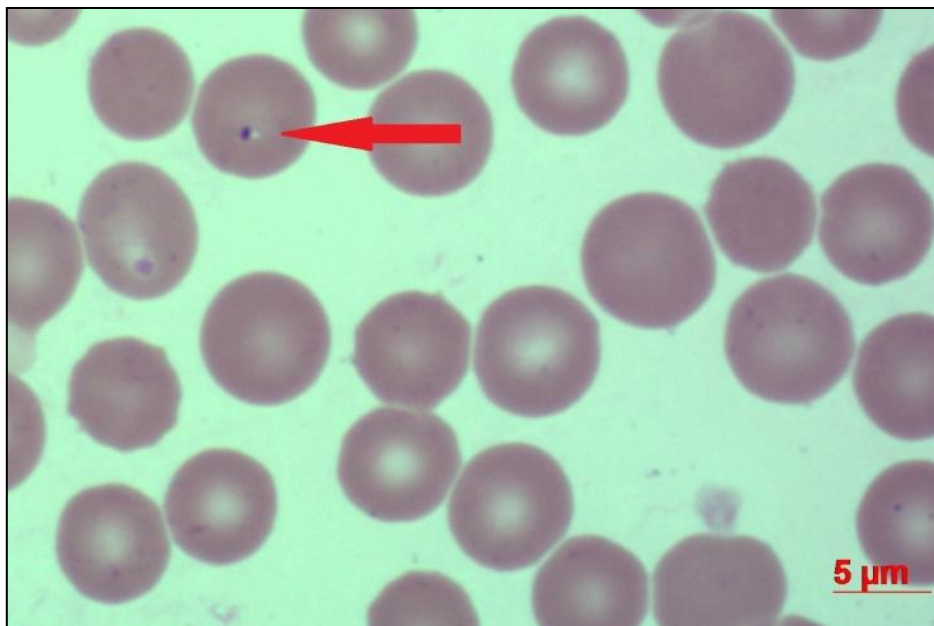
(Izvor: Laboratorij za parazitologiju, HVI, Zagreb).

BECK i sur., (2017b.) su u dva krpelja *I. ricinus* s kune bjelice (*Martes foina*) na području kontinentalne Hrvatske prvi puta molekularno dokazali *Hepatozoon* sp. Daljnjim istraživanjem predložena je nova vrsta *Hepatozoon martis* dokazana u 64% (42/66) kuna bjelica na kontinentalnom području (Zagrebačka županija) (HODŽIĆ i sur., 2018a.).

#### 2.4.1.3.2. *Ixodes hexagonus*

*Ixodes hexagonus* se smatra vektorom male piroplazme *Babesia vulpes* (sin. *Theileria annae*, *Babesia microti*-like, *Spanish dog isolate*) (Slika 15.) koja se smatrala endemskom u lisica i pasa u sjeverozapadnim dijelovima Španjolske (CAMACHO i sur., 2003.; NAJM isur., 2014a., 2014b.). BECK i sur., (2009.) su je po prvi puta dokazali izvan granica Španjolske u asimptomatskog psa (3%, 1/29) sa otoka Krka, a kasnije DEŽDEK i sur., (2010.) u lisica (5,2%; 10/191) iz Hrvatske. JURKOVIĆ i sur., (2019b.) su po prvi puta opisali *B. vulpes* u oboljelog psa s područja Grada Zagreba. Kasnije je dokazana u lisica u Portugalu, Italiji, Njemačkoj, Austriji, Rumunjskoj, Slovačkoj, Srbiji i BiH (SOLANO-GALLEGO i BANETH, 2011.; NAJM i sur., 2014a.; SOLANO-GALLEGO i sur., 2016.; HODŽIĆ i sur., 2015a.).

U Europi, je osim pasa u Španjolskoj dokazana u bolesnih pasa iz Portugala i Švedske (SIMÕES i sur., 2011.; FALKENÖ i sur., 2013.), te asimptomatskih pasa iz Srbije i Francuske (GABRIELLI i sur., 2015.; RENÉ-MARTELLET i sur., 2015.).



Slika 15. Merozoit piroplazme *B. vulpes* u krvnom razmazu psa (*Giemsa*, imerzija)

(Izvor: Laboratorij za parazitologiju, HVI, Zagreb).

Osim *B. vulpes*, u *I. hexagonus* je dokazana DNK drugih patogena. U *I. hexagonus* s lisica u Njemačkoj dokazana je DNK *H. canis*, *B. microti* i *T. orientalis* (NAJM i sur., 2014b.), a u krpelja s pasa DNK rikecija poput *R. helvetica*, *R. raoulti* i *R. monacensis* (SCHREIBER i sur., 2014.). ESTRADA-PEÑA i sur., (2017c.) su u Španjolskoj u *I. hexagonus* s pasa dokazali DNK *H. canis*, *B. canis* i *B. gibsoni*, dok su JAFHARI i sur., (2017.) u krpelja s ježa u Belgiji dokazali DNK „*Candidatus Neoehrlichia mikurensis*”.

#### **2.4.1.3.3. Ostale vrste krpelja iz roda *Ixodes***

*Ixodes persulcatus* je vektor bakterija iz kompleksa *Borrelia burgdorferi* s.l. (*B. afzeli*, *B. garini* i *B. burgdorferi* s.s.), *R. helvetica*, *A. phagocytophilum*, *B. microti* (ALEKSEEV i sur., 2004.; MASUZAWA i sur., 2008.), virusa poput uzročnika Omsk-hemoragične groznice i virusa krpeljnog encefalitisa (DANTAS-TORRES i sur., 2012.). Osim uzročnika lajmske borelioze, prenosi drugu vrstu borelije *Borrelia myamotoi* (FUKUNAGA i sur., 1995.).

Malo je dostupnih podataka o vektorskom kapacitetu ostalih vrsta krpelja iz roda *Ixodes* na području Europe. U vrsta *I. ventalloi* i *I. accuminatus* s mačke i ptice TOMASSONE i sur., (2013.) su u Italiji dokazali DNK *R. helvetica*, *Borrelia spielmanii*, *B. valaisiana*, dok su ANTUNES i sur., (2016.) u *I. ventalloi* iz okoliša u Portugalu dokazali DNK *A. marginale*.

U *I. canisuga* s pasa i lisica u dva istraživanja u Njemačkoj NAJM i sur., (2014a., 2014b.) su dokazali DNK *B. vulpes*, *H. canis* i *B. microti*, a HORNOK i sur., (2013.) u Mađarskoj DNK *E. canis* u *I. canisuga* s lisica.

U vrste *I. simplex* sa šišmiša HORNOK i sur., (2016.) su u Mađarskoj dokazali DNK tri vrste piroplasmu *T. capreoli*, *B. canis* i *T. orientalis*; a SILAGHI i sur., (2012.) DNK „*Candidatus Neoehrlichia mikurensis*” u vrste *I. trianguliceps* s malih glodavaca u Njemačkoj.



## 2.4.2. Rod *Dermacentor*

### 2.4.2.1. Proširenost i vrste krpelja iz roda *Dermacentor*

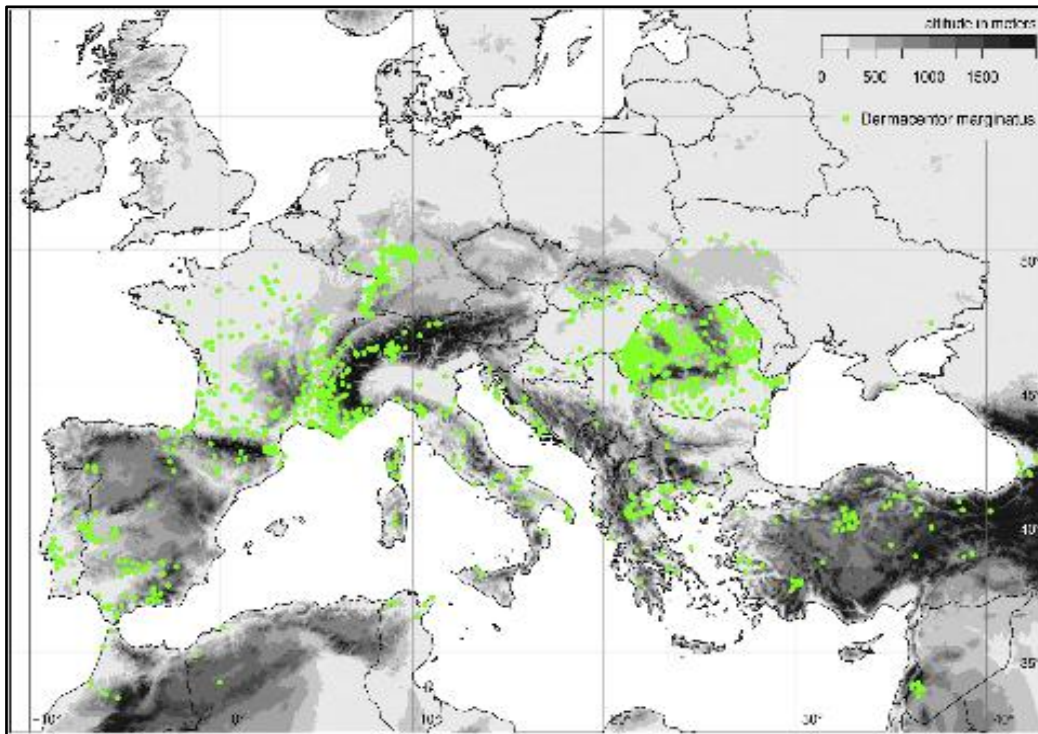
Od opisanih 36 vrsta iz roda *Dermacentor* (BARKER i MURRELL, 2008.; GUGLIELMONE i sur., 2010.), *D. reticulatus* i *D. marginatus* su dvije najvažnije vrste dokazane na području Europe i Hrvatske (KRČMAR i sur., 2012.; PETNEY i sur., 2012.; RUBEL i sur., 2016.; ESTRADA-PEÑA i sur., 2017a.).

*Dermacentor marginatus* je proširen uglavnom na području južne (Portugal, Italija, Španjolska, Francuska), jugoistočne Europe i dijelovima središnje Europe (Francuska, Njemačka) (Slika 16.) (RUBEL i sur., 2016.; ESTRADA-PEÑA i sur., 2017a.). Najčešće je opisivane na domaćim i divljim preživačima, konjima, divljim svinjama, psima, vukovima i povremeno ljudima (PETNEY i sur., 2012.; ESTRADA-PEÑA i sur., 2017a.).

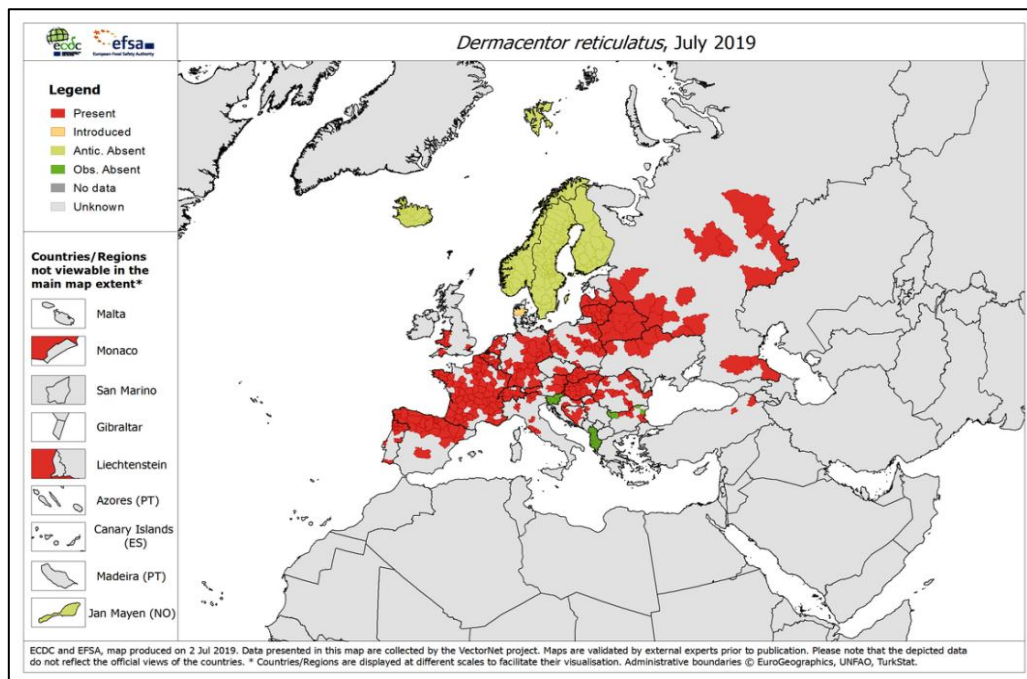
*Dermacentor reticulatus* je prisutan u mnogim zemljama zapadne, istočne, te središnje Europe, rjeđi je na području južne Europe (južna Francuska i Portugal) (RUBEL i sur., 2016.; ECDC, 2019b.) (Slika 17.). KJAER i sur., (2019.) su dokazali *D. reticulatus* na području sjeverne Europe, u Norveškoj, Švedskoj i Danskoj.

Značajan je zbog brzog širenja Europom i prijenosa patogena opasnih za zdravlje ljudi i životinja (FÖLDVARI i sur., 2016.; RUBEL i sur., 2016.). Ubrzano širenje pospješuju klimatske promjene, promjene u okolišu (krčenje šuma, smanjena uporaba pesticida), povećanje populacije divljih životinja, transport životinja i sve veći broj domaćih životinja i kućnih ljubimaca. Uspješnom širenju također pogoduju biološke značajke krpelja kao što je aktivnost pri niskim temperaturama tijekom zimskih mjeseci (KIEWRA i sur., 2016.), te izostanak selektivnosti prema izboru nositelja. Dokazan je na više od 60 različitih vrsta divljih i domaćih životinja (FÖLDVARI i sur., 2016.).

Prema dosadašnjim istraživanjima provedenim u RH, temeljenim na morfološkoj determinaciji, *D. reticulatus* je rasprostranjeniji na kontinentalnom području, dok je *D. marginatus* učestaliji u priobalju. Proširenost *D. reticulatus* i *D. marginatus* u Hrvatskoj je prikazana u Tablici 2.



Slika 16. Proširenost *D. marginatus* na području Europe (Izvor: RUBEL i sur., 2016.).



Slika 17. Proširenost *D. reticulatus* na području Europe (Izvor: ECDC, 2019b.).

Tablica 3. Proširenost *D. reticulatus* i *D. marginatus* na području Hrvatske.

VRSTA KRPELJA	VRSTA ŽIVOTINJE	LOKACIJA PRIKUPLJANJA	REFERENCE
<i>D. marginatus</i>	Ovca	Cres, Pula, Krk, Lošinj, Zadar, Kaštela, Split, Sinj, Brač, Dubrovnik	KRČMAR, 2012.
		Sveti Đurad, Zmajevac, Podolje	KRČMAR, 2019.
		Sinj	PUNDA-POLIĆ i sur., 2002.
		Sinj, Kaštela	DUH i sur., 2003.
	Koza	Kaštela, Sinj	KRČMAR, 2012.; DUH i sur., 2003.
	Govedo, konj	Petrinja, Stružec, Pula, Krk, Cres, Lošinj, Zadar, Kaštela, Split, Brač, Dubrovnik; Kaštela, Sinj	KRČMAR, 2012.; DUH i sur., 2003.
	Konj	Petrinja, Stružec, Pula, Krk, Cres, Lošinj, Zadar, Kaštela, Split, Brač, Dubrovnik	KRČMAR, 2012.;
		Đakovo	KRČMAR, 2012.
	Pas	Sveti Đurad, Zmajevac	KRČMAR, 2019.
		Zmajevac	KRČMAR, 2012.
	Mačka	Čakovec, Stružec, Brač	KRČMAR, 2012.
	Okoliš	Slavonski Brod; Beli Manastir, Haljevo, Sveti Đurad, Podravlje, Podolje, Zmajevac	TIJSSE-KLASSEN i sur., 2013a.; KRČMAR i sur., 2014., 2019.
		Peščenica, Vratovo	KRČMAR, 2012.
	Poljska voluharica	Repušnica	KRČMAR, 2012.
	Šumska voluharica	Velebit (Prezid)	KRČMAR, 2012.
Obični šumski miš	Repušnica	KRČMAR, 2012.	
Prugasti poljski miš	Podravlje, Tikveš; Hvar	KRČMAR, 2019.; BECK i sur., 2016b.	
<i>D. reticulatus</i>	Konj, govedo	Dugo Selo, Zagreb	KRČMAR, 2012.
	Lisice	Sisačko Moslavačka županija	JEMERŠĆ i sur., 2014.
	Divlja svinja, jelen obični	Podravska Moslavina, Spačva, Haljevo, Podravlje, Tikveš	KRČMAR, 2019.
	Okoliš	Beli Manastir, Donji Andrijevi, Koška, Sveti Đurad, Lug, Topoline, Haljevo, Tompojevci, Spačva, Podolje, Draž; Zagreb	KRČMAR i sur., 2014., 2019.; BECK i sur., 2010b.;
	Ovca, mačka, pas	Lug, Zmajevac, Velika Kapanica, Budimci	KRČMAR, 2019.

#### 2.4.2.2. Genska istraživanja krpelja *Dermacentor reticulatus* i *Dermacentor marginatus*

Na području Europe provedeno je nekoliko genskih istraživanja krpelja *Dermacentor reticulatus* (MOVILA i sur., 2013.; KLOCH i sur., 2017.; PAULAUSKAS i sur., 2018.), dok genska istraživanja krpelja *D. marginatus* nedostaju.

MOVILA i sur., (2013.) su analizirali odsječak od 300 pb *12S rRNA* gena 65 krpelja *D. reticulatus* sa područja Černobila. Dokazali su četiri različita haplotipa sa polimorfizmom na tri nukleotidna položaja.

KLOCH i sur., (2017.) su istraživali polimorfizam *16S rDNA* sa više lokacija iz Poljske i Njemačke te su zaključili da je populacija gotovo identična za razliku od *ITS2* regije koja je pokazala razliku između njemačkih i poljskih krpelja.

PAULAUSKAS i sur., (2018.) su analizirali mikrosatelitske regije krpelja *D. reticulatus* iz različitih zemalja Europe. Podijelili su europsku populaciju na istočnu i zapadnu i zaključili da se preklapaju na području Središnje Europe. Zanimljivo da je *D. reticulatus* iz Draganića pripadao istočnoj populaciji (PAULAUSKAS i sur., 2018.).

DOBEC i sur., (2009.) smatraju da su po prvi puta u Hrvatskoj dokazali vrstu *Dermacentor reticulatus*, bez obzira na ranije morfološke opise (KRČMAR, 2012.). Autori su sekvenciranjem *ITS1* regije molekularno analizirali 13 krpelja i pokazali sličnost od 99,8% sa ostali sekvencima *D. reticulatus* u Europi (DOBEC i sur., 2009.).

*Dermacentor marginatus* je sekvenciranjem odsječka *16S rRNA* gena u tri studije potvrđen na području srednjeg priobalja Hrvatske. PUNDA-POLIĆ i sur., (2002.) su dokazali *D. marginatus* na ovcama iz Sinja, BECK i sur., (2016b.) na ovcama i divljoj svinji sa Pelješca i Hvara, a DUH i sur., (2003.) na govedima, ovcama i kozama iz okolice Splita.

### 2.4.2.3. Vektorski značaj krpelja iz roda *Dermacentor*

#### 2.4.2.3.1. *Dermacentor reticulatus*

*Dermacentor reticulatus* je vektor uzročnika piroplazmoze pasa, protozoona *Babesia Canis* (SOLANO-GALLEGO i sur., 2016.), potom *B. caballi* i *Theileria equi* uzročnika piroplazmoze konja, te „tropske“ bakterije *Anaplasma marginale* (FÖLDEVÁRI i sur., 2016.) uzročnika anaplazmoze goveda, nedavno dokazana u bolesnih krava iz središnje Hrvatske (JURKOVIĆ i sur., 2020.).

Prenosi i zoonotske patogene od kojih su najvažnije rikecije *R. slovaca* i *R. raoultii*, te viruse Omsk-hemoragijske groznice i krpeljnog encefalitisa (FÖLDEVÁRI i sur., 2016.). *Rickettsia slovaca* i *R. raoultii* su obligatne intracelularne bakterije, uzročnici sindroma nazvanih TIBOLA (*tick-borne lymphadenopathy*, engl.) i SENLAT (*scalp eschar neck lymphadenopathy*, engl.) (FÖLDEVÁRI i sur., 2016.). Sindrom TIBOLA je nakon mediteranske pjegave groznice najučestalija krpeljno-prenosiva rikecioza na području Mediterana (Italija, Francuska, Španjolska i Portugal), te se povremeno javlja u Njemačkoj, Poljskoj, Bugarskoj i Mađarskoj (FÖLDEVÁRI i sur., 2016.).

Oba patogena su dokazana u krpelju *D. reticulatus* u studijama provedenim diljem Europe. U većini istraživanja DNK *R. raoultii* je dokazana u *D. reticulatus* iz okoliša u Litvi (RADZIJEVSKAJA i sur., 2015.), Njemačkoj (KHON i sur., 2019.), Austriji (DUSCHER i sur., 2016.), Poljskoj (WÓJCIK-FATLA i sur., 2013.), Češkoj (RUDOLF i sur., 2016.), Mađarskoj (HORNOK i sur., 2017d.), Ukrajini (KARBOWIAK i sur., 2016.) i Francuskoj (MICHELET i sur., 2016.). SGROI i sur., (2020.) i NAMINA i sur. (2019.) su dokazali DNK *R. raoultii* u *D. reticulatus* s divljih svinja u južnoj Italiji, te s pasa u Litvi.

U Italiji GARCIA-VOZOMEDIANO i sur., (2020.) i CHISU i sur., (2018a.) su DNK *R. slovaca* dokazali u *D. reticulatus* sa divljih svinja, a REMESAR i sur., (2019a.) u Španjolskoj u *D. reticulatus* iz okoliša.

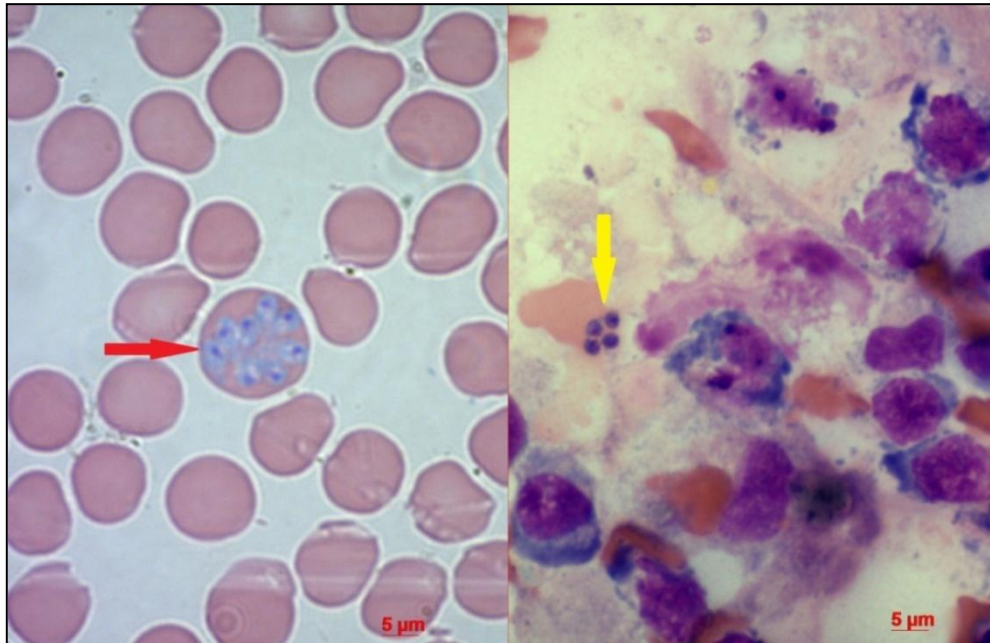
HODŽIĆ i sur., (2017a.) i ŠPITALSKÁ i sur., (2012.) su u BiH i Slovačkoj istraživali i uspoređivali prisutnost obje vrste rikecija u krpelju *D. reticulatus* iz okoliša. U 54 krpelja *D. reticulatus* u BiH, HODŽIĆ i sur., (2017a.) su sekvenciranjem odsječka *gltA* (*citrate synthase-encoding gene*, engl.) gena dokazali jednaku učestalost *R. slovaca* (5/54) i *R. raoultii* (5/54). ŠPITALSKÁ i sur., (2012.), su u Slovačkoj u krpelja iz okoliša sekvenciranjem odsječka *ompA* (*outer membrane protein A*, engl.) gena dokazali veću učestalost *R. raoultii* (22,3%) nego *R. slovaca* (3,4%). Slične rezultate dobili su u krpelja

prikupljenih sa životinja (konji, goveda, koze i psi) kojima je *R. slovaca* dokazana u 1,8%, a *R. raoulti* u 27,2% krpelja.

Osim patogena za koje je dokazano uspješan vektor, primjenom molekularnih metoda u krpelja *D. reticulatus* iz okoliša dokazana je DNK *B. microti* i *B. divergens* u Poljskoj (WÓJCIK-FATLA i sur., 2015.); *A. phagocytophilum* u Ukrajini (KARBOWIAK i sur., 2014.), Njemačkoj, Belgiji i Nizozemskoj (SPRONG i sur., 2019.); *Ehrlichia canis* u Njemačkoj i Nizozemskoj (SPRONG i sur., 2019.); *Borrelia garinii*, *B. afzelii*, *B. spielmanii* i *B. miyamotoi* u Nizozemskoj (SPRONG i sur., 2019.); *Coxiella burnetti* u Belgiji (SPRONG i sur., 2019.); *Francisella tularensis* subsp. holartica i endosimbionti „*Francisella*- slični“ u Mađarskoj (KREIZINGER i sur., 2013.) i Poljskoj (WÓJCIK-FATLA i sur., 2015.). U *D. reticulatus* s pasa u Španjolskoj ESTRADA-PEÑA i sur., (2017c.) su dokazali DNK *B. gibsoni*, a SCHREIBER i sur., (2014.) u Njemačkoj DNK *R. helvetica*. NAJM i sur., (2014a., 2014b.) su u dva istraživanja u Njemačkoj dokazali DNK *B. vulpes* i *H. canis* u *D. reticulatus* s lisica, a SILAGHI i sur (2012.) DNK „*Ca. Neoehrlichia Mikurensis*“ u *D. reticulatus* s malih glodavaca.

*Babesia canis* je u Hrvatskoj najučestalija piroplazma pasa (BECK i sur., 2009.; BRKLJAČIĆ i sur., 2010.) (Slika 18.). Prvi slučaj piroplazmoze pasa na području RH opisao je SUTLIĆ (1942.) 1939. godine. Od tada je proveden veći broj istraživanja piroplazmoze uzrokovane *B. canis* u RH (MATIJATKO i sur., 2007.; BECK i sur., 2009.; BRKLJAČIĆ i sur., 2010.; BECK i sur., 2017a., 2019.).

U istraživanju krpeljno-prenosivih patogena koje su proveli MRLJAK i sur., (2017.) protutijela na *B. canis* otkrivena su u čak 20% (87/435) naizgled zdravih pasa. Molekularnim istraživanjem BECK i sur., su 2009. godine dokazali vrste iz rodova *Babesia* i *Theileria* u krvi 3,4% (29/848) asimptomatskih pasa, a nakon sekvenciranja *B. canis* potvrđena je u 69% (20/29) pozitivnih pasa. Učestalost *B. canis* u bolesnih pasa je bila znatno viša i iznosila je 96% (78/81) (BECK i sur., 2009.). Osim u pasa *B. canis* je molekularnim istraživanjem dokazana u uzorcima slezena asimptomatskih vukova (6,5%, 7/108) iz Like i u vuka iz zatočeništva iz Zagreba (BECK i sur., 2017a.).



Slika 18. Merozoiti *B. canis* u razmazu krvi (lijevo, crvena strelica) i otisku slezene (desno, žuta strelica) psa (*Giemsa*, imerzija)  
(Izvor: Laboratorij za parazitologiju, HVI, Zagreb).

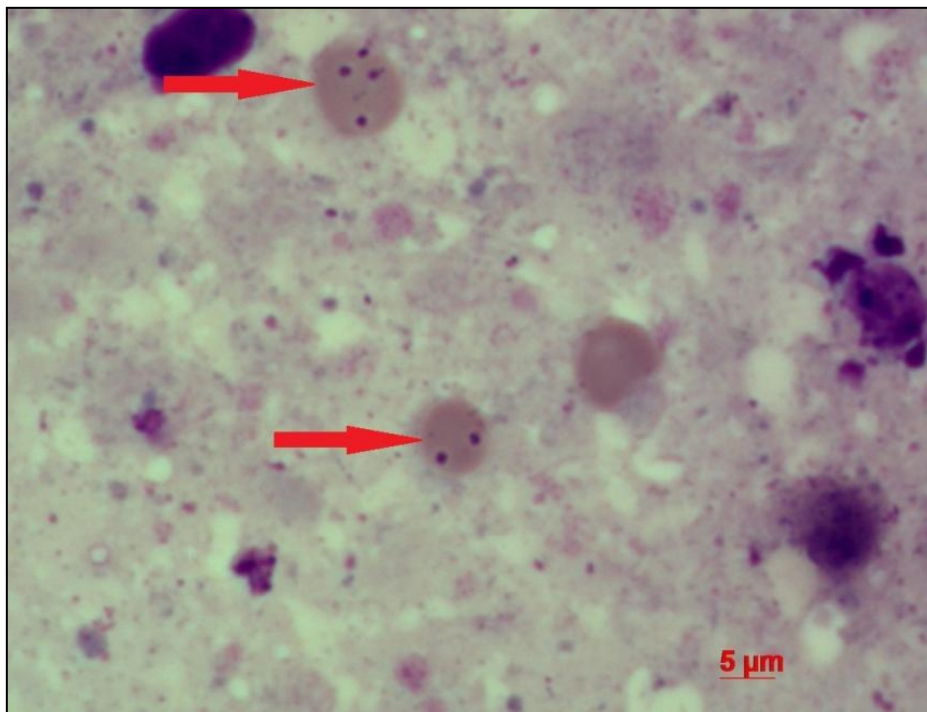
Piroplazmoza konja uzrokovana *Babesia caballi* i *Theileria equi* je najučestalija krpeljno prenosiva bolest ekvida (GUIDI i sur., 2014.; SCOLES i UETI, 2015.). Na području Europe uzročnici su dokazani u konja i magaraca na području Mediterana (Francuska, GUIDI i sur., 2014.; Italija, MANNA i sur., 2016.; Španjolska, MONTES CORTÉS i sur., 2019.), ali i sporadično u zapadnoj (Nizozemska, BUTLER i sur., 2012.), središnjoj (Mađarska, FARKAS i sur., 2013.) i jugoistočnoj Europi (Rumunjska, GALLUSOVÁ i sur., 2014.; Srbija, Crna Gora i BIH, DAVITKOV i sur., 2016.). MANNA i sur., (2016.) i GALLUSOVÁ i sur., (2014.) su u istraživanjima provedenim u Italiji i Rumunjskoj sekvenciranja odsječka *18S rRNA* gena zaključili da na području Europe postoje različite genetske skupine *B. caballi* (A, B1, B2) i *T. equi* (A, B, C, D i E) koje cirkuliraju među ekvidima neovisno o geografskoj lokaciji. Istraživanja učestalosti piroplazmi konja u *D. reticulatus* u Europi su skudna. JONGEAN i sur., (2015.) su dokazali DNK *B. caballi* i *T. equi* u *D. reticulatus* iz okoliša u Nizozemskoj i Belgiji, a SPRONG i sur., (2019.) u *D. reticulatus* iz okoliša u Njemačkoj.

U Hrvatskoj je GOTIĆ (2015.) iz krvi molekularno dokazala *B. caballi* i *T. equi* u 3,6% (13/362) i 13,2% (48/362) konja. Sekvenciranjem su dokazana dva genotipa *T. equi*, *T. equi* genotip 1 u 10,8% (38/362) i *T. equi* genotip 2 u 2,5% (9/362) konja. *Babesia caballi* i *T. equi* 1 su dokazani u kontinentalnom dijelu, dok je na području

priobalja dokazan isključivo *T. equi* 2 (GOTIĆ, 2015.). Osim u konja, *B. caballi* i *T. equi* su sekvenciranjem dokazani u krvi dva bolesna psa iz Zagreba (BECK i sur., 2009.).

*Anaplasma marginale*, najpatogenija vrsta anaplazmi goveda je učestala u goveda na području Sjeverne i južne Amerike, Afrike, Azije i Australije (ATIF, 2016.; KOCAN i sur., 2010.; SAID i sur., 2018.), dok je u Europi uglavnom ograničena na područje Mediterana i središnje Europe. Molekularno je dokazana u krvi goveda i ovaca u Italiji (DE LA FUENTE i sur., 2005.; CECI i sur., 2014.), jelena običnog i jelena lopatara u Portugalu (PEREIRA i sur., 2016.) i Španjolskoj (DE LA FUENTE i sur., 2004.), te u goveda u Švicarskoj (HOFMANN-LEHMANN i sur., 2004.), Austriji (BAUMGARTNER i sur., 1992) i Mađarskoj (HORNOK i sur., 2012.). Najmanje se 20 vrsta krpelja u svijetu spominju kao mogući vektori *A. marginale* (KOCAN i sur., 2010.; ANTUNES i sur., 2016.; HORNOK i sur., 2012.), međutim do danas je *D. reticulatus* jedini dokazani vektor u Europi (ZIVKOVIC i sur., 2007.).

*Anaplasma marginale* je sekvenciranjem dokazana u uzorcima slezene pet krava (Slika 19.) i krvi tri krave sa znakovima vrućice, tamnim urinom, ikterusom, gubitkom tjelesne težine na području središnje Hrvatske (Glina) (JURKOVIĆ i sur., 2020.).



Slika 19. Morule *A. marginale* u eritrocitima otiska slezene krave (*Giemsa*, imerzija)

(Izvor: Laboratorij za parazitologiju, HVI).



U Hrvatskoj su provedena svega dva molekularna istraživanja patogena u krpelju *D. reticulatus*. U preliminarnom istraživanju patogena u krpeljima iz okoliša u Zagrebu BECK i sur., (2010b.) su u *D. reticulatus* sekvenciranjem dokazali DNK *B. canis* (77,4%); *R. raoultii* (87,1%) i *B. burgdorferi* s.l. (6,4 %). Na području Čakovca DOBEC i sur., (2009.) su dokazali DNK *R. helvetica* i *R. slovaca* u 10% (10/100) i 2% (2/100) krpelja.

#### **2.4.2.3.2. *Dermacentor marginatus***

Provedena su brojna istraživanja patogena u *D. marginatus*, vektorski kapacitet za većinu patogena nije u potpunosti razjašnjen.

U Italiji su TROTTA i sur., (2012.) dokazali DNK *B. canis* u *D. marginatus* s pasa; IORI i sur., (2010.) DNK *B. ovis* s kože i *T. equi* s konja; CHISU i sur., (2019.) DNK *T. orientalis* goveda, kože i ovce; dok su SATTA i sur., (2011.) i CHISU i sur., (2020.) DNK *E. canis* dokazali u krpelja s divljih svinja i muflona. U dva istraživanja dokazana je i DNK rikecija *R. slovaca* i *R. raoultii* krpelja s divljih svinja (SGROI i sur., 2020.; CHISU i sur., 2020.).

U *D. marginatus* s goveda, ovaca i koza u Grčkoj, CHALIGIANNIS i sur., (2018.) su dokazali DNK *T. orientalis*, *T. ovis* i *T. annulata*; PAPA i sur., (2020.) DNK *A. ovis* u krpelja s koza; a MORAGA-FERNANDEZ i sur., (2019.) u DNK *R. slovaca* i *R. raoultii* u *D. marginatus* s ovaca i kože.

NARANJO i sur., (2006.) su u Španjolskoj DNK *A. marginale* dokazali u *D. marginatus* sa goveda; a MARQUEZ, (2008.) DNK *R. slovaca* i *R. raoultii* sa ovaca i pasa. HORNOK i sur., (2013.) su u Mađarskoj u *D. marginatus* s pasa dokazali DNK *E. canis* i *Borrelia afzeli*.

Osim navedenih istraživanja kojima je DNK patogena dokazana u *D. marginatus* s različitih vrsta životinja, u krpelja iz okoliša dokazana je DNK *A. marginale* i *Coxiella burnetii* u Portugalu (ANTUNES i sur., 2016.; SANTOS-SILVA i sur., 2017.); *R. slovaca* i *R. raoultii* u Turskoj (ORKUN i sur., 2020.); te *Francisella tularensis* subsp. *holartica* u BiH (HODŽIĆ i sur., 2017.).

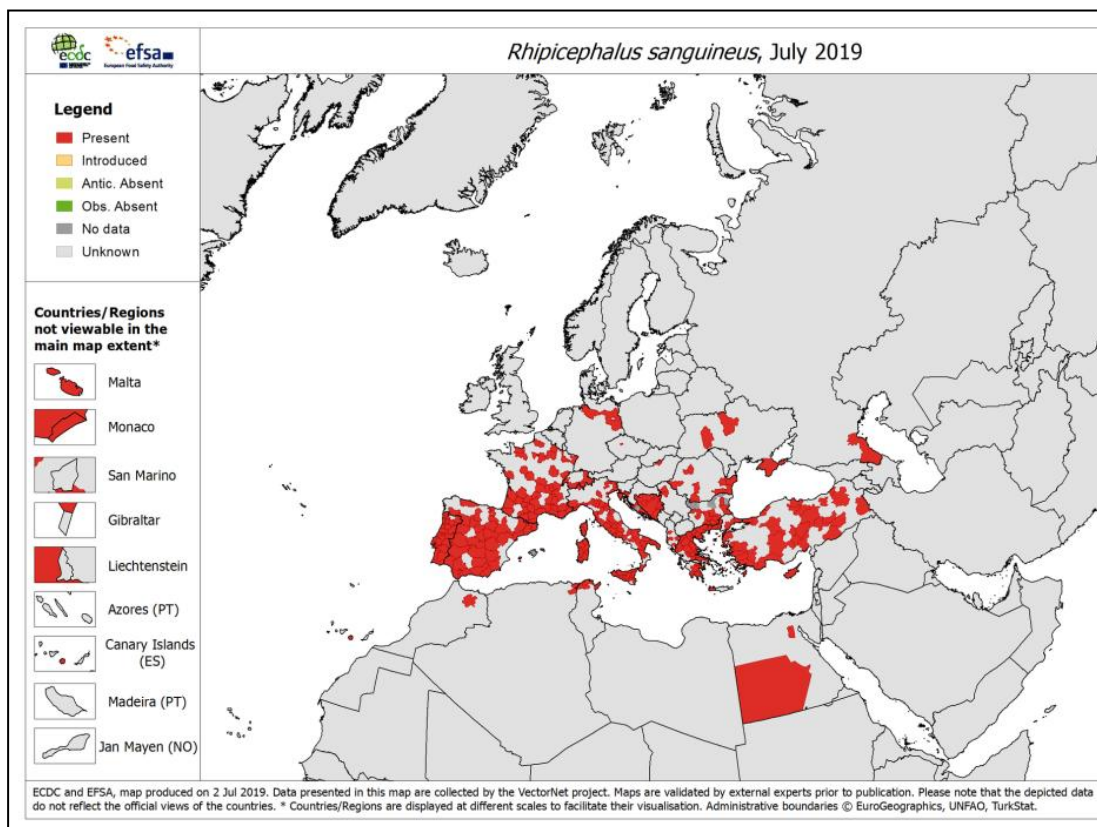
Na području Hrvatske provedeno je jedno istraživanje krpeljno prenosivih patogena u *D. marginatus* kojime su PUNDA POLIĆ i sur., (2002.) sekvenciranjem dokazali DNK *R. slovaca* u 36,8% (14/38) krpelja sa ovaca, koza i goveda, na području srednjeg priobalja (okolica Splita).

### 2.4.3. Rod *Rhipicephalus*

#### 2.4.3.1. Proširenost i vrste krpelja iz roda *Rhipicephalus*

Unutar roda *Rhipicephalus* opisane su 82 vrste krpelja (BARKER i MURRELL, 2008.; GUGLIELMONE i sur., 2010.), od kojih je u Europi prisutno šest: *R. sanguineus* s.l., *R. turanicus*, *R. pusillus*, *R. rossicus*, *R. bursa* i *R. annulatus* (PETNEY i sur., 2012.; ESTRADA-PEÑA i sur., 2017a.). Primjena molekularnih metoda stalno dovodi do promjena u sistematizaciji vrsta, stoga sadašnja podjela ne predstavlja i konačnu. U Tablici 4. je zbirni prikaz proširenosti vrsta i njihovih nositelja opisanih na području Europe.

Na području Hrvatske, u istraživanjima temeljenim na morfološkoj determinaciji, opisane su četiri vrste roda *Rhipicephalus*: *R. sanguineus*, *R. turanicus*, *R. bursa* i *R. annulatus* (PUNDA-POLIĆ i sur., 2002.; DUH i sur., 2003., 2008.; KRČMAR, 2012.; BECK i sur., 2016b.). U Tablici 5. je prikazana proširenost opisanih vrsta i njihovih nositelja.



Slika 20. Proširenost *R. sanguineus* na području Europe (Izvor: ECDC, 2019c.).

Tablica 4. Proširenost krpelja iz roda *Rhipicephalus* na području Europe.

(Preuzeto iz: PETNEY i sur., 2012.; ESTRADA-PEÑA i sur., 2017a.)

VRSTA KRPELJA	VRSTA ŽIVOTINJE	PROŠIRENOST
<i>R. sanguineus</i>	Psi, glodavci, ptice, ljudi	zapadna (Engleska, Francuska, Nizozemska), središnja (Njemačka), južna i jugoistočna Europa
<i>R. annulatus</i>	Goveda, koze, ovce, divlji prezivači; ljudi i psi	južna (Francuska, Portugal, Španjolska, Italija (Korzika)) i jugoistočna (Rumunjska, Bugarska, Albanija, Srbija, Crna Gora, Kosovo, Grčka) Europa
<i>R. bursa</i>	Govedo, ovca, konj, koza, magarac, zec, pas, ljudi	južna Europa
<i>R. turanicus</i>	Goveda, ovce, psi, konji, divlji kanidi, zec, kune, ptice, gušteri	južna (Portugal, Španjolska, južna Francuska i Italija) i jugozapadna (Bugarska, Rumunjska) Europa
<i>R. rossicus</i>	Različite vrste životinja, ljudi	Poljska, Rumunjska, Moldavija
<i>R. pusillus</i>	Zec, kunić	južna (Portugal, Španjolska, južna Francuska, Italija) Europa

Tablica 5. Vrste krpelja iz roda *Rhipicephalus* morfološki determinirane na području Hrvatske.

VRSTA KRPELJA	VRSTA ŽIVOTINJE	LOKACIJA PRIKUPLJANJA	REFERENCE
<i>R. annulatus</i>	Govedo, konj	Lošinj, Zadar, Split, Brač, Dubrovnik	KRČMAR, 2012.
<i>R. bursa</i>	Ovca, govedo, koza	Pula, Lošinj, Cres, Krk, Zadar, Split, Kaštela, Sinj, Brač, Dubrovnik	KRČMAR, 2012.
	Ovca	Muč, Kaštela, Sinj, Bosanka, Gruda, Pag	DUH i sur., 2003., 2008.; PUNDA-POLIĆ i sur., 2002.; BECK i sur., 2016b.
	Koza	Muč, Sinj, Kaštela, Dugi otok	DUH i sur., 2003.; BECK i sur., 2016b.
	Govedo	Muč, Sinj, Kaštela, Bosanka	PUNDA-POLIĆ i sur., 2002.; DUH i sur., 2003.; BECK i sur., 2016b.
	Konj	Pula, Lošinj, Cres, Krk, Zadar, Split, Brač, Dubrovnik	KRČMAR, 2012.
	Pas	Hvar	BECK i sur., 2016b.
	Okoliš	Brač Bosanka	KRČMAR, 2012. BECK i sur., 2016b.
<i>R. sanguineus</i>	Ovca	Pula, Mali Lošinj, Cres, Zadar, Ugljan, Pašman, Dugi otok, Mljet, Dubrovnik	KRČMAR, 2012.
	Koza	Cres, Mljet	KRČMAR, 2012.
	Govedo	Pula, Zadar, Split, Brač, Dubrovnik	KRČMAR, 2012.
	Pas	Umag, Pula, Cres, Zadar, Split, Brač, Hvar, Mljet, Dubrovnik	KRČMAR, 2012.
	Čagalj, magarac	Dubrovnik	KRČMAR, 2012.
	Okoliš	Dubrovnik	KRČMAR, 2012.
<i>R. turanicus</i>	Ovca	Zadar, Ugljan, Pašman, Dugi otok, Brač, Mljet	KRČMAR, 2012.
		Muč, Kaštela, Bosanka, Glušci, Kuna, Pag, Sinj	DUH i sur., 2003., 2008.; PUNDA-POLIĆ i sur., 2002.; BECK i sur., 2016b.
	Srna obična	Lokrum	KRČMAR, 2012.
	Koza, mačka, pas	Mljet	KRČMAR, 2012.
	Koza	Muč; Sinj, Kaštela, Gruda	PUNDA-POLIĆ i sur., 2002.; DUH i sur., 2003.; BECK i sur., 2016b.
	Pas	Zadar, Hvar	BECK i sur., 2016b.
Okoliš	Kuna	BECK i sur., 2016b.	

### 2.4.3.2. Genska istraživanja krpelja iz roda *Rhipicephalus*

Danas najistraživaniju skupinu predstavlja *R. sanguineus* s.l. kompleks (BURLINI i sur., 2010.; MORAES-FILHO i sur., 2011.; NAVA i sur., 2012., 2018.; DANTAS-TORRES i sur., 2013., 2017.; COIMBRA-DORES i sur., 2016.; SANTOS-SILVA i sur., 2017.; HORNOK i sur., 2017a.; BAKKES i sur., 2020.). Poznato da *R. sanguineus* čini složenu grupu krpelja (sensu lato) koja uključuje najmanje 17 srodnih vrsta: *R. sanguineus* s.s., *R. turanicus*, *R. aurantiacus*, *R. bergeoni*, *R. boueti*, *R. camicasi*, *R. leporis*, *R. guilhoni*, *R. rossicus*, *R. moucheti*, *R. pusillus*, *R. sulcatus*, *R. tetracornus*, *R. ramachandrai*, *R. ziemmanni*, *R. pumilio* i *R. schulzei*. Navedene vrste imaju slična morfološka obilježja što onemogućava pouzdanu determinaciju no genski su različiti i posjeduju različit vektorski potencijal (DANTAS-TORRES i sur., 2013.; NAVA i sur., 2018.; BAKKES i sur., 2020.).

BAKKES i sur., (2020.) su sekvenciranjem *12S rRNA* i *16S rRNA* dokazali postojanje dvije različite genetske linije koje su do sada zajednički nazvane *R. turanicus* s.l.. Zbog genske sličnosti manje od 95% svih Afrotropskih krpelja *R. turanicus* ali i morfoloških razlika predložili su uvođenje nove vrste *Rhipicephalus africanus*. Ovim istraživanjem su potvrdili ranije pretpostavke DANTAS-TORRESA i sur., (2013.) i COIMBRA-DORES i sur., (2016.) o grananju *R. turanicus* s.l. u dvije genetske linije Novog svijeta i Starog svijeta.

BAKKES i sur., (2020.) su također dokazali podjelu vrste *R. turanicus* s.l. u dvije genetske linije koje se podudaraju s geografskom podjelom i prosječnom količinom padalina na južno-europsku i bliskoistočnu/azijsku. Također predlažu da bliskoistočna/azijska linija predstavlja izvornu vrstu odnosno *R. turanicus* sensu stricto (s.s.), a Palearktički uključujući i južno-europsku liniju i dalje predstavljaju *R. turanicus* sensu lato (s.l.).

Filogenskom analizom je *R. sanguineus* podijeljen u tri zasebne genetske linije i to *R. sanguineus* umjerene klime (*R. sanguineus temperate lineage*, engl.), *R. sanguineus* tropskih područja (*R. sanguineus tropical lineage*, engl.) i jugo-istočna linija *R. sanguineus* (*R. sanguineus south-east lineage*, engl.). Zaključuju da su potrebna dodatna istraživanja grupe *R. turanicus* i *R. sanguineus* sa ciljem razumijevanja taksonomije unutar grupe (BAKKES i sur., 2020.).

DANTAS-TORRES i sur., (2017.) su sekvenciranjem analizirali odsječak duljine 300 parova baza (pb) mitohondrijske *16S rRNA* 311 krpelja morfološki determiniranih kao *R. sanguineus* sensu lato prikupljenih s pasa, a 12 mužjaka kao *R. turanicus*. Dobiveni rezultati su pokazali da krpelji pripadaju vrsti *R. sanguineus* s.l., a ne *R. turanicus* bez obzira na

morfološku sličnost i ranije potvrde iste vrste u pasa u Portugalu (COIMBRA-DORES i sur., 2016.). Istraživanjem su također potvrdili 10 različitih haplotipova koji pripadaju u grupu *R. sanguines* umjerene klime (DANTAS-TORRES i sur., 2017.).

Sličnu gensku raznolikost utvrdila su molekularna istraživanja provedena u Latinskoj Americi koja su pokazala prisutnost dvije osnovne genetske linije *R. sanguineus* s.l. i to skupinu tropskog podneblja (od sjevernog Meksika do hladnijih područja Južne Amerike) i skupinu umjerenog podneblja u hladnijim područjima Južne Amerike (BURLINI i sur., 2010.; MORAES-FILHO i sur., 2011.; NAVA i sur., 2012.).

U Hrvatskoj su provedena dva istraživanja temeljena na analizi krpelja *R. sanguineus* sekvenciranjem *16S rDNA* i *COX1* (HORNOK i sur., 2017a.; CHITIMIA-DOBLER i sur., 2019.). U istraživanju koje su proveli HORNOK i sur., (2017a.) sekvencirano je ukupno šest krpelja iz Pule, Šibenika, Zadra, Zagreba i Rovinja s pasa analizom *COX1* i *16S rRNA* gena. Dokazali su da svi krpelji pripadaju skupini *R. sanguineus* umjerenog podneblja i da se uslijed sekvencijskih razlika filogenetski mogu dodatno podijeliti u dvije podskupine (IIa i IIb) unutar skupine srednjeg i zapadnog Mediterana. Samo je jedan krpelj pripadao skupini IIb dok su svi ostali pripadali skupini IIa. CHITIMIA-DOBLER i sur., (2019.) smatraju da nalaz jednog krpelja *R. sanguineus* s.s. s Krka sekvenciranjem *16S rRNA* predstavlja novi nalaz u Europi bez obzira na raniju potvrdu HORNOKA i sur., (2017a.).

Molekularnim istraživanjima, sekvenciranjem odsječka *16S rRNA* gena, vrsta *R. bursa* (PUNDA-POLIĆ i sur., 2002.; DUH i sur., 2003.; BECK i sur., 2016b.) je dokazana na području srednjeg i južnog hrvatskog priobalja.

### 2.4.3.3. Vektorski značaj krpelja iz roda *Rhipicephalus*

#### 2.4.3.3.1. *Rhipicephalus sanguineus sensu lato*

*Rhipicephalus sanguineus* s.l. je vektor *Babesia vogeli*, *Hepatozoon canis*, *Ehrlichia canis*, te *R. conori* i *R. massiliae* uzročnike pjegave groznice (DANTAS-TORRES, 2010., 2018.). Također se smatra i potencijalnim vektorom *A. platys* i *B. gibsoni* u Europi (SIMPSON i sur., 1991.; SOLANO-GALLEGO i sur., 2016.).

Južna Europa, prvenstveno zemlje Mediterana (Grčka, Albanija, Italija, Francuska, Portugal, Španjolska) predstavljaju endemično područje *A. platys* (SAINZ i sur., 2015.), uzročnika cikličke trombocitopenije pasa (Slika 21.). Osim u pasa molekularno je dokazana u slezenama lisica u Portugalu (CARDOSO i sur., 2015.), te u krpelja *R. sanguineus* s pasa u istraživanjima u Portugalu (MAIA i sur., 2014a.) i Španjolskoj (ESTRADA-PEÑA i sur., 2017c.)

U endemičnim područjima Južne Amerike, osim u pasa, molekularno je dokazana u dvije žene s kliničkim simptomima nalik gripi (slabost, glavobolje, bolovi u mišićima i zglobovima) (ARRAGA-ALVARADO i sur., 2014.; CICUTTIN i sur., 2016.), što ukazuje na mogući zoonotski potencijal.

*Anaplasma platys* je prvi puta molekularno dokazana u RH iz krvi psa izvezenog u Njemačku 2010. godine (DYACHENKO i sur., 2012.). HUBER i sur., (2017.) su molekularnim istraživanjem *A. platys* dokazali iz krvi 2,5% (27/1.080) naizgled zdravih pasa s podjednakom distribucijom na području kontinentalne Hrvatske (2%, 14/712) i priobalja (1,6%, 4/242), dok je najveća učestalost zabilježena na području sjevernog priobalja (7,1%, 9/126).

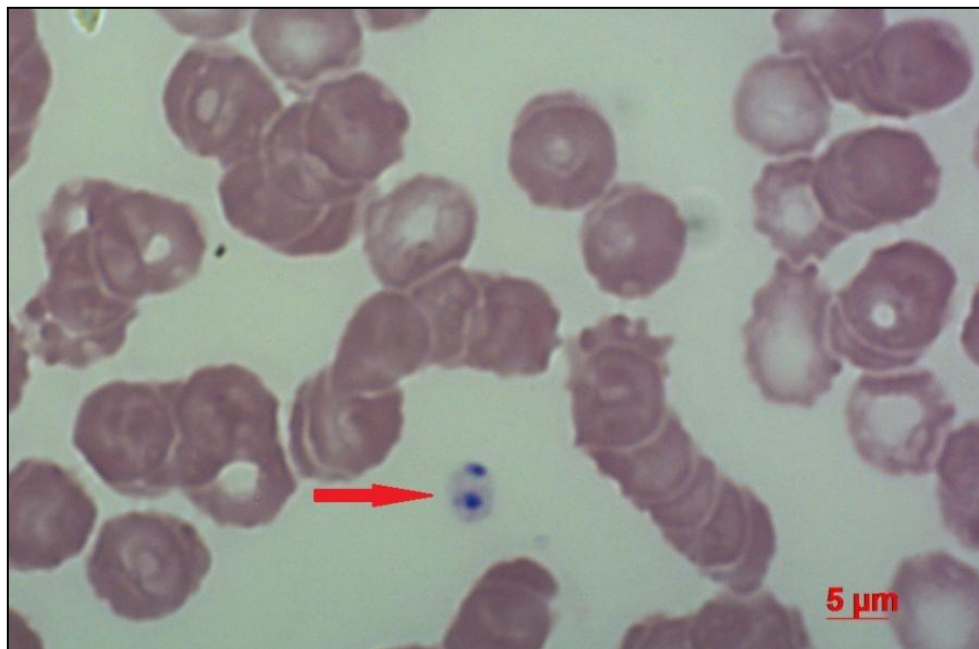
Drugi značajan rod unutar porodice Anaplasmataceae predstavlja rod *Ehrlichia*. Najznačajnija i jedina vrsta dokazana u Europi je *E. canis*, dok je do danas opisano još četiri: *E. chaffeensis* i *E. ewingii* su uzročnici infekcija u pasa i ljudi (SAD; ISMAIL i sur., 2017.), *E. muris* u ljudi (SAD; ISMAIL i sur., 2017.), dok *E. ruminantium* uzrokuje bolest u domaćih i divljih preživača (Afrika, Kina; ALLSOPP, 2015.).

U Europi *E. canis* (Slika 22.) je endemska u pasa na području Mediterana (Albanija, Crna Gora, Grčka, Italija, Portugal, Španjolska; SAINZ i sur., 2015.). Molekularno je dokazana iz krvi mačke u Portugalu (MAIA i sur., 2014b.), te u slezenama divljih životinja poput lisica u Portugalu, Italiji, Španjolskoj (SATTA i sur., 2011.; CARDOSO i sur., 2015.;

CHISU i sur., 2018.), vukova u Italiji (SANTORO i sur., 2016.) i rakuna u Španjolskoj (CRIADO-FORNELIO i sur., 2018.). U krpelja DNK *E. canis* je dokazana u *R. sanguineus* s.l. iz okoliša (HARRUS i sur., 2011.), s pasa u Rumunjskoj (IONITA i sur., 2013.) i Španjolskoj (ESTRADA-PEÑA i sur., 2017c.), te u dva istraživanja na Sardiniji u krpelja s pasa i koza (SATTA i sur., 2011.), te s lisica i pasa (CHISU i sur., 2018b.).

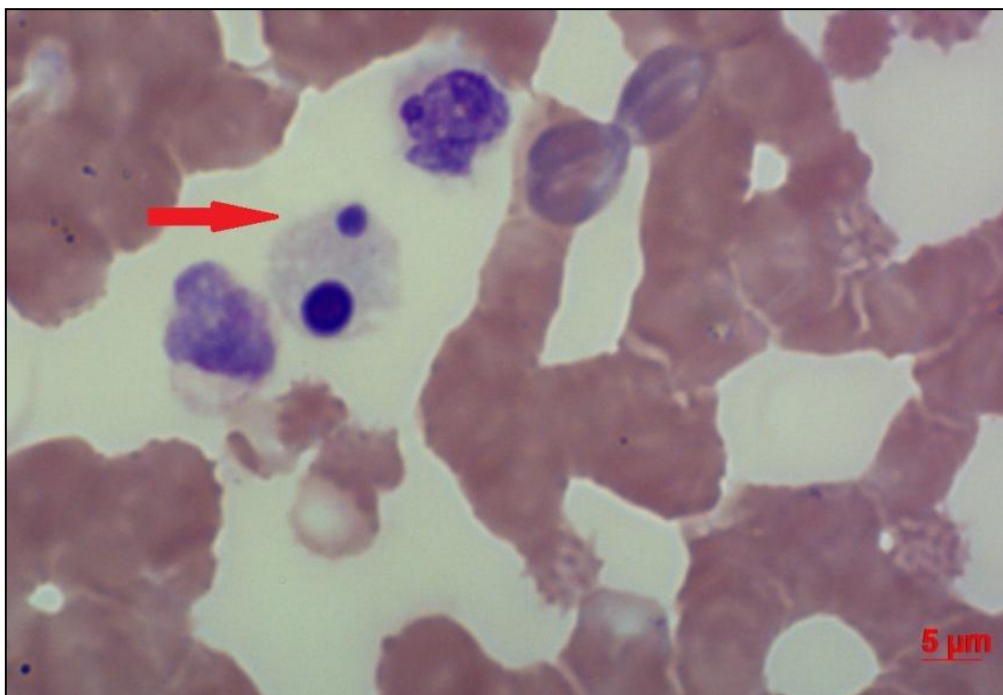
*Ehrlichia canis* je potencijalno zoonotski patogen, molekularno je dokazana u ljudi u Južnoj Americi, sa simptomima (groznica, osip, glavobolja, mučnina, povraćanje, bolovi u mišićima i zglobovima) sličnim kao kod humane erlihioze, uzrokovane *E. chaffensis* (PEREZ i sur., 2006.).

U Hrvatskoj su u dva istraživanja SNAP<sup>®</sup>4Dx i SNAP<sup>®</sup>4Dx<sup>®</sup> Plus testovima dokazana protutijela *E. canis* u 0,4% (2/435) naizgled zdravih pasa, na području sjevernog priobalja (Pula i Rijeka) (MRLJAK i sur., 2017.) i 0,6% (JURKOVIĆ i sur., 2019a.) pasa. JURKOVIĆ i sur., (2019a.) su dokazali protutijela u 0,6% (9/1.433) pasa: u 0,7% (5/753) naizgled zdravih i u 0,6% (4/617) bolesnih, dok su svi uginuli psi bili negativni. Molekularnim istraživanjem koje su proveli HUBER i sur., (2017.) *E. canis* nije dokazana u krvi 1.080 naizgled zdravih i tkivima (slezena, miokard, pluća, jetra) 63 uginula psa u Hrvatskoj.



Slika 21. Morula *A. platys* u trombocitu psa (razmaz krvi, Giemsa, imerzija)

(Izvor: Laboratorij za parazitologiju, HVI, Zagreb).



Slika 22. Morula *E. canis* u monocitu/limfocitu psa (razmaz krvi, Giemsa, imerzija)  
(Izvor: Laboratorij za parazitologiju, HVI, Zagreb).

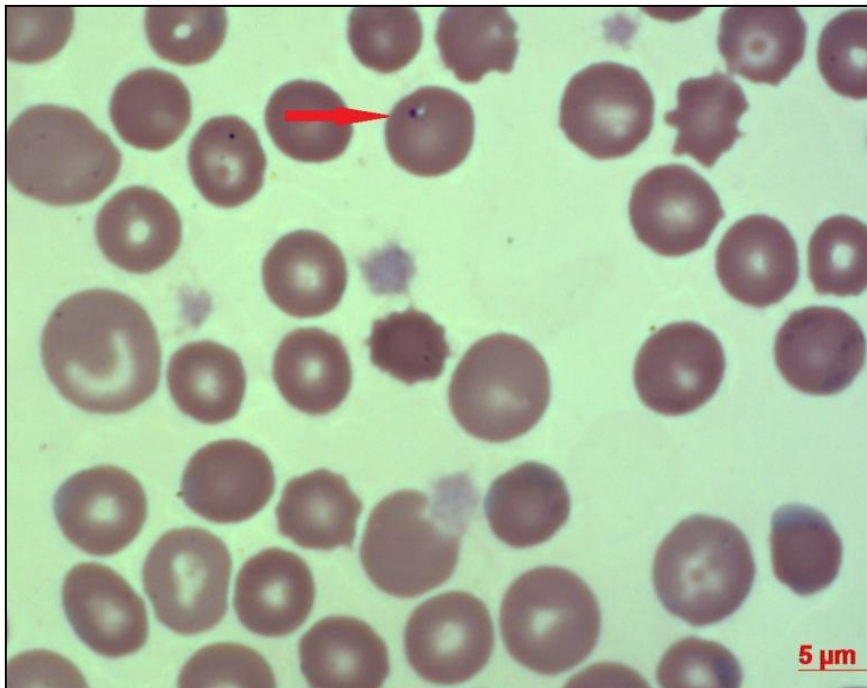
*Hepatozoon canis* (Rod *Hepatozoon*, Porodica Hepatozoidae) uzročnik hepatozoonoze pasa prenosi se ingestijom *R. sanguineus* koji sadrži zrele oociste (BANETH, 2011.). Na području Europe dokazan je u pasa i mačaka iz Grčke, Bugarske, Italije, Francuske, Portugala (BANETH, 2011.), Rumunjske (ANDERSSON i sur., 2013.) i Engleske (ATTIPA i sur., 2018.). Osim u pasa dokazan je u lisica iz Njemačke (NAJAM i sur., 2014a., 2014b.), Česke (MITKOVÁ i sur., 2016.), Mađarske (FARKAS i sur., 2014.), Austrije (HODŽIĆ i sur., 2018a.), Srbije (JUWAID i sur., 2019.), Portugala (CARDOSO i sur., 2014.), Italije (GABRIELLI i sur., 2010.) i čagljeva iz Mađarske i Austrije (DUSCHER i sur., 2013.). U većini istraživanja u Europi DNK *H. canis* je dokazana u vektoru *R. sanguineus* s.l. sa pasa i lisica (GABRIELLI i sur., 2010.; MAIA i sur., 2014a.; ESTRADA-PEÑA i sur., 2017c.).

VOJTA i sur., (2009.) su u RH *H. canis* molekularno dokazali iz krvi 106 (106/108; 98,1%), a *Hepatozoon* sp. (1,9%, 2/108) dva psa. *Hepatozoon* sp. je dokazan isključivo u kontinentalnoj regiji, dok je *H. canis* bio prisutan u pasa sa kontinentalnog i priobalnog područja, sa najvećom učestalosti na području sjevernog i južnog priobalja (VOJTA i sur., 2009.). U istraživanju DEŽDEKA i sur., (2010.) *H. canis* je dokazan u 23% slezena lisica (44/191) na području sjevernog priobalja (Istra i Primorje) i kontinentalne Hrvatske (Zagreb, Zagorje i Slavonija), dok je *Hepatozoon* sp. dokazan u slezenama dvije lisice (1%, 2/191) na području sjevernog priobalja (Istra).



*Babesia vogeli* najslabije patogena vrsta velikih babezija pasa (SOLANO-GALLEGO i sur., 2016.) je skvenciranjem dokazana iz krvi bolesnog (1,3%, 1/81) i dva naizgled zdrava psa (7%, 2/29) (BECK i sur., 2009.).

Mala babezija, *B. gibsoni* (Slika 23.) je prvi puta molekularno, a potom sekvenciranjem dokazana iz krvi šest asimptomatskih pit-bull terijera u selu Podbablje, u blizini Splita (BECK i sur., 2009.). Nedavno je preliminarnim istraživanjem dokazana iz krvi pasa na području Zagreba (JURKOVIĆ i sur., 2019b.).



Slika 23. Merozoit *B. gibsoni* u krvnom razmazu psa (Giemsa, imerzija)  
(Izvor: Laboratorij za parazitologiju, HVI, Zagreb).

*Rhipicephalus sanguineus* s.l prenosi obligatne intracelularne rikecije koje pripadaju skupini uzročnika pjegavih groznica (SPG, *spotted fever group*, engl.). Među najznačajnije uzročnike se ubraja *Rickettsia conorii*, uzročnik mediteranske pjegave groznice (MPG) i *R. massiliae* (PAROLA i sur., 2013.).

Mediteranska pjegava groznica je endemska na području južne Europe (PORTILLO i sur., 2015.). Tome u prilog idu istraživanja kojima su *R. massiliae* i *R. conori* dokazivane u *R. sanguineus* u zemljama na području Mediterana poput Italije (psi, koze, lisice, *R. massiliae* i *R. conori*, CHISU i sur., 2018., 2020.) Grčke (psi, *R. massiliae*, MORAGA-FERNANDEZ i sur., 2019.), Španjolske (psi, *R. massiliae*, VILA i sur., 2019.; ESTRADA PEÑA i sur., 2017c.), Portugala (psi, *R. massiliae* i *R. conori*, MAIA i sur., 2014a.; BARRADAS i sur.,

2020.), ali i sporadično u drugim državama poput Rumunjske (psi, *R. conori*; IONITA i sur., 2016.).

U RH je mediteranska pjegava groznica po prvi puta opisana na području Splita tridesetih godina 20. stoljeća (TARTAGLIA, 1935.), a PUNDA i suradnici 1984. godine su serološki potvrdili u ljudi oboljelih u epidemiji na području Splita. Od tada se najveći broj slučajeva mediteranske pjegave groznice u ljudi bilježi na području od Zadra do Dubrovnika (PUNDA i sur., 1984.; PUNDA-POLIĆ i sur., 2002., 2008.; DŽELALIJA i sur., 2016.), a sporadični slučajevi su zbilježeni na području sjevernog priobalja (Istra, Hrvatsko Primorje) (RADULOVIĆ i sur., 1993.; MULIĆ i sur., 2006.). Prema podacima HZJZ tijekom 2017. godine bilo je registrirano 4 slučaja oboljenja ljudi, dok je taj broj u 2016. godini iznosio svega 1 slučaj (ZBHRV16.; ZBHRV17.).

Protutijela *R. conori* su dokazana iz krvi 20,7% (11/53) pasa iz Zagreba i 62,4% (88/141) pasa na području srednjeg probalja (okolica Splita) (PUNDA-POLIĆ i sur., 1995.).

Prema dosadašnjim spoznajama na području Hrvatske istraživanja rikecija u krpeljima roda *Rhipicephalus* su rijetka. Do danas je provedeno jedno preliminarno istraživanje kojime su BECK i sur., (2016a.) molekularno, a potom i sekvenciranjem dokazali DNK *R. massiliae* u *Rhipicephalus* sp. na području srednjeg i južnog priobalja.

*Rhipicephalus turanicus*, svrstan u skupinu *R. sanguineus* s.l. kompleksa je predloženi vektor *H. canis* (GIANNELLI i sur., 2017.), a može prenositi i druge patogene poput *A. ovis*, *Theileria equi* i *R. massiliae* (DANTAS-TORRES i sur., 2017.; BAKKES i sur., 2020.). U nekoliko provedenih istraživanja u *R. turanicus* je dokazana DNK više vrsta patogena.

SATTA i sur., (2011.) su u Italiji u *R. turanicus* s ovaca i koza dokazali DNK *A. phagocytophilum* i *C. burnetti*, a MARQUEZ, (2008.) u Španjolskoj s ježa ovce, srne i divlje svinje DNK *R. massiliae*. U krpelja s jelena običnog ORKUN i sur., (2020.) su u Turskoj dokazali DNK *T. capreoli*.

HARRUS i sur., (2011.) su u *R. turanicus* iz okoliša u Izraelu dokazali DNK četiri vrste patogena: *B. vogeli*, *A. bovis*, *A. platys* i *E. canis*.

U *R. turanicus* s ovaca i koza u Alžiru AOUDI i sur., (2017.) su dokazali DNK *B. ovis*, *T. ovis* i *A. ovis* (AOUDI i sur., 2017.), dok su BELKAHIA i sur., (2019.) u *R. turanicus* s ovaca i koza u Tunisu dokazali DNK *A. ovis*.

Budući da taksonomski status krpelja *R. turanicus* još nije u potpunosti razjašnjen,

treba provesti dodatna istraživanja kako bi se razjasnila njegova vektorska uloga (DANTAS-TORRES i sur., 2018., BAKKES i sur., 2020.).

U Hrvatskoj je do danas provedeno jedno istraživanje kojime su DUH i sur., (2008.) u *R. turanicus* s ovaca na području srednjeg priobalja (okolica Splita) dokazali DNK *T. ovis*.

#### **2.4.3.3.2. *Rhipicephalus bursa***

*Rhipicephalus bursa* je vector *B. ovis* (YERUHAMisur., 1998.; GRECH-ANGELINI i sur., 2020.) uzročnika piroplazmoze ovaca.

U istraživanjima u Italiji u *R. bursa* s koza i ovaca dokazana je DNK *E. canis*, *A. ovis* i *C. burnetti* (CHISU i sur., 2018.); s ovaca *Babesia* sp. anglona (CHISU i sur., 2020.); s muflona i goveda DNK *T. orientalis* (CHISU i sur., 2019.).

CICCULLI i sur., (2019.) su na Korzici u *R. bursa* s goveda i divlje svinje dokazali DNK *R. aeshlimannii* i *R. slovacca*, dok je DNK *A. marginale* dokazana u *R. bursa* s goveda. DAHMANI i sur., (2017.) su u *R. bursa* s koza i ovaca dokazali DNK *A. marginale* i *E. canis*, a GRECH-ANGELINI i sur., (2020.) DNK *T. equi* i *B. caballi*.

U *R. bursa* s koza i ovaca u Grčkoj dokazana je DNK *R. massiliae*, *A. ovis*, te endosimbiont „*Coxiella*-sličan“ (PAPA i sur., 2020.). ORKUN i EMIR, (2020.) su u Turskoj u *R. bursa* s jelena običnog dokazali DNK *T. orientalis*, a u krpelja s lisica DNK *Babesia* sp. „tavsan“ i *H. canis*. AOUADI i sur., (2017.) su u *R. bursa* s koza i ovaca u Alžiru dokazali DNK *A. ovis* i *Theileria ovis*.

U istraživanjima *R. bursa* iz okoliša dokazana je DNK *E. canis*, *A. bovis* i *A. platys* u Izraelu (HARUS i sur., 2011.), te DNK *T. equi* i *B. caballi* u Italiji (ROMITI i sur., 2019.).

Prvi slučaj piroplazmoze ovaca na području Hrvatske opisali su ZAHARIJA i sur., (1973.) još davne 1911. godine, kasnije BOKO (1941.) i na području srednjeg priobalja. Piroplazmoza ovaca se rijetko opisuje u Hrvatskoj. Prema dosadašnjim spoznajama u Hrvatskoj provedeno je jedno istraživanje na području srednjeg priobalja (okolica Splita) na dvije skupine ovaca (DUH i sur., 2008.), kojem su sekvenciranjem potvrđene *T. ovis* i *Theileria* sp. Istim istraživanjem DUH i sur., (2008.) su sekvenciranjem u *R. bursa* s ovaca dokazali DNK *T. ovis* na području srednjeg priobalja

Osim u ovaca, *T. ovis* je dokazana u srne na području Gorskog kotara (PINTUR i sur., 2012a.).

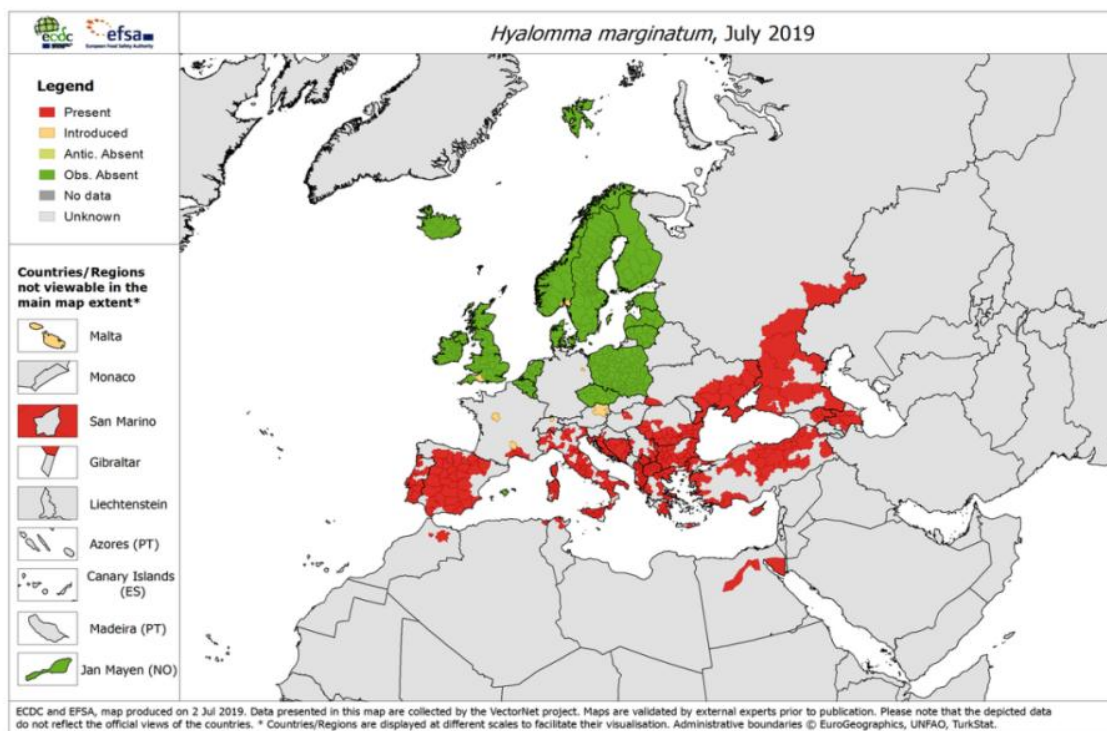
## 2.4.4. Rod *Hyalomma*

### 2.4.4.1. Proširenost i vrste krpelja iz roda *Hyalomma*

Rod *Hyalomma* sastoji se od 27 vrsta krpelja (BARKER i MURRELL, 2008.; GUGLIELMONE i sur., 2010.). Na području Europe opisano je šest vrsta i to *Hy. lusitanicum*, *Hy. marginatum*, *Hy. scupense*, *Hy. rufipes*, *Hy. aegyptium* i *Hy. excavatum*, čija je proširenost prikazana u Tablici 6.

*Hyalomma marginatum* je najznačajnija vrsta roda *Hyalomma* u Europi radi vektorske uloge u prijenosu krimsko-kongoanske hemoragijske groznice (MALTEZOU i sur., 2010.). Rasprostranjena na području južne i jugoistočne Europe (Slika 24., Tablica 6., PETNEY i sur., 2012.; ESTRADA-PEÑA i sur., 2017a.), sa sporadičnim dokazima iz Njemačke (RUBEL i sur., 2014.), Mađarske (FÖLDVARI i sur., 2011.), Austrije (DUSCHER i sur., 2018.) i Švedske (GRANDI i sur., 2020.). Danas je zajedno sa još četiri vrste, *Hy. rufipes*, *Hy. isaaci*, *Hy. turanicum* i *Hy. glabrum* svrstana u *Hyalomma marginatum* kompleks (APANASKEVICH i HORAK, 2008.; GUGLIELMONE i sur., 2010.; CAPEK i sur., 2014.). *Hyalomma scupense* je uz *Hy. marginatum*, najrasprostranjenija vrsta, opisana u južnom i jugoistočnom dijelu Europe (Tablica 6.; PETNEY i sur., 2012.; ESTRADA-PEÑA i sur., 2017a.).

Na području Hrvatske, prema dosadašnjim istraživanjima temeljenim na morfološkoj determinaciji opisane su svega dvije vrste krpelja roda *Hyalomma*, *Hy. marginatum* i *Hy. scupense* (KRČMAR, 2012.; BECK i sur., 2016b.). *Hyalomma marginatum* je opisana na gotovo cijelom području priobalja, dok je *Hy. scupense* učestalija na području južnog priobalja (PUNDA-POLIĆ i sur., 2002.; DUH i sur., 2003.; KRČMAR, 2012.; BECK i sur., 2016b.). U Tablici 7. je prikazana proširenost morfološki determiniranih vrsta *Hy. scupense* i *Hy. marginatum* i njihovih nositelja u Hrvatskoj.



Slika 24. Rasprostranjenost *Hy. marginatum* na području Europe (Izvor: ECDC, 2019d.).

Tablica 6. Vrste krpelja iz roda *Hyalomma* opisane na području Europe (preuzeto iz: PETNEY i sur., 2012.; ESTRADA-PEÑA i sur., 2017a.).

VRSTA KRPELJA	VRSTA ŽIVOTINJE	PROŠIRENOST
<i>Hy. lusitanicum</i>	Govedo, ovca, koza, jelen, mesojedi, jež, zec, kunić, čovjek	južna (Portugal, Španjolska, Francuska, Italija) Europa
<i>Hy. marginatum</i>	Domaći i divlji preživači, čovjek	južna (Španjolska, Portugal, Francuska, Italija) i jugoistočna (područje Balkana, Moldavija, Rumunjska, Ukrajina), te povremeno središnja (Njemačka, Mađarska, Austrija) i sjeverna (Finska, Švedska) Europa
<i>Hy. rufipes</i>	Govedo, ovce, koze, konji, psi, povremeno ljudi	Makedonija, Malta, Portugal, Njemačka, Češka
<i>Hy. aegyptium</i>	Govedo, pas, jelen, divlja svinja, zec, jež, gušteri, ptice, glodavci,	Rumunjska, Bugarska, Grčka, Turska
<i>Hy. scupense</i>	Govedo, konj, ovca, magarac, svinja	južna (Španjolska, Francuska, Italija) i jugoistočna (Albanija, BiH, Crna Gora, Srbija, Bugarska, Rumunjska, Moldavija, Grčka) Europa
<i>Hy. excavatum</i>	Govedo, ovca, koza, konj, magarac	Albanija, Grčka

Tablica 7. Vrste krpelja iz roda *Hyalomma* morfoloski determinirane na području Hrvatske.

VRSTA KRPELJA	VRSTA ŽIVOTINJE	LOKACIJA PRIKUPLJANJA	REFERENCE
<i>Hy. marginatum</i>	Ovca	Pula, Krk, Cres, Lošinj, Zadar, Split, Kaštela, Sinj, Brač, Dubrovnik	KRČMAR, 2012.
		Kaštela	DUH i sur., 2003.
	Govedo	Petrinja, Pula, Krk, Cres, Lošinj, Zadar, Kaštela, Sinj, Brač, Dubrovnik	KRČMAR, 2012.
		Kaštela, Bosanka, Glušci	PUNDA-POLIĆ i sur., 2002.; DUH i sur., 2003.; BECK i sur., 2016.
	Konj	Petrinja, Pula, Krk, Cres, Lošinj, Zadar, Split, Brač, Dubrovnik,	KRČMAR, 2012.
	Koza	Kaštela, Sinj	KRČMAR, 2012.
		Kaštela	DUH i sur., 2003.
	Magarac	Bosanka	BECK i sur., 2016b.
<i>Hy. scupense</i>	Ovca, govedo	Pula, Krk, Lošinj, Zadar, Split, Brač, Dubrovnik; Solin	KRČMAR, 2012.; BECK i sur., 2016b.

#### 2.4.4.2. Genska istraživanja krpelja iz roda *Hyalomma*

Probleme razlikovanja vrsta roda *Hyalomma* koja sadrži 27 vrsta naglasili su APANASKEVICH i HORAK (2008.). Unutar kompleksa *Hyalomma marginatum* danas se nalaze vrste *Hy. rufipes*, *Hy. isaaci*, *Hy marginatum* sensu stricto, *Hy. turanicum* i *Hy. glabrum* (CAPEK i sur., 2014.). Bez obzira na primjenu molekularnih analiza *12S rRNA*, *16S rRNA* i *COXI* gena sistematizacija roda još uvijek nije potpuna zbog značajnih heterogenosti unutar ranije definiranih vrsta (ROTH i sur., 2019.). Bez obzira na vektorski značaj krpelja *Hy. marginatum* kompleksa genetska istraživanja u Europi su vrlo oskudna.

Molekularnim istraživanjima, koje su sekvenciranjem odsječka *16S rRNA* gena proveli PUNDA-POLIĆ i sur., (2002.), DUH i sur., (2003.) i BECK i sur., (2016b.), *Hy. marginatum* je dokazana s goveda, ovaca i koza na području srednjeg (okolica Splita) i južnog (Bosanka, Glušci) priobalja Hrvatske, dok je *Hy. scupense* dokazana samo s goveda na području srednjeg priobalja (Solin) (BECK i sur., 2016b.).

#### 2.4.4.3. Vektorski značaj krpelja iz roda *Hyalomma*

*Hyalomma marginatum* je vektor uzročnika krimsko-kongoanske hemoragijske groznice, koja je endemska na području Albanije, Kosova Bugarske, Srbije i Rusije (MALTEZOU i sur., 2010.) te virusa Zapadnog Nila (ESTRADA-PEÑA i sur., 2015.). U istraživanjima u Italiji u *Hy. marginatum* je dokazana DNK *B. bigemina*, *B. bovis* s goveda i *T. equis* konja (IORI i sur., 2010.); *T. orientalis* s goveda i muflona (CHISU i sur., 2019.); *E. canis* s divlje svinje i ovce; *R. aeschlimannii* s različitih vrsta životinja (CHISU i sur., 2020.); te *Coxiella burnetii* s ljudi (CHISU i sur., 2018.). DNK *A. marginale* i *R. aeschlimannii* je dokazana u *Hy. marginatum* s goveda na Korzici (CICCULLI i sur., 2019.) i Portugalu (PEREIRA i sur., 2018.). IONITA i sur., (2013.) su u *Hy. marginatum* s goveda i ovaca dokazali DNK *T. orientalis* i *T. equi* iz okoliša u Rumunjskoj. KARASARTOVA i sur., (2018.) su u Turskoj u *Hy. marginatum* s ljudi dokazali tri vrste rikecija *R. slovaca*, *R. raoultii* i *R. aeschlimanni*.

*Hyalomma scupense* je jedan od predloženih vektora *T. annulata*, uzročnika tropske tajlerioze goveda (GHARBI i DARGHOUTH, 2014.) koja je u Europi dokazana u goveda u Španjolskoj (CALLEJA-BUENO i sur., 2017.) i Portugalu (GOMES i sur., 2016.). Istraživanja patogena u krpelju *Hy. scupense* u Europi su oskudna. Većina istraživanja je provedena na području sjeverne Afrike, kojima je dokazana DNK *T. equi*, *A. phagocytophilum*, *B. bovis*, *C. burnetti* i virus krimsko-kongoanske hemoragijske groznice (GHARBI i DARGHOUTH, 2014.).

*Hyalomma lusitanicum* je vektor *T. annulata* (VISERAS i sur., 1999.) i *T. equi* (ZAPF i SCHEIN, 1994.). U krpelju je dokazana DNK *Babesia* sp. anglona (ovca, CHISU i sur. 2020.), *R. aeschlimanni* (okoliš, CHISU i sur., 2018.) i endosimbiont „*Francisella*-sličan“ (okoliš, CHISU i sur., 2019.) u istraživanjima u Italiji. U Španjolskoj (MARQUEZ, 2008.) i Portugalu (PEREIRA i sur., 2016.) dokazana je DNK *R. massiliae* u *Hy. lusitanicum* s koza, srna, jelena lopatara i divljih svinja. *Coxiella burnetti* i *Borrelia lusitaniae* su u Španjolskoj (TOLEDO i sur., 2009.) i Portugalu (MILHANO i sur., 2010.) dokazani u *Hy. lusitanicum* iz okoliša.

Molekularnim istraživanjima u Hrvatskoj, PUNDA-POLIĆ i sur., (2002.) i BECK i sur., (2016b.) su u *Hy. marginatum* s goveda na području srednjeg i južnog priobalja Hrvatske dokazali DNK *R. aeschlimanii*.

## 2.4.5. Rod *Haemaphysalis*

### 2.4.5.1. Proširenost i vrste krpelja iz roda *Haemaphysalis*

Unutar roda *Haemaphysalis* opisano je 166 vrsta krpelja (BARKER i MURRELL, 2008.; GUGLIELMONE i sur., 2010.), od kojih je u Europi prisutno sedam *H. parva*, *H. concinna*, *H. punctata*, *H. sulcata*, *H. inermis*, *H. erinacei* i *H. hispanica* (PETNEY i sur., 2012.; ESTRADA-PEÑA i sur., 2017a.). U Tablici 8. je zbirni prikaz proširenosti vrsta opisanih na području Europe.

U Hrvatskoj prema dosadašnjim istraživanjima temeljenim na morfološkoj determinaciji rod *Haemaphysalis* predstavlja drugi najraznolikiji rod nakon roda *Ixodes*, sa šest determiniranih vrsta: *H. punctata*, *H. inermis*, *H. sulcata*, *H. concinna*, *H. parva* i *H. erinacei* (PUNDA-POLIĆ i sur., 2002.; DUH i sur., 2003., 2008.; KRČMAR, 2012., 2014., 2019.; JEMERŠIĆ i sur., 2014.). U Tablici 9. je prikazana proširenost morfološki determiniranih vrsta i njihovih nositelja na području Hrvatske.

Tablica 8. Vrste krpelja iz roda *Haemaphysalis* opisane na području Europe  
(Preuzeto iz: PETNEY i sur., 2012.; ESTRADA-PEÑA i sur., 2017a.).

VRSTA KRPELJA	VRSTA ŽIVOTINJE	PROŠIRENOST
<i>H. concinna</i>	Ovca, govedo, konj, jelen, pas, zec, glodavci, jež	zapadna (Francuska), južna (Italija), središnja (Njemačka, Poljska, Češka, Slovačka, Austrija, Mađarska), istočna (Rusija) jugoistočna (Rumunjska, područje Balkana) Europa
<i>H. punctata</i>	Govedo, ovca, koza, konj, jelen, zec, pas, lisica, gušteri, ptice, glodavci, jež, voluharice	zapadna (Engleska, Francuska, Nizozemska, Belgija), sjeverna (Danska, Švedska), središnja (Njemačka, Češka, Slovačka, Mađarska, Poljska, Švicarska), južna (Italija, Španjolska, Portugal), istočna (Rusija, Ukrajina) i jugoistočna (Albanija, Bugarska, Cipar, Grčka, Turska, Rumunjska, Moldavija) Europa
<i>H. sulcata</i>	Ovca, koza, konj, lisica, pas, jež	južna (Španjolska), središnja (Austrija, Češka, Slovačka) i jugoistočna Europa (Bugarska, Rumunjska, Srbija)
<i>H. inermis</i>	Govedo, ovca, koza, konj, jelen, pas, lisica, jež, čovjek (povremeno)	južna (Francuska, Portugal, Španjolska, Italija), središnja (Austrija, Češka, Slovačka, Poljska, Mađarska) i jugoistočna (Albanija, Bugarska, Grčka, Rumunjska) Europa
<i>H. parva</i>	Domace i divlje životinje	Italija, Rumunjska, Grčka, Bugarska
<i>H. erinacei</i>	Zec, glodavci, kuna, bjelica, tvor, lisica	Italija, Bugarska, Grčka, Rumunjska
<i>H. hispanica</i>	Zec, kunić	Francuska, Portugal, Španjolska



Tablica 9. Vrste krpelja iz roda *Haemaphysalis* morfološki determiniranena području Hrvatske.

VRSTA KRPELJA	VRSTA ŽIVOTINJE	LOKACIJA PRIKUPLJANJA	REFERENCE
<i>H. punctata</i>	Ovca	Cres, Lošinj, Pula, Krk, Zadar, Split, Kaštela, Sinj, Brač, Dubrovnik	KRČMAR, 2012.
		Muč, Kaštela, Sinj	DUH i sur., 2008., 2003.; PUNDA-POLIĆ i sur., 2002.
	Koza	Cres, Kaštela, Sinj	KRČMAR, 2012.
		Kaštela, Sinj	PUNDA-POLIĆ i sur., 2002.; DUH i sur., 2003.
	Govedo	Zagreb, Dugo Selo, Peščenica, Pula, Lošinj, Krk, Cres, Zadar, Split, Kaštela, Sinj, Brač, Dubrovnik	KRČMAR, 2012.
		Kaštela, Sinj	PUNDA-POLIĆ i sur., 2002.; DUH i sur., 2003.
	Konj	Zagreb, Dugo Selo, Peščenica, Pula, Krk, Cres, Lošinj, Zadar, Split, Brač, Dubrovnik	KRČMAR, 2012.
	Žuta pastirica	Metković	KRČMAR, 2012.
Okoliš	Brač	KRČMAR, 2012.	
lisice	Požeško-Slavonska županija	JEMERŠIĆ i sur., 2014.	
<i>H. inermis</i>	Ovca, govedo, pas	Cres, Lošinj, Zadar, Dubrovnik	KRČMAR, 2012.
	Okoliš	Beli Manastir, Haljevo, Čeminac, Popovac, Lug, Grabovac, Branjina, Draž, Tikveš, Zmajevac	KRČMAR i sur, 2014., 2019.
	Divlja svinja	Beli Manastir, Haljevo, Popovac, Podolje	KRČMAR, 2019.
<i>H. concinna</i>	Srna obična	Dekanovec	KRČMAR, 2012.
	Zidna gušterica, krška gušterica, zapadno - mediteranski zelembać	Krk	KRČMAR, 2012.
	Okoliš	Mikluš, Beli Manastir; Donji Andrijevci, Koška, velika Kapanica, Piškorevci, Široko Polje, Kunjevci, Lug, Tompojevci; Slavonski Brod	KRČMAR, 2012., 2019.; TIJSSE-KLASSEN i sur., 2013a.
<i>H. sulcata</i>	Ovca	Pula, Krk, Cres, Lošinj, Zadar, Split, Brač; Muč, Kaštela, Sinj	KRČMAR, 2012.
			DUH i sur., 2006., 2008.
	Koza	Kaštela, Sinj	DUH i sur., 2006.
	Melanistički mrki gušter	Krk	KRČMAR, 2012.
	Krška gušterica	Krk, Brusnik, Kurjak, Maslinovac, Vrtlac, Trstikovac, Mrtovac, Veliki Babuljaš, Mali Prišnjak, Jančar,	KRČMAR, 2012.
	Pomorska gušterica	Mali Dolfin, Lutrošnjak, Kamenjak, premuda, Olib, Dužac, Baričevac, Vela Sestrica, Palagruža	KRČMAR, 2012.
	Veliki zelembać	Cres	KRČMAR, 2012.
Obični zelembać	Trstenik	KRČMAR, 2012.	
<i>H. parva</i>	Okoliš	Brač	KRČMAR, 2012.
<i>H. erinacei</i>	Bijela čiopa	Dubrovnik	KRČMAR, 2012.

#### 2.4.5.2. Genska istraživanja krpelja iz roda *Haemaphysalis*

Gensku raznolikost krpelja iz roda *Haemaphysalis* u Europi, *H. concinna* i *H. erinacei* istraživali su HORNOK i sur., (2016a., 2016b.).

Sekvenciranjem odsječaka *16S rRNA* i *COX1* gena ličinki i nimfi krpelja *H. concinna* na području Mađarske HORNOK i sur., (2016a.) su dokazali postojanje dvije različite genetske linije, od kojih je jedna pokazivala 99% sličnosti sa specifičnim istočnoazijskim izolatima iz Japana, dok je druga bila sličnija istočno sibirskim izolatima.

U drugom istraživanju (HORNOK i sur., 2016b.) autori su istraživali filogenetske odnose tri podvrste krpelja *Haemaphysalis erinacei*, *Haemaphysalis erinacei taurica* (Rumunjska i Turska), *H. e. erinacei* (Italija) i *H. e. turanica* (Kina), sekvenciranjem *16S rRNA* i *COX1* gena. Utvrdili su da su razlike u sekvencama *16S rRNA* i *COX1* gena *H. e. taurica* i *H. e. erinacei* bile manje od 2%, dok su razlike kod *H. e. taurica* i *H. e. turanica* iznosile čak i do 7,3%. Zaključuju da rezultati filogenetskog istraživanja ne podržavaju taksonomsku podjelu *H. erinacei* na tri podvrste, zbog utvrđene genetske raznolikosti između *H. e. turanica* i *H. e. taurica*, sugerirajući da iste mogu predstavljati različite vrste. Stoga predlažu reviziju taksonomskog statusa krpelja *H. erinacei* na većem broju uzoraka.

Molekularnim istraživanjima u Hrvatskoj su do danas potvrđene dvije vrste krpelja. Sekvenciranjem odsječaka *16S rRNA* gena *H. punctata* (PUNDA-POLIĆ i sur., 2002.; DUH i sur., 2003.) i *H. sulcata* (DUH i sur., 2006.) su dokazane s goveda i ovaca na području srednjeg priobalja (okolica Splita).

#### 2.4.5.3. Vektorski značaj krpelja iz roda *Haemaphysalis*

Krpelji iz roda *Haemaphysalis* mogu biti vektori *B. major* (YIN i sur., 1996.) i *T. orientalis* (*T. buffeli*/*T. sergenti*) (WATTS i sur., 2016.) uzročnika tajlerioze goveda. *Theileria orientalis* je učestala u goveda i ovaca u Novom Zelandu, Australiji, Japanu i Africi (SIVAKUMAR i sur., 2014.). U Europi je dokazana samo u asimptomatskih goveda u Mađarskoj (HORNOK i sur., 2014.), Portugalu (BRÍGIDO i sur., 2004.), Italiji (CASSINI i sur., 2012.) i Srbiji (VASIĆ i sur., 2018.). Osim krpeljima može se prenositi transplacentarno (MEKATA i sur., 2018.) ili ušima (FUJISAKI i sur., 1993.).

Smatraju se i vektorima *A. bovis*, uzročnika monocitne anaplazmoze u domaćih i divljih preživača u Brazilu, Africi i Aziji (ATIF, 2016.; SAID i sur., 2018.), čija je DNK dokazana u *H. punctata* u Rumunjskoj (ljudi, ANDERSSON i sur., 2018.) i Španjolskoj

(ptice, vegetacija, PALOMAR i sur., 2015.). Uzročnik je do sada u Europi dokazan u goveda u Italiji (CECI i sur., 2014.) i jelena u Španjolskoj (GARCÍA-PÉREZ i sur., 2016.).

U krpelja iz roda *Haemaphysalis* dokazana je DNK različitih patogena, međutim njihova vektorska uloga nije još u potpunosti razjašnjena. Najviše istraživanja je provedeno na vrsti *H. punctata* u kojoj je dokazana DNK više vrsta rikecija poput *R. helvetica* (okoliš; Engleska, TIJSSE-KLASSEN i sur., 2013c.), *R. massilae*, *R. raoutii*, *R. monacensis* (okoliš, jelen lopatar; Španjolska, MARQUEZ, 2008.) i *R. hoogstraali* (muflon, ovca; Italija, CHISU i sur., 2018.). U nekoliko istraživanja dokazana je DNK četiri vrste anaplazmi poput *A. marginale* (okoliš; Portugal, ANTUNES i sur., 2016.), *A. centrale*, *A. phagocytophilum* (goveda; Španjolska, PALOMAR i sur., 2015.) i *A. ovis* (koze, goveda, lisica; Italija, CHISU i sur., 2018.). DNK *E. canis* je dokazana u dva istraživanja u *H. punctata* u Italiji s koza (SATTA i sur., 2011.) i muflona (CHISU i sur., 2018.).

U Italiji je DNK *Babesia* sp. anglona dokazana u *H. punctata* s muflona (CHISU i sur., 2020.), a *T. orientalis* s goveda i lisica (CHISU i sur., 2019.). U krpelja s pasa i iz okoliša u Rumunjskoj dokazana je DNK *H. canis* (ANDERSSON i sur., 2017b.).

U *H. sulcata* u Italiji dokazana je DNK *A. ovis*, *E. canis* (koze, SATTA i sur., 2011.); *Babesia* sp. anglona (muflon, CHISU i sur., 2020.) i *C. burnetti* (psi, koze, SATTA i sur., 2011.). U *H. sulcata* s ovaca i koza u Grčkoj dokazana je DNK *B. divergens* (CHALIGIANNIS i sur., 2018.), a *R. hoogstraali* u *H. sulcata* iz okoliša u Turskoj (ORKUN i sur., 2020.).

U *H. parva* u Turskoj iz okoliša ORKUN i sur., (2020.) su dokazali DNK *R. helvetica*, *R. hoogstraali*, *B. rossi* i *B. crassa*, dok su ORKUN i EMIR i sur., (2020.) u krpelja s vukova, lisice i risa dokazali DNK *R. helvetica* i *R. hoogstraali*, a *H. felis* u krpelja s risa (ORKUN i EMIR, 2020.). CHALIGIANNIS i sur., (2018.) su u *H. parva* s ovaca i koza u Grčkoj dokazali DNK *B. ovis* i *T. annulata*.

U *H. concinna* dokazana je DNK *H. canis* s psa u Rumunjskoj (ANDERSSON i sur., 2017b.), DNK *T. capreoli* i *Babesia motasi* iz okoliša u Mađarskoj (HORNOK i sur., 2015.), te *A. phagocytophilum* s divljih preživača u Slovačkoj (KAZÍMIROVÁ i sur., 2018.). HAMŠIKOVÁ i sur., (2016.) su u *H. concinna* sa malih glodavaca u Slovačkoj dokazali zoonotske vrste babezija *B. microti*, *B. venatorum* i *B. divergens*.

U *H. inermis* iz okoliša dokazana je DNK *Babesia crassa* (Mađarska, HORNOK i sur., 2015.), *Borrelia miyamotoi* (Slovačka, HEGLASOVÁ i sur., 2020.) i *R. aeschlimanni* (Španjolska, PORTILLO i sur., 2008.).

U RH je provedeno nekoliko istraživanja kojima su u domaćih i divljih životinja, te krpelja molekularno dokazani patogeni čijim se vektorom smatraju krpelji iz roda *Haemaphysalis*.

*Anaplasma bovis* je molekularno dokazana u uzorcima slezena srna (4%, 2/48), jelena (2%, 2/107), muflona (2%, 2/62) i lisice (1%, 1/74) (BECK i sur., 2016a.). Na području Fužina su u slezenama tri naglo uginule krave sekvenciranjem dokazane *A. bovis* i *T. orientalis* (JURKOVIĆ i sur., 2020.).

Izolat *A. centrale* identičan izolatu divljih papkara iz Japana dokazan je istraživanjem koje su proveli BECK i sur. (2016a.) u divokoza (4%; 2/54) i muflona (21%; 13/62). Dokaz uzročnika predstavlja rijedak nalaz u Europi (PALOMAR i sur., 2015.; GARCÍA-PÉREZ i sur., 2016.). Prenosi se krpeljem *R. simus* (POTGIETER i van RENSBURG, 1987.), unatoč činjenici da se više vrsta krpelja navode kao mogući vektori *A. centrale* (ATIF, 2016.).

*Rickettsia hoogstraalii* sp. nov., uzročnik nalik *R. felis*, je prvi puta molekularno dokazana u krpelja *H. sulcata* (22,8%, 23/795) sa ovaca i koza na području srednjeg priobalja (DUH i sur., 2006., 2010.). Iako spada u skupinu uzročnika pjegave groznice, njezina patogenost nije u potpunosti razjašnjena. Osim u RH, DNK *R. hoogstraalii* je u Europi dokazana u krpeljima *H. punctata* i *H. sulcata* u Italiji (CHISU i sur., 2017.) i Španjolskoj (MARQUEZ, 2008.).

#### 2.4.6. Istraživanja patogena u krpeljima

SATTA i sur., (2011.) su istraživali patogene u 1.485 krpelja *R. sanguineus*, *R. turanicus*, *R. bursa*, *R. pusillus*, *Hy. marginatum*, *H. sulcata* i *D. marginatus* sa Sardinije. Zoonotske rikecije su dokazane u 0,9% skupnih uzoraka *R. sanguineus* sa pasa i ovce, 4,5% *R. turanicus* s ovce, koza, goveda, konja i jednom *R. pusillus* s ježa. DNK *E. canis* je dokazana u 0,1% skupnih uzoraka *R. sanguineus* s pasa, 16,7% *H. sulcata* sa koza i 7,8% sa *D. marginatus* sa divljih svinja. U pet skupnih uzoraka *R. turanicus* sa ovaca i koza dokazana je DNK *A. phagocytophilum*. *Coxiella burnetti* je dokazana u 0,5% skupnih uzoraka *R. sanguineus* sa pasa i koza, 0,3% *R. turanicus* i 4,4% *H. sulcata* sa koza.

CHISU i sur., (2018., 2019., 2020.) su proveli tri istraživanja patogena u krpelja na Sardiniji. CHISU i sur. su 2018. godine pretražili 1.619 krpelja prikupljenih sa domaćih i divljih životinja, ljudi i vegetacije. DNK rikecija *R. massiliae* i *R. conori* su dokazali u *R. sanguineus* s.l. s pasa, lisice i koze; *R. hoogstralii* u *H. punctata* sa muflona i ovce; te *R. aeschlimanni* u *Hy. marginatum* sa različitih vrsta životinja i ljudi. DNK *E. canis* je bila prisutna u *R. sanguineus* s.l. s pasa i lisica; *R. bursa* s koza; *H. punctata* s muflona. DNK *A. ovis* je dokazana u *R. sanguineus* s.l. sa pasa, lisica i koza; *R. bursa* sa muflona i ovaca, te u *H. punctata* sa koza, goveda i lisica. *Coxiella burnetti* je dokazana u *R. sanguineus* s.l. i *R. bursa* sa pasa i koza; te u *Hy. marginatum* sa ljudi. U *D. marginatus* sa divlje svinje dokazana je DNK *R. slovaca*.

U istraživanju provedenom 2019. godine (CHISU i sur., 2019.) su istražili 166 krpelja različitih vrsta sa divljih i domaćih životinja. *Theileria orientalis* je bila dominantna vrsta dokazana u *R. sanguineus* s.l. sa pasa, koza, lisica, goveda i muflona. DNK je također bila prisutna u krpelja *Hy. marginatum*, *D. marginatus*, *R. bursa* i *H. punctata*. Preostale vrste piroplazmi poput *T. equi* i *B. bigemina* su dokazane u *R. sanguineus* s.l. s pasa, a *T. ovis* u *R. sanguineus* s.l. s muflona.

Tijekom 2020. godine CHISU i sur., su pretražili su 230 vrsta krpelja i njihovih patogena s različitih vrsta životinja. Ukupno su dokazali 11 vrsta krpelja. DNK *Anaplasma* spp. nisu dokazana, dok je *E. canis* dokazana u *Hy. marginatum* sa svinje i ovce, u *D. marginatus* s divlje svinje i muflona, te u *R. bursa* i *R. sanguineus* s.l. s ovaca. DNK *R. massiliae* je dokazana u *R. sanguineus* s.l. sa pasa; *R. aeschlimanni* u *Hy. marginatum* sa svinja; a *R. slovaca* u *D. marginatus* sa divlje svinje. *Babesia* sp. anglona je bila prisutna u više

različitih vrsta krpelja poput *H. sulcata* s muflona, *Hy. lusitanicum* s ovce, *R. bursa* i *R. sanguineus* s.l. sa različitih vrsta domaćih i divljih preživača.

SGROI i sur., (2020.) su istraživanjem krpelja *D. reticulatus* i *I. ricinus* s divljih svinja u južnoj Italiji u 18,3% krpelja dokazali uzročnike pjegavih groznica *R. slovaca* i *R. raoultii*. Svega jedan *I. ricinus* (0,6%) je nosio DNK *R. slovaca*, dok u je 9% krpelja *D. marginatus* dokazana *R. slovaca*, a u jednom (0,6%) *R. raoultii*. Niti u jednog krpelja nije dokazana DNK *Babesia/Theileria* spp., *Ehrlichia* spp., *Anaplasma* spp., „*Ca. Neoehrlichia mikurensis*“ *Coxiella burnetii* i *Borrelia burgdorferi* sensu lato.

PAPA i sur., (2020.) su analizirali krpelje s koza iz Grčke lančanom reakcijom polimerazom, sekvenciranjem *16S rRNA* i sekvenciranjem slijedeće generacije (NGS, *next generation sequencing*, engl.). U jednom krpelju *I. ricinus* su dokazali DNK *R. monacensis*, *A. platys* i „*Candidatus* *Midichloria mitochondrii*“, a u drugom *R. monacensis*, *A. ovis* i „*Ca. Midichloria mitochondrii*“. U *R. bursa* je bila prisutna DNK *R. massilae*, *A. ovis*, „*Coxiella*–sličan“ endosimbionti „*Ca. Midichloria mitochondrii*“. U *D. marginatus* su dokazali DNK *A. ovis*. Zaključili su da sekvenciranje slijedeće generacije predstavlja izvrsnu platformu za istraživanje mikrobioma krpelja.

CHALIGIANNIS i sur., (2018.) su istražili 179 krpelja *R. sanguineus* s.l. (psi), *D. marginatus* (ovce i koze), *H. parva* (ovce i koze), *H. sulcata* (ovce i koze), *I. gibbosus* (ovce), *H. punctata* (ovca) i *R. bursa* (koza) u Grčkoj. DNK *Rickettsia* spp. je dokazana u 15,1%, *C. burnetii* u 17,9%, a *Anaplasma* spp. u 20,1% krpelja. Vrste *Babesia* spp. su bile prisutne u 15,6%: *B. bigemina* u *R. sanguineus*; *B. divergens* u *H. sulcata*; *B. ovis* u *H. parva* i *R. sanguineus*, a *B. crassa* u *H. parva*. U 21,2% su dokazane *Theileria* spp.: *T. annulata* u *D. marginatus*, *H. parva* i *R. sanguineus*; *T. buffeli/orientalis* u *D. marginatus* i *R. sanguineus*; *T. ovis* u *D. marginatus*, *H. parva*, *H. sulcata* i *R. sanguineus*; *T. lestoqueari* u *D. marginatus*, *I. gibbosus*, *H. sulcata* i *R. sanguineus*.

MORAGA-FERNANDEZ i sur., (2019.) su pretražili 187 krpelja *I. gibbosus*, *D. marginatus*, *H. parva*, *H. sulcata*, *H. punctata*, *Hy. excavatum*, *R. sanguineus*, *R. bursa* i *Rhipicephalus* sp. na prisutnost DNK rikecija u Grčkoj. U krpelja *R. sanguineus* sa pasa dokazana je DNK *R. massiliae*, dok je u *D. marginatus* sa koza i ovaca dokazana DNK *R. slovaca*.

BELKAHIA i sur., (2019.) su istraživali prisutnost DNK anaplazmi u krpelja *R.*

*turanicus*, *R. sanguineus* s.l., *R. bursa* i *R. annulatus* prikupljenih sa koza i ovaca u Tunisu. Dokazali su *A. ovis* u 7,9% *R. turanicus* i 2,5% *R. sanguineus* s.l., ali ne i u preostalim vrstama krpelja.

DAHMANI i sur., (2017.) su istraživali krpelje *Hy. marginatum* i *R. bursa* s ovaca, koza, goveda i pasa sa Korzike. Jedino su u dvije ženke *R. bursa* dokazali *A. marginale* i *E. canis*. CICCULI i sur., (2019.) su u *R. bursa* i *Hy. marginatum* sa goveda dokazali rikecije *Rickettsia aeschlimannii* i „*Candidatus Rickettsia babrbarie*“, te *Anaplasma marginale*. U jednom skupnom uzorku sa goveda dokazali su *B. burgdorferi* s.l. za koju se smatralo da je izuzetno rijetka na Korzici, dok u skupnih uzoraka *I. ricinus* nisu dokazali DNK patogena.

PEREIRA i sur., (2018.) su proveli jedno od najopsežnijih istraživanja na krpeljima s domaćih i divljih životinja u južnom Portugalu. U krpelja *R. sanguineus* s.l. i *R. bursa* s domaćih životinja 35 sekvenci je pokazalo 99% do 100% sličnosti sa sekvencama *16S rDNA* *A. centrale* i *A. marginale*, dok su tri sekvence iz *Hy. marginatum* i *R. sanguineus* s.l. bile jednake novom izolatu *Anaplasma* sp. iz Kine. Rikecija *R. aeschlimannii* je dokazana u 15 *H. marginatum* i jednom *D. marginatus*, a *R. massiliae* i „*Candidatus R. barbaeiae*“ u *R. sanguineus* s.l. Autori su također utvrdili da brojne umnožene PCR proizvode nisu uspješno sekvencirali vjerojatno zbog prisutnosti više mikroorganizama iste vrste.

DA ROLD i sur., (2018.) su u sjevernoj Italiji analizirali 24 skupna uzorka odraslih krpelja *I. ricinus* i 277 skupnih uzoraka nimfi sa lisica. Dokazali su rikecije *Rickettsia helvetica* (3,7%) i *R. monacensis* (0,5%); četiri vrste *Borrelia burgdorferi* (s.l.): *B. afzelii* (1,5%), *B. burgdorferi* (s.s.) (1,3%); *B. garinii* (0,2%) i *B. valaisiana* (0,2%), a od ostalih zoonotskih uzročnika *A. phagocytophilum* (3,3%), „*Ca. Neoehrlichia mikurensis*“ (1,7%) i *Babesia venatorum* (0,1%). Istovremeno su u lisica dokazali samo piroplazmu *B. vulpes* dok svi ostali zoonotski patogeni nisu bili prisutni. Zaključili su da monitoring patogena u krpeljima znatno učinkovitiji od monitoringa lisica.

U Turskoj su ORKUN i EMIR, (2020.) i ORKUN i sur., (2020.) proveli dva opsežna istraživanja patogena u krpeljima. ORKUN i EMIR, (2020.) su istraživali patogene u 128 krpelja sa divljih životinja. U *R. turanicus* s lisice i zeca dokazana je DNK „*Babesia* sp. tavsan“, dok je *T. capreoli* dokazana u *Hy. excavatum* i *R. turanicus* sa jelena običnog. U *Hy. marginatum*, *R. turanicus* i *I. ricinus* s medvjeda dokazan je *Hepatozoon ursi*. U krpelja s

lisica dokazana su dva genotipa *H. canis* koja su dijelila međusobnu sličnost od 98,7%. Sekvence *H. canis* dokazane u *R. turanicus* su pripadale jednom genotipu, dok je sekvenca *H. canis* dokazana u *H. parva* pripadala drugom genotipu. U *H. parva* je dokazana DNK *H. felis* sa risa, *Hepatozoon* sp. i *R. hoogstraalii* sa vukova, lisica i risa.

ORKUN i sur., (2020.) su istraživali 1.019 krpelja iz okoliša. Ukupno 2,64% krpelja dokazana je DNK *Babesia* spp.: *B. occultans* i „*Babesia* sp. tavsan 1“ u *Hy. marginatum*; *B. crassa* i *B. rossi* u *H. parva*; te „*Babesia* sp. tavsan 2“ u *R. turanicus*. DNK *Rickettsia* spp. je dokazana u 12,26% krpelja: *R. slovaca* i *R. raoultii* u *D. marginatus*, *R. aeschlimannii* i *R. sibirica* u *Hy. marginatum*, *R. monacensis* u *I. ricinus*, *R. hoogstraalii* u *H. parva* i *H. sulcata*. U *I. ricinus* su dokazane *Borrelia afzeli* i *B. lusitaniae*.

U Njemačkoj su NAJM i sur., (2014a., 2014b.) istraživali prisutnost DNK piroplazmi i vrsta iz roda *Hepatozoon* u krpelja s lisica. U *I. ricinus* su dokazali DNK *T. annae*, *B. microti*, *B. venatorum* i *T. capreoli*. U *I. hexgonus* je dokazana DNK *T. annae*, *B. microti* i *T. orientalis*. U *I. canisuga* su dokazali DNK *T. annae* i *B. microti* (NAJM i sur., 2014a.). DNK *Hepatozoona* su dokazali u ukupno 14,2% *I. ricinus*, 2,2% *I. canisuga*, 2% *I. hexagonusi* 7,6% *D. reticulatus* (NAJM i sur., 2014b.). Sve sekvence iz *I. ricinus* i *D. reticulatus* su bile identične i dijelile su 99% sličnosti sa *H. canis* iz RH i Austrije (FJ497011; HM212625, JX466886). Analizom i usporedbom sekvenci iz *I. canisuga* i *I. hexagonus*, dokazali su tri različite skupine sekvenci. Prva skupina je bila identična sekvencama *H. canis* iz istraživanja. Druga skupina, dokazana u *I. canisuga* se razlikovala u 6 nukleotida i bila je identična sekvencama iz pasa iz Japana (AF418558) i lisice iz Španjolske (AY150067). Treća skupina je dijelila 99% sličnosti sa *Hepatozoon* sp. iz kuna iz Japana (FJ595127).

HARRUS i sur., (2011.) su istraživali patogene u 1.190 krpelja iz okoliša u Izraelu. U skupnim uzorcima *R. turanicus* dokazali su DNK *E. canis*, *A. platys*, *A. bovis* i *B. vogeli*, dok su u *R. sanguineus* dokazali DNK *E. canis*, *A. bovis*, *B. vogeli* i „*Ca. Midichloria mitochondrii*“.

DERDAKOVA i sur., (2011.) su u 66,1% malih preživaca dokazali DNK *A. ovis* i 1,8% *A. phagocytophilum* u istraživanju u Slovačkoj. U krpelja *D. reticulatus*, *D. marginatus*, *H. inermis* i *I. ricinus* iz okoliša nisu dokazali *A. ovis*, dok je DNK *A. phagocytophilum* dokazana u oko 3% krpelja *I. ricinus*. Zaključuju da su potrebna dodatna istraživanja vektora *A. ovis*.



HORNOK i sur., (2016c.) su u Mađarskoj i Rumunjskoj na 308 krpelja *I. ariadnae*, *I. vespertilionis* i *I. simplex* sa šišmiša istraživali piroplazme preživača i pasa. U *I. ariadnae* je dokazana DNK *B. vesperuginis*, u *I. vespertilionis* DNK *B. vesperuginis* i *B. crassa*, a u *I. simplex* DNK *B. canis*, *T. capreoli* i *T. orientalis*.

U Rumunjskoj su IONITA i sur., (2013.) istraživali patogene u 382 krpelja sa različitih vrsta domaćih životinja i iz okoliša. U *I. ricinus* su dokazali DNK *R. helvetica* i *A. phagocytophilum* sa goveda i konja, *R. monacensis* sa goveda, *B. afzeli* sa konja, *Babesia microti* sa goveda i *T. orientalis* sa goveda i ovce. U *D. marginatus* je dokazana DNK *R. raoultii* (goveda, ovce) i *R. slovaca* (goveda). U *Hy. marginatum* su dokazali DNK *T. orientalis* (goveda, ovce, koze) i *T. equi* (okoliš), a u *R. sanguineus* s psa DNK *E. canis*.

NADER i sur., (2018.) su u Bugarskoj istraživali raznolikost patogena u 1.541 krpelja iz okoliša i sa životinja. Sekvenciranjem odabranih skupnih uzoraka DNK *R. monacensis* je dokazana u *I. ricinus* sa pasa, koze i okoliša; DNK *R. helvetica* u *I. ricinus* iz okoliša; DNK *R. aeshlimannii* u *Rhipicephalus* sp. sa psa i *Hy. marginatum* sa goveda. *Theileria buffeli* je dokazana u *R. bursa* sa goveda. U *I. ricinus* sa šumskog miša dokazana je *Babesia microti*, dok je DNK *B. afzelli* dokazana u *I. ricinus* iz okoliša i sa ježa.

IORI i sur., (2010.) su u središnjoj i sjevernoj Italiji u *D. marginatus* dokazali DNK *B. ovis* (koza), *Babesia* sp. (divlja svinja) i *T. equi* (konj). U *Hy. marginatum* sa goveda dokazali su DNK *B. bovis* i *B. bigemina*, dok je u krpelja sa konja dokazana DNK *T. equi*. U *I. ricinus* sa pasa je dokazana DNK *B. vogeli* i *B. vulpes*, te *B. ovis* (ovce, srne), *T. equi* (konji) i *B. rodhani* (srne). U *R. sanguineus* sa pasa su dokazane DNK *B. vulpes* i *B. canis*, te *B. ovis* s koza. U *R. turanicus* s divljih svinja dokazana je DNK *B. rodhani*.

SPRONG i sur., (2019.) su istraživali patogene u 1.741 krpelja *D. reticulatus* iz okoliša na području sjeverozapadne Europe (Belgija, Njemačka, Nizozemska i Engleska). Dokazali su DNK *Borrelia afzelii* (0,1%), *B. garinii* (0,1%), *B. spielmanii* (0,1%), *B. miyamotoi* (0,2%), *Anaplasma marginale* (0,1%), *A. phagocytophilum* (0,1%), *E. canis* (2%), *R. helvetica* (0,2%), *R. raoultii* (9,6%), endosimbiont bakterije „*Francisella*-slična” (95%), *Coxiella burnettii* (0,1%), *Babesia divergens* (0,2%), *B. canis* (0,9%), *B. vogeli* (5,6%) i *Theileria equi* (0,1%).

ANDERSSON i sur., (2017b.) su u 852 krpelja prikupljenih iz različitih dijelova

Rumunjske istraživali prisutnost vrsta iz rodova *Babesia*, *Theileria* i *Hepatozoon*. U *I. ricinus* su dokazali DNK: *B. canis* (0,8%, psi), *B. microti* (0,8%, psi, lisica) i *H. canis* (10,6%, psi, koza, lisica i mačka). U 4,2% *D. reticulatus* sa pasa dokazna je DNK *B. canis*. U 2,6% *H. punctata* (okoliš) i 33% *H. concinna* (pas) dokazana je DNK *H. canis*. U *R. bursa* sa ovce i goveda dokazana je DNK *T. buffeli*. DNK *Babesia*, *Theileria* i *Hepatozoon* nije dokazana u krpeljima *I. crenulatus*, *D. marginatus*, *Hy. marginatum*, *Hy. scupense* i *R. sanguineus* “južno-istočne linije”.

Godinu dana kasnije ANDERSSON i sur., (2018.) su istraživali patogene u 297 krpelja sa ljudi. Najučestaliji dokazani patogeni su bile vrste iz roda *Rickettsia* dokazane u 5,4% krpelja: *R. raoultii* u *D. marginatus*, dok su *R. monacensis* i *R. helvetica* dokazane u *I. ricinus*. Vrste *B. afzeli* i *B. garini* su dokazane u 2% *I. ricinus*. U 1,7% *I. ricinus* dokazana je „*Ca. Neohrlichia mikurensis*“. *Anaplasma phagocytophilum*, *B. miyamotoi* su dokazane u po jednom *I. ricinus*, a *A. bovis* u jednom *H. punctata*.

U nekoliko istraživanja dokazivani su patogeni u krpeljima koji su prikupljeni isključivo s pasa. VILA i sur., (2019.) su istraživali endosimbionte krpelja *I. ricinus*, *I. hexagonus*, *D. reticulatus* i *R. sanguineus* s.l. sa pasa iz četiri različita dijela Španjolske. U *R. sanguineus* s.l. su dokazali DNK *R. massiliae*, *R. monacensis* i *R. sibirica* supsp. monogoltimmonae. U svih vrsta krpelja dokazali simbionta krpelja *R. sanguineus Coxiella* sp. dok je „*Francisella*–sličan” endosimbiont dokazan samo u vrste *D. reticulatus*. Smatraju da su potrebna detaljnija istraživanja sa ciljem tipizacije uzročnika i određivanja njihovog značaja.

ESTRADA-PEÑA i sur., (2017c.) su istraživali 1,628 krpelja sa 660 pasa iz 26 veterinarskih klinika u Španjolskoj. U skupnim uzorcima *R. sanguineus* s.l. dokazali su DNK *B. canis*, *B. gibsoni*, *H. canis*, *T. equi*, *Theileria* sp.; *R. massiliae*, *R. monacensis*; *A. platys*, *A. phagocytophilum* i *E. canis*. U tri skupna uzorka *D. reticulatus* dokazane su *B. canis* i *B. gibsoni*. U po jednom skupnom uzorku *I. ricinus* dokazane su *B. gibsoni*, *H. canis*, *R. massiliae*, *R. monacensis*, *A. phagocytophilum* te borelije *B. afzeli*, *B. garini* i *B. valaisiana*. DNK *B. canis*, *B. gibsoni* i *H. canis* dokazana je u po jednom skupnom uzorku *I. hexagonus*.

BARRADAS i sur., (2020.) su pretražili 221 *R. sanguineus* s.l. sa pasa u Portugalu i nisu dokazali pseće patogene iz rodova *Ehrlichia*, *Babesia*, *Anaplasma* i *Hepatozoon*. Dokazali su jedino rikeciju *R. massiliae* u 4,5% krpelja.

SCHREIBER i sur., (2014.) su u krpelja s pasa iz Berlina dokazali *Babesia* spp. u 2,5% *I. ricinus* i 3% *I. hexagonus*. Sekvenciranjem su potvrdili prisutnost *B. microti*, *B. capreoli* i *B. venatorum*, dok u *D. reticulatus* nije dokazana DNK *B. canis*. Rikecije su bile dokazane u 61% *I. ricinus* (*R. helvetica*), 44% *I. hexagonus* (*R. helvetica*, *R. raoulti* i *R. monacensis*) i 39% *D. reticulatus* (*R. helvetica*). *Anaplasma phagocytophilum* i „*Ca. Neoehrlichia mikurensis*” su dokazane u *I. ricinus* (6,5% i 4,3%) i *I. hexagonus* (3,9% i 5,9%). *Borrelia* spp. su dokazane u 11,6% *I. ricinus* i 11,2% *I. hexagonus*. Sekvenciranjem su potvrđene *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. burgdorferi* s.s. i *B. miyamotoi*. Istovremena prisutnost više patogena iznosila je 20% u *I. ricinus* i 59% u *I. hexagonus*, dok je ukupna učestalost bilo kojeg patogena bila 65% u *I. ricinus*, 59% u *I. hexagonus* i 64% u *D. reticulatus*. Ovim istraživanjem SCHREIBER i sur., (2014.) su dokazali više patogena opasnih za ljude nego za pse.

NAMINA i sur., (2019.) su istraživali krpeljima prenosiive patogene u krpelja s pasa iz Litve prikupljenih u period od 2011. do 2016. godine. Molekularna analiza pokazala je prisutnost DNK 13 mikroorganizma u krpelja *I. ricinus*: *Borrelia garinii*, *B. afzelii*, *B. valaisiana*, *B. spielmanii*, *B. miyamotoi*, *A. phagocytophilum*, *Babesia canis*, *B. microti*, *B. venatorum*, *B. capreoli*, *Rickettsia helvetica*, *R. monacensis* i *R. raoultii*. U *D. reticulatus* je dokazana DNK svega dva patogena, *B. canis* i *R. raoultii*.

LIVANOVA i sur., (2018.) su analizirali krpelje sa pasa iz 32 veterinarske klinike diljem Rusije. Ukupno su pretražili 990 krpelja s 636 pasa idokazali vrste patogena iz pet rodova: *Anaplasma centrale*, *A. phagocytophilum* i *A. marginale*; *Babesia canis*, *B. microti*, *B. venatorum*, *B. divergens*, *B. crassa* i *B. vogeli*; *Borrelia miyamotoi*, *B. afzelii* i *B. garinii*; *Ehrlichia muris*, *E. canis* i *E. ruminantum*; te *Theileria cervi*.

### **3. OBRAZLOŽENJE TEME**

Krpelji se nakon komaraca smatraju najvažnijim biološkim vektorima uzročnika bolesti (parazita, bakterija, virusa) u svijetu. Dosadašnja podjela se temeljila na identifikaciji vrsta temeljem morfoloških obilježja. Učestalija primjena molekularnih metoda dovela je do promjena u sistematizaciji krpelja i dokaza novih patogena u krpeljima, životinjama i ljudima.

Ovaj rad je prvo opsežno istraživanje krpelja i patogena na području RH koje uključuje genotipizaciju vrsta krpelja uz istovremen dokaz patogena.

Hipoteza ovog istraživanja jest da je podjela krpelja temeljem njihovih morfoloških obilježja subjektivna, a određivanjem nukleotidnih sljedova *16S rRNA* gena otkrivene su nove vrste/linije krpelja što ima neposredan utjecaj na održavanje i prijenos patogena. Isto tako, većina istraživanja krpeljno-prenosivih patogena (*Babesia*, *Theileria*, *Anaplasma*, *Rickettsia* i *Hepatozoon*) je bila usmjerena na njihovo dokazivanje u životinja, dok sustavnija istraživanja o prisutnosti pojedinačnih patogena u pojedinačnih krpelja nedostaju. Istraživanja skupnih uzoraka krpelja („pooling“) mogu dovesti do krive interpretacije rezultata posebice unutar *Rhipicephalus sanguineus* kompleksa zbog izostanka morfoloških razlika, ali različitog vektorskog potencijala.

Kako bi se testirala hipoteza, postavljeni su slijedeći ciljevi disertacije:

- Istražiti prethodno morfometrijski determinirane vrste krpelja na području RH određivanjem nukleotidnih slijedova odsječaka *16S rRNA* gena i usporediti dobivene rezultate sa rezultatima identifikacije klasičnim morfološkim ključevima.
- U svakog pojedinačnog krpelja istražiti prisutnost pojedinačnih patogena kako bi po prvi puta u RH imali točne podatke o krpeljima i patogenima koje nose.
- Usporediti dokazane patogene s genskom „linijom“ krpelja.
- Provesti mapiranje krpelja i dokazanih patogena na području RH.

#### **4. MATERIЈAL I METODE**

## 4.1. ARHIVSKI PRIMJERCI KRPELJA

Istraživanje je provedeno na 509 arhivskih primjeraka krpelja prikupljenih na 130 različitih lokacija diljem RH.

### 4.1.1. Porijeklo

Krpelji su prikupljeni u sklopu projekta Hrvatske zaklade za znanost (HRZZ) pod nazivom „*Multilocus sequence genotyping of tick borne pathogens: covering the gap between animals, ticks and humans/* Genska tipizacija patogena prenosivih krpelja analizom sekvenci više gena, popunjavanje praznina između životinjskih rezervoara, krpelja i ljudi“ (GENOTICKTRECK, 1957, voditelj: dr. sc. Relja Beck) tijekom razdoblja od 01.09.2014. do 31.08.2017. godine, te u sklopu VectorNet programa (*European network for sharing data on the geographic distribution of arthropod vector, transmitting human and animal disease agents*).

Krpelji su prikupljeni i prilikom redovitih razudbi u Sekcionoj dvorani Laboratorija za opću patologiju, Hrvatskog veterinarskog instituta (HVI) u Zagrebu. Najvećim dijelom s lešina divljih životinja (lisica) odstreljenih u sanitarnom lovu za vrijeme trajanja Programa kontrole oralne vakcinacije lisica na području RH.

Krpelji su prikupljeni na različitim lokacijama, s različitih vrsta domaćih i divljih životinja, kućnih ljubimaca, ljudi, te iz okoliša.

Ukupno je 236 (46,4%) primjeraka krpelja bilo pohranjeno s domaćih životinja goveda, ovaca, koza, konja i magaraca. S divljih životinja lisica, čagljeva, divljih svinja, jelena običnog, jelena lopatara i srna je bilo pohranjeno ukupno 114 (22,4%) primjeraka krpelja.

S kućnih ljubimaca, odnosno pasa i mačaka je bilo pohranjeno ukupno 65 (12,8%) primjeraka krpelja, dok je 5 (0,9%) primjeraka krpelja bilo pohranjeno s ljudi.

Iz okoliša je bilo prikupljeno 89 (17,5%) primjeraka krpelja. Primjerci iz okoliša prikupljeni su metodama „*dragging*“ i „*flagging*“ za koje su korištene bijele flanelne plahte veličine 1×1 metar povlačenjem po zemlji („*dragging*“) ili po visokom raslinju/vegetaciji („*flagging*“).

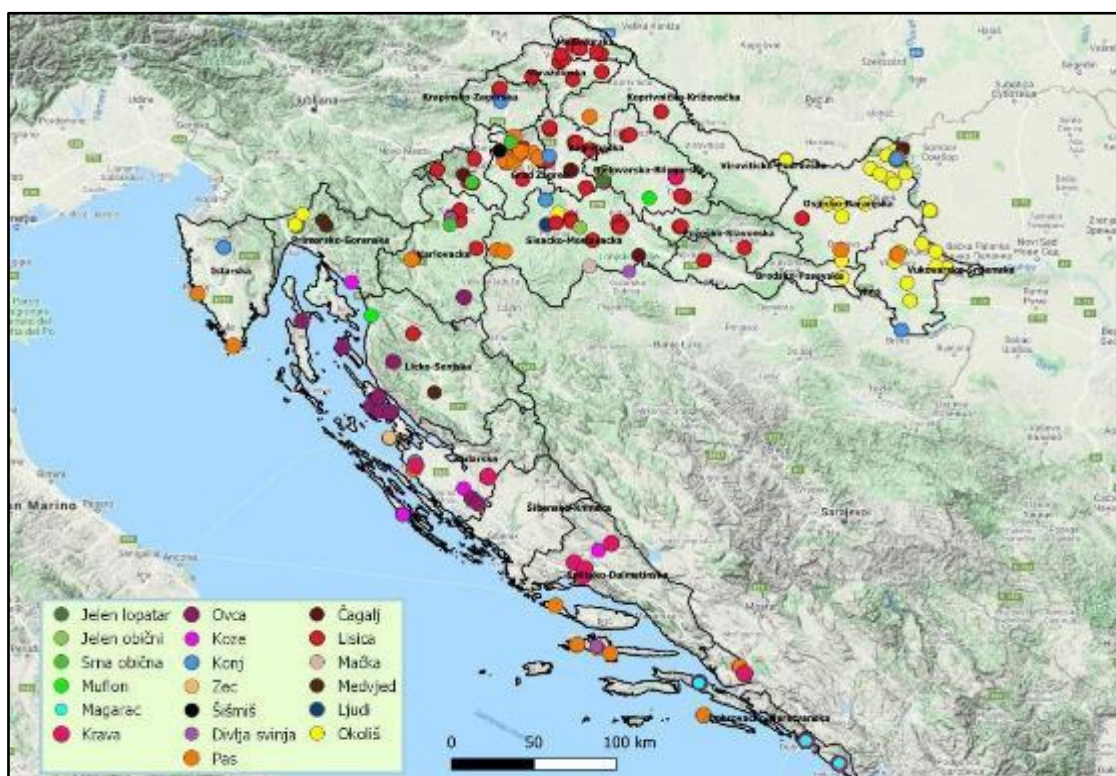
### 4.1.2. Pohrana

Krpelji su nakon prikupljanja pohranjeni u plastične vrećice ili posudice označene datumom i lokacijom, te transportirani u Laboratorij za parazitologiju. Isprani su u destiliranoj vodi i 70% etanolu, te su determinirani morfološkim ključevima do razine vrste (ESTRADA-

PEŃA i sur., 2004., 2017a.). Razvojni stadij krpelja (ličinka, nimfa ili adult (mužjak/ženka) nije bio određivan. Nakon determinacije, primjerci su pohranjeni u staklene flašice obilježene lokacijom i datumom prikupljanja, u 96% etanolu na -21°C u Laboratoriju za parazitologiju, Hrvatskog veterinarskog instituta u Zagrebu.

#### 4.1.3. Lokacija

Lokacije prikupljanja su fotografirane i označene GPS uređajem. Na Slici 25. su prikazane lokacije prikupljanja i podrijetlo krpelja s obzirom na vrstu životinje.



Slika 25. Porijeklo uzoraka (QGIS).



#### 4.1.4. Zemljopisno porijeklo

Županije koje smo svrstali u „kontinentalnu Hrvatsku“ nemaju izlaz na more, a u „priobalje“ smo svrstali županije koje izlaze na more. Na području unutrašnjosti Hrvatske prikupljeno je ukupno 220 (220/509, 43,2%), dok je na području priobalja prikupljeno 289 (289/509, 56,8%) primjeraka krpelja (Slika 26.).



Slika 26. Ukupna zastupljenost sakupljenih krpelja s obzirom na zemljopisno podrijetlo.

#### 4.1.5. Rezultati morfološke determinacije pohranjenih primjeraka krpelja

##### 4.1.5.1. Rod *Ixodes*

Pohranjeno je bilo 166 (32,6%) primjeraka krpelja roda *Ixodes*, a determinirano je bilo 7 vrsta. Lokacija, broj i vrste pohranjenih krpelja su prikazani u Tablici 10.

Tablica 10. Lokacija, broj i vrste pohranjenih primjeraka krpelja iz roda *Ixodes*.

DETERMINACIJA	LOKACIJA I BROJ	
	kontinentalna Hrvatska	priobalje
<i>I. accuminatus</i>	3	13
<i>I. ricinus</i>	83	8
<i>I. hexagonus</i>	13	3
<i>I. canisuga</i>	4	0
<i>I. ventalloi</i>	0	3
<i>I. arboricola</i>	1	0
<i>Ixodes</i> sp.	35	0

##### 4.1.5.2. Rod *Dermacentor*

Pohranjeno je bilo 62 (12,2%) primjeraka krpelja roda *Dermacentor*, a determinirane su bile 2 vrste. Lokacija, broj i vrste pohranjenih krpelja su prikazani u Tablici 11.

Tablica 11. Lokacija, broj i vrste pohranjenih krpelja iz roda *Dermacentor*.

DETERMINACIJA	LOKACIJA I BROJ	
	kontinentalna Hrvatska	priobalje
<i>D. reticulatus</i>	51	6
<i>D. marginatus</i>	1	4

##### 4.1.5.3. Rod *Rhipicephalus*

Pohranjeno je bilo 218 (42,8%) primjeraka krpelja roda *Rhipicephalus*, a determinirano je bilo pet vrsta. Lokacija, broj i vrste pohranjenih krpelja su prikazani u Tablici 12.

Tablica 12. Lokacija, broj i vrste pohranjenih krpelja iz roda *Rhipicephalus*.

DETERMINACIJA	LOKACIJA I BROJ	
	kontinentalna Hrvatska	priobalje
<i>R. bursa</i>	1	40
<i>R. sanguineus</i>	7	110
<i>R. turanicus</i>	0	50
<i>R. sanguineus/turanicus</i>	0	1
<i>Rhipicephalus (B.) annulatus</i>	0	5
<i>Rhipicephalus</i> sp.	0	4

#### 4.1.5.4. Rod *Hyalomma*

Pohranjeno je bilo 34 (6,7%) primjeraka krpelja roda *Hyalomma*, a determinirano je bilo pet vrsta. Lokacija, broj i vrste pohranjenih krpelja roda su prikazani u Tablici 13.

Tablica 13. Lokacija, broj i vrste pohranjenih krpelja iz roda *Hyalomma*.

DETERMINACIJA	LOKACIJA I BROJ	
	kontinentalna Hrvatska	priobalje
<i>Hy. marginatum</i>	0	26
<i>Hy. detritum</i>	0	2
<i>Hy. lusitanicum</i>	0	4
<i>Hy. scupense</i>	0	1
<i>Hyalomma</i> sp.	0	1

#### 4.1.5.5. Rod *Haemaphysalis*

Pohranjeno je bilo 17 (3,3%) primjeraka krpelja roda *Haemaphysalis*, a determinirano je bilo pet vrsta. Lokacija, broj i vrste pohranjenih krpelja su prikazani u Tablici 14.

Tablica 14. Lokacije prikupljanja pohranjenih krpelja iz roda *Haemaphysalis*.

DETERMINACIJA	LOKACIJA I BROJ	
	kontinentalna Hrvatska	priobalje
<i>H. sulcata</i>	1	0
<i>H. punctata</i>	0	3
<i>H. inermis</i>	11	0
<i>H. concinna</i>	1	0
<i>Haemaphysalis</i> sp.	0	1

#### 4.1.5.6. Nedeterminirani primjerci

Dvanaest krpelja (2,4%) nije bilo moguće determinirati do nivoa roda. Lokacija i broj pohranjenih krpelja su prikazani u Tablici 15.

Tablica 15. Lokacije prikupljanja krpelja koji nisu determinirani do nivoa roda.

DETERMINACIJA	LOKACIJA I BROJ	
	kontinentalna Hrvatska	priobalje
Nedeterminirani primjerci	3	9

## 4.2. LANČANA REAKCIJA POLIMERAZOM (PCR)

### 4.2.1. Izdvajanje deoksiribonukleinske kiseline (DNK) i molekularno dokazivanje krpelja

#### 4.2.1.1. Izdvajanje DNK iz pojedinačnih primjeraka krpelja

Deoksiribonukleinska kiselina (DNK) je izdvojena iz svakog pojedinačnog pohranjenog primjerka krpelja korištenjem komercijalnog kita za izdvajanje DNK, RNK i proteina insekata „*Blood and tissue kit-NucleoSpin<sup>®</sup> DNA Insect*“ (Macherey-Nagel, Düren, Njemačka), prema uputama proizvođača.

Postupak ekstrakcije DNK iz pojedinačnih primjeraka krpelja je rađen u prostoriji za izolaciju DNK. Pojedinačni primjerci krpelja su prebačeni u tubicu sa kuglicama (*NucleoSpin<sup>®</sup> Bead Tube Type D*) u koju je dodano 100 µl pufera BE, 40 µl pufera MG i 10 µl proteinaze K. Uzorci su potom homogenizirani (*TissueLyserII<sup>®</sup>*, Qiagen, Hilden, Njemačka) na 30 Hz (herca) tijekom 6 minuta i centrifugirani (*Centrifuge 54170<sup>®</sup>*, Eppendorf, Hamburg, Njemačka) na 11.000 okretaja tijekom 1 minute. Nakon dodavanja 600 µl pufera MG uzorci su ponovno centrifugirani. Nakon centrifugiranja 550 µl supernatanta je ispipetirano u tubice sa silikatnim membranama (*NucleoSpin<sup>®</sup> DNA Insect Column*) i potom centrifugirano. Silikatne membrane su dva puta isprane dodavanjem 500 µl otopine BW i B5 i potom centrifugirane. U završnom koraku ekstrakcije DNK u tubice sa silikatnim membranama dodano je 100 µl pufera BE, uzorci su inkubirani na sobnoj temperaturi tijekom 1 minute i potom centrifugirani.

Izdvojena krpeljna DNK je do daljnje uporabe u svrhu umnažanja specifičnog odsječka *16S rRNA* gena krpelja i kasnijeg dokazivanja DNK patogena, pohranjena na 4°C u Laboratoriju za parazitologiju, Hrvatskog veterinarskog instituta u Zagrebu.

Za umnažanje specifičnog DNK odsječka lančanom reakcijom polimeraze (engl. *polymerase chain reaction*, PCR) uz 2 µl do 5 µl DNK, korištene su prednja i stražnja početnica koncentracije od 10 pmol/µl uz GoTaq<sup>®</sup>G2 Hot Start Colorless Master Mix (Promega Corporation, Madison, Wisconsin, SAD) polimeraza u ukupnom volumenu od 20 µl, te toplokružnici Veriti<sup>®</sup>96-well Thermal Cycler (Applied Biosystems, Foster City, Kalifornija, SAD), SureCycler<sup>®</sup> 8800 (Agilent Technologies, Santa Clara, Kalifornija, SAD) i PCRmax<sup>®</sup> Alpha cycler (Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, SAD). Za sigurnost i kontrolu kvalitete rada upotrebljene su pozitivna i negativna kontrola.

#### **4.2.1.2. Umnažanje odsječka *16S rRNA* gena krpelja**

Lančana reakcija polimerazom (PCR) korištena je kako bi se umnožio ciljani odsječak *16S rRNA* gena duljine 460 parova baza (*base pairs*, bp), te kako bi se provjerila uspješnost ekstrakcije krpeljne DNK svakog pojedinačnog primjerka krpelja i procijenilo je li uzorak prikladan za daljnju molekularnu analizu. Korištena je prednja početnica (5'-CTGCTCAATGTTTTTAAATTGCTGTGG-3') i stražnja početnica (5'-CCGGTCTGAACTCAGATCAAGT-3') (BLACK i PIESMAN, 1994.). Uvjeti PCR reakcije prikazani su u Tablici 16.

#### **4.2.2. Molekularno dokazivanje mikroorganizama**

Molekularno dokazivanje patogena je nakon umnažanja odsječka *16S rRNA* gena krpelja, rađeno iz izdvojene krpeljne DNK svakog pojedinačnog primjerka krpelja. Izdvojena krpeljna DNK je prethodno bila pohranjena na 4°C u Laboratoriju za parazitologiju, Hrvatskog veterinarskog instituta u Zagrebu.

##### **4.2.2.1. Umnažanje odsječka *18S rRNA* gena piroplazmi iz rodova *Babesia* i *Theileria***

Radi dokazivanja DNK piroplazmi rodova *Babesia* i *Theileria* te umnažanja ciljnog odsječka *18S rRNA* gena duljine 560 pb, korištena je prednja početnica Bab F (5'-GTCTTGTAATTGGAATGATGG-3') i stražnja početnica Bab R (5'-CCAAAGACTTTGATTTCTCTC-3') (BECK i sur., 2009.). Uvjeti PCR reakcije su prikazani u Tablici 16.

##### **4.2.2.2. Umnažanje odsječka *16S rRNA* gena proteobakterija iz porodice**

###### ***Anaplasmataceae***

Za dokazivanje vrsta iz rodova DNK *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Wolbachia*, *Neorickettsia*, te *Candidatus* *Neoehrlichia* umnažan je odsječak *16S rRNA* gena (PAROLA i sur., 2000.) duljine 345 pb. Korištene su prednja početnica EHR16SD (5'-TAGCACTCATCGTTTACAGC-3') i stražnja početnica EHR16SR (5'-GGTACCYACAGAAGAAGTCC-3').

Veći odsječak od 1462 pb kojim je moguće umnožiti gotovo cijeli *16S rRNA* gen (KAWAHARA i sur., 2006.) koristio se u slučaju pozitivnih uzoraka s ciljem kvalitetnije genetske tipizacije uzročnika. Za umnažanje su korištene prednja početnica EC9 (5'-TACCTTGTTACGACTT-3') i stražnja početnica EC12 (5'-TGATCCTGGCTCAGAACGAAC-3'). Uvjeti PCR reakcija prikazani su u Tablici 16.

#### **4.2.2.3. Umnažanje odsječka *18S rRNA* gena protozona iz roda *Heptozoon***

Kako bi se umnožio ciljani odsječak *18S rRNA* gena duljine 660 pb (INOKUMA i sur., 2002.), radi dokazivanja vrsta iz roda *Heptozoon* korištena je prednja početnica Hep F (5'-CTTATTA TTCCATGCTGCAG-3') i stražnja početnica Hep R (5'-ATACATGAGCAAAATCCAAC-3'). Uvjeti PCR reakcije prikazani su u Tablici 16.

#### **4.2.2.4. Umnažanje odsječka *16S rRNA* genahemotropnih bakterija iz roda *Mycoplasma***

Za dokazivanje DNK hemotropnih bakterija iz roda *Mycoplasma* umnažan je ciljani odsječak *16S rRNA* gena (VARANAT i sur., 2011.) duljine 600 pb. Korištene su prednja početnica Myco 322s (5'-GCCCATATTCCTACGGGAAGCAGCAGT-3') i stražnja početnica Myco 938as (5'-CTCCACCACTTGTTTCAGGTCCCGTC-3'). Uvjeti PCR reakcije prikazani su u Tablici 16.

#### **4.2.2.5. Umnažanje odsječak *rOmpA* genabakterija iz roda *Rickettsia***

Za dokazivanje DNK rikecija umnažan je odsječak *rOmpA* (*outer membrane protein A*, engl.) (ROUX i sur., 1996.) gena duljine 632 pb. U reakciji je korištena prednja početnica Rr190-70 (5'-ATGGCGAATATTTCTCCAAAA-3') i stražnja početnica Rr190-701 (5'-GTTCCGTT AATGGCAGCATCT-3'). Uvjeti PCR reakcije prikazani su u Tablici 16.

#### **4.2.2.6. Umnažanje odsječka *TUL 4* gena bakterija iz kompleksa *Francisella tularensis***

Za dokazivanje i razlikovanje vrsta iz kompleksa *Francisella tularensis* korišten je odsječak *TUL 4* gena, duljine 450 pb koji kodira 17kDa lipoprotein (SJÖSTEDT i sur., 1997.). U reakciji su korištene prednja početnica TUL4-435 (5'-GCTGTATCATCATTTAATAAACT GCTG-3') i stražnja početnica TUL4-863 (5'-TTGGGAAGCTTGTATCATGGCACT-3'). Uvjeti PCR reakcije prikazani su u Tablici 16.

#### **4.2.2.7. Umnažanje odsječka *IGS* regije bakterija iz kompleksa *Borrelia burgdorferi* sensu lato (s.l.)**

Prisutnost DNK borelija istraživana je „*nested*“ protokolom za umnažanje odsječka duljine 250 bp *IGS* regije (*intergenic spacer region*, engl.) (MASUZAWA i sur., 1996.). U prvoj su se reakciji koristile prednja početnica RIS 1 (5'-CTGCGAGTTCGCGGGAGA-3') i RIS 3

(5'- GGAGAGTAGGTTATTGCCAGG-3'). U drugoj reakciji korištene su prednja početnica RIS 2 (5'- TCCTAGGCATTCACCATA-3') i stražnja početnica RIS 4 (5'- GACTCTTATTA CTTTGACC-3'). Uvjeti reakcija prikazani su u Tablici 16.

#### **4.2.2.8. Umnažanje odsječka IS1111 gena bakterije *Coxiella burnetti***

Prisutnost DNK *C. burnetti* istraživana je protokolom za umnažanje odsječka duljine 687 pb *IS1111* gena (*transposon-like repetitive region*, engl.) (BERRI i sur., 2000.). U reakciji su korištene prednja početnica Trans 1 (5'-TATGTATCCACCGTAGCCAGTC-3') i stražnja početnica Trans 2 (5'-CCCAACAACACCTCCTTATTC-3). Uvjeti PCR reakcije prikazani su u Tablici 16.



Tablica 16. Prikaz uvjeta PCR reakcija za dokazivanje krpelja i patogena.

GEN/ PATOGEN	GEN/ BP	INICIJALNA DENATURACIJA (°C/vrijeme)	BROJ CIKLUSA	FAZE CIKLUSA			PRODUKCIJE (°C/vrijeme)	ZASTAVLJANJE REAKCIJE
				Denaturacija (°C/vrijeme)	Spajvanje početnica (°C/vrijeme)	Produženje (°C/vrijeme)		
<i>I6S rRNA</i>	460	94°C/ 2 min	40	94°C / 1 min	54°C / 30 sek	72°C/ 90 sek	72°C / 7 min	4°C
<i>Babesia/Theileria</i>	<i>18S rRNA/</i> 560 pb	94°C/ 2 min	40	94°C / 30 sek	53°C / 30 sek	72°C/ 30 sek	72°C / 7 min	4°C
<i>Anaplasmatuceae</i>	<i>16S rRNA/</i> 345 pb	94°C/ 2 min	40	94°C / 30 sek	53°C / 30 sek	72°C/ 30 sek	72°C / 7 min	4°C
<i>Anaplasmatuceae</i>	<i>16S rRNA/</i> 1462 pb	94°C/ 2 min	35	94°C / 30 sek	52°C / 30 sek	72°C/ 1 min	72°C / 7 min	4°C
<i>Hepatozoon</i>	<i>18S rRNA/</i> 660bp	94°C/ 2 min	40	94°C / 40 sek	59°C / 40 sek	72°C/ 1 min	72°C / 7 min	4°C
<i>Mycoplasma</i>	<i>16S rRNA/</i> 600 pb	94°C/ 2 min	40	94°C / 30 sek	68°C / 30 sek	72°C/ 30 sek	72°C / 7 min	4°C
<i>Rickettsia</i>	rOmpA/ 632 pb	94°C/ 2 min	40	94°C / 30 sek	47°C / 30 sek	72°C/ 1 min	72°C / 7 min	4°C
<i>Francisella tularensis</i>	<i>TUL4/</i> 450pb	94°C/ 2 min	40	94°C / 1 min	51°C / 1 min	72°C/ 1 min	72°C / 7 min	4°C
<i>Borrelia burgdorferi</i> i s.l.	<i>IGS/</i> 250 pb	1.reakcija	35	94°C / 30 sek	52°C / 1 min	72°C/ 1 min	72°C / 7 min	4°C
		2.reakcija	35	94°C / 30 sek	52°C / 1 min	72°C/ 1 min	72°C / 7 min	4°C
<i>Coxiella burnetii</i>	<i>IS1111/</i> 687 pb	94°C/ 2 min	40	94°C / 30 sek	61°C / 30 sek	72°C/ 30 sek	72°C / 7 min	4°C

### **4.3. ODREĐIVANJE NUKLEOTIDNIH SLIJEDOVA GENA**

Uspješnost umnažanja provjerena je vizualizacijom korištenjem kapilarne elektroforeze QIAxcel-om (Qiagen, Hilden, Njemačka) korištenjem DNK Fast Analysis kita (Qiagen, Hilden, Njemačka), te „size“ (50 bp -1,5 kb/ 100 pb – 2,5 kb; QX DNA Size Marker, Qiagen) i „*alignment markera*“ (15 pb – 3 kb; QX Aligment Marker, Qiagen). Radi određivanja nukleotidnih sljedova umnoženi odsječci pročišćeni su dodavanjem 2 µl ExoSAP-IT® PCR Clean-Up Reagent kita (USB Corporation, Cleveland, SAD) prema uputama proizvođača, te su potom inkubirani u toplokružniku na 37°C kroz 15 minuta i inaktivacijom na 80°C kroz 15 minuta.

PCR proizvodi su nakon pročišćavanja poslani u kompaniju Macrogen Europe (Amsterdam, Nizozemska) radi određivanja nukleotidnih sljedova u oba smjera. Rezultati su obrađeni pomoću računalnog programa Lasergene® (DINASTAR inc., Madison, Winsconsin, SAD), s pripadajućim potprogramima SeqMan™ i EditSeq™. Dobiveni nukleotidni sljedovi poravnani su računalnim potprogramom Seqman™ i uspoređeni s dostupnim nukleotidnim sljedovima pohranjenima u banci gena (GenBank®), koja je pretražena pomoću programa *Basic Local Aligment Search Tool* (BLAST®).

### **4.4. MAPIRANJE KRPELJA I PATOGENA**

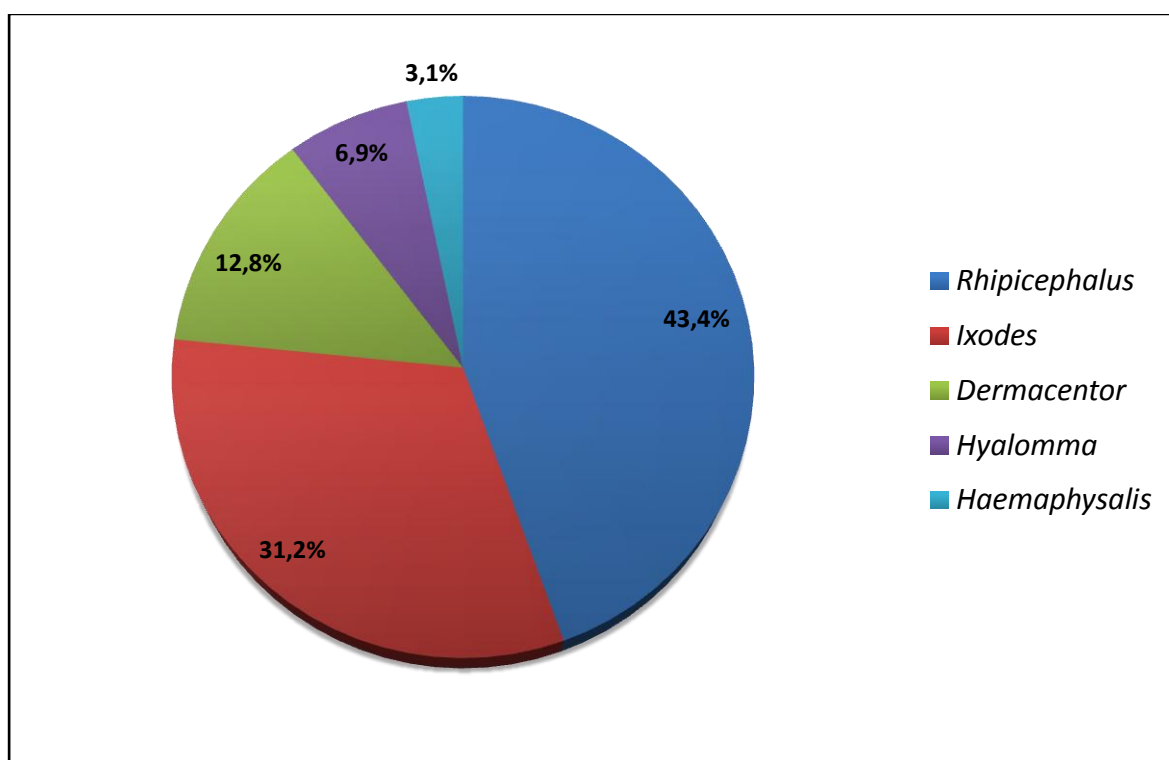
Radi bolje vizualizacije podataka, dobiveni rezultati mapirani su korištenjem računalnog programa QGIS (Open Source Geographic Information System, <https://qgis.org/en/site/>).

## **5. RESULTATI**

## 5.1. REZULTATI ANALIZE SEKVENCI 16S rRNA GENA KRPELJA

### 5.1.1. Zastupljenost rodova krpelja

Lančanom reakcijom polimerazom (PCR) odsječak 16S rRNA gena veličine 460 pb je umnožen i sekvencioniran u 97,4% pojedinačnih krpelja (496/509). Rod *Rhipicephalus* bio je najzastupljeniji u ovom istraživanju 43,4% (221/509), potom *Ixodes* s 31,2% (159/509), te rodovi *Dermacentor*, *Hyalomma* i *Haemaphysalis* s po 12,8% (65/509), 6,9% (35/509) i 3,1% (16/509) jedinki (Graf 1.).



Graf 1. Zastupljenost rodova krpelja.

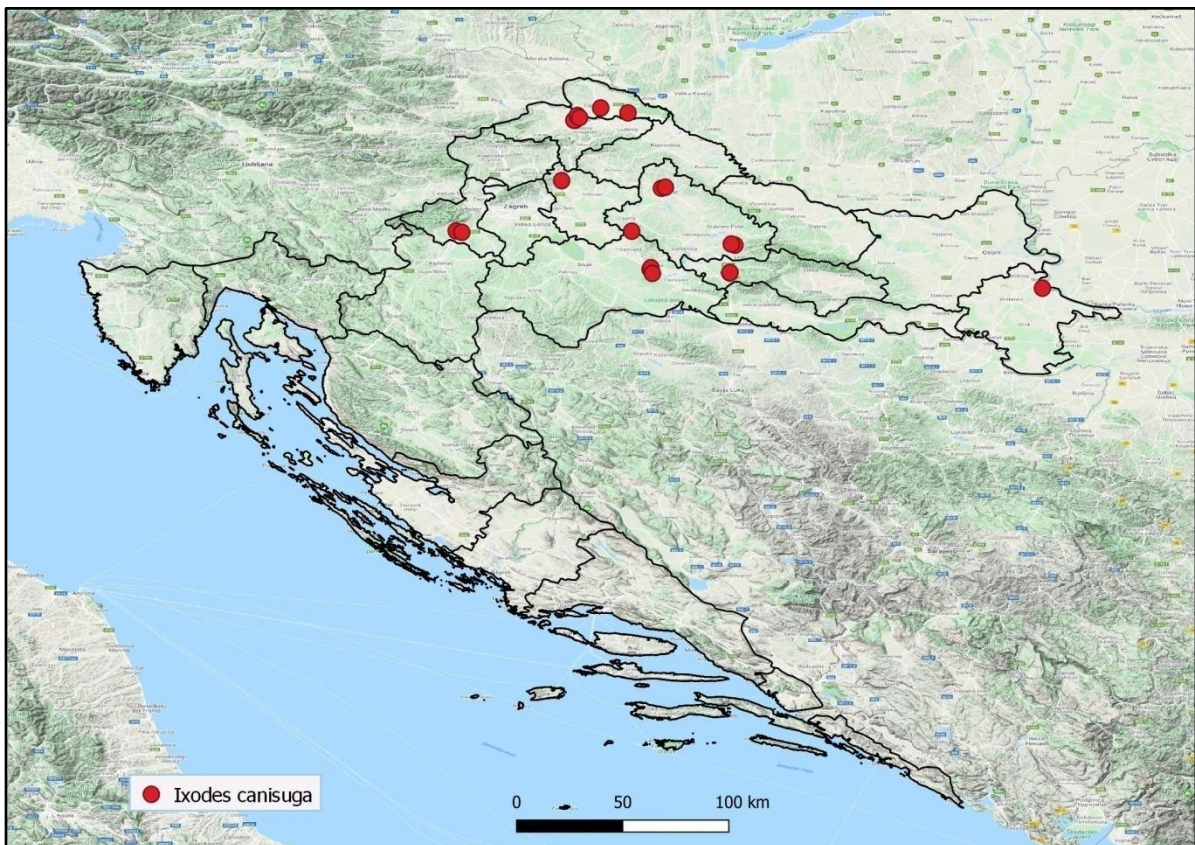
## 5.1.2. Rod *Ixodes*

Sekvenciranjem je dokazano šest vrsta krpelja iz roda *Ixodes*: *I. gibbosus*, *I. canisuga*, *I. kaiseri*, *I. ventalloi*, *I. hexagonus* i *I. ricinus*.

### 5.1.2.1. *Ixodes canisuga*

Dvadeset tri krpelja pripadala su vrsti *Ixodes canisuga* (4,5%; 23/509). Sve sekvence su bile jednake, a usporedba s dostupnim sekvencama u bazi gena GenBank® pokazala je jednakost sa sekvencama *I. canisuga* s lisica i pasa iz Francuske (KY962075), Njemačke (KY9620689), Mađarske (KY962053), Rumunjske (KY962060), Srbije (KY962065), BIH (KY962055) i RH (KY962072).

Zemljopisno su bili ograničeni na kontinentalnu Hrvatsku, s najjužnijim nalazom na području Jastrebarskog (Slika 27., Tablica 24.). Svi krpelji bili su prikupljeni s lisica, dok je jedino krpelj na području Vukovara prikupljen iz okoliša.



Slika 27. Geografski prikaz rasprostranjenosti *Ixodes canisuga*.

### 5.1.2.2. *Ixodes gibbosus*

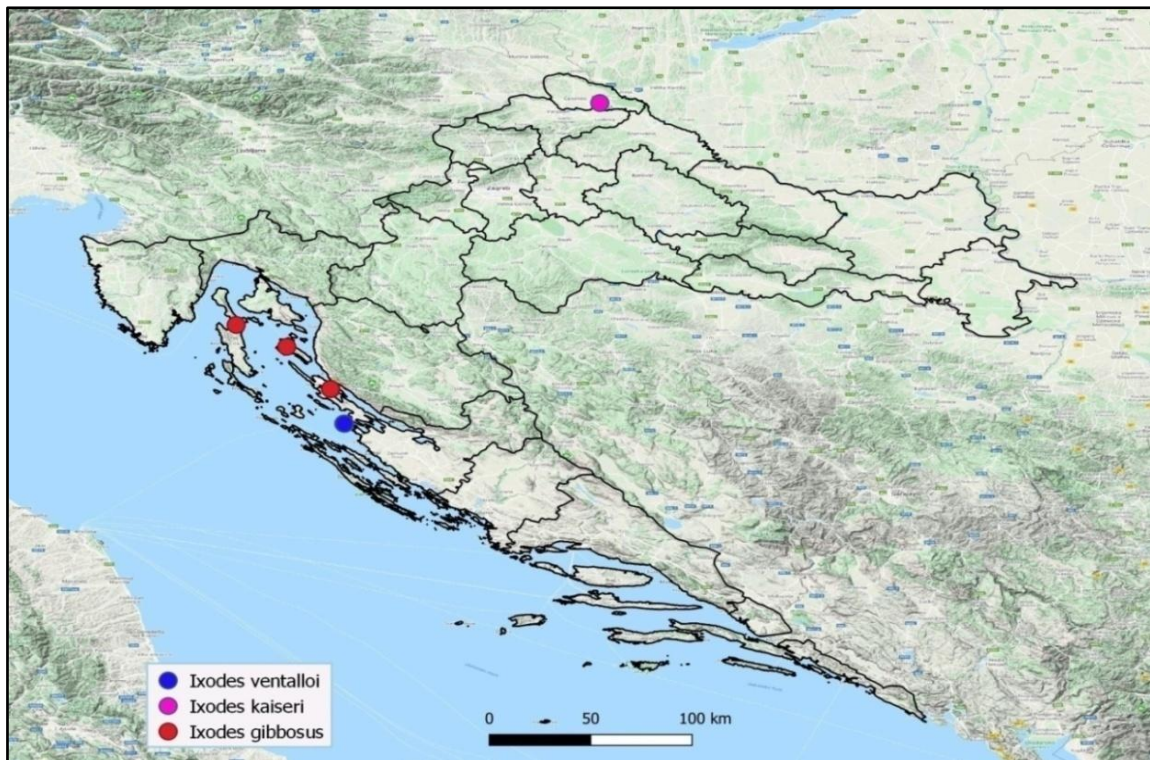
Na otocima Cresu, Rabu i Pagu (Tablica 24., Slika 28.) dokazana je vrsta *Ixodes gibbosus* (0,8%; 4/509). Svi uzorci prikupljeni su s ovaca, a sekvence su dijelile 99,4% sličnosti s *Ixodes* sp. iz Grčke (MN263068) i *I. gibbosus* s koza iz Turske (MT302763, MT302762), a međusobno se nisu razlikovale.

### 5.1.2.3. *Ixodes ventalloi*

Šest sekvenci (1,2%; 6/509) pokazalo je 96,8% sličnosti s vrstom *Ixodes ventalloi* iz Španjolske (KY231831) i 96,6% sličnosti sa sekvencama iz Portugala (okoliš, MF621233, MF370642). Krpelji su bili prikupljeni sa zečeva s otoka Vira (Tablica 24., Slika 28.).

### 5.1.2.4. *Ixodes kaiseri*

*Ixodes kaiseri* je dokazan samo kod jedne lisice (0,2%;1/509) na području Preloga (Tablica 24., Slika 28.). Sekvence su bile identične sekvencama *I. kaiseri* s lisica i pasa iz Njemačke (KY962067), Srbije (KY962066), Rumunjske (KY962062) i Mađarske (KY962052) (HORNOK i sur., 2017b.).



Slika 28. Geografski prikaz rasprostranjenosti *I. gibbosus*, *I. ventalloi* i *I. kaiseri* (QGIS).

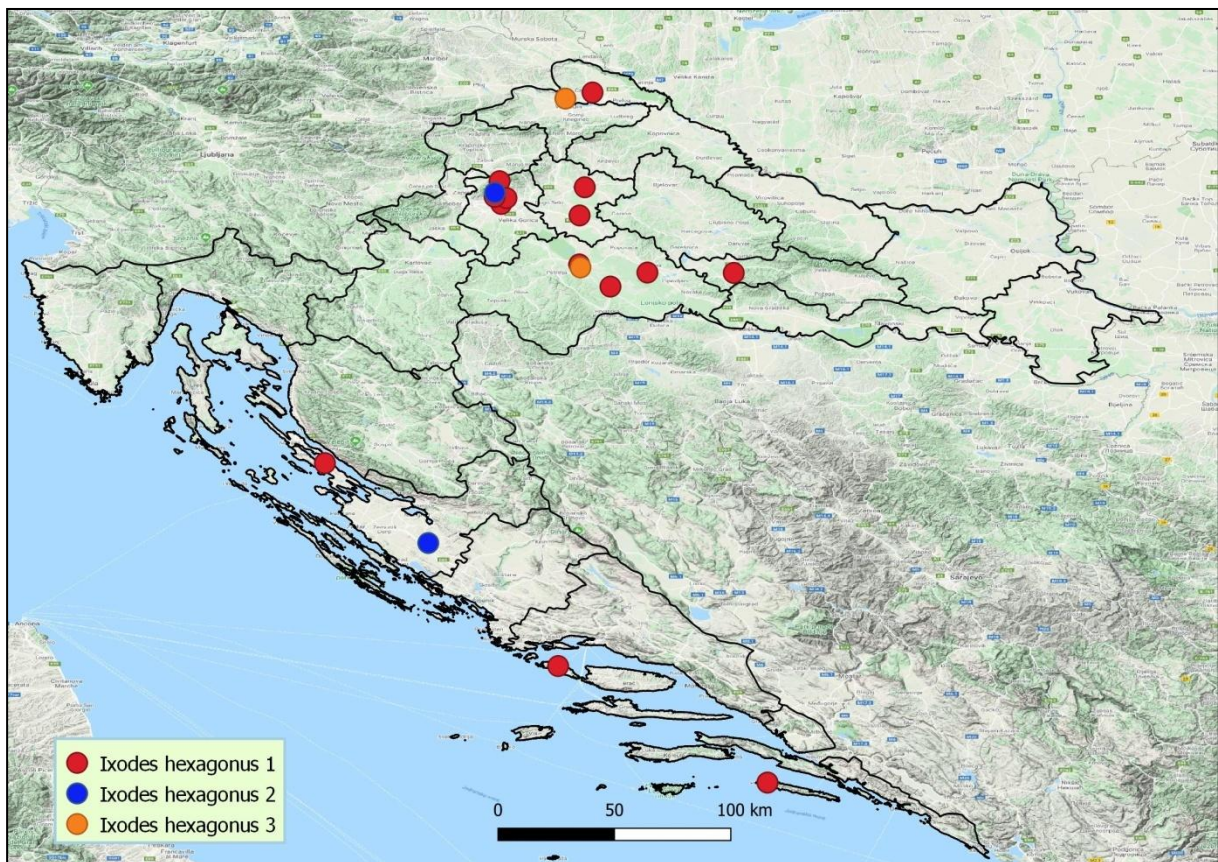
### 5.1.2.5. *Ixodes hexagonus*

Devetnaest krpelja (3,7%; 19/509) pripadalo je vrsti *Ixodes hexagonus*. Dokazane su tri različite skupine sekvenci (genotipa) krpelja *I. hexagonus* 1 (79%; 15/19), *I. hexagonus* 2 (10,5%; 2/19) i *I. hexagonus* 3 (10,5%; 2/19).

Sekvence su se međusobno razlikovale u 1 do 2 para baza i dijelile su 99% sličnosti. Tako se na poziciji 243 kod *I. hexagonus* 1 i *I. hexagonus* 3 nalazila baza citozin, a kod *I. hexagonus* 2 baza gvanin; na poziciji 244 se kod *I. hexagonus* 3 nalazila baza timin, a kod *I. hexagonus* 1 i *I. hexagonus* 2 baza adenin. U Tablici 17. je prikazana sličnost sekvenci dokazanih genotipova krpelja *Ixodes hexagonus* sa sekvencama u bazi gena GenBank®.

*Ixodes hexagonus* 1 s lisica, pasa i mačke dokazan je na području kontinentalne Hrvatske, srednjeg (Pag, Šolta) i južnog priobalja (Mljet). Na području Zagreba i Benkovca dokazan je *I. hexagonus* 2 s lisica, dok je *I. hexagonus* 3 s lisica dokazan na području Siska i Varaždina.

Na Slici 29. i u Tablici 24. prikazana je detaljna rasprostranjenost i podrijetlo s obzirom na vrstu nositelja.



Slika 29. Geografski prikaz rasprostranjenosti genotipova *Ixodes hexagonus* (QGIS).

Tablica 17. Prikaz usporedbe sekvenci genotipova *I. hexagonus* s sekvencama u bazi gena GenBank®.

KRPELJ/IZOLAT	SLIČNOST	PRISTUPNI BROJ	DRŽAVA
<i>I. hexagonus 1</i>	100%	MK731996-MK731999, LR596328	Portugal (jež)
		KY962063	Rumunjska
		KY962057	BIH
		KY962076	RH
	99,7%	AF001400	Poljska
		U14147	SAD
<i>I. hexagonus 2</i>	99,7%	MK731996-MK731999, LR596328	Portugal
		KY962063	Rumunjska
		KY962057	BIH
		KY962076	RH
	99,5%	AF001400	Poljska
		U14147	SAD
<i>I. hexagonus 3</i>	100%	AF001400	Poljska
		U14147	SAD
		JF928502, JF928501, KY962070	Njemačka
		KY962058	Austrija
		KY962077	RH
	99,7%	KY962063	Rumunjska
		KY962057	BIH

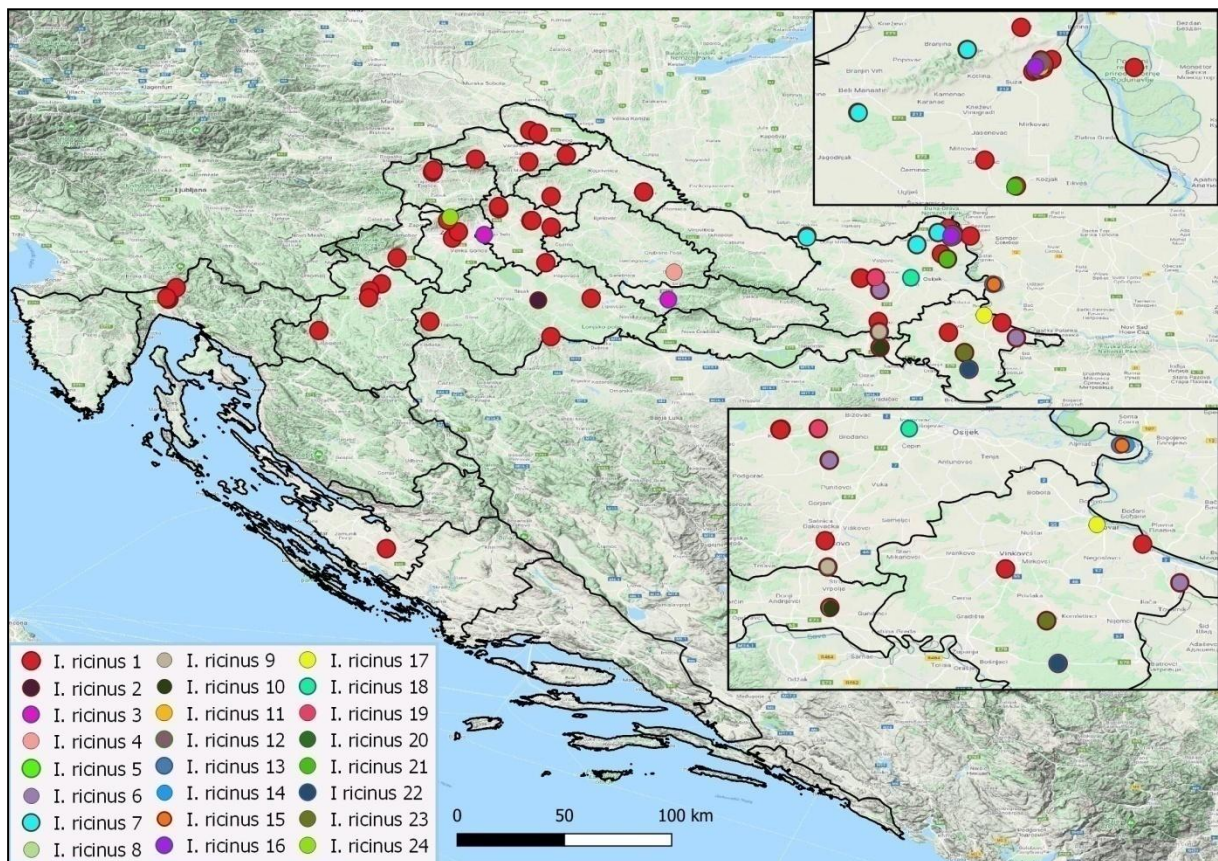


### 5.1.2.6. *Ixodes ricinus*

Ukupno je 106 (20,8%; 106/509) krpelja pripadalo vrsti *Ixodes ricinus*. Dokazana su 24 različita genotipa koji su dijelila međusobnu sličnost od 98% i označeni su brojevima od 1 do 24. Međusobno su se razlikovale u jednom do dva bazna para na različitim pozicijama unutar sekvence. Usporedba sa sekvencama u bazi gena GenBank® detaljno je prikazana u Tablici 18.

Najčešći genotip je bio *I. ricinus* 1 (71,7%; 76/106), potom *I. ricinus* 7 (4,7%; 5/106), *I. ricinus* 6 (2,8%; 3/106) i *I. ricinus* 3 (1,9%; 2/106). Preostalih 20 genotipova *I. ricinus* dokazani su svaki u jednom krpelju. Svi genotipovi su dokazani na području kontinentalne Hrvatske, osim *I. ricinus* 1 iz okoliša i s lisice na području Gorskog Kotara (Klana) i srednjeg priobalja (Benkovac) (Slika 30.).

Detaljan prikaz rasprostranjenosti i podrijetlo prikazani su u Tablicama 25., 26. i Slici 30.



Slika 30. Geografska rasprostranjenost genotipova *Ixodes ricinus* (QGIS).

Tablica 18. Prikaz usporedbe sekvenci genotipova *I. ricinus* sa sekvencama u bazi gena

GenBank®.

KRPELJ/IZOLAT	SLIČNOST	PRISTUPNI BROJ	DRŽAVA
<i>I. ricinus</i> 1	100%	KR870982; MK671588, MK 671576; GU074589; MN947218, MN947215	Turska, Poljska, Slovačka
<i>I. ricinus</i> 2	99,5%	MH645519; GU074595; GU074601	Španjolska; Irska; Bugarska
<i>I. ricinus</i> 3	99,7%	KT070782; GU074644	Litva, Francuska
<i>I. ricinus</i> 4	99,7%	KT070765; KR870982; GU074589; JF928526, JF928524, JF928513	Litva; Turska; Slovačka; Njemačka
<i>I. ricinus</i> 5	99,31%	KR870982; MH645522; KJ414457	Turska; Španjolska; Belgija
<i>I. ricinus</i> 6	99,7%	KX384811, KX384809, KX384807; MF621232, MF370652, KY039161; MN947217	Švedska; Portugal; Slovačka
<i>I. ricinus</i> 7	100%	KX384806; GU076590	Švedska; Slovačka
<i>I. ricinus</i> 8	98,8%	GU074590; KX384810, KX384806	Slovačka; Švedska
<i>I. ricinus</i> 9	99,7%	KX384810	Švedska
<i>I. ricinus</i> 10	99,5%	MH645521; KX384811, KX384809, KX384807; GU076146, GU074630	Španjolska; Švedska; Francuska;
<i>I. ricinus</i> 11	99,7%	KX384810, KX384811, KX384809, KX384807; MH645521	Švedska; Španjolska
<i>I. ricinus</i> 12	99,7%	MK671585, MK643535; GU074593; GU074588, MN947216, MN947211	Turska; Francuska; Slovačka; Belgija
<i>I. ricinus</i> 13 (	99,7%	KR870982; GU076410, GU074645; GU074589; KJ414457	Švedska; Portugal; Slovačka
<i>I. ricinus</i> 14	99,77	MH645517	Španjolska
<i>I. ricinus</i> 15	100%	MH645521; GU074616; KX384811, KX384809, KX384807; MF621232; MN947217, MN947214; MT229189	Španjolska; Francuska; Švedska; Portugal; Slovačka; Turska
<i>I. ricinus</i> 16	100%	GU074632	Francuska
<i>I. ricinus</i> 17	99,7%	GU074609	Francuska
<i>I. ricinus</i> 18	99,3%	GU074632; GU0745588	Francuska; Slovačka
<i>I. ricinus</i> 19	99,8%	KR870982; KY414457; GU074620, GU074645; GU074589; MH645517	Turska; Belgija; Francuska; Slovačka; Španjolska
<i>I. ricinus</i> 20	100%	GU074644	Francuska
<i>I. ricinus</i> 21	99,7%	MH645521; KX384811, KX384809, KX384807; GU074616; MF621232	Španjolska; Švedska; Francuska; Portugal
<i>I. ricinus</i> 22	99,76	MG210721	Portugal
<i>I. ricinus</i> 23	99,7%	KJ414457; GU074645	Belgija; Finska
<i>I. ricinus</i> 24	99,5%	KR870982; GU074589	Turska; Slovačka

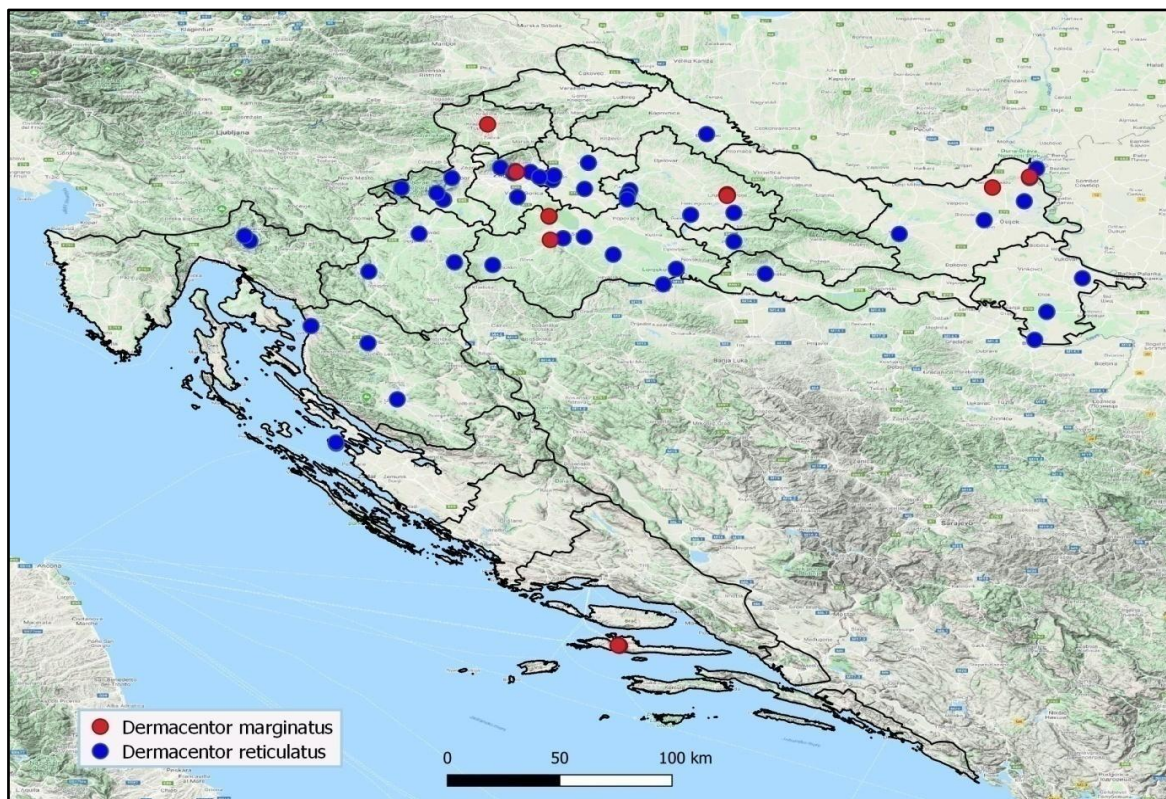
### 5.1.3. Rod *Dermacentor*

Sekvenciranjem su potvrđeni *Dermacentor reticulatus* (10,6%; 54/509) i *Dermacentor marginatus* (2,2%; 11/509). Sve sekvence *D. reticulatus* su bile jednake i identične sekvencama *D. reticulatus* iz Španjolske (MH645514, JF791811), Njemačke (JF928494, JF928493, JF928498) i Poljske (KX881100), dok su sekvence *D. marginatus* dijelile 99,7% sličnosti sa sekvencama *D. marginatus* iz Francuske (Korzika, MK620874-MK620875).

*Dermacentor reticulatus* je dokazan na području kontinentalne Hrvatske, te sjevernog (Senj) i srednjeg (Vir) priobalja. Dokaz *D. reticulatus* na području Senja (muflon) i Vira (zec) predstavlja najjužniji nalaz na području RH.

*Dermacentor marginatus* je osim na području kontinentalne Hrvatske dokazan na području srednjeg priobalja u divljih svinja na Hvaru.

Detaljan prikaz rasprostranjenosti i podrijetlo krpelja prikazani su na Slici 31. i u Tablicama 27. i 28.



Slika 31. Geografska rasprostranjenost *D. reticulatus* i *D. marginatus* (QGIS).

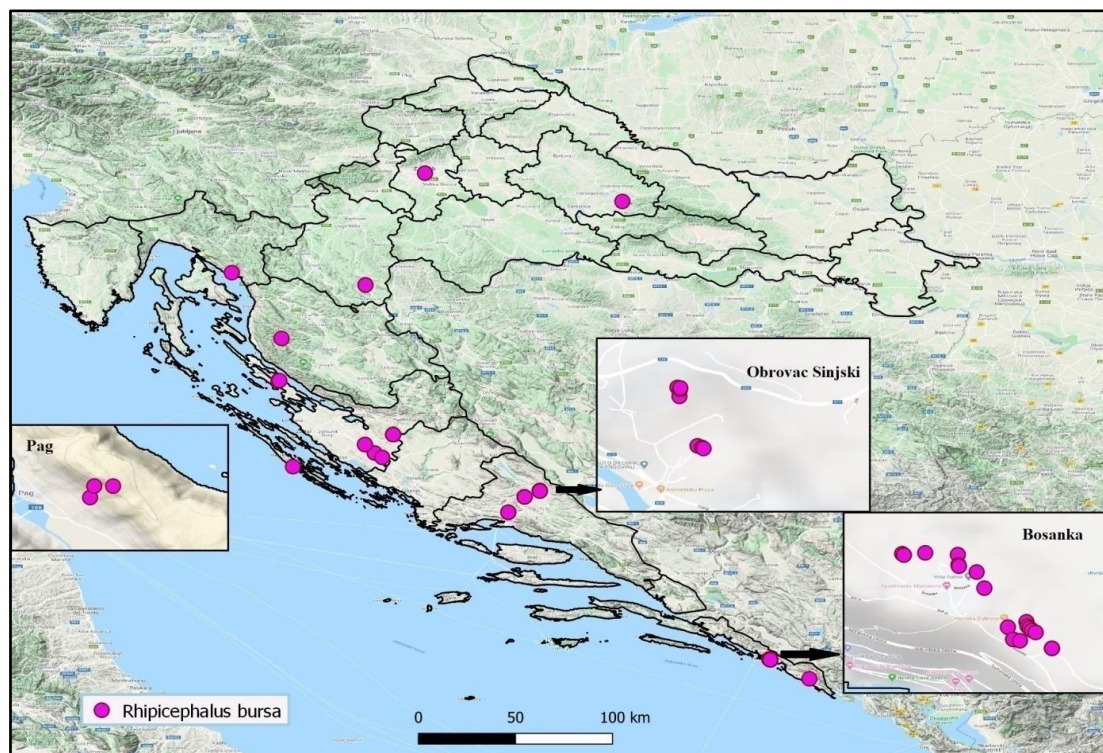
#### 5.1.4. Rod *Rhipicephalus*

Unutar roda *Rhipicephalus* dokazana je vrsta *R. bursa* i skupina *R. sanguineus* sensu lato (s.l.). Sve sekvence *R. bursa* bile su jednake, dok su unutar skupine *R. sanguineus* s.l. dokazana četiri različita genotipa. Tri skupine sekvenci tri genotipa su bila slične sekvencama *R. turanicus*, a četvrta je bila jednaka *R. sanguineus* sensu stricto (s.s.).

##### 5.1.4.1. *Rhipicephalus bursa*

Ukupno je 57 (11,2%) krpelja pripadalo vrsti *R. bursa*. Sve sekvence su dijelile 99,8% sličnosti sa sekvencama *R. bursa* iz Turske (KR970983, MT229193), Francuske (govedo, MH66384-MH66388) i Španjolske (Z97878), te 99,7% sličnosti s *R. bursa* iz Italije (KY814077-KY814010).

*Rhipicephalus bursa* je dokazan na gotovo čitavom području priobalja (osim Istre), a na području kontinentalne Hrvatske s ovce iz okolice Slunja i lisica iz Zagreba i Daruvara. Rasprostranjenost i podrijetlo prikupljenih *R. bursa* su prikazani u Tablici 29. i na Slici 32.



Slika 32. Geografska rasprostranjenost *Rhipicephalus bursa* s prikazom mikrolokacija na području Paga, Obrovca Sinjskog i Bosanke (QGIS).

#### 5.1.4.2. *Rhipicephalus sanguineus sensu lato*

Trećina krpelja pripadala je skupini *Rhipicephalus sanguineus* s.l. (32,2%; 164/509). Dokazano je 9 različitih skupina sekvenci. Osam skupina sekvenci su dijelile sličnost od 99%, razlikovale su se u 1 do 3 parova baza i bile su sličnije sekvencama *R. turanicus*. Temeljem razlika na pozicijama 189 i 207 sekvence smo svrstali u tri genotipa koja smo nazvali *R. turanicus* 1 (2,4%; 4/164), *R. turanicus* 2 (26,2%; 43/164) i *R. turanicus* 3 (62,2%; 102/164). Na poziciji 207 se u *R. turanicus* 1 nalazila baza citozin, *R. turanicus* 2 baza adenin, a kod *R. turanicus* 3 baza timin. Na poziciji 189 kod *R. turanicus* 2 nalazila se baza timin, dok je kod *R. turanicus* 1 i *R. turanicus* 3 bila baza citozin.

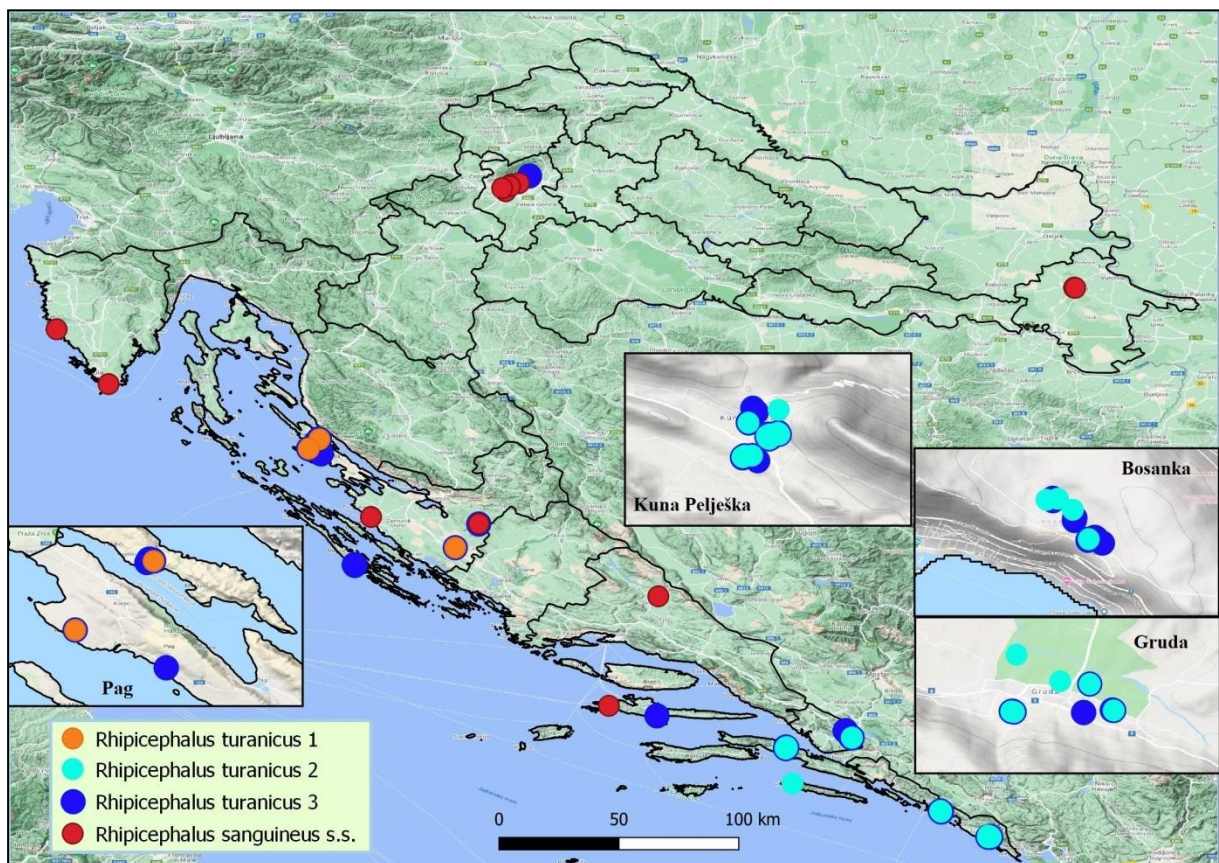
Sekvence su bile identične sekvencama *R. turanicus* iz Turske (MT229198) i *R. turanicus* (KX793728) pronađen na Murteru u RH. Sličnost od 99,7% dijelile su s izolatima *R. turanicus* iz Grčke (MK158982, MK158991), dok su sa sekvencama *R. turanicus* (KX793723) pronađen na Hvaru u RH i *R. turanicus* (KX793721) pronađen u Tivatu u Crnoj Gori dijelile sličnost od 99,5%.

Sva tri genotipa *R. turanicus* su dokazana na području priobalja, *R. turanicus* 1 na području srednjeg (Pag i Benkovac), a *R. turanicus* 2 na području južnog (Pelješac, Mljet, Glušci, Gruda i Bosanka) priobalja. Skupina *R. turanicus* 3 je dokazana na području srednjeg (Pag, Dugi otok i Hvar) i južnog (Pelješac, Glušci, Bosanka i Gruda) priobalja, te na području kontinentalne Hrvatske u Zagrebu s lisice.

Sekvence 15 krpelja (9,1%; 15/164) su dijelile sličnost od 94% s ostalim sekvencama i odgovarale su sekvencama *R. sanguineus* s.s. Sekvence su bile identične sekvencama *Rhipicephalus sanguineus* s pasa dokazanih na području Srbije (KX793738, KX793720) i Hrvatske (Šibenik, KX793731; Zadar, KX793729; Pula A, KX793725; Zagreb, 793727).

*Rhipicephalus sanguineus* s.s. je dokazan na području sjevernog (Rovinj, Premantura) i srednjeg priobalja (Zadar, Obrovac Sinjski, Hvar), dok je na području kontinentalne Hrvatske dokazan u Zagrebu i Vinkovcima.

Rasprostranjenost i podrijetlo krpelja detaljno su prikazani u Tablici 30. i Slici 33.

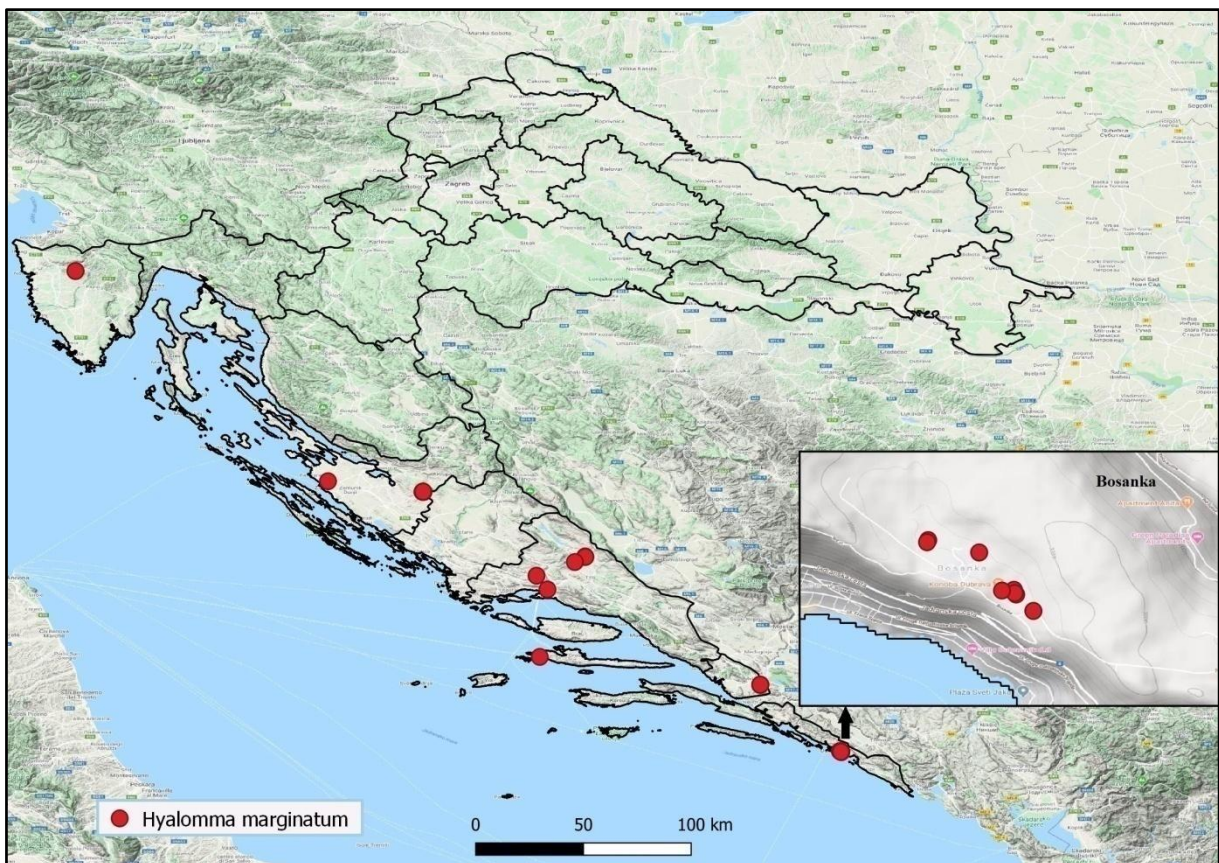


Slika 33. Geografska rasprostranjenost *R. sanguineus* s.l. s prikazom mikrolokacija na području Paga, Pelješca, Bosanke i Grude (QGIS).

### 5.1.5. Rod *Hyalomma*

Iz roda *Hyalomma* sekvenciranjem je potvrđena vrsta *Hyalomma marginatum* (6,9%; 35/509). Sekvence su bile identične *Hy. marginatum* iz Izraela (KT391060, KT391059), Portugala (KU130447), Španjolske (MG418660), Turske (MT229186), Njemačke (KU987256) i Francuske (Korzika, MH663980). Sličnost od 99,7% su dijelile sa sekvencama *Hy. rufipes* sa područja Afrike (Mozambik, KU130465; Namibija, KU130463; Nigerija, KU130459; Senegal, KU130458) i *Hy. turanicum* iz Iraka (KU130482, KU130481, KU130480).

Krpelji prikupljeni najvećim brojem s krava, potom s konja, koze, magarca i psa, dokazani su isključivo na području priobalja, od Dubrovnika do Istre. Na Slici 34. i u Tablici 31. je prikazana detaljna rasprostranjenost i podrijetlo krpelja *Hy. marginatum*.



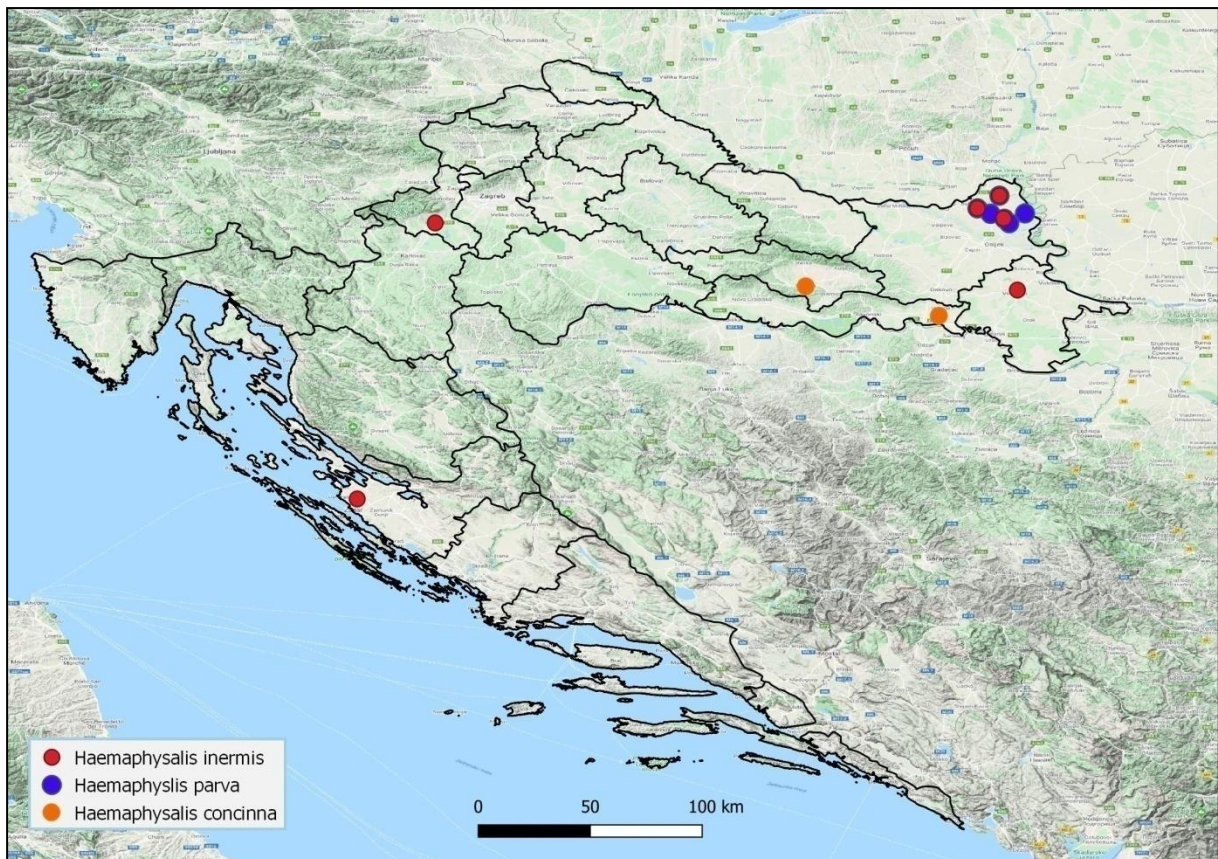
Slika 34. Geografska rasprostranjenost *Hy. marginatum* s prikazom mikrolokacije na području Bosanke (QGIS).

### 5.1.6. Rod *Haemaphysalis*

Sekvenciranjem su dokazane tri vrste krpelja iz roda *Haemaphysalis*: *H. parva* (1,5%; 8/509), *H. inermis* (1,2%; 6/509) i *H. concinna* (0,4%;2/509). Sekvence *H. parva* dijelile su 99,5% sličnosti s *H. parva* (JX573136) iz Australije, a sekvence *H. inermis* su dijelile sličnost od 99,3% s *H. inermis* (KR870976) iz Turske, razlikovale su se u dva do tri bazna para. Sekvence *H. concinna* su bile identične sekvenci *H. concinna* s ptica iz reda vrapčarki (*Passeriformes*) iz Mađarske (KU170523) (HORNOK i sur., 2016.).

*Haemaphysalis inermis*, *H. concinna* i *H. parva* iz okoliša dokazani su na području kontinentalne Hrvatske. *Haemaphysalis concinna* s lisice je dokazana na području Požege, a *H. inermis* s lisice i konja na području Jastrebarskog i Zadra.

Rasprostranjenost i podrijetlo krpelja prikazani su u Tablici 32. i Slici 35.



Slika 35. Geografska rasprostranjenost krpelja iz roda *Haemaphysalis* s prikazom mikrolokacije na području Baranje (QGIS).



## 5.2. PIROPLAZME IZ RODOVA *BABESIA* I *THEILERIA*

Vrste iz rodova *Babesia* i *Theileria* dokazane su u 12,4% (63/509, 95% IP: 9,6-15,5) krpelja. Sekvenciranje je pokazalo podjednaku učestalost *Babesia* spp. (6,3%, 32/509, 95% IP: 4,3-8,7) i *Theileria* spp. (6,1%, 31/509, 95% IP: 4,3-8,5).

Rod *Babesia* je bio zastupljen s osam skupina sekvenci koje su odgovarale onima *B. canis*, *B. vulpes*, *B. microti*, *B. venatorum*, *Babesia* sp. „Badger type A”, *Babesia* sp. „Badger type B”, *B. ovis*, *Babesia* cf. *crassa* i *Babesia* sp. „tavsan“. Unutar roda *Theileria* dokazane su četiri vrste: *T. ovis*, *T. orientalis (buffeli/sergenti)*, *T. equi* i *T. capreoli*.

Dokazana su dva genotipa *B. canis*: *B. canis* 1 u 1,9% (10/509, 95% IP: 1,1-3,6) i *B. canis* 2 u 0,4% (2/509, 95% IP: 0,1-1,4) krpelja. *Babesia canis* 1 je bila prisutna na području kontinentalne Hrvatske, Gorskog Kotara i priobalja (osim Istre) s najjužnijim dokazom na području Bosanke (Slika 42.). Dokazana je u 5,5% *D. reticulatus* (3/54), 9,1% *D. marginatus* (1/11), 3,5% *R. bursa* (2/57), 0,9% *R. turanicus* 3 (1/102), 13,3% *I. hexagonus* 1 (2/15) i 1,3% *I. ricinus* 1 (1/76).

*Babesia canis* 2 je dokazana samo u dva krpelja, *D. marginatus* (9,1%; 1/11) s čovjeka (Moslavina) i *D. reticulatus* (1,8%; 1/54) s lisice (Samobor) (Slika 36.).

*Babesia* sp. „Badger type A” je dokazana u 1,6% (8/509; 95% IP: 0,8-3,1) krpelja. Na području kontinentalne Hrvatske, dokazana je u po jednom *I. hexagonus* 1 (6,6%; 1/15), *I. canisuga* (4,3%; 1/23) i *D. reticulatus* (1,8%; 1/54) s lisica, te u dva *I. ricinus* 1 (2,6%; 2/76) s pasa. U *Hy. marginatum* (2,8%; 1/35) i *R. bursa* (1,7%; 1/57) s krava dokazana je na dvije lokacije (Medviđa i Bosanka) području priobalja (Slika 36.).

*Babesia* sp. „Badger type B” (0,2%, 1/509, 95% IP: 0-1,1) je dokazana u *I. kaiseri* s lisice iz Preloga.

Uzročnik piroplazmoze ovaca, *B. ovis* je dokazana u 1% (5/509, 95% IP: 0,4-2,3) krpelja *R. bursa* (8,7%, 5/57) s lisice, koza i ovaca na području srednjeg (Pag, Benkovac, Balaić, Medviđa) i južnog priobalja (Gruda) (Slika 36.).

Zoonotske vrste, *B. venatorum* i *B. microti*, dokazane su svaka u po jednom *I. ricinus* 1 (0,2%, 1/509; 95% IP: 0-1,1) na području kontinentalne Hrvatske. *Babesia microti* je dokazana u krpelju iz okoliša (Sotin), a *B. venatorum* u krpelju s lisice (Kloštar Ivanić) (Slika 36.).

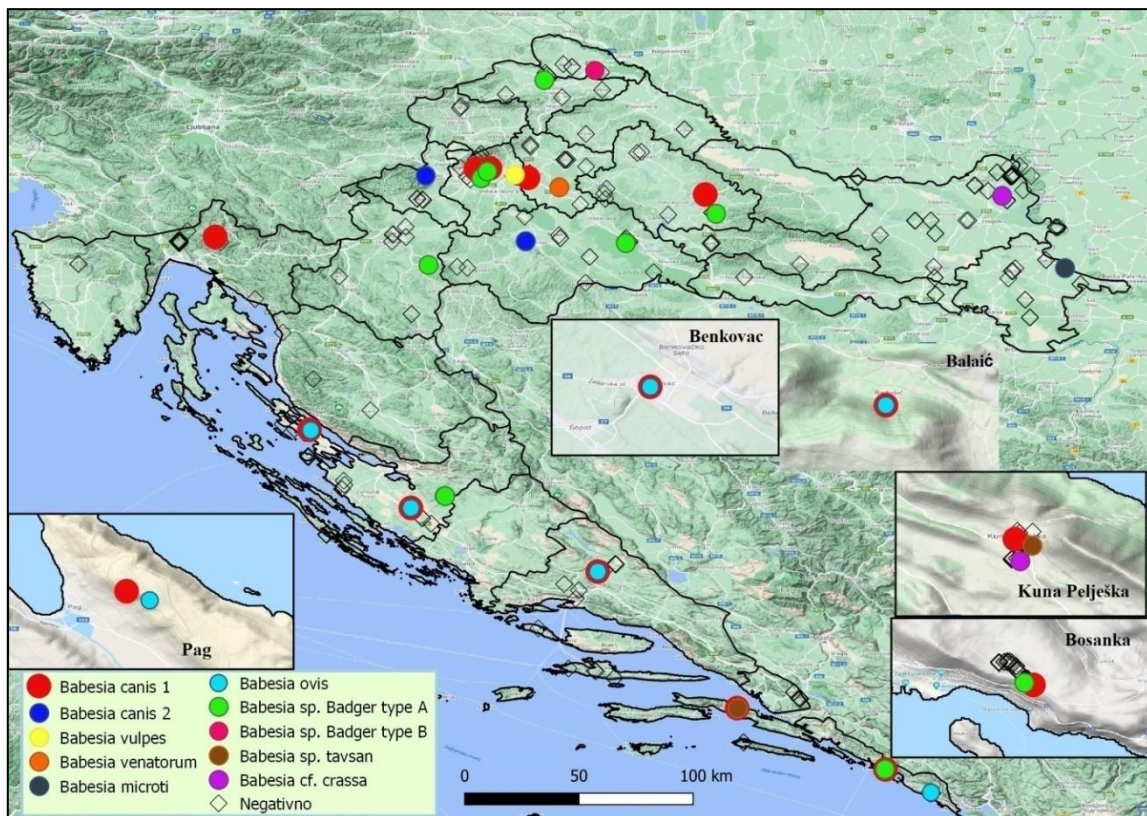
U krpelja *H. parva* (12,5%; 1/8) iz okoliša (Grabovac) i *R. turanicus* 3 (0,9%; 1/102) s kože (Kuna) dokazana je *Babesia* cf. *crassa* (0,4%, 2/509, 95% IP: 0,1-1,4) (Slika 36.). Na području Kune u *R. turanicus* 3 (0,9%; 1/102) s kože dokazana je *Babesia* sp. (0,2%, 1/509, 95% IP: 0-1,1) čija je sekvenca bila identična sekvenci *Babesia* sp. „tavsan” iz krpelja *R. turanicus* s lisice i okoliša iz Turske te zeca iz Italije. Sličnost od 97,3% dijelila je sa sekvencom „*Babesia* sp. anglona“ iz svinje iz Italije (Tablica 19.). *Babesia vulpes* (0,2%, 1/509, 95% IP: 0-1,1) je dokazana u jednom *I. ricinus* 3 s psa iz Zagreba.

Najučestalija vrsta iz roda *Theileria*, *T. ovis* dokazana je u 3,5% (18/509, 95% IP: 2,2-5,5) krpelja. Dokazana je u 7,8% *R. turanicus* 3 (8/102, ovce), 5,5% *D. reticulatus* (3/54, lisice), 5,2% *R. bursa* (3/57, krava, ovce), te u po jednom *Hy. marginatum* (2,8%, 1/35, pas), *R. turanicus* 1 (25%, 1/4, ovca), *R. turanicus* 2 (2,3%, 1/43, ovca) i *I. ricinus* 2 (1/1, jelen obični). Bila je rasprostranjenija na području srednjeg i južnog priobalja, dok je na području kontinentalne Hrvatske dokazana na svega četiri lokacije (Ogulin, Velika Gorica, Petrinja i Moslavina) (Slika 37.).

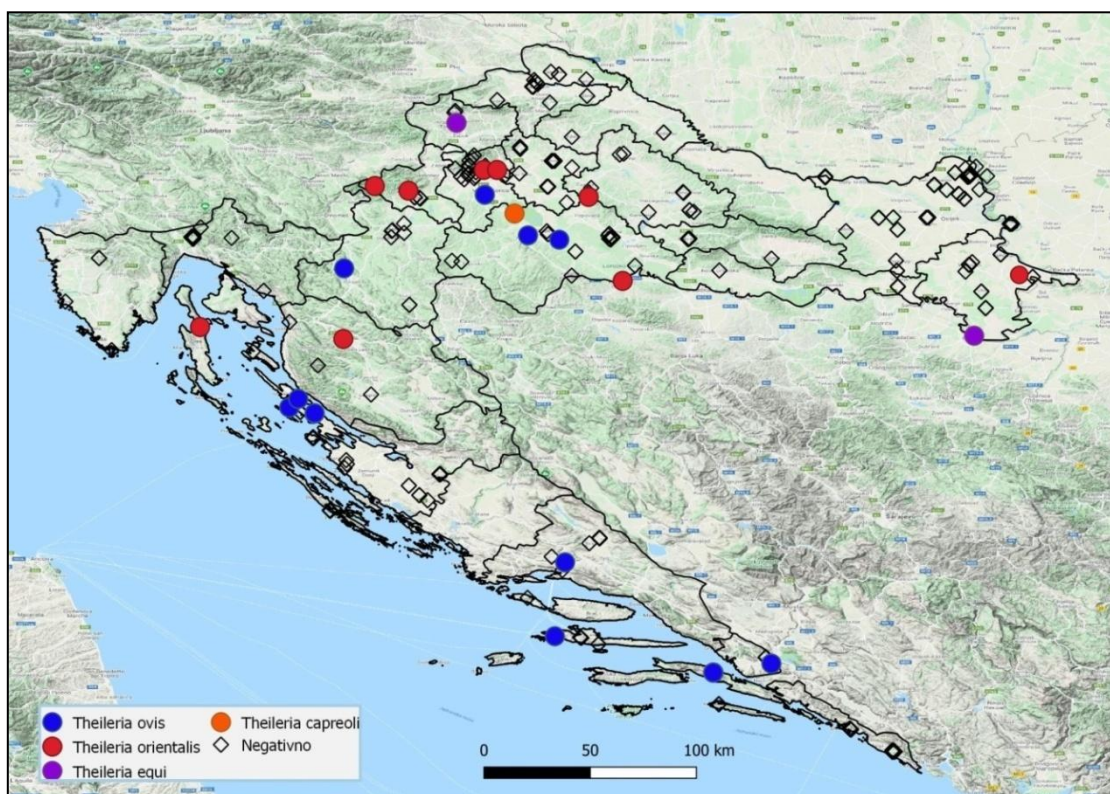
*Theileria orientalis (buffeli/sergenti)* je dokazana u 1,9% (10/509; 95% IP: 1-3,6) krpelja. Dokazana je u *D. reticulatus* (12,9%; 7/54), *D. marginatus* (18,2%; 2/11) i *I. gibbosus* (25%; 1/4). Zemljopisno je bila ograničena na kontinentalnu Hrvatsku, s najjužnijim dokazom na području Otočca u *D. reticulatus* i otoka Cresa u *I. gibbosus* (Slika 37.).

*Theileria equi* je dokazana u 0,4% (2/509; 95% IP: 0.1-1,4) krpelja s konja i to u *D. reticulatus* (1,8%; 1/54) iz Gunje i *D. marginatus* (9,1%; 1/11) iz Zagorja (Slika 38.). U krpelju *D. marginatus* iz okoliša (9,1%, 1/11, Lekenik) dokazana je *Theileria capreoli* (0,2%, 1/509; 95% IP: 0-1,1) (Slika 37.).

Prikaz rasprostranjenosti i podrijetla dokazanih piroplazmi je dataljno prikazana na Slikama 36. i 37., te u Tablicama 24. do 32. U Tablicama 19. i 20. je prikazana usporedba sa dostupnim sekvencama u bazi gena GenBank®.



Slika 36. Geografska rasprostranjenost vrsta iz roda *Babesia* (QGIS).



Slika 37. Geografska rasprostranjenost vrsta iz roda *Theileria* (QGIS).

Tablica 19. Prikaz usporedbe sekvenci vrsta iz roda *Babesia* sa sekvencama iz baze gena GenBank®.

VRSTA	SLIČNOST	PRISTUPNI BROJ	DRŽAVA	PODRIJETLO
<i>B. canis 1</i>	100%	HQ662634; KT008057; KF499115; FJ209025; KT844905; EU622792	Rumunjska, Estonija, Turska RH; Poljska; Rusija	pas
		KX712122	Rumunjska	čagalj
		NK836022; AY649326; KY447296	Rumunjska, Rusija, Austrija	<i>D. reticulatus</i>
		MN134074; MK107804; KY693669	Poljska; BIH, Austrija	lisica;
	99,8%	KY021190	Češka	pas
		KY747491	Srbija	čagalj
	99,6%	KY259360	RH	vuk
		KX839231, KX839232	Italija	konj
AY072926, FJ209024, MK089785		RH	pas	
KR003829		Poljska	<i>I. ricinus</i>	
<i>B. canis 2</i>	99,6%	KY747491	Srbija	čagalj
		KY359360	RH	vuk
		KX839231, KX839232	Italija	konj
		KR003829	Poljska	<i>I. ricinus</i>
		AY072926, FJ209024; KY021190	RH; Češka	pas
		MK107804	BIH	lisica
<i>B. vulpes</i>	100%	MK742776-MK742780; HM212628; KT223483; KT580785; KM115972; KY693667; MK862229-MK862234; KP216411; KY175165, KY175167	Italija; RH; Španjolska; Engleska; Austrija; Poljska; BIH; Slovačka	lisica
		MT509981; EU583387; AY457975, AY457974; AY144700.; JX454779	Rusija; SAD; Španjolska; Francuska	pas
		KM115977	Austrija	kunopas
		KY246306; KY447297	Austrija	<i>D. reticulatus</i>
	99,8%	KJ871352	Izrael	lisica
		KX712130	Rumunjska	čagalj
	99,6%	FJ209022	RH	pas
	<i>B. ovis</i>	100%	MN493112; MG569902; MH618772, KT851446, KT851439, KT851441; KY867435; JF923656	Turska
AY150058; AY533146			Španjolska	koza, ovca
KF681515			Albanija	koza
KY433325			Švedska	krpelj
<i>Babesia cf. crassa</i>	98,6%	AY260177; MF040150; MG062782	Turska, Rusija	ovca; <i>H. parva</i>
<i>Babesia sp. „tavsan“</i>	100%	MN463016-MN463018, MK918573; MF356682	Turska; Italija	<i>R. turanicus</i> (lisica, okoliš); zec
	99,7%	MF040152	Turska	zec
	97,3%	HQ437690 („ <i>Babesia sp. anglona</i> “)	Italija	svinja
<i>Babesia sp. „Badger type A“</i>	100%	MG799845; KT233484; MT077002, MT052179; MK742770, MK742772	Kina; Španjolska; Engleska; Italija	jazavac
		MF614153	BIH	divlja mačka
<i>Babesia sp. „Badger type B“</i>	100%	KT223485	Španjolska	jazavac
	99,8%	MG799846; KX528555, KX528554	Kina Engleska	jazavac
<i>B. microti</i>	100%	EF413181; KC470047	Njemačka; Poljska	čovjek
		AY144692; AF231349; KC470048	Švicarska; Njemačka, Poljska	<i>I. ricinus</i>
		AB083375; AB085191	Kina, Njemačka	mali glodavci
<i>B. venatorum</i>	99,8%	MG34477, MG344756; HQ830266, EF185818; JQ929917, HQ638133;	Češka; Francuska; Poljska	srna
		KM244044	Španjolska	/
		GQ888709	Nizozemska	sob
		KJ486557, GU734773; KU204792;	Rusija; Kina	<i>I. persulcatus</i>
		MG052939	Rusija	<i>D. reticulatus</i>
		KU204790	Kina	<i>H. concina</i> ;
		JX040642; KC470050; FJ215872; GU647159; AY553915; KF447532	Rumunjska; Poljska; Francuska Italija, Slovenija; Nizozemska	<i>I. ricinus</i>
		AY046575; KP072001; KM244044	Italija/Austrija; Poljska	čovjek

Tablica 20. Prikaz usporedbe sekvenci vrsta iz roda *Theileria* sa sekvencama iz baze gena GenBank®.

VRSTA	SLIČNOST	PRISTUPNI BROJ	DRŽAVA	PODRIJETLO
<i>T. ovis</i>	100%	KR094869, KR094861, KR094868; MN625903; MH327772; FJ603460; KU714608; KM92442-KM924444; AY533144	Irak; Egipat; Alžir; Kina; Turska; Tunis; Španjolska	ovca
		MN625887; GU726901; EU622911	Egipat; Kina; Španjolska	govedo
		KT851428, KT851429	Turska	muflon
		KT851433-KT851435	Turska	<i>R. bursa</i>
<i>T. orientalis</i> ( <i>buffeli/sergenti</i> )	99,8%	MH208641, MH208634, MH208631 ( <i>T. orientalis</i> )	Kina	<i>R. microplus</i>
		KJ020546, HM538197; KX965722; AF236094; DQ287959 ( <i>T. buffeli</i> )	Kina; J. Koreja; Australija; Španjolska	govedo
		JQ723015 ( <i>T. sergenti</i> )	Kina	čovjek
		AB520955 ( <i>T. orientalis</i> )	Australia	govedo
		KX375817, KX375822 ( <i>T. sergenti</i> )	Italija	<i>R. annulatus</i> (govedo)
	99,7%	MH20864, MH208634	Kina	<i>R. microplus</i>
		MH208633	Kina	<i>H. longicornis</i>
		MG599099	Pakistan	govedo
	98,9%	AB668373; AB520953 ( <i>T. orientalis</i> )	Japan; Australia	govedo
		HM538195 ( <i>T. sergenti</i> )	Kina	govedo
<i>T. equi</i>	99,7%	MT093496	Kina	konj
	99,4%	MN611344, MN611340, MN611334; MG569905	Izrael, Turska	konj
		MK732476	Francuska	<i>R. bursa</i>

### 5.3. PROTEOBAKTERIJE IZ PORODICE ANAPLASMATACEAE

Proteobakterije iz rodova *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Candidatus Neoehrlichia* i *Wolbachia* te *Mitochondria mitochondrii* su sekvenciranjem dokazane u 18% (92/509, 95% IP: 14,9-21,6) krpelja. Dokazane su dvije vrste anaplazmi, *Anaplasma capra* i *A. phagocytophilum*, erlihije *E. canis* i *Ehrlichia* sp., „*Candidatus Neoehrlichia lotoris*“ i endosimbionti *Wolbachia* sp. i *Mitochondria mitochondrii*.

*Anaplasma capra*, uzročnik anaplazmoze domaćih preživača bila je prisutna u 5,1% (26/509, 95% IP: 3,5-7,4), a *Anaplasma phagocytophilum*, uzročnik granulomatozne anaplazmoze u 0,9% (5/509, 95% IP: 0,4-2,3) krpelja.

*Anaplasma phagocytophilum* je zemljopisno bila ograničena na područje priobalja (osim Istre). Dokazana je u dva krpelja *I. ventalloi* (33,3%, 2/6; zec, Vir), te u po jednog *I. ricinus* 1 (1,3%, 1/76; Klana, okoliš), *I. hexagonus* 1 (6,6%, 1/15; lisica, Pag) i *R. turanicus* 3 (0,9%, 1/102; ovce, Kuna) (Slika 38.).

*Anaplasma capra* je dokazana u 13,7% *R. turanicus* 3 (14/102), 10,5% *R. bursa* (6/57) i 9,3% *R. turanicus* 2 (4/43) s ovaca i koza, na području srednjeg i južnog priobalja. Na području kontinentalne Hrvatske dokazana je u *D. marginatus* (9,1%, 1/11, ovca) na području Sunje i *H. inermis* na području Jastrebarskog (16,6%, 1/6, lisica) (Slika 38.).

Uzročnik monocitne erlihioze, *Ehrlichia canis*, dokazana je u 0,4% (2/509, 95% IP: 0,1-1,4) krpelja *R. bursa* (3,5%; 2/57) s ovce i koze na području Paga i Medviđe, što predstavlja prvi dokaz u krpelja u RH (Slika 38.). *Ehrlichia* sp. je dokazana u 0,6% (3/509, 95% IP: 0,2-1,7) krpelja i to u 1,7% *R. bursa* (1/57, krava, Obrovac Sinjski) i 4,3% *I. canisuga* (2/23, lisice, Bjelovar i Pakrac) (Slika 38.).

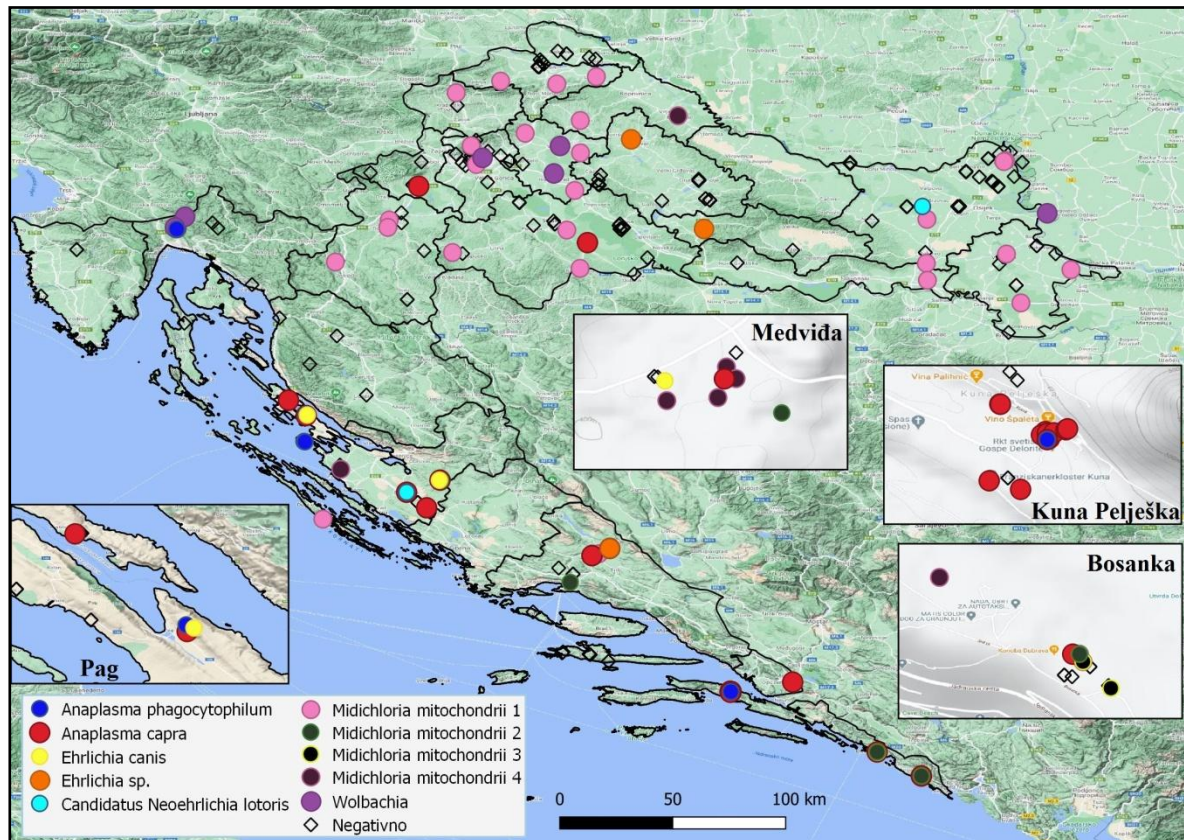
„*Candidatus Neoehrlichia lotoris*“ (0,4%, 2/509, 95% IP: 0,1-1,4) je dokazan u po jednom *I. ricinus* 1 (1,3%, 1/76; okoliš, Topoline) i *I. hexagonus* 2 (50%, 1/2; lisice, Benkovac) (Slika 38.).

Endosimbiont *Wolbachia* sp. je dokazan u 1,4% (7/509; 95% IP: 0,6-2,8) krpelja, i to u 7,9% *I. ricinus* 1 (6/76) s lisica, psa i okoliša i jednom *I. ricinus* 15 (1/1) iz okoliša na području kontinentalne Hrvatske i Gorskog kotara (Slika 38.).

Četiri genotipa endosimbionta *M. mitochondrii* su dokazana u 9,2% (47/509; 95% IP:

7-12) krpelja. Najučestaliji genotip *M. mitochondrii* 1 je dokazan u 6,1% (31/509), potom *M. mitochondrii* 4 u 1,7% (9/509), *M. mitochondrii* 2 u 0,8% (4/509) i *M. mitochondrii* 3 u 0,6% (3/509) krpelja. *Midichloria mitochondrii* 1 je dokazana na području kontinentalne Hrvatske u genotipovima krpelja *I. ricinus* i jednom *H. inermis* (16,6%, 1/6). Na području priobalja dokazana je na svega tri lokacije u *Hy. marginatum* (5,7%, 2/35; Bosanka, Sinj) i *R. turanicus* 3 (0,9%, 1/102; Dugi otok) (Slika 38.). *Midichloria mitochondrii* 4 je na području srednjeg i južnog priobalja dokazana u *Hy. marginatum* (22,8%, 8/35) s krava, a na području kontinentalne Hrvatske u *I. ricinus* 1 (1,3%; 1/76) s lisice iz Đurđevca (Slika 38.). *Midichloria mitochondrii* 2 i *M. mitochondrii* 3 su dokazani na području srednjeg i južnog priobalja. *Midichloria mitochondrii* 2 u *Hy. marginatum* (5,7%; 2/35), *R. bursa* (1,7%; 1/57) i *R. turanicus* 3 (0,9%; 1/102); dok je *M. mitochondrii* 3 dokazana u *Hy. marginatum* (8,5%; 3/35) (Slika 38.).

Detaljan prikaz rasprostranjenosti i podrijetla dokazanih proteobakterija je prikazana u Tablicama 24. do 32. i na Slici 38. Usporedba sekvenci s dostupnim sekvencama bazi gena GenBank® prikazana je u Tablici 21.



Slika 38. Geografska rasprostranjenost vrsta iz porodice *Anaplasmataceae* (QGIS).

Tablica 21. Prikaz usporedbe dokazanih vrsta iz porodice *Anaplasmataceae* s dostupnim sekvencama u bazi gena GenBank®.

VRSTA	SLIČNOST	PRISTUPNI BROJ	DRŽAVA	PODRIJETLO
<i>A. phagocytophilum</i>	98,8%	KT454992; MF582329	Austrija; J. Koreja	čovjek
		MH722235; MK814408	Kina; J. Afrika	mali glodavci
		MK239929	Južna Koreja	konj
		LC334014; KY114936; KM215224; MK239909- MK239931; MK814412	Japan; RH; Slovenija; J. Koreja; J. Afrika	pas
		KX180984	Švicarska	lisica
		KP745629; MN193068	Turska, Kina	govedo
		KM215240, KM215237	Slovenija	srna
		KC8000985	Švedska	los
		JX173652.; HQ629923; HQ629917; KM215231- KM215233; KU559922; MH122886 -MH122891	Njemačka; Estonija; Rusija; Slovenija; Francuska; Poljska	<i>I. ricinus</i>
<i>A. capra</i>	100%	LC432092-LC432114	Južna Koreja	jelen
		MG869531-MG869594	Kina	<i>R. microplus</i>
<i>E. canis</i>	100%	MN922610, EF263991; KJ513194-KJ513197; KX180945, EU439944; KM879929, EU263991; KR92044; EF195135	Grčka; Turska; Italija; Tajland; Malezija; Brazil	pas
		KX987326	Kina	<i>R. microplus</i>
		KC479022	Španjolska	/
		AB723710	Japan	divlja mačka
		AF373612; U26740	Venezuela; SAD	čovjek
<i>Ehrlichia</i> sp.	99,7%	MH020203	Mađarska	pas
	99,4%	KX987325, KX987324	Kina	<i>R. microplus</i>
		KJ410257, KJ410255	Kina	<i>Hy. asiaticum</i>
		AY309970, AY309969	Japan	<i>Haemaphysalis</i> sp.
	99,1%	KR262717	Španjolska	jazavac
„ <i>Candidatus Neoehrlichia lotoris</i> “	100%	KX987320; JX092090	Kina; Rusija	<i>H. longicornis</i>
		MH020204; KX231830	Mađarska	pas; jazavac
		MG670107	Poljska	kunopas
<i>M. mitochondrii</i> 1	100%	KT833357; MK043348; MN155788-MN155792	Austrija; Srbija; Poljska	lisica
		KU559921, GU734326; DQ105665; KX359181; EU315776, EU315775	Francuska; Poljska; Portugal; Mađarska	<i>I. ricinus</i>
<i>M. mitochondrii</i> 2 i 4	99,1%	AY776167	Danska	jelen
		KU559921	Francuska	<i>I. ricinus</i>
	99%	AY776167	Danska	jelen
	98,9%	DQ105665; KX359181	Poljska, Portugal	<i>I. ricinus</i>
		EU315776, EU315775; GU734326	Mađarska; Francuska	<i>I. ricinus</i>
<i>M. mitochondrii</i> 3	98,4%	KU559921; DQ105665	Francuska; Poljska	<i>I. ricinus</i>
	98,3%	KX359181; EU315776, EU315775	Portugal, Mađarska	<i>I. ricinus</i>
	98,2%	GU734326	Francuska	<i>I. ricinus</i>
<i>Wolbachia</i> sp.	100%	MK940245-MK940240	Indija	voćna muha( <i>Drosophila ananassae</i> )
		MH521189-MH521189	Turska	ljudska buha ( <i>Pulex irritans</i> )
		LC370579-LC370585	Japan	cikada ( <i>Meimuna opalifera</i> )
		KX775942	Brazil	vinska mušica ( <i>D. melanogaster</i> )
		KF986986, KF986984	Engleska	<i>Drosophila bicornuata</i>



#### 5.4. PROTOZOONI IZ RODA *HEPATOZOON*

Tri vrste iz roda *Hepatozoon*, *H. canis*, *H. felis* i *Hepatozoon* „Badger type“ su sekvenciranjem dokazane u 6.1% (31/509, 95%IP: 4,1-8,5) krpelja.

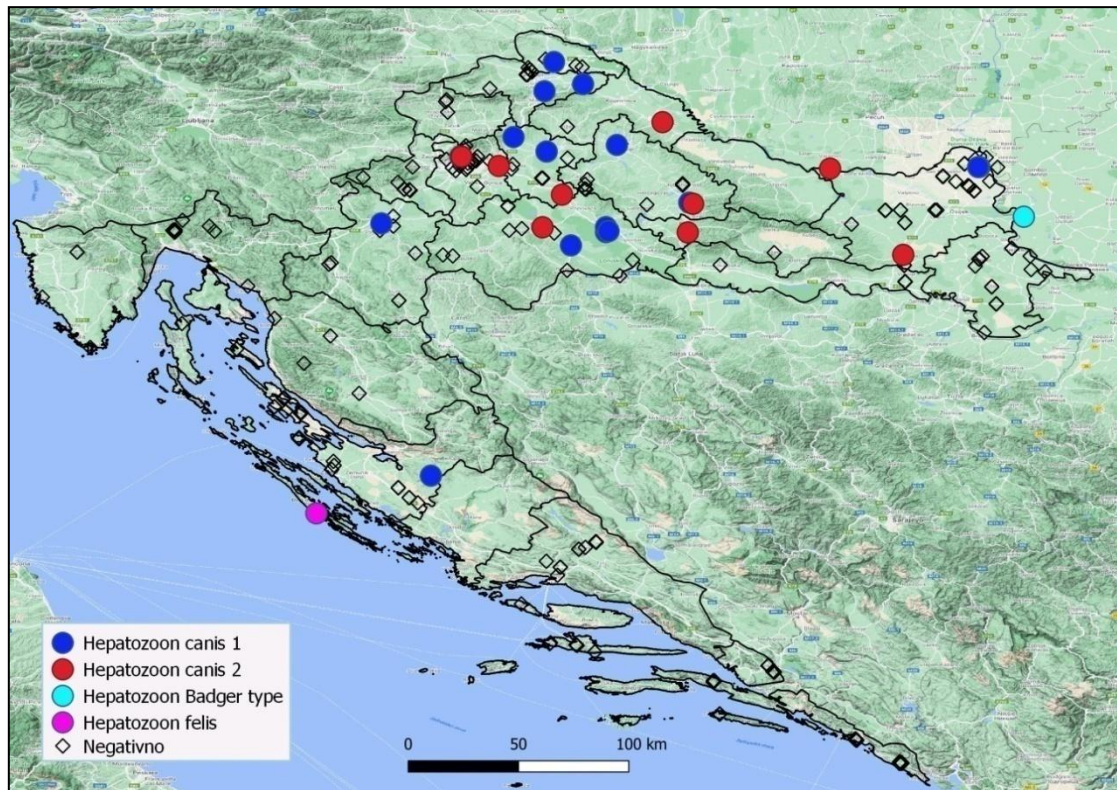
Dokazana su dva genotipa, uzročnika hepatozoonoze pasa *H. canis*, *H. canis* 1 u 3,7% (19/509, 95% IP: 2,4-5,7) i *H. canis* 2 u 1,7% (9/509, 95% IP: 0,9-3,3) krpelja. Genotip *H. canis* 1 dokazan je u *I. hexagonus* 1 (26,6%, 4/15; lisice), *I. ricinus* 1 (7,9%, 6/76; lisice), *I. canisuga* (13%, 3/23; lisice), *D. reticulatus* (7,1%, 4/54; lisice, pas), *I. ricinus* 16 (1/1, konj) i *R. sanguineus* s.s. (6,6%, 1/15).

Genotip *H. canis* 2 dokazan je u *I. ricinus* 1 (3,9%, 3/76; pas, lisice), *I. ricinus* 3 (2/2, pas, lisica), *I. canisuga* (4,3%, 1/23; lisica), te u po jednom *I. hexagonus* 2, *I. hexagonus* 3 i *I. ricinus* 6 (Slika 39.).

Oba genotipa su bila rasprostranjena na području kontinentalne Hrvatske, osim jednog *H. canis* 1 dokazanom u *R. sanguineus* s.s. s psa na području srednjeg priobalja (Medviđa) (Slika 39.).

*Hepatozoon felis* (0,4%, 2/509; 95% IP: 0,1-1,4) je dokazan u *R. turanicus* 3 (1,96%, 2/102) s mačaka na području Dugog otoka, a *Hepatozoon* „Badger type“ (0,2%, 1/509, 95% IP: 0-1,1) u jednom *I. ricinus* 14 iz okoliša na području Erduta (Slika 39.).

Detaljan prikaz rasprostranjenosti i podrijetla dokazanih vrsta iz roda *Hepatozoon* su prikazani u Tablicama 24., 25., 26., 27., 30. i Slici 39. Usporedba sekvenci s dostupnim sekvencama bazi gena GenBank<sup>®</sup> prikazana je u Tablici 22.



Slika 39. Geografska rasprostranjenost vrsta iz roda *Hepatozoon* (QGIS).

Tablica 22. Prikaz usporedbe vrsta iz roda *Hepatozoon* sa sekvencama u bazi gena GenBank®.

VRSTA	SLIČNOST	PRISTUPNI BROJ	DRŽAVA	PODRIJETLO
<i>Hepatozoon</i> „Badger type”	99,5%	KC584778	Njemačka	<i>I.canisuga</i>
	99,3%	KU198330	Španjolska	jazavac
		MG136688 ( <i>H. martis</i> )	RH	kuna bjelica
		MH136687 ( <i>H. martis</i> )	BIH	kuna zlatica
<i>H. felis</i>	100%	MH656727	RH	mačka
		MN905025, MN905024	Turska	<i>H. parva</i>
	99,8%	JQ867388	Turska	<i>R. sanguineus</i> s.l.
	99,5%	KY511259	Italija	mačka
<i>H. canis 1</i>	100%	MK238384; MN103412	J. Koreja; Brazil	pas
		KX712123	Austrija	čagalj
		KX887323; AY150067	Slovačka; Španjolska	lisica
		LC169075	Japan	<i>H. longicornis</i>
	99,8%	MG077084, KY196999	Turska	<i>H. parva</i> ; <i>R. sanguineus</i>
		MH656729	RH	vuk
		MK757802; FJ497020- FJ497022	Njemačka; RH	pas
		KX712129-KX712124; KJ572976	Rumunjska; Mađarska	čagalj
<i>H. canis 2</i>	100%	KP644235; KJ605147	Italija	lisica; <i>R. turanicus</i>
		HM212626	RH	lisica
		KY021177, KU893121, KU893126; MK757800	Češka; Njemačka	pas
	99,8%	KJ572979; KX879141; KU893118, KU893119, KU893122, KU893125	Mađarska; Slovačka; Češka	lisica
KU597242		Češka	<i>I. ricinus</i>	
<i>H. canis 2</i>	99,8%	JX466886, JX466881	Austrija	čagalj
		FJ497011, FJ497009; MH656730; HM212625	Hrvatska	čagalj; vuk; lisica

## 5.5. HEMOTROPNE BAKTERIJE IZ RODA *MYCOPLASMA*

Bakterije iz roda *Mycoplasma* nisu dokazane u krpelja u ovom istraživanju.

## 5.6. BAKTERIJE IZ RODA *RICKETTSIA*

Vrste iz roda *Rickettsia* dokazane su u 11,7% (60/509, 95% IP: 9,1-14,9) krpelja i to *R. slovaca*, *R. raoultii*, *R. aeschlimannii*, *R. massiliae* i *R. monacensis*.

*Rickettsia slovaca* je dokazana u 0,9% (5/509; 95% IP: 0,4-2,3) krpelja. Na području Otočca i Senja dokazana je u *D. reticulatus* (3,7%; 2/54) s lisice i muflona. U krpeljima *D. marginatus* (27,2%; 3/11) s čovjeka, goveda i ovce dokazana je na području kontinentalne Hrvatske (Zagreb, Grubišno Polje i Sunja) (Slika 40.).

*Rickettsia raoultii* je dokazana u 4,7% (24/509; 95% IP: 3,2–6,9) krpelja, *D. reticulatus* (40,7%; 22/54), *D. marginatus* (9,1%; 1/11) i *H. parva* (12,5%; 1/8). Bila je rasprostranjena na području kontinentalne Hrvatske, dok je na području Gorskog kotara i otoka Vira dokazana u *D. reticulatus* s medvjeda i zeca (Slika 40.).

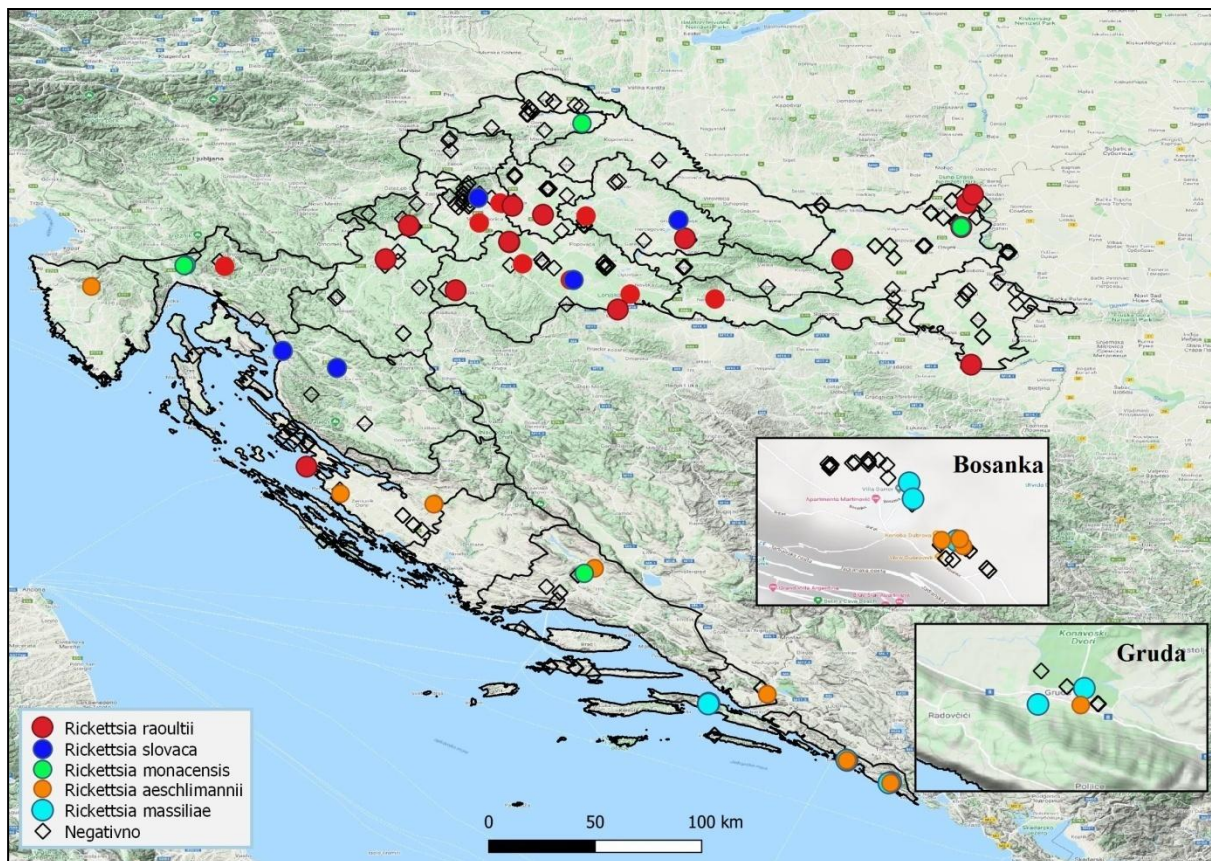
Ovim istraživanjem dokazane su i riketcije koje pripadaju grupi uzročnika pjegave groznice: *R. aeschlimannii*, *R. massiliae* i *R. monacensis*.

*Rickettsia aeschlimannii* je dokazana u 2,8% (14/509; 95% IP: 1,6-4,5) krpelja. Dokazana je na području priobalja u *Hy. marginatum* (37,1%, 13/35, krave, magarac, konj) i u jednom *R. turanicus* 3 (0,9%, 1/102, krava,) na području Gruda (Slika 40.).

*Rickettsia massiliae* (2,4%, 12/509, 95% IP: 1,3-4) je na području južnog priobalja dokazana u *R. turanicus* 2 (9,3%, 4/43, krava, koze) i *R. turanicus* 3 (7,8%, 8/102, magarac, ovce, koze) (Slika 40.).

*Rickettsia monacensis* (0,9%, 5/509; 95% IP: 0,4-2,3) je dokazana u *I. ricinus* 1 (3,9%, 3/76; Ludbreg, Klana; lisica, okoliš), *I. ricinus* 21 (1/1; Lug, okoliš) i u *Hy. marginatum* (2,8%, 1/35; Sinj, pas) (Slika 40.).

Detaljan prikaz rasprostranjenosti i podrijetla dokazanih rikecija su prikazani na Slici 40. i Tablicama 25., 26., 27., 28., 30., 31. i 32. Usporedba s dostupnim sekvencama u bazi gena GenBank<sup>®</sup> prikazana je u Tablici 23.



Slika 40. Geografska rasprostranjenost vrsta iz roda *Rickettsia* (QGIS).

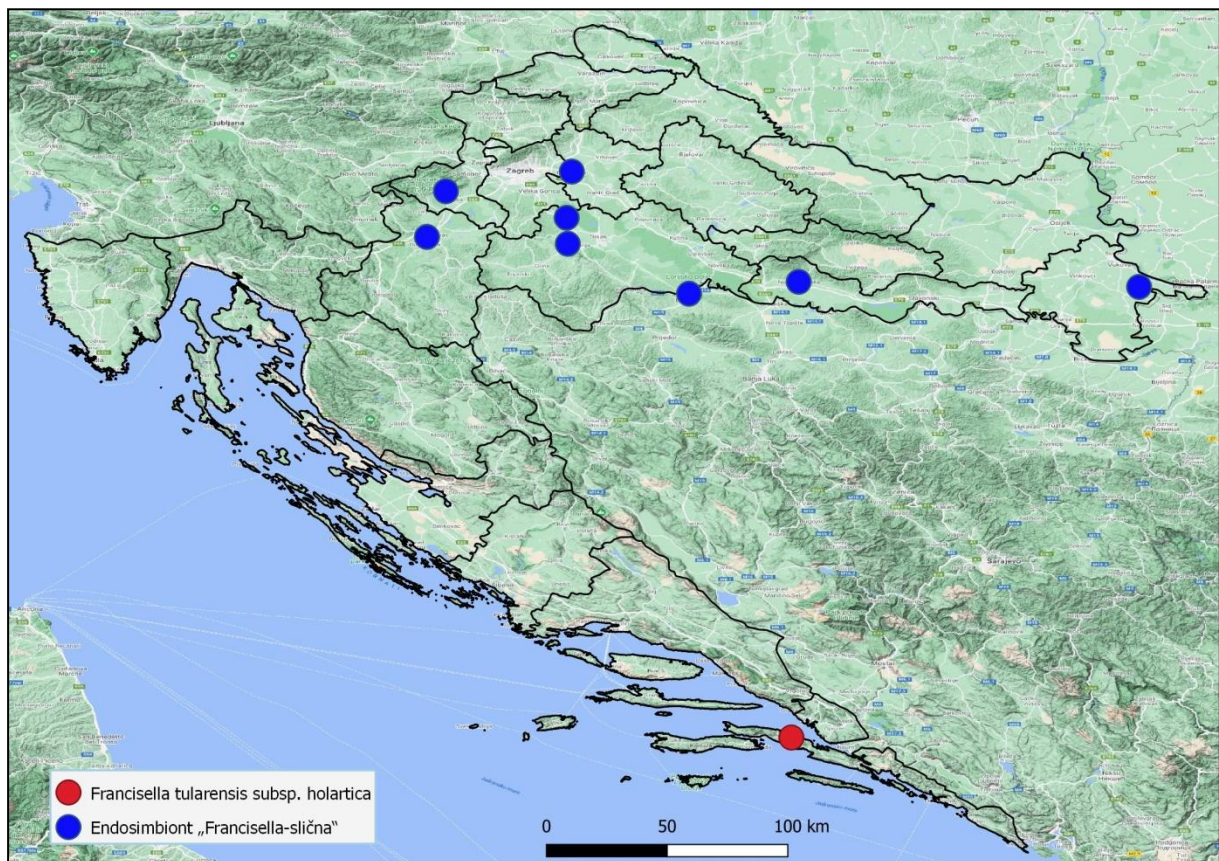
Tablica 23. Prikaz usporedbe vrsta iz roda *Rickettsia* sa sekvencama u bazi gena GenBank®.

VRSTA	SLIČNOST	PRISTUPNI BROJ	DRŽAVA	PODRIJETLO
<i>R. aeschlimannii</i>	100%	MG920564; MF379308; MF379306; MF379302, MF379299; KF791247, MK922636, MK736332; JQ691734; KF79125, MF383551	Turska	<i>Hy. marginatum</i> (larva; zec; divlja svinja; okoliš; govedo; čovjek)
		MF383556, MF383557; MF383571; MF383567; MF383574; MF383577; MF383576	Turska	<i>H. parva</i> ; <i>D. marginatus</i> ; <i>R. turanicus</i> ; <i>H. punctata</i> ; <i>H. sulcata</i> ; <i>I. ricinus</i> (čovjek)
		HQ335157, MF383551	Egipat	<i>Hy. impelatum</i>
		MH932060, MH932059; DQ235777	Kina, Rusija	<i>Hy. marginatum</i>
		MH532240; MH532238	Italija	<i>Hy. marginatum</i> ; <i>Hy. lusitanicum</i>
<i>R. monacensis</i>	100%	AH015165; EF053275	SAD; Portugal	/
		MG432690, LT907815, FJ919651, AJ427884; MK203086-MK203093; KF258154; MK608661, KY073124; KF768802	Italija; Turska; Slovačka; Francuska; Španjolska	<i>I. ricinus</i>
	99,8%	KT119437	Estonija	<i>Ixodes</i> sp.
		HM161771, HM161767 GQ925821	Italija Srbija	<i>D. marginatus</i> <i>I. ricinus</i>
<i>R. massiliae</i>	100%	KT835137	J. Afrika	mali glodavci
	99,4%	MH549236	Kina	čovjek
		KR401145	Španjolska	okoliš
		MH990860	Pakistan	<i>R. microplus</i>
98,9%	MH532235-MH532237; U43793	Italija; Francuska	<i>R. sanguineus</i> s. l.	
<i>R. slovaca</i>	100%	MF379311; MF379292-MF379305	Turska	divlja svinja; <i>D. reticulatus</i> (d. svinja)
		HM161769, HM161786- HM161788, HM161793, MH532250-MH532257	Italija	<i>D. marginatus</i>
		MH500066, MH500065, KF791246	Turska	<i>Hyalomma</i> sp., jež
		U43808	Francuska	/
		KF791234, KF791231, JQ691724	Turska	<i>D. marginatus</i> ; čovjek
		MK922638, MK922640, MK922641, MK922645, MK922648	Turska	<i>D. marginatus</i> , okoliš
99,4%	JQ798908, JQ798909	Mađarska	čovjek (TIBOLA)	
<i>R. raoultii</i>	100%	MF166729, MF166732, MF166730; AH015609; KT805295	Danska; Francuska; BIH	<i>D. reticulatus</i>
		HM161792, HM161789; JN398480	Italija; Slovačka	<i>D. marginatus</i>
		JQ691731; MK922656; MF383598	Turska	<i>D. marginatus</i> (govedo, okoliš, čovjek)
	99,8%	JQ798907, JQ798904	Mađarska	čovjek (TIBOLA)
99,6%	MH532241-MH532243	Italija	<i>R. sanguineus</i> s. l.	

## 5.7. BAKTERIJE IZ KOMPLEKSA *FRANCISELLA TULARENSIS*

*Francisella tularensis* (0,2%, 1/509, 95% IP: 0 -1,1) je dokazana u *R. turanicus* 3 (0,9%; 1/102) iz okoliša s poluotoka Pelješca (Slika 41., Tablica 30.). Sekvence su bile identične sekvencama *F. tularensis* subsp. *holartica* iz krpelja *D. marginatus* (BIH, KT805283 i Portugal, KJ477079), *Dermacentor* sp. (Švicarska, FN686825, FN686818), *H. concinna* (Mađarska, HM014008), *I. ricinus* (Njemačka, JN411544, JN411542, JN411541 i Srbija, AB262329), te zeca iz Španjolske (AY219237).

U 1,5% krpelja (8/509, 95% IP: 0,8-3) na području kontinentalne Hrvatske dokazane su sekvence endosimbionta identične sekvencama „*Francisella*-slična“, iz *D. reticulatus* iz okoliša u Poljskoj (MG859281). Dokazana je samo u dvije vrste krpelja; učestalija u *D. reticulatus* (12,9%, 7/54) nego u *D. marginatus* (9,1%, 1/11) (Slika 41.).



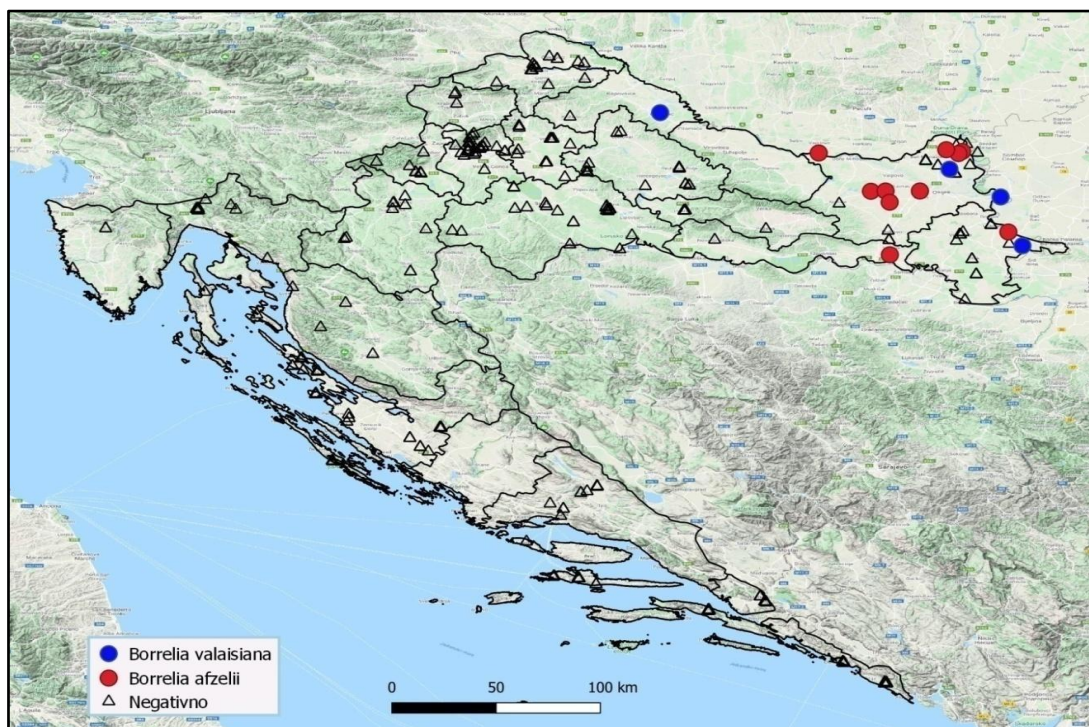
Slika 41. Geografska rasprostranjenost *F. tularensis* subsp. *holartica* i endosimbionta „*Francisella*-slična“ (QGIS).

## 5.8. BAKTERIJE IZ KOMPLEKSA *BORRELIA BURGDORFERI* SENSU LATO (S.L.)

Bakterije iz kompleksa *B. burgdorferi* s.l. su dokazane u 2,7% (14/509; 95% IP: 1,6-4,5) krpelja. Sekvenciranjem je dokazana veća učestalost *Borrelia afzelii* (1,9%, 10/509, 95% IP: 1-3,6) nego *Borrelia valaisiana* (0,8%, 4/509, 95% IP: 0,3-2). Sekvence *B. afzelii* su dijelile 98,9% sličnosti sa sekvencama *B. afzelii* iz *I. ricinus* (Njemačka, Z77173; Švedska, JX909698 i Turska, AB091798), *I. persulcatus* (Rusija, MK118755, KX685726), čovjeka (JX888444, Kina) i malih glodavaca (Kine, MK333408, MK333414; Rusije, AY772038). Sekvence *B. valaisiana* su bile identične sekvencama iz *I. ricinus* iz Njemačke (FN391376), Nizozemske (MN515326, MK108586, LC325692), Norveške (MK108539, MK108490) i Belgije (LC325649, LC325604).

Obje vrste su dokazane u genotipovima krpelja *I. ricinus* na području kontinentalne Hrvatske, Većina krpelja podrijetlom je iz okoliša, osim *I. ricinus* 1 sa psa u kojemu je dokazana *B. afzeli* (Zmajevac) i lisice u kojemu je dokazana *B. valaisiana* (Đurđevac).

Na Slici 42. i Tablicama 25. i 26. prikazana je detaljna rasprostranjenost i podrijetlo dokazanih borelija.



Slika 42. Geografska rasprostranjenost *B. valaisiana* i *B. afzelii* (QGIS).

## 5.9. BAKTERIJA *COXIELLA BURNETTI*

Bakterija *C. burnetti* nije dokazana u krpelja u ovom istraživanju.

## 5.10. ZBIRNI PRIKAZ PATOGENA U VRSTAMA KRPELJA

Detaljan prikaz dokazanih DNK mikroorganizama u vrstama krpelja detaljno su prikazani su u Tablicama 24. do 32.

### 5.10.1. Rod *Ixodes*

U *I. canisuga* s lisica je dokazana DNK *Babesia* sp. „Badger type A”, *Ehrlichia* sp., *H. canis* 1, *H. canis* 2 i *Ehrlichia* sp., dok je *I. canisuga* iz okoliša bio negativan.

U *I. gibbosus* s ovce s Cresa je dokazana DNK *T. orientalis*, dok je *Babesia* sp. „Badger type B” dokazana u *I. kaiseri* s lisice iz Preloga.

*Anaplasma capra* i *A. phagocytophilum* su dokazane u *I. ventalloi* s zečeva s Vira.

*Babesia* sp. „Badger type A”, *B. canis* 1, *A. phagocytophilum* i *H. canis* 1 su dokazani u *I. hexagonus* 1 s lisica, dok su krpelji s mačke i pasa bili negativni. U *I. hexagonus* 2 je dokazan „*Candidatus* Neoehrlichia lotoris“, a u *I. hexagonus* 3 s lisica *H. canis* 2.

U *I. ricinus* 1 sa životinja dokazani su *H. canis* 1 i *H. canis* 2, *B. canis* 1, *Babesia* sp. „Badger type A”, *B. afzelii*, *B. valaisiana*, *R. monacensis* i endosimbionti *Wolbachia* sp., *M. mitochondrii* 1 i *M. mitochondrii* 4. U *I. ricinus* 1 iz okoliša dokazani su *B. microti*, *A. phagocytophilum*, „*Candidatus* Neoehrlichia lotoris“, *R. monacensis*, *B. valaisiana*, *B. afzeli* i endosimbionti *Wolbachia* sp., *M. mitochondrii* 1. Detaljan prikaz dokazanih DNK patogena u genotipovima *I. ricinus* 2 do *I. ricinus* 24 prikazan je u Tablici 25.

### 5.10.2. Rod *Dermacentor*

U *D. reticulatus* sa životinja dokazana su DNK *R. raoultii*, *T. orientalis*, *T. equi*, *B. canis* 1 i *B. canis* 2, *T. ovis*, *R. slovacca*, *H. canis* 1, *Babesia* sp. „Badger type A” i „*Francisella*-slična”. U dva krpelja iz okoliša dokazane su *R. raoultii* i „*Francisella*-slična”.

U *D. marginatus* sa životinja dokazani su *R. slovacca*, *T. equi*, *A. capra*, *T. orientalis* i



*B. canis* 1, dok su u krpelja prikupljenih s ljudi dokazane *R. slovacca*, *T. orientalis*, *B. canis* 2 i „*Francisella*-slična”. Iz okoliša su prikupljena svega dva *D. marginatus* od čega su u jednom dokazane *R. raoultii* i *T. capreoli*.

### 5.10.3. Rod *Rhipicephalus*

Uzročnici piroplazmoze i anaplazmoze malih preživača poput *B. ovis*, *T. ovis* i *A. capra* su dokazani u *R. bursa* na području srednjeg i južnog Jadrana u krpelja s koza i ovaca. U dva krpelja s ovce (Pag) i koze (Medviđa) dokazana je *E. canis*, a *Ehrlichia* sp. u jednom krpelju s krave. Ostali patogeni čija je DNK dokazana u *R. bursa* sa životinja su *Babesia* sp. „Badger type A”, *B. canis* 1 i *M. mitochondrii* 2. *Rhipicephalus bursa* iz okoliša (Bosanka) je bio negativan.

U jednom *R. turanicus* 1 s ovce (Pag) dokazana je *T. ovis*. U *R. turanicus* 2 s koza, krava i ovaca dokazana je DNK *R. massiliae*, *A. capra* i *T. ovis*, dok su krpelji iz okoliša bili negativni. U *R. turanicus* 3 sa životinja dokazani su *A. capra*, *R. massiliae*, *T. ovis*, *A. phagocytophilum*, *M. mitochondrii* 2, *Babesia* cf. *crassa*, *B. canis* 1, *Babesia* sp., *R. aeschlimanii* i *H. felis*. U *R. turanicus* 3 iz okoliša dokazani su *F. tularensis* i *M. mitochondrii* 1. U *R. sanguineus* s.s. s psa na području Medviđe dokazan je *H. canis* 1.

### 5.10.4. Rod *Hyalomma*

Svi krpelji *Hy. marginatum* prikupljeni su sa životinja, najvećim brojem s krava, potom pasa, konja, te koze i magarca. Dokazana je DNK *R. aeschlimanni*, *R. monacensis*, *T. ovis*, *Babesia* sp. „Badger type A” i sva četiri genotipa *M. mitochondrii*.

### 5.10.5. Rod *Haemaphysalis*

U *H. inermis* s lisice dokazana je DNK *A. capra*, dok je *M. mitochondrii* 1 dokazana u krpelju iz okoliša na području Vinkovaca. Svi krpelji *H. parva* prikupljeni su iz okoliša, a DNK *Babesia* cf. *crassa* i *R. raoultii* dokazana je u krpeljima na području Grabovca i Luga. *Haemaphysalis concina* iz okoliša i s lisice su bili negativni.

Tablica 24. Prikaz molekularno dokazanih DNK patogena u *I. canisuga*, *I. gibbosus*, *I. kaisseri*, *I. ventalloi* i *I. hexagonus*.

VRSTA KRPELJA	PODRIJETLO	LOKACIJA		BROJ KRPELJA	PATOGENI		
		REGIJA	MJESTO				
<i>I. canisuga</i>	Okoliš	kontinentalna RH	Vukovar	1	Negativno		
	Lisica		Varaždin	1	<i>Babesia</i> sp. „Badger type A”		
			Daruvar	1	<i>Babesia</i> sp. „Badger type A” <i>H. canis</i> 2		
			Kutina, Daruvar	2	<i>H. canis</i> 1		
			Bjelovar	1	<i>Ehrlichia</i> sp., <i>H. canis</i> 1		
			Pakrac	1	<i>Ehrlichia</i> sp.		
			Varaždin, Prelog, Pakrac, Jastrebarsko, Bjelovar, Kutina Vukovar, Sv. I. Zelina, Čakovec	16	Negativno		
<i>I. gibbosus</i>	Ovca	sjeverno priobalje	Cres	1	<i>T. orientalis</i>		
			Rab	1	Negativno		
		srednje priobalje	Pag	2	Negativno		
			<i>I. kaisseri</i>	kontinentalna RH	Prelog	1	<i>Babesia</i> sp. „Badger type B”
<i>I. ventalloi</i>	Zec	srednje priobalje			Vir	1	<i>A. capra</i>
					Vir	2	<i>A. phagocytophilum</i>
			Vir	3	Negativno		
<i>I. hexagonus</i> 1	Mačka	kontinentalna RH	Zagreb	1	Negativno		
	Lisica		Kutina	1	<i>Babesia</i> sp. „Badger typeA”, <i>H. canis</i> 1		
			Sunja, Čakovec	2	<i>H. canis</i> 1		
			Vrbovec	1	<i>H. canis</i> 1		
			Zagreb	1	<i>B. canis</i> 1		
			Pakrac, Kloštar Ivanić, Sisak, Zagreb	4	Negativno		
			srednje priobalje	Pag	1	<i>A. phagocytophilum</i> , <i>B. canis</i> 1	
	Pas		južno priobalje	Šolta	1	Negativno	
				Mljet	1	Negativno	
				Mljet	1	Negativno	
	<i>I. hexagonus</i> 2		Lisica	kontinentalna RH	Zagreb	1	Negativno
Zagreb		1			<i>H. canis</i> 2		
srednje priobalje		Benkovac		1	„ <i>Candidatus</i> Neoehrlichia lotoris“		
		<i>I. hexagonus</i> 3		Lisica	kontinentalna RH	Varaždin	1
Sisak	1		<i>H. canis</i> 2				

Tablica 25. Prikaz molekularno dokazanih DNK patogena u *Ixodes ricinus* 1.

VRSTA KRPELJA	PODRIJETLO	LOKACIJA		BROJ KRPELJA	PATOGENI
		REGIJA	MJESTO		
<i>I. ricinus</i> 1	Čovjek	kontinentalna RH	Krapina	1	Negativno
	Lisica		Ludbreg	1	<i>R. monacensis</i> , <i>H. canis</i> 1, <i>M. mitochondrii</i> 1
			Sv. I. Zelina, Ivanec, V. Dubrava, Vrbovec	3	<i>M. mitochondrii</i> 1
			Krapina	1	<i>M. mitochondrii</i> 1
			Varaždinske Toplice, Karlovac, Vrbovec	3	<i>M. mitochondrii</i> 1, <i>H. canis</i> 1
			Đurđevac	1	<i>M. mitochondrii</i> 4, <i>H. canis</i> 2, <i>Borrelia valaisiana</i>
			Križ	1	<i>M. mitochondrii</i> 1, <i>H. canis</i> 2
			Vrbovec	1	<i>Wolbachia</i> sp.
			Sv. I. Zelina, Kutina	2	<i>H. canis</i> 1
			Kloštar Ivanić	1	<i>B. venatorum</i> , <i>Wolbachia</i> sp.
	Karlovac, Čakovec	3	Negativno		
	srednje priobalje	Benkovac	1	<i>M. mitochondrii</i> 1, <i>B. canis</i> 1	
	Mačka	kontinentalna RH	Hrvatska Kostajnica	1	<i>M. mitochondrii</i> 1
	Pas	kontinentalna RH	Križevci, Ogulin, Gvozd, Zmajevac	4	<i>M. mitochondrii</i> 1
			Zagreb	1	<i>M. mitochondrii</i> 1, <i>Babesia</i> sp. „Badger type A”
			Zagreb	1	<i>Babesia</i> sp. „Badger type A”, <i>Wolbachia</i> sp.
			Đakovo	1	<i>H. canis</i> 2
			Zmajevac	1	<i>B. afzelii</i>
			Zmajevac	7	Negativno
	Srnjak	kontinentalna RH	Duga Resa	1	<i>M. mitochondrii</i> 1
	Srna	kontinentalna RH	Medvednica	1	<i>M. mitochondrii</i> 1
			Jastrebarsko	1	Negativno
			Gorski kotar	Klana	1
	Klana	1		<i>R. monacensis</i> , <i>Wolbachia</i> sp.	
	Klana	2		<i>Wolbachia</i> sp.	
	Klana	1		<i>A. phagocytophilum</i>	
	Okoliš	kontinentalna RH	Piškorevci, Poganovci, Spačva	F	<i>M. mitochondrii</i> 1
			Zmajevac	1	<i>M. mitochondrii</i> 1, <i>B. afzelii</i>
			Topoline	1	„ <i>Candidatus</i> Neoehrlichia lotoris“
			Koška, Poganovci	2	<i>B. afzelii</i>
			P. Moslavina	1	<i>B. afzelii</i>
Grabovac			1	<i>B. valaisiana</i>	
Sotin			1	<i>B. microti</i> , <i>B. afzelii</i>	
Klana, Podolje, Draž, V. Kapanica, Podolje, Haljevo, Lovas, Lug, Otok, Kunjevci, Koška			23	Negativno	

Tablica 26. Prikaz molekularno dokazanih DNK patogena u *Ixodes ricinus* 2 do *Ixodes ricinus* 24.

VRSTA KRPELJA	PODRIJETLO	LOKACIJA		BROJ KRPELJA	PATOGENI
		REGIJA	MJESTO		
<i>I. ricinus</i> 2	Jelen obični	kontinentalna RH	Moslavina	1	<i>M. mitochondrii</i> 1, <i>T. ovis</i>
<i>I. ricinus</i> 3	Pas		Dumovec	1	<i>B. vulpes</i> , <i>H. canis</i> 2
	Lisica		Pakrac	1	<i>M. mitochondrii</i> 1, <i>H. canis</i> 2
<i>I. ricinus</i> 4	Lisica		Darugar	1	Negativno
<i>I. ricinus</i> 5	Pas		Zmajevac	1	Negativno
<i>I. ricinus</i> 6	Okoliš		P. Moslavina	1	<i>H. canis</i> 2
			Lovas	1	<i>M. mitochondrii</i> 1, <i>B. valaisiana</i>
			Poganovci	1	Negativno
<i>I. ricinus</i> 7	Okoliš		Piškorevci, P. Moslavina, Haljevo	4	Negativno
			Podolje	1	<i>B. afzelii</i>
<i>I. ricinus</i> 8	Okoliš		Velika Kapanica	1	<i>B. afzelii</i>
<i>I. ricinus</i> 9	Okoliš		Piškorevci	1	Negativno
<i>I. ricinus</i> 10	Okoliš		Velika Kapanica	1	<i>M. mitochondrii</i> 1
<i>I. ricinus</i> 11	Pas		Zmajevac	1	Negativno
<i>I. ricinus</i> 12	Pas		Zmajevac	1	Negativno
<i>I. ricinus</i> 13	Okoliš		Erdut	1	<i>M. mitochondrii</i> 1
<i>I. ricinus</i> 14	Okoliš		Erdut	1	Hepatozoon „Badger type”
<i>I. ricinus</i> 15	Okoliš		Erdut	1	<i>Wolbachia</i> sp. <i>B. valaisiana</i>
<i>I. ricinus</i> 16	Konj		Zmajevac	1	<i>H. canis</i> 1
<i>I. ricinus</i> 17	Okoliš		Vukovar	1	Negativno
<i>I. ricinus</i> 18	Okoliš		Topoline	1	<i>B. afzelii</i>
<i>I. ricinus</i> 19	Okoliš		Topoline	1	<i>B. afzelii</i>
<i>I. ricinus</i> 20	Okoliš		Lug	1	Negativno
<i>I. ricinus</i> 21	Okoliš		Lug	1	<i>R. monacensis</i>
<i>I. ricinus</i> 22	Okoliš	Spačva	1	Negativno	
<i>I. ricinus</i> 23	Okoliš	Otok	1	Negativno	
<i>I. ricinus</i> 24	Okoliš	Sljeme	1	Negativno	

Tablica 27. Prikaz molekularno dokazanih DNK patogena u *Dermacentor reticulatus*.

KRPELJ	PODRIJETLO	LOKACIJA		BROJ KRPELJA	PATOGENI
		REGIJA	MJESTO		
<i>D. reticulatus</i>	Čagalj	kontinentalna RH	Jasenovac	1	<i>R. raoultii</i>
			Batina	1	<i>R. raoultii</i>
			Sveta Jana	1	<i>Francisella</i> -slična, <i>T. orientalis</i>
			Kloštar Ivanić	1	<i>R. raoultii</i>
	Divlja svinja	kontinentalna RH	Karlovac	1	<i>Francisella</i> -slična
			Hrvatska Dubica	1	<i>R. raoultii</i> , <i>T. orientalis</i> , <i>Francisella</i> -slična
	Jelen lopatar	kontinentalna RH	Garjevica	1	<i>T. orientalis</i>
	Jelen obični		Garjevica	1	<i>R. raoultii</i>
	Konj	kontinentalna RH	Dugo Selo	1	<i>Francisella</i> -slična
			Lekenik	1	<i>R. raoultii</i> , <i>Francisella</i> -slična
			Gunja	1	<i>R. raoultii</i> , <i>T. equi</i>
	Lisica	kontinentalna RH	Daruvar	1	<i>R. raoultii</i>
			Dugo Selo	1	<i>R. raoultii</i> , <i>B. canis</i> 1
			Jastrebarsko	1	<i>R. raoultii</i>
			Našice	1	<i>R. raoultii</i>
			Nova Gradiška	1	<i>R. raoultii</i> , <i>Francisella</i> -slična
			Petrinja, Velika Gorica	2	<i>R. raoultii</i> , <i>T. ovis</i>
			Podsljeme, Sisak, Vrbovec	3	<i>H. canis</i> 1
			Samobor	1	<i>B. canis</i> 2
			Sunja	1	<i>R. raoultii</i>
			Vojnić	1	<i>Babesia</i> sp. „Badger type A”
			Žumberak	1	<i>T. orientalis</i>
			Đurđevac, Jastrebarsko, Pakrac	3	Negativno
	Gorski kotar srednje priobalje (Lika)	Gorski kotar	Ogulin	1	<i>T. ovis</i>
			Otočac	1	<i>R. slovacca</i> , <i>T. orientalis</i>
	Medvjed	Gorski kotar	Gorski kotar	1	<i>R. raoultii</i>
			Gorski kotar	1	<i>B. canis</i> 1
		srednje priobalje (Lika)	Gospić	1	Negativno
	Muflon	sjeverno priobalje	Senj	1	<i>R. slovacca</i>
		kontinentalna RH	Garjevica	1	Negativno
	Pas	kontinentalna RH	Zmajevac	1	<i>H. canis</i> 1
			Zmajevac, Gvozd	2	<i>R. raoultii</i>
			Sesvete	1	<i>T. orientalis</i>
			Zagreb	1	<i>B. canis</i> 1
			Dumovec	1	<i>R. raoultii</i>
			Grubišno Polje, Zmajevac, Zagreb, Dumovec	4	Negativno
	Okoliš	kontinentalna RH	Lug	1	<i>R. raoultii</i>
			Tompojevci	1	<i>Francisella</i> -slična, <i>Theileria orientalis</i>
			Koška, Spačva	3	Negativno
	Srna obična	kontinentalna RH	Garjevica	1	Negativno
Zec	srednje priobalje	Vir	1	<i>R. raoultii</i>	
		Vir	1	Negativno	

Tablica 28. Prikaz molekularno dokazanih DNKpatogena u *Dermacentor marginatus*.

KRPELJ	PODRIJETLO	LOKACIJA		BROJ KRPELJA	PATOGENI
		REGIJA	MJESTO		
<i>D. marginatus</i>	Krava	kontinentalna RH	Grubišno Polje	1	<i>R. slovaca</i>
	Divlja svinja		Hvar	2	Negativno
	Čovjek		Zagreb	1	<i>R. slovaca, T. orientalis</i>
			Moslavina	1	<i>Francisella-slična, B. canis 2</i>
	Konj		Zagorje	1	<i>T. equi</i>
	Ovca		Sunja	1	<i>R. slovaca, A. capra, T. orientalis</i>
	Pas		Grubišno Polje	1	<i>B. canis 1</i>
			Zmajevac	1	Negativno
	Okoliš		Lekenik	1	<i>R. raoultii, T. capreoli</i>
			Darda	1	Negativno

Tablica 29. Prikaz molekularno dokazanih DNK patogena u *Rhipicephalus bursa*.

VRSTA KRPELJA	PODRIJETLO	LOKACIJA		BROJ KRPELJA	PATOGENI
		REGIJA	MJESTO		
<i>R. bursa</i>	Koza	srednje priobalje	Obrovac Sinjski	1	<i>A. capra</i>
			Balaić	1	<i>A. capra, B. canis 1</i>
			Balaić	1	<i>A. capra, B. ovis</i>
			Medvida	1	<i>E. canis, B. ovis</i>
			Obrovac Sinjski, Telašćica, Medvida,	8	Negativno
			sjeverno priobalje	Novi Vinodolski	1
	Krava	južno priobalje	Bosanka	1	<i>M. mitochondrii 2</i>
			Bosanka	1	<i>B. canis1</i>
			Bosanka	1	<i>Babesia</i> sp. „Badger type A”
			Bosanka	1	Negativno
		srednje priobalje	Obrovac Sinjski	1	<i>Ehrlichia</i> sp.
			Konjsko	1	<i>T. ovis</i>
	Lisica	srednje priobalje	Konjsko	21	Negativno
			Benkovac	1	<i>A. capra, B. ovis</i>
		kontinentalna RH	Daruvar, Zagreb,	2	Negativno
	Magarac	južno priobalje	Bosanka	1	Negativno
	Ovca	srednje priobalje	Pag	1	<i>A. capra, T. ovis</i>
			Pag	1	<i>T. ovis</i>
			Pag	1	<i>E. canis, B. ovis</i>
			Vukšić	1	<i>A. capra</i>
			Broćanac, Pag, Benkovac	4	Negativno
južno priobalje		Gruda	1	<i>B. ovis</i>	
Okoliš		južno priobalje	Bosanka	1	Negativno
	Bosanka		1	Negativno	

Tablica 30. Prikaz molekularno dokazanih DNK patogena u *Rhipicephalus sanguineus* s.l.

VRSTA KRPELJA	PODRIJETLO	LOKACIJA		BROJ KRPELJA	PATOGENI
		REGIJA	MJESTO		
<i>R. turanicus</i> 1	Ovca	srednje priobalje	Pag	1	<i>T. ovis</i>
			Pag, Benkovac	3	Negativno
<i>R. turanicus</i> 2	Koza	južno priobalje	Gruda	1	<i>R. massiliae</i> , <i>A. capra</i>
			Kuna	2	<i>R. massiliae</i>
			Kuna	1	<i>A. capra</i>
			Kuna, Gruda	12	Negativno
	Krava	južno priobalje	Bosanka	1	<i>R. massiliae</i>
			Bosanka, Glušci	3	Negativno
	Magarac	južno priobalje	Bosanka, Gruda, Kuna	3	Negativno
	Ovce	južno priobalje	Kuna	1	<i>A. capra</i>
			Kuna	1	<i>A. capra</i> , <i>T. ovis</i>
			Gruda, Glušci, Kuna	14	Negativno
	Pas	južno priobalje	Kuna, Mljet	2	Negativno
Okoliš	južno priobalje	Bosanka, Gruda, Kuna	2	Negativno	
<i>R. turanicus</i> 3	Ovca	južno priobalje	Bosanka, Kuna	4	<i>R. massiliae</i>
			Kuna	4	<i>A. capra</i>
			Kuna	1	<i>A. phagocytophilum</i>
			Kuna	1	<i>R. massiliae</i> , <i>T. ovis</i>
			Glušci, Kuna	3	<i>A. capra</i> , <i>T. ovis</i>
			Kuna	2	<i>T. ovis</i>
		srednje priobalje	Bosanka, Glušci, Kuna,	23	Negativno
			Pag	2	<i>T. ovis</i>
			Pag	1	<i>A. capra</i>
			Pag, Benkovac	9	Negativno
	Koza	južno priobalje	Kuna	2	<i>R. massiliae</i>
			Gruda	1	<i>M. mitochondrii</i> 2
			Gruda, Kuna	5	<i>A. capra</i>
			Kuna	1	<i>A. capra</i> , <i>Babesia</i> cf. <i>crassa</i>
			Kuna	1	<i>B. canis</i> 1
			Kuna	1	<i>Babesia</i> sp. „tavsan“
		Gruda, Glušci, Kuna	17	Negativno	
	sjeverno priobalje	Medvida	1	<i>A. capra</i>	
		Telašćica	1	Negativno	
	Krava	južno priobalje	Gruda	1	<i>R. aeschlimannii</i>
			Bosanka, Gruda	5	Negativno
	Lisica	kontinentalna RH	Zagreb	1	Negativno
	Mačka	srednje priobalje	Telašćica	2	<i>H. felis</i>
			Telašćica	1	Negativno
	Magarac	južno priobalje	Gruda	1	<i>R. massiliae</i>
			Bosanka, Kuna	3	Negativno
	Pas	južno priobalje	Metković	1	Negativno
		srednje priobalje	Hvar	2	Negativno
	Okoliš	južno priobalje	Kuna	1	<i>F. tularensis</i>
Kuna			1	Negativno	
srednje priobalje		Telašćica	1	<i>M. mitochondrii</i> 1	
		Telašćica	2	Negativno	
<i>R. sanguineus</i> s.s.	Pas	srednje priobalje	Medvida	1	<i>H. canis</i> 1
			Zadar, Obrovac Sinjski, Hvar	2	Negativno
			Rovinj, Premantura	5	Negativno
		kontinentalna RH	Zagreb, Vinkovci	7	Negativno

Tablica 31. Prikaz molekularno dokazanih DNK patogena u *Hyalomma marginatum*.

VRSTA KRPELJA	PODRIJETLO	LOKACIJA		BROJ KRPELJA	PATOGENI
		REGIJA	MJESTO		
<i>Hy. marginatum</i>	Konj	sjeverno priobalje	Istra	1	<i>R. aeschlimannii</i>
			Istra	1	Negativno
	Koza	srednje priobalje	Obrovac Sinjski	1	<i>M. mitochondrii</i> 4
	Magarac	južno priobalje	Bosanka	1	<i>R. aeschlimannii</i>
	Pas	srednje priobalje	Hvar	1	<i>Theileria ovis</i>
			Sinj	1	<i>R. monacensis</i> , <i>M. mitochondrii</i> 1
	Krava	srednje priobalje	Bosanka	2	<i>M. mitochondrii</i> 4
			Bosanka	2	<i>R. aeschlimannii</i> , <i>M. mitochondrii</i> 3
			Bosanka	1	<i>R. aeschlimannii</i> , <i>M. mitochondrii</i> 1
			Bosanka	1	<i>M. mitochondrii</i> 3
			Glušci	3	<i>R. aeschlimanii</i>
			Bosanka, Glušci	7	Negativno
		južno priobalje	Medviđa	2	<i>R. aeschlimanii</i> , <i>M. mitochondrii</i> 4
			Medviđa	2	<i>M. mitochondrii</i> 4
			Medviđa	1	<i>M. mitochondrii</i> 2, <i>Babesia</i> sp. „Badger type A”
			Obrovac Sinjski	2	<i>R. aeschlimanii</i>
	Solin	2	<i>M. mitochondrii</i> 2		
	Zadar	1	<i>R. aeschlimanii</i> , <i>M. mitochondrii</i> 4		
Dugobabe	4	Negativno			

Tablica 32. Prikaz molekularno dokazanih DNK patogena u krpeljima iz roda *Haemaphysalis*.

VRSTA KRPELJA	PODRIJETLO	LOKACIJA		BROJ KRPELJA	PATOGENI
		REGIJA	MJESTO		
<i>H. concinna</i>	Okoliš	kontinentalna RH	Velika Kapanica	1	Negativno
	Lisica		Požega	1	Negativno
<i>H. inermis</i>	Konj	srednje priobalje	Zadar	1	Negativno
	Lisica	kontinentalna RH	Jastrebarsko	1	<i>A. capra</i>
	Okoliš	kontinentalna RH	Vinkovci	1	<i>M. mitochondrii</i> 1
			Grabovac, Podolje, Haljevo	3	Negativno
<i>H. parva</i>	Okoliš	kontinentalna RH	Grabovac	1	<i>Babesia</i> cf. <i>crassa</i>
			Lug	1	<i>R. raoultii</i>
			Zlatna Greda, Podolje, Haljevo, Kozarac, Lug	6	Negativno



## **6. RASPRAVA**

U Hrvatskoj je do danas provedenim morfološkim istraživanjem krpelja opisana 21 vrsta krpelja (KRČMAR, 2012.). Za razliku od morfoloških istraživanja sekvenciranjem *16S rDNA* i/ili *COXI* gena do sada su potvrđene *I. ricinus*, *I. canisuga*, *I. hexagonus*, *D. reticulatus*, *D. marginatus*, *Rhipicephalus bursa*, *R. sanguineus* s.s., *R. turanicus*, *Haemaphysalis sulcata*, *Hyalomma marginatum* i *Hy. scupense* (PUNDA-POLIĆ i sur., 2002.; DUH i sur., 2003., 2006.; BECK i sur., 2010b., 2016b.; HORNOK i sur., 2017b., 2017a.) sa analiziranim malim broj jedinki krpelja. Bez obzira na morfološke osobitosti pojedinih vrsta krpelja potrebno je specifično znanje i iskustvo što čini determinaciju krpelja do razine vrste vrlo zahtjevnom i subjektivnom. Složenost determinacije je pokazana i istraživanjem specijaliziranih laboratorija u kojima je uspješno determinirano svega 46% pripadnika roda *Rhipicephalus*, 64% *Hyalomma*, 81% *Haemaphysalis*, 86% *Ixodes* i 93% *Dermacentor* (ESTRADA-PEÑA i sur., 2017b.).

Kako bi se pridonijelo poznavanju vrsta krpelja i istražila njihova genka raznolikost sekvenciran je odsječak *16S rDNA* 509 krpelja što predstavlja jedno od obimnijih istraživanja krpelja prikupljenih sa ljudi, domaćih i divljih životinja, pasa, mačaka, te okoliša u Europi (Tablice 10. do 15.). Nadalje, ovim istraživanjem je po prvi puta istražena prisutnost DNK bakterija i parazita pojedinačnih krpelja sa ciljem otkrivanja mikroorganizama prisutnih u RH. Ovakav pristup istraživanja je korišten jer se pokazao boljim od istraživanja mikroorganizama u životinja (DA ROLD i sur., 2018.; CHISU i sur., 2020.).

Sekvenciranje *16S rDNA* i usporedba s BLAST tražilicom predstavlja najpogodniju metodu za dokazivanje vrsta krpelja (LV i sur., 2014a.) i istovremeno analiziran gen je dovoljno heterogen što omogućava i razlikovanje potencijalnih genotipova unutar vrste. Sadašnjim istraživanjem su potvrđene do sada genski dokazane vrste *D. reticulatus*, *D. marginatus*, *I. ricinus*, *I. hexagonus*, *I. canisuga*, *R. bursa*, *R. turanicus* sensu lato, *R. sanguineus* sensu stricto, *Hy. marginatum* (PUNDA-POLIĆ i sur., 2002.; DUH i sur., 2003.; DOBEC i sur., 2009.; BECK i sur., 2016b.; HORNOK i sur., 2017a.; HORNOK i sur., 2017b.; CHITIMIA-DOBLER i sur., 2019.) i istovremeno po prvi puta molekularno dokazane vrste *I. gibbosus*, *I. kaiseri*, *I. ventalloi*, *H. concinna*, *H. inermis* i *H. parva* (Tablice 23. do 31.). Za naglasiti je da nalaz *I. kaiseri* i *I. ventalloi* istovremeno predstavlja i prvi nalaz u Hrvatskoj, a ne samo genski dokaz vrsta, čime je povišen ukupan broj vrsta u Hrvatskoj na 23.

*Dermacentor reticulatus* je krpelj koji se najbrže širi Europom (RUBEL i sur., 2016.; FÖLDVARI i sur., 2016.), a njegove južne granice još uvijek nisu precizno određene. Prema trenutnim spoznajama južna granica predstavlja područje sjeverne Italije (Lombardija) (OLIVIERI i sur., 2017a., 2017b.). Sadašnjim istraživanjem je bio prisutan u svim istraživanim područjima osim južnog priobalja i Istre, a posebice je zanimljiv nalaz krpelja na zecu s otoka Vira i muflonu iz okolice Senja (Slika 31., Tablica 27.). Ovime je dokazan trend širenja u Hrvatskoj čemu u prilog idu i podaci objavljeni u pregledom radu iz 2012. godine (KRČMAR i sur., 2012.) gdje vrsta nije dokazana južnije od Siska (BORČIĆ i sur., 1978.). Nadalje u Istočnoj Slavoniji je potvrđen 2019. godine (KRČMAR i sur., 2019.), a nešto ranije sa vučice iz Like (BECK i sur., 2017a.). Sve sekvence *16S rDNA* su bile u potpunosti jednake i dijelile su sličnost od 99 do 100% s drugim sekvencama *D. reticulatus* iz Europe.

Bez obzira na dokazanu heterogenost populacija *D. reticulatus* analizom mikrosatelita, odnosno podjelu na istočno europsku i zapadno europsku (PAULAUSKAS i sur., 2018.), rezultati sadašnjeg istraživanja ukazuju na izostanak genske različitosti *D. reticulatus* u Hrvatskoj. Uzorci su prikupljeni s više različitih lokacija, te se s velikom sigurnošću može potvrditi izostanak heterogenosti unutar hrvatske populacije *D. reticulatus* sekvenciranjem mitohondrijske *16S rDNA*, koja je dokazan genski biljeg za ovakva istraživanja (LV i sur., 2014a., 2014b.).

U ranijem istraživanju *ITS2* regije na 13 krpelja *D. reticulatus* iz sjeverno zapadne Hrvatske (DOBEC i sur., 2009.) također je izostala genska različitost, ali su krpelji analizirani s jedne mikro lokacije, što je nedovoljno za donošenje zaključaka o populacijama u RH. Homogenost *D. reticulatus* su potvrdili KLOCH i sur., (2017.) istraživanjem u Poljskoj, dok je niska heterogenost sekvenciranjem *12S rDNA* dokazna u okolici Černobila u istraživanju koje su proveli MOVILA i sur., (2013.). Osim klimatskih promjena i promjena u okolišu (FÖLDVARI i sur., 2016.) razlog uspješnog širenja predstavlja i neslektivnost krpelja prema nositeljima, koji su uključivali divlje i domaće papkare, konja te kanide što je jasno prikazano u Tablici 26.

Drugi pripadnik vrste, *D. marginatus* je dokazan južnije, na otoku Hvaru sa divlje svinje i cijeloj kontinentalnoj Hrvatskoj (Slika 31., Tablica 28.). Izostanak sa područja sjevernog priobalja i Istre ne znači da tamo nije prisutan, jer je prema preglednom radu (KRČMAR, 2012.) najviše opisivani na području srednjeg priobalja, ali u ovo istraživanje nisu bili uključeni uzorci iz navedenih područja. Sve sekvence su bile jednake, a prikupljen je s

različitih vrsta životinja, osim dva primjerka prikupljena sa čovjeka iz Zagreba i Moslavine (Tablica 28.).

Sistematizacija vrsta roda *Rhipicephalus* i danas nije u potpunosti razjašnjena. Tako je 2001. godine (BEATI i KEIRANS, 2001.) vrsta *Boophilus anulatus* reklasificirana u rod *Rhipicephalus* (*R. anulatus*) nakon provedenih molekularnih istraživanja, a *R. sanguineus* više ne predstavlja jedinstvenu vrstu (BURLINI i sur., 2010.; MORAES-FILHO i sur., 2011.; 2018.; DANTAS-TORRES i sur., 2013., 2017.; COIMBRA-DORES i sur., 2016.; SANTOS-SILVA i sur., 2017.; HORNOK i sur., 2017a.; BAKKES i sur., 2020.). Jedan od osnovnih ciljeva ovog istraživanja je bio razjasniti prisutnost vrsta/linija unutar skupine *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato. Danas ova skupina uključuje 17 „vrsta“ koje su morfološki vrlo slične i jedino se molekularnim pristupom s većom sigurnošću može razlučiti o kojim se vrstama radi (DANTAS-TORRES i sur., 2013.; NAVA i sur., 2018.).

Skupina od 149 sekvenci je odgovorala vrsti *R. turanicus*, a 15 sekvenci vrsti *R. sanguineus* s.s., odnosno grupi *Rhipicephalus* sp. Ila prema istraživanju koje su proveli HORNOK i sur., (2017a.). Zanimljivo je da su dokazane razlike unutar sekvenci *R. turanicus* iznosile svega tri nukleotide stoga su podijeljene u tri grupe (*R. turanicus* 1, *R. turanicus* 2 i *R. turanicus* 3) bez obzira što su unutar *R. turanicus* 2 i *R. turanicus* 3 postojale dodatne pojedinačne mutacije. Premda se radi o konzerviranom genu nije moguće razlučiti radi li se o različitim „linijama“ krpelja. Dominirao je izolat *R. turanicus* 3 koji je osim na području središnjeg i južnog priobalja, jedini bio dokazan na području Zagreba (Slika 33.). Na ostalim područjima priobalja bile su izmješane linije *R. turanicus* 2 i *R. turanicus* 3 (južno priobalje), odnosno *R. turanicus* 3 i *R. turanicus* 1 (srednje priobalje) (Slika 33.).

Nalaz *R. turanicus* s lisice iz Zagreba, predstavlja prvi opis na području kontinentalne Hrvatske. U dosadašnjim istraživanjima je opisivan isključivo na području središnjeg i južnog priobalja (Tablica 5., DUH i sur., 2003.; KRČMAR, 2012.; BECK i sur., 2016b.).

Značajan je nalaz *R. sanguineus* sensu stricto (s. s.) čije su sekvence razlikovale 6% od sekvenci *R. turanicus* što jasno ukazuje da u RH postoje dvije vrste unutar *R. sanguineus* kompleksa. Tome u prilog ide istraživanje koje su proveli HORNOK i sur., 2017. godine. Analizom *16S rRNA* i *COXI* gena dokazane su dvije genetske linije *Rhipicephalus* sp. Ila i *Rhipicephalus* sp. Iib. Unutar skupine *Rhipicephalus* sp. Ila dokazane razlike između sekvenci su iznosile sedam nukleotida, te su prema tome svrstane u 3 podskupine koje su

dokazane području Pule; potom Šibenika, Zadra i Zagreba; te Pule, Rovinja i Zagreba (HORNOK i sur., 2017a.).

Genskim pristupom su potvrđene ranije spoznaje (HORNOK i sur., 2017a), no po prvi puta je dokazano postojanje genske raznolikosti unutar *R. turanicus* koje su podijeljene u tri skupine. Značaj dodatnih razlika u pojedinačnim baznim parovima unutar *R. turanicus* 2 i *R. turanicus* 3 je potrebno dodatno istražiti sekvenciranjem mitohondrijske DNK.

Morfološki različita vrsta *R. bursa* je potvrđena sekvenciranjem 57 jedinki i bila je prisutna na cijelom priobalju, no zanimljiv je nalaz s lisica u Zagrebu i Daruvaru, te s ovce u Slunju (Slika 65., Tablica 28.). Sve sekvence su bile identične i dijelile sličnost od 99% sa drugim sekvencama iz Europe. Nalaz izvan priobalja predstavlja prvi opis ove vrste u kontinentalnoj Hrvatskoj i dokaz širenja od juga prema sjeveru, iako se *R. bursa* smatra tipičnom mediteranskom vrstom (VATANSEVER i sur., 2017.).

Svi haplotipovi *R. turanicus* i *R. bursa* su parazitirali na različitim vrstama životinja poput koza, ovaca, goveda, pasa, mačaka i lisica čime je jasno vidljivo da nisu pokazivali specifičnost prema pojedinim skupinama nositelja za razliku od *R. sanguineus* s.s. koji je dokazan samo u pasa (Tablice 29. i 30.). U prilog pretpostavci da postoji vrsna specifičnost ukazuje i podatak da su na istim lokacijama dokazani *R. turanicus* 1, *R. turanicus* 2, *R. turanicus* 3 i *R. sanguineus* s.s., ali je *R. sanguineus* bio prisutan samo na psima.

Najraznovrsniji rod u ovom istraživanju je rod *Ixodes*, unutar kojeg su potvrđene vrste *I. ricinus*, *I. canisuga*, *I. hexagonus*, a po prvi puta sekvenciranjem dokazane *I. ventalloi*, *I. gibbosus* i *I. kaiseri* (Tablice 24., 25., i 26.). Brojnost vrsta i nije iznenađujuća jer je dosadašnjim istraživanjima morfološki opisano osam vrsta u Hrvatskoj (Tablica 2.).

Podrod *Pholeoixodes* predstavlja skupinu krpelja koji se razlikuju od ostalih vrsta roda *Ixodes* specifičnim morfološkim obilježjima koja uključuju kratak kapitulum i zdepaste noge. Na koksama prednjih nogu imaju kratke šiljke koji u nekih vrsta mogu nedostajati (ESTRADA-PEŃA i sur., 2017a). Od pet poznatih vrsta u Europi, ovim istraživanjem su dokazane *Ixodes canisuga*, *I. hexagonus* i *I. kaiseri*. dok vrste *I. crenulatus* i *I. rugicollis* nisu molekularno dokazane. Uz vrste *I. ricinus*, *I. ventalloi* i *I. gibbosus* ukupno je dokazano šest vrsta što ovaj rod čini najraznovrsnijim.

Vrste podroda *Pholeoixodes* obitavaju u jazbinama i rupama stoga ih je vrlo teško prikupiti metodama skupljanja „flaging“ i „draging“ tako da u većini istraživanja jednostavno nisu dokazani zbog metodološkog pristupa (ESTRADA-PEŃA i sur., 2017a.; HORNOK i

sur., 2017b.; KARBOWIAK i sur., 2020.). Da bi se dokazala stvarna raznolikost vrsta krpelja potrebno ih je prikupljati i sa različitih vrsta divljih životinja što je potvrđeno dobivenim rezultatima. Kao i drugim istraživanjima navedene tri vrste su prikupljene s lisica (DA ROLD i sur., 2018.; NAJM i sur., 2014a, 2014b.).

Dokaz *I. kaiseri* s lisice na području Preloga (Slika 28., Tablica 24.) predstavlja prvi nalaz u Hrvatskoj, a ujedno i jedan od rjeđih na području Europe, gdje je do danas dokazan s lisica i pasa u Mađarskoj, Srbiji, Rumunjskoj i Njemačkoj, te s jazavca na Malti (HORNOK i sur., 2017b., 2020a., 2020b.). Jedno od objašnjenja prvog nalaza ove vrste krpelja predstavlja i morfološka sličnost s vrstom *I. canisuga* koji je dokazan na istom području također s lisica, a koji je i ranije opisan. Dodatan problem identifikaciji i vjerojatnim previdima ove vrste predstavljala i postojanje različitih morfotipova unutar vrste *I. kaiseri* (HORNOK i sur., 2017b.).

*Ixodes canisuga* je ovim istraživanjem potvrđen na području kontinentalne Hrvatske za razliku od morfološki gotovo identične vrste *I. crenulatus* (ESTRADA- PEÑA i sur., 2017a., 2017b.). Učestaliji je u nizinskim područjima (SOBRINO i sur., 2012.), što je dokazano i ovim istraživanjem (Slika 27., Tablica 24.). Sekvence su bile u potpunosti identične sa sekvencama dokazanim na području Europe uključujući i one iz susjednih zemalja kao što su Srbija, BiH i Mađarska (HORNOK i sur., 2017b.). Poput drugih vrsta iz podroda *Pholeoixodes* svi krpelji su bili prikupljeni sa lisica, osim jednog krpelja iz okoliša na području Vukovara.

Posljednja vrsta podroda *Pholeoixodes* *Ixodes hexagonus* bila je dokazana u svim djelovima RH osim Istre. Ova vrsta je jedna od najrasprostranjenijih u Europi (ESTRADA- PEÑA i sur., 2017b.) stoga nalaz u cijeloj kontinentalnoj Hrvatskoj i na Mljetu predstavlja potvrdu prilagođenosti krpelja *I. hexagonus* na različite uvjete okoliša. Za razliku od genske jedinstvenosti vrste *I. canisuga* unutar vrste *I. hexagonus* dokazane su tri različite skupine sekvenci (*I. hexagonus* 1, *I. hexagonus* 2 i *I. hexagonus* 3) koje su se razlikovale u jedan do dva nukleotida i dijelile su 99% sličnosti. Potvrđeno je postojanje genetske raznolikosti unutar *I. hexagonus* koju su ranije opisali HORNOK i sur. (2017a.).

Dominirao je izolat *I. hexagonus* 1 koji je i jedini dokazan na području južnog priobalja (otok Mljet) (Slika 29.). Na području središnjeg priobalja njegova je proširenost bila izmiješana s *I. hexagonus* 2, a na području kontinentalne Hrvatske s *I. hexagonus* 2 i *I. hexagonus* 3 (Slika 29.). Sekvence *I. hexagonus* 1 i *I. hexagonus* 3 su bile identične s drugim sekvencama iz Europe, dok je *I. hexagonus* 2 sa istim sekvencama dijelio nešto nižu sličnost od 99,7% (Tablica 17.). Izolati *I. hexagonus* 2 i *I. hexagonus* 3 su dokazani isključivo na liscama, a *I.*

*hexagonus* 1 na lisicama, psima i mački. Ovim istraživanjem je *I. hexagonus* prvi puta dokazan na području središnjeg i južnog priobalja (Tablica 24.).

Sadašnjim istraživanjem je potvrđena prisutnost vrste *Ixodes gibbosus* u Hrvatskoj (Slika 28., Tablica 24.). Do sada je opisan samo na otoku Braču (TOVORNIK i ČERNY, 1972.) stoga nalaz na ovcima sa otoka Cresa, Raba i Paga ukazuje na njegovu moguću prisutnost kako na drugim otocima tako i u drugim područjima priobalja. U prilog ovoj pretpostavci ukazuje i podatak da se radi o „mediteranskoj“ vrsti krpelja koja je u Europi dokazana na području istočnog Mediterana (Grčka, Turska; PAVLIDOU i sur., 2008.; CHALIGIANNIS i sur., 2016.) i južne Italije (RINALDI i sur., 2004.). Filogenetski je srodan je vrsti *I. ricinus* no proširen je samo u toplijim i sušim područjima Mediterana. Također su morfološki vrlo slični i teško ih je razlikovati tako je dosadašnjim istraživanjima krpelja na istim područjima priobalja vjerojatno bio pogrešno morfološki determiniran. Zanimljivo je da su sekvence dijelile 99% sličnosti sa sekvencama iz Turske i Grčke.

Jedan od zanimljivih nalaza predstavlja genska potvrda vrste *I. ventalloi* sa zečeva s otoka Vira (Slika 28., Tablica 24.) i ujedno je prvi dokaz u Hrvatskoj ali i na području na jugoistočne Europe (PETNEY i sur., 2012.; ESTRADA-PEÑA i sur., 2017a., 2017b.). Sekvence su dijelile 96-97% sličnosti sa sekvencama iz Španjolske, Portugala i Italije. Za razliku od ostalih sekvenci pripadnika roda *Ixodes* dobivenih sadašnjim istraživanjem kojima su potvrđene vrste sa s najmanje 99% sličnosti, različitost od 3 do 4% s dostupnim u bazi gena *GenBank*<sup>®</sup> je najveća do sada. Ovako značajnu razliku haplotipova unutar roda *I. ventalloi* su primjetili i LATROFA i sur., (2017.) bez obzira što su i mužjaci i ženka krpelja bili morfološki jednaki.

Sekvenciranjem 109 krpelja *I. ricinus* dokazane su 24 različite skupine sekvenci (haplotipovi) koje su dijelile međusobnu sličnost od 98% i razlikovale su se svega u jednom do dva nukleotida (Tablica 18.). Veliki broj haplotipova s niskom genskom heterogenosti dokazan je sekvenciranjem više genskih lokusa 60 krpelja *I. ricinus* iz različitih dijelova Europe (NOUREDDINE i sur., 2011.). Jasno je vidljivo da genska raznolikost ne postoji samo na razini Europe već i na razini mikrolokacije kako je dokazano u ovom istraživanju na području Slavonije. Može se pretpostaviti da je ovakva raspodjela posljedica brzih mutacija unutar populacije *I. ricinus* koje se zadržavaju (NOUREDDINE i sur., 2011.) ali i različitih nositelja. Zemljopisno gledano najveći broj haplotipova dokazan je u Slavoniji gdje su krpelji prikupljeni iz okoliša dok je u ostalim dijelovima Hrvatske dominirao haplotip *I. ricinus* 1.

Genskim pristupom je po prvi puta dokazano postojanje genske raznolikosti unutar populacije *I. ricinus* u Hrvatskoj. Dominirao je izolat *I. ricinus* 1 koji je jedini osim u kontinentalnoj Hrvatskoj, dokazan na području Gorskog Kotara i srednjeg priobalja (Slika 30.). Sekvence izolata *I. ricinus* 1, *I. ricinus* 7, *I. ricinus* 15, *I. ricinus* 16 i *I. ricinus* 20 su bile u potpunosti jednake se drugim sekvencama na području Europe, dok su sekvence preostalih 19 izolata dijelile sličnost od 98 do 99% (Tablica 18.). Izolati *I. ricinus* su većinom bili prikupljeni iz okoliša, ali i kanida i divljih preživača, osim jednog *I. ricinus* 1 s čovjeka iz Krapine (Tablice 25. i 26.).

*Hyalomma marginatum* je jedina vrsta krpelja iz roda *Hyalomma* genski dokazana ovim istraživanjem. Sve sekvence su bile u potpunosti identične međusobno ali i s ostalim sekvencama iz Europe, no istovremeno je dijelila i više od 99,7% sličnosti sa sekvencama *16S rDNA* vrsta *Hy. rufipes*, *Hy. turanicum*, ali i *Hy. marginatum*. Ovi rezultati potvrđuju nedovoljno poznavanje sistematizacije *Hyalomma* posebice kompleksa *Hy. marginatum* koje su se ranije smatrale podvrstama od 2008. godine i zasebnim vrstama (APANASHEVICH i HORAK, 2008.). Filogentsku blisku srodnost analizom više gena su dokazali ROTH i sur., (2019.). Dokazan je na gotovo čitavom području priobalja, uključujući i Istru (Tablica 31., Slika 34.), čime su potvrđene prijašnje spoznaje o proširenosti u Hrvatskoj (Tablica 7.; PUNDA-POLIĆ i sur., 2002.; KRČMAR, 2012.; BECK i sur., 2016b.). Nalaz na kravama, konjima, psima, kozi i magarcu potvrđuje prilagođenost vrste na različite nositelje.

Sam nalaz *Hy. marginatum* je značajan jer ukazuje na potencijalnu opasnost i širenje krimsko-kongoanske hemoragijske groznice u Hrvatskoj, čija je pojava endemska na području Albanije, Kosova, Srbije i Bugarske (MALTEZOU i sur., 2010.).

Sadašnjim istraživanjem je potvrđena proširenost vrsta *H. concinna* i *H. inermis* na području istočne Hrvatske (KRČMAR, 2012., 2019.; KRČMAR i sur., 2014.). Iako prethodno morfološki i molekularno dokazane vrste *H. punctata* i *H. sulcata* nismo potvrdili iste su prisutne u Hrvatskoj jer su prijašnjim istraživanjima dokazivane na području priobalja (Tablica 9.; PUNDA-POLIĆ i sur., 2002.; DUH i sur., 2003., 2008.; KRČMAR, 2012.).

Sekvence *H. concinna* su bile identične sekvencama iz Mađarske, dok su sekvence *H. inermis* i *H. concinna* dijelile 99,5% i 99,3% sa sekvencama iz Australije i Turske. Svi krpelji iz istočne Hrvatske su prikupljeni iz okoliša osim *H. concinna* s lisice iz Požege i *H. inermis* s lisice i konja iz Jastrebarskog i Zadra (Tablica 32., Slika 35.). Ovim istraživanjem je prvi puta



dokazan *H. parva* u kontinentalnoj Hrvatskoj (Baranja) (Slika 35.), jer je u pregledom radu koji je 2012. godine objavio KRČMAR dokazan samo na otoku Braču (TOVORNIK, 1980.).

Krpelji mogu prenijeti brojne mikroorganizme (JONGEAN i UILENBERG, 2004.; DANTAS-TORRES i sur., 2012.) od kojih neki poput proteobakterija mogu biti endosimbionti krpelja i prema dosadašnjim spoznajama ne uzrokuju razvoj bolesti u ljudi i životinja. Istovremeno krpelji mogu prenijeti brojne patogene i uzrokovati razvoj različitih znakova bolesti u prijemljivih nositelja. Do sada u Hrvatskoj nisu provedena sustavna istraživanja endosimbionta i patogena krpelja s molekularnom tipizacijom svakog pojedinačnog krpelja.

Proteobakterije iz rodova *Anaplasma*, *Ehrlichia*, „*Candidatus Neoehrlichia*“, *Wolbachia* sp. i *Midichloria mitochondrii* su bile dokazane u 18% krpelja i predstavljale su najčešću skupinu mikroorganizama. Najznačajni je dokaz DNK anaplazme *Anaplasma capra*, uzročnik anaplazmoze domaćih preživača i erlihije *Ehrlichia canis* po prvi puta u RH. Do sada je *A. capra* dokazana u divljih preživača, ovaca, koza u Aziji (PENG i sur., 2018.; SEO i sur., 2018.) za koje se smatra da su rezervoari dok je u Europi do sada dokazana jedino u jelena iz Francuske (JOUGLIN i sur., 2019.). Ranije dokazanu rezorvoarsku ulogu malih preživača smo potvrdili nalazom DNK u 12,4% krpelja *R. turanicus*, 10,5% *R. bursa* s ovaca i koza iz priobalja te 9,1% krpelja *D. marginatus* s područja Sunje. Posljednji nalaz te nalaz u krpelja *H. inermis* s lisice iz Jastrebarskog dokaz je proširenosti *A. capra* i u priobalju i u kontinentalnom dijelu Hrvatske. DNK *A. capra* u *H. inermis* s lisice ukazuje i na njihovu rezorvoarsku ulogu bez obzira što predstavlja prvi nalaz u ove životinjske vrste. U prilog ovoj pretpostavci ide i filogenska bliskost lisica i pasa te djeljenje istih patogena poput *B. vulpes*, *H. canis*, kao i anaplazmi *A. platys* i *A. phagocytophilum*. Zanimljivo je da u sličnim istraživanjima krpelja s malih preživača (CICCULLI i sur., 2019.) *A. capra* nije dokazana.

Za naglasiti je i zoonotski značaj *A. capra* koja je po prvi puta izdvojena i genski tipizirana iz 6% pacijenata s dokazanim ubodom krpelja i klinčkim znakovima bolesti poput povišene tjelesne temperature, glavobolje, slabosti i povećanih limfnih čvorova (LI i sur., 2015.). Do sada su u Europi dokazane dvije zoonotske anaplazme *A. phagocytophilum* i izolat vrlo sličan *A. ovis* (PAPA i sur., 2020.) stoga ovaj nalaz predstavlja nalaz još jedne zoonotske anaplazme u Europi. Potrebna su dodatna istraživanja kako bi se procijenio značaj u RH i vektorska uloga pojedinih vrsta krpelja. Također je neophodno provesti sekvenciranje više

gena i istražiti filogenetski položaj hrvatskog genotipa *A. capra* jer je analiza djelomičnog odsječka *16S rRNA* od 345 parova baza dovoljna samo za dokaz vrste.

U dosadašnjim istraživanjima protutijela na *E. canis* dokazana su u manje od 0,5% pasa (MRLJAK i sur., 2017.; JURKOVIĆ i sur., 2019a.), a DNK nije dokazana niti u jednog od 1.088 pretraženih krvi pasa (HUBER i sur., 2017.) stoga je nalaz DNK *E. canis* u krpelja *R. bursa* sa ovce i koze iz Dalmacije u potpunosti neočekavan. Bez obzira što ni mali preževači ne predstavljaju rezvoar, niti je *R. bursa* dokazan vektor pristnost DNK *E. canis* u istoj vrsti krpelja s ovaca i jelena, krpelja *D. marginatus* s divlje svinje i muflona, te *Hy. marginatum* sa svinje i ovce već je opisan u istraživanju sa Sardinije (CHISU i sur., 2020.).

Nadalje, do sada je jedino krpelj *R. sanguineus* s. s. potvrđen vektor *E. canis* no rezultati sadašnjeg istraživanja kao i ranijeg idu u prilog činjenici da i druge vrste krpelja osim *R. sanguineus*, poput vrste *Dermacentor variabilis* u SAD-u u koje je pokusno dokazan prijenos (JOHNSON i sur., 1998.) mogu imati značajniju ulogu u prijenosu *E. canis*.

Sadašnjim istraživanjem *R. sanguineus* s.s. je dokazan isključivo na psima, za razliku od krpelja *R. bursa* koji su bili prikupljeni s koza, ovaca, magarca, krava i lisica, ali ne i sa pasa. Na ovaj način moguće je objasniti izostanak *E. canis* u pasa u Hrvatskoj bez obzira na prvi molekularni dokaz.

Osim ranije navedene *E. canis*, u krpelja *R. bursa* iz okolice Sinja s krave i *I. canisuga* s lisice s područja Bjelovara i Pakraca dokazana je *Ehrlichia* sp. čija je sekvenca bila jednaka sekvenci iz krvi psa iz Mađarske i pet krpelja *I. canisuga* sa jazavaca (HORNOK i sur., 2018a.). Bez obzira na dva nukleotida razlike od španjolskog izolata *Ehrlichia* sp. iz jazavaca izgleda da se radi o erlihiji jazavaca (GARCÍA-PÉREZ i sur., 2016.).

Ličinke i nimfe *R. bursa* se u pravilu hrane na malim preživačima ali i na divljim životinjama (ESTRADA- PEÑA i sur., 2017a.) što potvrđuju i nalazi mikroorganizama jazavaca *Ehrlichia* sp. i *Babesia* sp. „Badger type A“ u odraslih krpelja *R. bursa*.

Za razliku od istraživanja provedenim na domaćim i divljim životinjama u kojima su dokazane vrste *A. platys*, *A. bovis*, *A. marginale* (BECK i sur., 2016a.; HUBER i sur., 2017.; JURKOVIĆ i sur., 2020.) jedino je *A. phagocytophilum* dokazana u životinja (BECK i sur., 2016a.; HUBER i sur., 2017.; GOTIĆ i sur., 2017.) i krpelja ovim istraživanjem. Osim u dokazanog vektora krpelja *I. ricinus* iz okoliša dokazana je i u vrsta *I. ventalloi*, *I. hexagonus* i *R. turanicus*.

Do sada je zasigurno dokazana vektorska uloga krpelja *D. reticulatus* u prijenosu *A. marginale* (ŽIVKOVIĆ i sur., 2007.) i vjerojatno *A. phagocytophilum* (BONNET i sur., 2013.; KARBOWIAK i sur., 2014.; SPRONG i sur., 2019.) stoga ulogu u prijenosu anaplazme *A. capra* u *D. marginatus* krpelja s ovce tek treba istražiti.

*Candidatus Neoehrlichia mikurensis* je jedina neoerlichija do sada dokazana u Hrvatskoj u psa s hemolitičkom anemijom (BECK i sur., 2019.) i divljih životinja (SILAGHI i sur., 2016.) nije potvrđena u krpelja sadašnjim istraživanjem. U krpelja *I. ricinus* iz okoliša s područja kontinentalne Hrvatske otkrivena je bliska „vrsta“ *Candidatus Neoehrlichia lotoris* do sada dokazana u Austriji (HODŽIĆ i sur., 2015b.). Osim u kontinentalnoj Hrvatskoj DNK CNL je otkriven i u krpelja *I. hexagonus* s lisice s područja Benkovca što ukazuje na proširenost u i priobalju te da bi obje vrste mogle imati ulogu u prijenosu.

*Babesia canis* i *H. canis* su dobro poznati paraziti kanida dokazani u Hrvatskoj (BECK i sur., 2009.; VOJTA i sur., 2009.; DEŽĐEK i sur., 2010.) no *Babesia* sp. „Badger type” do sada nije bila objektivno dokazana čime predstavlja prvi nalaz RH. Zanimljivo, u istraživanju lisica i krpeljima prenosivih mikroorganizama (DEŽĐEK i sur., 2010.) nije bila dokazana DNK *B. canis* dok je u sadašnjem istraživanju dokazan u krpelja s lisica ali nije dokazana *B. vulpes*. Prisutnost DNK *B. canis* u krpelja *D. reticulatus* i *D. marginatus* s pasa, lisica i okoliša u kontinentalnoj Hrvatskoj je očekivana, no nalaz u krpelja *I. hexagonus* s lisice s Paga kao i nalaz u *R. bursa* i *R. turanicus* s koza i krava iz srednjeg i južnog priobalja jasno ukazuje da je *B. canis* proširenija nego li se smatralo. Do sada je najjužniji nalaz predstavljao dokaz u vuka iz Udbine (BECK i sur., 2017a.), prisutnost i migracije divljih kanida mogu predstavljati objašnjenje za nalaz *B. canis* u priobalju gdje nije dokazan vektor. Vjerojatno su se razvojni stadiji hranili na invadiranim nositeljima i što je kasnije rezultiralo otkrivanjem DNK *B. canis* u „atipičnih“ krpelja na „atipičnoj“ lokaciji.

*Babesia* sp. „Badger type A“ je dokazana po prvi puta u Hrvatskoj. Inače je ova babezija dokazana u pasa, lisica, jazavaca i divljih mačaka (HORNOK i sur., 2018b.; HODŽIĆ i sur., 2018b.; SANTORO i sur., 2019.) stoga je nalaz DNK u krpelja *I. hexagonus*, *I. canisuga* i *D. reticulatus* s lisica, te u krpelja *I. ricinus* s pasa u suglasju s dosadašnjim spoznajama o ovoj babeziji. Do sada nije poznat vektor ove babezije no s obzirom da su najznačajni rezervoari poput jazavca i lisica najčešće i invadirani krpeljima porodice *Phlebotomus*. U prilog ovoj pretpostavci ide i dokaz *Babesia* sp. „Badger type B“ u treće

vrste krpelja ove potporodice *I. kaiseri* što ujedno predstavlja i prvi nalaz ove babezije kako u Hrvatskoj tako i u navedene vrste krpelja. Nalaz u psa s simptomima babezioze u Mađarskoj (HORNOK i sur., 2018b.) jasno ukazuje da je potrebno i ovu babeziju uključiti u moguće uzročnike piroplazmoze pasa bez obzira što do sada nije otkrivena u pasa (BECK i sur., 2009.; 2019 ). Poprilično je neočekivana prisutnost DNK *Babesia* sp. „Badger type A“ u krpelja *Hy. marginatum* i *R. bursa* s područja južnog priobalja s krava. Do sada *Babesia* sp. „Badger type A“ nije dokazana u krava i ovaj nalaz je posljedica parazitiranja razvojnih stadija na drugim životinjama.

Po prvi puta je dokazana babezija *Babesia* sp. „tavsan“ u krpelja *R. turanicus* s područja Pelješca (Kuna) s koze. Do sada ne postoje podaci o patogenosti no dokaz u krpelja *R. turanicus* iz okoliša i lisice iz Turske (ORKUN i sur., 2020.; ORKIN i EMIR, 2020.) može ukazati na ulogu ovog krpelja u prijenosu. Do sada postoji još samo jedan nalaz iz zeca iz Italije (MF356682) stoga su potrebna detaljnija istraživanja s ciljem razumijevanja ekologije i patologije ove nove babezije u RH.

Od prvog slučaja humane babezioze u Hrvatskoj otkrivene 1957. godine (ŠKRABALO I DEANOVIĆ, 1957.) prošlo je više od 60 godina i od tada nije dokazan niti jedan novi slučaj bez obzira na prisutnost *B. microti* (BECK i sur. 2010a.) te *B. venatorum* (PINTUR, 2012a.). Oba uzročnika humane babezioze su dokazana ovim istraživanjem u krpelja *I. ricinus* iz okoliša (*B. microti*) i s lisice (*B. venatorum*) s područja kontinentalne Hrvatske. Treća vrsta *B. crassa*, nedavno dokazana u oboljelog čovjeka iz Slovenije (STRASEK-SMRDEL i sur., 2020.) je po prvi puta dokazana u Hrvatskoj u krpelja *H. parva* iz okoliša i *R. turanicus* s koze što jasno ukazuje na moguću vektorsku ulogu krpelja *H. parva*.

Mikroorganizmi krpelja poput *R. raoultii*, *R. slovaca* ili *B. canis* predstavljaju očekivan nalaz jer je *D. reticulatus* poznat vektor (RUBEL i sur., 2017.) i prenose se transovarijski, no nalaz DNK *T. orientalis*, *T. ovis* i *T. capreoli* predstavlja vrlo zanimljiv nalaz. Za razliku od uzročnika babezioze ovaca *B. ovis* koja je bila proširena na području srednjeg i južnog priobalja i isključivo dokazana u krpelja *R. bursa* s koza i ovaca, uzročnik tajlerioze *T. ovis* je bila dokazana u priobalju i u kontinentalnoj Hrvatskoj. Zanimljivo je da je *T. ovis* dokazana osim u *R. turanicus* i *R. bursa* s domaćih preživača bila prisutna u jednom *Hy. marginatum* s psa i krpelju *I. ricinus* s jelena običnog.

*Theileria orientalis* je nedavno dokazana u uginulih goveda iz Fužina (JURKOVIĆ i

sur., 2020.) i sadašnji dokaz ukazuje na moguću vektorsku ulogu *D. reticulatus* i *D. marginatus* u Hrvatskoj i Europi. Osim u krpelja *D. reticulatus* prikupljenih s divlje svinje, jelena lopatara, dokazan je u *D. marginatus* i *D. reticulatus* krpelja sa čaglja, psa i lisice koji nisu dokazani nositelji navedenih mikroorganizama, što jasno ukazuje na održavanje ciklusa *T. orientalis* u divljih životinja. Do sada je *Haemaphysalis longicornis* jedini potvrđen vektor, no istovremeno je DNK *T. orientalis* dokazana u više različitih vrsta krpelja iz Etiopije uključujući vrste *Amblyomma variegatum*, *A. cohaerens*, *Rhipicephalus decoloratus*, *R. evertsi* i *R. praetextatus* (HORNOK i sur., 2014b.; KUMSA i sur., 2014.) dok je u Europi DNA umnožena u vrste *Rhipicephalus annulatus* (TOMA i sur., 2017.). Dodatan argument ovoj pretpostavci leži u činjenici da je DNK dokazan u *D. reticulatus* iz okoliša i *D. marginatus* s čovjeka.

Do sada je *T. capreoli* dokazana u sivih vukova i psa u Hrvatskoj (BECK i sur. 2009., BECK i sur., 2017a.) no nikada u krpelja. Osim u vrsta *R. turanicus* i *Hy. excavatum* iz Turske (ORKUN i sur., 2020.) dokaz u *D. marginatus* iz okoliša predstavlja i prvi nalaz u Europi što ukazuje na mogućnost prijenosa ovim krpeljem.

Posljednih godina otkriveno je da *D. reticulatus* prenosi i zoonotske patogene od kojih su najvažnije rikecije *Rickettsia slovaca* i *Rickettsia raoultii*, te viruse Omsk-hemoragijske groznice i krpeljnog encefalitisa (FÖLDVÁRI i sur., 2016.; SPRONG i sur., 2019.). *Rickettsia slovaca* i *R. raoultii* su uzročnici sindroma nazvanih TIBOLA/DEBOLA (*tick-borne lymphadenopathy*, engl. ili *dermacentor-borne necrosis–erythema-lymphadenopathy*, engl.) i SENLAT (*scalp eschar neck lymphadenopathy*, engl.) (FÖLDVÁRI i sur., 2016.). Sindrom TIBOLA je nakon mediteranske pjegave groznice najučestalija krpeljno-prenosiva rikecioza na području Mediterana (Italija, Francuska, Španjolska i Portugal), te se povremeno javlja u Njemačkoj, Poljskoj, Bugarskoj i Mađarskoj (FÖLDVÁRI i sur., 2016.). Obje su dokazane u Hrvatskoj u krpelja (PUNDA-POLIĆ i sur., 2002.; DOBEC i sur., 2009.; BECK i sur., 2010b.; TIJSSE-KLASSEN i sur., 2013a.), no sadašnjim sveobuhvatnim istraživanjem različitih vrsta krpelja iz cijele Hrvatske dokazali smo da je *R. raoultii* osim u kontinentalnoj Hrvatskoj dokazana i na otoku Viru u krpelju *D. reticulatus* sa divljeg zeca.

*Rickettsia slovaca* se također prenosi krpeljima iz roda *Dermacentor* stoga dijeli i „stanište“ s *R. raoultii*, tako je dokazana u središnjoj Hrvatskoj ali i u okolici Senja (priobalje) s muflona. Nalazi u priobalju su prvi nalazi izvan kontinentalne Hrvatske i jasno ukazuju na prisutnost drugačijih kliničkih sindroma u ljudi u hrvatskom priobalju. Također smo je po prvi puta

dokazana DNK *R. raoultii* u krpelja *H. parva* iz okoliša, a značaj ovog nalaza tek treba dodatno istražiti.

Do sada je DNA zoonotske rikecije iz grupe uzročnika pjegavih groznica *R. aeshlimannii* dokazan samo u okolici Splita i Sinja (PUNDA- POLIĆ i sur., 2002.). Sadašnjim istraživanjem prisutnost *R. aeshlimannii* je dokazana u krpelja *Hy. marginatum* od Dubrovnika do Istre što je u potpunosti odgovaralo proširenosti krpelja *Hy. marginatum* (Slika 34.). Ovaj nalaz je bitan zbog javno-zdravstvenog aspekta jer jasno ukazuje na prisutnost uzročnika pjegave groznice u priobalju.

Druga rikecija *R. monacensis* do sada nije dokazna u *Hy. marginatum*, a njena prisutnost je vjerojatno posljedica hranjenja ličinki ili njimfi na malim glodavcima koji predstavljaju rezervoar ove vrste rikecije. Po prvi puta je dokazna u ovom dijelu Hrvatske.

Treća rikecija, *R. massiliae* je dokazana samo u južnom priobalju u krpelja *R. turanicus* s domaćih životinja. Krpelji *R. bursa* i *R. turanicus* dijele isto stanište i dokazani su na istim domaćim životinjama kao i *R. turanicus* no samo je u njima dokazana DNK *R. massiliae* što ukazuje da je samo *R. turanicus* vektor. Čini se da se *R. massiliae* ne umnaža u nositeljima poput koza i ovaca te se najvjerojatnije u krpelja *R. turanicus* prenosi transovarijski poput *R. raoultii* u krpelja *D. reticulatus*.

*Hepatozoon canis* je po prvi puta u Hrvatskoj dokazan u gotovo 11% naizgled zdravih pasa (VOJTA i sur., 2009.) i nešto kasnije u lisica (DEŽDEK i sur., 2010.) u svim područjima Hrvatske. Osim ranije navedene vrste po prvi puta smo dokazali *Hepatozoon felis* i *Hepatozoon* sp. „Badger type“. Za razliku od vrste *H. canis* koji je dokazan u različitim vrsta krpelja iz rodova *Ixodes*, *Dermacentor* i *Rhipicephalus*, *H. felis* je dokazan u vrste *R. turanicus* s mačke (Dugi otok), a *Hepatozoon* sp. „Badger type“ u krpelja *I. ricinus* iz okoliša. S obzirom da je potonji dokazan u krpelja iz okoliša, a vektor do sada nije poznat, možemo pretpostaviti da *I. ricinus* ima ulogu u prijenosu ovog hepatozona. Jedini dokazani vektor *H. canis* je krpelj *R. sanguineus* s.s. no brojni dokazi u Europi (NAJM i sur., 2014b.; ANDERSSON i sur., 2017b.; ESTRADA-PEÑA i sur., 2017c.; ORKUN i EMIR, 2020.) gdje *H. canis* nije dokazan u *R. sanguineus* ukazuje da postoje i drugi krpelji kojima se može prenijeti. Za pretpostaviti je da ulogu vektora imaju krpelji podporodice Phlebotominae poput vrsta *I. hexagonus* i *I. canisuga* (HORNOK i sur., 2017b.). Dokaz u krpelja *I. hexagonus* i *I. canisuga* s lisica ide u prilog njihovoj ulozi u prijenosu *H. canis*. Nadalje, DNK je potvrđena u krpelja *I. ricinus* sa lisica, pasa što je i očekivano ali i konja u kojih do sada *H. canis* nije dokazan, stoga ne možemo isključiti ulogu vrste *I. ricinus* kao mogućeg vektora. Prisutnost

DNK *H. canis* u krpelja *D. reticulatus* s pasa i lisica otvara dodatno pitanje o različitim vektorima *H. canis*. *Hepatozoon canis* je ujedno i jedini patogen dokazan u krpelja *R. sanguineus* s.s. s područja srednjeg priobalja.

Tularemija, uzrokovana bakterijom *Francisella tularensis* uključuje četiri tipa: *F. tularensis* subsp. *tularensis* (tipovi AI i AII), *F. tularensis* subsp. *holarctica* (tip B), *F. tularensis* subsp. *mediastica* i *F. tularensis* subsp. *novicida* (KEIM i sur., 2007.; TELFORD i GOETHERT, 2020.). U Hrvatskoj se tularemija najčešće javlja oko rijeka Save i Drave no protutijela u ljudi prisutna su u gotovo svim područjima Hrvatske (BORČIĆ i sur., 1976.) stoga je bilo za očekivati inficirane krpelje prije u kontinentalnoj Hrvatskoj, a ne priobalju stoga je dokaz DNK *F. tularensis* subsp. *holarctica* u krpelja *R. turanicus* iz okoliša s područja Pelješca (Kuna Pelješka) predstavlja prvi objektivni dokaz u RH i to izvan poznatog endemičnog područja. Kontakt s inficiranim rezervoarima predstavlja primaran način infekcije ljudi no poznat je prijenos i *F. tularensis* vektorima na sjevernoj polutki. Osim tabanida i komaraca, više od 20 vrsta krpelja su opisani vektori i potencijalni rezervoari *F. tularensis*, a najznačajniji u Europi su *I. ricinus*, *D. reticulatus*, *D. marginatus*, *R. rossicus* i *H. concinna* (DANTAS-TORRES i sur., 2012.; ZELLNER i HUNTLEY, 2019.; TELFORD i GOETHERT, 2020.). Za razliku od sličnih istraživanja u Srednjoj Europi gdje je *F. tularensis* dokazana u krpeljima *D. reticulatus*, *D. marginatus* i *I. ricinus* (KREIZINGER i sur., 2013.; WÓJCIK-FATLA i sur., 2015b.; HODŽIĆ i sur., 2017.) u Hrvatskoj je jedino bio pozitivan *R. turanicus* iz okoliša.

„*Francisella*-sličan” organizam predstavlja jedan od tri endosimbionta dokazana sadašnjim istraživanjem, a preostala dva su *Midichloria mitochondrii* i *Wolbachia* sp. U ovom istraživanju smo dokazali DNK „*Francisella*-sličan” endosimbiont krpelja *D. reticulatus* čija je sekvenca bila jednaka onoj iz krpelja *D. reticulatus* sa psa iz Poljske. Uloga ovog endosimbionta nije u potpunosti jasna jer je dokazan u relativno malom postotku krpelja za razliku od *D. reticulatus* iz Poljske u kojih je učestalost bila gotovo 80% (WÓJCIK-FATLA i sur., 2015b.). Za razliku od krpelja ovog istraživanja poljski su bili prikupljeni iz okoliša što je moglo utjecati na ovako veliku razliku. Za razliku od istraživanja provedenog u Slovačkoj (ŠPITALSKA i sur., 2018.), gdje je „*Francisella*-sličan” mikroorganizam dokazan u sve tri vrste krpelja (*I. ricinus*, *D. reticulatus*, *H. inermis*) u sadašnjem istraživanju dokazana je u obje vrste roda *Dermacentor*. Za naglasiti je da su pozitivni krpelji bili prikupljeni isključivo iz kontinentalne Hrvatske koja se smatra endemijskim područjem tularemije, no

bez genske potvrde uzročnika. Potrebno je provesti dodatna istraživanja kako bi se utvrdio značaj ovih endosimbionata, posebice *Francisella*-sličnog mikroorganizma u razvoju bolesti ili razvoju protutijela u ljudi i moguće unakrižne reaktivnosti s patogenom *F. tularensis*. Naime, sličnost obje „vrste“ nakon usporedbe s dostupnim sekvencama iznosi 99% i jasno ukazuje na srodnost. U krpelja prikupljenih iz kontinentalne regije, uključujući vrste *D. reticulatus* i *I. ricinus* nije dokazana DNK *F. tularensis*. Visoka učestalost od 48% „*Francisella*-sličnog” mikroorganizma u krpelja *D. reticulatus* iz Slovačke kao i značajno učestaliji nalaz u Hrvatskoj u odnosu na *F. tularensis* mora se uzeti u obzir prilikom seroloških istraživanja ljudi kao i ulozi krpelja u prijenosu *F. tularensis* subsp. holartica u središnjoj Hrvatskoj. Isto tako nalaz pozitivnog krpelja *R. turanicus* iz okoliša ukazuje na moguću ulogu ove vrste u održavanju i prijenosu *F. tularensis*.

Za razliku od „*F. tularensis*-sličnog” mikroorganizma koji je bio prisutan samo u kontinentalnoj Hrvatskoj endosimbiont *Midichloria mitochondrii* je dokazan i u priobalju, uključujući i Dugi otok, i u kontinentalnoj Hrvatskoj. Posljednjih godina otkrivene su brojne bakterije filogenetski povezane s „*Candidatus M. mitochondrii*” u krpelja iz različitih rodova širom svijeta (*Ixodes*, *Rhipicephalus*, *Dermacentor*, *Haemaphysalis*, *Hyalomma* i *Amblyomma*) (EPIS i sur., 2008.; HORNOK i sur., 2008.; VENZAL i sur., 2008.) što je dovelo prijedloga za formiranje novog roda „*Candidatus Midichloriaceae*“ unutar obitelji u Rickettsiales (MONTAGNA i sur., 2013.). Slično je dokazano i ovim istraživanjem jer je usporedba sekvenci pokazala četiri skupine sekvenci (1-4) sličnosti veće od 99% no nisu pokazale „specifičnost“ prema pojedinim vrstama krpelja. Tako su u *Hy. marginatum* dokazana sve četiri genotipa za razliku od vrste *I. ricinus* u kojoj je dominirao izolat *M. mitochondrii* 1. Bez obzira što *16S rRNA* nije pogodan za finiju filogenetsku analizu, značajnu bliskost izolata CMM su dokazali i DI LECCE i sur., (2018).

Osim u vrsta *Hy. marginatum* i *I. ricinus*, *M. mitochondrii* je također potvrđena i u drugih vrsta različitih rodova poput *H. inermis*, *R. turanicus*, *R. bursa*, ali ne i u roda *Dermacentor*. Za naglasiti je izostanak *M. mitochondrii* u krpelja podporodice Phlebotominae što zahtjeva dodatna istraživanja. Nije u potpunosti jasno može li *Midichloria mitochondrii* uzrokovati razvoj bolesti u kralježnjaka ili je isključivo endosimbiont krpelja (MARICONTI i sur., 2012.; BAZZOCCHI i sur., 2013.), no sigurno je da se može umnažati u krvi nositelja i inficirati razvojne stadije krpelja *Hy. marginatum* (DI LECCE i sur., 2018.) i prenositi se dalje na adulte. Do sada su protutijela na CMM dokazana u sisavaca invadiranih krpeljima ukazuje na to da je otkrivanje DNK midichlorije u krvi kralježnjaka vjerojatno odražava pravu infekciju



(koja uključuje replikaciju bakterija unutar domaćina), što rezultira imunološkim odgovorom, s potencijalno negativnim učincima na zdravstveno stanje (BAZZOCCHI i sur., 2013.). Potrebna su dodatna istraživanja kako bi se razjasnio značaj *M. mitochondrii*.

Do sada su u RH dokazane *B. afzeli*, *B. garini*, *B. lusitaniae*, *B. valasiana*, *B. spielmani* i *B. burgdorferi* s.s. u skupnim uzorcima krpelja *I. ricinus* (TIJSSE-KLASSEN i sur., 2013a). Nalazom DNK *B. afzeli* i *B. valasiana* sadašnjim istraživanjem nije potvrđena tolika genska raznolikost unutar *B. burgdorferi* kompleksa. Jedan od razloga manje genske raznolikosti je posljedica pretraživanja manjeg broja krpelja iz okoliša i pretraživani su pojedinačni uzorci za razliku od ranijeg istraživanja kada su analizirani skupni uzorci. Molekularna istraživanja borelija u istočnoj Slavoniji nikada nisu provedena, stoga rezultati ovog istraživanja jasno ukazuju na proširenost *B. burgdorferi* kompleksa diljem cijele kontinentalne Hrvatske. U priobalju borelije nisu dokazane što je i očekivano s obzirom na izostanak vektora *I. ricinus*. Potrebna su detaljnija istraživanja kako bi se razjasnilo postoji li zemljopisna granica s obzirom da je *B. bavarensis* dokazana na području grada Rijeke (TIJSSE-KLASSEN i sur., 2013a.). Svi pozitivni krpelji su pripadali vrsti *I. ricinus* i nije dokazana povezanost pojedinih genotipova krpelja s vrstama borelija. Nadalje svi pozitivni uzorci su dokazani u krpelja iz okoliša, a samo u jednog krpelja s lisice dokazana je *B. valasiana*, a u psa *B. afzeli*. Izostanak *B. burgdorferi* s.s. može predstavljati objašnjenje niske učestalosti protutijela u pasa od 0,4% i 0,7% (MRLJAK i sur., 2017; JURKOVIĆ i sur., 2019a.) korištenjem SNAP 4Dx<sup>®</sup> testa kojim se dokazuje infekcija samo s *B. burgdorferi* s.s. Bez obzira na raznolikost patogena dokazanih u različitim vrsta krpelja koji ne predstavljaju potvrđene vektore, *B. burgdorferi* je dokazana isključivo u svog vektora krpelja *I. ricinus*.

## **7. ZAKLJUČCI**

Ovo istraživanje predstavlja jedno od obimijih istraživanja genske raznolikosti krpelja prikupljenih sa različitih vrsta domaćih i divljih životinja, pasa, mačaka, ljudi, te iz okoliša, ne samo u Hrvatskoj nego i u Europi. Također je po prvi puta u Hrvatskoj sustavno istražena prisutnost DNK patogena u pojedinačnih krpelja. Cjelovitim pristupom u ovom istraživanju ostvareni su postavljeni ciljevi.

Sekvenciranje *16S rDNA* i usporedba s BLAS<sub>t</sub> tražilicom predstavlja pogodnu metodu za dokazivanje vrsta krpelja i omogućava razlikovanje potencijalnih genotipova unutar vrste.

Molekularnim istraživanjem su potvrđene do sada genski dokazane vrste *D. reticulatus*, *D. marginatus*, *I. ricinus*, *I. hexagonus*, *I. canisuga*, *R. bursa*, *R. turanicus* sensu lato, *R. sanguineus* sensu stricto, *Hy. marginatum*, ali i po prvi puta molekularno dokazane vrste *I. gibbosus*, *I. kaiseri*, *I. ventalloi*, *H. concina*, *H. inermis* i *H. parva*. Nalaz *I. kaiseri* i *I. ventalloi* predstavlja ne samo prvi nalaz u Hrvatskoj, već i na području na jugoistočne Europe

Genskim pristupom je po prvi puta dokazano postojanje genske raznolikosti unutar populacije *I. ricinus* i *R. turanicus*, te je potvrđeno postojanje genske raznolikosti *I. hexagonus* Hrvatskoj.

Istraživanjem je dokazan trend širenja krpelja *D. reticulatus* na području priobalja, te *R. turanicus* i *H. parva* na području kontinentalne Hrvatske.

Sustavnim pristupom u pojedinačno analiziranih krpelja su po prvi puta su molekularno dokazane DNK patogena prenosivih krpeljima koji su od značaja ne samo u veterinarskoj medicini, već i za područje javnog zdravstva.

Nalaz DNK *Anaplasma capra*, *Ehrlichia canis*, *Francisella tularensis* subsp. holartica, *Hepatozoon felis* predstavlja prvi objektivan dokaz na području Hrvatske, dok je DNK *Theileria ovis*, *T. capreoli*, *T. orientalis*, *Hepatozoon canis*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Rickettsia monacensis*, *Babesia microti* i *B. venatorum* po prvi puta dokazana u krpelja u Hrvatskoj.

Istraživanje je doprinijelo poznavanju vrsta krpelja, njihove proširenosti i patogena prenosivih krpeljima na području Republike Hrvatske.

## **8. POPIS LITERATURE**

ALEKSEEV, A. N., H. V. DUBININA, O. V. JUSHKOVA (2004): First report on the coexistence and compatibility of seven tickborne pathogens in uninfected adult *Ixodes persulcatus* Schulze (Acarina: Ixodidae). *Int. J. Med. Microbiol.* 293, 104–108.

ALLSOPP, B. A. (2015): Heartwater – *Ehrlichia ruminantium* infection. *Rev. Sci. Tech.* 34, 558-568.

ANDERSSON, M., M. A. TURCITU, M. STEFANACHE, P. TAMBA, F. BARBUCEANU, L. CHITIMIA (2013): First evidence of *Anaplasma platys* and *Hepatozoon canis* co-infection in a dog from Romania—a case report. *Ticks Tick Borne Dis.* 4, 317-319.

ANDERSSON, M. O., U. A. BERGVALL, J. CHIRICO, M. CHRISTENSSON, P. E. LINDGREN, J. NORDSTRÖM, P. KJELLANDER (2016): Molecular detection of *Babesia capreoli* and *Babesia venatorum* in wild Swedish roe deer, *Capreolus capreolus*. *Parasit. Vectors* 9, 221.

DOI: 10.1186/s13071-016-1503-8.

ANDERSSON, M. O., B. VÍCHOVÁ, C. TOLF, S. KRZYŻANOWSKA, J. WALDENSTRÖM, M. E. KARLSSON (2017a): Co-infection with *Babesia divergens* and *Anaplasma phagocytophilum* in cattle (*Bos taurus*), Sweden. *Ticks Tick Borne Dis.* 8, 933-935.

ANDERSSON, M. O., C. TOLF, P. TAMBA, M. STEFANACHE, G. RADBEA, F. RUBEL, J. WALDENSTRÖM, G. DOBLER, L. CHIȚIMIA-DOBLER (2017b): *Babesia*, *Theileria*, and *Hepatozoon* species in ticks infesting animal hosts in Romania. *Parasitol. Res.* 116, 2291-2297.

ANDERSSON, M. O., G. MARGA, T. BANU, G. DOBLER, L. CHITIMIA-DOBLER (2018): Tick-borne pathogens in tick species infesting humans in Sibiu County, central Romania. *Parasitol. Res.* 117, 1591-1597.

ANTUNES, S., J. FERROLHO, N. DOMINGUES, A. S. SANTOS, M. M. SANTOS-SILVA, A. DOMINGOS (2016): *Anaplasma marginale* and *Theileria annulata* in questing ticks from Portugal. *Exp. Appl. Acarol.* 70, 79-88.

AOUADI, A., H. LEULMI, M. BOUCHEIKHCHOUKH, A. BENAKHLA, D. RAOULT, P. PAROLA (2017): Molecular evidence of tick-borne hemoprotozoan-parasites (*Theileria ovis* and *Babesia ovis*) and bacteria in ticks and blood from small ruminants in Northern Algeria. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 50, 34-39.

APANASKEVICH, D. A., I. G. HORAK (2008): The genus *Hyalomma* Koch, 1844: v. re-evaluation of the taxonomic rank of taxa comprising the *H. (Euhyalomma) marginatum* Koch

complex of species (Acari: Ixodidae) with redescription of all parasitic stages and notes on biology. *Int. J. Acarol.* 34, 13-42.

ARAYA-ANCHETTA, A., J. D. BUSCH, G. A. SCOLES, D. M. WAGNER (2015): Thirty years of tick population genetics: a comprehensive review. *Infect. Genet. Evol.* 29, 164-79.

ARRAGA-ALVARADO, C. M., B. A. QUROLLO, O. C. PARRA, M. A. BERRUETA, B. C. HEGARTY, E. B. BREITSCHWERDT (2014): Case report: Molecular evidence of *Anaplasma platys* infection in two women from Venezuela. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 91, 1161-1165.

ARSUAGA, M., L. M. GONZALEZ, C. A. LOBO, F. DE LA CALLE, J. M. BAUTISTA, I. G. AZCÁRATE, S. PUENTE, E. MONTERO (2016): First report of *Babesia microti*-Caused babesiosis in Spain. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 16, 677-9.

ASENSI, V., L. M. GONZÁLEZ, J. FERNÁNDEZ-SUÁREZ, E. SEVILLA, R. ÁLVAREZ NAVASCUÉS, M. L. SUÁREZ, M. E. LAURET, A. BERNARDO, J. A. CARTON, E. MONTERO (2018): A fatal case of *Babesia divergens* infection in Northwestern Spain. *Ticks Tick Borne Dis.* 9, 730-734.

ATIF, F. A. (2016): Alpha proteobacteria of genus *Anaplasma* (*Rickettsiales: Anaplasmataceae*): Epidemiology and characteristics of *Anaplasma* species related to veterinary and public health importance. *Parasitology* 143, 659-685.

ATTIPA, C., D. MAGUIRE, L. SOLANO-GALLEGO, B. SZLADOVITS, E. N. BARKER, A. FARR, G. BANETH, S. TASKER (2018): *Hepatozoon canis* in three imported dogs: a new tickborne disease reaching the United Kingdom. *Vet. Rec.* 183, 716.

DOI: 10.1136/vr.105087

BAKKES, D. K., L. CHITIMIA-DOBLER, D. MATLOA, M. OOSTHUYSEN, K. Y. MUMCUOGLU, B. J. MANS, C. A. MATTHEE (2020): Integrative taxonomy and species delimitation of *Rhipicephalus turanicus* (Acari: Ixodida: Ixodidae). *Int. J. Parasitol.* 50, 577-594.

BANETH, G. (2011): Perspectives on canine and feline hepatozoonosis. *Vet. Parasitol.* 181, 3-11.

BARKER, S. C., A. MURRELL (2008): Systematics and evolution of ticks with a list of valid genus and species names. U: Ticks: biology, disease and control. (Bowman, A. S., Nuttall, P.A., Ur.) Cambridge University Press, New York, USA, str. 1-39.

BARRADAS, P. F., J. R. MESQUITA, P. FERREIRA, I. AMORIM, F. GÄRTNER (2020): Detection of tick-borne pathogens in *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato and dogs from different districts of Portugal. *Ticks Tick Borne Dis.* 11, 101536.

DOI: 10.1016/j.ttbdis.2020.101536

BATTISTI, E., S. ZANET, F. BORASO, D. MINNITI, M. GIACOMETTI, G. G. DUSCHER, E. FERROGLIO (2019): Survey on tick-borne pathogens in ticks removed from humans in Northwestern Italy. *Vet. Parasitol. Reg. Stud. Reports* 18, 100352.

DOI: 10.1016/J.VPRSR.2019

BAUMGARTNER, W., G. SCHLERKA, M. FUMICZ, J. STÖGER, M. AWAD-MASALMEH, W. SCHULLER, P. WEBER (1992): Seroprevalence survey for *Anaplasma marginale*-infection of Austrian cattle. *Zentralbl Veterinarmed B39*, 97-104.

BAZZOCCHI, C., M. MARICONTI, D. SASSERA, L. RINALDI, E. MARTIN, G. CRINGOLI, S. URBANELLI, C. GENCHI, C. BANDI, S. EPIS (2013): Molecular and serological evidence for the circulation of the tick symbiont *Midichloria* (Rickettsiales: Midichloriaceae) in different mammalian species. *Parasit. Vectors* 6, 350.

DOI: 10.1186/1756-3305-6-350

BEATI, L., J. E. KEIRANS (2001): Analysis of the systematic relationships among ticks of the genera *Rhipicephalus* and *Boophilus* (Acari: Ixodidae) based on mitochondrial 12S ribosomal DNA gene sequences and morphological characters. *J. Parasitol.* 87, 32-48.

BEAUTÉ, J., G. SPITERI, E. WARNS-PETIT, H. ZELLER (2018): Tick-borne encephalitis in Europe, 2012 to 2016. *Euro Surveill.* 23, 1800201.

DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2018.23.45.1800201

BECK, R., L. VOJTA, V. MRLJAK, A. MARINCULIĆ, A. BECK, T. ŽIVIČNJAK, S. M. CACCIÒ (2009): Diversity of *Babesia* and *Theileria* species in symptomatic and asymptomatic dogs in Croatia. *Int. J. Parasitol.* 39, 843-848.

BECK, R., L. VOJTA, S. ĆURKOVIĆ, V. MRLJAK, J. MARGALETIĆ, B. HABRUN (2010a): Molecular survey of *Babesia microti* in wild rodents in Central Croatia. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 11, 81-83.

BECK, R., B. HABRUN, S. BOSNIĆ, M. BENIĆ, T. NEMETH-BLAŽIĆ, A. BARIŠIN, S. DUVNJAK (2010b): Identification of pathogens in *Ixodes ricinus* and *Dermacentor reticulatus* from public gardens in Zagreb, Croatia. *Book of Abstracts of 12th International Conference on Lyme Borreliosis and other tick-borne diseases*, 26.-29. studeni, Ljubljana, Slovenija, str. 95.

BECK, R., N. ŠPREM, Ž. MIHALJEVIĆ, A. BECK, D. HUBER, T. ŠARIĆ, K. PINTUR, S. DUVNJAK, I. REIL, M. PILAT, D. LUKAČEVIĆ, D. DEŽDEK (2016a): Anaplazmoze domaćih i divljih životinja te kućnih ljubimaca u Republici Hrvatskoj. *Zbornik radova* 6.

Hrvatski veterinarski kongres sa međunarodnim sudjelovanjem, 26.-29. listopada, Opatija, Hrvatska, str. 293-298.

BECK, R., S. BOSNIĆ, R. BREZAK, T. ŠARIĆ, A. KOSTELIĆ, I. LOHMAN JANKOVIĆ (2016b): Krpelji Dalmacije i njihov vektorski potencijal. Zbornikradova 6. Hrvatski veterinarski kongres sa međunarodnim sudjelovanjem, 26.-29. listopada, Opatija, Hrvatska, str. 299-304.

BECK, A., D. HUBER, A. POLKINGHORNE, A. GUDAN-KURILJ, V. BENKO, V. MRLJAK, S. RELJIĆ, J. KUSAK, I. REIL, R. BECK (2017a): The prevalence and impact of *Babesia canis* and *Theileria* sp. in free-ranging grey wolf (*Canis lupus*) populations in Croatia. *Parasit. Vectors* 10, 168.

DOI: 10.1186/s13071-017-2106-8

BECK, A., D. HUBER, D. JURKOVIĆ, G. BANETH, R. BECK (2017b): First report of histopathological changes in a stone marten (*Martes foina*) with molecularly and microscopic confirmed *Hepatozoon* sp. infection. 3<sup>rd</sup> Cutting Edge Pathology, August 20 – September 2, Lyon, Francuska. *J. Comp. Pathol.* pp. 131–144.

BECK, A., D. HUBER, M. ANTOLIĆ, Ž. ANZULOVIĆ, I. REIL, A. POLKINGHORNE, G. BANETH, R. BECK (2019): Retrospective study of canine infectious haemolytic anaemia cases reveals the importance of molecular investigation in accurate postmortal diagnostic protocols. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 65, 81-87.

BELKAHIA, H., M. BEN SAID, R. GHRIBI, R. SELMI, A. B. ASKER, M. YAHIAOUI, M. BOUSRIH, M. DAALOUL-JEDIDI, L. MESSADI (2019): Molecular detection, genotyping and phylogeny of *Anaplasma* spp. in *Rhipicephalus* ticks from Tunisia. *Acta Trop.* 191, 38-49.

BERRI, M., K. LAROUCAU, A. RODOLAKIS (2000): The detection of *Coxiella burnetti* from ovine genital swabs, milk and fecal samples by the use of a single touchdown polymerase chain reaction. *Vet. Microbiol.* 72, 285-293.

BLACK, W. C., J. PIESMAN (1994): Phylogeny of hard-and soft-tick taxa (Acari: *Ixodida*) based on mitochondrial *16S rDNA* sequences. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 91, 10034-10038.

BOKO, F. (1941): Piroplazmoza u Srednjoj Dalmaciji (prilog k evidenciji). *Jug. Vet. Glasn.* 21, 65-68.

BONNET, S., M. JOUGLIN, M. L'HOSTIS, A. CHAUVIN (2007): *Babesia* sp. EU1 from roe deer and transmission within *Ixodes ricinus*. *Emerg. Infect. Dis.* 1, 1208–1210.



BORČIĆ, B., A. HRABAR, B. DULIC, N. TVRTKOVIC, V. BILIC, D. MIKAČIĆ (1976): Ecological features of the tularemia natural focus in central Posavina (Croatia). *Folia Parasitol.* 23, 257-265.

BORČIĆ, B., B. ALERAJ, M. ŽUTIĆ, D. MIKAČIĆ (1978): The role of ticks (Ixodidae) in the maintenance of the tularemia natural focus in central Posavina. *Vet. Arhiv* 48, 74-83.

BORČIĆ, B., B. KAIĆ (1999): Some epidemiological data on TBE and Lyme borreliosis in Croatia. *Zent. Bl. Bakteriolog.* 289, 540-547.

BORČIĆ, B., B. KAIĆ, LJ. GARDAŠEVIĆ-MORIĆ (2001): Krpeljni meningoencefalitis u Gorskom Kotaru-nove spoznaje. *Liječnički vijesnik* 123, 417-418.

BOYER, P. H., J. KOETSVELD, L. ZILLIOX, H. SPRONG, E. TALAGRAND-REBOUL, Y. HANSMANN, S. J. DE MARTINO, N. BOULANGER, J. W. HOVIUS, B. JAULHAC (2020): Assessment of *Borrelia miyamotoi* in febrile patients and ticks in Alsace, an endemic area for Lyme borreliosis in France. *Parasit. Vectors* 13, 199.

DOI: 10.1186/s13071-020-04071-9

BRÍGIDO, C., I. P. DA FONSECA, R. PARREIRA, I. FAZENDEIRO, V. E. DO ROSÁRIO, S. CENTENO-LIMA (2004): Molecular and phylogenetic characterization of *Theileria* spp. parasites in autochthonous bovines (Mirandesa breed) in Portugal. *Vet. Parasitol.* 123, 17-23.

BRKLJAČIĆ, M., V. MATIJATKO, I. KIŠ, N. KUČER, J. FORŠEK, R. BARIĆ RAFAJ, D. GRDEN, M. TORTI, I. MAYER, V. MRLJAK (2010): Molecular evidence of natural infection with *Babesia canis canis* in Croatia. *Act. Vet. Hung.* 58, 39-46.

BURLINI, L., K. R. TEIXEIRA, M. P. SZABÓ, K. M. FAMADAS (2010): Molecular dissimilarities of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in Brazil and its relation with samples throughout the world: is there a geographical pattern? *Exp. Appl. Acarol.* 50, 361-374.

BUTLER, C. M., M. M. SLOET VAN OLDRUITENBORGH-OOSTERBAAN, T. A. E. STOUT, J. H. VAN DER KOLK, L. VAN DEN WOLLENBERG, M. NIELEN, F. JONGEJAN, A. H. WERNERS, D. J. HOUWERS (2012): Prevalence of the causative agents of equine piroplasmiasis in the South West of The Netherlands and the identification of two autochthonous clinical *Theileria equi* infections. *Vet. J.* 193, 381-385.

CALLEJA-BUENO, L., A. SAINZ, M. GARCÍA-SANCHO, F. RODRÍGUEZ-FRANCO, J. V. GONZÁLEZ-MARTÍN, A. VILLAESCUSA (2017): Molecular, epidemiological, haematological and biochemical evaluation in asymptomatic *Theileria annulata* infected cattle from an endemic region in Spain. *Ticks Tick Borne Dis.* 8, 936-941.

CAMACHO, A. T., E. PALLAS, J. J. GESTAL, F. J. GUITIÁN, A. S. OLMEDA, S. R. TELFORD, A. SPIELMAN (2003): *Ixodes hexagonus* is the main candidate as vector of *Theileria annae* in northwest Spain. *Vet. Parasitol.* 112, 157-63.

CAPEK, M., I. LITERAK, E. KOCIANOVA, O. SYCHRA, T. NAJER, A. TRNKA, P. KVEREK (2014): Ticks of the *Hyalomma marginatum* complex transported by migratory birds into Central Europe. *Ticks Tick Borne Dis.* 5, 489-93.

DOI: 10.1016/j.ttbdis.2014.03.002

CAPORALE, D. A., S. M. RICH, A. SPIELMAN, S. R. TELFORD, T. D. KOCHER (1995): Discriminating between *Ixodes* ticks by means of mitochondrial DNA sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* 4, 361–365.

CARDOSO, L., H. C. E. CORTES, O. EYAL, A. REIS, A. P. LOPES, M. J. VILA-VIÇOSA, P. A. RODRIGUES, G. BANETH (2014): Molecular and histopathological detection of *Hepatozoon canis* in red foxes (*Vulpes vulpes*) from Portugal. *Parasit. Vectors* 7, 113.

DOI: 10.1186/1756-3305-7-113

CARDOSO, L., M. GILAD, H. C. E. CORTES, Y. NACHUM-BIALA, A. PATRÍCIA LOPES, M. J. VILA-VIÇOSA, M. SIMÕES, P. A. RODRIGUES, G. BANETH (2015): First report of *Anaplasma platys* infection in red foxes (*Vulpes vulpes*) and molecular detection of *Ehrlichia canis* and *Leishmania infantum* in foxes from Portugal. *Parasit. Vectors* 8, 144.

DOI:10.1186/s13071-015-0756-y

CASATI, S., M. V. BERNASCONI, L. GERN, J. C. PIFFARETTI (2008): Assessment of intraspecific mtDNA variability of European *Ixodes ricinus* sensu stricto (Acari: Ixodidae). *Infect. Genet. Evol.* 8, 152-158.

CASSINI, R. F., A. F. MARCER DI REGALBONO, G. CANCRINI, S. GABRIELLI, A. MORETTI, R. GALUPPI, M. P. TAMPIERI, M. PIETROBELLI (2012): New insights into the epidemiology of bovine piroplasmoses in Italy. *Vet. Parasitol.* 184, 77-82.

CECI, L., F. IARUSSI, B. GRECO, R. LACINIO, S. FORNELLI, G. CARELLI (2014): Retrospective study of hemoparasites in cattle in Southern Italy by reverse line blot hybridization. *J. Vet. Med. Sci.* 76, 869–875.

CÉZANNE, R., N. MROWIETZ, B. EIGNER, G. G. DUSCHER, W. GLAWISCHNIG, H. P. FUEHRER (2017): Molecular analysis of *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia divergens* in red deer (*Cervus elaphus*) in Western Austria. *Mol. Cell. Probes* 31, 55-58.

CHALIGIANNIS, I., V. MUSELLA, L. RINALDI, G. CRINGOLI, J. DE LA FUENTE, A. PAPA, S. SOTIRAKI (2016): Species diversity and spatial distribution of ixodid ticks on small ruminants in Greece. *Parasitol. Res.* 115, 4673-4680.

CHALIGIANNIS, I., I. G. FERNÁNDEZ DE MERA, A. PAPA, S. SOTIRAKI, J. DE LA FUENTE (2018): Molecular identification of tick-borne pathogens in ticks collected from dogs and small ruminants from Greece. *Exp. Appl. Acarol.* 74, 443-453.

CHAUVIN, A., E. MOREAU, S. BONNET, O. PLANTARD, L. MALANDRIN (2009): *Babesia* and its hosts: adaptation to long-lasting interactions as a way to achieve efficient transmission. *Vet. Res.* 40, 37.

DOI: 10.1051/vetres/2009020

CHISU, V., H. LEULMI, G. MASALA, M. PIREDDA, C. FOXI, P. PAROLA (2017): Detection of *Rickettsia hoogstraalii*, *Rickettsia helvetica*, *Rickettsia massiliae*, *Rickettsia slovacica* and *Rickettsia aeschlimannii* in ticks from Sardinia, Italy. *Ticks Tick Borne Dis.* 8, 347-352.

CHISU, V., C. FOXIA, R. MANNUB, G. SATTA, G. MASALA (2018): A five-year survey of tick species and identification of tick-borne bacteria in Sardinia, Italy. *Ticks Tick Borne Dis.* 9, 678-681.

CHISU, V., A. ALBERTI, R. ZOBBA, C. FOXI, G. MASALA (2019): Molecular characterization and phylogenetic analysis of *Babesia* and *Theileria* spp. in ticks from domestic and wild hosts in Sardinia. *Acta Trop.* 196, 60-65.

CHISU, V., F. LOI, C. FOXI, G. CHESSA, G. MASU, S. ROLESU, G. MASALA (2020): Coexistence of tick-borne pathogens in ticks collected from their hosts in Sardinia: an update. *Acta Parasit.* <https://doi.org/10.1007/s11686-020-00240-z>

CHITIMIA-DOBLER, L., L. KURZROCK, T. MOLČÁNYI, R. RIEß, U. MACKENSTEDT, S. NAVA (2019): Genetic analysis of *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato ticks, parasites of dogs in the Canary Islands, Cyprus, and Croatia, based on mitochondrial *16S rRNA* gene sequences. *Parasitol. Res.* 118, 1067-1071.

CICCULLI, V., L. CAPAI, Y. QUILICHINI, S. MASSE, A. FERNÁNDEZ-ALVAREZ, L. MINODIER, P. BOMPARD, R. CHARREL, A. FALCHI (2019): Molecular investigation of tick-borne pathogens in ixodid ticks infesting domestic animals (cattle and sheep) and small rodents (black rats) of Corsica, France. *Ticks Tick Borne Dis.* 10, 606-613.

CICUTTIN, G. L., E. L. TARRAGONA, M. N. DE SALVO, A. J. MANGOLD, S. NAVA (2016): Infection with *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* (*Rickettsiales*:

*Anaplasmataceae*) in two lineages of *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (Acari: Ixodidae) from Argentina. Ticks Tick Borne Dis. 6, 724-729.

COIMBRA-DORES, M. J., T. NUNES, D. DIAS, F. ROSA (2016): *Rhipicephalus sanguineus* (Acari:Ixodidae) species complex: morphometric and ultrastructural analyses. Exp. Appl. Acarol. 70, 455–468.

CRIADO-FORNELIO, A., T. MARTÍN-PÉREZ, C. VERDÚ-EXPÓSITO, S. A. REINOSO-ORTIZ, J. PÉREZ-SERRANO (2018): Molecular epidemiology of parasitic protozoa and *Ehrlichia canis* in wildlife in Madrid (central Spain). Parasitol. Res. 117, 2291-2298.

CUTLER, S., M. VAYSSIER-TAUSSAT, A. ESTRADA-PEÑA, A. POTKONJAK, A. D. MIHALCA, H. ZELLER (2019): A new *Borrelia* on the block: *Borrelia miyamotoi* - a human health risk? Euro Surveill. 24, 1800170.

DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2019.24.18.1800170

DA ROLD, S., F. RAVAGNAN, E. SOPPELSA, M. PORCELLATO, F. SOPPELSA, C. V. OBBER, S. CITTERIO, P. CARLIN, F. DANESI, F. MONTARSI, G. CAPELLI (2018): Ticks are more suitable than red foxes for monitoring zoonotic tick-borne pathogens in northeastern Italy. Parasit. Vectors 11, 137.

DOI: 10.1186/s13071-018-2726-7

DAHMANI, M., B. DAVOUST, D. TAHIR, D. RAOULT, F. FENOLLAR, O. MEDIANNIKOV (2017): Molecular investigation and phylogeny of *Anaplasmataceae* species infecting domestic animals and ticks in Corsica, France. Parasit. Vectors 10, 302.

DOI: 10.1186/s13071-017-2233-2

DANIELOVÁ, V., J. HOLUBOVÁ, M. PEJČOCH, M. DANIEL (2002): Potential significance of transovarial transmission in the circulation of tick-borne encephalitis virus. Folia Parasitol. 49, 323-325.

DANTAS-TORRES, F. (2008): The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): from taxonomy to control. Vet. Parasitol. 152, 173–185.

DANTAS-TORRES, F. (2010): Biology and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. Parasit. Vectors 83, 26.

DOI: 10.1186/1756-3305-3-26

DANTAS-TORRES, F., B. CHOMEL, D. OTRANTO (2012): Ticks and tick-borne diseases: A one health perspective. Trends Parasitol. 28, 437-446.

DANTAS-TORRES, F., M. S. LATROFA, G. ANNOSCIA, A. GIANNELLI, A. PARISI, D. OTRANTO (2013): Morphological and genetic diversity of *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato from the New and Old Worlds. *Parasit. Vectors* 6, 213.

DOI: 10.1186/1756-3305-6-213

DANTAS-TORRES, F., C. MAIA, M. S. LATROFA, G. ANNOSCIA, L. CARDOSO, D. OTRANTO (2017): Genetic characterization of *Rhipicephalus sanguineus* (sensu lato) ticks from dogs in Portugal. *Parasit. Vectors* 10, 133.

DOI: 10.1186/S13071-017-2072-1

DANTAS-TORRES, F., M. S. LATROFA, R. A. NASCIMENTO RAMOS, R. P. LIA, G. CAPELLI, A. PARISI, D. PORRETTA, S. URBANELLI, D. OTRANTO (2018): Biological compatibility between two temperate lineages of brown dog ticks, *Rhipicephalus sanguineus* (sensu lato). *Parasit. Vectors* 11, 398.

DOI: 10.1186/s13071-018-2941-2

DAVITKOV, D., M. VUCICEVIC, J. STEVANOVIC, V. KRSTIC, D. SLJEPCEVIC, U. GLAVINIC, Z. STANIMIROVIC (2016): Molecular detection and prevalence of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in horses of central Balkan. *Acta Parasitol.* 61, 337-342.

DE LA FUENTE, J., J. VICENTE, U. HÖFLE, F. RUIZ-FONS, I. G. FERNÁNDEZ DE MERA, R. A. VAN DEN BUSSCHE, K. M. KOCAN, C. GORTAZAR (2004): *Anaplasma* infection in free-ranging Iberian red deer in the region of Castilla-La Mancha, Spain. *Vet. Microbiol.* 100, 163-173.

DE LA FUENTE, J., A. TORINA, S. CARACAPPA, G. TUMINO, R. FURLÁ, C. ALMAZÁN, K. M. KOCAN (2005): Serologic and molecular characterization of *Anaplasma* species infection in farm animals and ticks from Sicily. *Vet. Parasitol.* 133, 357-62.

DE MICHELIS, S., H. S. SEWELL, M. COLLARES-PEREIRA, M. SANTOS-REIS, L. M. SCHOULS, V. BENES, E. C. HOLMES, K. KURTENBACH (2000): Genetic diversity of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in ticks from mainland Portugal. *J. Clin. Microbiol.* 38, 128–133.

DERDÁKOVÁ, M., A. STEFANČÍKOVÁ, E. SPITALSKÁ, V. TARAGELOVÁ, T. KOŠŤÁLOVÁ, G. HRKĚOVÁ, K. KYBICOVÁ, P. SCHÁNILEC, V. MAJLÁTHOVÁ, M. VÁRADY, B. PEŤKO (2011): Emergence and genetic variability of *Anaplasma* species in small ruminants and ticks from Central Europe. *Vet. Microbiol.* 153, 293-298.

DEŽDEK, D., L. VOJTA, S. ČURKOVIĆ, Z. LIPEJ, Ž. MIHALJEVIĆ, Ž. CVETNIĆ, R. BECK (2010): Molecular detection of *Theileria annae* and *Hepatozoon canis* in foxes (*Vulpes vulpes*) in Croatia. *Vet. Parasitol.* 172, 333-336.

DI LECCE, I., C. BAZZOCCHI, J. G. CECERE, S. EPIS, D. SASSERA, B. M. VILLANI, G. BAZZI, A. NEGRI, N. SAINO, F. SPINA, C. BANDI, D. RUBOLINI (2018): Patterns of *Midichloria* infection in avian-borne African ticks and their trans-Saharan migratory hosts. *Parasit. Vectors* 11, 106.

DOI: 10.1186/S13071-018-2669-Z

DOBEC, M., D. GOLUBIC, V. PUNDA-POLIĆ, F. KAEPPELI, M. SIEVERS (2009): *Rickettsia helvetica* in *Dermacentor reticulatus* ticks. *Emerg. Infect. Dis.* 15, 98–100.

DUGAT, T., A. C. LAGRÉE, R. MAILLARD, H. J. BOULOUIS, N. HADDAD (2015): Opening the black box of *Anaplasma phagocytophilum* diversity: current situation and future perspectives. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 5, 61.

DOI: 10.3389/FCIMB.2015.00061

DUH, D., M. PETROVEC, T. TRILAR, V. PUNDA-POLIĆ, N. BRADARIĆ, T. AVŠIČ-ŽUPANC (2003): A follow-up study on newly recognized spotted fever group rickettsiae in ticks collected in Southern Croatia. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 990, 149-151.

DUH, D., M. PETROVEC, A. BIDOVEC, T. AVSIC-ZUPANC (2005): Cervids as Babesiae hosts, Slovenia. *Emerg. Infect. Dis.* 11, 1121–1123.

DUH, D., V. PUNDA-POLIĆ, T. TRILAR, M. PETROVEC, N. BRADARIĆ, T. AVŠIČ-ŽUPANC (2006): Molecular identification of *Rickettsia felis*-like bacteria in *Haemaphysalis sulcata* ticks collected from domestic animals in Southern Croatia. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1078, 347–351.

DUH, D., V. PUNDA-POLIĆ, T. TRILAR, T. AVŠIČ-ŽUPANC (2008): Molecular detection of *Theileria* sp. in ticks and naturally infected sheep. *Vet. Parasitol.* 151, 327-331.

DUH, D., V. PUNDA-POLIĆ, T. AVŠIČ-ŽUPANC, D. BOUYER, D. H. WALKER, V. L. POPOV, M. JELOVSEK, M. GRAČNER, T. TRILAR, N. BRADARIĆ, T. J. KURTTI, J. STRUS (2010): *Rickettsia hoogstraalii* sp. nov., isolated from hard- and soft-bodied ticks. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 60, 977-984.

DUSCHER, G. G., A. KÜBBER-HEISS, B. RICHTER, F. SUCHENTRUNK (2013): A golden jackal (*Canis aureus*) from Austria bearing *Hepatozoon canis*-import due to immigration into a non-endemic area? *Ticks Tick Borne Dis.* 4, 133-137.

DUSCHER, G. G., A. HODŽIĆ, M. WEILER, A. G. C. VAUX, I. RUDOLF, W. SIXL, J. M. MEDLOCK, V. VERSTEIRT, Z. HUBÁLEK (2016): First report of *Rickettsia raoultii* in field collected *Dermacentor reticulatus* ticks from Austria. *Ticks Tick Borne Dis.* 7, 720-722.

DUSCHER, G. G., A. HODŽIĆ, P. HUFNAGL, W. WILLE-PIAZZAI, A. M. SCHÖTTA, M. A. MARKOWICZ, A. ESTRADA-PEÑA, G. STANEK, F. ALLERBERGER (2018):

Adult *Hyalomma marginatum* tick positive for *Rickettsia aeschlimannii* in Austria. Euro Surveill. 23, 1800595.

DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2018.23.48.1800595

DYACHENKO, V., N. PANTCHEV, H. J. BALZER, A. MEYERSEN, R. K. STRAUBINGER (2012): First case of *Anaplasma platys* infection in a dog from Croatia. Parasit. Vectors 5, 49.

DOI: 10.1186/1756-3305-5-49

DŽELALIJA, B., V. PUNDA-POLIĆ, A. MEDIC, M. DOBEC (2016): *Rickettsiae* and rickettsial diseases in Croatia: Implications for travel medicine. Travel. Med. Infect. Dis. 14, 436-443.

ĐAKOVIĆ-RODE, O. (2015): Humana granulocitna anaplazmoza u Republici Hrvatskoj i nove spoznaje o anaplazmama i erlihijama. Infektološki glasnik 35, 5–15.

ECDC, European Centre for Disease Prevention and Control, Europski centar za sprječavanje i kontrolu bolesti (2019a): Disease vectors; Surveillance and disease data for disease vectors: Tick maps: *Ixodes ricinus*. Stockholm. Izvor: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/ixodes-ricinus-current-known-distribution-july-2019> (pristupljeno: 15. ožujak 2020. godine).

ECDC, European Centre for Disease Prevention and Control, Europski centar za sprječavanje i kontrolu bolesti (2019b): Disease vectors; Surveillance and disease data for disease vectors: Tick maps: *Dermacentor reticulatus*. Stockholm. Izvor: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/dermacentor-reticulatus-current-known-distribution-july-2019> (pristupljeno: 15. ožujak 2020. godine).

ECDC, European Centre for Disease Prevention and Control, Europski centar za sprječavanje i kontrolu bolesti (2019c): Disease vectors; Surveillance and disease data for disease vectors: Tick maps: *Rhipicephalus sanguineus*. Stockholm. Izvor: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/rhipicephalus-sanguineus-current-known-distribution> (pristupljeno: 15. ožujak 2020. godine).

ECDC, European Centre for Disease Prevention and Control, Europski centar za sprječavanje i kontrolu bolesti (2019d): Disease vectors; Surveillance and disease data for disease vectors: Tick maps: *Hyalomma marginatum*. Stockholm. Izvor: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/hyalomma-marginatum-current-known-distribution-july-2019> (pristupljeno: 15. ožujak 2020. godine).

EPIS, S., D. SASSERA, T. BENINATI, N. LO, L. BEATI, J. PIESMAN, L. RINALDI, K. D. MCCOY, A. TORINA, L. SACCHI, E. CLEMENTI, M. GENCHI, S. MAGNINO, C.

BANDI (2008): *Midichloria mitochondrii* is widespread in hard ticks (Ixodidae) and resides in the mitochondria of phylogenetically diverse species. *Parasitology* 135, 485–94.

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. University of Zaragoza, Zaragoza. International Consortium for Ticks and Tick-Borne Diseases, European Union (ICA4-Ct-2000-30006), pp. 22-137.

ESTRADA-PEÑA, A., I. G. HORAK, K. R. SHAO, S. C. BARKER (2010): The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida) of the world: a list of valid species names. *Zootaxa*, 2528, 1-28.

ESTRADA-PEÑA, A., J. DE LA FUENTE, T. LATAPIA, C. ORTEGA (2015): The impact of climate trends on a tick affecting public health: A retrospective modeling approach for *Hyalomma marginatum* (Ixodidae). *PLoS One*. 10, e0125760.

DOI: [doi.org/10.1371/journal.pone.0125760](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0125760)

ESTRADA-PEÑA, A., A. D. MIHALCA, T. N. PETNEY (2017a): Ticks of Europe and North Africa: A guide to Species Identification, Springer Nature, Cham, Switzerland. ISBN: 978-3-319-63759-4, pp. 75-404.

ESTRADA-PEÑA, A., G. D'AMICO, A. M. PALOMAR, M. DUPRAZ, M. FONVILLE, D. HEYLEN, M. A. HABELA, S. HORNOK, L. LEMPEREUR, M. MADDER, M. S. NÚNCIO, D. OTRANTO, M. PFAFFLE, O. PLANTARD, M. M. SANTOS-SILVA, H. SPRONG, Z. VATANSEVER, L. VIAL, A. D. MIHALCA (2017b): A comparative test of ixodid tick identification by a network of European researchers. *Ticks Tick Borne Dis.* 8, 540-546.

ESTRADA-PEÑA, A., X. ROURA, A. SAINZ, G. MIRÓ, L. SOLANO-GALLEGO (2017c): Species of ticks and carried pathogens in owned dogs in Spain: Results of a one-year national survey. *Ticks Tick Borne Dis.* 8, 443-452.

ESTRADA-PEÑA, A., S. CUTLER, A. POTKONJAK, M. VASSIER-TUSSAUT, W. VAN BORTEL, H. ZELLER, N. FERNÁNDEZ-RUIZ, A. D. MIHALCA (2018): An updated meta-analysis of the distribution and prevalence of *Borrelia burgdorferi* s.l. in ticks in Europe. *Int. J. Health. Geogr.* 17, 41.

DOI: [10.1186/S12942-018-0163-7](https://doi.org/10.1186/S12942-018-0163-7)

FALKENÖ, U., S. TASKER, E. OSTERMAN-LIND, H. W. TVEDTEN (2013): *Theileria annae* in a young Swedish dog. *Acta Vet. Scand.* 55, 50.

DOI: [10.1186/1751-0147-55-50](https://doi.org/10.1186/1751-0147-55-50)



FARKAS, R., B. TÁNCZOS, M. GYURKOVSKY, G. FÖLDVÁRI, N. SOLYMOSI, R. EDELHOFER, S. HORNOK (2013): Serological and molecular detection of *Theileria equi* infection in horses in Hungary. *Vet. Parasitol.* 192,143-148.

FARKAS, R., N. SOLYMOSI, N. TAKÁCS, Á. HORNYÁK, S. HORNOK, Y. NACHUM-BIALA, G. BANETH (2014): First molecular evidence of *Hepatozoon canis* infection in red foxes and golden jackals from Hungary. *Parasit. Vectors* 7, 303.

DOI:10.1186/1756-3305-7-303

FÖLDVÁRI, G., K. RIGÓ, M. JABLONSKY, N. BIRÓ, G. MAJOROS, V. MOLNÁR, M. TÓTH (2011): Ticks and the city: ectoparasites of the Northern white-breasted hedgehog (*Erinaceus roumanicus*) in an urban park. *Ticks Tick Borne Dis.* 2, 231-234.

FÖLDVÁRI, G., P. ŠIROKY, S. SZEKERES, G. MAJOROS, H. SPRONG (2016): *Dermacentor reticulatus*: a vector on the rise. *Parasit. Vectors* 9, 314.

DOI: 10.1186/S13071-016-1599-X

FORENBACHER, G. (1940): Erythrema chronicum migrans Lipschütz. *Zbl. Haut Geschlechtskr.* 64, 273-275.

FOURIE, J. J., D. STANNECK, H. G. LUUS, F. BEUGNET, M. WIJNVELD, F. JONGEJAN (2013): Transmission of *Ehrlichia canis* by *Rhipicephalus sanguineus* ticks feeding on dogs and on artificial membranes. *Vet. Parasitol.* 197, 595-603.

FUJISAKI, K., T. KAMIO, S. KAWAZU, S. SHIMIZU, K. SIMURA (1993): *Theileria sergenti*: experimental transmission by the long-nosed cattle louse, *Linognathus vituli*. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 87, 217-218.

FUKUMOTO, S., H. SUZUKI, I. IGARASHI, X. XUAN (2005): Fatal experimental transplacental *Babesia gibsoni* infections in dogs. *Int. J. Parasitol.* 35, 1031–1035.

FUKUNAGA, M., Y. TAKAHASHI, Y. TSURUTA, O. MATSUSHITA, D. RALPH, M. MCCLELLAND, M. NAKAO (1995): Genetic and phenotypic analysis of *Borrelia miyamotoi* sp. nov., isolated from the Ixodid tick *Ixodes persulcatus*, the vector for Lyme disease in Japan. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 45, 804-810.

GABRIELLI, S., S. KUMLIEN, P. CALDERINI, A. BROZZI, A. IORI, G. CANCRINI (2010): The first report of *Hepatozoon canis* identified in *Vulpes vulpes* and ticks from Italy. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 10, 855-859.

GABRIELLI, S., S. OTAŠEVIĆ, A. IGNJATOVIĆ, S. SAVIĆ, M. FRAULO, V. ARSIĆ-ARSENIJEVIĆ, S. MOMČILOVIĆ, G. CANCRINI (2015): Canine babesioses in bon investigated areas of Serbia. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 15, 535–538.

GALLUSOVÁ, M., M. A. QABLAN, G. D'AMICO, M. OBORNÍK, K. J. PETRŽELKOVÁ, A. D. MIHALCA, D. MODRÝ (2014): Piroplasms in feral and domestic equines in rural areas of the Danube Delta, Romania, with survey of dogs as a possible reservoir. *Vet. Parasitol.* 206, 287-292.

GALUPPI, R., S. AURELI, C. BONOLI, M. CAFFARA, M. P. TAMPIERI (2011): Detection and molecular characterization of *Theileria* sp. in fallow deer (*Dama dama*) and ticks from an Italian natural preserve. *Res. Vet. Sci.* 91, 110-115.

GARCÍA-PÉREZ, A. L., B. OPORTO, A. ESPÍ, A. DEL CERRO, M. BARRAL, I. POVEDANO, J. F. BARANDIKA, A. HURTADO (2016): *Anaplasmataceae* in wild ungulates and carnivores in northern Spain. *Ticks Tick Borne Dis.* 7, 264-269.

GARCÍA-SANMARTÍN, J., O. AURTENETXE, M. BARRAL, I. MARCO (2007): Molecular detection and characterization of piroplasms infecting cervids and chamois in Northern Spain. *Parasitology* 134, 391-398.

GARCIA-VOZMEDIANO, A., G. GIGLIO, E. RAMASSA, F. NOBILI, L. ROSSI, L. TOMASSONE (2020): *Dermacentor marginatus* and *Dermacentor reticulatus*, and their infection by SFG *Rickettsiae* and *Francisella*-like endosymbionts, in mountain and periurban habitats of Northwestern Italy. *Vet. Sci.* 157.

DOI:10.3390/vetsci7040157

GHARBI, M., M. A. DARGHOUTH (2014): A review of *Hyalomma scupense* (Acari, Ixodidae) in the Maghreb region: from biology to control. *Parasite* 21, 2.

DOI: 10.1051/parasite/2014002

GIANNELLI, A., R. L. LIA, G. ANNOSCIA, C. BUONAVOGLIA, E. LORUSSO, F. DANTAS-TORRES, G. BANETH, D. OTRANTO (2017): *Rhipicephalus turanicus*, a new vector of *Hepatozoon canis*. *Parasitology* 144, 730-737.

GOMES, J., P. SALGUEIRO, J. INÁCIO, A. AMARO, J. PINTO, A. TAIT, B. SHIELS, I. PEREIRA DA FONSECA, G. SANTOS-GOMES, W. WEIR (2016): Population diversity of *Theileria annulata* in Portugal. *Infect. Genet. Evol.* 42, 14-19.

GOTIĆ, J. (2015): Klinička i serološka dijagnostika, te molekularna tipizacija uzročnika piroplazmoze konja na području Republike Hrvatske. Disertacija, Veterinarski fakultet Sveučilište u Zagrebu, Hrvatska.

GOTIĆ, J., N. BRKLJAČA-BOTTEGARO, I. KIŠ, M. CRNOGAJ, V. MRLJAK, R. BECK (2017): A first case of equine granulocytic anaplasmosis in Croatia-a case report. *Vet. Arhiv* 87, 113-120.

GRANDI, G., L. CHITIMIA-DOBLER, P. CHOKLIKITUMNUEY, C. STRUBE, A. SPRINGER, A. ALBIHN, T. G. T. JAENSON, A. OMAZIC (2020): First records of adult *Hyalomma marginatum* and *H. rufipes* ticks (Acari: Ixodidae) in Sweden. *Ticks Tick Borne Dis.* 11, 101403.

DOI: 10.1016/J.TTBDIS.2020.101403

GRECH-ANGELINI, S., F. STACHURSKI, M. VAYSSIER-TAUSSAT, E. DEVILLERS, F. CASABIANCA, R. LANCELOT, G. UILENBERG, S. MOUTAILLER (2020): Tick-borne pathogens in ticks (Acari: Ixodidae) collected from various domestic and wild hosts in Corsica a Mediterranean island environment. *Transbound. Emerg. Dis.* 67, 745-757.

GUGLIELMONE, A. A., J. M. VENZAL, D. GONZÁLEZ-ACUÑA, S. NAVA, A. HINOJOSA, A. J. MANGOLD (2006): The phylogenetic position of *Ixodes stilesi* Neumann, 1911(Acari: Ixodidae): morphological and preliminary molecular evidences from *16S rDNA* sequences. *Syst. Parasitol.* 65, 1-11.

GUGLIELMONE, A. A., R. G. ROBBINS, D. A. APANASKEVICH, T. N. PETNEY, ESTRADA-PEÑA, A., I. G. HORAK, K. R. SHAO, S. C. BARKER (2010): The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida) of the world: a list of valid species names. *Zootaxa*, 2528, 1-28.

GUIDI, E., S. PRADIER, I. LEBERT, A. LEBLOND (2015): Piroplasmosis in an endemic area: analysis of the risk factors and their implications in the control of *Theileriosis* and *Babesiosis* in horses. *Parasitol. Res.* 114, 71-83.

HAMŠÍKOVÁ, Z., M. KAZIMÍROVÁ, D. HARUŠTIAKOVÁ, L. MAHRÍKOVÁ, M. SLOVÁK, L. BERTHOVÁ, E. KOCIANOVÁ, L. SCHNITTGER (2016): *Babesia* spp. in ticks and wildlife in different habitat types of Slovakia. *Parasit. Vectors* 9, 292.

DOI:10.1186/s13071-016-1560-z

HAMŠÍKOVÁ, Z., C. COIPAN, L. MAHRÍKOVÁ, L. MINICHOVÁ, H. SPRONG, M. KAZIMÍROVÁ (2017): *Borrelia miyamotoi* and co-infection with *Borrelia afzelii* in *Ixodes ricinus* ticks and rodents from Slovakia. *Microb. Ecol.* 73, 1000-1008.

HARRUS, S., A. PERLMAN-AVRAHAMI, K. Y. MUMCUOGLU, D. MORICK, O. EYAL, G. BANETH (2011): Molecular detection of *Ehrlichia canis*, *Anaplasma bovis*, *Anaplasma platys*, *Candidatus Midichloria mitochondrii* and *Babesia canis vogeli* in ticks from Israel. *Clin. Microbiol. Infec.* 17, 459–463.

HÄSELBARTH, K., A. M. TENTER, V. BRADE, G. KRIEGER, K. P. HUNFELD (2007): First case of human babesiosis in Germany-clinical presentation and molecular characterization of the pathogen. *Int. J. Med. Microbiol.* 297, 197–204.

HAVLÍKOVÁ, S., M. LIČKOVÁ, B. KLEMPA (2013): Non-viraemic transmission of tick-borne viruses. *Acta Virol.* 57, 123-9.

HEGLASOVÁ, I., N. RUDENKO, M. GOLOVCHENKO, D. ZUBRIKOVÁ, D. MIKLISOVÁ, M. STANKO (2020): Ticks, fleas and rodent-hosts analyzed for the presence of *Borrelia miyamotoi* in Slovakia: the first record of *Borrelia miyamotoi* in a *Haemaphysalis inermis* tick. *Ticks Tick Borne Dis.* 11, 101456.

DOI: 10.1016/J.TTBDIS.2020.101456

HERWALDT, B. L., S. CACCIÒ, F. GHERLINZONI, H. ASPÖCK, S. B. SLEMENDA, P. P. PICCALUGA, G. MARTINELLI, R. EDELHOFER, U. HOLLENSTEIN, G. POLETTI, S. PAMPIGLIONE, K. LÖSCHENBERGER, S. TURA, N. J. PIENIAZEK (2003): Molecular characterization of a non-*Babesia divergens* organism causing zoonotic babesiosis in Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 9, 943–948.

HILDEBRANDT, A., K. P. HUNFELD, M. BAIER, A. KRUMBHOLZ, S. SACHSE, T. LORENZEN, M. KIEHNTOPF, H. J. FRICKE, E. STRAUBE (2007): First confirmed autochthonous case of human *Babesia microti* infection in Europe. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 26, 595-601.

HODŽIĆ, A., A. ALIĆ, H. P. FUEHRER, J. HARL, W. WILLE-PIAZZAI, G. G. DUSCHER (2015a): A molecular survey of vector-borne pathogens in red foxes (*Vulpes vulpes*) from Bosnia and Herzegovina. *Parasit. Vectors* 8, 88.

DOI: 10.1186/S13071-015-0692-X

HODŽIĆ, A., R. CÉZANNE, G. G. DUSCHER, J. HARL, W. GLAWISCHNIG, H. P. FUEHRER (2015b): *Candidatus* Neoehrlichia sp. in an Austrian fox is distinct from *Candidatus* Neoehrlichia mikurensis, but closer related to *Candidatus* Neoehrlichia lotoris. *Parasit. Vectors* 8, 539.

DOI: 10.1186/s13071-015-1163-0.

HODŽIĆ, A., H. P. FUEHRER, G. G. DUSCHER (2017): First molecular evidence of zoonotic bacteria in ticks in Bosnia and Herzegovina. *Transbound. Emerg. Dis.* 64, 1313-1316.

HODŽIĆ, A., A. ALIĆ, R. BECK, A. BECK, D. HUBER, D. OTRANTO, G. BANETH, G. G. DUSCHER (2018a): *Hepatozoon martis* n. sp. (*Adeleorina: Hepatozoidae*): Morphological and pathological features of a *Hepatozoon* species infecting martens (Family *Mustelidae*). *Ticks Tick Borne Dis.* 9, 912-920.

HODŽIĆ, A., A. ALIĆ, G. G. DUSCHER (2018b): High diversity of blood-associated

parasites and bacteria in European wild cats in Bosnia and Herzegovina: A molecular study. *Ticks Tick Borne Dis.* 9, 589-893.

HOFMANN-LEHMANN, R., M. L. MELI, U. M. DREHER, E. GÖNCZI, P. DEPLAZES, U. BRAUN, M. ENGELS, J. SCHÜPBACH, K. JÖRGER, R. THOMA, C. GRIOT, K. D. STÄRK, B. WILLI, J. SCHMIDT, K. M. KOCAN, H. LUTZ (2004): Concurrent infections with vector-borne pathogens associated with fatal hemolytic anemia in a cattle herd in Switzerland. *J. Clin. Microbiol.* 42, 3775-3780.

HOLLER, J. G., D. RÖSER, H. VEDEL NIELSEN, S. EICKHARDT, M. CHEN, A. LESTER, D. BANG, C. FRANDBSEN, K. P. DAVID(2013): A case of human babesiosis in Denmark. *Travel. Med. Infect. Dis.* 11, 324-328.

HONIG, V., H. E. CAROLAN, Z. VAVRUSKOVA, C. MASSIRE, M. R. MOSEL, C. D. CROWDER, M. A. ROUNDS, D. J. ECKER, D. RUZEK, L. GRUBHOFFER, B. J. LUFT, M. W. ESHOO (2017): Broad-range survey of vector-borne pathogens and tick host identification of *Ixodes ricinus* from Southern Czech Republic. *FEMS Microbiol. Ecol.* 93, fix129.

DOI: 10.1093/femsec/fix129

HOOGSTRAAL, H., A. AESCHLIMANN (1982): Tick-host specificity. *Bulletin de la Société Entomologique Suisse* 55, 5-32.

HORNOK, S., G. FÖLDVÁRI, V. ELEK, V. NARANJO, R. FARKAS, J. DE LA FUENTE (2008): Molecular identification of *Anaplasma marginale* and rickettsial endosymbionts in blood-sucking flies (Diptera: Tabanidae, Muscidae) and hard ticks (Acari:Ixodidae). *Vet Parasitol.* 154, 354–9.

HORNOK, S., A. MICSUTKA, I. G. FERNÁNDEZ DE MERA, M. L. MELI, E. GÖNCZI, B. TÁNCZOS, A. J.MANGOLD, R. FARKAS, H. LUTZ, R. HOFMANN-LEHMANN, J. DE LA FUENTE (2012): Fatal bovine anaplasmosis in a herd with new genotypes of *Anaplasma marginale*, *Anaplasma ovis* and concurrent haemoplasmosis. *Res. Vet. Sci.* 92, 30-35.

HORNOK, S., J. FUENTE, G. HORVÁTH, I. G. FERNÁNDEZ DE MERA, M. WIJNVELD, B. TÁNCZOS, R. FARKAS, F. JONGEJAN (2013): Molecular evidence of *Ehrlichia canis* and *Rickettsia massiliae* in ixodid ticks of carnivores from South Hungary. *Acta. Vet. Hung.*61, 42-50.

HORNOK, S., A. MESTER, N. TAKÁCS, I. G. FERNÁNDEZ DE MERA, J. DE LA FUENTE, R. FARKAS (2014a): Re-emergence of bovine piroplasmosis in Hungary: has the

etiological role of *Babesia divergens* been taken over by *B. major* and *Theileria buffeli*? Parasit. Vectors 7, 434.

DOI: 10.1186/1756-3305-7-434

HORNOK, S., G. ABICHU, M. L. MELI, B. TÁNCZOS, K. M. SULYOK, M. GYURANECZ, E. GÖNCZI, R. FARKAS, R. HOFMANN-LEHMANN (2014b): Influence of the biotope on the tick infestation of cattle and on the tick-borne pathogen repertoire of cattle ticks in Ethiopia. PLoS One 9, e106452.

DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0106452

HORNOK, S., N. TAKÁCS, J. KONTSCHÁN, Z. GYÖRGY, A. MICSUTKA, S. ICETON, B. FLAISZ, R. FARKAS, R. HOFMANN-LEHMANN (2015): Diversity of *Haemaphysalis*-associated piroplasms of ruminants in Central-Eastern Europe, Hungary. Parasit. Vectors 8, 627.

DOI:10.1186/s13071-015-1236-0

HORNOK, S., Y. WANG, D. OTRANTO, A. KESKIN, R. P. LIA, J. KONTSCHÁN, N. TAKÁCS, R. FARKAS, A. D. SÁNDOR (2016a): Phylogenetic analysis of *Haemaphysalis erinacei* Pavesi, 1884 (Acari: Ixodidae) from China, Turkey, Italy and Romania. Parasit. Vectors 9, 643.

DOI: 10.1186/s13071-016-1927-1

HORNOK, S., B. FLAISZ, N. TAKACS, J. KONTSCHAN, T. CSORGO, A. CSIPAK, B. R. JAKSA, D. KOVATS (2016b): Bird ticks in Hungary reflect western, southern, eastern flyway connections and two genetic lineages of *Ixodes frontalis* and *Haemaphysalis concinna*. Parasit. Vectors 9, 101.

DOI: 10.1186/S13071-016-1365-0

HORNOK, S., K. SZÓKE, D. KOVÁTS, P. ESTÓK, T. GÖRFÖL, S. A.BOLDOGH, N. TAKÁCS, J. KONTSCHÁN, G. FÖLDVÁRI, L. BARTI, A. CORDUNEANU, A. D. SÁNDOR(2016c): DNA of piroplasms of ruminants and dogs in *Ixodid* Bat Ticks. PLoSOne 11, e0167735.

DOI: 10.1371/journal.pone.0167735

HORNOK, S., A. D. SÁNDOR, S. TOMANOVIĆ, R. BECK, G. D'AMICO, J. KONTSCHÁN, N. TAKÁCS, T. GÖRFÖL, M. L. BENDJEDDOU, G. FÖLDVÁRI, R. FARKAS (2017a): East and west separation of *Rhipicephalus sanguineus* mitochondrial lineages in the Mediterranean Basin. Parasit. Vectors 10, 39.

DOI: 10.1186/s13071-017-1985-z

HORNOK, S., A. D. SÁNDOR, R. BECK, R. FARKAS, L. BEATI, J. KONTSCHÁN, N. TAKÁCS, G. FÖLDVÁRI, C. SILAGHI, E. MEYER-KAYSER, A. HODŽIĆ, S. TOMANOVIĆ, S. ABDULLAH, R. WALL, A. ESTRADA-PEÑA, G. G. DUSCHER, O. PLANTARD (2017b): Contributions to the phylogeny of *Ixodes (Pholeoixodes) canisuga*, *I. (Ph.) kaiseri*, *I. (Ph.) hexagonus* and a simple pictorial key for the identification of their females. *Parasit. Vectors* 10, 545.

DOI:10.1186/s13071-017-2424-x

HORNOK, S., L. SUGÁR, G. HORVÁTH, T. KOVÁCS, A. MICSUTKA, E. GÖNCZI, B. FLAISZ, N. TAKÁCS, R. FARKAS, M. L. MELI, R. HOFMANN-LEHMANN(2017c): Evidence for host specificity of *Theileria capreoli* genotypes in cervids. *Parasit. Vectors* 10, 473.

DOI: 10.1186/s13071-017-2403-2

HORNOK, S., M. L. MELI, E. GÖNCZI, R. HOFMANN-LEHMANN (2017d): Seasonally biased or single-habitat sampling is not informative on the real prevalence of *Dermacentor reticulatus*-borne rickettsiae - A pilot study. *Acta Vet. Hung.* 65, 81-88.

HORNOK, S., G. HORVÁTH, N. TAKÁCS, R. FARKAS, K. SZŐKE, J. KONTSCHÁN (2018a): Molecular evidence of a badger-associated *Ehrlichia* sp., a *Candidatus* Neoehrlichia lotoris-like genotype and *Anaplasma marginale* in dogs. *Ticks Tick Borne Dis.* 9, 1032-1039.

HORNOK, S., G. HORVÁTH, N. TAKÁCS, J. KONTSCHÁN, K. SZŐKE, R. FARKAS (2018): Molecular identification of badger-associated *Babesia* sp. DNA in dogs: updated phylogeny of piroplasms infecting Caniformia. *Parasit. Vectors* 11, 235. DOI: 10.1186/s13071-018-2794-8.

HORNOK, S., A. GRIMA, N. TAKÁCS, S. SZEKERES, J. KONTSCHÁN (2020a): First records and molecular-phylogenetic analyses of three tick species (*Ixodes kaiseri*, *Hyalomma lusitanicum* and *Ornithodoros coniceps*) from Malta. *Ticks Tick Borne Dis.* 11, 101379.

doi: 10.1016/j.ttbdis.2020.101379 f

HORNOK, S., A. D. SÁNDOR, G. FÖLDVÁRI, A. M. IONICĂ, C. SILAGHI, N. TAKÁCS, A. M. SCHÖTTA, M. WIJNVELD (2020b): First broad-range molecular screening of tick-borne pathogens in *Ixodes (Pholeoixodes) kaiseri*, with special emphasis on piroplasms. *Acta Vet. Hung.* DOI: 10.1556/004.2020.00003.

HRAZDILOVÁ, K., M. RYBÁŘOVÁ, P. ŠIROKÝ, J. VOTÝPKA, A. ZINTL, H. BURGESS, V. STEINBAUER, V. ŽÁKOVČÍK, D. MODRÝ (2020): Diversity of *Babesia* spp. in cervid ungulates based on the 18S rDNA and cytochrome c oxidase subunit I phylogenies. *Inf. Gen. Evol.* 77, 104060.

DOI: 10.1016/j.meegid.2019.104060

HUBER, D., I. REIL, S. DUVNJAK, D. JURKOVIĆ, D. LUKAČEVIĆ, M. PILAT, A. BECK, Ž. MIHALJEVIĆ, L. VOJTA, A. POLKINGHORNE, R. BECK (2017): Molecular detection of *Anaplasma platys*, *Anaplasma phagocytophilum* and *Wolbachia* sp. but not *Ehrlichia canis* in Croatian dogs. *Parasitol. Res.* 116, 3019-3026.

INOKUMA, H., M. OKUDA, K. OHNO, K. SHIMODA, T. ONISHI (2002): Analysis of the 18S rRNA gene sequence of a *Hepatozoon* detected in two Japanese dogs. *Vet. Parasitol.* 106, 265-271.

IONITA, M., I. L. MITREA, K. PFISTER, D. HAMEL, C. SILAGHI (2013): Molecular evidence for bacterial and protozoan pathogens in hard ticks from Romania. *Vet. Parasitol.* 71-76.

IONITA, M., C. SILAGHI, I. L. MITREA, S. EDOUARD, P. PAROLA, K. PFISTER (2016): Molecular detection of *Rickettsia conorii* and other zoonotic spotted fever group rickettsiae in ticks, Romania. *Ticks Tick Borne Dis.* 7, 150-153.

IORI, A., S. GABRIELLI, P. CALDERINI, A. MORETTI, M. PIETROBELLI, M. P. TAMPIERI, R. GALUPPI, G. CANCRINI (2010): Tick reservoirs for piroplasms in central and northern Italy. *Vet. Parasitol.* 170, 291–296.

ISMAIL, N., J. W. MCBRIDE (2017): Tick-Borne Emerging Infections: Ehrlichiosis and Anaplasmosis. *Clin. Lab. Med.* 37, 317-340.

JAARSMA, R. I., H. SPRONG, K. TAKUMI, M. KAZIMIROVA, C. SILAGHI, A. MYSTERUD, I. RUDOLF, R. BECK, G. FÖLDVÁRI, L. TOMASSONE, M. GROENEVELT, R. R. EVERTS, J. M. RIJKS, F. ECKE, B. HÖRNFELDT, D. MODRÝ, K. MAJEROVÁ, J. VOTÝPKA, A. ESTRADA-PEÑA (2019): *Anaplasma phagocytophilum* evolves in geographical and biotic niches of vertebrates and ticks. *Parasit. Vectors* 12, 328. DOI: 10.1186/S13071-019-3583-8

JADO, I., J. A. OTEO, M. ALDÁMIZ, H. GIL, R. ESCUDERO, V. IBARRA, J. PORTU, A. PORTILLO, M. J. LEZAUN, C. GARCÍA-AMIL, I. RODRÍGUEZ-MORENO, P. ANDA (2007): *Rickettsia monacensis* and human disease, Spain. *Emerg. Infect. Dis.* 13, 1405–1407.

JAHFARI, S., E. C. COIPAN, M. FONVILLE, A. D. VAN LEEUWEN, P. HENGEVELD, D. HEYLEN, P. HEYMAN, C. VAN MAANEN, C. M. BUTLER, G. FÖLDVÁRI, S. SZEKERES, G. VAN DUIJVENDIJK, W. TACK, J. M. RIJKS, J. VAN DER GIESSEN, W. TAKKEN, S. E. VAN WIEREN, K. TAKUMI, H. SPRONG (2014): Circulation of four *Anaplasma phagocytophilum* ecotypes in Europe. *Parasit. Vectors* 7, 365. DOI: 10.1186/1756-3305-7-365



JAHFARI, S., S. C. RUYTS, E. FRAZER-MENDELEWSKA, R. JAARSMA, K. VERHEYEN, H. SPRONG (2017): 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* 10, 134.

DOI: 10.1186/S13071-017-2065-0

JEFFERIES, R., U. M. RYAN, J. JARDINE, D. K. BROUGHTON, I. D. ROBERTSON, P. J. IRWIN (2007): Blood, Bull Terriers and Babesiosis: further evidence for direct transmission of *Babesia gibsoni* in dogs. *Aust. Vet. J.* 85, 459–463.

JEMERŠIĆ, L., D. DEŽDEK, D. BRNIĆ, J. PRPIĆ, Z. JANICKI, T. KEROS, B. ROIĆ, A. SLAVICA, S. TERZIĆ, D. KONJEVIĆ, R. BECK (2014): Detection and genetic characterization of tick-borne encephalitis virus (TBEV) derived from ticks removed from red foxes (*Vulpes vulpes*) and isolated from spleen samples of red deer (*Cervus elaphus*) in Croatia. *Ticks Tick Borne Dis.* 5, 7-13.

JOUGLIN, M., B. BLANC, N. DE LA COTTE, S. BASTIAN, K. ORTIZ, L. MALANDRIN (2019): First detection and molecular identification of the zoonotic *Anaplasma capra* in deer in France. *PLoS One* 14, e0219184.

DOI: 10.1371/journal.pone.0219184

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

JONGEJAN, F., M. RINGENIER, M. PUTTING, L. BERGER, S. BURGERS, R. KORTEKAAS, J. LENSSEN, M. VAN ROESSEL, M. WIJNVELD, M. MADDER (2015): Novel foci of *Dermacentor reticulatus* ticks infected with *Babesia canis* and *Babesia caballi* in the Netherlands and in Belgium. *Parasit. Vectors* 8, 232.

DOI: 10.1186/s13071-015-0841-2

JOHNSON, E. M., S. A. EWING, R. W. BARKER, J. C. FOX, D. W. CROW, K. M. KOCAN (1998): Experimental transmission of *Ehrlichia canis* (Rickettsiales: Ehrlichieae) by *Dermacentor variabilis* (Acari: Ixodidae). *Vet. Parasitol.* 74, 277-288.

JORE, S., H. VILJUGREIN, M. HOFSHAGEN, H. BRUN-HANSEN, A. B. KRISTOFFERSEN, K. NYGARD, E. BRUN, P. OTTESEN, B. K. SAEVIK, B. YTREHUS (2011): Multi-source analysis reveals latitudinal and altitudinal shifts in range of *Ixodes ricinus* at its northern distribution limit. *Parasit. Vectors* 4, 84.

DOI: 10.1186/1756-3305-4-84

JURKOVIĆ, D., A. BECK, D. HUBER, Ž. MIHALJEVIĆ, A. POLKINGHORNE, F. MARTINKOVIĆ, D. LUKAČEVIĆ, M. PILAT, R. BREZAK, S. BOSNIĆ, R. BECK

(2019a): Seroprevalence of vector-borne pathogens in dogs from Croatia. *Parasitol. Res.* 118, 347-352.

JURKOVIĆ, D., V. A. CSIK, B. REBSELJ, A. PETAK, M. STUBLIĆ, R. BECK (2019b): First report of *Babesia gibsoni* and *Babesia vulpes* in symptomatic dogs from Croatia: from clinics to therapy. Book of Abstracts 8th International Congress "Veterinary Science and Profession", 10.-12. listopad, Veterinarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, str. 87-87.

JURKOVIĆ, D., Ž. MIHALJEVIĆ, S. DUVNJAK, C. SILAGHI, R. BECK (2020): First reports of indigenous lethal infection with *Anaplasma marginale*, *Anaplasma bovis* and *Theileria orientalis* in Croatian cattle. *Ticks Tick Borne Dis.* 11, 101469.

DOI: 10.1016/j.ttbdis.2020.101469

JUWAID, S., R. SUKARA, A. PENEZIĆ, D. MIHALJICA, G. VEINOVIĆ, N. G. KAVALLIERATOS, D. ČIROVIĆ, S. TOMANOVIĆ (2019): First evidence of tick-borne protozoan pathogens, *Babesia* sp. and *Hepatozoon canis* in red foxes (*Vulpes vulpes*) in Serbia. *Acta Vet. Hung.* 67, 70-80.

KALMÁR, Z., H. SPRONG, A. D. MIHALCA, C. M. GHERMAN, M. O. DUMITRACHE, E. C. COIPAN, M. FONVILLE, V. COZMA (2016): *Borrelia miyamotoi* and *Candidatus Neohrlichia mikurensis* in *Ixodes ricinus* Ticks, Romania. *Emerg. Infect. Dis.* 22, 550-551.

KARASARTOVA, D., A. S. GURESER, T. GOKCE, B. CELEBI, D. YAPAR, A. KESKIN, S. CELIK, Y. ECE, A. K. ERENLE, S. USLUCA, K. Y. MUMCUOGLU, A. TAYLAN-OZKAN (2018): Bacterial and protozoal pathogens found in ticks collected from humans in Corum province of Turkey. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 12, e0006395.

DOI: 0.1371/JOURNAL.PNTD.0006395

KARBOWIAK, G., B. VICHOVÁ, K. SLIVINSKA, J. WERSZKO, J. DIDYK, B. PEŤKO, M. STANKO, I. AKIMOV (2014): The infection of questing *Dermacentor reticulatus* ticks with *Babesia canis* and *Anaplasma phagocytophilum* in the Chernobyl exclusion zone. *Vet. Parasitol.* 204, 372-375.

KARBOWIAK, G., K. SLIVINSKA, T. CHMIELEWSKI, K. BARSZCZ, S. TYLEWSKA-WIERZBANOWSKA, J. WERSZKO (2016): *Rickettsia raoultii* in *Dermacentor reticulatus* ticks, Chernobyl Exclusion Zone, Ukraine. *Emerg. Infect. Dis.* 22, 12.

DOI: 10.3201/eid2212.160678

KARBOWIAK, G., M. STANKO, M. MITERPAKOVÁ, Z. HURNÍKOVÁ, B. VÍCHOVÁ (2020): Ticks (Acari: Ixodidae) parasitizing red foxes (*Vulpes vulpes*) in Slovakia and new data about subgenus *Pholeoixodes* occurrence. Acta Parasitol. 65

KAUFFMANN, M., S. REHBEIN, D. HAMEL, W. LUTZ, M. HEDDERGOTT, K. PFISTER, C. SILAGHI (2017): *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia* spp. in roe deer (*Capreolus capreolus*), fallow deer (*Dama dama*) and mouflon (*Ovis musimon*) in Germany. Mol. Cell. Probes. 31, 46-54.

KAZIMÍROVÁ, M., Z. HAMŠÍKOVÁ, E. ŠPITALSKÁ, L. MINICHOVÁ, L. MAHRÍKOVÁ, R. CABAN, H. SPRONG, M. FONVILLE, L. SCHNITTGER, E. KOCIANOVÁ (2018): Diverse tick-borne microorganisms identified in free-living ungulates in Slovakia. Parasit. Vectors 11, 495.

DOI: 10.1186/s13071-018-3068-1

KEIM, P., A. JOHANSSON, D. M. WAGNER (2007): Molecular epidemiology, evolution, and ecology of *Francisella*. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1105, 30-66.

KENEDY, M. R., T. R. LENHART, D. R. AKINS (2012): The role of *Borrelia burgdorferi* outer surface proteins. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 66, 1–19.

KIEWRA, D., A. CZULOWSKA, E. LONC (2016): Winter activity of *Dermacentor reticulatus* (Fabricius, 1794) in the newly emerging population of Lower Silesia, south-west Poland. Ticks Tick Borne Dis. 7, 1124-1127.

KJÆR, L. J., A. SOLENG, K. S. EDGAR, H. E. LINDSTEDT, K. MØRK PAULSEN, Å. K. ANDREASSEN, L. KORSLUND, V. KJELLAND, A. SLETTAN, S. STUEN, P. KJELLANDER, M. CHRISTENSSON, M. TERÄVÄINEN, A. BAUM, A. ISBRAND, L. M. JENSEN, K. KLITGAARD, R. BØDKER (2016): A large-scale screening for the taiga tick, *Ixodes persulcatus*, and the meadow tick, *Dermacentor reticulatus*, in southern Scandinavia. Parasit. Vectors 12, 338.

DOI: 10.1186/s13071-019-3596-3

KLOCH, A., E. J. MIERZEJEWSKA, G. KARBOWIAK, K. SLIVINSKA, M. ALSARRAF, A. RODO, M. KOWALEC, D. DWUŻNIK, Y. M. DIDYK, A. BAJER (2017): Origins of recently emerged foci of the tick *Dermacentor reticulatus* in central Europe inferred from molecular markers. Vet. Parasitol. 237, 63-69.

KOCAN, K. M., J. DE LA FUENTE, E. F. BLOUIN, J. F. COETZEE, S. A. EWING (2010): The natural history of *Anaplasma marginale*. Vet. Parasitol. 167, 95-107.

KOHN, M., J. KRÜCKEN, J. MCKAY DEMELERA, S. PACHNICK, K. KRIEGER, G. SAMSON-HIMMELSTJERN (2019): *Dermacentor reticulatus* in Berlin/Brandenburg (Germany): Activity patterns and associated pathogens. *Ticks Tick Borne Dis.* 10, 191-206.

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

KRČMAR, S., M. VEREŠ, T. TRILAR (2014): Fauna tvrdih krpelja (Acari: Ixodidae) različitih staništa u hrvatskom dijelu Baranje. *Šumarski list* 5-6, 309-314.

KRČMAR, S. (2019): Diversity, ecology and seasonality of hard ticks (Acari: Ixodidae) in eastern Croatia. *J. Vector. Ecol.* 44, 18-29.

KREIZINGER, Z., S. HORNOK, Á. DÁN, S. HRESKO, L. MAKRAI, T. MAGYAR, M. BHIDE, K. ERDÉLYI, R. HOFMANN-LEHMANN, M. GYURANECZ (2013): Prevalence of *Francisella tularensis* and *Francisella*-like endosymbionts in the tick population of Hungary and the genetic variability of *Francisella*-like agents. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 13, 160–163.

KUBIAK, K., J. DZIEKOŃSKA-RYNKO, H. SZYMAŃSKA, D. KUBIAK, M. DMITRYJUK, E. DZIKA (2019): Questing *Ixodes ricinus* ticks (Acari, Ixodidae) as a vector of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Borrelia miyamotoi* in an urban area of north-eastern Poland. *Exp. Appl. Acarol.* 78, 113-126.

KUMSA, B., M. SIGNORINI, S. TESHALE, C. TESSARIN, R. DUGUMA, D. AYANA, M. MARTINI, R. CASSINI (2014): Molecular detection of piroplasms in ixodid ticks infesting cattle and sheep in western Oromia, Ethiopia. *Trop. Anim. Health. Prod.* 46, 27–31.

LABUDA, M., P. A. NUTTALL, O. KOŽUCH, E. ELECKOVÁ, T. WILLIAMS, E. ZUFFOVÁ, A. SABÓ (1993): Non-viraemic transmission of tick-borne encephalitis virus: a mechanism for arbovirus survival in nature. *Experientia* 49, 802–805.

LATROFA, M. S., A. GIANNELLI, M. F. PERSICHETTI, M. G. PENNISI, L. SOLANO-GALLEGO, E. BRIANTI, A. PARISI, R. WALL, F. DANTAS-TORRES, D. OTRANTO (2017): *Ixodes ventalloi*: Morphological and molecular support for species integrity. *Parasitol. Res.* 116, 251-258.

LEMPEREUR, L., A. DE CAT, Y. CARON, M. MADDER, E. CLAEREBOU, C. SAEGERMAN, B. LOSSON (2011): First molecular evidence of potentially zoonotic *Babesia microti* and *Babesia* sp. EU1 in *Ixodes ricinus* ticks in Belgium. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 11, 125-130.

LEMPEREUR L., M. WIRTGEN, A. NAHAYO, Y. CARON, B. SHIELS, C. SAEGERMAN, B. LOSSON, A. LINDEN (2012): Wild cervids are host for tick vectors of

*Babesia* species with zoonotic capability in Belgium. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 12, 275-280.

LI, H., Y. C. ZHENG, L. MA, N. JIA, B. G. JIANG, R. R. JIANG, Q. B. HUO, Y. W. WANG, H. B. LIU, Y. L. CHU, Y. D. SONG, N. N. YAO, T. SUN, F. Y. ZENG, J. S. DUMLER, J. F. JIANG, W. C. CAO (2015): Human infection with a novel tick-borne *Anaplasma* species in China: a surveillance study. *Lancet Infect. Dis.* 15, 663-70.

LIVANOVA, N. N., N. V. FOMENKO, I. A. AKIMOV, M. J. IVANOV, N. V. TIKUNOVA, R. ARMSTRONG, S. V. KONYAEV (2018): Dog survey in Russian veterinary hospitals: tick identification and molecular detection of tick-borne pathogens. *Parasit. Vectors* 11, 591.

DOI: 10.1186/s13071-018-3161-5

LOMMANO, E., L. BERTAIOLA, C. DUPASQUIER, L. GERN (2012): Infections and coinfections of questing *Ixodes ricinus* ticks by emerging zoonotic pathogens in Western Switzerland. *Appl. Environ. Microbiol.* 78, 4606–4612.

LV, J., S. WU, Y. ZHANG, Y. CHEN, C. FENG, X. YUAN, G. JIA, J. DENG, C. WANG, Q. WANG, L. MEI, X. LIN (2014a): Assessment of four DNA fragments (COI, 16S rDNA, ITS2, 12S rDNA) for species identification of the Ixodida (Acari: Ixodida). *Parasit. Vectors* 7, 93.

DOI: 10.1186/1756-3305-7-93

LV, J., S. WU, Y. ZHANG, T. ZHANG, C. FENG, G. JIA, X. LIN (2014b): Development of a DNA barcoding system for the Ixodida (Acari: Ixodida). *Mitochondrial DNA.* 25, 142-149.

MADEDDU, G., F. MANCINI, A. CADDEO, A. CIERVO, S. BABUDIARI, I. MAIDA, M. L. FIORI, G. REZZA, M. S. MURA (2012): *Rickettsia monacensis* as cause of Mediterranean Spotted Fever-like Illness, Italy. *Emerg. Infect. Dis.* 18, 702–704.

MAIA, C., A. FERREIRA, M. NUNES, M. L. VIEIRA, L. CAMPINO, L. CARDOSO (2014a): Molecular detection of bacterial and parasitic pathogens in hard ticks from Portugal. *Ticks Tick Borne Dis.* 5, 409-414.

MAIA, C., C. RAMOS, M. COIMBRA, F. BASTOS, Â. MARTINS, P. PINTO, M. NUNES, M. L. VIEIRA, L. CARDOSO, L. CAMPINO (2014b): Bacterial and protozoal agents of feline vector-borne diseases in domestic and stray cats from southern Portugal. *Parasit. Vectors* 7, 115.

DOI: 10.1186/1756-3305-7-115

MALTEZOU, H. C., L. ANDONOVA, R. ANDRAGHETTI, M. BOULOY, O. ERGONUL, F. JONGEJAN, N. KALVATCHEV, S. NICHOL, M. NIEDRIG, A. PLATONOV, G. THOMSON, K. LEITMEYER, H. ZELLER (2010): Crimean-Congo hemorrhagic fever in Europe: current situation calls for preparedness. *Euro Surveill.* 15, 19504. <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/ese.15.10.19504-en>

MANNA, G., A. CERSINI, R. NARDINI, L. E. B. DEL PINO, V. ANTOGNETTI, M. ZINI, R. CONTI, R. LORENZETTI, V. VENEZIANO, G. L. AUTORINO, M. T. SCICLUNA (2018): Genetic diversity of *Theileria equi* and *Babesia caballi* infecting horses of Central-Southern Italy and preliminary results of its correlation with clinical and serological status. *Ticks Tick Borne Dis.* 9, 1212-1220.

MANS, B. J., D. DE KLERK, R. PIENAAR, A. A. LATIF (2011): *Nuttalliella namaqua*: A Living Fossil and Closest Relative to the Ancestral Tick Lineage: Implications for the Evolution of Blood-Feeding in Ticks. *PLoS One* 6, e23675.

DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0023675

MANS, B. J., R. PIENAAR, A. A. LATIFA (2015): A review of *Theileria* diagnostics and epidemiology. *Int. J. Parasitol. Parasites Wildl.* 4, 104–118.

MARICONTI, M., S. EPIS, P. GAIBANI, C. DALLA VALLE, D. SASSERA, P. TOMAO, M. FABBI, F. CASTELLI, P. MARONE, V. SAMBRI, C. BAZZOCCHI, C. BANDI (2012): Humans parasitized by the hard tick *Ixodes ricinus* are seropositive to *Midichloria mitochondrii*: is *Midichloria* a novel pathogen, or just a marker of tick bite? *Pathog. Glob. Health.* 106, 391–396.

MÁRQUEZ, F. J. (2008): Spotted fever group *Rickettsia* in ticks from southeastern Spain natural parks. *Exp. Appl. Acarol.* 45, 185–194.

MASUZAWA, T., T. KOMIKADO, A. IWAKI, H. SUZUKI, K. KANEDA, Y. YANAGIHARA (1996): Characterization of *Borrelia* sp. isolated from *Ixodes tanuki*, *I. turdus* and *I. columnae* in Japan by restriction fragment length polymorphism of rrf (5S)-rrl (23S) intergenic spacer amplicons. *FEMS Microbiol. Lett.* 142, 77-83.

MASUZAWA, T., I. G. KHARITONENKOV, Y. OKAMOTO, T. FUKUI, (2008): Prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* and its coinfection with *Borrelia afzelii* in *Ixodes ricinus* and *Ixodes persulcatus* ticks inhabiting TverProvince (Russia)-a sympatric region for both tick species. *J. Med. Microbiol.* 57, 986–991.

MATEI, A., A. ESTRADA-PEÑA, S. J. CUTLER, M. VAYSSIER-TAUSSAT, L. VARELA-CASTRO, A. POTKONJAK, H. ZELLER, A. D. MIHALCA (2019): A review on

the eco-epidemiology and clinical management of human granulocytic anaplasmosis and its agent in Europe. *Parasit. Vectors* 12, 599.

DOI: 10.1186/s13071-019-3852-6

MATERNA, M. D., L. METELKA, J. HARČARIK (2008): The vertical distribution, density and the development of the tick *Ixodes ricinus* in mountain areas influenced by climate changes (The Krkonoše Mts., Czech Republic). *Int. J. Med. Microbiol.* 298, 25-37.

MATHISON, B. A., PRITT B. S. (2014): Laboratory identification of arthropod ectoparasites. *Clin. Microbiol. Rev.* 27, 48–67.

MATIJATKO, V., V. MRLJAK, I. KIŠ, N. KUČER, J. FORŠEK, T. ŽIVIČNJAK, Ž. ROMIĆ, Z. ŠIMEC, J. J. CERON (2007): Evidence of an acute phase response in dogs naturally infected with *Babesia canis*. *Vet. Parasitol.* 144, 242–250.

MEDLOCK, J. M., K. M. HANSFORD, A. BORMANE, M. DERDAKOVA, A. ESTRADA-PEÑA, J. C. GEORGE, I. GOLOVLJOVA, T. G. T. JAENSON, J. K. JENSEN, P. M. JENSEN, M. KAZIMIROVA, J. A. OTEO, A. PAPA, K. PFISTER, O. PLANTARD, S. E. RANDOLPH, A. RIZZOLI, M. M. SANTOS-SILVA, H. SPRONG, L. VIAL, G. HENDRICKX, H. ZELLER, W. VAN BORTEL (2013): Driving forces for changes in geographical distribution of *Ixodes ricinus* ticks in Europe. *Parasit. Vectors* 6, 11.

DOI: 10.1186/1756-3305-6-1

MEKATA, H., T. MINAMINO, Y. MIKURINO, M. YAMAMOTO, A. YOSHIDA, N. NONAKA, Y. HORII (2018): Evaluation of the natural vertical transmission of *Theileria orientalis*. *Vet. Parasitol.* 263, 1-4.

MICHELET, L., G. JONCOUR, E. DEVILLERS, A. TORINA, M. VAYSSIER-TAUSSAT, S. I. BONNET, S. MOUTAILLER (2016): Tick species, tick-borne pathogens and symbionts in an insular environment off the coast of Western France. *Ticks Tick Borne Dis.* 7, 1109-1115.

MILETIĆ-MEDVED, M., O. ĐAKOVIĆ-RODE, L. CVETKO-KRAJINOVIĆ, A. MARKOVIĆ (2011): Krpeljni meningoencefalitits u Hrvatskoj srednjoj Posavini: seroepidemiološko ispitivanje u šumskih radnika. *Infektološki glasnik* 31, 87-94.

MILHANO, N., I. LOPES DE CARVALHO, A. S. ALVES, S. ARROUBE, J. SOARES, P. RODRIGUEZ, M. CAROLINO, M. S. NÚNCIO, J. PIESMAN, R. DE SOUSA (2010): Coinfections of *Rickettsia slovaca* and *Rickettsia helvetica* with *Borrelia lusitaniae* in ticks collected in a Safari Park, Portugal. *Ticks Tick Borne Dis.* 1, 172–177.

MONIUSZKO-MALINOWSKA, A., I. SWIECICKA, J. DUNAJ, J. ZAJKOWSKA, P. CZUPRYNA, G. ZAMBROWSKI, J. CHMIELEWSKA-BADORA, W. ŻUKIEWICZ-

SOBCZAK, R. SWIERZBINSKA, K. RUTKOWSKI, A. GARKOWSKI, S. PANCEWICZ (2016): Infection with *Babesia microti* in humans with non-specific symptoms in North East Poland. *Infect. Dis.* 48, 537-543.

MONTAGNA. M., D. SASSERA, S. EPIS, C. BAZZOCCHI, C. VANNINI, N. LO, L. SACCHI, T. FUKATSU, G. PETRONI, C. BANDI (2013): “Candidatus Midichloriaceae” fam. nov. (Rickettsiales), an ecologically widespread clade of intracellular alphaproteobacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 79, 3241–3248.

MONTES CORTÉS, M. G., J. L. FERNÁNDEZ-GARCÍA, M. Á. H. MARTÍNEZ-ESTÉLLEZ (2019): A multinested PCR for detection of the equine piroplasmids *Babesia caballi* and *Theileria equi*. *Ticks Tick Borne Dis.* 10, 305-313.

MORAES-FILHO, J., A. MARCILI, F. A. NIERI-BASTOS, L. J. RICHTZENHAIN, M. B. LABRUNA (2011): Genetic analysis of ticks belonging to the *Rhipicephalus sanguineus* group in Latin America. *Acta Trop.* 117, 51–55.

MORAGA-FERNANDEZ, A., I. CHALIGIANNIS, A. CABEZAS-CRUZ, A. PAPA, S. SOTIRAKI, J. DE LA FUENTE, I. G. FERNÁNDEZ DE MERA (2019): Molecular identification of spotted fever group *Rickettsia* in ticks collected from dogs and small ruminants in Greece. *Exp. Appl. Acarol.* 78, 421-430.

MOVILA, A., A. MOROZOV, N. SITNICOVA (2013): Genetic polymorphism of 12s rRNA gene among *Dermacentor reticulatus* fabricius ticks in the Chernobyl nuclear power plant exclusion zone. *J. Parasitol.* 99, 40-43.

MRLJAK, V., J. KULEŠ, Ž. MIHALJEVIĆ, M. TORTI, J. GOTIĆ, M. CRNOGAJ, T. ŽIVIČNJAK, I. MAYER, I. ŠMIT, M. BHIDE, R. BARIĆ RAFAJ (2017): Prevalence and geographic distribution of vector-borne pathogens in apparently healthy dogs in Croatia. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 17, 398-408.

MULIĆ, R., N. MIHAJLOVIĆ, D. ROPAC, I. ZORIĆ, K. ALAMBASIĆ (2006b): Epidemiological characteristics of rickettsial diseases in Croatia. *Mil. Med.* 171, 64-68.

MULIĆ, R., B. PETKOVIĆ, Z. KLIŠMANIĆ, I. JERONČIĆ (2011): Bolesti koje se prenose krpeljima na području Hrvatske. *Liječnički vijesnik* 133, 89-95.

NADER, J., N. KRÓL, M. PFEFFER, V. OHLENDORF, M. MARKLEWITZ, C. DROSTEN, S. JUNGLÉN, A. OBIEGALA (2018): The diversity of tick-borne bacteria and parasites in ticks collected from the Strandja Nature Park in south-eastern Bulgaria. *Parasit. Vectors* 11, 165.

DOI: 10.1186/s13071-018-2721-z



NAJM, N. A., E. MEYER-KAYSER, L. HOFFMANN, I. HERB, V. FENSTERER, K. PFISTER, C. SILAGHI (2014a): A molecular survey of *Babesia* spp. and *Theileria* spp. in red foxes (*Vulpes vulpes*) and their ticks from Thuringia, Germany. *Ticks Tick Borne Dis.* 5, 386-391.

NAJM, N. A., E. MEYER-KAYSER, L. HOFFMANN, K. PFISTER, C. SILAGHI (2014b): *Hepatozoon canis* in German red foxes (*Vulpes vulpes*) and their ticks: molecular characterization and the phylogenetic relationship to other *Hepatozoon* spp. *Parasitol. Res.* 113, 2679-2685.

NAMINA, A., V. CAPLIGINA, M. SELEZNOVA, R. KRUMINS, D. ALEINIKOVA, A. KIVRANE, S. AKOPJANA, M. LAZOVSKA, I. BERZINA, R. RANKA (2019): Tick-borne pathogens in ticks collected from dogs, Latvia, 2011–2016. *BMC Vet. Res.* 15, 398.

DOI: 10.1186/S12917-019-2149-5

NARANJO, V., F. RUIZ-FONS, U. HÖFLE, I. G. FERNÁNDEZ DE MERA, D. VILLANÚA, C. ALMAZÁN, A. TORINA, S. CARACAPPA, K. M. KOCAN, C. GORTÁZAR, J. DE LA FUENTE (2006): Molecular epidemiology of human and bovine anaplasmosis in southern Europe. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1078, 95-99.

NAVA, S., M. MASTROPAOLO, J. M. VENZAL, A. J. MANGOLD, A. A. GUGLIELMONE (2012): Mitochondrial DNA analysis of *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (Acari: Ixodidae) in the Southern Cone of South America. *Vet. Parasitol.* 190, 547–555.

NAVA, S., L. BEATI, J. M. VENZAL, M. B. LABRUNA, M. P. J. SZABÓ, T. PETNEY, M. N. SARACHO-BOTTERO, E. L. TARRAGONA, F. DANTAS-TORRES, M. M. SANTOS SILVA, A. J. MANGOLD, A. A. GUGLIELMONE, A. ESTRADA-PEÑA (2018): *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806): Neotype designation, morphological re-description of all parasitic stages and molecular characterization. *Ticks Tick Borne Dis.* 9, 1573-1585.

NCBI (National Center for Biotechnology Information) (2020): *Ixodida*. Taxonomy Browser. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Undef&id=6935&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock> (pristupljeno: 07. travnja 2020.)

NICHOLSON, W. L., D. E. SOHESHINE, B. H. NODEN, R. N. BROWN (2019): Ticks (*Ixodida*): Internal Anatomy. U: *Medical and veterinary entomology* (Mullen, G. R., L. A. Durden. ur.), 3<sup>ed</sup>, Elsevier Inc, pp. 606-611.

NOUREDDINE, R., A. CHAUVIN, O. PLANTARD (2011): Lack of genetic structure among Eurasian populations of the tick *Ixodes ricinus* contrasts with marked divergence from north-African populations. *Int. J. Parasitol.* 41, 183-192.

NOVACCO, M., R. HOFMANN-LEHMANN, F. GRIMM, M. L. MELI, M. STIRN (2019): Fatal acute babesiosis associated with *Babesia venatorum* infection (*Babesia* sp. EU1) in a captive reindeer calf in Switzerland. *Vet. Parasitol. Reg. Stud. Reports* 18, 100336.

DOI: 10.1016/J.VPRSR.2019.100336

OBIEGALA, A., M. PFEFFER, K. PFISTER, C. KARNATH, C. SILAGHI (2015): Molecular examinations of *Babesia microti* in rodents and rodent-attached ticks from urban and sylvatic habitats in Germany. *Ticks Tick Borne Dis.* 6, 445-449.

OLIVIERI, E., S. A. ZANZANI, M. S. LATROFA, R. P. LIA, F. DANTAS-TORRES, D. OTRANTO, M. T. MANFREDI (2017a): The southernmost foci of *Dermacentor reticulatus* in Italy and associated *Babesia canis* infection in dogs. *Parasit. Vectors* 9, 213.

DOI: 10.1186/s13071-016-1502-9

OLIVIERI, E., A. L. GAZZONIS, S. A. ZANZANI, F. VERONESI, M. T. MANFREDI (2017b): Seasonal dynamics of adult *Dermacentor reticulatus* in a peri-urban park in southern Europe. *Ticks Tick Borne Dis.* 8, 772-779.

OECHSLIN, C. P., D. HEUTSCHI, N. LENZ, W. TISCHHAUSER, O. PÉTER, O. RAIS, C. M. BEURET, S. L. LEIB, S. BANKOUL, R. ACKERMANN-GÄUMANN (2017): Prevalence of tick-borne pathogens in questing *Ixodes ricinus* ticks in urban and suburban areas of Switzerland. *Parasit. Vectors* 10, 558.

DOI: 10.1186/s13071-017-2500-2

ORKUN, Ö., A. ÇAKMAK, S. NALBANTOĞLU, Z. KARAER (2020): Turkey tick news: A molecular investigation into the presence of tick-borne pathogens in host-seeking ticks in Anatolia; Initial evidence of putative vectors and pathogens, and footsteps of a secretly rising vector tick, *Haemaphysalis parva*. *Ticks Tick Borne Dis.* 3, 101373.

DOI: 10.1016/J.TTBDIS.2020.101373

ORKUN, O., H. EMIR (2020): Identification of tick-borne pathogens in ticks collected from wild animals in Turkey. *Parasitol. Res.* 119, 3083-3091.

OSWALD, B. (1940): Determination of Yugoslavian (Balkan) ticks (Ixodoidea). *Vet. Arhiv* 10, 297-304.

OSWALD, B. (1941a): On Yugoslavian (Balkan) ticks and their hosts. *Vet. Arhiv* 11, 160-165.

OSWALD, B. (1941b): Additional notes on the morphology and classification of ticks of the genera *Dermacentor* and *Haemaphysalis*. *Vet. Arhiv* 11, 201-220.

OVERZIER, E., K. PFISTER, I. HERB, M. MAHLING, G. BÖCK, C. SILAGHI (2013): Detection of tick-borne pathogens in roe deer (*Capreolus capreolus*), in questing ticks (*Ixodes*

*ricinus*), and in ticks infesting roe deer in southern Germany. Ticks Tick Borne Dis. 4, 320-328.

PALOMAR, A. M., A. PORTILLO, P. SANTIBÁÑEZ, D. MAZUELAS, L. RONCERO, L. GARCÍA-ÁLVAREZ, S. SANTIBÁÑEZ, O. GUTIÉRREZ, J. A. OTEO (2015): Detection of tick-borne *Anaplasma bovis*, *Anaplasma phagocytophilum* and *Anaplasma centrale* in Spain. Med. Vet. Entomol. 29, 349-353.

PANTCHEV, N., S. PLUTA, E. HUISINGA, S. NATHER, M. SCHEUFELN, M. GLOBOKAR VRHOVEC, A. SCHWEINITZ, H. HAMPEL, R. K. STRAUBINGER (2015): Tick-borne diseases (*Borreliosis*, *Anaplasmosis*, *Babesiosis*) in German and Austrian dogs: status quo and review of distribution, transmission, clinical findings, diagnostics and prophylaxis. Parasitol. Res. 114, S19–S54.

PAPA, A., K. TSIOKA, M. A. DASKOU, F. MINTI, E. PAPADOPOULOU, A. MELIDOU, N. GIADINIS (2020): Application of 16S rRNA next generation sequencing in ticks in Greece. Heliyon 6, e04542.

DOI: 10.1016/j.heliyon.2020.e04542

PAROLA, P., V. ROUX, J. L. CAMICAS, I. BARADJI, P. BROUQUI, D. RAOULT (2000): Detection of ehrlichiae in African ticks by polymerase chain reaction. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 94, 707-708.

PAROLA, P., C. D. PADDOCK, C. SOCOLOVSKI, M. B. LABRUNA, O. MEDIANNIKOV, T. KERNIF, M. Y. ABDAD, J. STENOS, I. BITAM, P. E. FOURNIER, D. RAOULT (2013): Update on tick-borne rickettsioses around the world: a geographic approach. Clin. Microbiol. Rev. 26, 657-702.

PAULAUSKAS, A., M. GALDIKAS, E. GALDIKAITĖ, M. BRAZIENĖ, S. OLAF, K. G. KARBOWIAK, J. RADZIJEVSKAJA (2018): Microsatellite-based genetic diversity of *Dermacentor reticulatus* in Europe. Infect. Genet. Evolut. 66, 200-209.

PAVLIDOU, V., S. GEROU, M. KAHRIMANIDOU, A. PAPA (2008): Ticks infesting domestic animals in northern Greece. Exp. Appl. Acarol. 45, 195-198.

DOI: 10.1007/S10493-008-9167-5

PENG, Y., K. WANG, S. ZHAO, Y. YAN, H. WANG, J. JING, F. JIAN, R. WANG, L. ZHANG, C. NING (2018): Detection and phylogenetic characterization of *Anaplasma capra*: an emerging pathogen in sheep and goats in China. Front. Cell. Infect. Microbiol. 8, 283.

DOI: 10.3389/fcimb.2018.00283

PEREIRA, A., R. PARREIRA, M. NUNES, A. CASADINHO, M. L. VIEIRA, L. CAMPINO, C. MAIA (2016): Molecular detection of tick-borne bacteria and protozoa in cervids and wild boars from Portugal. *Parasit. Vectors* 9, 251.

DOI: 10.1186/S13071-016-1535-0

PEREIRA, A., R. PARREIRA, A. J. COTÃO, M. NUNES, M. L. VIEIRA, F. AZEVEDO, L. CAMPINO, C. MAIA (2018): Tick-borne bacteria and protozoa detected in ticks collected from domestic animals and wildlife in central and southern Portugal. *Ticks Tick Borne Dis.* 9, 225-234.

PEREZ, M., M. BODOR, C. ZHANG, Q. XIONG, Y. RIKIHISA (2006): Human infection with *Ehrlichia canis* accompanied by clinical signs in Venezuela. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1078, 110-117.

PETNEY, T. N., M. P. PFÄFFLE, J. D. SKUBAILLA (2012): An annotated checklist of the ticks (Acari: Ixodida) of Germany. *Syst. Appl. Acarol.* 17, 115-170.

PINTUR, K. (2012a): Genska obilježja piroplazmi izoliranih iz cervida u Republici Hrvatskoj. Disertacija, Veterinarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Hrvatska.

PINTUR, K., R. BECK, I. BABIĆ, N. POPOVIĆ, T. FLORIJANČIĆ, K. KRAPINEC, I. BOŠKOVIĆ (2012b): Krpeljivost srneće divljači na području Gorskog Kotara. Proceedings of 47<sup>th</sup> and 7<sup>th</sup> International Symposium of Agriculture, 13.-17. veljače, Opatija, Hrvatska, pp. 619-623.

PLATONOV, A. E., L. S. KARAN, N. M. KOLYASNIKOVA, N. A. MAKHNEVA, M. G. TOPORKOVA, V. V. MALEEV, D. FISH, P. J. KRAUSE (2011): Humans infected with relapsing fever spirochete *Borrelia miyamotoi*, Russia. *Emerg. Infect. Dis.* 17, 1816–1823.

POLJAK, I., B. TROSELJ-VUKIĆ, B. MILETIĆ, M. MOROVIĆ, E. RUZIĆ-SABLJIĆ, A. VUCEMILOVIĆ, E. MATERLJAN (2000): Low sero-prevalence of Lyme borreliosis in the forested mountainous area of Gorski kotar, Croatia. *Croat. Med. J.* 41, 433-436.

PORTILLO, A., P. SANTIBÁÑEZ, S. SANTIBÁÑEZ, L. PÉREZ-MARTÍNEZ, J. A. OTEO (2008): Detection of *Rickettsia* spp. in *Haemaphysalis* ticks collected in La Rioja, Spain. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 8, 653-658.

PORTILLO, A., S. SANTIBÁÑEZ, L. GARCÍA-ÁLVAREZ, A. M. PALOMAR, J. A. OTEO (2015): Rickettsioses in Europe. *Microbes. Infect.* 17, 834-838.

PORTILLO, A., P. SANTIBÁÑEZ, A. M. PALOMAR, S. SANTIBÁÑEZ, J. A. OTEO (2018): „*Candidatus* Neoehrlichia mikurensis” in Europe. *New Microbes New Infect.* 22, 30–36.

POTGIETER, F., L. VAN RENSBURG (1987): Tick transmission of *Anaplasma centrale*. Onderstepoort J. Vet. Res. 54, 5–7.

POTKONJAK, A., G. KLEINERMAN, R. GUTIÉRREZ, S. SAVIĆ, V. VRAČAR, Y. NACHUM-BIALA, A. JURIŠIĆ, A. ROJAS, A. PETROVIĆ, I. IVANOVIĆ, S. HARRUS, G. BANETH (2016): Occurrence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks with first identification of *Borrelia miyamotoi* in Vojvodina, Serbia. Vector Borne Zoonotic Dis. 16, 631-5.

PUNDA, V., I. MILAS, N. BRADARIĆ, A. KACIC, Z. KLISMANIĆ (1984): Mediteranska pjegava groznica u Jugoslaviji. Liječnički vjesnik 106, 286-288.

PUNDA-POLIĆ, V., S. POLJAK, A. BUBIĆ, N. BRADARIĆ, Z. KLIŠMANIĆ-NUBER (1995): Antibodies to spotted fever group rickettsiae and *Coxiella burnetii* among domestic animals in southern Croatia. Acta Microbiol. Immunol. Hung. 42, 339-344.

PUNDA-POLIĆ, V., M. PETROVEC, T. TRILAR, D. DUH, N. BRADARIC, Z. KLISMANIC, T. AVSIĆ-ŽUPANC (2002): Detection and identification of spotted fever group rickettsiae in ticks collected in Southern Croatia. Exp. Appl. Acarol. 28, 169–176.

PUNDA-POLIĆ, V., B. LUKŠIĆ, V. ČAPKUN (2008): Epidemiological features of mediterranean spotted fever, murine typhus and Q fever in Split-Dalmatia county. Epidemiol. Infect. 136, 972–979.

RADULOVIĆ, S., D. H. WALKER, K. WEISS, B. DŽELALIJA, M. MOROVIC (1993): Prevalence of antibodies to spotted fever group rickettsiae along the eastern coast of the Adriatic sea. J. Clin. Microbiol. 31, 2225–2227.

RADZIJEVSKAJA, J., A. PAULAUSKAS, A. A. VICIENE, I. JONAUSKAITE, M. STANKO, G. KARBOWIAK, B. PETKO (2015): New records of spotted fever group rickettsiae in Baltic region. Microbes Infect. 17, 874-878.

RAR, V., I. GOLOVLJOVA (2011): *Anaplasma*, *Ehrlichia*, and “*Candidatus Neoehrlichia*” bacteria: Pathogenicity, biodiversity, and molecular genetic characteristics, a review. Infect. Genet. Evol. 11, 1842–1861.

RAUTER, C., T. HARTUNG (2005): Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato genospecies in *Ixodes ricinus* ticks in Europe: a metaanalysis. Appl. Environ. Microbiol. 71, 7203-7216.

RAVAGNAN, S., L. TOMASSONE, F. MONTARSI, A. I. KRAWCZYK, E. MASTRORILLI, H. SPRONG, A. MILANI, L. ROSSI, G. CAPELLI (2018): First detection of *Borrelia miyamotoi* in *Ixodes ricinus* ticks from northern Italy. Parasit. Vectors 11, 130.

DOI: 10.1186/s13071-018-2713-z

REMESAR, S., P. DÍAZ, A. PORTILLO, S. SANTIBÁÑEZ, A. PRIETO, J. M. DÍAZ-CAO, C. M. LÓPEZ, R. PANADERO, G. FERNÁNDEZ, P. DÍEZ-BAÑOS, J. A. OTEO, P. MORRONDO (2019a): Prevalence and molecular characterization of *Rickettsia* spp. in questing ticks from north-western Spain. *Exp. Appl. Acarol.* 79, 267-278.

REMESAR, S., P. DÍAZ, A. PRIETO, F. MARKINA, J. M. DÍAZ CAO, G. LÓPEZ-LORENZO, G. FERNÁNDEZ, C. M. LÓPEZ, R. PANADERO, P. DÍEZ-BAÑOS, P. MORRONDO (2019b): Prevalence and distribution of *Babesia* and *Theileria* species in roe deer from Spain. *Int. J. Parasitol. Parasites Wildl.* 9, 195–201.

RENÉ-MARTELLET, M., C. V. J. MOROCHÊNE, G. BOURDOISEAU, L. CHABANNE, P. MAVINGUI (2015): Update on epidemiology of canine babesiosis in Southern France. *BMC Vet. Res.* 11, 223.

DOI: 10.1186/s12917-015-0525-3

RICCARDI, N., R. M. ANTONELLO, R. LUZZATI, J. ZAJKOWSKA, S. DI BELLA, D. R. GIACOBBE (2019): Tick-borne Encephalitis in Europe: A brief update on epidemiology, diagnosis, prevention and treatment. *Eur. J. Intern. Med.* 62, 1-6.

RIJPKEMA, S., D. GOLUBC, M. MOLKENBOER, N. VERBEEK-DE KRUIF, J. SCHELLEKENS (1996): Identification of four genomic groups of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks collected in a Lyme borreliosis endemic region of northern Croatia. *Exp. Appl. Acarol.* 20, 23-30.

RINALDI, L., D. OTRANTO, V. VENEZIANO, P. MILILLO, V. BUONO, A. IORI, G. DI GIULIO, G. CRINGOLI (2004): Cross-sectional survey of ticks (Acari: Ixodidae) in sheep from an area of the southern Italian Apennines. *Exp. Appl. Acarol.* 33, 145-51.

RIZZOLI, A., H. C. HAUFFE, G. CARPI, G. I. VOURCH, M. NETELER, R. ROSÀ (2011): Lyme boreliosis in Europe. *Euro Surveill.* 7, 16.

<https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/ese.16.27.19906-en>

ROED, K. H., K. S. KVIE, G. HASLE, L. GILBERT, H. P. LEINAAS (2016): Phylogenetic lineages and postglacial dispersal dynamics characterize the genetic structure of the tick, *Ixodes ricinus*, in northwest Europe. *PLoS One* 11, e0167450.

DOI: 10.1371/journal.pone.0167450

ROLLEND, L., D. FISH, J. E. CHILDS (2013): Transovarial transmission of *Borrelia* spirochetes by *Ixodes scapularis*: a summary of the literature and recent observations. *Ticks Tick Borne Dis.* 4, 46–51.

ROMITI, F., A. MAGLIANO, V. ANTOGNETTI, G. MANNA, A. CERSINI, M. T. SCICLUNA, C. DE LIBERATO (2019): Investigation of Ixodid ticks as vectors of *Babesia caballi* and *Theileria equi* (Protozoa: Apicomplexa) in central Italy. *J. Vector Ecol.* 45, 25-35

ROTH, A., F. AKAD, I. ZONSTEIN, R. KING, L. ORSHAN, O. ERSTER (2019): Molecular characterization of six *Hyalomma* species using mitochondrial markers. *Ticks Tick Borne Dis.* 10, 911-917.

ROUX, V., P. E. FOURNIER, D. RAOULT (1996): Differentiation of spotted fever group rickettsiae by sequencing and analysis of restriction fragment length polymorphism of PCR amplified DNA of the gene encoding the protein rOmpA. *J. Clin. Microbiol.* 34, 2058–2065.

RUBEL, F., K. BRUGGER, M. MONAZAHIAN, B. HABEDANK, H. DAUTEL, S. LEVERENZ, O. KAHL (2014): The first German map of georeferenced ixodid tick locations. *Parasit. Vectors* 7, 477.

DOI: 10.1186/s13071-014-0477-7

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.

RUDOLF, I., K. VENCLÍKOVÁ, H. BLAŽEJOVÁ, L. BETÁŠOVÁ, J. MENDEL, Z. HUBÁLEK, P. PAROLA (2016): First report of *Rickettsia raoultii* and *Rickettsia helvetica* in *Dermacentor reticulatus* ticks from the Czech Republic. *Ticks Tick Borne Dis.* 7, 6.

DOI: 10.1016/J.TTBDIS.2016.07.011

RYMASZEWSKA, A., M. PIOTROWSKI (2013): Use of DNA sequences for *Rickettsia* identification in *Ixodes ricinus* ticks: the first detection of *Rickettsia monacensis* in Poland. *Microbes Infect.* 15, 140-146.

SAID, B. M., H. BELKAHIA, L. MESSADI (2018): *Anaplasma* spp. in North Africa: A review on molecular epidemiology, associated risk factors and genetic characteristics. *Ticks Tick Borne Dis.* 9, 543-555.

SAINZ, Á., X. ROURA, G. MIRÓ, A. ESTRADA-PEÑA, B. KOHN, S. HARRUS, L. SOLANO-GALLEGO (2015): Guideline for veterinary practitioners on canine ehrlichiosis and anaplasmosis in Europe. *Parasit. Vectors* 8, 75.

DOI: 10.1186/S13071-015-0649-0

SANTORO, M., V. VENEZIANO, N. D'ALESSIO, F. DI PRISCO, M. G. LUCIBELLI, G. BORRIELLO, A. CERRONE, F. DANTAS-TORRES, M. S. LATROFA, D. OTRANTO, G. GALIERO (2016): Molecular survey of *Ehrlichia canis* and *Coxiella burnetii* infections in wild mammals of southern Italy. *Parasitol. Res.* 115, 4427-4431.

SANTORO, M., C. AURIEMMA, M. G. LUCIBELLI, G. BORRIELLO, N. D'ALESSIO, G. SGROI, V. VENEZIANO, G. GALIERO, G. FUSCO (2019): Molecular Detection of *Babesia* spp. (Apicomplexa: Piroplasma) in Free-Ranging Canids and Mustelids From Southern Italy. *Front. Vet. Sci.* 6, 269. DOI: 10.3389/fvets.2019.00269

SANTOS-SILVA, M. M., P. MELOB, N. SANTOS, S. ANTUNES, L. RAPOSO DUARTE, J. FERROLHO, N. MILHANO, P. TAVARES SANTOS, A. DOMINGOS, A. S. SANTOS (2017): PCR screening of tick-borne agents in sensitive conservation areas, Southeast Portugal. *Mol. Cell. Probes.* 31, 42-45

SATTA, G., V. CHISU, P. F. CABRAS, F. MASALA (2011): Pathogens and symbionts in ticks: A survey on tick species distribution and presence of tick-transmitted micro-organisms in Sardinia, Italy. *J. Med. Microbiol.* 60, 63-68

SCHREIBER, C., J. KRÜCKEN, S. BECK, D. MAAZ, S. PACHNICKE, K. KRIEGER, M. GROSS, B. KOHN, G. VON SAMSON-HIMMELSTJERNA (2014): Pathogens in ticks collected from dogs in Berlin/Brandenburg, Germany. *Parasit. Vectors* 7, 535.  
DOI: 10.1186/S13071-014-0535-1

SCOLES, G. A., M. W. UETI (2015): Vector ecology of equine piroplasmiasis. *Ann. Rev. Entomol.* 60, 561-580.

SGROI, G., R. IATTA, R. P. LIA, N. D'ALESSIO, R. R. S. MANOJ, V. VENEZIANO, D. OTRANTO (2020): Spotted fever group rickettsiae in *Dermacentor marginatus* from wild boars in Italy. *Transbound. Emerg. Dis.*  
DOI: 10.1111/tbed.13859

SEO, M. G., I. O. OUH, H. LEE, P. J. L. GERALDINO, M. HEE RHEE, O. D. KWON, D. KWAK (2018): Differential identification of *Anaplasma* in cattle and potential of cattle to serve as reservoirs of *Anaplasma capra*, an emerging tick-borne zoonotic pathogen. *Vet. Microbiol.* 226, 15-22.

SILAGHI, C., D. WOLL, M. MAHLING, K. PFISTER, M. PFEFFER (2012): *Candidatus* Neoehrlichia mikurensis in rodents in an area with sympatric existence of the hard ticks *Ixodes ricinus* and *Dermacentor reticulatus*, Germany. *Parasit. Vectors* 5, 285.  
DOI: 10.1186/1756-3305-5-285

SILAGHI, C., R. BECK, J. A. OTEO, M. PFEFFER, H. SPRONG (2016): Neoehrlichiosis: an emerging tick-borne zoonosis caused by *Candidatus* Neoehrlichia mikurensis. *Exp. Appl. Acarol.* 68, 279-297.



SIMÕES, P. B., L. CARDOSO, M. ARAJO, Y. YISASCHAR-MEKUZAS, G. BANETH (2011): Babesiosis due to the canine *Babesia microti*-like small piroplasm in dogs - First report from Portugal and possible vertical transmission. *Parasit. Vectors* 4, 50.

DOI: 10.1186/1756-3305-4-50

SIMPSON, R. M., S. D. GAUNT, J. A. HAIR, K. M. KOCAN, W. G. HENK, H. W. CASEY (1991): Evaluation of *Rhipicephalus sanguineus* as a potential biologic vector of *Ehrlichia platys*. *Am. J. Vet. Res.* 52, 1537–1541.

SIMSER, J. A., A. T. PALMER, V. FINGERLE, B. WILSKE, T. J. KURTTI, U. G. MUNDERLOH (2002): *Rickettsia monacensis* sp. nov., a spotted fever group *Rickettsia*, from ticks (*Ixodes ricinus*) collected in a European city park. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 4559-4566.

SIVAKUMAR, T., K. HAYASHIDA, C. SUGIMOTO, N. YOKOYAMA (2014): Evolution and genetic diversity of *Theileria*. *Infect. Genet. Evol.* 27, 250-263.

SJÖSTEDT, A., U. ERIKSSON, L. BERGLUND, A. TÄRNVIK (1997): Detection of *Francisella tularensis* in ulcers of patients with tularemia by PCR. *J. Clin. Microbiol.* 35, 1045-1048.

SMITH, F., L. WALL (2013): Prevalence of *Babesia* and *Anaplasma* in ticks infesting dogs in Great Britain. *Vet. Parasitol.* 198, 18-23.

SOBRINO, R., J. MILLÁN, A. OLEAGA, C. GORTÁZAR, J. DE LA FUENTE, F. RUIZ-FONS (2012): Ecological preferences of exophilic and endophilic ticks (Acari: Ixodidae) parasitizing wild carnivores in the Iberian Peninsula. *Vet. Parasitol.* 184, 248-257

SOCOLOVSKI, C., I. BITAM, D. RAOULT, P. PAROLA (2009): Transmission of *Rickettsia conorii conorii* in naturally infected *Rhipicephalus sanguineus*. *Clin. Microbiol. Infect.* 15, 319-321.

SOLANO-GALLEGO, L., G. BANETH (2011): Babesiosis in dogs and cats - Expanding parasitological and clinical spectra. *Vet. Parasitol.* 181, 48-60.

SOLANO-GALLEGO, L., Á. SAINZ, X. ROURA, A. ESTRADA-PEÑA, G. MIRÓ (2016): A review of canine babesiosis: the European perspective. *Parasit. Vectors* 9, 336.

DOI: 10.1186/S13071-016-1596-0

SPRONG, H., P. R. WIELINGA, M. FONVILLE, C. REUSKEN, A. H. BRANDENBURG, F. BORGSTEEDE, C. GAASENBEEK, J. W. B. VAN DER GIESSEN (2009): *Ixodes ricinus* ticks are reservoir hosts for *Rickettsia helvetica* and potentially carry flea-borne *Rickettsia species*. *Parasit. Vectors* 2, 41.

DOI: 10.1186/1756-3305-2-41

SPRONG, H., T. AZAGI, D. HOORNSTRA, A. M. NIJHOF, S. KNORR, M. E. BAARSMA, J. W. HOVIUS (2018): Control of Lyme borreliosis and other *Ixodes ricinus*-borne diseases. *Parasit. Vectors* 11, 145.

DOI: 10.1186/s13071-018-2744-5

SPRONG, H., M. FONVILLE, A. DOCTERS VAN LEEUWEN, E. DEVILLERS, A. IBAÑEZ-JUSTICIA, A. STROO, K. HANSFORD, B. CULL, J. MEDLOCK, P. HEYMAN, C. COCHEZ, L. WEIS, C. SILAGHI, S. MOUTAILLER (2019): Detection of pathogens in *Dermacentor reticulatus* in northwestern Europe: evaluation of a high-throughput array. *Heliyon* 5, e01270.

DOI: 10.1016/j.heliyon.2019.e01270

STAHL, P., Y. POINSIGNON, P. POUEDRAS, V. CIUBOTARU, L. BERRY, B. EMU, P. J. KRAUSE, C. B. MAMOUN, E. CORNILLOT (2018): Case report of the patient source of the *Babesia microti* R1 reference strain and implications for travelers. *J. Travel Med.* 25, tax073.

DOI: 10.1093/JTM/TAX073.

STEGEMAN, J. R., A. J. BIRKENHEUER, J. M. KRUGER, E. B. BREITSCHWERDT, (2003): Transfusion-associated *Babesia gibsoni* infection in a dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 222, 959–963.

STEVANOVIĆ, O., D. JURKOVIĆ, A. POLKINGHORNE, A. ČELEŠ, T. ILIĆ, S. DIMITRIJEVIĆ, D. NEDIĆ, R. BECK (2020): Molecular detection of *Babesiadivergens* and *Mycoplasma wenyonii* infection in cattle from Bosnia and Herzegovina. *Parasitol. Res.* 119, 1423-1427.

STUEN, S., E. G. GRANQUIST, C. SILAGHI (2013): *Anaplasma phagocytophilum* - a widespread multi-host pathogen with highly adaptive strategies. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 3, 31. DOI: 10.3389/FCIMB.2013.00031

STRASEK-SMRDEL, K., M. KORVA, E. PAL, M. RAJTER, M. SKVARC, T. AVSIC-ZUPANC (2014): Case of *Babesia crassa*-like infection, Slovenia, 2014. *Emerg. Infect. Dis.* 26, 1038-1040.

SUTLIĆ, A. (1942): Piroplazmoza (babezioza) pasa. *Vet. Arhiv* 12, 308.

SZABÓ, M., G. BECHARA (1999): Sequential histopathology at the *Rhipicephalus sanguineus* tick feeding site on dogs and guinea pigs. *Exp. Appl. Acarol.* 23, 915–928.

SZEKERES, S., J. LÜGNER, V. FINGERLE, G. MARGOS, G. FÖLDVÁRI (2017): Prevalence of *Borrelia miyamotoi* and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in questing ticks from a recreational coniferous forest of East Saxony, Germany. *Ticks Tick Borne Dis.* 8, 922-927.

ŠIMO, L., M. KAZIMIROVA, J. RICHARDSON, S. I. BONNET (2017): The essential role of tick salivary glands and saliva in tick feeding and pathogen transmission. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 7, 281.

DOI: 10.3389/fcimb.2017.00281

ŠKRABALO, Z., Z. DEANOVIĆ (1957): Piroplasmosis in man; report of a case. *Doc. Med. Geogr. Trop.* 9, 11-16.

ŠPITALSKÁ, E., K. ŠTEFANIDESOVÁ, E. KOCIANOVÁ, V. BOLDIŠ (2012): *Rickettsia slovacica* and *Rickettsia raoultii* in *Dermacentor marginatus* and *Dermacentor reticulatus* ticks from Slovak Republic. *Exp. App. Acarol.* 57, 189–197.

ŠPITALSKÁ, E., O. SPARAGANO, M. STANKO, K. SCHWARZOVÁ, Z. ŠPITALSKÝ, L. ŠKULTÉTY, S. F. HAVLÍKOVÁ (2018): Diversity of *Coxiella*-like and *Francisella*-like endosymbionts, and *Rickettsia* spp., *Coxiella burnetii* as pathogens in the tick populations of Slovakia, Central Europe. *Ticks Tick Borne Dis.* 9, 1207-1211.

TARTAGLIA, P. (1935): Eksantematična krpeljna groznica–fievre boutonneuse. *Glas. Hig. Zav.* 22, 306-313.

TELFORD, S. J., H. K. GOETHERT (2020): Ecology of *Francisella tularensis*. *Annu. Rev. Entomol.* 65, 351-372.

TIJSSE-KLASSEN, E., J. JACOBS, A. SWART, M. FONVILLE, J. H. REIMERINK, A. H. BRANDENBURG, J. W. B. VAN DER GIESSEN, A. HOFHUIS, H. SPRONG (2011): Small risk of developing symptomatic tick-borne diseases following a tick bite in The Netherlands. *Parasit. Vectors* 10, 4–17.

TIJSSE-KLASSEN, E., N. PANDAK, P. HENGEVELD, K. TAKUMI, M. P. G. KOOPMANS, H. SPRONG (2013a): Ability to cause erythema migrans differs between *Borrelia burgdorferi* sensu lato isolates. *Parasit. Vectors* 6, 23.

DOI: 10.1186/1756-3305-6-23

TIJSSE-KLASSEN, E., H. SPRONG, N. PANDAK (2013b): Co-infection of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Rickettsia* species in ticks and in an erythema migrans patient. *Parasit. Vectors* 6, 347.

DOI: 10.1186/1756-3305-6-347

TIJSSE-KLASSEN, E., K. M. HANSFORD, S. JAHFARI, P. PHIPPS, H. SPRONG, J. M. MEDLOCK (2013c): 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

TOLEDO, A., A. S. OLMEDA, R. ESCUDERO, I. JADO, F. VALCÁRCEL, M. A. CASADO-NISTAL, M. RODRÍGUEZ-VARGAS, H. GIL, P. ANDA (2009): Tick-borne zoonotic bacteria in ticks collected from central Spain. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 81, 67–74.

TOMA, L., M. DI LUCA, F. MANCINI, F. SEVERINI, C. MARIANO, G. NICOLAI, V. LAGHEZZA MASCI, A. CIERVO, A. M. FAUSTO, S. M. CACCIO (2017): Molecular characterization of *Babesia* and *Theileria* species in ticks collected in the outskirts of Monte Romano, Lazio Region, Central Italy. *Ann. Ist. Super. Sanita.* 53, 30–34.

TOMASSONE, L., E. GREGO, D. AURICCHIO, A. IORI, F. GIANNINI, L. RAMBOZZI (2013): Lyme borreliosis spirochetes and spotted fever group rickettsiae in ixodid ticks from Pianosa island, Tuscany Archipelago, Italy. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 13, 84–91.

TOVORNIK, D., V. ČERNÝ (1972): The ecology of the tick *Ixodes gibbosus* Nuttall, 1916 on the island of Brač (Yugoslavia). *Biološki vestnik* 20, 89–94.

TOVORNIK, D. (1980): Ticks (Ixodidae) of the island of Brač. *Zentralblatt für Bakteriologie* 9, 291–295.

TROTTA, M., M. NICETTO, A. FOGLIAZZA, F. MONTARSI, M. CALDIN, T. FURLANELLO, L. SOLANO-GALLEGO (2012): Detection of *Leishmania infantum*, *Babesia canis*, and rickettsiae in ticks removed from dogs living in Italy. *Ticks Tick Borne Dis.* 3, 294–297.

VAN DUIJVENDIJK, G., C. COIPAN, A. WAGEMAKERS, M. FONVILLE, J. ERSÖZ, A. OEI, G. FÖLDVÁRI, J. HOVIUS, W. TAKKEN, H. SPRONG (2016): Larvae of *Ixodes ricinus* transmit *Borrelia afzelii* and *B. miyamotoi* to vertebrate hosts. *Parasit. Vectors* 9, 97. DOI: 10.1186/s13071-016-1389-5

VANNIER E., B. E. GEWURZ, P. J. KRAUSE (2014): Human Babesiosis. *Infect. Dis. Clin. North. Am.* 22, 469–ix.

VATANSEVER, Z. (2017): *Rhipicephalus bursa* Canestrini and Fanzago, 1878. U: Ticks of Europe and North Africa: a guide to species identification (Estrada-Peña, A., A. D. Mihalca, T. N. Petney, Ur.), Springer Nature, Switzerland, pp. 299–303.

VARANAT, M., R. G. MAGGI, K. E. LINDER, E. B. BREITSCHWERDT (2011): Molecular prevalence of *Bartonella*, *Babesia* and hemotropic *Mycoplasma* sp. in dogs with splenic disease. *J. Vet. Intern. Med.* 25, 1284–1291.

VARLOUD, M., J. LIEBENBERG, J. FOURIE (2018): Early *Babesia canis* transmission in dogs within 24h and 8h of infestation with infected pre-activated male *Dermacentor reticulatus* ticks. *Parasit. Vectors* 11, 41. DOI: 10.1186/S13071-018-2637-7

VASIĆ, A., M. NIEDER, N. ZDRAVKOVIĆ, J. BOJKOVSKI, D. BUGARSKI, I. PAVLOVIĆ, C. SILAGHI (2018): Tick infestation and occurrence of *Anaplasma phagocytophilum* and piroplasms in cattle in the Republic of Serbia. *Parasitol. Res.* 117, 1813–1818.

VESENJAK-HIRJAN, J., E. EGRI-HEĆIMOVIĆ, Z. BRUDNJAK, V. VINCE, E. ŠOOŠ (1976): Infections with TBE virus in the Pannonian focus Stara Ves 1. Serological studies 1961.–1964. U: TBE in Croatia (Vesenjaj-Hirjan, J., ur.). *Rad JAZU* 1976; 372, 11–20.

VENZAL, J. M., A. ESTRADA-PEÑA, A. PORTILLO, A. J. MANGOLD, O. CASTRO, C. G. DE SOUZA, M. L. FÉLIX, L. PÉREZ-MARTÍNEZ, S. SANTIBÁNEZ, J. A. OTEO (2008): Detection of alpha and gamma-Proteobacteria in *Amblyomma triste* (Acari: Ixodidae) from Uruguay. *Exp. Appl. Acarol.* 44, 49–56.

VIKSE, R., K. M. PAULSEN, K. S. EDGAR, J. H. O. PETTERSSON, P. S. OTTESEN, Y. B. OKBALDET, N. KIRAN, A. LAMSAL, H. E. H. LINDSTEDT, B. N. PEDERSEN, A. SOLENG, Å. K. ANDREASSEN (2020): Geographical distribution and prevalence of tick-borne encephalitis virus in questing *Ixodes ricinus* ticks and phylogeographic structure of the *Ixodes ricinus* vector in Norway. *Zoonoses Public Health* 67, 370-381.

VILA, A., A. ESTRADA-PEÑA, L. ALTET, A. CUSCO, S. DANDREANO, O. L. FRANCINO HALOS, X. ROURA (2019). Endosymbionts carried by ticks feeding on dogs in Spain. *Ticks Tick Borne Dis.* 10, 848-852.

VILIBIĆ-ČAVLEK, T., LJ. BARBIĆ, N. PANDAK, I. PEM-NOVOSEL, V. STEVANOVIĆ, B. KAIĆ, G. MLINARIĆ-GALINOVIĆ (2014): Virus krpeljnog encefalitisa: epidemiološka i klinička slika, dijagnostika i prevencija. *Acta. Med. Croatica* 68, 393-404.

VISERAS, J., L. E. HUELI, F. J. ADROHER, P. GARCÍA-FERNÁNDEZ (1999): Studies on the transmission of *Theileria annulata* to cattle by the tick *Hyalomma lusitanicum*. *Zentralbl Veterinarmed B* 46, 505–509.

VOJTA, L., V. MRLJAK, S. ČURKOVIĆ, T. ŽIVICNJAK, A. MARINCULIĆ, R. BECK (2009): Molecular epizootiology of canine hepatozoonosis in Croatia. *Int. J. Parasitol.* 39, 1129-1136.

WATTS, J. G., M. C. PLAYFORD, K. L. HICKEY (2016): *Theileria orientalis*: a review. *N. Z. Vet. J.* 64, 3-9.

WESSON, D. M., D. K. MCLAIN, J. H. OLIVER, J. PIESMAN, F. H. COLLINS (1993): Investigation of the validity of species status of *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae) using rDNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 90, 10221–10225.

WIELINGA, P. R., M. FONVILLE, H. SPRONG, C. GAASENBEEK, F. BORGSTEEDE, J. W. B. VAN DER GIESSEN (2009): Persistent detection of *Babesia* EU1 and *Babesia microti* in *Ixodes ricinus* in the Netherlands during a 5-year surveillance: 2003-2007. Vector Borne Zoonotic Dis. 9, 119-122.

WODECKA, B., J. MICHALIK, R. S LANE, M. NOWAK-CHMURA, A. WIERZBICKA (2016): Differential associations of *Borrelia* species with European badgers (*Meles meles*) and raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*) in western Poland. Ticks Tick Borne Dis. 7, 1010-1016.

WÓJCIK-FATLA, A., E. CISAK, V. ZAJĄC, J. SROKA, A. SAWCZYN, J. DUTKIEWICZ (2013): Study on tick-borne rickettsiae in eastern Poland: I. Prevalence in *Dermacentor reticulatus* (Acari: Amblyommidae). Ann Agric Environ Med. 20, 276–279.

WÓJCIK-FATLA, A., V. ZAJĄC, A. SAWCZYN, E. CISAK, J. DUTKIEWICZ (2015a): *Babesia* spp. in questing ticks from eastern Poland: prevalence and species diversity. Parasitol. Res. 114, 3111–3116.

WÓJCIK-FATLA, A., V. ZAJĄC, A. SAWCZYN, E. CISAK, J. SROKAA, J. DUTKIEWICZ (2015b): Occurrence of *Francisella* spp. in *Dermacentor reticulatus* and *Ixodes ricinus* ticks collected in eastern Poland. Ticks Tick Borne Dis. 6, 253-257.

XAVIER, M. A., L. TIRLONI, A. F. M. PINTO, J. K. DIEDRICH, J. R. YATES III, S. GONZALES, M. FARBER, I. S. VAZ JUNIOR, C. TERMIGNONIA (2019): Tick Gené's organen gagementin lipid metabolism revealed by a combined transcriptomic and proteomic approach. Ticks Tick Borne Dis. 10, 787 -797.

XU, G., Q. FANG, J. KEIRANS, L. DURDEN (2003): Molecular phylogenetic analyses indicate that the *Ixodes ricinus* complex is a paraphyletic group. J. Parasitol. 89,452–457.

YEAGLEY, T. J., M. V. REICHARD, J. E. HEMPSTEAD, K. E. ALLEN, L. M. PARSONS, M. A. WHITE, S. E. LITTLE, J. H. MEINKOTH (2009): Detection of *Babesia gibsoni* and the canine small *Babesia* 'Spanish isolate' in blood samples obtained from dogs confiscated from dogfighting operations. J. Am. Vet. Med. Assoc. 235, 535–539.

YERUHAM, I., A. HADANI, F. GALKER (1998): Some epizootiological and clinical aspects of ovine babesiosis caused by *Babesia ovis*—areview. Vet. Parasitol. 74, 153–163.

YIN, H., W. LU, J. LUO, Q. ZHANG, W. LU, H. DOU (1996): Experiments on the transmission of *Babesia major* and *Babesia bigemina* by *Haemaphysalis punctata*. Vet. Parasitol. 67, 89–98.

ZAHARIJA, I., Z. MODRIĆ, M. HERCEG (1973): Prinos poznavanju piroplazmoze psa. Praxis vet. 21, 139-144.

ZANET, S., A. TRISCIUOGLIO, E. BOTTERO, I. G. FERNÁNDEZ DE MERA, C. GORTAZAR, M. G. CARPIGNANO, E. FERROGLIO (2014): Piroplasmosis in wildlife: *Babesia* and *Theileria* affecting free-ranging ungulates and carnivores in the Italian Alps. *Parasit. Vectors* 7, 70.

DOI:10.1186/1756-3305-7-70

ZAPF, F., E. SCHEIN (1994): New findings in the development of *Babesia* (*Theileria*) *equi* (Laveran, 1901) in the salivary glands of the vector ticks, *Hyalomma* species. *Parasitol. Res.* 80, 543–548.

ZBHRV (2016): Zarazne bolesti u Hrvatskoj 2016. godine. Služba za epidemiologiju zaraznih bolesti, Hrvatski zavod za javno zdravstvo. [https://www.hzjz.hr/wp-content/uploads/2017/10/ZBVHR\\_2016\\_Final.pdf](https://www.hzjz.hr/wp-content/uploads/2017/10/ZBVHR_2016_Final.pdf) (Pristupljeno: 20. travnja 2020.).

ZBHRV (2017): Zarazne bolesti u Hrvatskoj 2017. godine. Služba za epidemiologiju zaraznih bolesti, Hrvatski zavod za javno zdravstvo. [https://www.hzjz.hr/wp-content/uploads/2018/11/ZBVHR\\_2017\\_Final.pdf](https://www.hzjz.hr/wp-content/uploads/2018/11/ZBVHR_2017_Final.pdf) (Pristupljeno: 15. travnja 2020.)

ZELLNER, B., J. F. HUNTLEY (2019): Ticks and tularemia: Do We Know What We Don't Know?. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 9, 146.

DOI: 10.3389/fcimb.2019.00146

ZINTL, A., E. J. FINNERTY, T. M. MURPHY, T. DE WAAL, J. S. GRAY (2011): Babesias of red deer (*Cervus elaphus*) in Ireland. *Vet. Res.* 42, 7.

DOI:10.1186/1297-9716-42-7

ZINTL, A., G. MULCAHY, H. E. SKERRETT, S. M. TAYLOR, J. S. GRAY (2003): *Babesia divergens*, a bovine blood parasite of veterinary and zoonotic importance. *Clin. Microbiol. Rev.* 16, 622–636.

ZIVKOVIC, Z., A. M. NIJHOF, J. DE LA FUENTE, K. M. KOCAN, F. JONGEJAN (2007): Experimental transmission of *Anaplasma marginale* by male *Dermacentor reticulatus*. *BMC Vet. Res.* 3, 32.

DOI:10.1186/1746-6148-3-32

## **9. PRILOZI**



## POPIS SLIKA

Slika 1.	Shematski prikaz građe krpelja šikare (fam. Ixodidae).....	8
Slika 2.	Prikaz građe usnog aparata krpelja.....	9
Slika 3.	Jednobojan hitinski skelet i dugi usni aparat ženke krpelja <i>Ixodes ricinus</i> (lijevo); višebojan hitinski skelet i kratak usni aparat ženke <i>Dermacentor reticulatus</i> (desno).....	9
Slika 4.	Heksagonalan ovratnik krpelja iz roda <i>Rhipicephalus</i> .....	10
Slika 5.	Izražene kornue (crvene strelice, lijevo) i aurikule (žuta strelica, desno) krpelja <i>Ixodes accuminatus</i> .....	11
Slika 6.	Trokutaste (lijevo, <i>Ixodes ricinus</i> ) i ovalne (desno, <i>Dermacentor marginatus</i> ) <i>area porosa</i> .....	11
Slika 7.	Dišni otvori okruženi peritremama.....	12
Slika 8.	Spolni otvor (crna strelica), analna brazda (žuta strelica) i analni otvor (crvena strelica) krpelja <i>Ixodes ricinus</i> .....	13
Slika 9.	Ventralne ploče mužjaka <i>Ixodes ricinus</i> (lijevo) i <i>Hyalomma marginatum</i> (desno).....	14
Slika 10.	Šarene noge krpelja <i>Hyalomma marginatum</i> .....	15
Slika 11.	Prikaz razvojnih stadija krpelja (ličinka (a), nimfa dorzalno (b), nimfa ventralno (c) i ženka (d)).....	17
Slika 12.	Hranjenje ženke krpelja iz porodice Ixodidae.....	19
Slika 13.	Proširenost <i>I. ricinus</i> na području Europe.....	23
Slika 14.	Merozoit piroplazme <i>T. capreoli</i> u otisku slezene srne .....	33
Slika 15.	Merozoit piroplazme <i>B. vulpes</i> u krvnom razmazu psa ( <i>Giemsa</i> , imerzija)....	34
Slika 16.	Proširenost <i>D. reticulatus</i> na području Europe.....	37
Slika 17.	Proširenost <i>D. marginatus</i> na području Europe.....	37
Slika 18.	Merozoiti <i>B. canis</i> u razmazu krvi (lijevo, crvena strelica) i otisku slezene (desno, žuta strelica) psa ( <i>Giemsa</i> , imerzija).....	42
Slika 19.	Morule <i>A. marginale</i> u eritrocitima otiska slezene krave ( <i>Giemsa</i> , imerzija).	43
Slika 20.	Proširenost <i>R. sanguineus</i> na području Europe.....	45
Slika 21.	Morula <i>A. platys</i> u trombocitu psa (razmaz krvi, <i>Giemsa</i> , imerzija).....	50
Slika 22.	Morula <i>E. canis</i> u monocitu/limfocitu psa (razmaz krvi, <i>Giemsa</i> , imerzija)..	51
Slika 23.	Merozoit <i>B. gibsoni</i> u krvnom razmazu psa ( <i>Giemsa</i> , imerzija) .....	52

Slika 24.	Rasprostranjenost <i>Hy. marginatum</i> na području Europe.....	56
Slika 25.	Porijeklo uzoraka (QGIS).....	75
Slika 26.	Ukupna zastupljenost sakupljenih krpelja s obzirom na zemljopisno podrijetlo.....	76
Slika 27.	Geografski prikaz rasprostranjenosti <i>Ixodes canisuga</i> .....	88
Slika 28.	Geografski prikaz rasprostranjenosti <i>I. gibbosus</i> , <i>I. ventralis</i> i <i>I. kaiseri</i> (QGIS).....	89
Slika 29.	Geografski prikaz rasprostranjenosti genotipova <i>Ixodes hexagonus</i> (QGIS)..	90
Slika 30.	Geografska rasprostranjenost genotipova <i>Ixodes ricinus</i> (QGIS).....	92
Slika 31.	Geografska rasprostranjenost <i>D. reticulatus</i> i <i>D. marginatus</i> (QGIS).....	94
Slika 32.	Geografska rasprostranjenost <i>Rhipicephalus bursa</i> s prikazom mikrolokacija na području Paga, Obrovca Sinjskog i Bosanke (QGIS).....	95
Slika 33.	Geografska rasprostranjenost <i>R. sanguineus</i> s.l. s prikazom mikrolokacija na području Paga, Pelješca, Bosanke i Grude (QGIS).....	97
Slika 34.	Geografska rasprostranjenost <i>Hy. marginatum</i> s prikazom mikrolokacije na području Bosanke (QGIS).....	98
Slika 35.	Geografska rasprostranjenost krpelja iz roda <i>Haemaphysalis</i> s prikazom mikrolokacije na području Baranje (QGIS).....	99
Slika 36.	Geografska rasprostranjenost vrsta iz roda <i>Babesia</i> (QGIS).....	102
Slika 37.	Geografska rasprostranjenost vrsta iz roda <i>Theileria</i> (QGIS).....	102
Slika 38.	Geografska rasprostranjenost vrsta iz porodice <i>Anaplasmataceae</i> (QGIS)...	106
Slika 39.	Geografska rasprostranjenost vrsta iz roda <i>Hepatozoon</i> (QGIS).....	109
Slika 40.	Geografska rasprostranjenost vrsta iz roda <i>Rickettsia</i> (QGIS).....	111
Slika 41.	Geografska rasprostranjenost <i>F. tularensis</i> i endosimbiont „ <i>Francisella</i> - slična“ (QGIS).....	113
Slika 42.	Geografska rasprostranjenost <i>B. valaisiana</i> i <i>B. afzelii</i> (QGIS).....	114

## POPIS GRAFOVA

Graf 1.	Zastupljenost rodova krpelja.....	87
---------	-----------------------------------	----

## POPIS TABLICA

Tablica 1.	Vrste krpelja iz roda <i>Ixodes</i> opisane na području Europe.....	24
Tablica 2.	Vrste krpelja iz roda <i>Ixodes</i> morfološki determinirane na području Hrvatske.....	25
Tablica 3.	Proširenost <i>D. reticulatus</i> i <i>D. marginatus</i> na području Hrvatske.....	38
Tablica 4.	Proširenost krpelja iz roda <i>Rhipicephalus</i> na području Europe.....	46
Tablica 5.	Vrste krpelja iz roda <i>Rhipicephalus</i> morfološki determinirane na području Hrvatske. ....	46
Tablica 6.	Vrste krpelja iz roda <i>Hyalomma</i> opisane na području Europe.....	56
Tablica 7	Vrste krpelja iz roda <i>Hyalomma</i> morfološki determinirane na području Hrvatske.....	57
Tablica 8.	Vrste krpelja iz roda <i>Haemaphysalis</i> opisane na području Europe.....	59
Tablica 9.	Vrste krpelja iz roda <i>Haemaphysalis</i> morfološki determinirane na području Hrvatske.....	60
Tablica 10.	Lokacija, broj i vrste pohranjenih primjeraka krpelja iz roda <i>Ixodes</i> .....	77
Tablica 11.	Lokacija, broj i vrste pohranjenih krpelja iz roda <i>Dermacentor</i> .....	77
Tablica 12.	Lokacija, broj i vrste pohranjenih krpelja iz roda <i>Rhipicephalus</i> .....	78
Tablica 13.	Lokacija, broj i vrste pohranjenih krpelja iz roda <i>Hyalomma</i> .....	78
Tablica 14.	Lokacije prikupljanja pohranjenih krpelja iz roda <i>Haemaphysalis</i> .....	79
Tablica 15.	Lokacije prikupljanja krpelja koji nisu determinirani do nivoa roda.....	79
Tablica 16.	Prikaz uvjeta PCR reakcija za dokazivanje krpelja i patogena.....	84
Tablica 17.	Prikaz usporedbe sekvenci genotipova <i>I. hexagonus</i> s sekvencama u bazi gena <i>GenBank</i> <sup>®</sup> .....	91
Tablica 18.	Prikaz usporedbe sekvenci genotipova <i>I. ricinus</i> sa sekvencama u bazi gena <i>GenBank</i> <sup>®</sup> .....	93
Tablica 19.	Prikaz usporedbe sekvenci vrsta iz roda <i>Babesia</i> sa sekvencama iz baze gena <i>GenBank</i> <sup>®</sup> .....	103
Tablica 20.	Prikaz usporedbe sekvenci vrsta iz roda <i>Theileria</i> sa sekvencama iz baze gena <i>GenBank</i> <sup>®</sup> .....	104
Tablica 21.	Prikaz usporedbe dokazanih vrsta iz porodice <i>Anaplasmataceae</i> s dostupnim sekvencama u bazi gena <i>GenBank</i> <sup>®</sup> .....	107
Tablica 22.	Prikaz usporedbe vrsta iz roda <i>Hepatozoon</i> sa sekvencama u bazi gena	109

	<i>GenBank</i> <sup>®</sup> .....	
Tablica 23.	Prikaz usporedbe vrsta iz roda <i>Rickettsia</i> sa sekvencama u bazi gena <i>GenBank</i> <sup>®</sup> .....	112
Tablica 24.	Prikaz molekularno dokazanih DNK patogena u <i>I. canisuga</i> , <i>I. gibbosus</i> , <i>I. kaisseri</i> , <i>I. ventalloi</i> i <i>I. hexagonus</i> .....	117
Tablica 25.	Prikaz molekularno dokazanih DNK patogena u <i>Ixodes ricinus</i> 1.....	118
Tablica 26.	Prikaz molekularno dokazanih DNK patogena u <i>Ixodes ricinus</i> 2 do <i>Ixodes ricinus</i> 24.....	119
Tablica 27.	Prikaz molekularno dokazanih DNK patogena u <i>Dermacentor reticulatus</i> .....	120
Tablica 28.	Prikaz molekularno dokazanih DNKpatogena u <i>Dermacentor marginatus</i> .....	121
Tablica 29.	Prikaz molekularno dokazanih DNK patogena u <i>Rhipicephalus bursa</i> ...	121
Tablica 30.	Prikaz molekularno dokazanih DNK patogena u <i>Rhipicephalus sanguineus</i> s.l.....	122
Tablica 31.	Prikaz molekularno dokazanih DNK patogena u <i>Hyalomma marginatum</i>	123
Tablica 32.	Prikazmolekularno dokazanih DNK patogena u krpeljima iz roda <i>Haemaphysalis</i> . .....	123

## **10. ŽIVOTOPIS AUTORA S POPISOM OBJAVLJENIH ZNANSTVENIH RADOVA**

## ŽIVOTOPIS

Daria Jurković, dr. med. vet., rođena je 15. travnja 1988. godine u Zagrebu. Studij Veterinarske medicine na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu upisala je 2006. godine, a diplomirala je 2014. godine s prosjekom ocjena 4,098. Iste godine se zapošljava kao stručni suradnik u Upravi za veterinarstvo i sigurnost hrane u Ministarstvu poljoprivrede, nakon čega je položila državni stručni ispit.

U Laboratoriju za parazitologiju Hrvatskog veterinarskog instituta zaposlena je od 28. listopada 2016. godine, do danas, na radnom mjestu asistenta-doktoranda u sklopu projekta „Razvoj karijere mladih istraživača-izobrazba novih doktora znanosti u trajanju od četiri godine“ putem projekta Hrvatske zaklade za znanost „*Multilocus sequence genotyping of tick borne pathogens: covering the gap between animals, ticks and humans*“ (GENOTICKTRECK, 1957) voditelja dr. sc. Relje Becka..

Poslijediplomski doktorski studij Veterinarskih znanosti upisala je 2017. godine na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu.

Tijekom dosadašnjeg znanstveno-istraživačkog rada aktivno je sudjelovala usmenim i poster prezentacijama na sedmom i osmom međunarodnom kongresu „*Veterinary science and profession*“ (Zagreb, 05. do 07. listopad 2017; 10. do 12. listopad 2019.).Usavršavala se na nekoliko radionica u Hrvatskoj kao: „*Druga hrvatska radionica o trihineloziji*“ (26. siječanj 2017., Veterinarski zavod Vinkovci), „*Uvod u metode molekularne biologije*“ (30. svibanj 2018., Hrvatski veterinarski institut, Zagreb), „*Biomarkers in veterinary medicine*“ i „*qPCR primer design and statistics*“ (11. do 13. rujan 2018., Veterinarski fakultet, Zagreb), „*Regional training courses on the use of open-source real-time geo-visualisation in monitoring vectors and vector borne diseases*“ (13. do 17. svibanj 2019., Jelsa, Hvar), te ljetnim školama u Italiji 5<sup>th</sup> Parasitology Summer Course, Residency Course on „*Arthropod Vectors and transmitted pathogens in the Mediterranean area*“ (V Par SCo, Bari, Italija, 08. do 15. srpanj 2017.) i Rumunjskoj „*7<sup>th</sup> International Summer School of Field Parasitology*“, (27. srpanj do 8. kolovoz 2019., Chilia Veche, Danube Delta, Rumunjska).

## POPIS OBJAVLJENIH RADOVA

### Znanstveni i pregledni radovi

PUPIĆ-BAKRAČ, A., J. PUPIĆ-BAKRAČ, D. JURKOVIĆ, M. CAPAR, L. STEFANOVIĆ, I., ČELOVIĆ, J. KUČINAR, A. POLKINGHORNE, R. BECK (2020):The trends of human dirofilariasis in Croatia: Yesterday – Today – Tomorrow. *One Health*, 10, 100153.

DOI: doi.org/10.1016/j.onehlt.2020.100153

STEVANOVIĆ, O., D. JURKOVIĆ, A. POLKINGHORNE, A. ČELEŠ, T. ILIĆ, S. DIMITRIJEVIĆ, D. NEDIĆ, R. BECK (2020): Molecular detection of *Babesia divergens* and *Mycoplasma wenyonii* infection in cattle from Bosnia and Herzegovina. *Parasitol. Res.* 119, 1423-1427.

DOI: 10.1007/s00436-020-06630-6

JURKOVIĆ, D. Ž., MIHALJEVIĆ, S. DUVNJAK, C. SILAGHI, R. BECK (2020):First reports of indigenous lethal infection with *Anaplasma marginale*, *Anaplasma bovis* and *Theileria orientalis* in Croatian cattle. *Ticks Tick Borne Dis.* 11. 101469.DOI:10.1016/j.ttbdis.2020.101469.

JURKOVIĆ, D., A. BECK, D. HUBER, Ž. MIHALJEVIĆ, A. POLKINGHORNE, F. MARTINKOVIĆ, D. LUKAČEVIĆ, M. PILAT, R. BREZAK, S. BOSNIĆ, R. BECK, (2019):Seroprevalence of vector-borne pathogens in dogs from Croatia. *Parasitology research*, 118, 347-352.

DOI:10.1007/s00436-018-6129-7

HUBER, D., I. REIL, S. DUVNJAK, D. JURKOVIĆ, D. LUKAČEVIĆ, M. PILAT, A. BECK, Ž. MIHALJEVIĆ, L. VOJTA, A.POLKINGHORNE, R. BECK (2017):Molecular detection of *Anaplasma platys*, *Anaplasma phagocytophilum* and *Wolbachia* sp. but not *Ehrlichia canis* in Croatian dogs. *Parasitol. Res.* 116, 3019-3026.

DOI:10.1007/s00436-017-5611-y

HUBER, D., A. BECK, Ž. ANZULOVIC, D. JURKOVIĆ, A. POLKINGHORNE, G.BANETH, R.BECK, (2017):Microscopic and molecular analysis of *Babesia canis* in archived and diagnostic specimens reveal the impact of anti-parasitic treatment and

postmortem changes on pathogen detection. *Parasit. Vectors* 10, 495-495. DOI:10.1186/s13071-017-2412-1.

### **Sažeci u zbornicima i časopisima**

JURKOVIĆ, D., V. CSIK, B. REBSELJ, A. PETAK, M. STUBLIĆ, B. RELJA (2019): First report of *Babesia gibsoni* and *Babesia vulpes* in symptomatic dogs from Croatia: from clinics to therapy. Book of Abstracts 8th International Congress "Veterinary Science and Profession". 10. do 12. listopada 2019., Veterinarski fakultet, Zagreb, str. 87-87.

BECK, A., D. HUBER, D. JURKOVIĆ, V. MRLJAK, G. BANETH, R. BECK (2018) First report of histopathological changes in a stone marten (*Martes foina*) with molecularly and microscopic confirmed Hepatozoon Sp. Infection. *Journal of Comparative Pathology*. Lyon, Francuska, European Society of Veterinary Pathology, str. 144-131.

ZUPIČIĆ, I. G., D. ORAIĆ, R. BECK, D. JURKOVIĆ, S. ZRNČIĆ (2018): Bolesti u uzgoju školjkaša u godinama 2016. i 2017. *Međunarodna konferencija o akvakulture „Suradnja proizvodnje i znanosti – temelj uspješnog održivog razvoja akvakulture“*. 29. do 30. studeni, Hrvatska gospodarska komora, Vukovar.

HUBER, D., A., BECK, D. JURKOVIĆ, R. BECK (2017): Vector-borne infections in croatian cats: pathologic and molecular study. Book of Abstracts 7th International Congress "Veterinary Science and Profession". 05. do 07. listopada, Veterinarski fakultet, Zagreb, str. 93-93.

JURKOVIĆ, D., A. BECK, D. HUBER, R. BREZAK, S. BOSNIĆ, M. STUBLIĆ, R. BECK (2017): Bacteria and protozoa in fleas and ticks from dogs and cats died due to hemolytic anemia. Book of Abstracts 7th International Congress "Veterinary Science and Profession". 05. do 07. listopada, Veterinarski fakultet, Zagreb, str. 91-91.

MRAOVIĆ, J., D. HUBER, A. BECK, F. KAJIN, N. ŠANTA, D. JURKOVIĆ R. BECK (2017): Preliminary evaluation of IDEXX COMBO SNAP® test for usage on postmortal samples. Book of Abstracts 7th International Congress "Veterinary Science and Profession". 05. do 07. listopada, Veterinarski fakultet, Zagreb, str. 140-140.

JURKOVIĆ, D., A. BECK, D. HUBER, R. BREZAK, S. BOSNIĆ, F. MARTINKOVIĆ, D. LUKAČEVIĆ, M. PILAT, M. STUBLIĆ, K. SKRBIN, R. BECK (2017): Seroprevalence of



vector-borne pathogens in dogs from Croatia. Book of Abstracts 7th International Congress "Veterinary Science and Profession".05. do 07. Listopad,Zagreb, str. 92-92.

BOSNIĆ, S., R. BREZAK, D. JURKOVIĆ, R. BECK (2017):Entomological survey of insects of the genus *Culicoides* Latreille, 1809 (Diptera: *Ceratopogonidae*) in 2016 in Croatia. Book of abstracts. 7th International congress "Veterinary science and profession". 05. do 07. listopad,Veterinarski fakultet, Zagreb, str. 150-150.

BREZAK, R., S. BOSNIĆ, D. JURKOVIĆ, K. SKRBIN, M. STUBLIĆ,R. BECK (2017):The prevalence of gastrointestinal parasites in dogs from Zagreb area. Book of abstracts7th International congress "Veterinary science and profession". 05. do 07. listopad,Veterinarski fakultet, Zagreb, str. 141-141.

BECK, R., D. JURKOVIĆ, S. KRČMAR, T. ŠARIĆ, R. BREZAK, S. BOSNIĆ, M. STUBLIĆ (2017):Diversity of piroplasms detected in ticks: individual sequencing approach. Book of abstracts. 7th International congress "Veterinary science and profession".05. do 07. listopad, Veterinarski fakultet, Zagreb, str. 89-89.

RELJIĆ, S., L. RODRIGUEZ, T. MEIJER, A. BECK, D. HUBER, S. BOSNIĆ, R. BREZAK, D. JURKOVIĆ, D. HUBER, R. BECK (2017) Unique *Dicrocoelium dendriticum* genotypes from Croatian brown bears. 25th Conference on Bear Research and Management Abstracts Book. 12. do 17. studeni, str. 204-204.

BECK, A., B. PIRKIĆ, F. KAJIN, I. JOVIĆ, D. HUBER, J. MRAOVIĆ, D.JURKOVIĆ, R. BECK (2017):Canine ocular dirofilariasis-a case report. Book of Abstracts 7th International Congress "Veterinary Science and Profession".05. do 07. listopad, Veterinarski fakultet, Zagreb, str. 90-90.

#### **Prošireni sažeci u zbornicima i časopisima**

STEPANIĆ, M., S. DUVNJAK, I. REIL, S. ŠPIČIĆ, G. KOMPES, D. JURKOVIĆ, B. ZIDAR, R. BECK (2018): Prvi dokaz sekvencijskog tipa 5 Bartonella henselae u mačaka: najvjerojatniji izvor zaraze za djecu oboljelu od bolesti mačjeg ogreba.Program i zbornik sažetaka.18. do 19. listopad, Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Zagreb, str. 81-82.