



Sveučilište u Zagrebu

VETERINARSKI FAKULTET

Nika Konstantinović

**MOLEKULARNA ISTRAŽIVANJA
PIROPLAZMI, ANAPLAZMI I
HEMOTROPNIH MIKOPLAZMI U KRVI I
HEMATOFAGNIM EKTOPARAZITIMA
KONJA**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2026.



University of Zagreb

FACULTY OF VETERINARY MEDICINE

Nika Konstantinović

**A MOLECULAR STUDY OF PIROPLASMA,
ANAPLASMA AND HEMOTROPIC
MYCOPLASMA IN BLOOD AND
HEMATOPHAGOUS ECTOPARASITES OF
HORSES**

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2026



Sveučilište u Zagrebu

VETERINARSKI FAKULTET

Nika Konstantinović

**MOLEKULARNA ISTRAŽIVANJA
PIROPLAZMI, ANAPLAZMI I
HEMOTROPNIH MIKOPLAZMI U KRVI I
HEMATOFAGNIM EKTOPARAZITIMA
KONJA**

DOKTORSKI RAD

Mentori:

Dr. sc. Relja Beck

Izv. prof. dr. sc. Jelena Gotić

Zagreb, 2026.



University of Zagreb

FACULTY OF VETERINARY MEDICINE

Nika Konstantinović

**A MOLECULAR STUDY OF PIROPLASMA,
ANAPLASMA AND HEMOTROPIC
MYCOPLASMA IN BLOOD AND
HEMATOPHAGOUS ECTOPARASITES OF
HORSES**

DOCTORAL THESIS

Supervisors:

Dr. sc. Relja Beck

Izv. prof. dr. sc. Jelena Gotić

Zagreb, 2026

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. PREGLED DOSADAŠNJIH SPOZNAJA.....	5
2.1. PIROPLAZMOZA KONJA.....	6
2.1.2. ETIOLOGIJA	7
2.1.2. GEOGRAFSKA PROŠIRENOST I MOLEKULARNA UČESTALOST	8
2.1.3. RAZVOJNI CIKLUS.....	8
2.1.3.1. Morfologija	8
2.1.3.2. Razvojni ciklus.....	8
2.1.4. PRIJENOS.....	10
2.1.4.1. PRIJENOS VEKTORIMA.....	10
2.1.4.1.1. RED IXODIDA	10
2.1.4.1.1.1. Rod <i>Dermacentor</i>	10
2.1.4.1.1.2. Rod <i>Haemaphysalis</i>	13
2.1.4.1.1.3. Rod <i>Hyalomma</i>	13
2.1.4.1.1.4. Rod <i>Ixodes</i>	14
2.1.4.1.1.5. Rod <i>Rhipicephalus</i>	14
2.1.4.1.2. RED DIPTERA.....	16
2.1.4.1.3. Porodica <i>Hippoboscidae</i>	16
2.1.4.1.4. Porodica <i>Tabanidae</i>	17
2.1.4.1.5. Porodica <i>Muscidae</i>	19
2.1.4.2. MEHANIČKI PRIJENOS.....	20
2.1.4.3. INTRAUTERINE INVAZIJE	20
2.1.4. PATOGENEZA I IMUNOLOŠKI ODGOVOR.....	21
2.1.5. KLINIČKA SLIKA I LIJEČENJE	22
2.1.6. DIJAGNOSTIKA	22
2.1.6.1. NEIZRAVNE METODE.....	23
2.1.6.2. IZRAVNE METODE.....	23
2.1.8. GENETSKA RAZNOLIKOST UZROČNIKA PIROPLAZMOZE	25
2.1.8.1. Analiza 18S sRNK gena	25
2.1.8.2. Analiza merozoit antigena konja (EMA- 1 gen)	28

2.1.8.3. Analiza rhopthry povezanog proteina – 1 (RAP-1) i gena	28
2.2. ANAPLAZMOZA KONJA	28
2.2.2. GEOGRAFSKA RASPROSTRANJENOST	30
2.2.3. ETIOLOGIJA I RAZVOJNI CIKLUS	31
2.2.4. PRIJENOS.....	31
2.2.4.1. Prijenos vektorima.....	31
2.2.5. KLINIČKA SLIKA I LIJEČENJE	32
2.2.6. DIJAGNOSTIKA	32
2.2.6.2. Molekularne metode	33
2.2.6.3. Serološke metode	33
2.2.7. GENETSKA RAZNOLIKOST	33
2.2.7.1. 16S RNA gen	33
2.2.7.2. groESL operon gen.....	34
2.2.7.3. ankA gen	35
2.2.7.4. glavni geni koji kodiraju površinske proteine (Msp2 gen)	35
2.3. HEMOTROPNE MIKOPLAZME KONJA	36
2.3.1. KLASIFIKACIJA UZROČNIKA	36
2.3.2.PRIJENOS.....	36
2.3.3. MOLEKULARNA PREVALENCIJA UZROČNIKA PRONAĐENIH U KONJIMA	36
3. OBRAZLOŽENJE TEME.....	39
4. MATERIJAL I METODE	41
4.1. UZORCI KRVI KONJA	42
4.1.1. Porijeklo uzoraka krvi konja	42
4.1.2. Životinje.....	42
4.1.3. Obrasci.....	45
4.2. UZORCI KRPELJA I HEMATOFAGNIH INSEKATA	45
4.2.1. Porijeklo.....	45
4.2.2. Pohrana	46
4.2.3. Morfološka identifikacija.....	46
4.3. OBRADA UZORAKA KRVI KONJA	47
4.3.1 LANČANA REAKCIJA POLIMERAZOM.....	47
4.3.1.1. Izdvajanje deoksiribonukleinske kiseline iz pune krvi	47

4.3.1.3..	Određivanje nukleotidnog slijeda 18S rRNA gena.....	48
4.3.1.4.	Analiza slijedova nukleotida 18S rRNA	48
4.4.	OBRADA UZORAKA KRPELJA I HEMATOFAGNIH INSEKATA	49
4.4.1.	LANČANA REAKCIJA POLIMERAZOM.....	49
4.4.1.1.	Izdvajanje DNK iz pojedinačnih primjeraka krpelja	49
4.4.1.2.	Umnažanje odsječka 16S rRNA gena krpelja	49
4.4.1.3.	Molekularno dokazivanje mikroorganizama u krpeljima i hematofagnim vektorima..	49
4.4.1.4.	Umnažanje odsječka 18S rRNA gena piroplasmu iz rodova <i>Babesia</i> i <i>Theileria</i>	50
4.4.1.5.	Umnažanje odsječka 16S rRNA gena proteobakterija iz porodice <i>Anaplasmataceae</i> ..	50
4.4.1.6.	Umnažanje odsječka 16S rRNA genahemotropnih bakterija iz roda <i>Mycoplasma</i>	51
4.4.1.7.	Određivanje nukleotidnih slijedova gena.	51
4.5.	MAPIRANJE LOKACIJA KRPELJA I PRONAĐENIH PATOGENA.....	52
4.6.	STATISTIČKA OBRADA PODATAKA	52
5.	REZULTATI	53
5.1.	PRIKAZ CJELOKUPNE POPULACIJE TESTIRANIH KONJA	54
5.2.	PRIKAZ REZULTATA UZORKOVANJA KRVI KONJA PO ŽUPANIJAMA RH	54
5.3.	ODNOS IZMEĐU ČIMBENIKA RIZIKA I PCR STATUSA TESTIRANIH KONJA ...	59
5.3.1.	Vrijeme provedeno na pašnjaku.....	59
5.3.2.	Namjena.....	59
5.3.3.	Dob	61
5.3.4.	Spol.....	62
5.3.5.	Period prisutnosti krpelja na konjima tijekom godine.....	63
5.3.6.	Pristup pašnjaku.	63
5.4.	Slijed odsječka 18S rRNA gena	64
5.5.	REZULTATI MORFOLOŠKE DETERMINACIJE PRIKUPLJENIH UZORAKA KRPELJA I HEMATOFAGNIH INSEKATA.	65
5.5.1.	Rezultati morfološke determinacije prikupljenih krpelja	65
5.5.2.	Rezultati morfološke analize prikupljenih uzoraka hematofagnih insekata.	68
5.6.2.	Rezultati molekularnih analiza krpelja.	72
6.	RASPRAVA	75
7.	ZAKLJUČCI.....	88
8.	POPIS LITERATURE	90
9.	PRILOZI.....	144

10. ŽIVOTOPIS AUTORA S POPISOM OBJAVLJENIH RADOVA	147
---	-----

ZAHVALA

Obzirom na iznimno veliki obim ovog istraživanja i ogroman broja ljudi koji su bili uključeni u njegovu provedbu, kada bih krenula zahvaljivati svakome poimence, zahvala bi bila dulja od doktorata. Pa ipak...

Zahvaljujem svojim mentorima dr. sc. Relji Becku, dr. vet. med. i izv. prof. dr. sc. Jeleni Gotić, dr. vet. med. na strpljenju i pomoći tijekom pisanja ove doktorske disertacije.

Velika zahvala ide i kolegama: Ivanu Arežini, dr. med. vet. (Veterinarska stanica Gospić), Zlatku Zvonaru, dr. med. vet. (Miagro veterina), Emi Listeš, dr. med. vet. (Linkomed Sinj), Goranu Csiku, dr. vet. med. (Equivet d.o.o.), Slavenu Mlinariću, dr.med.vet., prof. dr. sc. Antunu Kosteliću, dr. vet. med. (Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu) te prof. dr. sc. Mirjani Baban (Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek) na pomoći pri organizaciji terenskog rada i prikupljanja uzoraka krvi konja. Na istom zahvaljujem i mojim studenticama Franki Emiliji Čulini, Niki Delić i Dori Višal.

Veliko hvala i zaposlenicama Laboratorija za parazitologiju Hrvatskog Veterinarskog instituta, Emi Gagović, dr. vet. med., dr. sc. Dariji Jurković – Žilić, dr. med. vet. i Petri Cikoš, vet. teh. na podršci i pomoći pri obradi uzoraka.

Zahvaljujem doc. dr. sc. Vladimiru Brajkoviću s Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu na pomoći pri statističkoj obradi podataka.

Prikupljeno je više od 2500 uzoraka krpelja i hematofagnih vektora te preko 800 uzoraka krvi konja s preko stotinu privatnih štala, rančeva, konjičkih klubova i obiteljskih poljoprivrednih gospodarstava na teritoriju RH. Ne mogu ovdje navesti sve poimence no hvala na gostoprimstvu i strpljenju vlasnicima i konjima konjičkih klubova Istra Star, KK Diamant i kolegici Lidiji Bašnec, KK Astra, KK Agramer, KK Garestin, KK Bjelovar, KK Husar, KK Lucky, KK Miklin, KK Sparta, KK Vital, KK Ozalj, KK Satir Vinkovci, KK Trajbar, KK Osijek, rančevima Posavina, Tobiano, Okuje, Feniks, Hercules, Moj Prijatelj, Njivice, Cowboy, Hidden Hills, Nađalina i Wild Spring. Obiteljskim gospodarstvima OPG Džakula, OPG Fiolić, OPG Major, OPG Plavec, OPG Pokupić, OPG Zvonar i OPG Vrščak. I svima drugima, bez vas bi ovo istraživanje bilo puno manjeg opsega.

Kao što kaže George R. R. Martin, geslo kuće Targaryen je „Vatra i krv“ što ujedno jako dobro opisuje i doktorski studij. Zato veliko hvala mojoj obitelji i prijateljima što ste slušali sve moje

zgode i nezgode tijekom svih ovih godina. Pogotovo mojoj Janji, Patricii, Emi i Ani Mariji, znam da zapravo niste imale izbora no hvala svejedno.

I na kraju no najbitniji, najveća zahvala ide mojim roditeljima na svakodnevnoj podršci kroz ovih skoro šest godina borbe s promjenama teme, odbijanja tema i pokušajima da doktoriram. Ne znam što bi bilo bez vas.

INFORMACIJE O MENTORIMA

Dr. sc. Relja Beck, dr. med. vet. znanstveni je savjetnik na Hrvatskom veterinarskom institutu, voditelj Laboratorija za parazitologiju proteklih 14 godina. Do sada je uspješno vodio osam doktoranada. Trenutno vodi dva nacionalna projekta i jedan međunarodni te je član upravnog odbora više COST programa. Dobitnik je Državne nagrade za znanost 2018. iz područja biomedicine i zdravstva. Autor je više od 90 radova datiranih u bazi Scopus i sa H indeksom 28. Dr. Beck je voditelj projekta "Apikompleksni i bakterijski krpeljima prenosivi patogeni u domaćih preživača, konja i hematofagnih vektora" u sklopu kojeg se izradila ova doktorska disertacija.

Izv. prof. dr. sc. Jelena Gotić, dr. vet. med. izvanredna je profesorica na Klinici za unutarnje bolesti Veterinarskog fakulteta od 2024. godine. Aktivno sudjeluje u znanstvenom i stručnom radu kao i u izvođenju nastave iz više kolegija. Autorica je i koautorica na više znanstvenih i stručnih radova iz područja unutarnjih bolesti pasa i konja te krpeljima prenosivih bolesti. Izv. prof. dr. sc. Gotić ima višegodišnje iskustvo rada u dijagnostici i liječenju unutarnjih bolesti konja što uključuje i krpeljima prenosive bolesti.

SAŽETAK

S promjenama klima sve više raste značaj hematofagnih vektora i uzročnika bolesti koje oni prenose. Zbog velike proširenosti i ekonomskih šteta koje uzrokuje, najznačajnija je piroplazmoza konja koju uzrokuju paraziti *Theileria equi* i *Babesia caballi*. Anaplazmoza konja može uzrokovati tešku kliničku sliku u oboljelih životinja, a unatoč velikom značaju u stočarstvu, do danas gotovo da nema podataka o prisutnosti hemotropnih mikoplazmi u konja na području Europe.

Zbog rastuće populacije konja RH cilj ovog istraživanja bio je utvrditi molekularnu prevalenciju uzročnika *B. caballi*, *T. equi*, bakterije *Anaplasma phagocytophilum* te hemoplazmi roda *Mycoplasma*. Cilj je bio i istražiti ulogu potencijalnih vektora: krpelja, obada, konjskih kožnatice i hematofagnih muha.

Ukupno 834 uzorka krvi konja (14 od simptomatskih konja, a ostalo od asimptomatskih) iz svih županija RH testirano je PCR-om. Prevalencija uzročnika piroplazmoze je iznosila 35,85 % (1,3 % *B. caballi*, 98,6 % *T. equi*). Sekvenciranjem 18S rRNA su dokazani genotipovi *T. equi* A, D, E i novi haplotip nazvan A1. Genotip E je najprevalentniji (65,08 %), praćen genotipom A (30,51 %). Primorska Hrvatska je jedina regija u kojoj su zabilježena sva četiri genotipa *T. equi* te *B. caballi*. Molekularna prevalencija bakterije *A. phagocytophilum* iznosila je 0,60 %. Koinfekcija *T. equi* i *A. phagocytophilum* dokazana je u 4 asimptomatska konja. U jednog asimptomatskog konja dokazana je hemotropna mikoplazma *M. wenyonii*. DNK istraživanih uzročnika bolesti nije dokazan u obada (*Haematopota grandis*, *H. italica*, *H. pluvialis*, *Philipomyia graeca*, *Tabanus bromius*, *T. exclusus* i *T. sudeticus*), konjskih kožnatice (*H. equina*) te muhe *S. calcitrans*. DNK piroplazmida dokazan je u 28,74 % krpelja. DNK parazita *B. caballi* dokazan je u vrsta *D. marginatus* i *D. reticulatus*, DNK *T. equi* u vrsta *D. reticulatus*, *R. bursa*, *R. turanicus* i *H. marginatum*, a DNK bakterije *A. phagocytophilum* u *I. ricinus* (2,30 %). DNK hemotropnih mikoplazmi nije dokazan.

Ovo istraživanje pokazuje da je RH endemska zemlja za piroplazmozu konja s velikom genetskom raznolikošću uzročnika. Ovo je i prvi dokaz hemotropne mikoplazme na području RH i jedan od tek nekoliko slučajeva u Europi. Zbog blage klime, toplih zima i rasprostranjenosti vektora za očekivati je da će se ovi uzročnici postati većom prijetnjom zdravlju životinja u budućnosti.

Ključne riječi: bolesti prenosive vektorima, *T. equi*, *B. caballi*, *M. wenyonii*, krpelji, obadi

SUMMARY

With climate change, the importance of hematophagous vectors and the pathogens they transmit is increasingly growing. Due to its wide distribution and economic damage it causes, the most significant is equine piroplasmosis, caused by the parasites *Theileria equi* and *Babesia caballi*. As more knowledge was gained about life cycles and morphology, changes were made through the years regarding the classification of the parasite. Equine anaplasmosis, caused by the bacterium *Anaplasma phagocytophilum*, is another intracellular pathogen transmitted by vectors that can cause severe clinical signs. Despite its significant importance in livestock farming, there is currently limited data on the presence of hemotropic mycoplasmas in horses in Europe, with only a few cases documented in Germany.

Current genotyping of piroplasmosis agents relies mostly on sequence analysis of 18S rRNA. Despite that, the lack of uniformity of results in various studies remains a problem. The discovery of a new species called *Theileria haneyi* puts in question some of the older studies, as it is possible it was identified as *T. equi*.

The first systematic research on the molecular prevalence of equine piroplasmosis in Croatia was carried out ten years ago, detecting a molecular prevalence of *B. caballi* and *T. equi* of 16%. Genotypes A and E of *T. equi* were detected, with genotype A prevalent in the coastal region and genotype E on the continent. To date, only one case of equine anaplasmosis has been described in Croatia. There have been no studies regarding the prevalence of hemoplasma in horses.

Except for prevalence, the role of the vectors is paramount in understanding the pathogenicity of the diseases they transmit and their control. To this day, the role of ticks as competent vectors has been widely studied and confirmed across many species widespread throughout Europe and other continents. On the other hand, studies of the role of other potential vectors, such as horseflies, stable flies, and members of the genus *Hippoboscidae*, remain scarce.

Given the growing horse population in Croatia and the increasing movement of horses between regions due to trade, breeding, and competition, this study aimed to determine the molecular prevalence of *B. caballi*, *T. equi*, *A. phagocytophilum*, and hemoplasmas (genus *Mycoplasma*), as well as to assess their genetic diversity. The mild climate of Croatia supports the survival of a

number of potential vectors. So an additional objective was to investigate the potential role of vectors—ticks, horseflies, forest flies, and hematophagous flies—in pathogen transmission.

A total of 834 blood samples were collected from the horses residing in all regions of Croatia. Blood was sampled by licensed veterinarians from the jugular vein into an EDTA tube. Fourteen samples came from symptomatic horses who were presented with clinical signs such as fever, lethargy, oedema, and haemoglobinuria. The rest of the samples were derived from asymptomatic animals. The study population included 462 mares, 286 geldings, and 72 stallions, ranging in age from 8 months to 30 years. A total of 43 breeds were represented, including Croatian autochthonous breeds. Animals of all uses were included, as ones used for leisure riding, sport, breeding, and those in retirement. At the time of sampling, each horse underwent a clinical examination and was inspected for ticks and other hematophagous insects. In addition, owners and veterinarians filled out a questionnaire, providing information on breed, age, sex, use, health status, housing conditions, pasture access, duration of vector exposure during a year, and information about the horses' whereabouts prior to coming to the stable where the blood was sampled. Collected ticks and insects were stored in plastic pots filled with 90% alcohol.

DNA was extracted from blood samples and tested vectors, and then analyzed using PCR targeting the 18S rRNA and 16S rRNA genes, followed by sequencing of positive samples. Amplified products were analysed using capillary electrophoresis, then purified with ExoSAP-IT® PCR Clean-Up Reagent kit. Subsequently, samples were sent to Macrogen Europe and sequenced in both directions. Sequences were assembled using the Lasergene® software and edited with Seqman™. Next, they were compared with available sequences in GenBank® using the BLAST® programme. Obtained results were visualised using QGIS® software.

The prevalence of piroplasm DNA was 35.85% (1.3% *B. caballi*, 98.6% *T. equi*). At least one positive case was identified in every region of Croatia. The highest prevalence was detected in the Sisak–Moslavina region, where all horses tested positive (100%). Prevalence was high in the Lika – Senj region (65, 95%) and the Bjelovar – Bilogora region (32, 14%). The prevalence in the area around the capital city of Zagreb was also quite high and was 25, 20%. Coastal regions had a higher prevalence than continental ones. Therefore, the Dubrovnik–Neretva region had the prevalence of 88, 89%, the Šibenik – Knin 75%, the Split – Dalmatia region 56, 14%, and Istria 53, 19%. The important factors influencing prevalence included horse movement between

endemic and non-endemic areas, use and the type of horses, location, and duration of seasonal activity of vectors on the location of sampling. . Sequencing confirmed *T. equi* genotypes A, D, E, as well as a novel haplotype designated A1. Genotype E was the most prevalent (65.08 %), followed by genotype A (30.51 %). The newly identified A1 haplotype was detected in the Lika–Senj and Split–Dalmatia regions. Coastal Croatia is the only region where all four *T. equi* genotypes and *B. caballi* were recorded. Additionally, almost all horses who tested positive for *T. equi* genotype A in the continental region were imported from the coastal region. Furthermore, the molecular prevalence of *A. phagocytophilum* was 0.60 %. Coinfection with *T. equi* and *A. phagocytophilum* was confirmed in 4 asymptomatic horses. The hemotropic mycoplasma *Mycoplasma wenyonii* was detected in one asymptomatic horse from a coastal region. All of the symptomatic animals were infected with *T. equi*. In four animals, coinfection with *A. phagocytophilum* and *T. equi* was detected.

All in all, 2086 ticks were collected in this study, originating from seven locations, both from the continent and the coast. Morphologically, five genera of ticks were detected: *Dermacentor*, *Haemaphysalis*, *Hyalomma*, *Ixodes*, and *Rhipicephalus*. The genus *Hyalomma* was the most prevalent (1175 / 2086), followed by the genus *Dermacentor* (398 / 2086), *Rhipicephalus* (365 / 2086) and *Ixodes* (124 / 2086). The smallest number of ticks was identified belonging to the genus *Haemaphysalis* (24 / 2086). Two species were identified belonging to the genus *Dermacentor*: *D. marginatus* and *D. reticulatus*. Three species were identified from the genus *Haemaphysalis*: *H. concinna*, *H. punctata*, and *H. sulcata*, while two belonged to the genus *Hyalomma*: *H. marginatum* and *H. scupense*. Only *I. ricinus* was identified as a species from the genus *Ixodes*, and two species, *R. bursa* and *R. turanicus*, belonged to the genus *Rhipicephalus*. Out of 299 samples from genus *Hippoboscae*, all of the samples were identified as *H. equina*.

Furthermore, three genera of horseflies were identified: *Tabanus*, *Haematopota*, and *Philipomyia*. The genus *Haematopota* was the most prevalent (25 / 50). Species *Haematopota grandis*, *Haematopota italica*, *Haematopota pluvialis*, *Philipomyia graeca*, *Tabanus bromius*, *Tabanus exclusus*, and *Tabanus sudeticus* were tested, but no pathogen DNA was detected. The same result was found when testing forest flies (*Hippobosca equina*) and stable flies (*Stomoxys calcitrans*). In contrast, piroplasm DNA was detected in 28.74 % of ticks. DNA of the parasite *B. caballi* was detected in *Dermacentor marginatus* and *Dermacentor reticulatus* species, while *T. equi* DNA

was detected in *D. reticulatus*, *R. s bursa*, *R. turanicus*, and *H. marginatum*. DNA of the bacterium *A. phagocytophilum* was detected in *I. ricinus* (2.30 %). DNA of hemoplasmas was not detected.

Furthermore, the results obtained from blood and vectors from the same location were compared. In the area of Čazma, Čilipi, Pinezići, Šeovica and Sjeverovac, the presence of pathogens was recorded in both ticks and horse blood. Only in the area of Lički Ribnik was the causative agent *B. caballi* proven in ticks, but only *T. equi* genotype E was proven in the blood of horses. In Konak, *T. equi* genotype E was proven in two horses, but no pathogens were proven in ticks. In Labin, the causative agents *A. phagocytophilum*, *B. caballi*, and two *T. equi* genotypes were proven. Despite this, not a single pathogen was detected in the examined ticks of the species *I. ricinus*. A similar situation is in the area of Lopača in Primorsko-Goranska County. In the area of Desno Željezno in the Sisak-Moslavina region, there was a 100% prevalence of the causative agent *T. equi* genotype E in the blood of horses from that area. Despite this, the causative agent was not proven in the tested ticks. In Draganić, Jalkovac, and Molvice, the pathogens investigated were not detected in either horses or ticks.

This research has so far conducted the most comprehensive molecular analysis of the causative agents of piroplasmosis, anaplasmosis, and hemotropic mycoplasmas in the horse population and their hematophagous ectoparasites in the Republic of Croatia. The research included a large number of blood samples from horses from all Croatian regions, while simultaneously collecting data on the animals, their housing, purpose, movement, pasture access, and exposure to vectors. This, unlike previous research, enabled not only an assessment of the molecular frequency of the studied pathogens but also a broader interpretation of their geographical distribution, genetic diversity, and possible factors that influence the maintenance and spread of these pathogens in the horse population.

The most important finding of this research is the confirmation that equine piroplasmosis is widespread in the Republic of Croatia. The molecular prevalence of piroplasmas was 35.85%, with the species *T. equi* being the most prevalent, while *B. caballi* was less frequent (0.48%). This ratio between the two causative agents is in accordance with their biology. Unlike *B. caballi*, which is often considered a time-limited infection in horses and can cause a severe form of disease, *T. equi* can persist for years or for life, making infected animals a long-term reservoir for vectors.

In addition to determining the prevalence of the investigated pathogens, this study examined the influence of various risk factors on animal susceptibility and pathogen prevalence across different counties in the Republic of Croatia. A significant strength of this research is the comprehensive data collection: owners completed detailed forms during blood sampling, providing information on age, sex, purpose, location, transport history, and the duration of tick and hematophagous insect presence on horses. The attending veterinarian also recorded the health status of each animal. Such detailed information is frequently absent in comparable studies, despite established evidence that factors such as age, horse purpose, presence of other grazing animals, management practices, pasture access, and resulting tick exposure are critical in disease transmission. The use of the horse is closely related to the breed and the way they are kept. Cold-blooded horses, often kept in extensive conditions and used for breeding, face a different risk than sports or recreational horses. They are almost always kept on pastures, but they do not travel as much as animals used for sport or recreational riding. In this sense, different groups of horses represent different epidemiological models: some maintain a local cycle of infection through constant exposure to vectors, while others can serve as mobile reservoirs and transmitters of genotypes between regions. Good example of this is Sisak- Moslavina region where a 100% prevalence of equine piroplasmosis was observed, which can be attributed to the year-round free-range management as the horses are primarily reared for breeding and slaughter. This management practice increases the likelihood of tick exposure, particularly in areas where pastures intersect with forest edges, wet meadows, and other habitats conducive to tick development.

In addition to the high prevalence of the causative agent of equine piroplasmosis, sequencing of the 18S rRNA gene fragment confirmed genotypes A, D, and E and a new haplotype called A1. Together, these results confirm the extremely high genetic diversity of the *T. equi* population in Republic of Croatia, especially in comparison with most European studies in which one or two genotypes dominate. This diversity is probably the result of a combination of several factors, including the geographical location of the Republic of Croatia, the presence of different species of competent vectors, climatic diversity, and the intensive movement of horses between different regions and countries. Furthermore, in contrast to hematophagous insects, piroplasm DNA was detected in ticks in a significant proportion of tested individuals. *B. caballi* DNA was detected in *D. marginatus* and *D. reticulatus* species, while *T. equi* DNA was detected in *D. reticulatus*, *R. bursa*, *R. turanicus*, and *H. marginatum*. These findings fit well with the known biology of the

equine piroplasmosis vector. Particularly important are the findings in *D. reticulatus* and *R. bursa*, species for which vector competence has previously been proven or strongly assumed. However, the mere presence of the causative DNA in the tick does not prove vector competence. It confirms tick exposure to the agent and a possible epidemiological link, but further research is needed to prove transmission, including analysis of developmental stages, salivary glands, and experimental transmission models. The finding of *T. equi* in *H. marginatum* is particularly significant. This species is associated with warmer and drier habitats and is considered one of the indicators of climate-related changes in tick distribution. Its finding in the context of equine piroplasmosis in Croatia is important because it connects the Mediterranean climate area, longer seasonal vector activity, and the possibility of maintaining piroplasms in coastal areas. Future research should pay special attention to the Adriatic coast and hinterland, where climatic conditions are favorable for species of the genera *Hyalomma* and *Rhipicephalus*.

Overall, the results of this study confirm the initial hypothesis that vector-borne agents of equine diseases are widespread and genetically diverse in Croatia. The hypothesis was particularly clearly confirmed for piroplasmas, while the presence, but not high frequency, of *A. phagocytophilum* and hemotropic mycoplasmas was confirmed. Likewise, the research confirms the importance of ticks as the main vectors, while the role of hematophagous insects has not been confirmed. This gave a more realistic picture of the epidemiology of these agents: equine piroplasmosis is an endemic and clinically and economically most important problem, anaplasmosis is present in low frequency, and hemoplasmas are rare, but scientifically very significant due to poorly known epidemiology and possible transmission between species. This study also provides the first evidence of hemotropic mycoplasma in horses in Croatia and represents one of the few reported cases in Europe. Given the country's mild climate, warm winters, and widespread distribution of vectors, these pathogens are likely to pose an increasing threat to animal health in the future.

Future studies should focus on expanding the molecular characterization of the pathogens to additional genetic markers, especially for *T. equi*, to more precisely elucidate the phylogenetic structure and potential differences between genotypes. Serological studies could complement molecular findings and allow for a better assessment of horse exposure, while longitudinal studies would allow for monitoring seasonal dynamics of infections and their association with the activity of individual vector species. The integration of veterinary, ecological and climate data within the

“One Health” approach will be particularly important, as climate change, changes in animal husbandry and the spread of vectors are likely already changing the epidemiology of tick-borne diseases in Croatia and the wider region of South-Eastern Europe.

Keywords: vector - borne diseases, *T. equi*, *B. caballi*, *M. wenyonii*, ticks, horseflies

POPIS KORIŠTENIH KRATICA I ZNAKOVA

16S rRNK - 16S ribosomalna RNK (16S ribosomal RNA, eng.)

18S rRNK - 18S ribosomalna RNK (18S ribosomal RNA, eng.)

ankA - anikrin protein (anykrin protein, eng.)

BLAST - Basic Local Alignment Search Tool, eng.

DNK - deoksiribonukleinska kiselina (deoxyribonucleic acid,eng.)

EDTA - kalijeva etilen-diamino tetraoctena kiselina (ethylenediaminetetraacetic acid, eng.)

ELISA - imunoenzimni test (enzyme linked immunosorbent assay, eng.)

EMA-1 - površinski izložen protein izražen u merozoita *T. equi* (equi merozoite antigen-1, eng.)

groES1 – gen za kodiranje površinskog šaperon proteina (chaperone protein encoding gene, eng.)

HAPIH - Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu

HRZZ - Hrvatska zaklada za znanost

HVI - Hrvatski veterinarski institut

IFAT- indirektna imunoflorescencija (immunoflourescent antibody testing, eng.)

ml - mililitar

MLST- multilokusne analize sekvenci različitih lokusa (Multilocus Sequence Typing, eng.)

MSP2 - geni koji kodiraju površinske proteine (merozoite surface protein 2, eng.)

NCBI -National Center for Biotechnology Information, eng.

nPCR - ugnježdjeni PCR (nested PCR, eng.)

OIE - Svjetska organizacija za zdravlje životinja (Office International des Epizooties, fr.)

pb - parova baza (base pairs, engl.)

PCR - lančana reakcija polimerazom (polymerase chain reaction, eng.)

QGIS -Open Source Geographic Information System, eng.

RAP-1 - rhoptry-povezan protein-1 (rhoptry-associated protein 1, eng.)

RH - Republika Hrvatska

rRNK - ribosomska ribonukleinska kiselina (Ribosomal Ribonucleic Acid, eng.)

RVK - reakcija vezanja komplementa

s.l. - sensu lato

UK- Ujedinjeno Kraljevstvo (United Kingdom, eng.)

SAD - Sjedinjene Američke Države

SD - standardna devijacija (standard deviation, eng.)

1.UVOD

Hematofagni artropodi mogu prenositi bakterije, parazite i viruse. Nazivaju se vektorima prenosivi patogeni, a krpelji su najznačajniji prijenosnici patogena u životinja diljem svijeta (DIAKOU, 2024.). Danas je poznato 907 vrsta krpelja od kojih su 23 vrste dokazane u Republici Hrvatskoj (KAPO i sur., 2024.). Pojedine vrste krpelja prenose specifične patogene stoga je njihova proširenost neposredno povezana s određenim vrstama krpelja.

Paraziti *Babesia caballi* i *Theileria equi* najznačajnije su piroplazme kopitara. Najprimljiviji su konji te se u njih bolest često klinički očituje (ONYICHE i sur., 2019.). Najčešće dolazi do razvoja vrućice, anemije ili ikterusa sluznica, pada apetita, slabosti, edema, hepatomegalije i splenomegalije a moguće je i uginuće. *T. equi* znatno je učestalija od *B. caballi* jer životinje invadirane *T. equi* ostaju invadirane cijeli život (RÜEGG i sur., 2007). Piroplazmoze konja negativno utječu na ekonomsku proizvodnju, ali uzrokuju i daljnje troškove zbog liječenja, nemogućnost sudjelovanja u sportskim natjecanjima i prodaje u druge države te gubitke u slučaju pobačaja i smrti životinje (COULTOUS i sur., 2019.; BARTOLOMÉ DEL PINO i sur., 2023.). Zbog velike važnosti i ekonomskih utjecaja na konjičku industriju, Svjetska organizacija za zdravlje životinja smatra piroplazmozu konja bolešću koju je potrebno prijaviti (OIE), osobito jer se procjenjuje da 90 % svjetske populacije konja živi u endemskim područjima (TIROSH - LEVY i sur., 2020c.).

Obje vrste pokazuju značajnu genetsku heterogenost. Do sada je dokazano pet genotipova vrste *T. equi* sekvenciranjem 18S rRNA (A–E) i tri (A–C) genotipa sekvenciranjem EMA - 1 gena. Unutar vrste *B. caballi* opisana su tri genotipa sekvenciranjem 18S rRNA (A, B1 i B2) i rap - 1 (A1, A2, B) gena. Nadalje, pretpostavlja se da razlike u kliničkim znakovima bolesti ovise i o genotipovima *T. equi* (MANNA i sur., 2018.).

Još u pedesetim godinama prošlog stoljeća opisani su slučajevi piroplazmoze konja na području Republike Hrvatske (RH) (RICHTER, 1954.), a molekularna i serološka istraživanja učestalosti uzročnika piroplazmoze provedena su i u novije doba GOTIĆ (2015.). Osim u konja, *T. equi* i *B. caballi* dokazane su i u pasa iz Hrvatske (BECK i sur., 2009.) što ukazuje na mogućnost invazija i drugih vrsta životinja, a ne samo kopitara.

Još uvijek nije u potpunosti razjašnjen vektorski potencijal pojedinih vrsta krpelja u prijenosu piroplazmi. NADAL i sur. (2022.) opisuju osam vrsta krpelja potencijalno uključenih u prijenos *B. caballi* i *T. equi* u Europi i to *Hyalomma marginatum*, *Dermacentor reticulatus*, *Dermacentor marginatus*, *Rhipicephalus bursa*, *Rhipicephalus sanguineus*, *Rhipicephalus annulatus*, *Ixodes ricinus* i *Haemaphysalis punctata*. Prijenos je eksperimentalno dokazan vrstama *H. marginatum*, *D. reticulatus*, *D. marginatus* i *R. bursa*. *Theileria equi* genotip E je potvrđen u vrstama *D. reticulatus* i *D. marginatus* prikupljenim s konja u kontinentalnoj Hrvatskoj, ali ne u drugim vrstama krpelja (JURKOVIĆ, 2021.).

Osim krpelja, smatra se da i drugi hematofagni insekti, primjerice uši (*Linognathus vituli*, *Haematopinus eurysternus*), obadi, mušice roda *Culicoides* (*Culicoides brevitarsis*, *Culicoides victoria*) (LAKEW i sur., 2021.) te muhe (PHETKARL i sur., 2023.) imaju ulogu u mehaničkom prijenosu *Theileria*.

Osim parazitskih, krpelji su vektori i bakterijskih bolesti životinja kao što su erlihioze i anaplazmoze uzrokovane bakterijama roda *Anaplasma* i *Ehrlichia* (*Rickettsiales: Anaplasmataceae*).

Na području Europe najznačajnija je granulocitna anaplazmoza konja uzrokovana vrstom *Anaplasma phagocytophilum*, a vektor je krpelj *Ixodes ricinus*. Slučajevi bolesti opisani su sporadično u svijetu (ALEMAN i sur., 2024.; SEO i sur., 2019.), a uzročnik je prisutan i u europskim zemljama, primjerice u Njemačkoj (SCHÄFER i sur., 2022.), Italiji (VILLA i sur., 2022.), Poljskoj (NOWICKA i sur., 2022.) i Nizozemskoj (BUTLER i sur., 2008b). Do sada je opisan samo jedan slučaj anaplazmoze konja u RH, na području Slavonije (GOTIĆ i sur., 2017.). Uzročnik je dokazan u pasa (HUBER i sur., 2017.) i različitih vrsta domaćih i divljih životinja (BECK i sur., 2014.), dok istraživanja učestalosti i proširenosti u konja nisu provedena.

Hemotropne mikoplazme (hemoplazme) su male, gram-negativne, obligatne eritrocitne bakterije bez stanične stijenke iz roda *Mycoplasma*. U posljednjem desetljeću sve je veći značaj hemoplazmoza prepoznat zahvaljujući primjeni molekularnih metoda. Danas je poznato da ovi emergentni, potencijalno zoonotski patogeni utječu na zdravlje brojnih životinjskih vrsta, uzrokujući ekonomske gubitke u stočarskoj proizvodnji (ARENDRT i sur., 2024.).

Hemotropne infekcije konja i njihov prijenos vrlo su slabo opisane u stručnoj i znanstvenoj literaturi. Prvu naznaku moguće infekcije konja dao je 30 godina star izvještaj o slučaju "hemobartoneloze" konja u Nigeriji. Zaraženi konji pokazivali su kliničke znakove uključujući vrućicu, apatiju, limfadenitis, poremećaje cirkulacije i blijede sluznice. U razmazima krvi otkrivene su bakterije veličine 0,3 μm na površini eritrocita (GRETILLAT, 1978.). Prva molekularna studija iz 2010. godine pružila je dokaze o infekciji konja iz Njemačke (DIECKMANN i sur., 2010.). Novi izolati konja grupirani su unutar skupine "haemofelis" i dijele najveću sličnost s *Candidatus Mycoplasma haemobos* i s *Mycoplasma haemofelis*. DIECKMANN i sur. (2012.) otkrili su prevalenciju od 26,5 % sa značajnom korelacijom utvrđenom između pozitivnog nalaza lančane reakcije polimerazom (PCR-a) i anemije konja mlađih anemije u konja mlađih od godinu dana, dok su konji stariji od godinu dana bili negativni. Mogući utjecaj na razvoj anemije dodatno je potvrđen u iranskoj studiji nakon otkrivanja *M. ovis* - slične vrste u 6,77 % konja (KALANTARI i sur., 2020.), a sekvenca svrstana u skupinu *Candidatus M. haemocervae* potvrđena je u Nigeriji (HAPPI i OLUNIYI, 2020.). *M. ovis* je detektirana i u konja na području Brazila (KAKIMORI i sur., 2023.).

Unatoč malom broju istraživanja, čini se da je uloga drugih hematofagnih člankonožaca u prijenosu patogena koje prenose krpelji važnija nego što se do sada vjerovalo. Klimatske promjene uzrokuju promjene prirodnih ekosustava i stvaraju pogodna okruženja za širenje bolesti omogućujući migraciju vektora u nova područja gdje mogu zaraziti divlje i domaće životinje te ljude (BAJER i sur., 2022.).

2. PREGLED DOSADAŠNJIH SPOZNAJA

2.1. PIROPLAZMOZA KONJA

Piroplazmoza konja je vektorski prenosiva bolest uzrokovana intraeritrocitnim parazitima *Babesia caballi* i *Theileria equi*. Oboljeti mogu svi kopitari, uključujući magarce, zebre, mazge i mule no čini se da su konji najprimljiviji (QABLAN i sur., 2013., TIROSH- LEVY i sur., 2020b; WU i sur., 2024.). Paraziti su pronađeni i u drugih vrsta životinja, kao što su kamelidi (QABLAN i sur., 2012.) psi (BECK i sur., 2009.; FRITZ, 2010.), crni nosorozi (ZIMMERMANN i sur., 2022.) tapiri (DE SOUZA GONÇALVES i sur., 2020.) te u nekim vrstama vjeverica (LI i sur., 2024.).

Rodovi *Babesia* i *Theileria* pripadaju obitelji Piroplasmidae unutar koljena Apicomplexa koji uključuje i druge značajne uzročnike bolesti ljudi i životinja, poput uzročnika malarije, toksoplazmoze, kriptosporidioze i kokcidioze (ALLSOPP i sur., 1994.; ADL, 2012.). Zabilježeno je nekoliko razlika između ova dva uzročnika. *Babesia caballi* se smatra „pravom babezijom“ jer se umnažanje odvija isključivo unutar eritrocita kralježnjaka. *Theileria equi* je dugo smatrana „malenom babezijom“ unatoč što pokazuje nekoliko značajnih razlika, poput umnažanja u limfocitima perifernog krvotoka prije invazije eritrocita, diobe u četiri merozoita (izgled „malteškog križa“) te otpornosti na lijekove djelotvorne protiv babezija (SCHEIN i sur., 1981.; SEARS i sur., 2020.). Filogenetska istraživanja pokazuju da bi *T. equi*, obzirom da posjeduje osobine oba roda, mogla predstavljati odvojen rod (KAPPMEYER i sur., 2012.).

Iznimna genetska raznolikost ovog parazita potvrđena je nedavnim otkrićem novog uzročnika piroplazmoze konja nazvanog *Theileria haneyi* na području granice s Meksikom (KNOWLES i sur., 2018.). Od tada je zabilježena i u drugim državama Sjeverne Amerike, Južne Amerike, Afrike i Azije (MSHELIA i sur., 2020.; BASTOS i sur., 2021.; ELSAWY i sur., 2021.; ZHOU i sur., 2023.; BHOORA i sur., 2025.; MÈGE i sur., 2025.).

U povijesti je piroplazmoza konja opisivana kao "bedrenica konja" (ALI i sur., 1996.) ili „malarija konja“ (STOUTE, 1917.). Prvi zapisi o uzročniku piroplazmoze konja datiraju iz 1901. godine, kada je Laveran u razmazima krvi perifernog krvotoka konja s područja Južne Afrike po prvi puta opisao malenog, intraeritrocitnog parazita. Nazvao ga je *Piroplasma equi*. Iste godine Theiler nudi detaljan opis piroplazme konja, a kasnije nastavlja s istraživanjima prijenosa uzročnika transfuzijom krvi i krpeljima (THEILER, 1901.; THEILER, 1905., THEILER, 1906.). Daljnjim istraživanjima utvrđeno je da u patogenezi piroplazmoze konja ne sudjeluje samo jedan uzročnik (KOCH, 1906.). Uslijedile su daljnje taksonomske promjene, uslijed kojih je uzročnik premješten

iz roda *Nuttallia* u rod *Babesia* (LEVINE, 1971.). Otkrićem umnažanja *B. equi* u limfocitima prije invazije eritrocita opet se dovela u pitanje ispravnosti klasifikacije uzročnika u rod *Babesia* (SCHEIN i sur., 1981., MOLTMAN i sur., 1983.). Posljedično dolazi do promjene naziva *B. equi* u *Theileria equi* koji se koristi i danas (MEHLHORN i SCHEIN, 1998.). Vektorska uloga krpelja prepoznata je vrlo rano (SMITH i KILBORNE, 1893.).

Prisutnost uzročnika piroplazmoze konja na području RH traje više od stoljeća. RICHTER (1954.) na temelju pregleda razmaza krvi 612 simptomatskih konja zaključuje da je *B. caballi* glavni uzročnik kliničke piroplazmoze konja u RH. U zadnjem sustavnom istraživanju piroplazmoze konja GOTIĆ (2015.) dolazi do istog zaključka. Unatoč tome, uzročnik *T. equi* prevladavao je u asimptomatskih konja. Filogenetskom analizom dokazana su dva genotipa *T. equi*. Analizom gena površinski izloženog proteina izraženom u merozoita *T. equi* (eng. *equi merozoite antigen-1*, EMA-1 gen) otkrivene su već poznate grupe A i B, ali i dvije nove nazvane D i E.

2.1.2. ETIOLOGIJA

Piroplazmoza je bolest prenosiva vektorima te je prisutna na područjima koja podržavaju njihov razvoj (THOMPSON, 1969.). Zbog široke rasprostranjenosti krpelja, piroplazmoza je značajna bolest krvožilnog sustava životinja (HOMER i sur., 2000.) i smatra se emergentnom zoonozom u ljudi (ASQUITH i sur., 2025.). Unatoč tome, postoji još čimbenika koji utječu na uspješan prijenos uzročnika bolesti. Dob, namjena konja, prisutnost drugih pašnih životinja, način držanja, pristup pašnjaku te posljedična izloženost životinje krpeljima igraju važnu ulogu u prijenosu (CAMINO i sur., 2021.; CABETE i sur., 2025.; NADAL i sur., 2025.).

NADAL (2022.) te SCOLES i UETI (2015.) u svojim preglednim radovima navode više vrsta krpelja kao moguće vektore piroplazmoze konja. Krpelji rodova *Hyalomma*, *Dermacentor* i *Rhipicephalus* su kompetentni biološki vektori *T. equi* i *B. caballi*. Neke vrste krpelja iz rodova *Amblyomma*, *Haemaphysalis* i *Ixodes* navedeni su kao mogući vektori, no potrebna su daljnja istraživanja njihove vektorske kompetencije.

Smatra se da je invazija *B. caballi* samolimitirajuća te da za oko 4 godina od invazije, uzročnik nestaje iz organizma. Konji invadirani *T. equi* ostaju doživotni nosioci (RÜEGG i sur., 2007.).

2.1.2. GEOGRAFSKA PROŠIRENOST I MOLEKULARNA UČESTALOST

Uzročnici piroplazmoze prisutni su na svim kontinentima. Povećan transport životinja i globalno zatopljenje uzrokovalo je pojavu piroplazmoze i u područjima koji su do sada smatrani slobodnima od ove bolesti. U novijem istraživanju, ONYICHE i sur. (2020.) procjenjuju da je globalna prevalencija *T. equi* 29,4 %, a *B. caballi* 22.3 %.

Na području Europe, više je endemskih zemalja s prevalencijom piroplazmoze konja višom od 30 %. Tako u Španjolskoj molekularna prevalencija *T. equi* iznosi 42 %, *B. caballi* 22 % (PERIS i sur., 2025.), a u Portugalu *T. equi* od 40.5 % i *B. caballi* od 8,3 % (CAMINO i sur., 2021.). Prevalencija oba uzročnika u Italiji iznosi 38,1 % (FACILE i sur., 2025.). U Francuskoj prevalencija *T. equi* varira između 18,7 % i 68,6 % a ona *B. caballi* iznosi između 6,3 – 8,3 % (ROCAFORT-FERRER i sur., 2022.; JOUGLIN i sur., 2025.). Visoka prevalencija *T. equi* od čak 60 % i *B. caballi* od 7,2 % zabilježena je i u Rusiji (RAR i sur., 2025.). Endemskim zemljama smatraju se i Brazil s molekularnom prevalencijom uzročnika piroplazmoze od 56,23 % (FERNANDES i sur., 2025.), Alžir s prevalencijom *T. equi* od 40 % (SADEDDINE i sur., 2025.) te afrički Malawi s prevalencijom *T. equi* od 80 % (CHATANGA i sur., 2025.). Visoka prevalencija *T. equi* zabilježena je i u Xinjangu u Kini, gdje se prevalencija *T. equi*, ovisno o zemljopisnom području, kretala između 20,88 - 86,27 % (QIN i sur., 2025.) te Iraku s prevalencijom *T. equi* od 22,44 % i *B. caballi* 8,2 % (AZIZ i sur., 2025.).

2.1.3. RAZVOJNI CIKLUS

2.1.3.1. Morfologija

Merozoiti *B. caballi* vidljivi su u eritrocitima kao dvije uklopine oblika kruške, duljine 2-5 µm i širine 1.3-3.0 µm. Spojeni su na posteriornom kraju. Merozoiti *T. equi* su manji, oko 2-3 µm dugi. Oblika su kruške, okrugli ili ovalni, a kada se spoje u posteriornom dijelu čine tako zvani „malteški križ“ koji predstavlja važnu diferencijalno dijagnostičku značajku. Po veličini, *B. caballi* pripada „velikim babezijama“, a *T. equi* „malim“ (SIPPEL i sur., 1962.; SIMPSON i sur., 1967.; MEHLHORN i SCHEIN., 1984.).

2.1.3.2. Razvojni ciklus

Razvojni ciklus pripadnika koljena Apicomplexa sastoji se od tri faze. Nespolne faze se nazivaju sporogonija i merogonija, a gametogonija označava spolnu fazu stvaranja i fuzije gameta. (MEHLHORN i SCHEIN, 1984.).

2.1.3.2.1. *Babesia caballi*

Razvojni ciklus *B. caballi* započinje inokuliranjem sporozoita u krv nosioca tijekom hranjenja krpelja. Sporozoiti zatim invadiraju eritrocite te se dijele u trofozoite. Zatim šizogonijom nastaju merozoiti koji su ujedno i dijagnostički stadij, vidljiv u eritrocitima. Merozoiti se umnažaju i dalje invadiraju eritrocite. Tijekom hranjenja krpelja na invadiranoj životinji, dolazi do unosa invadiranih eritrocita u crijevo krpelja. Dio merozoita biva uništen, a dio kreće u spolni dio razvojnog ciklusa- proces gametogonije te se stvaraju mikro i makrogamete. Njihovim spajanjem dolazi do formacije zigote koja invadira stanice crijeva krpelja i razvija se u ookinetu. Zatim slijede dva ciklusa nespodne replikacije u kojima ookinete invadiraju slinske žlijezde, stanice crijeva te u nekih vrsta i ovarij krpelja. U slinskim žlijezdama sporogonijom nastaju sporozoiti. U spolnom sustavu dolazi do transovarijskog prijenosa parazita na jajašca i posljedično ličinke (MEHLHORN i SCHEIN, 1988.). *B. caballi* ima sposobnost transstadijskog prijenosa pa su kronično invadirani konji rezervoari parazita za populaciju krpelja tog područja (UETI i sur., 2008.). Razina parazitemije *B. caballi* je uglavnom niska te parazit rijetko invadira više od 1 % eritrocita nosioca (DE WAAL 1992.).

2.1.3.2.2. *Theileria equi*

Razvojni ciklus *T. equi*, kao i dijela ostalih pripadnika reda Piroplasmida, nije u potpunosti razjašnjen (WISE i sur., 2013.).

Glavna značajka razvojnog ciklusa *T. equi* je stadij šizogonije u limfocitima nosioca, koji nastupa prije invazije eritrocita (SCHEIN i sur., 1981.; MEHLHORN i SCHEIN, 1984.). Unatoč tome što se smatra se da šizonti nekih drugih pripadnika roda *Theileria* moduliraju imunosni odgovor nosioca te djeluju na sposobnost apoptoze i proliferacije invadiranih stanica, te promjene nisu opisane kod invazije *T. equi* (SCHREEG i sur., 2016.). Krajnji rezultat šizogonije je formacija merozoita. Oslobođeni merozoiti invadiraju eritrocite i daljnjom nespodnom replikacijom formiraju karakteristične tvorbe nalik „malteškom križu“. Nakon uništenja eritrocita, šire se krvotokom invadirajući nove eritrocite. Neki merozoiti postaju gametociti. Krpelj ih hranjenjem unosi u crijevo gdje podliježu spolnom stadiju razvojnog ciklusa – gametogoniji te nastaju gamete i posljedično zigota. U zigoti se formiraju kinete koje invadiraju slinske žljezde krpelja gdje se odvija proces sporogonije i nastaju sporozoiti. Nije prisutan transovarijski prijenos (MEHLHORN i SCHEIN, 1984.; KOCH, 1906.; MEHLHORN i SCHEIN, 1998.; JALOVECKA i sur, 2018.).

2.1.4 PRIJENOS

2.1.4.1. PRIJENOS VEKTORIMA

2.1.4.1.1. RED IXODIDA

Porodica Ixodidae sadrži 15 rodova, od kojih je šest smatrano vektorima piroplazmoza konja. Za dva roda se smatra da su vektori bakterije *Anaplasma phagocytophilum*, uzročnika anaplazmoze konja te hemotropnih mikoplazmi. Morfološke karakteristike krpelja iz ove porodice uključuju čvrsti scutum koji kod mužjaka potpuno prekriva dorzalnu stranu tijela, a kod ženki samo manji dio. Može biti ukrašen ili neukrašen. Kod većine rodova, scutum obrubljuje niz brazdi nazvanih festuni. Oči mogu ili ne moraju biti prisutne. Lateralno, iza zadnjeg para nogu, nalaze se stigmalni otvori ili odušci. Na prednjem dijelu tijela se nalazi ovratnik (*basis capituli*) te palpi različite duljine, ovisno o vrsti. Anus se nalazi ventralno na stražnjem dijelu tijela. Okružen je analnom brazdom čiji su izgled i položaj značajni u morfološkoj identifikaciji vrsta. Obzirom na broj nosioca koji određena vrsta zahtijeva za razvoj, dijele se na monoksene krpelje (potreban je jedan nosioc), diksene (dva nosioca) i triksene (tri nosioca) (ESTRADA-PEÑA i sur., 2006.).

Na području RH opisane su 23 vrste krpelja iz porodice Ixodidae: *I. ricinus*, *Ixodes hexagonus*, *Ixodes canisuga*, *Ixodes vespertilionis*, *Ixodes kaiseri*, *Ixodes frontalis*, *Ixodes arboricola*, *Ixodes gibbosus*, *Ixodes trianguliceps*, *Haemaphysalis inermis*, *H. punctata*, *H. sulcata*, *H. concinna*, *Haemaphysalis. parva*, *Haemaphysalis erinacei*, *D. marginatus*, *D. reticulatus*, *R. bursa*, *Rhipicephalus sanguineus s.l.*, *R. turanicus*, *Rhipicephalus annulatus*, *H. marginatum* i *H. scupense*. Postoje i vrste čija klasifikaciju trenutno nije definitivna no za sada se vode kao vrste: *Dermacentor silvarum*, *R. annulatus* i *Hyalomma dromedarii* (KAPO i sur., 2024.)

Prema NADALOVOM pregledu iz 2022. godine, najčešće vrste krpelja koje se pronalaze na konjima su *H. marginatum* i *I. ricinus*. Slijede *R. bursa*, *H. punctata* i *D. reticulatus*. *R. sanguineus* i *D. marginatus* koji su rjeđe prisutni. Analiza potencijala različitih vrsta krpelja kao vektora piroplazmoze zahtjevna je zbog čestih promjena u taksonomskoj nomenklaturi. Tako je u novijoj literaturi nomenklatura više vrsta krpelja poistovjećena, a neki nazivi su proglašeni zastarjelima ili nevažecima.

2.1.4.1.1.1. Rod *Dermacentor*

Rod *Dermacentor* odlikuje četvrtasti ovratnik, a okse mužjaka rastu od prvog para nogu prema zadnjem. Imaju oči, festune, a štit je ukrašen karakterističnim šarama. Kod mužjaka prekriva cijelu

dorzalnu površinu tijela, a kod ženki je malen te ne pokriva ni trećinu dorzalne površine tijela (ESTRADA-PEÑA i sur., 2018.).

Dermacentor albipictus je vrsta krpelja prisutna na području Sjedinjenih američkih država (SAD). Dokazan je tranovarijski prijenos *B. caballi*, ali istraživanja kompetencije za prijenos *T. equi* nisu provedena (STILLER I COAN, 1995.).

Jedan od najčešćih vektora bolesti na području Mediterana i Rusije je *Dermacentor marginatus* (CELINA i ČERNÝ, 2025.), a prisutan je i na području Azije (ZHANG i sur., 2021.; SANG i sur., 2021.). U nomenklaturi ovog krpelja postoji više nesuglasica jer je u starijim istraživanjima poistovjećivan s vrstom *D. reticulatus* (GUGLIELMONE i sur., 2010.). Obje vrste su potvrđeni vektori uzročnika piroplazmoze konja (ENIGK, 1944.). *D. marginatus* predstavlja i prvu vrstu u kojoj je potvrđen transtadijski prijenos *T. equi* (BUDNIK, 1955.). Molekularna istraživanja talijanskih znanstvenika dokazala su prisutnost DNK *T. equi* (CHISU i sur., 2019.), ali i *A. phagocytophilum* na području Korzike (GRECH - ANGELINI, 2020.). Njegov razvoj traje godinu dana. Trikseni je krpelj. Preferira otvorena područja – livade i pašnjake, gdje se može naći uz vrstu *D. reticulatus* (ZAJAC i sur., 2020.). Dobro podnosi hladnoću te odrasli krpelji postaju aktivni već na temperaturama malo višim od 0 °C. Aktivnost je najviša u proljeće, a padom temperatura nakon ljeta pada i njegova aktivnost. U srednjoj Europi odrasli oblici se aktiviraju krajem kolovoza, ali tijekom blažih zima mogu ostati aktivni i do travnja i svibnja sljedeće godine (HORNOK, 2009.).

Vrsta *D. reticulatus*, ponekad smatrana sinonimom za vrstu *D. marginatus*, je kompetentan vektor za oba uzročnika piroplazmoze konja (NOSEK, 1972.). Nije selektivan u izboru nosioca što pogoduje njegovom brzom širenju. Dokazan je u preko 60 različitih vrsta domaćih i divljih životinja. Za razvoj su potrebna tri nosioca. Odrasli oblici hiberniraju dva puta prije hranjenja pa razvojni ciklus obično traje oko dvije godine (NOSEK, 1972.).

Na području Balkana, MARKOFF (1916) je opisao invaziju vrste *D. reticulatus* parazitom *B. caballi*. Biološkim pokusima je utvrđena vektorska kompetencija ove vrste za transstadijski prijenos *T. equi* (ENIGK, 1943b., ENIGK, 1944.) i transovarijski prijenos *B. caballi* (NEITZ, 1956.). Na području Europe, DNK *B. caballi* je dokazan u krpeljima prikupljenima iz okoliša na području Nizozemske i Belgije (JONGEJAN i sur., 2015.) te u Njemačkoj (SPRONG i sur., 2019.). Molekularnim metodama u ovoj vrsti je zabilježena prisutnost *A. phagocytophilum* (SNEGIRIOVAITĚ i sur., 2025.). Na području RH je ovom vrstom dokazan prijenos *A. marginale*

na goveda (JURKOVIĆ i sur., 2020.), ali za sada ne postoje podaci o prijenosu *A. phagocytophilum*. Na području Zagreba u navedenoj je vrsti krpelja dokazan DNK *B. canis* (BECK i sur., 2010.). *D. reticulatus* je rasprostranjen u Europi i Ujedinjenom Kraljevstvu (UK), centralnoj Španjolskoj, zapadu Europe i Balkana, a pokazuje tendenciju širenja prema sjeverozapadu i sjeveroistoku Europe (RUBEL i sur., 2016., DREHMANN i sur., 2020.). Širi se i na sjever Francuske, a njegova pojava je zabilježena i u Belgiji i Nizozemskoj (NADAL, 2022.). Na području Hrvatske *D. marginatus* je dokazan u kontinentalnoj Hrvatskoj, srednjem priobalju te na otoku Hvaru, a *D. reticulatus* u kontinentalnoj Hrvatskoj te u sjevernom i srednjem priobalju (DUH i sur., 2006.; KRČMAR, 2012.; KRČMAR, 2014.; JURKOVIĆ, 2021.). Smatra se da će globalno zatopljenje te promjene u temperaturi količini vlage utjecati na daljnje širenje vrsta *D. reticulatus* i *D. marginatus* Europom. Brojna pogodna područja za širenje *D. marginatus* nalaze se u zapadnoj, središnjoj i južnoj Europi, a za *D. reticulatus* u zapadnoj, centralnoj i sjevernoj Europi. Niša pogodna za širenje *D. marginatus* je šira, što pokazuje izraženiju prilagodljivost klimatskim promjenama (CUNZE I SUR., 2022.).

Nadalje, rodu *Dermacentor* pripada još jedna američka vrsta, *D. nitens*. Transovarijski prijenos *B. caballi* utvrđen je eksperimentalno i pomoću epidemioloških istraživanja (HEUCHERT i sur., 1999., DARLING, 1913., ROBY i sur., 1964., STRICKLAND i GARRISH, 1964.). Transtadijski prijenos utvrđen je u krpeljima prikupljenima iz okoliša (SCHWINT i sur., 2008.). Istraživanja vektorske kompetencije za *T. equi* baziraju se samo na epidemiološkim podacima (KERBER i sur., 2009., PECKLE i sur., 2013.).

Daljnja istraživanja roda *Dermacentor* dokazala su vektorsku kompetenciju vrste *D. nuttalli* na primjeru transstadijskog prijenosa oba uzročnika te transovarijskog za *B. caballi*. Krpelj je prisutan na području Azije (BATTSETSEG i sur., 2001., BATTSETSEG i sur., 2002.). *D. silvarum* se smatra kompetentnim vektorom za transovarijski prijenos *B. caballi* (BUDNIK, 1941.), dok za prijenos *T. equi* postoji samo epidemiološka poveznica (DEMIDOV i sur., 1944.). U nedavnom ruskom istraživanju, DNK *B. caballi* dokazan je u vrsta *D. silvarum* i *D. nuttalli*, a DNK *T. equi* samo u *D. silvarum* (RAR i sur., 2025.). Vrsta *D. variabilis* se pokazala kompetentnim transstadijskim vektorom za oba uzročnika piroplazmoze (STILLER i COAN, 1995., STILLER i COAN, 1982., STILLER i sur., 2002.), a temeljem bioloških pokusa na konjima utvrdila se kompetentnost i za intrastadijski prijenos *T. equi* (SCOLES i UETI, 2015.).

2.1.4.1.1.2. Rod *Haemaphysalis*

Kod roda *Haemaphysalis* palpi imaju lateralni sekundarni segment. Nemaju oči, štit je neukrašen, analna brazda je smještena posteriorno. Prisutni su festuni (ESTRADA-PEÑA i sur., 2018.).

Molekularna istraživanja vrste *H. longicornus* na području Japana dokazala su prisutnost oba uzročnika piroplazmoze u slinskim žlijezdama (RODRIGUEZ-BAUTISTA i sur., 2001.) Unatoč tome, potrebna je provedba bioloških pokusa kako bi se ti rezultati potvrdili. Najnovije istraživanje je temeljem biološkog pokusa i molekularnih pretraga dokazalo da ova vrsta nema sposobnost transstadijskog prijenosa *T. haneyi* (POH i sur., 2025.).

2.1.4.1.1.3. Rod *Hyalomma*

Rod *Hyalomma* odlikuje se dugim palpima te karakterističnim šarenim nogama. Oči su prisutne, štit je jednobojan, a analna brazda je smještena posteriorno. Mužjaci imaju dodatne i adanalne štitove. Rod *Rhipicephalus* prepoznatljiv je po *basis capituli* koja je heksagonalnog oblika. Analna brazda je smještena posteriorno od anusa. Oči i festuni su prisutni, skutum je neukrašen. Mužjaci imaju dodatni štit i adanalni štit (ESTRADA-PEÑA i sur., 2018.).

Hyalomma marginatum je kompetentan vektor oba uzročnika piroplazmoze (ENIGK, 1943b). Za razvoj su potrebna dva nosioca traje godinu dana. Često se hrani i na ljudima (KESKIN i sur., 2016.). Larve su aktivne u lipnju i srpnju, a nimfe se pojavljuju u srpnju. Odrasli oblici postaju aktivni u ožujku te vrhunac aktivnosti dostižu u svibnju. Aktivnost polagano pada do kolovoza no ponekad se mogu pronaći i u listopadu i studenom (ESTRADA-PEÑA i sur., 2008.). Karakteristično je predatorsko ponašanje pa se uslijed senzornog, kemijskog ili mehaničkog podražaja krpelj počne brzo kretati tlo kako bi dostigao plijen. Sličan obrazac ponašanja se uočava i kod ostalih vrsta roda *Hyalomma* (ROMANENKO, 2005.) *H. marginatum* nastanjuje područja stepa, savana te ravnica niske vegetacije u kojima vlada mediteranska klima s niskim do umjerenim razinama vlage te dugim, toplim ljetima (HEKIMOGLU i sur., 2023.) Prisutan je u gotovo cijeloj Europi iako je u sjevernoj Europi pretežito zapažen na pticama selicama (FERNÁNDEZ-RUIZ i ESTRADA-PEÑA, 2021.; CELINA i ČERNÝ, 2025.). U RH je prisutan na području srednjeg i južnog priobalja (JURKOVIĆ, 2021.).

Rodu *Hyalomma* pripada i vrsta *H. anatolicum* čija vektorska kompetencija je dokazana biološkim pokusima te mikroskopskim pregledima invadiranih razvojnih stadija (ENIGK, 1943b,

MOLTMANN i sur., 1983.; KUMAR i sur., 2007.). *Hyalomma dromedari* nema veliko značenje u prijenosu piroplazmoze konja jer se hrani na konjima samo u odsustvu kamelida i goveda. Unatoč tome, starija istraživanja navode ovu vrstu kao kompetentnog vektora za prijenos oba uzročnika piroplazmoze konja (ENIGK, 1944, ZAPF i SCHEIN, 1994.). Vrstu *Hyaloma aegyptum* neki znanstvenici poistovjećuju s *H. marginatum*. ENIGK (1943a) je smatrao da je ova vrsta moguć vektor za oba uzročnika piroplazmoze, no druga istraživanja nude samo epidemiološku poveznicu (BELITZER, 1925.; SHARIF, 1938.). *Hyalomma excavatum* se u literaturi može naći i pod imenom „*H. anatolicum*“ no danas se smatra odvojenom vrstom. Molekularna istraživanja su dokazala prisutnost DNK oba uzročnika piroplazmoze konja u žlijezdama slinovnicama ove vrste krpelja (ABEDI i sur., 2014., ROS-GARCIA i sur., 2013.). Vektorska kompetencija *H. lusitanicom* za *T. equi* dokazana je hranjenjem nimfi na bolesnim konjima te promatranjem razvoja sporozoita u slinskim žlijezdama. Sporozoiti su pokazali sposobnost invazije zdravih konja (ZAPF i SCHEIN, 1994.). Iz ove vrste krpelja prikupljenih s divljih papkara je izoliran i DNK *A. phagocytophilum* (DÍAZ-CAO i sur., 2022.). U vrsti *H. scupense* dokazan je transtadijski prijenos *T. equi* (PFEIFER-BARBOSA i sur., 1995.) *H. truncatum* značajan je vektor u prijenosu *B. caballi*, zbog sposobnosti transovarijskog prijenosa uzročnika, čak i u slučajevima niskih parazitemija (DE WAAL, 1990., BLOUIN i DE WAAL, 1989.).

2.1.4.1.1.4. Rod *Ixodes*

Značajna morfološka značajka roda *Ixodes* je analna brazda koja je sprijeda (anteriorno) anusa, dok je kod drugih rodova smještena posteriorno. Palpi su dugi. Oči i festuni nisu prisutni, skutum je neukrašen (ESTRADA-PEÑA i sur., 2018.).

U starijoj literaturi se navodi da ova vrsta ne može biti vektor uzročnika piroplazmoze konja (ENIGK, 1944.; DU TOIT, 1919.) no novija istraživanja pokazuju potencijal za intastadijski prijenos *T. equi* (IORI i sur., 2010.). Unatoč tome, *I. ricinus* je, uz *I. persulcatus*, značajan transtadijski vektor bakterije *A. phagocytophilum* (DUMLER i sur., 2001., PUSTERLA i sur., 2002.). Promjene klime pogodovale su širenju vrste *I. ricinus* na područja sjeverne i istočne Europe (MEDLOCK i sur., 2013.).

2.1.4.1.1.5. Rod *Rhipicephalus*

Rod *Rhipicephalus* prepoznatljiv je po *basis capituli* koja je heksagonalnog oblika. Analna brazda je smještena posteriorno od anusa. Oči i festuni su prisutni, skutum je neukrašen. Mužjaci imaju

dotadni štit i adanalni štit (ESTRADA-PEÑA i sur., 2018.). Rod *Rhipicephalus* sadrži nekoliko vrsta koji se dovode u vezu s prijenosom piroplazmoza konja.

Za vrstu *R. bursa* je dokazana vektorska kompetencija za oba uzročnika piroplazmoze konja (MARKOV i sur., 1940.). U slinskim žlijezdama ove vrste na području Irana, Tunisa, Italije i Francuske dokazan je DNK oba uzročnika (ROS-GARCIA i sur., 2013.; ABEDI i sur., 2014., ROMITI i sur., 2020.; ROCAFORT-FERRER i sur., 2022.). U ovoj vrsti krpelja prikupljenih s divljih konja na području Portugala, uz DNK *T. equi* i *B. caballi*, potvrđena je DNK *T. haneyi* (BARRADAS i sur., 2024.). Molekularnim metodama dokazana je i prisutnost bakterije *A. phagocytophilum* (DAHMANI i sur., 2017.) Potrebna je godina dana te dva nosioca za završetak razvojnog ciklusa uz izraženu sezonsku aktivnost. Odrasli stadiji aktivni sredinom ljeta, a nezreli stadiji tijekom jeseni i zime (ROMITI i sur., 2020.). *R. bursa* je krpelj Mediterana te preferira niže nadmorske visine. Može se prilagoditi i travnatim područjima, ali i onima s djelomično pustinjaškom klimom (RAELE i sur., 2015.). Unatoč tome, njegova prisutnost je zabilježena i u hladnim područjima Krima i Ukrajine, što pokazuje njegovu sposobnost prilagodbe (AKIMOV i NEBOGATKIN, 2013.). Na području RH prisutan je na području gotovo cijelog primorja te u Zagrebu, Daruvaru i Slunju (JURKOVIĆ, 2021.) U krpeljima prikupljenim s invadiranih ovaca izoliran je DNK *T. ovis* (DUH i sur., 2008.).

Rhipicephalus annulatus je vrsta koji se primarno hrani na govedima. Doveden je samo u epidemiološku vezu s izbijanjem piroplazmoze na području Europe (CARPANO, 1914.). Na području Izraela, u žlijezdama slinovnicama ove vrste pronađen je DNK *T. equi* (TIROSH- LEVY i sur., 2020a). Promjene u nomenklaturi zahvatile su i sljedeće dvije vrste s područja Afrike: *Rhipicephalus evertsi* i *Rhipicephalus mimeticus*. Danas se vode kao dvije odvojene vrste, a nekoć su smatrane podvrstama, pod nazivom *R. evertsi evertsi* i *R. evertsi mimeticus* (GUGLIELMONE i sur., 2010.). U *R. evertsi evertsi* dokazan je uspješan transstadijski prijenos oba uzročnika no transovarijski prijenos *T. equi* nije bio uspješan (THEILER, 1906.; DE WAAL i POTGIETER, 1987.). *R. evertsi mimeticus* pokazao se kompetentnim vektorom za transstadijski prijenos *T. equi* (POTGIETER i sur., 1992.) *R. microplus* se ranije smatrao pripadnikom roda *Boophilus* no danas pripada rodu *Rhipicephalus* (MURRELL, 2000.). U eksperimentalnim uvjetima se pokazao učinkovitim vektorom *T. equi* (GUIMARAES i sur., 1997., GUIMARAES i sur., 1998., UETI i sur., 2003., UETI i sur., 2005.) no u terenskim uvjetima postoji samo epidemiološka poveznica

(UETI i sur., 2008.). Daljnja istraživanja su potrebna kako bi se razjasnila njegova vektorska uloga. U ranijim istraživanjima *R. sanguineus* je smatran vektorom oba uzročnika piroplazmoze (AGRINSKI, 1938., ENIGK, 1944.) no novija istraživanja nisu uspjela potvrditi te rezultate. Zato se pretpostavlja da je u ranijim istraživanjima poistovjećen s vrstom *R. turanicus* (IOFFE-USPENSKY i sur., 1997.; DANTAS–TORRES i sur., 2024.). Također je moguće da *R. sanguineus*, zbog svoje izrazite genetske varijabilnosti, zapravo kompleks vrsta u kojem se nalazi i *R. turanicus* (MILLÁN i sur., 2024.). *Rhipicephalus turanicus* se kroz sve razvojne stadije pokazao sposobnim podržati razvoj *T. equi* (MOLTMAN i sur., 1983.) Istraživanja transstadijalnog prijenosa nisu bila uspješna (POTGIETER i sur., 1992.). U vrsti *R. turanicus* na području RH dokazan je DNK bakterije *A. phagocytophilum* (JURKOVIĆ - ŽILIĆ i sur., 2024.) te *T. ovis* (DUH i sur., 2008.).

2.1.4.1.2. RED DIPTERA

Red Diptera (dvokrilci) uključuje dva podreda, Nematocera i Brachycera. U podredu Brachycera nalazi se nekoliko porodica od veterinarskog značaja. Porodica *Tabanidae* obuhvaća 13 različitih rodova obada s područja Europe. Muhe koje se hrane sekretom (sekretofagne muhe) i krvlju (hematofagne muhe) nalaze se u porodici *Muscidae*. Vrste porodice *Glossinidae* su česti vektori različitih vrsta tripanosoma. U porodici *Hippoboscidae* nalazi se najčešću hematofagni parazit konja, *Hippobosca equina* (HALL i GERHARDT, 2002.).

2.1.4.1.3. Porodica *Hippoboscidae*

Porodica Hippoboscidae obuhvaća tri podporodice s 213 vrste, od kojih 30 naseljava područje Europe (HUTSON, 1984.; OBOŃA i sur., 2019.). Kao mogući vektor bolesti konja najznačajnija vrsta je *Hippobosca equina*. Zadnjih godina širi se i u urbana područja čime se povećava rizik od mogućeg prijenosa bolesti na ljude i životinje (DECASTELLO i FARKAS, 2010.). Na konjima se ponekad može pronaći i vrsta *Lipoptena cervi*, ektoparazit jelenske divljači (DEHIO i sur., 2004.). Sve vrste su makrolarviparne. Ličinka ostaje u maternici i hrani se sekretom žlijezda gotovo do vremena prelaska u kukuljicu. Ženka ličinke polaže u ptičja gnijezda, na dlaku sisavaca koji služe kao nosioci ili na tlo (HAFAZ i sur., 1977.). Aktivni su tijekom toplih mjeseci te se mogu pronaći na područjima tijela konja koje pokriva tanka koža, kao što su okolina spolnih organa, prepona te anusa (SOKÓŁ, 2015.). Na tijelu konja najčešće se pronalazi konjska kožnatice, *Hippobosca equina*. Tijelo je dorzoventralno spljošteno, uže u prednjem kraju dok se iza širi u vrećasti

abdomen. Pokriveno je dlačicama. Duljina varira između 6 – 8 mm. Smeđe su boje, a prisutne mogu biti i žućkaste pjegice. Glava je široka i spljoštena, djelomično uvučena. Lateralno na glavi se nalaze izražene oči, smeđe- crvene boje. Usni aparat je dobro razvijen, udešen za probijanje kože i hranjenje krvlju. Krila su velika i prozirna. Noge su snažne i obrasle dlačicama. Na kraju tarzusa se nalaze dvije pandže koje im omogućavaju dobro prijanjanje za površinu i nesmetano kretanje kroz dlačni pokrivač životinje. Između pandži se nalaze strukture nazvane pulvili koje olakšavaju prijanjanje uz dlake (OBOŇA i sur., 2022.). Kratko, robusno tijelo, velika krila, snažan usni aparat i jastučići na nogama koji omogućavaju čvrsto prijanjanje za dlaku nosioca, dokaz su prilagodbe predatorskom načinu života (ANDREANI i sur., 2020.). Unatoč tome, istraživanja vektorskog potencijala ovog ektoparazita još se uvijek oslanjaju na dokaz DNK uzročnika bolesti te na epidemiološkim poveznicama.

Molekularnim istraživanjima ektoparazita *H. equina* dokazan je DNK brojnih uzročnika bolesti, primjerice bakterije *Corynebacterium pseudotuberculosis equi*, *Bartonella sp.*, *Tripanosoma sp.*, *Borrelia sp.*, *Anaplasma sp.* te *Wolbachia sp.* (BOUCHEIKHCHOUKH i sur., 2018.; ABDULLAH i sur., 2022.; PEŇA-ESPINOZA i sur., 2023.; MAŠLANKO i sur., 2024.). DNK oba uzročnika piroplazmoze konja izoliran je iz konjskih kožnatice prikupljenih s konja pozitivnih na babeziozu i theilarijozu na području Španjolske (DORREGO i sur., 2026.). Unatoč tome što je uzročnik *T. equi* dokazan u krvi magaraca iz Kenije, u *H. equina* prikupljenih s istih životinja DNK uzročnika nije dokazan (MWAKI, 2023.). SELMI i sur. (2020.) su ustanovili višu razinu infestacije *H. equina* konja koji su bili pozitivni na uzročnika *Anaplasma sp.* Osim što je dokazan u *H. equina*, DNK bakterije *A. phagocytophilum* dokazan je u *L. cervi* (VÍCHOVÁ i sur., 2011.).

2.1.4.1.4. Porodica Tabanidae

Rodovi od veterinarskog i medicinskog značaja unutar porodice Tabanidae su *Tabanus*, *Haematopota* i *Philipomyia*. Na području RH opisano je ukupno 78 vrsta i podvrsta obada, svrstano u deset rodova i dvije podporodice (KRČMAR i sur., 2011.). Odlikuje ih zbijeno tijelo, duga, jaka krila te velike oči čija boja varira ovisno o vrsti (FAIRCHILD, 1969.).

Morfološke značajke važne za identifikaciju rodova obada uključuju duljinu i boju tijela, izgled krila, veličinu, poziciju i boju očiju, karakteristike čeonih pjega i čeonog trokuta te izgled i duljinu ticala i pipala (KRČMAR i sur., 2011.).

Rod *Haematopota* odlikuje sivkasto i usko tijelo. Duljine su oko 7-13 mm. Antene su duge i uske no za razliku od roda *Tabanus* nemaju razvijen dorzalni „zubić“. Oči su najčešće jarko zelene, smeđe ili sivkasto zelene s zavojitim prugama. Izražena je čeona pjega koja zauzima veći prednji dio glave koja je široka barem koliko i prvi torakalni segment. Na glavi su prisutne i crne pjege. Usni aparat je izražen, pozicioniran ventralno i udešen za ubadanje. Abdomen je crno – siv. Krila su sivkasto – smeđa, prekrivena sivkastim šarama ili pjegama (CHVÁLA i sur. 1972.).

Jedinke roda *Philipomyia* odlikuju se zdepastim tijelom, srednje veličine koje može nalikovati onome roda *Tabanus*. Duljine su između 10- 20 mm. Najčešće su smeđe boje i prekriveni dlačicama. Oči su izražene, bez crtica. Kao i kod ostalih rodova, usni aparat je dobro razvijen. Čeoni dio je umjereno širok. Antene su izražene s razvijenim dorzalnim „zubićem“. Krila su velika, dobro razvijena bez šara ili pjega (KRČMAR i sur., 2011.).

Vrste roda *Tabanus* veličinom variraju od srednje velikih do velikih primjeraka. Duljina se kreće između 10 – 30 mm. Oči su istaknute i u boji (zelena, smeđa) te su prisutne od jedne do četiri tamnije crte na njihovoj površini no neke vrste nemaju crte u očima. Antene su izražene i pružaju se prema naprijed. Sastoje se od četiri segmenta i izraženog dorzalnog „zubića“. Vršni dio pipala je tanak i zašiljen, a ona su obrasla tankim dlačicama. Usni aparat je vrlo izražen, posebno kod ženki. Abdomen je najčešće crno- siv, ali može biti i smeđ, ovisno o vrsti te prekriven dlačicama. Tijelo se sužava prema zadtku na kojem su prisutne karakteristične pruge koje bojom variraju od smeđe do sivkaste. Krila su prozirna, sa tamnijim, razgranatim rebrima. Krila većine vrsta ovog roda nemaju šare no u manjem broju vrsta su prisutne sive pjege (HUTSON i KEDS, 1984.).

Ženke se hrane krvlju koja im je potrebna za dozrijevanje jaja, a mužjaci nektarom različitih vrsta biljaka (THOMAS, 1973.). Usni aparat je prilagođen zasijecanju kože i ozljeđivanju kapilara što uzrokuje mikro krvarenja (DICKERSON i LAVOPIERRE, 1959.). Zbog bolnog uboda, životinje često burno reagiraju što prisiljava obada da prekine hranjenje i odleti na drugu životinju. Tamo se hranjenje nastavlja te dolazi do regurgitacije krvi u ranu nastalu hranjenjem. Djelovanjem pepsina tabanina, rane krvare dulje vrijeme što privlači i druge insekte (KOH i KINI, 2009.). Tijekom hranjenja i do 10^{-6} mL krvi zaostaje u usnom aparatu (FOIL i sur., 1987.). Nadalje, različite vrste obada hrane se na različitim mjestima na tijelu konja čime se smanjuje kompeticija među vrstama i produljuje doba hranjenja (KRČMAR i sur., 1995.).

Unatoč svim navedenim karakteristikama koji ih čine idealnim vektorima u prijenosu bolesti, malo je istraživanja koja se bave njihovom vektorskom ulogom (BALDACCHINO i sur., 2014.). Pomoću matematičkog modela i eksperimentalnih studija obada i tripanosoma, DESQUESNES i sur. (2009.) zaključili su da uspjeh prijenosa uzročnika ovisi o gustoći populacije insekata, veličini usnog aparata, količini krvi zaostaloj na usnom aparatu, razini parazitemije u krvi životinju te o omjeru invadiranih i zdravih životinja u stadu. Moguć utjecaj ima i duljina neometanog hranjenja insekta na životinji (SCHOFIELD i TORR, 2002.). FOIL (1989.) obade dovodi u vezu s prijenosom više od 30 uzročnika bolesti domaćih životinja. Istraživanja provedena na konjima dokazala su prijenos virusa infektivne anemije konja (IAK) (HAWKINS i sur., 1976.; DELIBERATO i sur., 2019.) te parazita roda *Trypanosoma* (TAN i sur., 2022.). DNK bakterije *A. phagocytophilum* je dokazan u nekoliko vrsta obada porodice *Tabanidae* (WERSZKO i sur., 2019.). Potencijalna vektorska veza postoji i kod prijenosa bakterija *Borrelia burgdorferi*, *Brucella* spp., *Clostridium chauvoei*, *Coxiella brunetii*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Francisella tularensis*, *Listeria monocytogenes*, *Neorickettsia risticii* i *Pasteurella multocida* na konje (KRINSKY, 1976., BALDACCHINO i sur., 2014.).

2.1.4.1.5. Porodica *Muscidae*

Rod od najvećeg veterinarskog značaja unutar porodice *Muscidae* jest rod *Stomoxys*. Obuhvaća 18 različitih vrsta muha koje su sve obligatni hematofagi. Obitavaju na područjima tople klime, osim vrste *Stomoxys calcitrans* („stajska muha“) koja je kozmopolit. Odlikuje je smeđe tijelo i toraks isprugan crnim prugama. Usni aparat je udešen za hranjenje krvlju i dobro razvijen. Oba spola se hrane krvlju. Ženka polaže jajašca na supstrat bogat organskom tvari, poput vegetacije u raspadu te stelje kontaminirane urinom i izmetom (COOK i sur., 2018.). Aktivna je tijekom dana, posebice tijekom toplih mjeseci. Najčešće se nalazi u blizini domaćih životinja, no u njihovom odsustvu, hrani se i na ljudima. Kao i kod hranjenja porodice *Tabanidae*, zbog bolnog uboda, životinje ju često otjeraju pa nastavlja hranjenje na drugoj životinji. Tijekom obroka uzima oko 11–15 µL krvi (SALEM i sur., 2012.) te regurgitira slinu, ali i dio krvi iz prošlog obroka u ranu čime dolazi do prijenosa uzročnika bolesti. Osim toga, dio krvi pohranjuje u ezofagealni divertikulum koji omogućava preživljavanje uzročnika bolesti. Time je moguć i njihov odgođen prijenos na druge životinje (BUTLER i sur., 1977., STOFFOLANO, 2022.). HORNOK i sur. (2020.) smatraju da je to jedan od mehanizama prijenosa *T. equi*.

Osim uzročnika tajlerioze konja, pronađen je i DNK uzročnika *Theileria sp.* te *Babesia canis vogeli* (CHANGBUNJONG i sur., 2016.). Eksperimentalan prijenos *Trypanosoma vivax* na goveda nije bio uspješan (HELLER i sur., 2024.). Osim parazita, dovodi se u vezu s mogućim prijenosom bakterija *Bacillus anthracis*, *Coxiella brunetii*, *Dermatophilus congolensis*, *Enterobacter sakzakii*, *Erysipelothrix rhusiopathiae* (BALDACCHINO i sur., 2013.). Smatra se mehaničkim vektorom virusa IAK (FOIL i sur., 1983.; HAWKINS i sur., 1973.), virusa papilomatoze goveda, uzročnika sarkoida konja (HASPELAGH i sur., 2018.). te virusa Zapadnog Nila (DOYLE i sur., 2011.). U najnovijim istraživanja u stajskim muhama na području Austrije dokazan je RNA hepacivirusa konja (FRISCH i sur., 2025.). Osim prijenosa bolesti, molestira životinje na pašnjaku, uzrokujući stres, smanjen unos hrane te pad mliječnosti što dovodi do ekonomskih šteta (Rodríguez-Vivas i sur., 2017.; PATRA i sur., 2018.) Kod većih navala, moguć je gubitak krvi (CORTINAS i JONES, 2006.), razvoj mijaza i opsežnih lezija kože (GONZÁLEZ i sur., 2022.).

2.1.4.2. MEHANIČKI PRIJENOS

Osim mehaničkog prijenosa uzročnika piroplazmoze nekim insektima i krpeljima, prijenos je moguć i na druge načine. Veterinarski postupci poput vađenja krvi, cijepljenja te aplikacije lijekova mogu biti potencijalan način prijenosa bolesti (SHORT i sur., 2012.).

2.1.4.3. INTRAUTERINE INVAZIJE

Kobile koje su asimptomatski nosioci *T. equi* mogu transplacentalno prenositi uzročnika na ždrebac već nakon četvrtog mjeseca graviditeta. Prijenos se može ponavljati nekoliko godina, kroz više ždrebnosti, bez patoloških promjena posteljice. Smatra se da do invazije ždrebeta dolazi tijekom perioda histiotropne hranidbe i prije razvoja imunskog sustava što omogućava rođenje asimptomatskog ždrebeta nosioca (ALLSOPP i sur., 2007., SANT i sur., 2016.). Do transplacentalnog prijenosa može doći i usred patoloških promjena posteljice (DU PLESSIS i BASSON, 1966; ERBSLOH, 1975.). Graviditet može prekinuti pobačaj, a ukoliko se bolest razvije nakon poroda, klinički simptomi uključuju povišenu temperaturu, letargiju, smanjen apetit, hemolizu te pojavu edema. U Izraelu je opisan i slučaj tajlerioze živčanog sustava novorođenog ždrebeta (LEVI i sur., 2018.), no smatra se da tajlerioza nije čest uzrok pobačaja i smrtnosti ždrebadi u toj državi (TIROSH-LEVY i sur., 2020d.). Sporadični slučajevi intrauterinog prijenosa opisani su u Austriji (DIRKS i sur., 2021.), Brazilu (DE SOUSA i sur., 2017.), Indiji (CHHABRA

i sur., 2012.; SUDAN i sur., 2015.), Italiji (BARTOLOMÉ DEL PINO i sur., 2023.), Trinidadu (GEORGES i sur., 2011.) i UK (PHIPPS i OTTER, 2004.).

Istraživanje intrauterinih invazija u Francuskoj dokazalo je prisutnost *T. equi* ne samo u posteljici nego i u pupčanoj vrpici te kolostrumu što naglašava važnost daljnjih istraživanja načina prijenosa ovog uzročnika (HERMANS i sur., 2025.).

2.1.4. PATOGENEZA I IMUNOLOŠKI ODGOVOR

Unatoč tome što je poznato da oba uzročnika piroplazmoze uzrokuju lizu eritrocita te hemolitičnu anemiju puno je neodgovorenih pitanja kod uloge imunskog sustava (MASAKE i MUSOKE, 2010.; TORINA i sur, 2020.). Poznato je da urođena imunost ima važnu ulogu u kontroli nekih pripadnika rodova *Babesia* i *Theileria* no mehanizam djelovanja uslijed razvoja piroplazmoze nije sasvim razjašnjen. Unatoč tome, čini se da dušični oksid kojeg proizvode makrofagi tijekom invazije *B. caballi* ima važnu ulogu (HANAFUSA i sur., 1998.). U kontroli invazije značajna je i uloga slezene. Sposobna je ukloniti većinu hemotropnih protozoja te su konji invadirani *B. caballi* i *T. equi* u većini slučajeva kontroliraju invaziju. Međutim, splenektomirani konji razvijaju visoku razinu parazitemije koja često završava smrću (GRACIA-CALVO i sur., 2015.). Nadalje, konji invadirani *T. equi* proizvode antitijela protiv proteina na površini merozoita, nazvani antigeni merozoita konja (eng. *equi merozoite antigens*, EMA) (KNOWLES i sur., 1991.; KNOWLES i sur., 1992.). Kod invazije *B. caballi* dolazi do razvoja protutijela na „rhoptry povezan protein-1“ (eng., *rhoptry associated protein*, RAP) (BHOORA i sur., 2009.; BHOORA i sur., 2010b). Oba se koriste u dijagnostičke svrhe (RAPOPORT i sur, 2014.; OTGONSUREN i sur., 2024.; RAZA i sur., 2024.). Također, poznato je da se antitijela kolostrumom prenose na ždrijebe te mogu perzistirati u organizmu ždrebeta četiri do pet mjeseci. Ždrebad s endemskih područja otporna je na invazije no ne može se sa sigurnošću tvrditi je li to posljedica prijenosa antitijela ili niske razine parazitemije (DONNELLY i sur., 1982.; KUMAR i sur., 2008., RÜEGG i sur., 2008.)

Ne postoji unakrsna reaktivnost između *B. caballi* i *T. equi* uzročnika pa je moguća koinvazija (MEHLHORN i SCHEIN, 1998.; TIROSH – LEVY i sur., 2021.; RAR i sur., 2024.). Unatoč blagoj unakrsnoj reaktivnosti, moguća je koinvazija uzročnicima *T. haneyi* i *T. equi* (SEARS i sur., 2019.).

2.1.5. KLINIČKA SLIKA I LIJEČENJE

Klinički znakovi oboljenja su slični kod oba uzročnika, a težina kliničkih znakova ovisi o vrsti uzročnika, razini parazitemije te zdravstvenom stanju konja. Životinje koje borave u endemskim područjima najčešće pokazuju blažu kliničku sliku ili su asimptomatske (WISE i sur., 2013.). Kod niskih razina parazitemije, najčešće ne dolazi do razvoja kliničkih znakova, ali su konji rezervoari uzročnika (UETI i sur., 2008.). *T. equi* uzrokuje težu kliničku sliku od *B. caballi* (CAMACHO i sur., 2005.) Vrijeme inkubacije traje od 10-30 dana za *B. caballi*, a za *T. equi* od 12-19 dana (FRIEDHOFF i SOULE, 1996.).

Najčešći klinički znakovi akutne piroplazmoze su vrućica, letargija, pad apetita i pojava edema. (CAMINO i sur., 2019.). Kronično invadirani konji najčešće pokazuju znakove nespecifične kronične upale, uključujući gubitak težine, loše gojno stanje, malaksalost i smanjenu spremnost na rad. Ponekad je prisutna splenomegalija (FRIEDHOFF i SOULE, 1996.).

Unatoč postojanju širokog spektra preparata za liječenje piroplazmoze konja, najčešći izbor je imidokarb dipropionat (ROTHSCHILD, 2013.). Dobrog je djelovanja na *B. caballi*, ali slabijeg na *T. equi* pa su često potrebne ponovne aplikacije lijeka kako bi se postiglo izlječenje (UETI i sur., 2012.). *T. haneyi* je manje patogena od *T. equi*, čak i na splenektomiranim konjima. Unatoč tome, zabrinjava neuspjeh liječenja imidokarb dipropionatom (SEARS i sur., 2020.; SEARS i sur., 2022.).

Važno je istaknuti da se ciljevi liječenja razlikuju ovisno o tome živi li životinja u endemskom području ili ne. Kompletno izlječenje životinje endemskog područja može dovesti do slabljenja zaštitnih mehanizama. Posljedično tome, veća je vjerojatnost razvoja težih kliničkih znakova kod sljedeće invazije. Iznimka su samo konji namijenjeni prodaji ili transportu u područja koja nisu endemska. Kod konja koji ne prebivaju u endemskom području, cilj terapije je potpuno uklanjanje uzročnika (TAMZALI, 2013.).

2.1.6. DIJAGNOSTIKA

Obzirom da su klinički znakovi piroplazmoze nespecifični, nužno je provesti daljnju dijagnostiku pa i kombinirati više dijagnostičkih metoda. To je posebno važno pri transportu životinja u zemlje službeno slobodne od piroplazmoze konja (AIDA i sur, 2023.). Poseban izazov trenutno predstavlja dijagnostika *T. haneyi* koja nema EMA-1 gen, korišten za dijagnostiku *T. equi* (KNOWLES i sur., 2018.).

Metode se dijele u izravne i neizravne. Razmaz krvi, metoda kulture *in vitro* te molekularne metode su izravne metode dokaza uzročnika. Test reakcije vezanja komplemenata (RVK), metoda indirektna imunofluorescencije (IFAT), indirektni imunoenzimni test (iELISA) i kompetitivni imunoenzimni test (cELISA) ubrajaju se u neizravne metode dokaza uzročnika (MENDOZA i sur., 2024.).

Dva serološka testa – cELISA i IFAT su službeno priznati testovi pri transportu životinja u zemlje slobodne od piroplazmoze konja (OIE, 2021., CHEN i sur., 2022.).

2.1.6.1. NEIZRAVNE METODE

Serološke metode otkrivaju prisutnost specifičnih protutijela u krvi konja no nisu dokaz akutne invazije i eventualne pojave kliničkih znakova u testirane životinje. Također, razina titra protutijela nije u korelaciji s razinom parazitemije u krvi (WEILAND, 1986.). Stoga se serološke metode najčešće koriste u epidemiološkim istraživanjima uzročnika (PERIS i sur., 2025.; VILLA i sur., 2025.). Dva serološka testa – cELISA i IFAT su službeno priznati testovi pri transportu životinja u zemlje slobodne od piroplazmoze konja (OIE, 2021., CHEN i sur., 2022.).

2.1.6.2. IZRAVNE METODE

2.1.7.2.1. Razmaz krvi i metoda uzgoja na kulturi stanica

Pregled razmaza krvi jednostavan je za pripremu i jeftin jer ne zahtjeva nikakvu opremu osim predmetnog stakalca i bojila (najčešće Giemse) te mikroskopa (BRÜNING, 1996.). Merozoiti *B. caballi* i *T. equi* karakteristični su i dobro vidljivi pa je metoda pouzdana za dijagnostiku akutnih stadija piroplazmoze konja (SIMPSON i sur. 1967.). Unatoč tome, kod kroničnih invazija i asimptomatskih nosioca, razina parazitemije često je niska (što je ponekad slučaj i kod akutnih invazija) pa metoda gubi na specifičnosti (TAMZALI, 2013.).

Metoda uzgoja na kulturi stanica pokazala se uspješnom u detekciji oba uzročnika piroplazmoze, čak i kod vrlo niskih razina parazitemije. Zato je prikladna za otkrivanje kronično invadiranih i asimptomatskih nosioca. Unatoč tome, postupak je dugotrajan, uzorci krvi moraju biti svježi, a osoblje obučeno pa je zato sve više zamjenjuju molekularne metode (ZWEYGARTH i sur., 2002.).

2.1.7.2.2. Molekularna dijagnostika

Unatoč tome što se serološke metode često koriste u dijagnostici piroplazmoze konja, mogu dovesti do lažno negativnih rezultata tijekom akutne faze bolesti. Za razliku od njih, molekularne

metode su pouzdane već od ranih faza invazije. Također, postoje genotipovi *B. caballi* i *T. equi* koje serološke metode ne mogu detektirati (KETTER-RATZON i sur., 2017.; WANG i sur., 2019.; ZHOU i sur., 2023.). Mogu se koristiti i za otkrivanje mješovitih invazija, asimptomatskih nosioca, ali i za genetska istraživanja uzročnika (JAFFER i sur., 2010.). Međutim, mogući su lažno negativni nalazi u slučaju niske parazitemije pa je potreban je daljnji rad na standardizaciji molekularnih metoda (MENDOZA i sur., 2024.). Koriste se konvencionalni, ugniježđeni i kvantitativni PCR.

2.1.7.2.2.1. Konvencionalni PCR

Konvencionalni PCR je najstarija metoda od gore navedenih no i dalje vrlo pouzdana. Temelji se na umnažanju specifične sekvence DNK patogena što omogućava njegovu detekciju u ispitivanim uzorcima. Za dijagnostiku uzročnika piroplazmoze konja koriste se vrsno specifične početnice (BHOORA i sur., 2009.; MSHELIA i sur., 2020.). Najčešće se umnaža odsječak 18S rRNA gena, ali se koristi i EMA-1 gen. Posebno je korisna u detekciji kroničnih i subkliničkih invazija, kada je razina parazitemije niska (ONYICHE i sur., 2019.).

2.1.7.2.2.2. Kvantitativni PCR

Kvantitativni PCR predstavlja unaprijeđenu verziju konvencionalnog PCR-a. Osim detekcije uzročnika, sposoban je kvantificirati uzročnika u ispitivanom uzorku (MENDOZA, 2024.).

Koristi EMA-1 i RAP-1 gen (HEIN i sur.; 2007.; BHOORA i sur., 2010b), ali i EMA-2 gen u detekciji uzročnika u krpeljima (UETI i sur., 2003.). Vrijedan je alat i u genetskim istraživanjima (WANG i sur., 2019.).

Ovom metodom je moguće istovremeno dijagnosticirati oba uzročnika piroplazmoze konja (CHEN i sur., 2022.), a radi se i na razvoju metode za detekciju *T. haneyi* (ZHOU i sur., 2023.; BHOORA i sur., 2025.).

2.1.7.2.2.3. Ugniježđeni PCR

Početnice koje koristi ugniježđeni PCR ciljaju EMA - 1 gen u dijagnostici *T. equi* i RAP-1 gen za *B. caballi* (AYALA-VALDOVINOS i sur., 2017.; DÍAZ-SÁNCHEZ i sur., 2018.). Metoda se pokazala pouzdanom i kod pojave varijabilnosti ciljanih proteina (MAHMOUD i sur., 2016.). S ciljem pouzdanije detekcije oba uzročnika piroplazmoze konja, razvijen je i multiugniježđeni PCR (CORTÉS i sur., 2019.). MACHADO i sur. (2025.) su pomoću poluugniježđenog PCR-a i

korištenjem EMA-10 i EMA-11 gena uspjeti dokazati prisutnost *T. haneyi* u konja na području Brazila.

2.1.7.2.2.4. Obrnuta linijska blot hibridizacija

Obrnuta linijska blot hibridizacija razvijena je u cilju prevladavanja nekih nedostataka drugih metoda, primjerice nemogućnosti istovremenog otkrivanja protozojskih i riketsijalnih uzročnika (SCHNITTGER i sur., 2004.). Vrlo je osjetljiva i specifična. Korisna je u otkrivanju novih vrsta i genotipova uzročnika (NAGORE i sur., 2004.), a može se koristiti i u procjeni učinkovitosti antiparazitika (BUTLER i sur., 2008a).

2.1.4. GENETSKA RAZNOLIKOST UZROČNIKA PIROPLAZMOZE

Istraživanja genetske raznovrsnosti uzročnika piroplazmoze temelje se na analizi Rap-1 gena u istraživanjima *B. caballi* (BHOORA i sur., 2010b; DANTAS-TORRES i sur., 2024.; WU i sur., 2024.), EMA-1 gena za *T. equi* (COULTOUS i sur., 2022.; KALANTARI i sur., 2022.; KUMAR i sur., 2021.), β tubulin gena (MONTES-CORTÉS i sur., 2017.) i hipervarijabilnih područja 18S sRNK gena za oba uzročnika. Za otkrivanje uzročnika te istraživanja filogeneze i genetske raznolikosti pripadnika koljena Apicomplexa, V4 hipervarijabilno područje 18S sRNA gena je najbolji izbor (NEHRA i sur., 2021; RAR i sur., 2024.).

2.1.8.1. Analiza 18S sRNK gena

Najveći broj istraživanja koja se bave taksonomskom klasifikacijom oba uzročnika piroplazmoze temelje se na analizi V4 hipervarijabilnog područja 18S sRNK gena.

2.1.8.1.1. *Babesia caballi*

U ranijim istraživanjima uzročnika piroplazmoze opisana su dva genotipa nazvana Babesia –like genotip i Theileria-like genotip (NAGORE i sur., 2004.; KOUAM i sur., 2010.). Daljnjim analizama 18S sRNK gena *B. caballi*, utvrđene su značajne genetske razlike, što je dovelo do formiranja grupe A i B, koje su kasnijim istraživanjima dodatno podijeljene na podgrupe A1 i A2 te B1 i B2 (BHOORA i sur., 2009.; NAGORE i sur., 2004.). Istraživanja konja u Jordanu rezultirala su uspostavljanjem grupe C (QABLAN i sur., 2013.). Međutim, poteškoću u interpretaciji rezultata istraživanja stvara neusklađenost nomenklature u literaturi. Neki autori grupe označavaju slovima (BHOORA i sur., 2009.; CAMINO i sur., 2020.), a neki brojevima (BRAGA i sur., 2017.).

Istraživanja genotipa *B. caballi* provedena su u mnogim zemljama, posebice onima koje se smatraju endemskima. Tako se u bazi GenBank mogu pronaći sekvence iz Brazila (BRAGA i sur., 2017; DE SOUSA i sur., 2017.), Bugarske (NADER i sur., 2018.),), Crne Gore (DAVITKOV i sur., 2016.), Hrvatske (BECK i sur., 2009.), Gvineje (KARTASHOV i sur., 2021.), Iraka (BADAWI i sur., 2023.; ALANI i YOUSIF, 2023a), Izraela (TIROSH-LEVY i sur., 2021.), Italije (TOMA i sur., 2017.; DEL PINO i sur., 2016.), Kazahstana (ZENG i sur., 2025.), Kine (WANG i sur., 2019.), Kirgistana (SANG i sur., 2021.), Kube (DÍAZ-SÁNCHEZ i sur., 2018.), Mongolije (MUNKHJARGAL i sur., 2013.), Kariba (SANT i sur., 2019.), Senegala (DAHMANA i sur., 2019.), Južne Afrike (BHOORA i sur., 2009.) i Španjolske (NAGORE i sur., 2004.; CAMINO i sur., 2020.).

Unatoč tome, rezultati filogenetskih istraživanja nisu nužno podudarna s rezultatima autorima novijih istraživanja (TIROSH-LEVY i sur., 2020c.; NEHRA i sur., 2021., RAR i sur., 2024.)

Istraživanjem sekvenci u bazi GenBank, TIROSH-LEVY i sur. (2020c) na temelju 18S sRNK dijele *B. caballi* na grupu A, B1 i B2. Većina sekvenci potjecala je od konja, no nekoliko je pronađeno u krpeljima i dodijeljeno grupama B1 i B2. Sekvenca detektirana u psu iz Hrvatske i magarcu iz Italije svrstana je u grupu A.

Godinu dana nakon tog istraživanja, klasifikacija grupe B u dvije podgrupe nedavno je dovedena u pitanje. NEHRA i sur. (2021.) svrstavaju podgrupe B1 i B2 (BHOORA i sur., 2009.) zajedno s grupom C (QABLAN i sur., 2013.) u grupu B. Geografska rasprostranjenost grupe B obuhvaća područje Kine, Papue Nove Gvineje, Izraela, Italije, Kenije, Mongolije, Senegala, Južne Afrike, Španjolske.

U istom istraživanju, grupa A je podijeljena u podgrupe A1 i A2. Podgrupa A1 zabilježena je na području Brazila, Hrvatske, Italije, Kine, Kazahstana, Mongolije, Svetog Kristofora i Nevisa, SAD-a i Španjolske. Podgrupa A2 prisutna je samo na području Kine (NEHRA i sur., 2021.). Unatoč tome, ova klasifikacija *B. caballi* nije još univerzalno prihvaćena u istraživanjima pa to predstavlja izazov pri sistematizaciji i pregledu literature (FACILE i sur., 2025.). Primjer toga je najnovije istraživanje genotipova uzročnika piroplazmoze na području Rusije. RAR i sur. (2025.) uspostavljaju četvrtu podgrupu grupe B te dijele grupu A u pet podgrupa označenih A1-A5. Prema toj podijeli, podgrupa A1 *B. caballi* je široko rasprostranjena i prisutna je u zemljama Afrike, Sjeverne Amerike i Kine (BHOORA i sur. 2009.; DÍAZ-SÁNCHEZ i sur. 2018.; WANG i sur.

2019.). U Kini je prisutna samo podgrupa A2 (CHEN i sur., 2022.). Podgrupe A3 i A4 obuhvaćaju sekvence iz Sibira, a podgrupa A5 uključuje sekvence pronađene u kineskoj piki i voluharicama. U podgrupu B3 su svrstani genotipovi *B. caballi* pronađeni u krpeljima s područja Gvineje (KARTASHOV i sur., 2021.).

2.1.8.1.1.2. *Theileria equi*

Theileria equi pokazuje veću genetsku raznolikost od *B. caballi*. Početna istraživanja 18S rRNK gena ustanovila su samo dva genotipa nazvana A i B (NAGORE i sur., KOUAM i sur., 2010.), a kasnije je nadodana i grupa C (BHOORA i sur., 2009.; BRAGA i sur., 2017.; MANNA i sur., 2018.). Ubrzo zatim formirana je i grupa D (SALIM i sur., 2010.; HALL i sur., 2013.). Grupu E prvi opisuje QABLAN i sur. (2012.), a prisutna je u Mongoliji, (MUNKHJARGAL i sur., 2013.), Jordanu (QABLAN i sur., 2013.), Švicarskoj (LIU i sur., 2016.), Turskoj (OZUBEK i AKTAS, 2017.), Brazilu (PECKLE i sur., 2013.), Kini (WANG i sur., 2019.), Španjolskoj (CAMINO i sur., 2020.) i Izraelu (TIROSH- LEVY i sur., 2020a.).

Izrazita genetska raznolikost *T. equi* dovela je do identifikacije nove vrste nazvane *T. haneyi*. 18S rRNK sevanca *T. haneyi* je kraća od one *T. equi* i najbližnja je genotipu C (KNOWLES i sur., 2018.). Uspostavljanje *T. haneyi* kao nove vrste donijelo je nove izazove dovodeći u pitanje podatke o rasprostranjenosti i genetskoj raznolikosti *T. equi* u do sada objavljenim istraživanjima.

Prema najnovijoj klasifikaciji, genotipi *T. equi* pripadaju genotipu A, a *T. haneyi-like* genotip pripada genotipu B. Genotip *Theileria sp. Africa* (DAHMANA i sur., 2019.) svrstan je u grupu D, a genotip koji KNOWLES i sur. (2018.) nazivaju *T. haneyi* u genotip C. Postojanje grupe E je osporeno te je pridružena grupi B (NEHRA i sur., 2021.) Prema istom istraživanju, *T. equi* genotip A je najrašireniji i pronađen je u ukupno 31 zemlji na području Europe, Azije, Afrike te Sjeverne i Južne Amerike. Zabilježen je i u Hrvatskoj (GOTIĆ, 2015.). Zatim slijedi genotip B, zabilježen u 21 zemlji Azije, Afrike i Europe. Nova vrsta *T. haneyi* tj. genotip C također je prisutan na svim kontinentima, na području Alžira, Argentine, Brazila, Kine, Gambije, Izraela, Italije, Nigerije, Kariba, Južne Afrike, Tunisa te SAD-a. Najmanju geografsku proširenost ima genotip D, zabilježen u 21 zemlji Azije, Afrike i Europe. Unatoč tome, kao i u slučaju filogenetskih istraživanja *B. caballi*, postoji neujednačenost u dosadašnjim istraživanjima pa ni ova podjela nije univerzalno prihvaćena. Tako primjerice prošlogodišnje istraživanje genotipa *T. equi* u Mongoliji klasificira pronađene genotipove u grupu A i E (OTGONSUREN i sur., 2024.).

2.1.8.2. Analiza merozoit antigena konja (EMA- 1 gen)

EMA-1 gen je površinski antigen na kojem se temelji komercijalni ELISA test. Istraživanja su dokazala genetsku varijabilnost ovog gena te su formirane tri grupe koje se označavaju slovima ili brojevima (BHOORA i sur., 2010a). Daljnjim istraživanjima otkrivene su i četvrta i peta genetska grupa (MUNKHJARGAL i sur., 2013.; DÍAZ-SÁNCHEZ i sur., 2018.). U RH su potvrđene grupe A, B, D i E. Grupa A zabilježena je samo na sjeveru, a grupa E na jugu zemlje (COULTOUS i sur., 2022.).

Ova metoda se često koristi kao dodatna potvrda u genetskim istraživanjima *T. equi*, zajedno sa 18S sRNK genom. Unatoč tome, istraživanja su pokazala da vrsti *T. haney* nedostaje ovaj gen pa to ograničava njezinu upotrebu u dijagnostici ove novo prepoznate vrste.

2.1.8.3. Analiza rhoptry povezanog proteina – 1 (RAP-1) i gena

Tijekom invazije *B. caballi* dolazi do razvoja protutijela na „rhoptry povezan protein-1“ (eng., rhoptry associated protein, RAP-1). Temeljem njegove tipizacije utvrđena su tri genotipa, svrstana u grupe A1, A2 i B (BHOORA i sur., 2009.; BHOORA i sur., 2010b, RAPOPORT i sur., 2014.; MAHMOUD i sur., 2016.). Nove grupe koje su sadržavale genotipove specifične za istraživano područje otkrivene su u Mongoliji (MUNKHJARGAL i sur., 2013), Kubi (DÍAZ-SÁNCHEZ i sur., 2018) i Čileu (DANTAS-TORRES i sur., 2024.) podižući broj grupa na četiri. Međutim, nedavno istraživanje u Kini je proširilo ovu podjelu na osam grupa (WU i sur., 2024.). Zabilježene su i invazije s više genotipova (BHOORA i sur., 2025.).

Osim u filogenetskim istraživanjima, cELISA temeljena na RAP-1 genu je odobrena dijagnostička metoda prije uvoza u zemlje službeno slobodne od piroplazmoze konja (OIE, 2021.). Unatoč tome, metoda se pokazala neuspješnom u detekciji *B. caballi* u nekim izolatima uzoraka iz Južne Afrike (BHOORA i sur., 2024.) i Izraela (RAPOPORT i sur., 2014). Moguć uzrok je nedostatak RAP-1 gena u tim izolatima pa je potreban rad na novim metodama dijagnostike kako bi se izbjeglo širenje uzročnika piroplazmoze konja. S ciljem sprječavanja širenja novih genotipova, ključno je razviti metodu koja ih sve može detektirati (BHOORA i sur., 2010a, BHOORA i sur., 2024.).

2.2. ANAPLAZMOZA KONJA

2.2.1. KLASIFIKACIJA UZROČNIKA

Anaplasma phagocytophilum (prije *Ehrlichia equi*) pripadnik je obitelji Anaplasmataceae i reda Rickettsiales. Osim roda *Anaplasma*, pripadaju mu i rodovi *Ehrlichia*, *Neorickettsia* i *Wolbachia* (ANDRÉ, 2018.). *A. phagocytophilum* je obligatna je gram negativna, intracelularna bakterija. Uzročnik je granulocitne anaplazmoze konja, granulocitne anaplazmoze ljudi te granulocitne anaplazmoze pasa i mačaka. U prošlosti je svrstavana u rod *Ehrlichia* zajedno s uzročnicima *Ehrlichia canis* (erlihioza pasa i rjeđe ljudi), *E. chaffensis* (monocitna erlihioza ljudi), *E. ewingi* (erlihioza ljudi, granulocitna erlihioza pasa), *Anaplasma platys* (prije *E. platys*, ciklička trombocitopenija pasa), *Anaplasma marginale* (anaplazmoza goveda), *Neorickettsia sennetsu* (prije *E. sennetsu*, Sennetsu groznica ljudi) i *Neorickettsia risticii* (prije *E. risticii*, Potomačka groznica konja) (RIKIHISA, 2010.).

Dokazano je više novih vrsta i sojeva, primjerice *Anaplasma odocoilei* sp. Nov s područja SAD-a (TATE i sur., 2013.), Candidatus *Anaplasma boleense* i *Anaplasma capra* iz Kine (ALTAY i sur., 2024.; GUO i sur., 2019.) te vrsta srodna *A. platys* nazvana *Candidatus Anaplasma cinensis* (GUO i sur., 2019.; ZOBBA i sur., 2022.).

Unatoč tome, genetskim istraživanjima 16S rRNA, groESL proteina i gena površinskih proteina dokazala se izrazita genetska srodnost između uzročnika granulomatozne anaplazmoze ljudi te bakterija *Ehrlichia equi* i *Ehrlichia phagocytophila*. Danas se svi oni smatraju sojevima *A. phagocytophilum* (DUMLER i sur., 2001., RIKIHISA, 2010.) Uz nju, u rodu *Anaplasma* se danas nalaze i vrste *A. bovis*, *A. centrale*, *A. marginale*, *A. ovis* i *A. platys*. Od novih vrsta, rodu su nadodane *A. odocoilei* i *A. capra* (TATE i sur., 2013.) kao i veći broj novih genotipskih varijanti koje se za sada ne mogu pridružiti niti jednoj vrsti.

Osim utjecaja na zdravlje životinja, *A. phagocytophilum* sve je veća prijetnja i javnom zdravstvu zbog velikog broja nosioca (MONYAMA i sur., 2025.) koji uključuju ptice, reptile te različite vrste sisavaca (DINGLER i sur., 2014.; NIETO i sur., 2009.). Ptice mogu prenositi uzročnike preko velikih udaljenosti no od posebnog su značaja divlji i domaći preživai (RAŽANSKÉ i sur., 2021.; BIRTLES i HOLDING, 2025.). Ljudi, psi i konji se smatraju slučajnim nosiocima (PUSTERLA i MADIGAN, 2013.). Na području RH, uzročnik je dokazan u pasa (HUBER i sur., 2017.) i različitih vrsta domaćih i divljih životinja (BECK i sur., 2014.).

2.2.2. GEOGRAFSKA RASPROSTRANJENOST

Prvi slučaj granulocitne anaplazmoze konja zabilježen je u Kaliforniji 1969. godine (GRIBBLE, 1969.). Od tada su slučajevi bolesti opisani u SAD-u (RESTIFO i sur., 2015.; Siska i sur., 2013.; SUBBIAH i sur., 2021.), ali i u svijetu (ALEMAN i sur., 2024., SEO i sur., 2019.). Uzročnik je prisutan i u europskim zemljama, primjerice u Bugarskoj (TSACHEV i sur., 2018.), Češkoj (JAHN i sur., 2010.), Francuskoj (BONI i sur., 2009.), Njemačkoj (SCHÄFER i sur., 2022.), Italiji (VILLA i sur., 2022.), Poljskoj (NOWICKA i sur., 2022.) i Nizozemskoj (BUTLER i sur., 2008b). Do sada je opisan samo jedan slučaj anaplazmoze konja u RH, na području Slavonije (GOTIĆ i sur., 2017.).

U Europi se anaplazmoza konja prijavljuje sporadično. Epidemiološka istraživanja se pretežito oslanjaju na serološke metode dok je molekularnih istraživanja prevalencije *A. phagocytophilum* u konja s područja Europe malo. OĞUZ i sur. (2021.) su zabilježili molekularnu prevalenciju *A. phagocytophilum* konja u Turskoj od 6,4 %. Niske prevalencije između 1,8 % (TEODOROWSKI i sur., 2021.) do 2.63 % zabilježene su u Poljskoj, 2.56 % u Slovačkoj, a u istom istraživanju i 0% u Ukrajini (SLIVINSKA i sur., 2016.). Niska prevalencija od 5 % prijavljena je u Češkoj (ZEMAN i PECHA, 2008.). U istraživanju u Nizozemskoj, BUTLER i sur. (2008b) su razmazom leukocitno - trombocitnog sloja dokazali uzročnika u 5 od 61 konja. Međutim, samo jedan od pet konja je polučio pozitivan PCR rezultat. Nešto više prevalencije od 11, 30 % zabilježene su u Francuskoj (LEBLOND i sur., 2005.) i 15, 2 % u Njemačkoj (SCHÄFER i sur., 2022.).

U Središnjoj Italiji prevalencija *A. phagocytophilum* varira od 6,7 % (LAUS i sur., 2013.), 8.14 % (PASSAMONTI i sur., 2010.) pa do 25.62 % (EBANI i sur., 2015.). Unatoč pozitivnim serološkim rezultatima, uzročnik nije dokazan molekularnim metodama u Rumunjskoj (MITREA i sur., 2024.) i Slovačkoj (DRÁŽOVSKÁ i sur., 2021.). Na području SAD-a, prevalencija konja u Teksasu je iznosila 18 % (RUSSELL i sur., 2021.) U Južnoj Americi, na području Čilea, prevalencija je iznosila 13,6 % (HURTADO i sur., 2020.), u Meksiku 0,8 % (MEDRANO–BUGARINI i sur., 2019.), a u Brazilu je varirala od 0 % (COSTA i sur., 2021.) do 1,0 % (DOS SANTOS i sur., 2019.). U zemljama Afrike, uzročnik je u prevalenciji od 13 % dokazan u Tunisu (M'GHIRBI i sur., 2012.), 86 % u Pakistanu (SALEEM i sur., 2018.), u Iraku od 13 % (ALANI I YOUSIF, 2023b) do 18,6 % (ALIMAM i sur., 2025.). U Koreji je *A. phagocitophilum* dokazana u krvi (0.3%) i plućima (10.3 %) konja (SEO i sur., 2023.). Seroprevalencija najčešće premašuje

prevalenciju dokazanu molekularnim metodama ili uzročnik molekularno nije dokazan (DRÁŽOVSKÁ i sur., 2021; MITREA i sur., 2024.).

2.2.3. ETIOLOGIJA I RAZVOJNI CIKLUS

A. phagocytophilum se prenosi tijekom hranjenja zaraženih vektora. Inficira granulocite, najčešće neutrofile i eozinofile. U ciljnim stanicama izbjegava fagocitozu inhibirajući spajanje s lizosomima (BOGDAN i sur., 2024.). Unutar stanice umnaža se binarnom diobom te tvori inkluzije u citoplazmi - “morule”. Promjera su između 0.5-5 µm te mogu sadržavati oko dvadeset bakterija. Predstavljaju dijagnostički stadij u akutnom razdoblju bolesti. Tijekom hranjenja na zaraženoj životinji, krpelj unosi uzročnika koji se zatim umnaža u crijevima i u slinskim žlijezdama (AUBRY i GEALE, 2011.). Moguće su i koinfekcije s *T. equi* (DOS SANTOS i sur., 2019.).

2.2.4. PRIJENOS

2.2.4.1. Prijenos vektorima

2.2.4.1.1. Red Ixodide

Na području Europe, najčešći vektor je vrsta *I. ricinus*, a u SAD-u *Ixodes pacificus* i *Ixodes scapularis*. Međutim, DNK uzročnika dokazan i u mnogim drugim vrstama, primjerice *Ixodes crenulatus*, *I. scapularis* (STUEN i sur., 2013.; DUAN i sur., 2022), *I. ovatus* (OHASHI, 2013.), *Hyalomma spp.* (RJEIBI i sur., 2022.), *I. ventalloi* (SANTOS i sur., 2018.), *I. persulcatus* (RAR i sur. 2014), *I. canisuga*, *I. hexagonus* (KEYTE i sur., 2021.), *Rhipicephalus sanguineus* (HAMIDINEJAT i sur., 2021.), *Haemaphysalis punctata* (PALOMAR i sur., 2015), *Dermacentor marginatus* i *D. reticulatus* (BONNET i sur., 2013.). Unatoč tome, smatra se da je vektorski značaj vrsta izvan roda *Ixodes* malen (MATEI i sur., 2019.).

Mogućnost prijenosa uzročnika na krpelje najviša je tijekom akutnog stadija bolesti životinje, a raste i porastom brojem krpelja koji se hrane na zaraženoj životinji. Mogućnost infekcije je veća u nimfi nego u ličinki (OGDEN i sur., 2003.), a najviša je u odraslih stadija (KAZIMÍROVÁ i sur., 2018.). *A. phagocytophilum* se prenosi transstadijski. Postojanje transovarijskog prijenosa nije dokazano (HAUCK i sur., 2020., KARBOWIAK i sur., 2016.).

2.2.4.1.2. Red Diptera

Prijenos uzročnika anaplazmoze konja rodom *Diptera* je mehanički. Moguće je da ulogu prijenosu imaju i drugi hematofagni insekti, primjerice krpuša jelena, *L. cervi* (PEARSON i sur., 2025.), buhe (PAWEŁCZYK i sur., 2019.) i različite vrste obada (WERSZKO sur., 2019.).

2.2.4.2. Intrauterini prijenos

Intrauterini prijenos opisan je u konja, goveda i ovaca (STUEN i sur., 2018.; DIXON i BEDENICE, 2021.; JURKOVIĆ- ŽILIĆ i sur., 2025.).

2.2.5. KLINIČKA SLIKA I LIJEČENJE

Patogeneza razvoja anaplazmoze konja još je uvijek nedovoljno istražena. Vjeruje se da uzrokuje imunosupresiju pa je životinja osjetljivija na sekundarne infekcije. Dolazi do poremećaja humoralne imunosti, stanično posredovane imunosti te funkcije neutrofilnih fagocita (GARYU i DUMLER., 2005.). Inkubacijski period traje između 8-12 dana. Već dan, dva nakon infekcije dolazi do razvoja vrućice koja raste između 3-5 dana (PUSTERLA i MADIGAN, 2013.). Moguća je pojava žutice, slabosti, pada apetita, ataksije, edema nogu, petehijalnih krvarenja sluznice nosa, trombocitopenije, anemije, leukopenije i hiperbilirubinemije. Izražena slabost i ataksija mogu biti uzrok padovima i lomovima kostiju (GOTIĆ i sur., 2017.; DINIZ i sur., 2022.). Zabilježena je pojava simptoma dišnog sustava (DEANE i sur., 2021.) te živčanih simptoma (GUSSMANN i sur., 2014., NOWICKA i sur., 2022.) kao i pojava rabdomiolize (HILTON i sur., 2008.). Bolest može završiti smrću (FRANZÉN i sur., 2007.). U neliječenih konja, klinički znakovi mogu trajati oko dva tjedna. Konji mlađi od četiri godine često pokazuju blaže simptome bolesti od starijih (PUSTERLA i MADIGAN 2013.). U liječenju se koriste antibiotici iz skupine tetraciklina u trajanju od tri do sedam dana te potporna terapija. Poboljšanje je vidljivo unutar dvanaest sati od početka terapije (LEWIS i sur., 2009.).

2.2.6. DIJAGNOSTIKA

2.2.6.1. Mikroskopski pregled trombocitno – leukocitnog međusloja

Zbog izražene leukopenije u oboljelih životinja, za mikroskopski pregled se koristi trombocitno – leukocitni međusloj. Bojenje Giemson ili Wrightom omogućava vizualizaciju „morula“ dva do tri dana nakon pojave vrućice u oboljele životinje (MADIGAN, 2021.).

2.2.6.2. Molekularne metode

U svrhu dokazivanja uzročnika nekoliko dana prije izbijanja kliničkih znakova uspješno se koristi PCR koji se pokazao metodom visoke specifičnosti i osjetljivosti (BARLOUGH i sur., 1997.). Potrebno je između 3 do 17 dana nakon eksperimentalne infekcije kako bi PCR mogao detektirati uzročnika u krvi konja (PUSTERLA i sur., 2002.). Kod prirodne infekcije to je moguće već dva dana nakon infekcije (SIM i sur., 2017.). DNK *A. phagocytophilum* može se dokazati u krvi, leukocitima, koštanoj srži i slezeni (DZIEGIEL i sur., 2013.), ali i u cerebrospinalnoj tekućini, mišićju, perikardijalnoj tekućini i pleuralnim izljevima oboljelih konja (HILTON i sur., 2008.; RESTIFO i sur., 2015.; NOWICKA i sur., 2022.).

2.2.6.3. Serološke metode

Serološke metode, primjerice ELISA i IFAT, dokazuju protutijela protiv *A. phagocytophilum*. Protutijela su prisutna oko dvije godine od infekcije. Četverostruko povećanje titra tijekom dijagnostičkog perioda od dva tjedna kod kliničkih slučajeva potvrđuje akutnu infekciju (SAINZ i sur., 2015).

Serološke metode se najčešće koriste za provođenje epidemioloških istraživanja (LAUS i sur., 2013.).

2.2.7. GENETSKA RAZNOLIKOST

Sekvenciranje jednog lokusa (engl. *single locus sequence typing*, SLST) najčešća je metoda korištena u istraživanjima genetske raznolikosti *A. phagocytophilum*. Koristi se u epidemiološkim i filogenetskim istraživanjima.

2.2.7.1. 16S RNA gen

Na temelju 16S RNA opisano šest varijanti *A. phagocytophilum* (MASSUNG i sur., 2003.), a zatim se broj proširio na 15 (RAR i GOLOVLJOVA, 2011.).

Analizom ovog gena može se razlikovati za ljude patogena Ap-ha varijanta *A. phagocytophilum*, od apatogene Ap-varijante 1 (MASSUNG i sur., 2003.) no neki autori tu podjelu smatraju nepouzdanom (LANGENWALDER i sur., 2020.). Europske varijante Ap-ha i Ap varijanta 1 dokazane su u ovaca, goveda i jelenske divljači (DUGAT i sur., 2015.). Novija istraživanja pokazala su da je američka Ap-ha varijanta porijeklom iz Europe (AARDEMA, 2023.). Ap-ha i Ap varijanta 1 ujedno su i varijante najčešće analizirane ovom metodom. U istraživanjima konja s

područja Europe, SILAGHI i sur. (2011) su na temelju 14 konja oboljelih od anaplazmoze s područja Njemačke ustanovili postojanje 4 različite genetske grupe nazvane A, B, S i D. Varijanta B pokazala se identična uzročniku granulocitne piroplazmoze ljudi, a dokazana je i u konja Češkoj (JAHN i sur., 2010.) i Njemačkoj (VON LOEWENICH i sur., 2003.). Varijanta A najčešće je prisutna u krpelja (VON LOEWENICH i sur., 2003.). Genotip S dokazan je o domaćih preživača u Švicarskoj (SILAGHI i sur., 2011), divljih preživača s područja Alpa u Austriji (SILAGHI i sur., 2011.) te krpelja vrste *I. ricinus* (SCHARF i sur., 2011.). Genotip S nije bio prije dokazan.

Unatoč primjeni u dijagnostici kliničkih slučaja te epidemiološkim i filogenetskim istraživanjima, smatra se da multilokusne analize sekvenci različitih lokusa (MLST) pružaju pouzdanije podatke od onih dobivenih analizom 16S rRNA gena (CAUDILL i sur., 2022.).

2.2.7.2. groESL operon gen

Obuhvaća regiju koja pokriva dva gena koja inkodiraju GroES i GroEL proteine, a odvaja ih intragensko područje. Sekvence dobivene analizom groESL gena preciznije odvajaju ekotipove *A. phagocytophilum* od onih dobivenih analizom 16s RNK gena.

JAHFARI i sur. (2014) su analizom groEL gena podijelili genotipove *A. phagocytophilum* u četiri ekotipa različitog zoonotskog potencijala, geografske rasprostranjenosti i raspona nosioca. Novija istraživanja proširila su tu podjelu u klastere (grupe) i haplotipove (JAHFARI i sur., 2017. GRASSI i sur., 2021.) Unatoč tome, ekotip I se smatra zoonotskim te je povezan sa širokim rasponom nosioca koji uključuju goveda, konje, muflone, male preživače, ježeve, jelena običnog i ljude. Nosioci ekotipa II su isključivo preživači, ekotipa III glodavci, a ekotipa IV ptice.

Ekotipovi I i II najčešće su zabilježeni u vrsti *I. ricinus*, ali i u jelenskoj krpuši. Najčešće vrste zaražene ekotipom III i IV su *Ixodes trianguliceps* i *Ixodes frontalis* koje se najčešće hrane na pticama što ukazuje na jasnu poveznicu između vektora i nosioca određenih ekotipova (JAHFARI i sur., 2014.; JAARSMA i sur., 2019.). Međutim, zabilježene su i koinfekcije različitim ekotipovima u istoj vrsti, što dovodi u pitanje vrsnu specifičnost *A. phagocytophilum* (JAARSMA i sur., 2019.; MATEI i sur., 2019.; STIGUM i sur., 2019.).

Ekotipovi I i II zabilježeni su na području sjeverne Europe (GANDY i sur., 2022.; STIGUM i sur., 2019.), a ekotipovi I, II i IV zabilježeni su u Središnjoj Europi (MYCZKA i sur., 2022.; DWUŹNIK-SZAREK i sur., 2022.). U Španjolskoj, Nizozemskoj i Belgiji prisutni su svi ekotipovi

(JAHFARI i sur., 2014.; REMESAR i sur., 2025.). GRASSI i sur. (2021.) dokazali su ekotipove I i II na području sjevernoistočne Italije. Istraživanja provedena u Kini otkrila su ekotipove različite od onih u Europi (YANG i sur., 2016.).

Međutim, novija istraživanja dovode u pitanje i tu podjelu (RAR i TIKUNOVA, 2021.) pa su potrebna daljnja istraživanja s ciljem ujednačenja nomenklature.

2.2.7.3. ankA gen

AnkA gen kodira anykrin protein koji ima ulogu u regulaciji transkripcije stanica nosioca. Sekvenciranjem ankA gena moguće je razlikovati pet različitih grupa *A. phagocytophilum* s područja Europe i SAD-a (SCHARF i sur., 2011.). Najveću raznolikost nosioca pokazuje prva grupa koja obuhvaća sekvence dobivene od ljudi, konja, mačaka, pasa te domaćih i divljih preživača. U drugoj grupi nosioci su jelenska divljač, a u trećem domaći i divlji preživači. U četvrtom je nosioc bio jelen obični, a u petom samo glodavci. Sekvence dobivene iz vrste *I. ricinus* pripadale su grupi I i II (SCHARF i sur., 2011.). U kasnijim istraživanjima, LANGENWALDER i sur. (2020.) su proširili podjelu na dvanaest grupa, od kojih su temeljem analize europskih sekvenci oformili osam. Grupa I i ovdje obuhvaća najširi spektar nosioca.

Sekvenciranje ankA gena grupira sekvence temeljem vrste nosioca pa unatoč tome što se može koristiti u filogenetskim istraživanjima, čini se da nije potpuno pouzdana u epidemiološkim istraživanjima (DUGAT i sur., 2015.).

2.2.7.4. Glavni geni koji kodiraju površinske proteine (Msp2 gen)

Msp2 gen je površinski protein *A. phagocytophilum*, a koristi se u filogenetskim analizama. SILAGHI i sur. (2011.) su korištenjem hipervarijabilnih regija uspjeli razlikovati europske i američke sojeve *A. phagocytophilum*. Nosioci su u oba slučaja bili konji pa je ovo grupiranje upitno jer se moglo oslanjati na nosioca, a ne na geografsko porijeklo (DE LA FUENTE i sur., 2005.).

Međutim, potrebna su daljnja istraživanja jer gore navedenim, trenutno korištenim markerima nije moguće u potpunosti istražiti genetsku raznolikost ovog uzročnika. Zato se koristi metoda sekvenciranja više lokusa. Ova metoda se bazira na PCR umnažanju i sekvenciranju nekoliko lokusa. 2014.godine razvijena su dva pristupa ovoj metodi. CHASTAGNER i sur. (2014.) su analizom devet lokusa na sekvencama podrijetlom iz Francuske oformili tri genetske grupe.

Drugi pristup je uključivao analizu sedam lokusa (HUHN i sur., 2014.) što je rezultiralo uspostavljanjem nekoliko različitih klonalnih kompleksa. Njihovom kasnijom analizom, uspostavljeno je osam grupa koje su se razlikovale temeljem geografske proširenosti, vrste nosioca te vektorima uključenim u razvojni ciklus. Na području Europe prepoznate su tri glavne i dvije manje grupe. Grupa I je najraznolikija i uključuje sekvence podrijetlom od ljudi, vrste *I. ricinus* te širokog raspona nosioca koji uključuju konje, pse, mačke, lisice te divlje i domaće preživače (LANGENWALDER i sur., 2020.).

2.3. HEMOTROPNE MIKOPLAZME KONJA

2.3.1. KLASIFIKACIJA UZROČNIKA

Hemotropne mikoplazme (hemoplazme) su male, gram-negativne, obligatne intraeritrocitne bakterije bez stanične stijenke. Prvotno su pripadali porodici *Eperythrozoon* i *Haemobartonella* u redu Rickettsiales no napretkom molekularne dijagnostike i rezultata istraživanja temeljenih na analizi 16S rRNA gena, klasifikacija se promijenila te sada pripadaju rodu *Mycoplasma* (NEIMARK i sur., 2001.; NEIMARK i sur., 2002.). Danas je poznato da ovi emergentni, potencijalno zoonotski patogeni utječu na zdravlje brojnih životinjskih vrsta, posebice goveda u kojih su opisane dvije hemoplazme: *Mycoplasma wenyonii* (prije *Eperythrozoon wenyonii*) i *Candidatus Mycoplasma haemobos*. Uzrokuju hemolitičku anemiju, pad proizvodne sposobnosti te posljedično ekonomske gubitke (ARENDRT i sur., 2024.). Unatoč velikom značaju u stočarstvu, gotovo da nema podataka o prijenosu, kliničkoj slici te prevalenciji ovog patogena u konja.

2.3.2. PRIJENOS

Na temelju molekularnih dokaza u širokom rasponu nosioca, ovi patogeni se smatraju prenosivima putem hematofagnih vektora, iako konačni dokazi o kompetenciji vektora ostaju rijetki. Prijenos je moguć putem izravnog kontakta s krvlju ili jatrogeno (ARENDRT i sur., 2004.). Ne može se isključiti ni mogućnost intrauterinog prijenosa (JURKOVIĆ-ŽILIĆ i sur., 2025.).

Unatoč tome što su široko rasprostranjene među domaćim i divljim sisavcima, njihova pojava kod konja do danas ostaje nedovoljno razjašnjena.

2.3.3. MOLEKULARNA PREVALENCIJA UZROČNIKA PRONAĐENIH U KONJIMA

Prvo izvješće o hemotropnim mikoplazmama kao uzročniku bolesti kod konja datira iz Nigerije 1978. godine (GRETILLAT, 1978.). Zaražene životinje mogu pokazivati letargiju, neaktivnost,

anoreksiju, gubitak težine i blijede sluznice zbog različitih stupnjeva anemije. Do danas, niti jedna vrsta hemoplazme nije prepoznata kao specifična za konje. Ograničene studije izvijestile su o *Mycoplasma ovis* u konjima iz Irana i Brazila (KALANTARI i sur., 2020.; KAKIMORI i sur., 2023.), koji su blisko povezani s organizmima sličnim *Candidatus Mycoplasma haematobovis* i *Mycoplasma haemofelis* iz Njemačke (DIECKMANN i sur., 2010.; DIECKMANN i sur., 2012.), *Mycoplasma haemocervae* iz Nigerije (HAPPI i OLUNIYI, 2020.) te *Candidatus Mycoplasma haemovis* i *Mycoplasma haemocanis* iz Meksika (BALLADOS-GONZÁLEZ i sur., 2025.). Najnovije istraživanje u Iraku je utvrdilo prevalenciju *M. haemofelis* u konja od 88 % (JARAD i ALSAAD, 2026.). Svi uročnici su detektirani PCR-om i sekvenciranjem gena 16S rRNA.

Uzročnik *Candidatus M. haemovis* je po prvi puta dokazan u ovcama na području Mađarske, a smatra se visoko patogenim te odgovornim za nekoliko izbijanja bolesti u stada ovaca koja su završila smrtnim ishodom velikog broja životinja. Unatoč prijetnji za zdravlje malih preživača, malo se zna o vektorima i epizootiologiji ovog uzročnika (SUZUKI i sur. 2011.; WANG i sur. 2017). Poznato je da je usko povezan s patogenom *Mycoplasma ovis*, prvotno opisanom u Južnoj Africi no danas prisutnom i na području Europe, Australije, Južne Amerike, Azije. U suptropskom i tropskom području pojava uzročnika je vrlo često i endemska (NEIMARK i sur., 2004.; JESSE i sur., 2015.; TAGAWA i sur., 2012.; AKTAS i OZUBEK, 2017.). U životinja uzrokuje anemiju koja rezultira različitim stupnjevima smrtnosti, uz pad proizvodnosti, težine te pobačaj i povećanu smrtnost janjadi (URIE i sur., 2019.). Zabrinjavajući je podatak da je ovaj patogen u nekoliko godina zabilježen i kod ljudi, time postajući emergentna zoonoza (MAGGI i sur., 2013.). Konji zaraženi ovim uzročnicima nisu pokazivali kliničke znakove (BALLADOS-GONZÁLEZ i sur., 2025.).

M. haemofelis uzročnik je akutne do kronične hemolitičke anemije u mačaka, ali oboliti mogu i psi. Vjeruje se da se prenose buhama no opisani su i drugi oblici prijenosa, primjerice putem rana. Od tri hemoplazme koje mogu inficirati mačke (*Mycoplasma haemofelis*, *Candidatus Mycoplasma haemominutum*, *Candidatus Mycoplasma turicensis*), *M. haemofils* je najpatogenija te često uzrokuje akutnu, smrtonosnu hemolitičku anemiju (YASMIN i sur., 2022). Konji zaraženi ovim uzročnikom također su pokazivali kliničke znakove anemije, vrućice, limfadenomegalije te malaksalosti (DIECKMANN i sur., 2010., JARAD i ALSAAD, 2026.).

Uzročnik *Candidatus M. haemocervae* je primarno dokazan u jelenske divljači (TAGAWA i sur., 2012.). Konj iz Nigerije u kojem je dokazan pokazivao je simptome letargije, malaksalosti i anoreksije (HAPPI i OLUNIYI, 2020.)

Studije prevalencije hemotropnih mikoplazmi konja su rijetke. Samo nekoliko istraživanja širom svijeta—u Meksiku, Brazilu, Njemačkoj, Kirgistanu i Iranu—provedeno je s ciljem molekularne detekcije hemoplazmi (DIECKMANN i sur., 2012.; VIEIRA i sur., 2015.; VALENTE i sur., 2019.; KALANTARI i sur., 2020.; KAKIMORI i sur., 2023.; ALTAY i sur., 2024.; BALLADOS-GONZÁLEZ i sur., 2025.). Nalazi ovih studija su raznoliki pa tako dva istraživanja u Brazilu i Kirgistanu nisu uspjela detektirati hemoplazme u niti jednoj uzorkovanoj životinji, dok su druga izvijestila o prevalencijama od 2,44 % u Meksiku, 4,55 % u Brazilu, 6,7 % u Iranu i 26,5% u Njemačkoj.

Osim podataka o prevalenciji, DIECKMANN i sur. (2012.) utvrdili su i značajnu korelaciju između pozitivnog nalaza PCR-a i anemije u konja mlađih od godinu dana, dok su konji stariji od godinu dana bili negativni. Mogući utjecaj na razvoj anemije dodatno je potvrđen u iranskoj studiji nakon otkrivanja *M. ovis* - slične vrste u 6,77 % konja (KALANTARI i sur., 2022.),

Nedostatak ciljanog nadzora i odsutnost vrsta specifičnih za konje prepreka su razumijevanju njihove epidemiologije, patogenog potencijala i dinamike prijenosa.

3. OBRAZLOŽENJE TEME

Patogeni prenosivi vektorima mogu uzrokovati različite kliničke simptome u konja, a u najtežim slučajevima i smrt. Njihovo širenje dovodi do značajnih ekonomskih šteta. Postojeća istraživanja piroplazmi u konja u RH provedena su prije deset i više godina, a sustavna istraživanja anaplazmi i mikoplazmi nikad nisu provedena kao ni istraživanja vektorskog potencijala hematofagnih insekata.

Hipoteza istraživanja je da su krpeljima i hematofagnim insektima prenosivi uzročnici bolesti konja u RH učestali, široko prošireni i genski raznoliki, a analiza krvi konja i njihovih ektoparazita omogućit će utvrđivanje proširenosti, učestalosti i genotipizacije piroplazmi, anaplazmi i hemotropnih mikoplazmi.

Kako bi se testirala hipoteza, utvrđeni su sljedeći ciljevi:

- utvrditi proširenost, učestalost i genotipizaciju piroplazmi, anaplazmi i hemotropnih mikoplazmi u krvi konja te njihovim ektoparazitima- odrediti gensku raznolikost *T. equi* sekvenciranjem odsječka 18S rDNK te utvrditi njihovu geografsku rasprostranjenost, čime će se usporediti proširenost i učestalost pojedinih haplotipova u odnosu na rezultate istraživanja od prije deset godina
- utvrditi postoji li mogućnost prijenosa dokazanih haplotipova u pojedinim vrstama hematofagnih insekata
- utvrditi ulogu pojedinih vrsta ektoparazita u prijenosu istraživanih uzročnika

4. MATERIЈAL I METODE

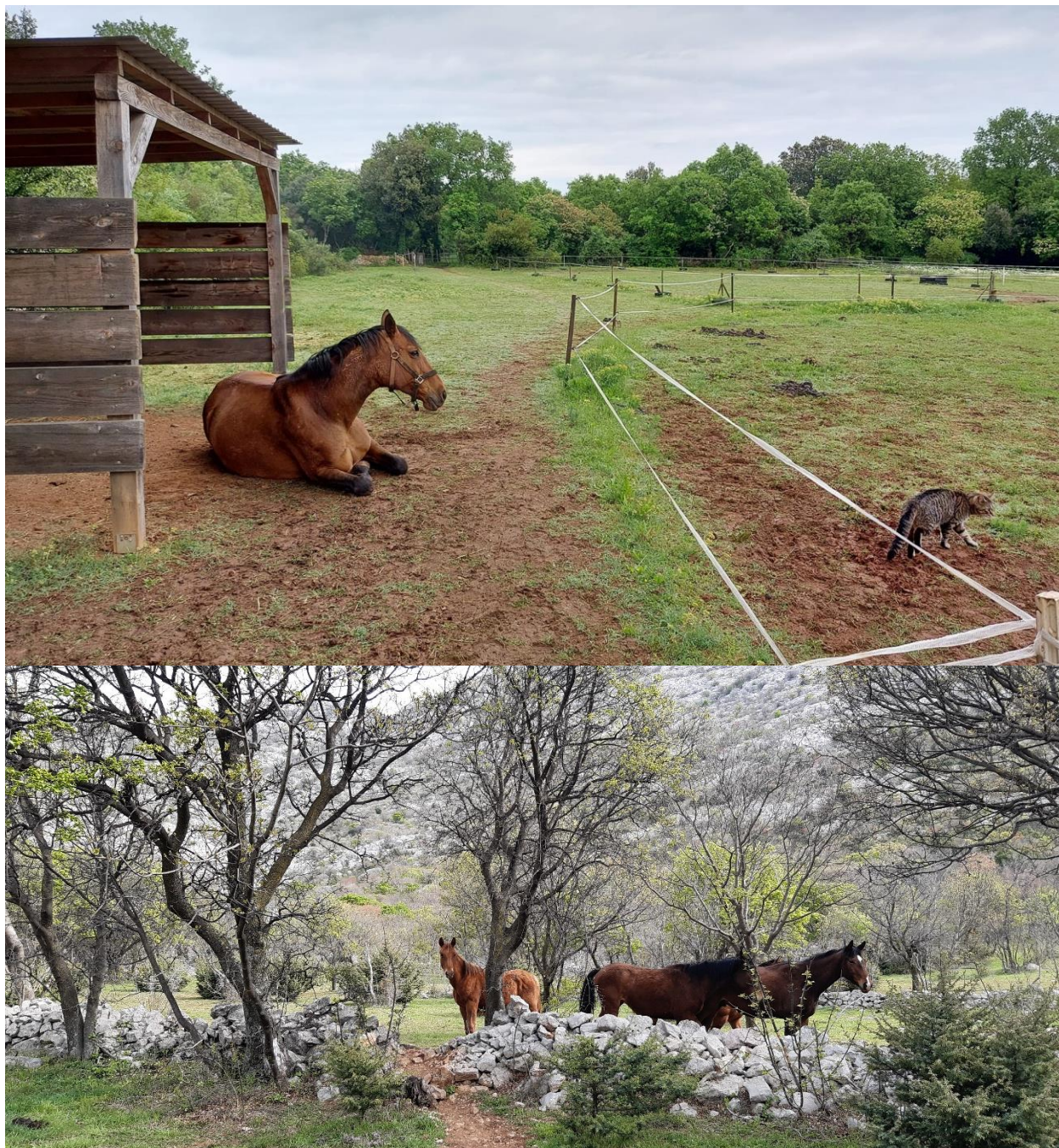
4.1. UZORCI KRVI KONJA

4.1.1. Porijeklo uzoraka krvi konja

Za istraživanje su korišteni arhivirani uzorci krvi konja, krpelja te hematofagnih insekta skupljenih u okviru projekta „Apikompleksni i bakterijski krpeljima prenosivi patogeni u domaćih preživača, konja i hematofagnih vektora“ voditelja dr. sc. Relje Becka. Uzorkovanje je provedeno u razdoblju od 01.06.2024. do 31.9.2025. godine. Uzorci pune krvi konja prikupljeni su u svrhu dijagnostičkih postupaka i potreba navedenog projekta od strane licenciranih veterinarâ zaposlenih u veterinarskim organizacijama na području Republike Hrvatske. Životinjama je krv uzorkovana jednokratno iz jugularne vene u epruvetu (Vacutainer®, Becton Dickenson., SAD) s antikoagulansom (kalijeva etilendiamino- tetraoctena kiselina, EDTA). Nakon uzorkovanja, krv je upućena u Laboratorij za parazitologiju Hrvatskog Veterinarskog instituta (HVI).

4.1.2. Životinje

Ukupno je pretraženo 834 konja, iz svih dijelova Republike Hrvatske. Najviše konja je uzorkovano iz Zagrebačke (n= 127), Ličko – senjske (n=86) i Osječko - baranjske (n= 68) županije, a najmanje s područja Dubrovačko – neretvanske (n =9) te Brodsko – posavske, Međimurske i Vukovarsko – srijemske županije gdje je uzorkovano deset konja. Pretražene su 462 kobile, 286 kastrata i 72 pastuha. S obzirom na kliničke znakove, konji su podijeljeni na simptomatsku i asimptomatsku skupinu. Četrnaest konja je pokazivalo kliničke znakove bolesti, dok su ostali bili bez simptoma. Istraživanjem je obuhvaćene ukupno 45 pasmina, toplokrvnih i hladnokrvnih, uključujući hrvatske autohtone pasmine. Testirani konji su bili širokog dobnog spektra. Najmlađi konj je u vrijeme uzorkovanja imao 8 mjeseci, a najstariji 31 godinu. Prosječna dob kobila u istraživanoj populaciji iznosila je 11 godina, a raspon dobi se kretao od 9 mjeseci do 30 godina. Raspon dobi kastrata se kretao od jedne do 30 godina, a prosječna dob iznosila je 12 godina. Prosječna dob ispitivanih pastuha bila je 7,9 godina, a raspon se kretao između 8 mjeseci i 24 godine starosti. Istraživanje je obuhvatilo i sve načine držanja konja, od onih na slobodnoj ispaši pa do onih koji pretežito borave u zatvorenom prostoru, bez ili uz ograničeno vrijeme izlaska na pašnjak. Uključeni su bili konji svih namjena- uzgojni, sportski, umirovljeni te one korišteni za svrhe rekreacije (Slika 1).



Slika 1. Konj držan za rekreaciju s područja Istarske županije i konji namijenjeni uzgoju iz Karlobaga. (Izvor: autor)



Slika 2. Infestacija krpeljima kobile u podrepnom području. (Izvor: autor)

4.1.3. Obrasci

Vlasnik životinje dao je informirani pristanak za korištenje uzoraka u svrhe provedbe istraživanja, potpisujući dokument "Suglasnost". Vlasnik je također ispunio i upitnik kojim je dao opće informacije o konju (dob, spol, pasmina), o lokacijama na kojima je konj boravio prije kupnje i dolaska u štalu gdje je uzorkovana krv (ako su poznate), vremenu u godini tijekom kojega pronalaze krpelje i hematofagne insekte na konjima, informacije o pristupu pašnjaku i duljini boravka na pašnjaku te o namjeni konja.

Veterinari su tijekom uzorkovanja krvi obavili opći klinički pregled životinje te ispunili obrazac o trenutnom zdravstvenom stanju. Ukoliko su prilikom pregleda zapaženi krpelji (Slika 2.) i hematofagni insekti, oni su prikupljeni i zajedno s uzorkom krvi upućeni na analizu.

4.2. UZORCI KRPELJA I HEMATOFAGNIH INSEKATA

4.2.1. Porijeklo

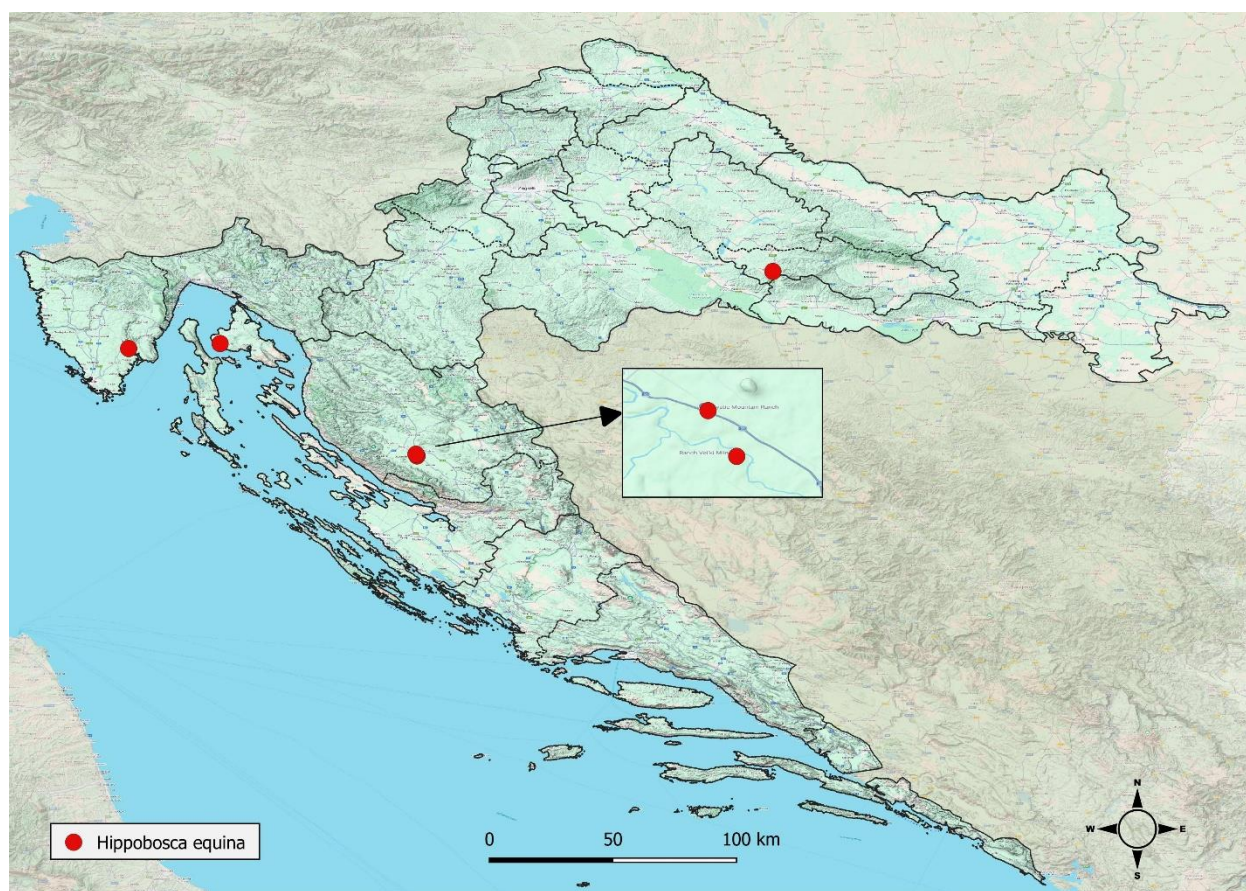
Krpelji i hematofagni vektori su prikupljeni u sklopu projekta Hrvatske zaklade za znanost (HRZZ) pod nazivom „Apikompleksni i bakterijski krpeljima prenosivi patogeni u domaćih preživača, konja i hematofagnih vektora“. Prikupljeni su u razdoblju od 01. 06. 2024. do 31. 9. 2025. godine s gospodarstava na kojima se uzorkovala krv konja za isti projekt. Ukupno je prikupljeno 2086 krpelja, 128 obada, 299 konjskih kožnatice (*Hippobosca equina*) i sedam muha. Svi krpelji i hematofagni insekti prikupljeni su direktno s tijela konja od strane vlasnika i veterinara. Krpelji su potjecali s ukupno 24 lokacije u RH. Prikupljeni su na području Bjelovarsko – bilogorske županije (Bjelovar, Čazma), Dubrovačko – neretvanske (Čilipi), Grada Zagreba (Odranski obrež), Istarske (Hrboki, Labin, Medulin,), Karlovačke (Draganić), Ličko – senjske (Lički Ribnik, Karlobag), Požeško – slavonske (Šeovica), Primorsko – goranske (Lopača, Pinezići), Sisačko – moslavačka (Desno Željezno, Sjeverovac), Šibensko – Kninske (Knin, Suknovci), Varaždinske (Jalkovec), Vukovarsko-srijemskoj (Vinkovci), Zadarske (Zadar) i Zagrebačke županije (Vrbovec, Konak, Molvice). Ukupno je prikupljeno 2,086 krpelja.

Prikupljene konjske kožnatice porijeklom su bile iz Istarske županije (Hrboki), Ličko – senjske (Bilaj, Lički Ribnik) i Primorsko – goranske županije (Pinezići) (Slika 3). Ukupno je prikupljeno 299 jedinki. Prikupljeno je i sedam muha s područja Bjelovara, Hrboka i Šeovice.

Obadi su prikupljeni s područja Istarske županije (Hrboki, Medulin), Bjelovarsko – bilogorske (Bjelovar), Karlovačke (Ozalj, Rakovica), Ličko – senjske (Bilaj), Požeško – slavonske (Šeovica) i Virovitičke županije (Špišić Bukovica). Ukupno je prikupljeno 128 obada.

4.2.2. Pohrana

Krpelji i hematofagni vektori su nakon prikupljanja pohranjeni u plastične posudice označene datumom i lokacijom, te transportirani u Laboratorij za parazitologiju HVI. Do identifikacije čuvani su u plastičnim epruvetama s 96% otopinom etanola.



Slika 3. Lokacije prikupljenih konjskih kožnatice (*H. equina*) (QGIS).

4.2.3. Morfološka identifikacija

Prikupljenim krpeljima i hematofagnim insektima se pomoću Stereo mikroskopa Discovery v20 (Carl Zeiss AG) ili mikroskopa AxioImager M2 i dokumentiranog softvera ZEN (Carl Zeiss AG). Mikroskopski se odredio rod i vrsta prema značajnim morfološkim karakteristikama navedenim u

literaturi (CHVÁLA i sur. 1972.; HUTSON, 1984.; KRČMAR i sur., 2011., POVOLNÝ I VERVES, 1997.; SIVELL, 2021.; OBOŇA i sur., 2022.).

4.3. OBRADA UZORAKA KRVI KONJA

4.3.1 LANČANA REAKCIJA POLIMERAZOM

4.3.1.1. Izdvajanje deoksiribonukleinske kiseline iz pune krvi

Za izdvajanje deoksiribonukleinske kiseline (DNK) iz 200 µl pune krvi korišten je komercijalni kit DNeasy® Blood and Tissue Kit, proizvođača Qiagen (Venlo, Nizozemska), prema uputama proizvođača uz upotrebu automatskog sustava za izdvajanje DNK, QIAcube® (Qiagen, Venlo, Nizozemska). Set omogućuje izdvajanje DNK iz krvi i mikroorganizama prisutnih u uzorku.

4.3.1.2. Određivanje nukleotidnog slijeda 18S rRNA gena

Lančana reakcija polimerazom (PCR) je korištena za umnažanje ciljanog odsječka 18S rRNA gena duljine 560 parova baza (base pairs, bp) te za odsječak od 1700 pb kojim se umnaža cijela podjedinica ribosomske RNA. Za dokazivanje invadiranih životinja, korišten je kraći odsječak. S ciljem kvalitetnije genske tipizacije uzročnika, duži odsječak je korišten za sekvenciranje ponovno umnoženih pozitivnih uzoraka.

S ciljem otkrivanja invadiranih konja korištena je prednja početnica BAB F 5' CCCTTCATCGGTGGTAACTT-3' i stražnja početnica BAB R 5'-GTGGCCACCACTCCCGTGCC-3' te je dobiven slijed duljine 560 bp (BECK i sur., 2009.). Ovim protokolom je moguće umnožiti sve pripadnike rodova *Babesia* i *Theileria*. Reakcija se sastojala od početne denaturacije tijekom dvije minute nakon čega je uslijedilo 40 ciklusa:

1. denaturacija pri temperaturi od 94°C tijekom 30 sekundi,
2. prihvaćanje početnica pri temperaturi od 53°C tijekom 30 sekundi,
3. produljenje pri temperaturi od 72°C tijekom 30 sekundi.

Nakon posljednjeg ciklusa, produljenje je provedeno na 72°C tijekom sedam minuta. Reakcija je automatski zaustavljena pri temperaturi od 4°C.

Ciljani odsječak DNK, potreban za sekvenciranje umnožen je upotrebom dvaju parova početnica prema HERWALDT i sur. (2003.). Za umnažanje odsječka od 1715 bp upotrebljena je prednja

početnica CRYPTO F 5'-AACCTGGTTGATCCTGCCAGTAGTCAT-3' i stražnja početnica CRYPTO G 5'-GAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTAC-3'. Korišteno je 5 µl izdvojene DNK. Reakcija se sastojala od početne denaturacije u trajanju od 15 minuta. Zatim je uslijedilo 40 ciklusa pri uvjetima:

1. Denaturacija pri temperaturi od 94°C tijekom 30 sekundi.
2. Priprijetanje početnica pri temperaturi od 53°C tijekom 30 sekundi.
3. Produljenje pri temperaturi od 72°C tijekom 30 sekundi.

Nakon posljednjeg ciklusa, provedeno je produljenje na temperaturi od 72°C tijekom sedam minuta. Reakcija je automatski zaustavljena pri temperaturi od 4°C.

U oba protokola upotrijebljene su pozitivna i negativna kontrola. Uspješnost umnožavanja provjerena je kapilarnom elektroforezom QIAEXEL-om (Qiagen, Venlo, Nizozemska). Uspješno umnoženi uzorci pročišćeni su pomoću ExoSAP-IT® (USB® Products Affy Inc., Ohio, SAD) prema uputama proizvođača.

4.3.1.3.. Određivanje nukleotidnog slijeda 18S rRNA gena

Nukleotidni sljedovi DNK određivani su sa svrhom genskog razlikovanja piroplazmi. Za određivanje nukleotidnog korišteni su ABI PRISM® BigDye™ i GeneAmp® PCR 2400 sustav prekidanja, proizvođača Applied Biosystems (Foster City, Kalifornija, SAD) i setom početnica. Korištene su prednja početnica CRYPTO F 5'- AACCTGGTTGATCCTGCCAGTAGTCAT-3' i stražnja početnica CRYPTO G 5'- GAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTAC-3' u koncentraciji od 10 µl/ml. Uzorci su sekvencirani u tvrtki MacroGen Inc. u oba smjera.

4.3.1.4. Analiza sljedova nukleotida 18S rRNA

Rezultati određivanja nukleotidnih sljedova obrađeni su s pomoću računalnog programa Lasergene® (DNASTAR inc., Madison, Wisconsin, SAD) s pripadajućim potprogramima SeqMan™ i EditSeq™. Dobiveni nukleotidni sljedovi poravnani su računalnim potprogramom SeqMan™ i uspoređeni s nukleotidnim sljedovima *B. caballi* i *T. equi* pohranjenima u banci gena GenBank. Banka gena pretražena je pomoću programa Basic Local Alignment Search Tool, BLAST®.

4.4. OBRADA UZORAKA KRPELJA I HEMATOFAGNIH INSEKATA

4.4.1. LANČANA REAKCIJA POLIMERAZOM

4.4.1.1. Izdvajanje DNK iz pojedinačnih primjeraka krpelja

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

Izdvojena 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.

4.4.1.2. Umnažanje odsječka 16S rRNA gena krpelja

Lančana reakcija polimerazom (PCR) korištena je kako bi se umnožio ciljni odsječak 16S rRNA gena duljine 460 parova baza (base pairs, bp) te kako bi se provjerila uspješnost ekstrakcije krpeljne DNK svakog pojedinog krpelja. Također je korištena za procjenu prikladnosti uzorka za daljnju molekularnu analizu. Korištena je prednja početnica (5'-CTGCTCAATGTTTTTTAAATTGCTGTGG-3') i stražnja početnica (5'-CCGGTCTGAACTCAGATCAAGT-3') (BLACK i PIESMAN, 1994.).

Reakcija se sastojala od početne denaturacije na 94°C u trajanju od 2 minute. Zatim je uslijedilo 40 ciklusa pri uvjetima:

1. Denaturacija pri temperaturi od 94°C tijekom minute.
2. Prihvaćanje početnica pri temperaturi od 54°C tijekom 30 sekundi.
3. Produljenje pri temperaturi od 72°C tijekom 90 sekundi.

Nakon posljednjeg ciklusa, provedeno je produljenje na temperaturi od 72°C tijekom sedam minuta. Reakcija je automatski zaustavljena pri temperaturi od 4°C.

4.4.1.3. Molekularno dokazivanje mikroorganizama u krpeljima i hematofagnim vektorima

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.

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

U svrhu 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.).

Reakcija se sastojala od početne denaturacije na 94°C u trajanju od 2 minute. Zatim je uslijedilo 40 ciklusa pri uvjetima:

1. Denaturacija pri temperaturi od 94°C tijekom 30 sekundi.
2. Prihvaćanje početnica pri temperaturi od 53°C tijekom 30 sekundi.
3. Produljenje pri temperaturi od 72°C tijekom 30 sekundi.

Nakon posljednjeg ciklusa, provedeno je produljenje na temperaturi od 72°C tijekom sedam minuta. Reakcija je automatski zaustavljena pri temperaturi od 4°C.

4.4.1.5. Umnažanje odsječka 16S rRNA gena proteobakterija iz porodice *Anaplasmataceae*

Za dokazivanje vrsta iz rodova DNK *Anaplasma* i *Ehrlichia* 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 koristio se u slučaju pozitivnih uzoraka s ciljem kvalitetnije genetske tipizacije uzročnika (KAWAHARA i sur., 2006.). Za umnažanje su korištene prednja početnica EC9 (5'-TACCTT GTTACGACTT-3') i stražnja početnica EC12 (5'-TGATCCTGGCTCAGAACGAAC-3').

Reakcija se sastojala od početne denaturacije na 94°C u trajanju od 2 minute. Zatim je uslijedilo 35 ciklusa pri uvjetima:

1. Denaturacija pri temperaturi od 94°C tijekom 30 sekundi.
2. Prihvaćanje početnica pri temperaturi od 52°C tijekom 30 sekundi.

3. Produljenje pri temperaturi od 72°C tijekom 1 minute.

Nakon posljednjeg ciklusa, provedeno je produljenje na temperaturi od 72°C tijekom sedam minuta. Reakcija je automatski zaustavljena pri temperaturi od 4°C.

4.4.1.6. Umnažanje odsječka 16S rRNA gena hemotropnih 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'- CTCCACCACTTGTTTCAGGTCCCCGTC-3').

Reakcija se sastojala od početne denaturacije na 94°C u trajanju od 2 minute. Zatim je uslijedilo 40 ciklusa pri uvjetima:

1. Denaturacija pri temperaturi od 94°C tijekom 30 sekundi.
2. Prihvaćanje početnica pri temperaturi od 68°C tijekom 30 sekundi.
3. Produljenje pri temperaturi od 72°C tijekom 30 sekundi.

Nakon posljednjeg ciklusa, provedeno je produljenje na temperaturi od 72°C tijekom sedam minuta. Reakcija je automatski zaustavljena pri temperaturi od 4°C.

4.4.1.7. 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 „alignement markera“ (15 pb – 3 kb; QX Alignment Marker, Qiagen). Radi određivanja nukleotidnih slijedova 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 tvrtku Macrogen Europe (Amsterdam, Nizozemska) radi određivanja nukleotidnih slijedova u oba smjera. Računalnim programom Lasergene® (DINASTAR inc., Madison, Winsconsin, SAD), s pripadajućim potprogramima SeqMan™ i EditSeq™ rezultati su obrađeni. Za poravnanja nekletidnih sljedeova korišten je računalni program Seqman™. Zatim su uspoređeni s dostupnim nukleotidnim slijedovima

pohranjenima u banci gena (GenBank®) koja je pretražena pomoću programa Basic Local Alignment Search Tool (BLAST®).

4.5. MAPIRANJE LOKACIJA KRPELJA I PRONAĐENIH PATOGENA

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

4.6. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA

Statistička obrada podataka obavljena je programom Stata 13.1 (Stat Corp., SAD). Rezultati su prikazani kao medijan, minimalna i maksimalna vrijednost ili kao aritmetička sredina s pripadajućom standardnom devijacijom, ovisno o razdiobi podataka. Vrijednosti su međusobno uspoređene t-testom ili testom za neparametrijske vrijednosti (Man Whitneyev U test). Za usporedbu vrijednosti više od dviju skupina korišten je Kruskal-Wallis test. Za usporedbu varijabli iskazanih u binarnom obliku (da/ne) korišten je hi-kvadrat ili Fisherov egzaktni test. Čimbenici koji su bili statistički povezani s ishodom uvršteni su u model logističke regresije. Dijagnostički testovi uspoređeni su Kappa testom. Statistički značajnom smatrane su vrijednosti $p < 0,01$.

5. REZULTATI

5.1. PRIKAZ CJELOKUPNE POPULACIJE TESTIRANIH KONJA

U istraživanju je ukupno 834 uzoraka pune krvi konja pretraženo PCR-om na prisutnost piroplazmi, anaplazmi/erlihija i hemotropnih mikoplazmi. S ciljem identifikacije uzročnika u uzorcima krvi pozitivnih konja zatim su analizirani sljedovi odsječaka 18S rRNA piroplazmi i 16S rRNA rodova *Mycoplasma* te *Anaplasma* i *Ehrlichia*. Istraživani su i čimbenici rizika invazijama navedenih uzročnika.

Od ukupno 834 uzorka pune krvi, specifičan odsječak DNK piroplazmi utvrđen je u 299 (35, 85 %) uzoraka. Od toga je sekvenciranjem u 4 (1,3 %) konja utvrđena prisutnost *B. caballi*, a u ostala 295 (98,6 %) uzorka *T. equi*. Mješovita invazija s oba uzročnika nije utvrđena. U svih četrnaest konja koji su pokazivali kliničke znakove dokazana je *T. equi*, genotipovi A, D i E. Gotovo svi uzorci akutno oboljelih konja potjecali su iz primorja, a samo 4 uzorka iz kontinentalne Hrvatske. Dokazano je 5 različitih skupina sekvenci. Nakon usporedbe sa dostupnim sekvencama u bazi gena GenBank odgovorale su haplotipovima *T. equi* A, D, E i *B. caballi*. Dokazan je i jedan novi haplotip *T. equi* nazvan A1.

Bakterija *A. phagocytophilum* dokazana je u pet konja, hemotropna mikoplazma *M. wenyonii* u samo jedne kobile.

5.2. PRIKAZ REZULTATA UZORKOVANJA KRV I KONJA PO ŽUPANIJAMA RH

Broj invadiranih konja razlikovao se među županijama. Najveći udio pozitivnih konja u odnosu na ukupan broj testiranih životinja iz pojedine županije zabilježen je u Sisačko-moslavačkoj županiji, gdje je DNK uzročnika dokazana u svih testiranih konja (n = 53, 100%). Sljedeća županija s najvišim udjelom pozitivnih konja u odnosu na ukupan broj testiranih bila je Dubrovačko-neretvanska županija, gdje je DNK uzročnika dokazana u 8 od ukupno 9 testiranih konja (88,8 %). Visoka prevalencija zabilježena je i u Ličko-senjskoj županiji, gdje je od ukupno 86 testiranih konja njih 55 (63,95 %) bilo invadirano. Prevalencije više od 50% utvrđene su i u primorju. Tako je u Splitsko-dalmatinskoj županiji utvrđena prevalencija od 56,14%, u Istraskoj županiji od 53,19 %, a u Šibensko-kninskoj županiji od 75 %. Potpun prikaz testiranih konja po županijama RH i rezultata analiza se nalazi u Tablici 1.

Tablica 1: Prikaz prisutnosti DNK uzročnika pirop plazmoze u krvi konja po županijama.

ŽUPANIJA	PCR+	<i>T.equi A</i>	<i>T.equi A1</i>	<i>T.equi D</i>	<i>T.equi E</i>	<i>B.caballi</i>	Ukupno
Grad Zagreb	2	1	0	0	1	0	28
Zagrebačka	32	1	0	0	31	0	127
Krapinsko-zagorska	2	1	0	0	1	0	24
Sisačko-moslavačka	53	0	0	0	53	0	53
Karlovačka	1	0	0	0	1	0	22
Varaždinska	1	1	0	0	0	0	18
Koprivničko-križevačka	12	0	0	0	12	0	56
Bjelovarsko-bilogorska	9	0	0	0	9	0	28
Primorsko-goranska	14	10	0	1	3	0	42
Ličko-senjska	55	0	5	0	50	0	86
Virovitičko-podravska	14	2	0	0	12	0	66
Osječko-baranjska	6	0	0	0	6	0	68
Brodsko-posavska	2	2	0	0	0	0	10
Požeško-slavonska	2	2	0	0	0	0	26
Vukovarsko-srijemska	1	0	0	0	1	0	10
Splitsko-dalmatinska	32	27	1	0	4	0	57
Istarska	25	20	1	0	0	4	47
Medimurska	1	0	0	0	1	0	10
Šibensko-kninska	15	10	0	4	1	0	20
Zadarska	9	8	0	1	0	0	28
Dubrovačko-neretvanska	8	4	0	0	4	0	9
Ukupno	299	90	7	6	192	4	834

Bakterija *A. phagocytophilum* dokazana je u dva konja iz Istarske, u dva iz Splitsko – dalmatinske i u jedne kobile iz Požeško – slavonske županije (slika 5.).

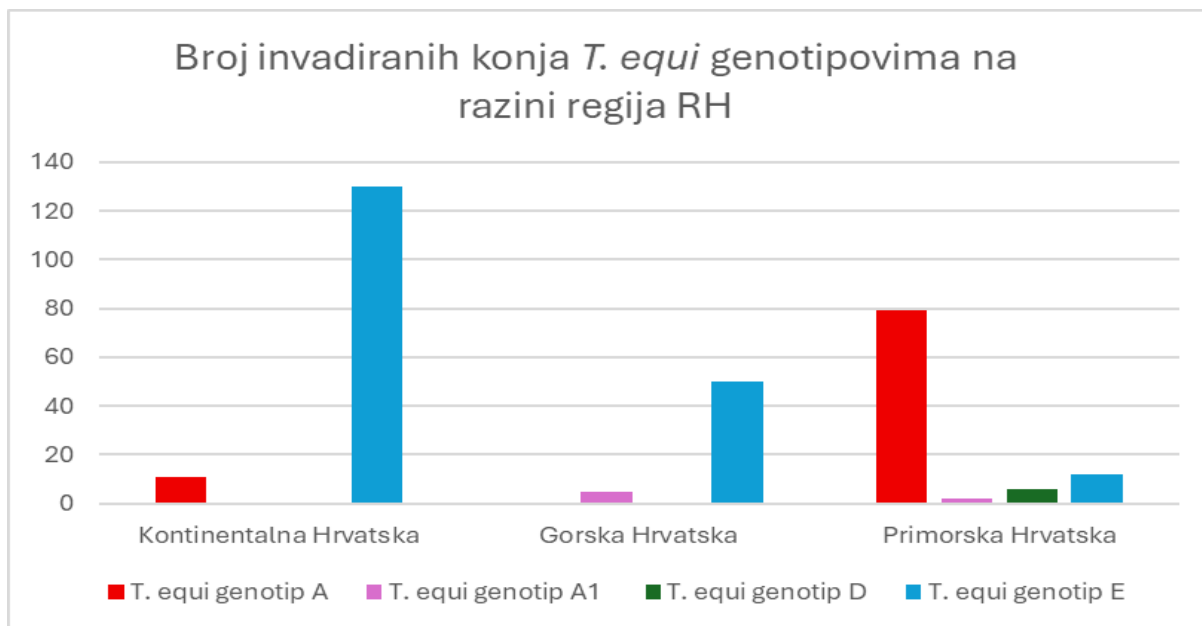
Hemotropna mikoplazma, *M. wenyonii* zabilježena je u samo jedne kobile iz Splitsko-dalmatinske županije (slika 6.).

DNK piroplazmi dokazana je u uzorcima krvi 299 konja. Sekvenciranjem su identificirani genotipovi *T. equi* A, A1, E i D. Najveći broj pozitivnih konja bio je invadiran genotipom *T. equi* E (n = 192), zatim genotipom *T. equi* A (n = 90), dok je manji broj životinja bio invadiran genotipovima *T. equi* A1 (n = 7) i *T. equi* D (n = 6). DNK parazita *B. caballi* dokazana je u četiri konja.

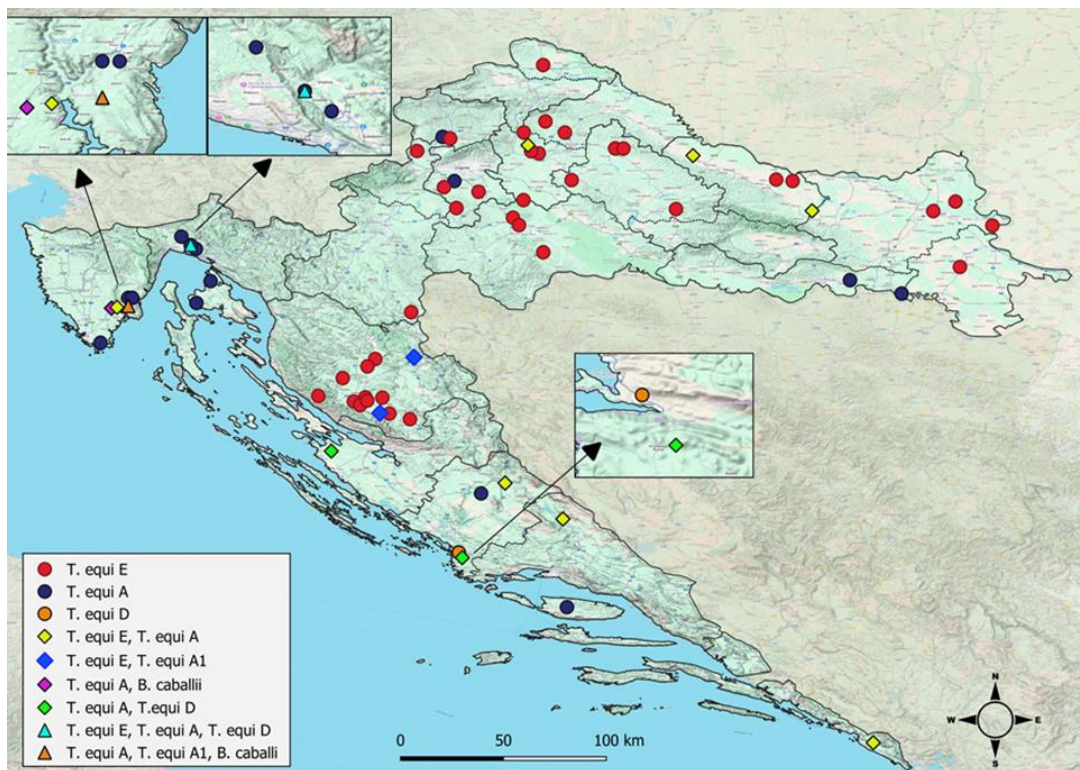
Geografska proširenost genotipova prikazana na karti pokazuje da su oba parazita, *T. equi* i *B. caballi*, prisutna u Primorskoj Hrvatskoj, dok je u kontinentalnom dijelu zemlje dokazana samo *T. equi*. *Theileria equi* genotip A dokazan je pretežito u primorskoj Hrvatskoj, ali i u sedam županija u kontinentalnom dijelu RH. Genotip *T. equi* A1 dokazan je u primorskoj Hrvatskoj i Ličko-senjskoj županiji, dok je genotip *T. equi* D zabilježen isključivo u primorskoj Hrvatskoj. Najrašireniji genotip bio je *T. equi* E, koji je utvrđen u sve tri glavne geografske regije Republike Hrvatske, primorskoj, gorskoj i kontinentalnoj Hrvatskoj (Graf 1).

Primorska Hrvatska ujedno je jedina regija u kojoj su zabilježena sva četiri genotipa *T. equi*. Također je uočena izrazita razlika u genotipskoj raznolikosti između sjevernog i južnog dijela primorskog područja. U sjevernom dijelu (Istra) zabilježena je veća genotipska raznolikost (*T. equi* A, *T. equi* A1 i *B. caballi*), dok su u južnom dijelu obalnog područja dokazana dva *T. equi* genotipa- A i E, što je jasno vidljivo na geografskom prikazu (Slika 4.).

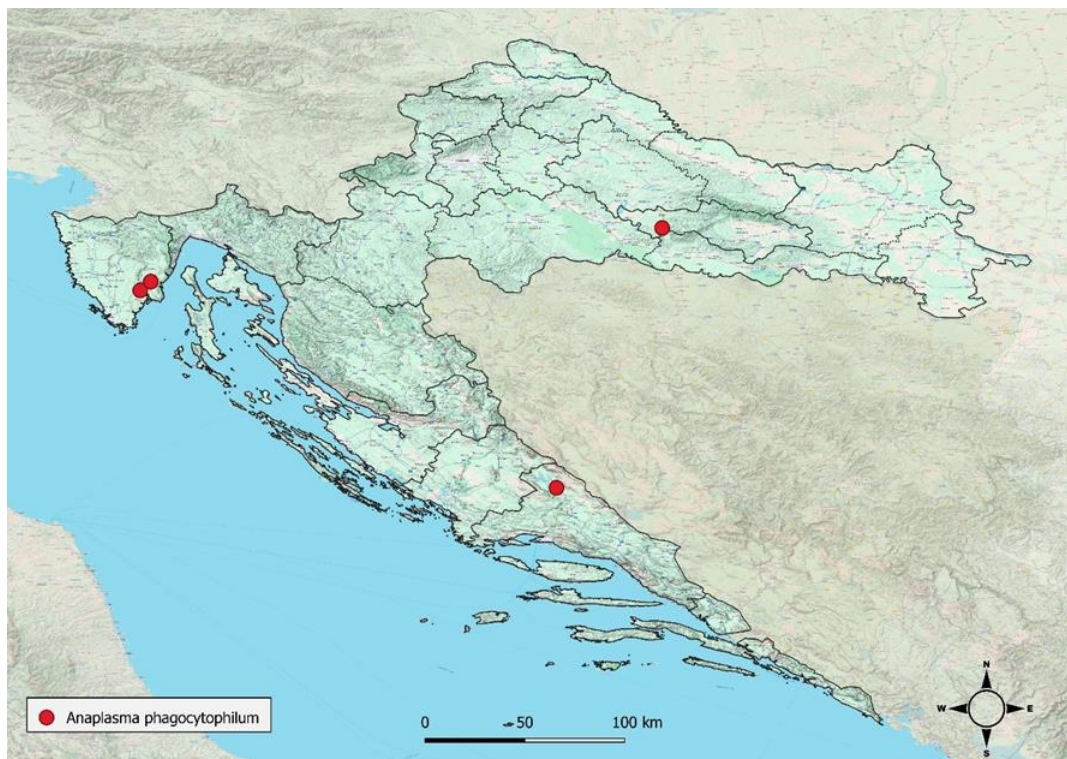
Dobiveni rezultati ukazuju na izraženu regionalnu razliku u genotipskoj raznolikosti *T. equi* u Hrvatskoj, pri čemu je najveća raznolikost genotipova zabilježena u primorskoj Hrvatskoj, dok je u kontinentalnim područjima prisutnost piroplazmi bila ograničena isključivo na *T. equi*, uz manju genotipsku raznolikost.



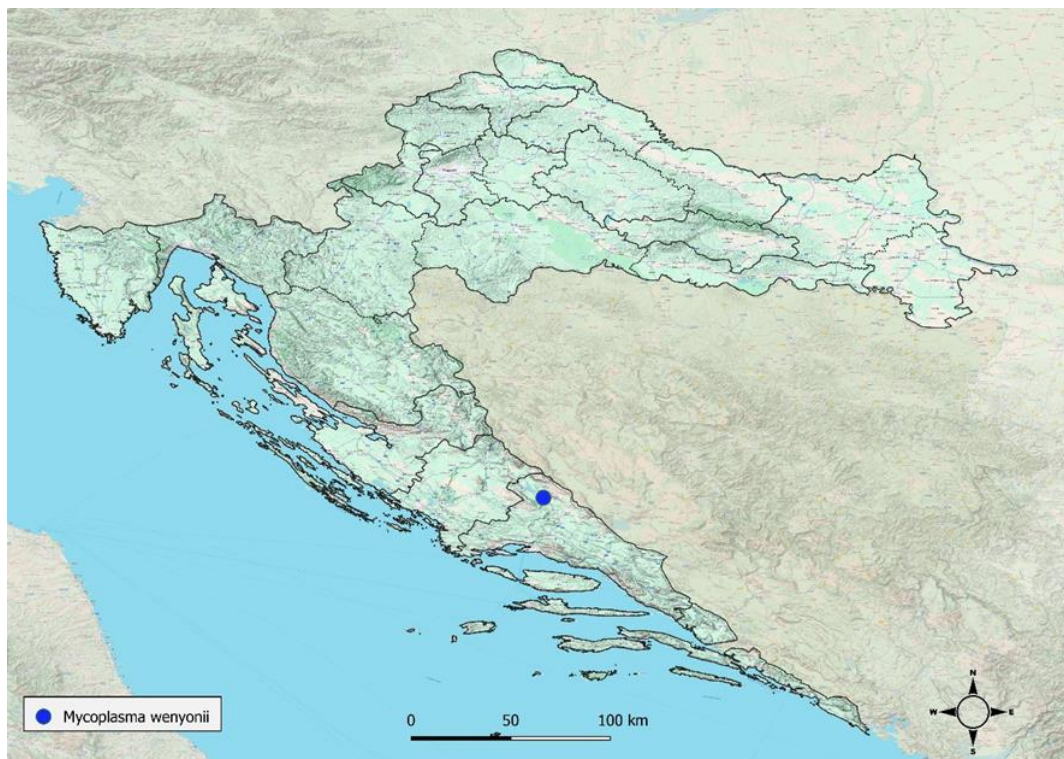
Graf 1. Zastupljenost *T. equi* genotipova na razini regija RH.



Slika 4. Geografska rasprostranjenost genotipova *T. equi* i *B. caballi* na području RH (QGIS).



Slika 5. Rasprostranjenost bakterije *A. phagocytophilum* u konja na području RH (QGIS).



Slika 6. Rasprostranjenost hemotropne mikoplazme *M. wenyonii* u konja na području RH (QGIS).

5.3. ODNOS IZMEĐU ČIMBENIKA RIZIKA I PCR STATUSA TESTIRANIH KONJA

5.3.1. Vrijeme provedeno na pašnjaku

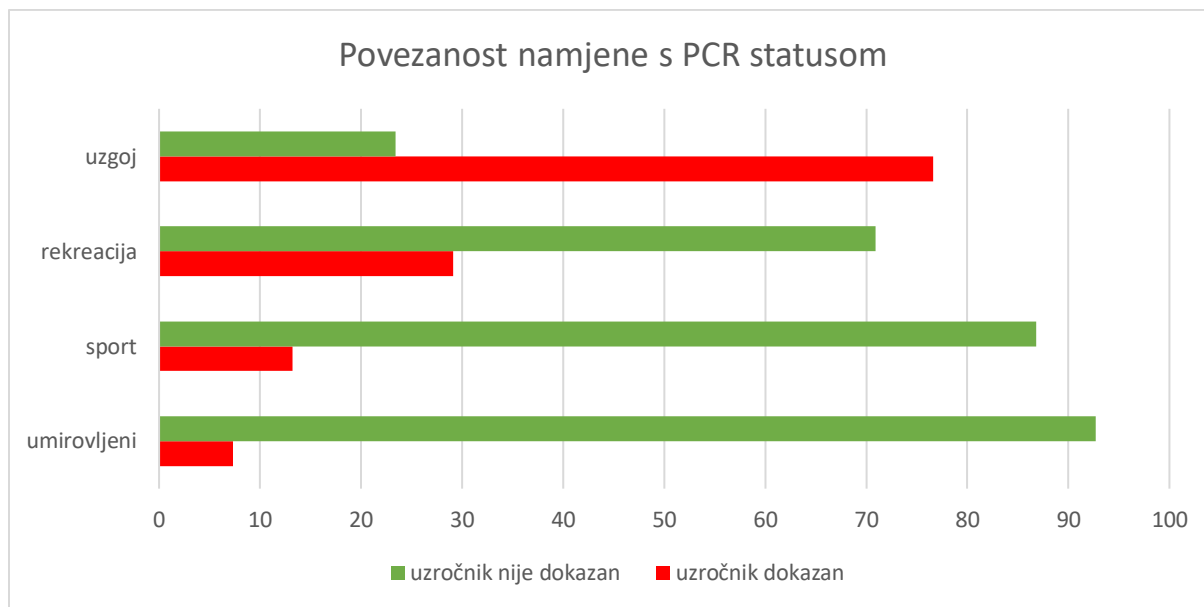
Prosječno vrijeme boravka invadiranih konja na pašnjaku iznosilo je 18h (\pm 8,8), a onih gdje invazija nije zabilježena 13 h (\pm 8,8). Vrijeme provedeno na pašnjaku statistički se značajno razlikovalo između PCR pozitivnih i PCR negativnih konja (Wilcoxon test, $p < 0.001$).

Logistička regresija pokazuje kako se rizik invazije mijenja s vremenom provedenim na pašnjaku. Svaki dodatni sat vremena provedenog na pašnjaku povećava izgled invazije za oko 7 %. Dulje vrijeme provedeno na pašnjaku je testom logističke regresije bilo statistički značajno povezano s većom vjerojatnošću pozitivnog PCR nalaza ($p < 0.001$).

5.3.2. Namjena

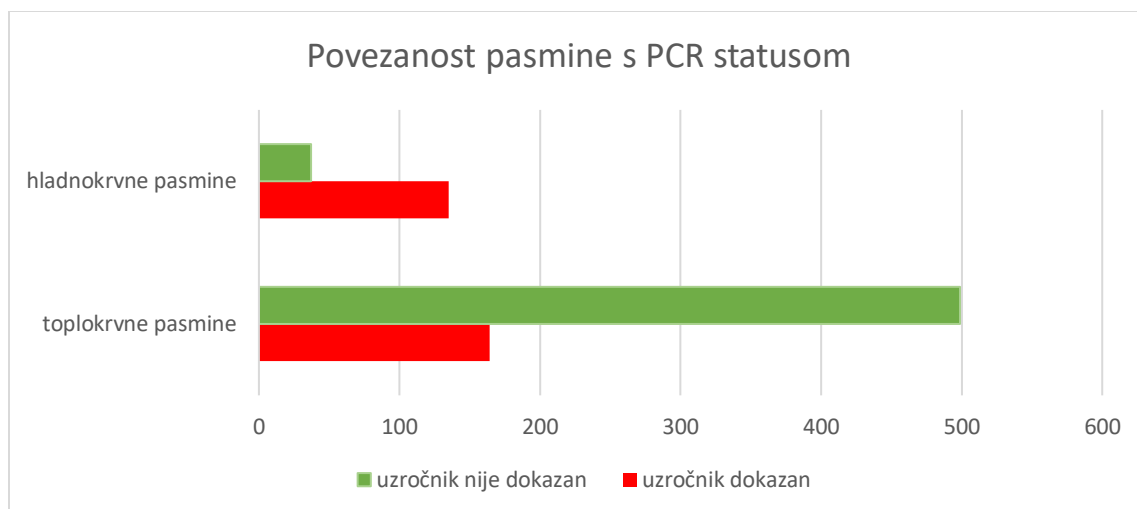
Od 834 testiranih konja, 175 (20,98%) se koristilo u svrhu uzgoja, 496 (59, 47%) za rekreaciju, 121 (14, 5%) za sport, a 42 (5,0 %) konja su u vrijeme testiranja bila u mirovini. U 76,6 % uzoraka krvi konja iz kategorije uzgoja je dokazan DNK piroplazmi što ih čini kategorijom najizloženijom tim patogenima. Zatim slijedi kategorija rekreacije (29,1 %), dok su sportski (13,2 %) i umirovljeni

konji (7,3 %) imaju znatno nižu učestalost izloženosti patogenima (Graf 2.). Chi-square test pokazuje da se učestalost PCR pozitivnih konja statistički značajno razlikuje između različitih namjena držanja ($p < 0.001$).



Graf 2. Povezanost namjene s PCR statusom.

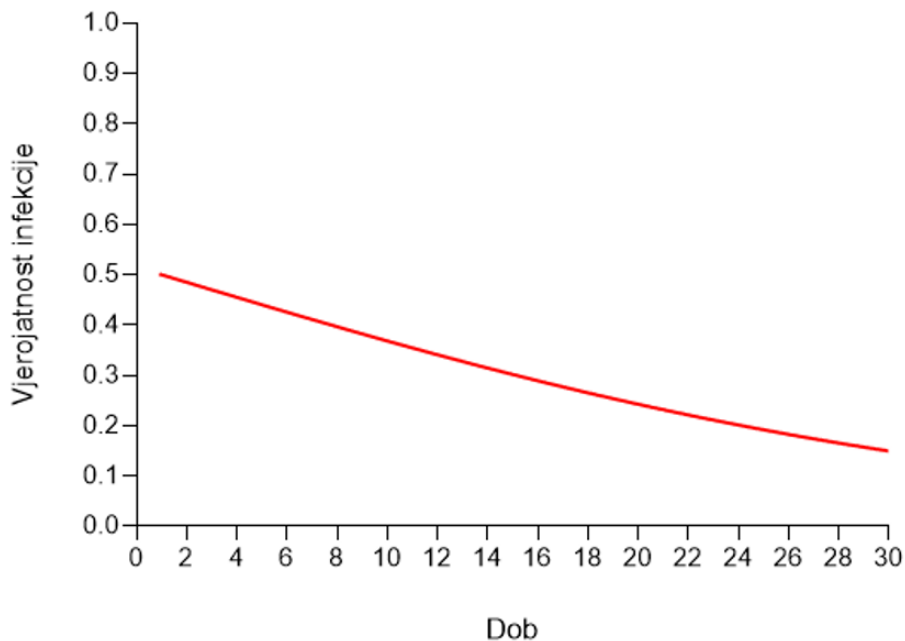
Pretraženo je ukupno 662 uzoraka krvi konja toplokrvnih pasmina (79,3 %) i 172 hladnokrvnih (20,6 %). Od hladnokrvnih pasmina najčešće su bile hrvatske autohtone pasmine-hrvatski hladnokrvnjak i hrvatski posavac. DNK uzročnika piroplazmoze konja je dokazan u krvi 164 životinja (24,7 %) toplokrvnim pasmina, a nije dokazan u uzorcima krvi 499 toplokrvnih konja (75,3 %). Kod hladnokrvnih konja rezultat je bio gotovo obrnut. DNK uzročnika piroplazmi je dokazan u 135 (78,5 %) uzoraka krvi, a nije dokazan u samo 37 (21,5 %) (Graf 3). Logističkom regresijom ustanovljeno je mogućnost DNK piroplazmi u uzorcima krvi hladnokrvnih pasmina konja jedanaest puta veće nego u konja toplokrvnih pasmina. S 95 % pouzdanošću procjenjuje se da su izgledi invazije kod hladnokrvnih konja između 7.48 i 16.83 puta veći nego kod toplokrvnih (CI 95 % 7.48 do 16.83).



Graf 3. Povezanost pasmine s PCR statusom.

5.3.3. Dob

Prosječna dob invadiranih konja ($n=299$) iznosila je 9,5 godina ($\pm 6,6$), a ona zdravih konja ($n=536$) je bila 12 godina ($\pm 6,6$). Ustanovljena je statistički značajna razlika između invadiranih konja i onih u kojima parazit nije detektiran ($p<0.001$). Prosječna dob konja invadiranih *B. caballi* ($n = 4$) bila je 8 godina (± 8), a ona u konja invadiranih *T. equi* 9,5 godina ($n = 295$). Nije utvrđena statistički značajna razlika u dobi između konja pozitivnih na ova dva uzročnika ($p = 0,6302$). Nadalje, prosječna dob konja invadiranih *T. equi* genotipom A iznosila je 10,4 ($\pm 6,4$), a raspon dobi bio je od devet mjeseci do 27 godina. Kod genotipa A1 prosjek dobi je iznosio 4,3 godine ($\pm 2,3$) uz raspon dobi od 1–8 godina. Kod genotipa D, prosječna dob invadiranih konja bila je 11 (± 7 godina), a raspon dobi je iznosio od pet do 23 godine. Najviše pozitivnih konja pripadalo je genotipu E, prosječne dobi od 9,2 ($\pm 6,7$) godine i dobnog raspona od jedne do 30 godina. Obzirom da pretpostavka normalne raspodjele nije bila zadovoljena, za usporedbu dobi između različitih genotipova primijenjen je Kruskal–Wallisov test. Utvrđena je statistički značajna razlika u distribuciji dobi između različitih genotipova ($H(3) = 9,26$; $p = 0,026$). Ovaj rezultat ukazuje na to da se dob konja statistički značajno razlikuje između najmanje dva genotipa *T. equi*. Najniža prosječna dob zabilježena je kod genotipa A1, dok su više prosječne vrijednosti utvrđene kod genotipa A i D. Unatoč tome, važno je naglasiti da su genotipovi A1 i D zastupljeni s vrlo malim brojem životinja što može utjecati na rezultate analize.

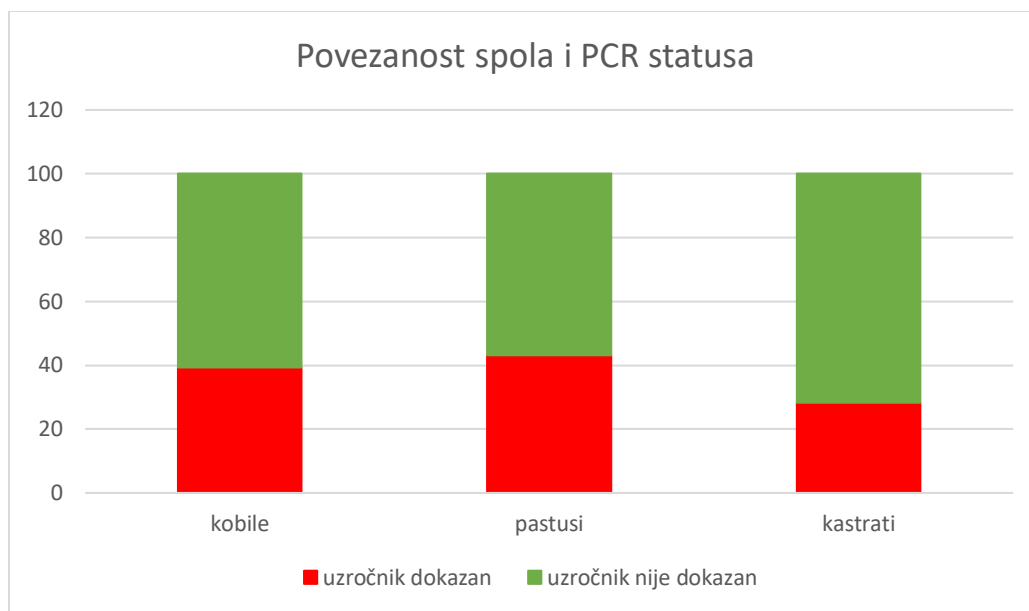


Graf 4. Krivulja logističke regresije s predviđenom vjerojatnošću infekcije (y) u odnosu na dob konja u godinama (x).

5.3.4. Spol

Istraživanje je obuhvatilo 472 kobile, 290 kastrata i 72 pastuha iz svih županija RH. Učestalost PCR-pozitivnih konja statistički se razlikovala između skupina po spolu (χ^2 test, $p = 0,003$). Najviša prevalencija uzročnika piroplazmoze zabilježena je u pastuha (43,1%), zatim u kobila (39,4%), dok je najniža zabilježena u kastrata (28,3%) (Graf 4).

Pri analizi varijabli tipa pasmine uspostavilo se da hladnokrvni konji imaju 11 puta veće izgleda biti PCR pozitivni od toplokrvnih. Nakon prilagodbe za dob i spol, svaka dodatna godina starosti smanjuje izgleda invazije za 3% ($OR = 1-0.97=0.03$). Spol nije značajan faktor nakon prilagodbe za dob i tip pasmine. Ranije je parametar spol bio značajan u X^2 testu, ali kad su dodani parametri dobi i tipa pasmine, utjecaj čimbenika spola nestaje i nije više značajan.



Graf 5. Povezanost spola i PCR statusa.

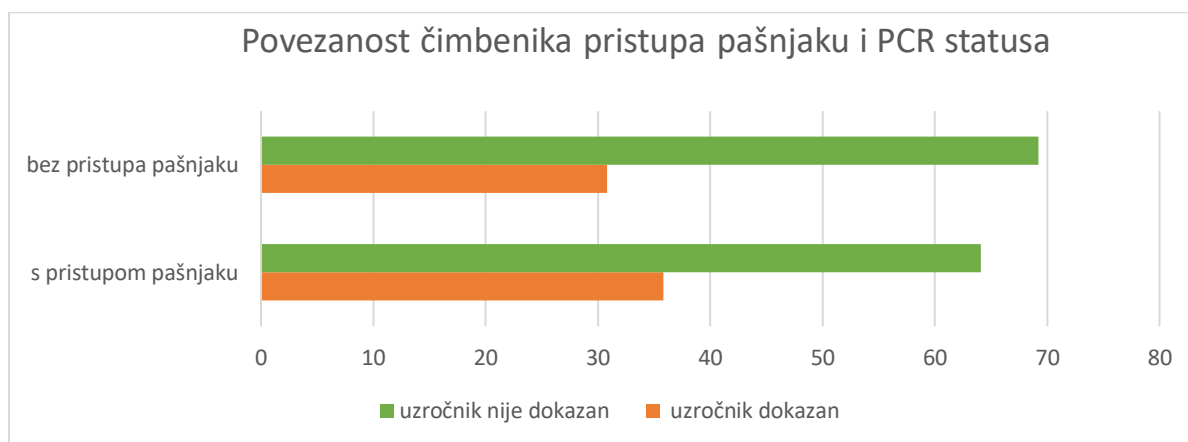
5.3.5 Period prisutnosti krpelja na konjima tijekom godine

Podaci o razdoblju prisutnosti krpelja na konjima prikupljeni su putem upitnika koji su ispunjavali vlasnici životinja. Kao mogući odgovori ponuđeni su sljedeći vremenski periodi: tijekom cijele godine, od kraja zime do ljeta, samo u proljeće, od proljeća do jeseni, od proljeća do zime, tijekom proljeća i jeseni, tijekom proljeća i ljeta te nikada. Analizom povezanosti između razdoblja prisutnosti krpelja i invazije piroplazmama utvrđena je statistički značajna razlika u učestalosti invadiranih konja među promatranim skupinama (χ^2 test, $p < 0,001$). Općenito je uočeno da se s produljenjem razdoblja prisutnosti krpelja povećava i učestalost konja u kojih je dokazana DNK piroplazmi. Najveći udio invadiranih konja zabilježen je u skupinama u kojima su vlasnici naveli da su krpelji prisutni tijekom duljeg dijela godine. Tako je u skupini konja kod kojih su krpelji prisutni tijekom proljeća i ljeta invazija piroplazmama utvrđena u 76 % životinja, dok je u skupini u kojoj su krpelji prisutni tijekom proljeća i jeseni zabilježeno 71,2 % invadiranih konja. Visoka prevalencija zabilježena je i u skupini u kojoj su krpelji prisutni od proljeća do zime, gdje je 49 % konja bilo invadirano. S druge strane, u skupini konja kod kojih su vlasnici naveli da krpelji nikada nisu prisutni nije zabilježen niti jedan konj u kojem je dokazana DNK piroplazmi.

5.3.6. Pristup pašnjaku.

Učestalost invazije piroplazmama nije se statistički značajno razlikovala između konja s pristupom pašnjaku i onih bez pristupa (χ^2 test, $p = 0,93$). Od ukupno 821 testiranog konja s pristupom

pašnjaku, DNK piroplazmi dokazana je u 294 životinje (35,8 %), dok je 527 konja (64,1 %) bilo negativno. U skupini konja bez pristupa pašnjaku analizirano je ukupno 13 životinja, pri čemu je DNK piroplazmi dokazana u 4 konja (30,8 %), dok je 9 konja (69,2 %) bilo negativno (Graf 5). Rezultati Chi-square testa pokazali su da ne postoji statistički značajna razlika u učestalosti invazije piroplazmama između konja s pristupom pašnjaku i onih bez pristupa ($p = 0,9326$). Međutim, potrebno je naglasiti da je broj konja bez pristupa pašnjaku bio vrlo malen ($n = 13$) u usporedbi s brojem konja s pristupom pašnjaku ($n = 821$), što je moglo utjecati na pouzdanost statističke analize i interpretaciju dobivenih rezultata. Dobiveni rezultati upućuju na to da pristup pašnjaku u ovom istraživanju nije bio značajan čimbenik povezan s pojavom invazije piroplazmama.



Graf 6. Povezanost čimbenika pristupa pašnjaku i PCR statusa

5.4. Slijed odsječka 18S rRNA gena

Lančanom reakcijom polimerazom odsječak 18S rRNA gena piroplazmi umnožen je u 299 (35,85%) od 834 pregledana uzorka, te je sekvencioniranjem utvrđeno da od toga 295 (98,6 %) slijedova pripada *T. equi* te četiri (1,3 %) slijeda *B. caballi*. Svi slijedovi *B. caballi* pripadaju istom genotipu, dok je kod *T. equi* prisutno četiri genotipa, koji su imenovani *T. equi* genotip A ($n = 90$), *T. equi* genotip A1 ($n=7$), *T. equi* genotip D ($n=6$) i *T. equi* genotip E ($n=192$). Slijedovi *T. equi* A i *T. equi* E dugi su 1581 parova baza i međusobno se razlikuju na 52 lokusa (3,3 %). GenBank (NCBI - *National Center for Biotechnology Information*, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) pretražen je BLAST-om (*Basic Local Alignment Search Tool*) i pronađeno devet slijedova *B. caballi* te 41 slijed *T. equi*. Usporedbom slijedova iz GenBank baze sa slijedovim dobivenim u ovom istraživanju utvrđeno je da je genotip *T. equi* E identičan slijedu KF559357 (TIAN i sur., 2013.) koji je izoliran

iz krvi konja iz Kine, te identičan slijedu HM229407 (SEO i sur., 2011.) koji je izoliran iz krvi konja iz Južne Koreje.

5.5. REZULTATI MORFOLOŠKE DETERMINACIJE PRIKUPLJENIH UZORAKA KRPELJA I HEMATOFAGNIH INSEKATA.

5.5.1. Rezultati morfološke determinacije prikupljenih krpelja

Identificirano je pet rodova krpelja: *Dermacentor*, *Haemaphysalis*, *Hyalomma*, *Ixodes* i Rod *Hyalomma* bio je najzastupljeniji (1175/2086, 56, 33%), zatim rod *Dermacentor* (398/2086, 19,08 %), rod *Rhipicephalus* (365/2086, 17, 50%), rod *Ixodes* (124/2086, 5,94%) te na kraju rod *Haemaphysalis* s najmanje primjeraka (24/2086, 1, 15%) (Graf 6, Slika 8).

5.5.1.2 rod *Dermacentor*

Morfološkom identifikacijom su dokazane dvije vrste roda *Dermacentor*: *D. marginatus* i *D. reticulatus*. 24 krpelja vrste *D. marginatus* prikupljeni su s lokacija Lički Ribnik i Suknovci. Značajno više primjeraka prikupljeno je od vrste *D. reticulatus*. Ukupno 374 krpelja ove potjecalo je s lokacija: Šeovica, Lički Ribnik, Bjelovar, Konak, Vrbovec, Sjeverovac, Desno Željezno i Jalkovec.

5.5.1.3. rod *Haemaphysalis*

Rod *Haemaphysalis* zastupljen je s tri vrste: *H.concinna*, *H.punctata* (slika 7.) i *H. sulcata*. Samo tri krpelja vrste *H.concinna* prikupljena su s lokacija Pinezići i Šeovica. Morfološki je determinirano 20 krpelja vrste *H.punctata* prikupljenih s lokacija: Lopača, Suknovci te Pinezići. Samo jedan krpelj vrste *H. sulcata* potjecao je s područja Pinezića.



Slika 7: Krpelji vrste *H. punctata*. (Izvor: autor)

5.5.1.4. rod *Hyalomma*

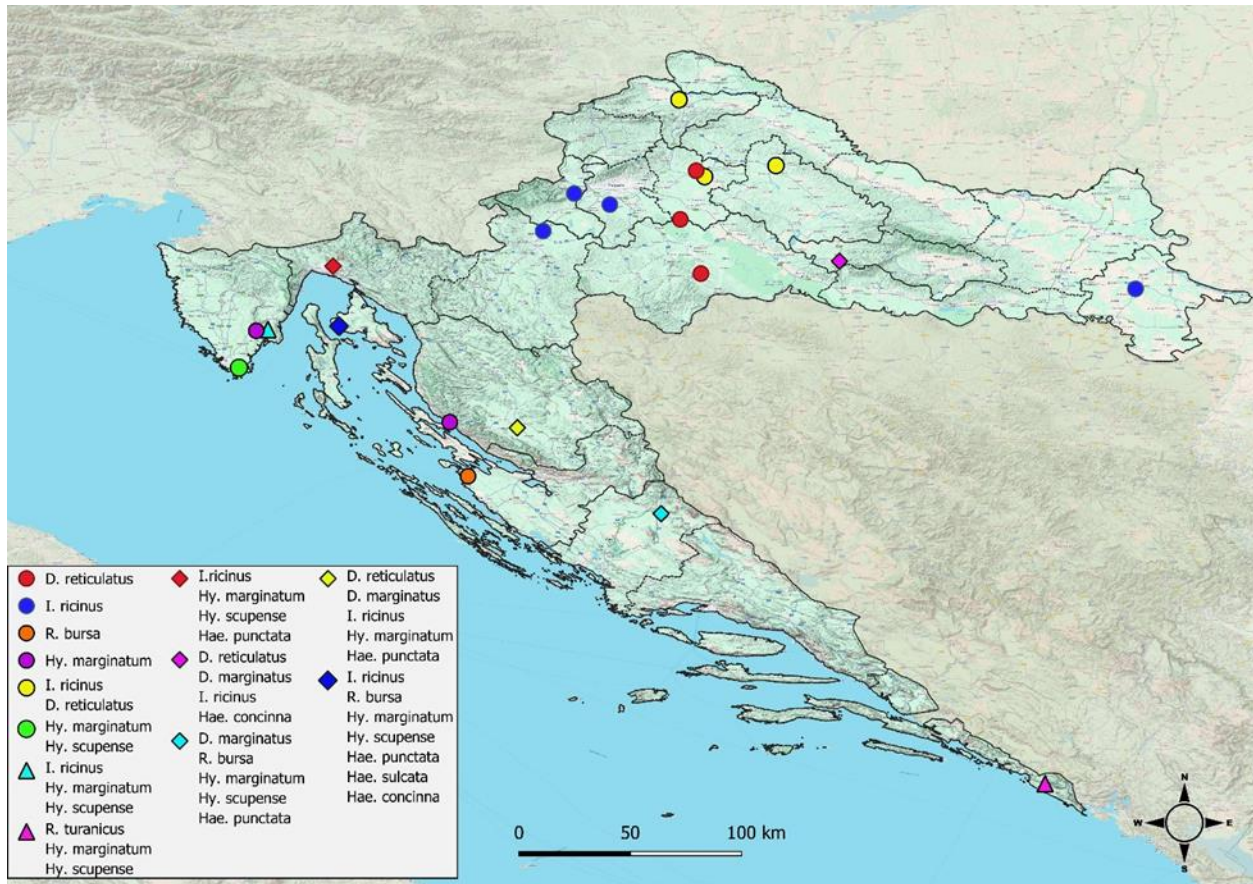
Iz roda *Hyalomma* morfološki su determinirane dvije vrste: *H. marginatum* i *H. scupense*. Ukupno je prikupljeno 1030 krpelja vrste *H. marginatum* s lokacija: Medulin, Hrboki, Šeovica, Labin, Lički Ribnik, Lopača, Karlobag, Suknovci, Knin, Čilipi i Pinezići te 145 krpelja vrste *H. scupense* s lokacija: Medulin, Labin, Lopača, Suknovci, Čilipi i Pinezići.

5.5.1.5. rod *Ixodes*

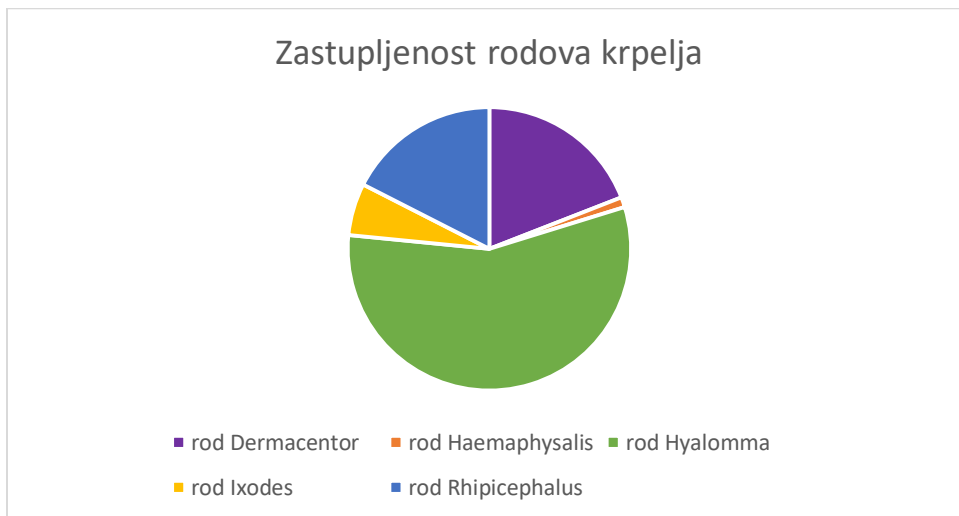
Prikupljeno je 124 primjeraka krpelja roda *Ixodes*. Morfološkom identifikacijom dokazana je samo jedna vrsta - *Ixodes ricinus*. Krpelji su prikupljeni s lokacija: Šeovica, Labin, Lički Ribnik, Lopača, Odranski obrež, Konak, Vunkovci, Jalkovec, Draganić, Molvice i Pinezići.

5.5.1.6. rod *Rhipicephalus*

Morfološkom identifikacijom su dokazane dvije vrste roda *Rhipicephalus*: *R. bursa* i *R. turanicus*. Prikupljeno je 115 krpelja vrste *R. bursa* s tri primorske lokacije: Zadar, Suknovci i Pinezići. Prikupljeno je ukupno 250 krpelja vrste *R. turanicus*, svi s lokacije Čilipi.



Slika 8. Lokacije prikupljenih vrsta krpelja (QGIS).



Graf 7. Zastupljenost rodova krpelja u istraživanju.

5. 5. 2. Rezultati morfološke analize prikupljenih uzoraka hematofagnih insekata.

Tijekom hvatanja veći dio obada je bio oštećen pa je morfološka identifikacija na razini roda, pomoću ključeva u literaturi navedenoj u Materijalima i metodama, provedena na 50 od 128 prikupljenih jedinki. Ukupno su morfološki identificirana tri roda obada: *Tabanus*, *Haematopota* i *Philipomyia*. Rod *Haematopota* bio je najzastupljeniji s 24/50 jedinki. Najveći broj insekata potjecao je s područja Iste, a nekoliko jedinki je dostavljeno s područja Bjelovara i Šeovice. Slijedio je rod *Tabanus* s 19 jedinki s područja Istre i Šeovice. Najmanje je bio zastupljen rod *Philipomyia* sa samo sedam jedinki s područja Ličkog Ribnika.

Ukupno je prikupljeno i sedam muha koje su morfološki identificirane kao *Hermentia illucens* (4/7, Bjelovar), *Musca domestica* (2 /7, Bjelovar, Hrboki) i *Stomoxys calcitrans* (1/7, Šeovica). Morfološkom identifikacijom utvrđeno je da sve kožnatice pripadaju vrsti *H. equina* (Slika 9.).



Slika 9. : Konjska kožnatice (*Hippobosca equina*). (Izvor: autor)

5.6. REZULTATI MOLEKULARNE ANALIZE PRIKUPLJENIH UZORAKA KRPELJA I HEMATOFAGNIH INSEKATA

5.6.1. Rezultati molekularnih analiza hematofagnih insekata

DNK barkodingom (Mircrogen Inc.) identificirano je sedam vrsta obada: *Haematopota grandis*, *Haematopota italica* (Slika 12., Slika 13.), *Haematopota pluvialis* (Slika 11.), *Philipomyia graeca*, *Tabanus bromius* (Slika 14.), *Tabanus exclusus* (Slika 10.) i *Tabanus sudeticus*. Prikaz vrsta i rasprostranjenost po lokacijama je prikazana u tablici 2.



Slika 10. Glava i usni aparat vrste *T. exclusus*. (Izvor: autor)



Slika 11. Prednji dio vrste *H. pluvialis*. (Izvor: autor)



Slika 12. Prednji dio vrste *H. italica*. (Izvor: autor)



Slika 13. Krilo vrste *H. italica* s karakterističnim šarama. (Izvor: autor)



Slika 14. Prednji dio vrste *T. bromius*. (Izvor: autor)

Na prisutnost patogena je pretraženo ukupno 162 obada vrsta *H. grandis*, *H. italica*, *H. pluvialis*, *P. graeca*, *T. bromius*, *T. exclusus* i *T. sudeticus*. Testirano je i 53 konjskih kožnatice te jedna muha vrste *S. calcitrans*. U niti jednom pretraženom insektu nije dokazan DNK rodova *Babesia*/*Theileria*, *Anaplasma* / *Ehrlichia* ili *Mycoplasma*.

Tablica 2. Prikaz vrsta i rasprostranjenosti prikupljenih obada.

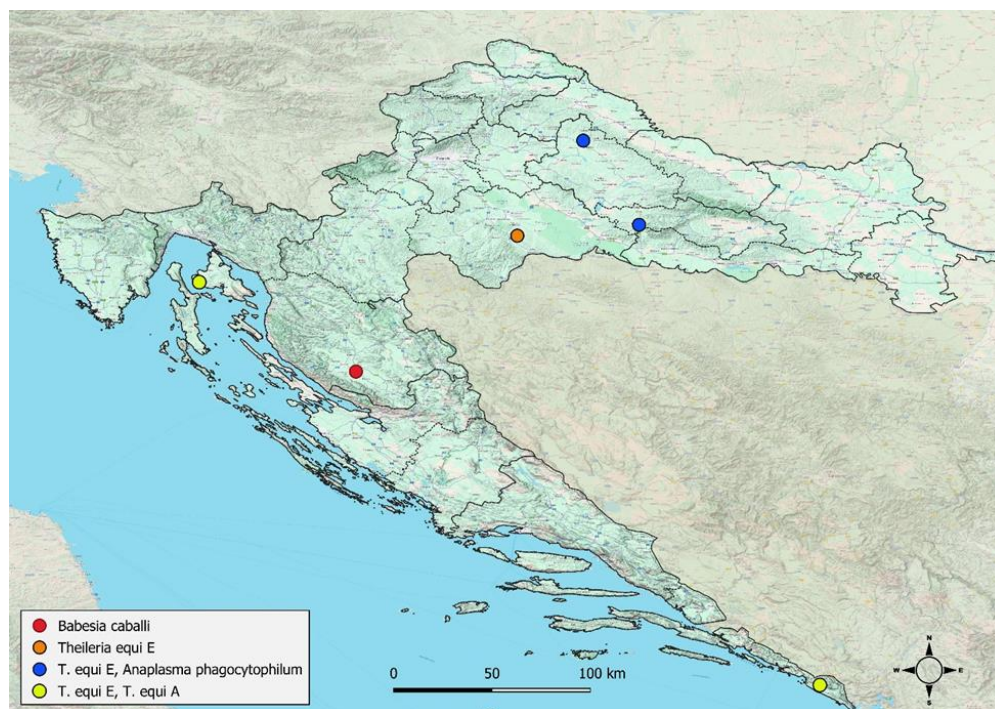
	Bilaj	Bjelovar	Hrboki	Rakovica	Lički Ribnik	Medulin	Ozalj	Šeovica	Špišić Bukovica
<i>Philipomyia graeca</i>				+	+				
<i>Haematopota grandis</i>	+								
<i>Haematopota italica</i>			+	+		+			+
<i>Haematopota pluvialis</i>				+	+		+	+	
<i>Tabanus bromius</i>								+	
<i>Tabanus exclusus</i>			+			+			
<i>Tabanus sudeticus</i>		+		+	+		+	+	

5.6.2. Rezultati molekularnih analiza krpelja.

Pretraženo je 87 krpelja. Analizirani su sljedovi odsječaka 18S rRNA piroplazmi i 16S rRNA rodova *Mycoplasma* te *Anaplasma* i *Ehrlichia*. Uključene su bile vrste: *D. marginatus* (n=4), *D. reticulatus* (n=9), *R. turanicus* (n=5), *R. bursa* (n=26), *H. marginatum* (n=1), *H. punctata* (n=2), *H. concinna* (n=2) te *I. ricinus* (n= 38). Od 87 krpelja, u 25 je dokazan jedan od uzročnika piroplazmoze konja (28,74 %). Od toga je prevalencija *B. caballi* iznosila 8 % (2/25), a *T. equi* 92 % (23/24). Prevalencija bakterija *A. phagocytophilum* bila je 2,30 % (2/ 87). Rod *Mycoplasma* nije pronađen.

U dva krpelja vrste *D. marginatus* je dokazan DNK uzročnika *B. caballi*. U četiri jedinke *D. reticulatus* je dokazan genotip *T. equi* E, a u jednom *B. caballi*. Od 26 testiranih krpelja *R. bursa*, u deset je dokazan genotip *T. equi* A, u tri *T. equi* E. U dva krpelja vrste *R. turanicus* je dokazan *T. equi* A, a u jednom *T. equi* E. Genotip *T. equi* E dokazan je i u vrsti *H. marginatum*. DNK uzročnika *A. phagocytophilum* dokazan je u dva krpelja vrste *I. ricinus*. Oba krpelja vrste *H. concinna* polučila su negativan rezultat na testiranju. (Tablica 3., Slika 15.).

Na području Čazme, Čilipa, Pinezića, Šeovice i Sjeverovca zabilježena je prisutnost patogena i u krpeljima i u krvi konja. Samo na području Ličkog Ribnika je dokazan uzročnik *B. caballi* u krpeljima no u krvi konja je dokazana samo *T. equi* genotip E. U Konaku je u dva konja dokazana *T. equi* genotip E no u krpeljima nisu dokazni patogeni. U Labinu su dokazani uzročnici *A. phagocytophilum*, *B. caballi* i dva genotipova *T. equi*. Unatoč tome, u pretraženim krpeljima vrste *I. ricinus* nije detektiran niti jedan patogen. Slična situacija je i na području Lopače u Primorsko – goranskoj županiji. Na području Desnog Željezna u Sisačko – moslavačkoj županiji prisutna je bila stopostotna prevalencija uzročnika *T. equi* genotipa E u krvi konja s tog područja. Unatoč tome, uzročnik nije dokazan u testiranim krpeljima. U Draganiću, Jalkovcu i Molvicama istraživani patogeni nisu dokazani niti u konjima niti u krpeljima.



Slika 15. Geografski prikaz patogena pronađenih u krpeljima (QGIS)

Tablica 3. Prikaz patogena detektiranih u krpeljima uz nalaz patogena u krvi konja.

LOKACIJA	VRSTA KRPELJA	PATOGENI DOKAZANI U KRPELJIMA	PATOGENI DOKAZANI U KRVI KONJA
ČAZMA	<i>D. reticulatus</i>	<i>T. equi E</i>	<i>T. equi E</i>
	<i>I. ricinus</i>	<i>A. phagocytophilum</i>	
ČILUPI	<i>R. turanicus</i>	<i>T. equi A, T. equi E</i>	<i>T. equi A, T. equi E</i>
DESNŌ ŽELJEZNO	<i>D. reticulatus</i>	-	<i>T. equi E</i>
DRAGANIĆ	<i>I. ricinus</i>	-	-
JALKOVEC	<i>I. ricinus</i>	-	-
KNIN	<i>D. marginatus</i>	-	-
KONAK	<i>D. reticulatus</i>	-	<i>T. equi E</i>
	<i>I. ricinus</i>	-	
LABIN	<i>I. ricinus</i>	-	<i>T. equi A, T. equi E, B. caballi, A. phagocytophilum</i>
LIČKI RIBNIK	<i>D. marginatus</i>	<i>B. caballi</i>	<i>T. equi E</i>
	<i>D. reticulatus</i>	<i>B. caballi</i>	
	<i>H. punctata</i>	-	
	<i>I. ricinus</i>	-	
LOPAČA	<i>I. ricinus</i>	-	<i>T. equi A, T. equi D, T. equi E</i>
MOLVICE	<i>I. ricinus</i>	-	-
PINEZIĆI	<i>R. bursa</i>	<i>T. equi A, T. equi E</i>	<i>T. equi A</i>
	<i>H. concinna</i>	-	
	<i>H. marginatum</i>	<i>T. equi E</i>	
	<i>H. punctata</i>	-	
	<i>I. ricinus</i>	-	
ŠEOVICA	<i>D. reticulatus</i>	<i>T. equi E</i>	<i>T. equi A, A. phagocytophilum</i>
	<i>I. ricinus</i>	<i>A. phagocytophilum</i>	
SJEVEROVAC	<i>D. reticulatus</i>	<i>T. equi E</i>	<i>T. equi E</i>

6. RASPRAVA

Ovim istraživanjem provedena je do sada najopsežnija molekularna analiza uzročnika piroplazmoze, anaplazmoze i hemotropnih mikoplazmi u populaciji konja te njihovim hematofagnim ektoparazitima na području Republike Hrvatske. Istraživanje je obuhvatilo velik broj uzoraka krvi konja iz svih hrvatskih županija, uz istodobno prikupljanje podataka o životinjama, načinu držanja, namjeni, kretanju, boravku na pašnjaku i izloženosti vektorima. Time je, za razliku od ranijih istraživanja, omogućena ne samo procjena molekularne učestalosti istraživanih patogena, nego i šira interpretacija njihove geografske raspodjele, genetske raznolikosti te mogućih čimbenika koji utječu na održavanje i širenje ovih infekcija u populaciji konja.

Najvažniji nalaz ovog istraživanja jest potvrda da je piroplazmoza konja široko rasprostranjena u RH. Molekularna prevalencija piroplazmi iznosila je 35,85 %, pri čemu je izrazito prevladavala vrsta *T. equi*, dok je *B. caballi* dokazana znatno rjeđe (0, 48%) . Ovakav omjer između dvaju uzročnika u skladu je s njihovom biologijom. Za razliku od *B. caballi*, koja se u konja često smatra vremenski ograničenom infekcijom i uzrokuju težak oblik bolesti, *T. equi* može perzistirati godinama ili doživotno, zbog čega invadirane životinje predstavljaju dugotrajan rezervoar za vektore. Takva biološka osobitost vjerojatno je jedan od glavnih razloga zašto je *T. equi* u ovom istraživanju gotovo potpuno dominirala među pozitivnim nalazima (RÜEGG i sur., 2007.; DUASO i sur., 2025).

U svim županijama RH dokazan je bar jedan pozitivan konj. Stopostotna prevalencija uzročnika piroplazmoze konja zabilježena je u Sisačko- moslavačkoj županiji i može se objasniti boravkom životinja na slobodnoj ispaši cijele godine. Takav način držanja povećava mogućnost kontakta s krpeljima, osobito u područjima gdje se pašnjaci preklapaju s rubnim šumskim staništima, vlažnim livadama i drugim pogodnim biotopima za razvoj krpelja. Istraživanje autora GARCÍA-BOCANEGRA i sur. (2013) pokazala je da se rizik od seropozitivnosti na invadiranost s *B. caballi* povećava 3 do 5 puta ako su životinje držane u uvjetima na otvorenom povezanim s poljoprivrednim aktivnostima, u kombinaciji s lošijim i zoohigijenskim uvjetima držanja. Osim Sisačko – moslavačke, od ostalih županija na kontinentu, nešto više prevalencije su zabilježene u Zagrebačkoj županiji (25,20 %) , koja je ujedno i županija s najvišim brojem testiranih konja te u Bjelovarsko – bilogorskoj s 32,14 %. U istraživanju GOTIĆ (2015) područje Sisačko – moslavačke županije je također imalo najvišu prevalenciju uzročnika piroplazmoze (72,73 %) , dok su u ostalim

županijama prevalencije znatno manje ili uzročnik uopće nije dokazan. Tako je na području Zagrebačke županije tada prevalencija uzročnika pirop plazmoze konja iznosila 4,69 %, a u Bjelovarsko – bilogorskoj uzročnici nisu dokazani. U Ličko – senjskoj županiji ispitivana su samo dva uzorka krvi konja od kojih je u jednom dokazan uzročnik. Razlika između prevalencija uzročnika bolesti po županijama ovisi i o ukupnom broju konja u nekoj županiji. Tako je prema podacima Hrvatske agencije za poljoprivredu i hranu (HAPIH), broj registriranih konja u 2024. godini iznosio 35. 920 životinje. Najviše grla zabilježeno je u Sisačko-moslavačkoj (n = 8.736) i Zagrebačkoj županiji (n = 3.145). Najmanje konja je registrirano na području Dubrovačko-neretvanske (n = 191) i Međimurske županije (n = 362) (IVKIĆ i sur., 2024.). I u ovom istraživanju najmanji broj konja je testiran u Dubrovačko – neretvanskoj (n = 9) i Međimurskoj županiji (n = 10), ali također i u Brodsko – posavskoj i Vukovarsko – srijemskoj županiji gdje je testirano samo deset konja. Na tim područjima, posebice na području Slavonije, potrebno je provesti istraživanje na većem broju konja kako bi se dobio pouzdaniji podatak o stvarnoj prevalenciji uzročnika bolesti.

Pri obrazlaganju dobivenih prevalencija uzročnika bolesti u ovom istraživanju, pažnju treba obratiti i na lokacije testiranih konja unutar županija. Primjerice, u Bjelovarsko – bilogorskoj županiji osam konja od 28 bilo je locirano na području Čazme. U svih osam testiranih konja dokazan je uzročnik *T. equi*. Riječ je bila o staji gdje se konji koriste za uzgoj i rekreaciju te većinu vremena provode zajedno na pašnjaku, a pristup imaju i paši u kanalu blizu vodene površine gdje je očekivana veća učestalost krpelja i hematofagnih vektora. Rast i širenje krpelja iz roda *Ixodes* pogoduje umjerena temperatura i visoka relativna vlažnost tijekom kišne sezone (MEDLOCK i sur., 2013.). U ostalih staja na području te županije, uzročnici su po lokacijama dokazani samo sporadično ili nisu dokazani.

Posebno je zanimljiva situacija i u Zagrebačkoj županiji gdje je od 128 testiranih konja, 57 testirano na području Vrbovca. Od njih 57, 27 (47,37 %) je testirano pozitivno na uzročnika *T. equi*. Riječ je bila o konjima namjenjenima uzgoju na slobodnoj ispaši te o rekreativnim konjima koji se koriste za terenska jahanja po šumovitim predjelima. Također, dvije pozitivne kobile s tog područja su kupljene iz Splitsko- dalmatinske te Istarske županije čime se pokazuje i važnost ne samo lokacije i načina držanja i korištenja, nego i čimbenika transporta konja (AIDA i sur, 2023.) prilikom kupoprodaje. Čimbenik kupoprodaje značajan je i u objašnjavanju prevalencije u

Vukovarsko - srijemskoj županiji gdje je u samo jednog konja dokazan uzročnik *T. equi*. Za njega je poznato da je u štalu u Vinkovcima pristigao iz Sisačko- moslavačke županije gdje je cijeli život proveo na slobodnoj ispaši. Za jednog od dva konja u kojima je dokazan uzročnik *T. equi* u Krapinsko - zagorskoj županiji, poznato je da je kupljen prije godinu dana iz Istarske županije. U Koprivničko- križevačkoj županiji, od 12 pozitivnih konja, sedam se nalazilo u istoj štali. Vlasnik ih koristi za uzgoj, a sve ih je nabavio iz Vrbovca, gdje su prije toga boravili na slobodnoj ispaši. Staja je također na samoj granici Koprivničko-križevačke županije, samo nekoliko minuta vožnje od spomenute staje u Vrbovcu pa iako je riječ o dvije različite županije, smatra se da su klimatski uvjeti i populacija hematofagnih vektora isti (KRČMAR i sur., 2011)

Od ostalih županija u kontinentalnom dijelu RH, zanimljiva je niska prevalencija uzročnika pirop plazmoze konja na području Slavonije, unatoč tome što je to jedno od područja s najvišom populacijom konja u RH, dok je u susjednoj Mađarskoj ukupna prevalencija uzročnika pirop plazmoze iznosila je značajno više 49 % (FARKAS i sur., 2013.). Unatoč relativno visokom broju konja testiranih na području Osječko-baranjske županije, prevalencija uzročnika pirop plazmoze je iznosila samo 8,82 % (n = 6). Od šest invadiranih životinja, tri su potjecale iz iste štale s područja općine Vardarec gdje se konji koriste za natjecanja u utrkama daljinskog jahanja (*eng. endurance*). Obzirom da se te utrke na području RH trče po šumovitim područjima, moguće je da konji tijekom utrke i priprema budu izloženi hematofagnim vektorima. Većina ostalih konja testiranih u toj županiji boravila je u sportskoj staji s ograničenim izlascima na pašnjak (samo 1-2h dnevno). Vlasnici ih timare svaki dan prije rada pa je samim time i smanjena mogućnost prijenosa bolesti krpeljima. U Brodsko – posavskoj županiji, od dva konja u kojima je dokazan uzročnik *T. equi*, za jednog je poznato da je dio života proveo u Istarskoj županiji, od kuda je i kupljen prije nekoliko godina te doveden u štalu gdje je prilikom provođenja ovog istraživanja i testiran.

U Virovitičko – podravskoj županiji, u četrnaest konja je dokazana *T. equi*. Sedam od četrnaest životinja se koristilo u svrhe uzgoja i provodili su većinu vremena na ispaši. Ostali konji su rekreativni konji koje vlasnici često izvode na terenska jahanja gdje su izloženi hematofagnim vektorima. U Požeško – slavonskoj županiji oba konja u kojima je dokazan uzročnik *T. equi* potječu iz iste štale. Koriste se za rekreaciju i većinu vremena provode na pašnjaku.

Na području Karlovačke, Međimurske i Varaždinske županije uzročnik *T. equi* dokazan je samo u jednom konju. Razlog niske prevalencije možda leži i u tome što je iz tih županija ujedno testirano vrlo malo konja (n = 22, n = 10, n = 18). Područje Primorsko-goranske obuhvaćeno je s nekoliko štala s područje Lopače (općina Jelenje) i okolice te otoka Krka. Na području Lopače testirani konji su primarno korišteni za rekreativno jahanje. U okolici štale gdje vlasnici odlaze na teren obilje je vektora zbog guste vegetacije, a tom područja borave i goveda na slobodnoj ispaši, u sklopu sustava poticaja. To je značajan podatak obzirom da je poznato da napasanje konja i goveda može biti jedan od čimbenika rizika prijenosa uzročnika bolesti na konje putem vektora (GUIDI i sur., 2015.; JURKOVIĆ i sur., 2020). Konji se drže u boksevima no većinu dana provode na pašnjacima. Na otoku Krku konji se svi drže u lauf štalama, a na lokaciji Pinezići konji žive zajedno s nekoliko ovaca. Teren je krški, ispaša oskudna no vektori su prisutni u velikom broju cijele godine, posebice tijekom toplijih mjeseci. Visoka izloženost vektorima i blaga klima objašnjavaju i prevalenciju od 33,33 % u toj županiji. Ovi podaci o niskoj prevalenciji na području Slavonije te Karlovačke, Međimurske i Varaždinske županije odgovaraju i rezultatu istraživanja GOTIĆ (2015). Unatoč tome, prije deset godina uzročnici piroplazmoze u Primorsko – goranskoj županiji nisu dokazani, a u ovom istraživanju prevalencija je iznosila 33,33 %.

S druge strane, visoka prevalencija u priobalnim i mediteranskim županijama može se povezati s klimatskim uvjetima koji omogućuju dulju sezonsku aktivnost vektora. Blage zime, dulja vegetacijska sezona i veći broj dana pogodnih za aktivnost krpelja stvaraju uvjete u kojima prijenos piroplazmi može trajati dulje nego u kontinentalnim područjima. Krpelji roda *Dermaacentor*, posebno *D. marginatus* ostaju aktivni tijekom zime i dobro preživljavaju u područjima s rijetkom vegetacijom (ESTRADA-PEÑA i sur. 2004.; RUBEL i sur. 2016.).

U tom smislu, primorska Hrvatska predstavlja posebno važno područje za praćenje piroplazmoze konja, ne samo zbog visoke prevalencije, nego i zbog dokazane najveće genetske raznolikosti uzročnika. Slični obrasci opisani su i u drugim mediteranskim zemljama Europe poput Portugala, Španjolske i Italije, gdje toplija klima i dulja aktivnost krpelja izravno utječu na održavanje visoke prevalencije piroplazmoze (CAMINO i sur., 2021.; FACILE i sur., 2025.; PERIS i sur., 2025.).

U usporedbi s ranijim istraživanjem provedenim u Hrvatskoj, u kojem je molekularna prevalencija piroplazmi bila znatno niža, sadašnji rezultati upućuju na porast učestalosti infekcije u populaciji konja. Unatoč tome, taj porast ne treba nužno promatrati isključivo kao posljedicu širenja

uzročnika, nego i kao rezultat nekoliko međusobno povezanih čimbenika: većeg broja testiranih životinja, bolje geografske pokrivenosti, uključivanja različitih tipova uzgoja i namjene konja te moguće stvarne promjene u epidemiološkoj situaciji. Ipak, činjenica da su pozitivni konji dokazani u svim županijama potvrđuje da piroplazme više ne treba promatrati kao lokaliziran ili sporadičan problem, nego kao endemski prisutne uzročnike u hrvatskoj populaciji konja.

Molekularna prevalencija bakterije *A. phagocytophilum* u konja bila je niska. Taj nalaz pokazuje da je ovaj uzročnik prisutan u populaciji konja u Hrvatskoj, ali vjerojatno nema istu epidemiološku važnost kao piroplazme. Ipak, nalaz ne treba zanemariti. Riječ je o uzročniku koji se održava u složenim ciklusima između krpelja, divljih životinja, domaćih životinja i ljudi. Budući da je u Hrvatskoj ranije dokazan u različitim vrstama domaćih i divljih životinja, kao i u krpeljima, pozitivni nalazi u konja uklapaju se u širi kontekst koncepta „Jedno zdravlje“ cirkulacije ovog patogena (BECK i sur., 2014.; HUBER i sur., 2017.). Zanimljivo je da je i u četiri asimptomatska konja dokazana koinfekcija s *T. equi* genotipovima A i E. To dodatno pokazuje da konji mogu istodobno biti izloženi većem broju vektorima prenosivih uzročnika, iako se kliničke posljedice takvih koinfekcija u ovom istraživanju ne mogu procijeniti. Upravo su subkliničke i kronične infekcije jedan od najvećih epidemioloških problema kod bolesti prenosivih krpeljima jer takve životinje često ostaju neprepoznati rezervoari infekcije za populacije vektora (DOS SANTOS i sur., 2019.).

Dokaz hemotropne mikoplazme *Mycoplasma wenyonii* u jednom asimptomatskom konju predstavlja jedan od najzanimljivijih nalaza ovog istraživanja. Hemotropne mikoplazme u konja izuzetno su slabo istražene, a dostupni podaci iz Europe i svijeta su oskudni (DIECKMANN i sur., 2012.; KALANTARI i sur., 2020.; ALTAY i sur., 2024.; BALLADOS-GONZÁLEZ i sur., 2025.). Budući da se *M. wenyonii* najčešće povezuje s govedima, njezin nalaz u konja upućuje na mogućnost povremenog prijenosa između različitih vrsta domaćina. Takav nalaz podupire pretpostavku da konji možda nemaju strogo specifičnu vlastitu hemoplazmu, nego mogu povremeno steći infekciju vrstama koje primarno cirkuliraju u drugim domaćinima. Epidemiološki gledano, to otvara pitanje uloge zajedničkih pašnjaka, bliskog kontakta konja s preživačima i hematofagnih člankonožaca u prijenosu hemoplazmi.

Osim utvrđivanja prevalencije istraživanih uzročnika bolesti, u ovom istraživanju se analizirao i utjecaj čimbenika rizika koji mogu utjecati na primljivost životinja i prevalenciju uzročnika bolesti

u različitim županijama RH. Velika prednost ovog istraživanja je što su vlasnici, prilikom uzorkovanja krvi, popunjavali obrasce te su time dali sve podatke o dobi, spolu, namjeni, lokaciji, povijesti transporta, vremenu prisutnosti krpelja i hematofagnih insekata na konjima. Također su od strane veterinara koji je uzorkovao krv pruženi podaci o zdravstvenom stanju životinje. Ti podaci često nedostaju u ostalim istraživanjima ovog obima, a poznato je da dob, namjena konja, prisutnost drugih pašnih životinja, način držanja, pristup pašnjaku te posljedična izloženost životinje krpeljima igraju važnu ulogu u prijenosu bolesti (CAMINO i sur., 2021.; CABETE i sur., 2025.; NADAL i sur., 2025.).

Prosječna dob invadiranih konja ($n = 299$) u ovom istraživanju iznosila je 9,5 godina ($\pm 6,6$), a ona zdravih konja ($n = 536$) je bila 12 godina ($\pm 6,6$). U istraživanju GOTIĆ (2015.) asimptomatski konji u kojih je PCRom dokazan uzročnik piroplazmoze bili su starosti 6,3 ($\pm 4,1$) godine, a oni u kojima nije dokazan uzročnik bolesti bili su stari 8,9 ($\pm 5,2$) godina. U navedenom istraživanju prosječna dob invadiranih i konja u kojima nije dokazana invazija bili su nešto mlađi od onih uključenih u ovo istraživanje. Veća mogućnost invazije u konja iznad 5 godina je zabilježena i u Brazilu (FERNANDES i sur., 2025.). Nasuprot tome, neka istraživanja su ustanovila veću učestalost invazije u mladim konja, između 1-3 godine (FARKAS i sur., 2013.). Smatra se da su mlađi konji osjetljiviji na invaziju piroplazmama i ostalim istraživanim uzročnicima zbog još nedovoljno razvijenog imunološkog sustava. To se posebice odnosi na endemska područja. Poznato je da je ždrebad do oko devetog mjeseca starosti zaštićena majčinih protutijelima. Uskoro zatim razina protutijela u krvi počinje padati pa se zato smatra da su na endemskom području svi konji do druge godine već invadirani piroplazmama (WISE i sur., 2013.).

Utjecaj spola na invaziju piroplazmama nije do kraja razjašnjen. U ovom istraživanju, najviša prevalencija uzročnika piroplazmoze zabilježena je u pastuha (43,1 %), zatim u kobilama (39,4 %), dok je najniža zabilježena u kastrata (28,3 %). Nasuprot tome, u nekim istraživanjima najviše pozitivnih uzoraka pripadalo je kobilama (MORETTI i sur., 2010.; CABETE i sur., 2025.), a u drugima kastratima (QABLAN i sur., 2013.). Međutim, ponekad se čimbenik spola nije pokazao značajnim (BAHRAMI i sur., 2014.; DAO i sur., 2026.). Kao objašnjenje ovih razlika navodi se moguća povezanost između razine hormona i rezistencije prema parazitskim invazijama (ROBERTS i sur., 2001.). Neka istraživanja navode i moguće češće korištenje muških konja u konjičkom sportu pa time i imunosupresiju zbog stresa i napora (VIEIRA i sur., 2013.). Unatoč

tome, pažnju valja obratiti i na razlike u držanju konja ovisno o spolu. Kobile i kastrati uglavnom se drže zajedno i često dulje vrijeme borave na pašnjaku. S druge strane, pastusi se često drže u izolaciji s ograničenim vremenom izlaska na pašnjak pa su samim time manje izloženi vektorima (GÓRECKA-BRUZDA i AURICH, 2025.).

Poznato je da je RH zemlja čija klima omogućava razvoj i preživljavanje vektora različitih uzročnika bolesti. Unatoč tome, primjetan je manjak informacija o njihovoj rasprostranjenosti. To je važno jer interes za konjička natjecanja i uzgoj konja u RH raste iz godine u godinu. Sve je veći broj konjičkih klubova, udruga, rančeva te konjičkih natjecanja što rezultira povećanim kretanjem konja po teritoriju RH. Time posljedično raste i mogućnost prijenosa različitih patogena s jednog kraja RH na drugi.

Analiza čimbenika rizika pokazuje da se prevalencija piroplazmi ne može objasniti samo geografijom, nego ponajprije kombinacijom ekologije vektora, načina držanja i ponašanja životinja. Konji koji borave na pašnjaku, osobito tijekom duljeg dijela godine, imaju veću vjerojatnost kontakta s krpeljima. Izloženost vektorima uvelike ovisi o namjeni i držanju konja. Konj namijenjeni uzgoju drže se slobodno na pašnjaku većinu godine, ako ne i cijelu. Konji namijenjeni rekreaciji također uglavnom svakodnevno dio vremena provode na ispustima i pašnjacima. Time se povećava njihova izloženost vektorima i mogućnosti prijenosa bolesti. S druge strane, sportski konji su često držani u štalama s vrlo ograničenim vremenom koje provode na pašnjaku i u društvu drugih konja. Unatoč tome što se na taj način smanjuje rizik od ozljeda na pašnjaku, udaraca drugih konja pa i izloženosti vektorima, ta praksa sve više dovodi u pitanje njihovu dobrobit (PHELIPON i sur., 2024.). I u ovom istraživanju nekoliko konja nije imalo pristup pašnjaku i gotovo svi su bili pastusi.

Namjena konja također je važna jer je usko povezana s pasminom i načinom držanja. Hladnokrvni konji, često držani u ekstenzivnim uvjetima i korišteni za uzgoj, izloženi su drukčijem riziku od sportskih ili rekreativnih konja koji se češće premještaju, ali se ne moraju stalno nalaziti na pašnjaku. U tom smislu, različite skupine konja predstavljaju različite epidemiološke modele: jedni održavaju lokalni ciklus infekcije kroz stalnu izloženost vektorima, dok drugi mogu služiti kao pokretni rezervoari i prenositelji genotipova između regija.

Osim visoke prevalencije uzročnika piroplazmoze konja, sekvenciranjem odsječka 18S rRNA gena potvrđeni su genotipovi A, D i E te novi haplotip nazvan A1. Dobiveni rezultati potvrđuju

izrazito veliku genetsku raznolikost populacije *T. equi* u Hrvatskoj, osobito u usporedbi s većinom europskih istraživanja u kojima dominira jedan ili dva genotipa (NAGORE i sur., 2004.; QABLAN i sur., 2013.). Takva raznolikost vjerojatno je posljedica kombinacije više čimbenika, uključujući geografski položaj RH, prisutnost različitih vrsta kompetentnih vektora, klimatsku raznolikost te intenzivno premještanje konja između različitih regija i država.

Genotip E bio je dominantan u ovom istraživanju i činio je više od polovice svih sekvenciranih izolata. Zanimljivo je da je upravo genotip E ranije opisan u Hrvatskoj kao potencijalno specifičan ili barem izrazito proširen u jugoistočnoj Europi (GOTIĆ, 2015.; JURKOVIĆ, 2021.). Njegova široka rasprostranjenost u kontinentalnim i priobalnim područjima Hrvatske može upućivati na dugotrajnu stabilnu cirkulaciju unutar lokalnih populacija konja i krpelja. Budući da je isti genotip prethodno potvrđen u vrstama *D. reticulatus* i *D. marginatus* prikupljenim s konja u kontinentalnoj Hrvatskoj (JURKOVIĆ, 2021.), moguće je da upravo vrste roda *Dermacentor* imaju važnu ulogu u održavanju genotipa E na području kontinentalne Hrvatske.

S druge strane, genotip A bio je značajno češći u primorskoj Hrvatskoj. Takva raspodjela može biti povezana s ekološkim uvjetima pogodnima za vrste rodova *Rhipicephalus* i *Hyalomma*, koje prevladavaju u toplijim i sušim područjima mediteranske klime (ZAJAC i sur., 2020.; NADAL i sur., 2022.). Upravo su u priobalnim područjima dokazani svi utvrđeni genotipovi *T. equi* te *B. caballi*, što dodatno potvrđuje da primorska Hrvatska predstavlja područje najveće genetske raznolikosti uzročnika piroplazmoze konja.

Zanimljivo je da su pojedini konji invadirani genotipom A prethodno boravili ili bili kupljeni u priobalnim područjima Hrvatske. Iako se na temelju ovih podataka ne može sa sigurnošću dokazati put prijenosa, rezultati upućuju na mogućnost unošenja pojedinih genotipova premještanjem invadiranih konja iz endemskih područja u kontinentalni dio RH. Takvi nalazi imaju praktičnu važnost jer pokazuju da epidemiologija piroplazmoze konja nije određena isključivo lokalnom ekologijom vektora nego i antropogenim čimbenicima, prije svega transportom i prometom životinja.

Nadalje, unatoč tome što je genotip E prevladavao u populaciji ispitivanih konja, genotip A je bio najčešći u klinički oboljelih konja. I u istraživanju GOTIĆ (2015.) u konja latentno invadiranima *T. equi* genotipom A, dokazana je anemija, povišene vrijednosti jetrenih enzima s hipoalbuminijom dok u konja latentno invadiranima s *T. equi* genotipom E tih promjena nije

bilo. TIROSH – LEVY i sur. (2020b) zabilježili su pojavu težih kliničkih znakova u konja invadiranih genotipom *T. equi* A nego u konja invadiranih genotipovima C i D. Unatoč tome, treba naglasiti i da se većina kliničkih oboljelih konja nalazila u primorju, gdje je *T. equi* genotip A bio dominantan. Također, treba naglasiti da za razliku od istraživanja GOTIĆ (2015.) gdje su u klinički oboljelih konja zabilježena oba uzročnika piroplazmoze konja, ovdje je zabilježena samo *T. equi*.

Genotip D dokazan je znatno rjeđe u odnosu na genotipove E i A te je njegova rasprostranjenost bila ograničena na manji broj lokaliteta. Unatoč tome, njegov nalaz potvrđuje da u RH cirkulira više filogenetski različitih populacija vrste *T. equi*. Genotip D ranije je opisan u različitim europskim i mediteranskim državama, ali uglavnom s nižom prevalencijom u odnosu na dominantne genotipove A i E (QABLAN i sur., 2013.; TIROSH- LEVY i sur., 2020b; CAMINO i sur., 2021.). Njegova sporadična pojavnost u RH može upućivati na ograničeniju prilagođenost lokalnim vektorskim sustavima ili na rjeđi unos invadiranih konja iz drugih područja. Zanimljivo je da je genotip D dokazan pretežito u kontinentalnim i prijelaznim područjima RH, dok je u priobalju bio znatno rjeđi. Takva raspodjela mogla bi biti povezana s razlikama u sastavu populacija krpelja između kontinentalne i mediteranske Hrvatske. Kontinentalna područja karakterizira veća zastupljenost vrsta roda *Dermacentor*, dok u priobalju dominiraju vrste rodova *Rhipicephalus* i *Hyalomma*. Iako stvarna povezanost pojedinih genotipova *T. equi* s određenim vrstama krpelja još uvijek nije potpuno razjašnjena, sve je više dokaza da različiti vektorski sustavi mogu utjecati na regionalnu distribuciju pojedinih genotipova (NADAL i sur., 2022.). Također, moguće je da genotip D predstavlja stariju i stabilno prisutnu populaciju *T. equi* u kontinentalnom dijelu Hrvatske, dok su genotipovi A i pojedine novije varijante češće povezani s intenzivnijim prometom i premještanjem konja. Međutim, za potvrdu takvih pretpostavki potrebna su dodatna multilokusna filogenetska istraživanja na većem broju izolata te usporedba izolata iz konja i kompetentnih vektora.

Posebno je zanimljiv nalaz novog haplotipa A1 u Ličko-senjskoj i Splitsko-dalmatinskoj županiji. Oba područja karakterizira prisutnost ekstenzivnog držanja konja i velika izloženost krpeljima, ali istodobno predstavljaju i prijelaz između kontinentalne i mediteranske klimatske zone. Moguće je da upravo takva ekološka prijelazna područja pogoduju održavanju i nastanku genetski specifičnih varijanti *T. equi*. Iako se na temelju jednog gena i relativno malog broja izolata ne može govoriti

o zasebnom genotipu, nalaz haplotipa A1 ukazuje na postojanje lokalne genetske varijabilnosti koja do sada nije bila opisana.

Slična pojava lokalnih haplotipova i regionalnih genetskih varijanti opisana je i u drugim mediteranskim i endemskim područjima Europe, Azije i Južne Amerike (SALIM i sur., 2019.; CAMINO i sur., 2021.). Takvi rezultati potvrđuju da populacije *T. equi* pokazuju znatnu genetsku dinamiku te da njihova struktura može biti pod utjecajem geografskih barijera, klimatskih uvjeta, različitih vektorskih vrsta i intenziteta kretanja konja između regija.

Dobiveni rezultati također podupiru pretpostavku da genetska raznolikost *T. equi* u Hrvatskoj posljednjih godina raste. U usporedbi s ranijim istraživanjima provedenim u Hrvatskoj, sada su potvrđeni šira geografska distribucija pojedinih genotipova i veći broj genetskih varijanti. Takav trend može biti posljedica povećanog prometa konja unutar Europe, ali i klimatskih promjena koje omogućuju širenje vektora i dulju sezonsku aktivnost krpelja (ONYICHE i sur., 2019.). Upravo zbog toga buduća istraživanja trebala bi uključivati multilokusne filogenetske analize, sekvenciranje dodatnih gena poput EMA-1 i RAP-1 te usporedbu izolata iz konja i krpelja kako bi se preciznije razjasnila epidemiološka povezanost pojedinih genotipova i njihovih potencijalnih vektora.

Jedan od važnih dijelova ovog istraživanja bila je analiza hematofagnih ektoparazita. U obadima, konjskim kožnaticama i muhi *S. calcitrans* nije dokazana DNK istraživanih patogena. Ovaj rezultat ne potvrđuje njihovu ulogu u prijenosu piroplazmi, anaplazmi ili hemotropnih mikoplazmi u istraživanoj populaciji. Međutim, zbog biologije mehaničkog prijenosa, negativan nalaz treba interpretirati oprezno. Mehanički prijenos ne zahtijeva razvoj uzročnika u vektoru i može biti kratkotrajan događaj povezan s nedavnim prekidom hranjenja na invadiranoj životinji. Zbog toga je vjerojatnost detekcije DNK patogena u takvim insektima manja nego u biološkim vektorima poput krpelja (SCOLES, 2015.).

Za razliku od hematofagnih insekata, u krpeljima je dokazana DNK piroplazmi u značajnom udjelu testiranih jedinki. DNK *B. caballi* dokazana je u vrstama *D. marginatus* i *D. reticulatus*, dok je DNK *T. equi* dokazana u *D. reticulatus*, *R. bursa*, *R. turanicus* i *H. marginatum*. Ovi nalazi dobro se uklapaju u poznatu biologiju vektora piroplazmoze konja. Osobito su važni nalazi u *D. reticulatus* i *R. bursa*, vrstama za koje je ranije dokazana ili snažno pretpostavljena vektorska kompetencija. Ipak, sama prisutnost DNK uzročnika u krpelju ne dokazuje vektorsku

kompetenciju. Ona potvrđuje izloženost krpelja uzročniku i moguću epidemiološku povezanost, ali za dokaz prijenosa potrebna su dodatna istraživanja, uključujući analizu razvojnih stadija, slinskih žlijezda i eksperimentalne modele prijenosa (MARKOV i sur., 1940.; NOSEK, 1972.; GARCÍA-SANMARTÍN i sur., 2008.; JONGEJAN i sur., 2015.; SPRONG i sur., 2019.).

Posebno je značajan nalaz *T. equi* u *Hyalomma marginatum*. Ova vrsta povezana je s toplijim i sušim staništima te se smatra jednim od indikatora klimatski uvjetovanih promjena u distribuciji krpelja (ABEDI i sur., 2014.). Njezin nalaz u kontekstu piroplazmoze konja u Hrvatskoj važan je jer povezuje mediteranski klimatski prostor, dulju sezonsku aktivnost vektora i mogućnost održavanja piroplazmi u priobalnim područjima. Buduća istraživanja trebala bi posebnu pozornost posvetiti upravo području jadranske obale i zaleđa, gdje klimatski uvjeti pogoduju vrstama rodova *Hyalomma* i *Rhipicephalus*.

U ovom istraživanju na pojedinim lokacijama patogeni su dokazani i u krvi konja i u krpeljima. Takvi nalazi daju najjaču terensku potporu pretpostavci lokalne cirkulacije uzročnika. Ipak, interpretacija mora ostati oprezna jer nije uvijek moguće dokazati da se pozitivan krpelj prethodno hranio upravo na pozitivnom konju ili da je bio sposoban prenijeti infekciju. Međutim, podudarnost nalaza u konjima i krpeljima na istim područjima pokazuje da se u pojedinim lokalitetima stvaraju uvjeti za održavanje stabilnih mikrožarišta piroplazmoze.

Ovo istraživanje ima nekoliko ograničenja. Uzorkovanje nije bilo potpuno ravnomjerno po županijama, a broj konja u pojedinim područjima bio je relativno malen, što otežava usporedbu prevalencije među županijama. Nadalje, za dio životinja anamnestički podaci ovise o informacijama vlasnika, što može utjecati na preciznost procjene čimbenika rizika. Molekularna detekcija DNK patogena u krpeljima ne dokazuje nužno aktivnu vektorsku kompetenciju, nego samo prisutnost uzročnika u analiziranom uzorku. Također, istraživanje je provedeno metodama usmjerenima na odabrane gene, pa nije moguće isključiti prisutnost drugih uzročnika ili genetskih varijanti koje nisu bile obuhvaćene korištenim protokolima.

Unatoč tim ograničenjima, rezultati imaju jasnu znanstvenu i praktičnu vrijednost. Prvi put je na razini cijele Hrvatske dobivena cjelovita molekularna slika piroplazmi, anaplazmi i hemotropnih mikoplazmi u konja, uz istodobnu analizu hematofagnih ektoparazita. Dobiveni podaci mogu poslužiti kao temelj za izradu preporuka o testiranju konja prije premještanja, osobito iz područja visoke prevalencije u područja niže prevalencije. Također, rezultati upućuju na potrebu sustavnog

praćenja krpelja na konjima i njihovim staništima, osobito u područjima s ekstenzivnim držanjem konja i u mediteranskim regijama.

U budućim istraživanjima potrebno je proširiti molekularnu karakterizaciju uzročnika na dodatne genetske markere, osobito za *T. equi*, kako bi se preciznije razjasnila filogenetska struktura i potencijalne razlike među genotipovima. Serološka istraživanja mogla bi nadopuniti molekularne nalaze i omogućiti bolju procjenu izloženosti konja, dok bi longitudinalna istraživanja omogućila praćenje sezonske dinamike infekcija i povezanosti s aktivnošću pojedinih vrsta vektora. Posebno važna bit će integracija veterinarskih, ekoloških i klimatskih podataka unutar pristupa “Jednog zdravlja”, jer klimatske promjene, promjene u načinu držanja životinja i širenje vektora vjerojatno već sada mijenjaju epidemiologiju bolesti prenosivih krpeljima u Hrvatskoj i širem području jugoistočne Europe.

Ukupno gledano, rezultati ovog istraživanja potvrđuju početnu hipotezu da su vektorima prenosivi uzročnici bolesti konja u Hrvatskoj široko prošireni i genetski raznoliki. Hipoteza je osobito jasno potvrđena za piroplazme, dok je za *A. phagocytophilum* i hemotropne mikoplazme potvrđena prisutnost, ali ne i visoka učestalost. Isto tako, istraživanje potvrđuje važnost krpelja kao glavnih vektora, dok uloga hematofagnih insekata nije potvrđena. Time je dobivena realnija slika epidemiologije ovih uzročnika: piroplazmoza konja predstavlja endemski i kliničko-ekonomski najvažniji problem, anaplazmoza je prisutna u niskoj učestalosti, a hemoplazme su rijetke, ali znanstveno vrlo značajne zbog slabo poznate epidemiologije i mogućeg prijenosa između vrsta.

7. ZAKLJUČCI

1. Analizom nukleotidnih sljedova odsječaka 18S rRNA u populaciji konja u RH utvrđena je visoka prevalencija uzročnika piroplazmoze, osobito u Sisačko-moslavačkoj, Dubrovačko-neretvanskoj i Ličko-senjskoj županiji, što ukazuje na vjerojatnu enzootsku cirkulaciju bolesti u tim područjima. Takva distribucija može se povezati s povoljnim klimatskim uvjetima za razvoj vektora te načinom držanja konja.
2. Dokazana su četiri genotipa *T. equi* te parazit *B. caballi*, čime je utvrđena veća genetska raznolikost u odnosu na ranija istraživanja. Takva raznolikost može se povezati s povećanim kretanjem i transportom konja, kao i s promjenama klimatskih uvjeta koji pogoduju opstanku i širenju vektora. Istraživanjem je dokazan trend širenja piroplazmoze konja na području RH,
3. Dokaz *M. wenyonii* kod konja u ovom istraživanju pruža dodatne dokaze koji podupiru hipotezu da kopitari ne posjeduju vlastite vrste hemoplazme specifične za domaćina, već ponekad mogu steći invazije od drugih domaćina.
4. Izostanak nalaza DNK istraživanih uzročnika u vrstama *Haematopota grandis*, *H. italica*, *H. pluvialis*, *Philipomyia graeca*, *Tabanus bromius*, *T. exclusus* i *T. sudeticus*, konjskih kožnatice (*Hippobosca equina*) te muha vrste *S. calcitrans* upućuje na to da njihova uloga u širenju navedenih uzročnika u ovom istraživanju nije potvrđena.
5. Dokaz DNK parazita *B. caballi* u vrsta *D. marginatus* i *D. reticulatus*, te DNK *T. equi* u vrstama *D. reticulatus*, *R. bursa*, *R. turanicus* i *H. marginatum* upućuje na njihovu potencijalnu važnu ulogu u prijenosu ovih uzročnika na području Republike Hrvatske.

Istraživanje je doprinijelo poznavanju vektorima prenosivih bolesti konja te njihovih hematofagnih ekto parazita, njihove proširenosti, učestalosti i genotipizaciji na području Republike Hrvatske.

8. POPIS LITERATURE

AARDEMA, M. L. (2023): Genomic analyses indicate the North American Ap-ha variant of the tick-vector-borne bacterium *Anaplasma phagocytophilum* was introduced from Europe. *Parasit. Vectors*. 16, 301. <https://doi.org/10.1186/s13071-023-05914-x>

ABDULLAH, H. H., D. ABOELSOUED, T. K. FARAG, S. TABDEL-SHAFY, K. N. A. MEGEED, P. PAROLA, P. O. MEDIANNIKOV (2022): Molecular characterization of some equine vector-borne diseases and associated arthropods in Egypt. *Acta Trop.* 227, 274. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2021.106274>

ABEDI V., G. RAZMI, H. SEIFI, A. NAGHIBI (2014): Molecular and serological detection of *Theileria equi* and *Babesia caballi* infection in horses and ixodid ticks in Iran. *Ticks Tick Borne Dis.* 5, 239–44. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2013.11.008>

ADL, S. M., A. G. SIMPSON, C. E. LANE, J. LUKEŠ, D. BASS, S. S. BOWSER, S. S., F. W. SPIEGEL (2012): The revised classification of eukaryotes. *J. Eukaryot. Microbiol.* 59, 429-514. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.2012.00644>.

AGRINSKI, N. (1938): On ticks as transmitters of the horse-nuttalliosis in Middle Asia. *Acta Univ. Asiae Med.* 31, 1–9.

AIDA, H., J. H. FOREMAN, A. OCHI, Y. TAKIZAWA, T. YAMANAKA (2023): A case of equine piroplasmiasis in the Tokyo 2020 Olympic Games. *J. Equine Sci.* 34, 93-99. <https://doi.org/10.1294/jes.32.93>

AKIMOV, I. A., I. V. NEBOGATKIN (2013): Ticks of the Genus (Acari, Ixodidae) and Their Distribution in Ukraine. *Vest. Zoologii.* 47, 231-237. <https://doi.org/10.2478/vzoo-2013-0022>

AKTAS, M., S. OZUBEK (2017): A molecular survey of small ruminant hemotropic mycoplasmosis in Turkey, including first laboratory confirmed clinical cases caused by *Mycoplasma ovis*. *Vet. Microbiol.* 208, 217–222. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.08.011>

ALANI, A. N., A. A. YOUSIF (2023a): Detection of *Theileria equi* in Baghdad racing horses using hematological and molecular assay. *Iraqi J. Vet. Sci.* 47, 52-59. <https://doi.org/10.30539/ijvm.v47i1.1501>

ALANI, A. N., A. A. YOUSIF (2023b): Phylogenetic identification of *Anaplasma phagocytophilum* in horses in Baghdad, Iraq. *J. Anim. Feed. Res.* 13, 162-170. DOI: <https://dx.doi.org/10.51227/ojafir.2023.25>

ALEMAN, M., U. VEDAVALLY, N. PUSTERLA, F. WENSLEY, E. BERRYHILL, J. E. MADIGAN (2024): Common and atypical presentations of *Anaplasma phagocytophilum* infection in equids with emphasis on neurologic and muscle disease. *J. Vet. Intern. Med.* 38, 440-448. <https://doi.org/10.1111/jvim.16964>

ALI, S., C. M. SUGIMOTO, M. ONUMA (1996): Equine piroplasmosis. *J. Equine Sci.* 7, 67-77.

ALIMAM, H. M., Q. T. AL-OBAIDI, B. A. ALBADRANI (2025): Molecular and phylogenetic analysis of *Anaplasma phagocytophilum* in equids in Mosul city, Iraq. *Iraqi J. Vet. Sci.* 39, 225-231. <https://doi.org/10.33899/ijvs.2025.156517.4082>

ALLSOPP, M. T. E. P., T. CAVALIER-SMITH, D. T. DE WAAL, B. A. ALLSOPP (1994): Phylogeny and evolution of the piroplasms. *Parasitol.* 6, 147-152. <https://doi.org/10.1017/S0031182000068232>

ALLSOPP, M., B. D. LEWIS, B. L. PENZHORN (2007): Molecular evidence for transplacental transmission of *Theileria equi* from carrier mares to their apparently healthy foals. *Vet. Parasitol.* 148, 130–6. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.05.017>

ALTAY, K., U. EROL, O. F. SAHIN, M. C. ULUCESME, A. AYTAMIRZAKIZI, M. AKTAS (2024): Survey of tick-borne pathogens in grazing horses in Kyrgyzstan: Phylogenetic analysis, genetic diversity, and prevalence of *Theileria equi*. *Front. Vet. Sci.* 11, 135-138. <https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1359974>

ANDRÉ, M. R. (2018). Diversity of *Anaplasma* and *Ehrlichia/Neoehrlichia* agents in terrestrial wild carnivores worldwide: implications for human and domestic animal health and wildlife conservation. *Front. Vet. Sci.* 5, 293. <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00293>

ANDREANI, A., P. SACCHETTI, A. BELCARI (2020): Evolutionary adaptations in four hippoboscid fly species belonging to three different subfamilies. *Med. Vet. Entomol.* 3, 344-363. <https://doi.org/10.1111/mve.12448>

ARENDR, M., J. STADLER, M. RITZMANN, J. ADE, K. HOELZLE, L. E. HOELZLE (2024): Hemotrophic Mycoplasmas—Vector Transmission in Livestock. *Microorg.* 12, 128-134. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12071278>

ASQUITH, M., S. PRIOR, A. BRÜNING-RICHARDSON (2025): Human Babesiosis: The Past, Present, and Future. *Expert Rev. Mol. Med.* 1-39. doi:10.1017/erm.2025.10016

AUBRY, P., D. W. GEALE (2011): A review of bovine anaplasmosis. *Transbound. Emerg. Dis.* 58, 1-30. <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2010.01173.x>

AYALA-VALDOVINOS M. A, C. LEMUS-FLORES, J. GALINDO-GARCÍA, J. BAÑUELOS-PINEDA, J. G. RODRÍGUEZ-CARPENA, D. SÁNCHEZ-CHIPRÉS, T. DUIFHUIS-RIVERA (2017): Diagnosis and prevalence of *Theileria equi* horses in western Mexico by nested PCR. *Parasitol. Int.* 66, 821–824. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2016.09.011>

AZIZ, K. J., L. T. O. AL-BARWARY (2020): Molecular identification of *Theileria equi* and *Babesia caballi* from ixodid ticks infesting equids in Erbil province, northern of Iraq. *Adv. Anim. Vet. Sci.* 8, 1286-1293. <http://dx.doi.org/10.17582/journal.aavs/2020/8.12.1286.1293>

AZIZ, K. J., L. T. O. A. BARWARY, N. A. ISSA, M. J. ABDULWAHID (2025): Prevalence of *Theileria Equi* and *Babesia Caballi* and Associated Hemato-Biochemical Changes in Racing Horses in Erbil Province, Iraq. *Acta Parasitol.* 1, 38. <https://doi.org/10.1007/s11686-024-00987-9>

BADAWI, N. M., Z. S. HUSSEIN, M. M. QASIM, T. Y. AL-BADRAWI, S. S. ALAMMI (2023): Molecular detection and phylogenetic analysis of *Babesia caballi* in domestic donkeys (*Equus asinus*) in Baghdad Zoo, Iraq. *Iraqi J. Vet. Sci.* 37, 135-140. <https://doi.org/10.33899/ijvs.2024.150667.3729>

BAHRAMI, S., A. R. GHADRAN, B. M. POURMAHDI, S. M. VAFAYI (2014): Epidemiology of *Theileria equi* in Persian Arab horses from Iran. *Vet. Med.* 59, 409–414.

BAJER, A., A. BECK, R. BECK, J. M. BEHNKE, D. DWUŹNIK-SZAREK, R. M. EICHENBERGER, J. WALOCHNIK (2022): Babesiosis in Southeastern, Central and Northeastern Europe: an emerging and re-emerging tick-borne disease of humans and animals. *Microorg.* 10, 945-948. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10050945>

BALDACCHINO, F., V. MUENWORN, M. DESQUESNES, F. DESOLI, T. CHAROENVIRIYAPHAP, G. DUVALLET (2013): Transmission of pathogens by Stomoxys flies (Diptera, Muscidae): a review. *Parasit.* 20, 26. <https://doi.org/10.1051/parasite/2013026>

BALDACCHINO, F., M. DESQUESNES, S. MIHOK, L. D. FOIL, G. DUVALLET, G., S. JITTAPALAPONG (2014): Tabanids: neglected subjects of research, but important vectors of disease agents. *Infect. Genet. Evol.* 28, 596-615. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2014.03.029>

BALLADOS-GONZÁLEZ, G. G., A. CRUZ-ROMERO, J. M. MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, M. AGUILAR-DOMINGUEZ, R. F. C. VIEIRA, E. GROSTIETA, I. BECKER, S. SÁNCHEZ-MONTES, S. (2025): Confirmation of the presence of Hemotropic Mycoplasma species in working equids from Veracruz, Mexico. *Trop. Anim. Health Prod.* 57, 225. <https://doi.org/10.1007/s11250-025-04465-w>

BARLOUGH, J. E., Y. RIKIHISA, J. E. MADIGAN (1997): Nested polymerase chain reaction for detection of Ehrlichia risticii genomic DNA in infected horses. *Vet. Parasitol.* 4. 367-373. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(96\)01083-7](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(96)01083-7)

BARRADAS, P. F., J. MARQUES, C. TAVARES, N. V. BRITO, J. R. MESQUITA (2024): Detection of tick-borne pathogens in Rhipicephalus bursa ticks collected from the autochthonous Garrano breed of horses in Portugal. *Vet. Parasitol. Reg. Stud. Rep.* 51, 101-133. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2024.101033>

BARTOLOMÉ DEL PINO, L. E., A. MEANA, M. ZINI, A. CERSINI (2023): Evidence of transplacental transmission of equine piroplasms Theileria equi and Babesia caballi in an Italian breed mare. *Folia Parasitol.* 70, 71 -78. <http://dx.doi.org/10.14411/fp.2023.005>

BASTOS, R. G., K. P. SEARS, K. D. DINKEL, L. KAPPEMEYER, M. W. UETI, D. P. KNOWLES, D. P., L. M. FRY (2021): Development of an indirect ELISA to detect equine antibodies to Theileria haneyi. *Pathogens.* 3, 270. <https://doi.org/10.3390/pathogens10030270>

BATTSETSEG B, X. XUAN, H. IKADAI, J. AUTISTA, B. BYAMBAA B (2001): Detection of Babesia caballi and Babesia equi in Dermacentor nuttalli adult ticks. *Int. J. Parasitol.* 31, 384–86. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(01\)00120-5](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(01)00120-5)

- BATTSETSEG B, S. LUCERO , X. XUAN, F. CLAVERI, B. BYAMBAA B, B. BATTUR, D. BOLDBAATAR, Z. BATSUKH, T. KHALIUNAA, G. BATTSETSEG, I. IGARASHI, H. NAGASAWA, K. FUJISAKI (2002): Detection of equine Babesia spp. gene fragments in Dermacentor nuttalli Olenev 1929 infesting Mongolian horses, and their amplification in egg and larval progenies. J. Vet. Med. Sci. 64,727–30. <https://doi.org/10.1292/jvms.64.727>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2008.12.005>
- BECK R, B. HABRUN, S. BOSNIĆ, M. BENIĆ, T. NEMETH-BLAŽIĆ, S. BARIŠIN (2010): Identification of pathogens in Ixodes ricinus and Dermacentor reticulatus from public gardens in Zagreb, Croatia. 12th International Conference on Lyme Borreliosis and Other Tick-Borne Diseases (6–29 November 2010) Ljubljana. Book of abstracts. (95).
- BECK, R., V. Č. ČURIK, R. IVANA, Š. NIKICA, V. ANJA (2014): Identification of 'Candidatus Neoehrlichia mikurensis' and Anaplasma species in wildlife from Croatia. Parasit. Vectors. 7, 28. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-S1-O28>
- BECK, R., S. BOSNIĆ, R. BREZAK, T. ŠARIĆ, A. KOSTELIĆ, I. LOHMAN JANKOVIĆ (2016): Krpelji Dalmacije i njihov vektorski potencijal. 6. Hrvatski Veterinarski Kongres s međunarodnim sudjelovanjem. (26. do 29. listopada 2016) Zbornik sažetaka. (299-304).
- BELITZER, A. (1925): The epizootics and prophylaxis of equine piroplasmosis due to B. caballi Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. 94, 51–56.
- BHOORA, R., L. FRANSEN, M. C. OOSTHUIZEN, A. J. GUTHRIE, E. ZWEYGARTH, B. L. PENZHORN, N. E. COLLINS (2009): Sequence heterogeneity in the 18S rRNA gene within Theileria equi and Babesia caballi from horses in South Africa. Vet. Parasitol. 2, 112-120. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.10.004>
- BHOORA, R, M. QUAN, L. FRANSEN, C. M. BUTLER, J. H. VAN DER KOLK, A. J. GUTHRIE (2010a): Development and evaluation of real-time PCR assays for the quantitative detection of Babesia caballi and Theileria equi infections in horses from South Africa. Vet Parasitol. 168, 201–211. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.11.011>

BHOORA, R., M. QUAN, E. ZWEYGARTH, A. J. GUTHRIE, S.A. PRINSLOO, N.E. COLLINS (2010b): Sequence heterogeneity in the gene encoding the rhoptry-associated protein-1 (RAP-1) of *Babesia caballi* isolates from South Africa. *Vet. Parasitol.* 3, 279-288. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.01.009>

BHOORA, R. V., K. P. SIBEKO-MATJILA, N. P. NKOSI, A. VENTER (2024): The molecular genotyping of *Babesia caballi*. *Vet. Parasitol.* 329, 110 -118. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2024.110214>

BHOORA, R., T. V. MBABA, M. TROSKIE, R. E. ACKERMANN, N. E. COLLINS (2025): Quantitative detection of *Theileria haneyi* in South African horses. *Ticks Tick Borne Dis.* 3, 102-108. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2025.102487>

BIRTLES, R. J., M. HOLDING (2025): Vector-borne Infections in Deer—Threat to Deer Health and Role of Deer in Transmission of Diseases of Veterinary and Medical Importance. *Deer Vet. Med.* 6, 359-370. <https://doi.org/10.1002/9781394221370.ch29>

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, 134-138. <https://doi.org/10.1073/pnas.91.21.10034>

BLOUIN, E.F., D. T. DE WAAL (1989): The Fine Structure of Developmental Stages of *Babesia caballi* in the Salivary Glands of *Hyalomma truncatum*. *J. Vet. Res.* 56, 189–193.

BOGDAN, A. M., I. L. MITREA, M. IONITA (2024): Equine granulocytic anaplasmosis: a systematic review and meta-analysis on clinico-pathological findings, diagnosis, and therapeutic management. *Vet. Sci.* 6, 269. <https://doi.org/10.3390/vetsci11060269>

BONI, M., J. M. ROLAIN, C. PORTELLI, J. M. MARIÉ, B. DAVOUST, P. BROUQUI (2009): Isolated fever in horses: a new case of equine anaplasmosis in France. *Clin. Microbiol. Infect.* 15, 64-65. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2008.02181>.

BONNET, S., J. DE LA FUENTE, P. NICOLLET, X. LIU, N. MADANI, B. BLANCHARD, G. JONCOUR (2013): Prevalence of tick-borne pathogens in adult *Dermacentor* spp. ticks from nine collection sites in France. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 4, 226-236. <https://doi.org/10.1089/vbz.2011.0933>

BOUCHEIKHCHOUKH, M., M. LAROCHE, A. AOUADI, L. DIB, A. BENAKHLA, D. RAOULT, P. PAROLA, M. S. MALDI-TOF (2018): Identification of ticks of domestic and wild animals in Algeria and molecular detection of associated microorganisms. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 57, 39–49. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2018.05.002>

BRAGA, M. D. S., C. D. O. COSTA, F. N. GOMES, D. R. M. XAVIER, D. R. ANDRÉ, M. R. GONÇALVES, L. R., R. Z. MACHADO (2017): Genetic diversity of piroplasmids species in equids from island of São Luís, northeastern Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 3, 331-339. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612017046>

BRÜNING, A. (1996): Equine piroplasmosis an update on diagnosis, treatment and prevention. *Br. Vet. J.* 152, 139–151. [https://doi.org/10.1016/S0007-1935\(96\)80070-4](https://doi.org/10.1016/S0007-1935(96)80070-4)

BUDNIK, V. S. (1941): Prolonged maintenance and transovarial transmission of *Piroplasma caballi* by *Dermacentor silvarum*. *Veterinari.* 20, 15.

BUDNIK, V. S. (1955): New Data on the Mechanism of Transmission of the causal Agent of Nuttalliasis of Horses by the Tick *Dermacentor marginatus*. *Sulz.Veterinari.* 4, 36-43.

BUTLER, J. F., W. J. KLOFT, L. A. DUBOSE, E. S. KLOFT (1977): Recontamination of food after feeding a 32P food source to biting Muscidae. *J. Med. Entomol.* 13, 567-571. <https://doi.org/10.1093/jmedent/13.4-5.567>

BUTLER, C. M., A. M. NIJHOF, J. H. VAN DER KOLK, O. B. DE HASETH, A. TAOUFIK, F. JONGEJAN, D. J. HOUWERS (2008a): Repeated high dose imidocarb dipropionate treatment did not eliminate *Babesia caballi* from naturally infected horses as determined by PCR-reverse line blot hybridization. *Vet. Parasitol.* 151, 320-322. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.11.010>

BUTLER, C. M., A. M. NIJHOF, F. JONGEJAN, J. H. VAN DER KOLK (2008b): *Anaplasma phagocytophilum* infection in horses in the Netherlands. *Vet. Rec.* 7, 216-217. <https://doi.org/10.1136/vr.162.7.216>

CABETE, A., A. XUFRE, L. PADRE, E. BETTENCOURT, T. NUNES, J. GOMES (2025): Occurrence and risk factors of equine piroplasmosis in Portugal: A five-year retrospective study. *Vet. Parasitol.* 334, 110-115. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2024.110378>

CAMACHO, A. T., F. J. GUITIAN, E. PALLAS, J. J. GESTAL, A. S. OLMEDA, M. A. HABELA, A. SPIELMAN (2005): *Theileria* (*Babesia*) *equi* and *Babesia caballi* infections in horses in Galicia, Spain. *Trop. Anim. Health Prod.* 4, 293-302. <https://doi.org/10.1007/s11250-005-5691-z>

CAMINO, E., A. DORREGO, K. A. CARVAJAL, A. BUENDIA-ANDRES, L. DE JUAN, L., L. DOMINGUEZ, F. CRUZ-LOPEZ (2019): Serological, molecular and hematological diagnosis in horses with clinical suspicion of equine piroplasmiasis: Pooling strengths. *Vet. Parasitol.* 275, 108-119. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2019.108928>

CAMINO, E., F. CRUZ-LOPEZ, L. DE JUAN, L. DOMINGUEZ, B. SHIELS, R. M. COULTOUS (2020): Phylogenetic analysis and geographical distribution of *Theileria equi* and *Babesia caballi* sequences from horses residing in Spain. *Ticks Tick Borne Dis.* 6, 101-112. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.108918>

CAMINO, E., A. BUENDIA, A. DORREGO, P. POZO, L. DE JUAN, L. DOMINGUEZ, F. CRUZ-LOPEZ (2021): Sero-molecular survey and risk factors of equine piroplasmiasis in horses in Spain. *Equine Vet. J.* 4, 771-779. <https://doi.org/10.1111/evj.13348>Digital Object Identifier (DOI)

CARPANO, M. (1914): Piroplasmiasis equina. *Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg.* 73, 13-40.

CAUDILL, M. T., K. A. BRAYTON (2022): The use and limitations of the 16S rRNA sequence for species classification of *Anaplasma* samples. *Microorg.* 3, 605. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10030605>

CELINA, S. S., J. ČERNÝ (2025): *Hyalomma marginatum* in Europe: The Past, Current Status, and Future CHALLENGES—A Systematic Review. *Transbound. Emerg. Dis.* 1, 170-177. <https://doi.org/10.1155/tbed/7771431>

CHANGBUNJONG, T., S. SUNGPRADIT, O. KANTHASAEWEE, P. SEDWISAI, S. TANGSUDJAI, J. RUANGSITTICHAJ (2016): Molecular detection of *Theileria* and *Babesia* in a diversity of stomoxyni flies (Diptera: Muscidae) from Khao Yai National Park, Thailand. *Thai J. Vet. Med.* 2, 227-234. <https://doi.org/10.56808/2985-1130.2730>

- CHASTAGNER, A., T. DUGAT, G. OURC'H, H. VERHEYDEN, L. LEGRAND, V. BACHY, A. LEBLOND (2014): Multilocus sequence analysis of *Anaplasma phagocytophilum* reveals three distinct lineages with different host ranges in clinically ill French cattle. *Vet. Res.* 1, 114. <https://doi.org/10.1186/s13567-014-0114-7>
- CHATANGA, E., B. AHEDOR, B. TABEK, H. KAINGA, T. KAPALAMULA, T. RAZEMBA, N. YOKOYAMA (2025): An epidemiological survey of equine piroplasmiasis in donkeys and horses in Malawi. *Vet. Parasitol. Reg. Stud. Rep.* 4, 101-112. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2025.101315>
- CHEN, K., Z. HU, G. YANG, W. GUO, T. QI, D. LIU, X. WANG (2022): Development of a duplex real-time PCR assay for simultaneous detection and differentiation of *Theileria equi* and *Babesia caballi*. *Transbound. Emerg. Dis.* 5, 1338-1349. <https://doi.org/10.1111/tbed.14464>
- CHHABRA, S, R. RANJAN, S. K. UPPAL, D. SINGLA (2012): Transplacental transmission of *Babesia equi* (*Theileria equi*) from carrier mares to foals. *J. Parasit. Dis.* 36, 31–33. <https://doi.org/10.1007/s12639-011-0072-1>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.05.013>
- CHVÁLA, M., L. LYNEBORG, J. MOUCHA (1972): The Horse-flies of Europe (Diptera, Tabanidae), 1st ed., Entomological Society of Copenhagen. Copenhagen.
- COOK, D. F., D. V. TELFER, J. B. LINDSEY, R.A. DEYL (2018): Substrates across horticultural and livestock industries that support the development of stable fly, *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae). *Austral. Entomol.* 57, 344–348. <https://doi.org/10.1111/aen.12282>
- CORTÉS, M. M., J. L. FERNANDEZ-GARCIA, M. H. MARTÍNEZ-ESTÉLLEZ (2019): A multinested PCR for detection of the equine piroplasmids *Babesia caballi* and *Theileria equi*. *Ticks Tick-Borne Dis.* 2, 305-313. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.11.008>
- CORTINAS, R., C. J. JONES (2006): Ectoparasites of cattle and small ruminants. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, 22, 673–693. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2006.06.003>

COSTA, S. C. L., J. DE SOUZA FREITAS, F. S. CARVALHO, M. J. S. PEREIRA, M. D. CORDEIRO, A. H. DA FONSECA, M. M. G. JUSI, R. ZACARIAS MACHADO, A. D. MUNHOZ (2021): Frequency and factors associated of potential zoonotic pathogens (*Borrelia* spp., *Rickettsia* spp., *Leishmania* spp., and *Anaplasma phagocytophilum*) in equids in the state of Bahia, Brazil. *Parasit. Vectors.* 1, 275. <https://doi.org/10.1186/s13071-021-04777-4>

COULTOUS, R. M., P. PHIPPS, C. DALLEY, J. LEWIS, T. A. HAMMOND, B. SHIELS, D. G. SUTTON, D. G. (2019): Equine piroplasmosis status in the UK: an assessment of laboratory diagnostic submissions and techniques. *Vet. Rec.* 3, 95-95. <https://doi.org/10.1136/vr.104855>

COULTOUS, R., J. GOTIĆ, M. MCCANN, D. SUTTON, R. BECK, B. SHIELS (2022): Novel equi merozoite antigen (EMA-1) gene heterogeneity in a geographically isolated *Theileria equi* population in Croatia. *Parasit. Vectors.* 15, 41-44. <https://doi.org/10.1186/s13071-022-05484-4>

CUNZE, S., G. GLOCK, J. KOCHMANN, S. KLIMPEL (2022): Ticks on the move—climate change-induced range shifts of three tick species in Europe: current and future habitat suitability for *Ixodes ricinus* in comparison with *Dermacentor reticulatus* and *Dermacentor marginatus*. *Parasitol. Res.* 121, 241-252. <https://doi.org/10.1007/s00436-022-07556-x>

DAHMANA, H., N. AMANZOUAGHENE, B. DAVOUST, B. NORMAND, O. CARETTE, J. P. DEMONCHEAUX, P. SCANDOLA, M. CHIKO, P. MEDIANNIKOV (2019): Great diversity of Piroplasmida in Equidae in Africa and Europe, including potential new species. *Vet. Parasitol. Reg. Stud. Rep.* 18, 100-133. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2019.100332>

DAHMANI, M., B. DAVOUST, F. ROUSSEAU, D. RAOULT, F. FENOLLAR, O. MEDIANNIKOV (2017): Natural Anaplasmataceae infection in *Rhipicephalus bursa* ticks collected from sheep in the French Basque Country. *Ticks Tick Borne Dis.* 8, 18-24. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2016.09.009>

DANTAS-TORRES, F., L. C. DE SOUSA-PAULA, D. OTRANTO, D. (2024): The *Rhipicephalus sanguineus* group: updated list of species, geographical distribution, and vector competence. *Parasit. Vectors.* 17, 540. <https://doi.org/10.1186/s13071-024-06572-3>

DAO, T. T. H., T. SZŰTS, N. N. DUONG, D. T. TROUNG, Q. SOLYMOSI, N. TAKÁCS, R. FARKAS, (2026): The first molecular detection of equine piroplasmosis in Vietnam and genetic

characterization of three co-circulating genotypes of *Theileria equi*. *Parasitol. Res.* 125, 14. <https://doi.org/10.1007/s00436-026-08630-4>

DARLING, S. T. (1913): Equine piroplasmiasis in Panama. *J. Infect. Dis.* 13, 197–202.

DAVITKOV, D., M. VUCICEVIC, J. STEVANOVIC, V. KRSTIC, D. SLIJEPCEVIC, D., 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. <https://doi.org/10.1515/ap-2016-0044>

DECASTELLO, A., R. FARKAS (2010): Anaphylactic reaction following forest fly (*Hippobosca equina*) bite: A human case. *Clin. Exp. Med. J.* 4, 193-198. <https://doi.org/10.1556/CEMED.4.2010.1.19>

DE LA FUENTE, J., A. LEW, H. LUTZ, M. L. MELI, R. HOFMANN-LEHMANN, V. SHKAP, K. M. KOCAN (2005): Genetic diversity of *Anaplasma* species major surface proteins and implications for anaplasmosis serodiagnosis and vaccine development. *Anim. Health Res. Rev.* 6, 75-89. <https://doi.org/10.1079/AHR2005104>

DE SOUSA, S. H., G. R. PALUDO, C. R., FRESCHI, R. Z. MACHADO, M. B. CASTRO (2017): *Theileria equi* infection causing abortion in a mare in Brazil. *Vet. Parasitol. Reg. Stud. Rep.* 8, 113-116. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2017.03.008>

DE SOUZA GONÇALVES, T., F. D. N. L. ARROS, L. INOUE, D. M. DE FARIAS, J. DOS SANTOS LIMA, A. V. NOBRE, E. S. A. AIDAR, R. R. FERREIRA DINIZ, A. P. GERING, A. SCOFIELD (2020): Natural *Theileria equi* infection in captive *Tapirus terrestris* (*PERISsodactyla*: *Tapiridae*) in the Brazilian Amazon. *Ticks Tick Borne Dis.* 11, 101-114. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101452>

DE WAAL, D. T, F. T. POTGIETER (1987): The transstadial transmission of *Babesia caballi* by *Rhipicephalus evertsi evertsi*. *J. Vet. Res.* 54, 655–56.

DE WAAL, D. T. (1990): The transovarial transmission of *Babesia caballi* by *Hyalomma truncatum*. *J. Vet. Res.* 57, 99–100.

DE WAAL, D. T. (1992): Equine piroplasmiasis: a review. *Brit. Vet. J.* 148, 6-14.

- DEANE, E. L., C. L. FIELDING, D. M. RHODES, E. J. HOWARD (2021): Upper respiratory signs associated with *Anaplasma phagocytophilum* infection in two horses. *Equine Vet. Educ.* 33, 58-61. <https://doi.org/10.1111/eve.13128>Digital Object Identifier (DOI)
- DEHIO, C., U. SAUDER, R. HIESTAND (2004): Isolation of *Bartonella schoenbuchensis* from *Lipoptena cervi*, a blood-sucking arthropod causing deer ked dermatitis. *J. Clin. Microbiol.* 42, 5320–5323. <https://doi.org/10.1128/jcm.42.11.5320-5323.2004>
- DELIBERATO, C., A. MAGLIANO, G. L. AUTORINO, M. DIDOMENICO, M. SALA, F. BALDACCHINO (2019): Seasonal succession of tabanid species in equine infectious anemia endemic areas of Italy. *Med. Vet. Entomol.* 33, 431-436. <https://doi.org/10.1111/mve.12360>
- DEMIDOV, N. G., R. Y. STARUKHIN, G. N. DMITRIYEV (1944) Investigations on the parasitic ixodid ticks and hemosporidiosis of horses, in North Caucasus. *Veterinari.* 21, 20-22.
- DESQUESNES, M., F. BITEAU-COROLLER, J. BOUYER, M. L. DIA, L. FOIL (2009): Development of a mathematical model for mechanical transmission of trypanosomes and other pathogens of cattle transmitted by tabanids. *Int. J. Parasitol.* 39, 333-346. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2008.07.004>
- DIAKOU, A. (2024): Biting Back: Advances in Fighting Ticks and Understanding Tick-Borne Pathogens. *Pathogens.* 13, 73-75. <https://doi.org/10.3390/pathogens13010073>
- DÍAZ-CAO, J. M., Ł. ADASZEK, B. DZIĘGIEL, J. PANIAGUA, J. CABALLERO-GÓMEZ, S. WINIARCZYK, I. GARCÍA-BOCANEGRA (2022): Prevalence of selected tick-borne pathogens in wild ungulates and ticks in southern Spain. *Transbound. Emerg. Dis.* 69, 1084-1094. <https://doi.org/10.1111/tbed.14065>
- DÍAZ-SÁNCHEZ, A. A., M. S. PIRES, C. Y. ESTRADA, E. V. CAÑIZARES, S. L. DEL CASTILLO DOMÍNGUEZ, A. CABEZAS-CRUZ, A. CABEZAS-CRUZ, E. L. RIVERO, A. H. DA FONSECA, C. L. MASSARD, B. CORONA-GONZÁLEZ (2018): First molecular evidence of *Babesia caballi* and *Theileria equi* infections in horses in Cuba. *Parasitol. Res.* 117, 3109-3118. <https://doi.org/10.1007/s00436-018-6005-5>
- DICKERSON, G., M. M. J. LAVOPIERRE (1959): Studies on the Methods of Feeding of Blood-sucking Arthropods: III.—The Method by which *Haematopota pluvialis* (Diptera, Tabanidae)

Obtains Its Blood-Meal from the Mammalian Host. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 53, 465-472.
<https://doi.org/10.1080/00034983.1959.11685945>

DIECKMANN, S. M., M. WINKLER, K. GROEBEL, M. P. DIECKMANN, R. HOFMANN-LEHMANN, M. M. WITTENBRINK, L. E. HOELZLE, K. HOELZLE (2010): Haemotrophic *Mycoplasma* infection in horses. *Vet. Microbiol.* 145, 51–55.
<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2010.04.009>

DIECKMANN, S. M., K. HOELZLE, M. P. DIECKMANN, I. STRAUBE, R. HOFMANN-LEHMANN, L. E. HOELZLE (2012): Occurrence of hemotrophic mycoplasmas in horses with correlation to hematological findings. *Vet. Microbiol.* 160, 43–52.
<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.05.016>

DINGLER, R. J., S. A. WRIGHT, A. M. DONOHUE, P. A. MACEDO, J. E. FOLEY (2014): Surveillance for *Ixodes pacificus* and the tick-borne pathogens *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi* in birds from California's Inner Coast Range. *Ticks Tick Borne Dis.* 5, 84–88.
<https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2014.02.002>

DINIZ, P. P. V., D. M. DE AGUIAR (2022): Ehrlichiosis and anaplasmosis: An update. *Vet Clin North. Am. Small Anim. Pract.* 52, 1225-1266. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2022.07.002>

DIRKS, E., P. DE HEUS, A. JOACHIM, J. M. CAVALLERI, I. SCHWENDENWEIN, M. MELCHERT, H. P. FUEHRER (2021): First case of autochthonous equine theileriosis in Austria. *Pathogens.* 10, 298. <https://doi.org/10.3390/pathogens10030298>

DIXON, C. E., D. BEDENICE (2021): Transplacental infection of a foal with *Anaplasma phagocytophilum*. *Equine Vet. Educ.* 33, 62-66. <https://doi.org/10.1111/eve.13233>

DONNELLY, J., L. P. PHIPPS, K. L. WATKINS (1982): Evidence of maternal antibodies to *Babesia equi* and *B. caballi* in foals of seropositive mares. *Equine Vet. J.* 14, 126-128.
<https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1982.tb02365.x>

DORREGO, A., S. OLVERA-MANEU, E. JOSE-CUNILLERAS, P. GAGO, A. RAEZ, B. RIVERA, F. CRUZ-LOPEZ (2026): Molecular Detection of *Theileria equi*, *Babesia caballi*, and *Borrelia burgdorferi* Sensu Lato in *Hippobosca equina* from Horses in Spain. *Pathogens.* 15, 94.
<https://doi.org/10.3390/pathogens15010094>

DOS SANTOS, T. M., ROIER, E. C. R., PIRES, M. S., SANTOS, H. A., VILELA, J. A. R., PECKLE, P. G. PAULINO, C. D. BALDANI, C. L. MASSARD (2019): Molecular evidence of *Anaplasma phagocytophilum* and *Theileria equi* coinfection in horses from Rio de Janeiro, Brazil. *Vet. Anim. Sci.* 7, 100-123. <https://doi.org/10.1016/j.vas.2019.100055>

DOYLE, M. S., B. M. SWOPE, J. A. HOGSETTE, K. L. BURKHALTER, H. M. SAVAGE, R. S. NASCI (2011): Vector competence of the stable fly (Diptera: Muscidae) for West Nile virus. *J. Med. Ent.* 48, 656-668. <https://doi.org/10.1603/ME10167>

DRÁŽOVSKÁ, M., B. VOJTEK, J. MOJŽIŠOVÁ, S. KOLENIČOVÁ, F. KOLVEK, M. PROKEŠ, M. R. BHIDE (2021): The first serological evidence of *Anaplasma phagocytophilum* in horses in Slovakia. *Acta Vet. Hung.* 69, 31-37. <https://doi.org/10.1556/004.2021.00007>

DREHMANN, M., A. SPRINGER, A. LINDAU, K. FACHET, S. MAI, D. THOMA, C. R. SCHNEIDER, L. CHITIMIA-DOBLER, M. BRÖKER, G. DOBLER, U. MACKENSTEDT, C. STRUBE (2020): The spatial distribution of *Dermacentor* ticks (Ixodidae) in Germany—Evidence of a continuing spread of *Dermacentor reticulatus*. *Front. Vet. Sci.* 7, 578-581. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.578220>

DU PLESSIS, J. L., P. A. BASSON (1966): Babesiosis in aborted equine foetuses: a report on two cases in South Africa. *J. S. Afr. Vet. Med. Assoc.* 37, 267–269.

DU TOIT, P. J. (1919): Experimental studies on equine piroplasmiasis. First Report. Cross inoculation tests with *Nuttallia equi* and *Piroplasma caballi*. *Arch. Schiffs. Trop. Hyg.* 23, 121–35.

DUASO, J., A. PEREZ-ECIJA, A. NAVARRO, E. MARTÍNEZ, A. DE LAS HERAS, F. J. MENDOZA (2025): True prevalence and Seroprevalence of piroplasmiasis in horses in Southwestern Europe. *Animals.* 15, 2047. <https://doi.org/10.3390/ani15142047>

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. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2015.00061>

DUH, D., M. SLOVÁK, A. SAKSIDA, K. STRAŠEK, M. PETROVEC, T. AVŠIČ-ŽUPANC . (2006): Molecular detection of *Babesia canis* in *Dermacentor reticulatus* ticks collected in Slovakia. *Biol.* 61, 231-233. <https://doi.org/10.2478/s11756-006-0035-7>

DUH, D, V. PUNDA-POLIC, T. TRILAR (2008): Molecular detection of *Theileria* sp. in ticks and naturally infected sheep. *Vet Parasitol.* 151, 327–31. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.11.004>

DUMLER, J. S., A. F. BARBET, C. P. BEKKER, G. A. DASCH, G. H. PALMER, S. C. RAY F. R. RURANGIRWA (2001): Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and 'HGE agent' as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 51, 2145-2165. <https://doi.org/10.1099/00207713-51-6-2145>

DWUŻNIK-SZAREK, D., M. KOWALEC, M. ALSARRAF, A. BAJER (2022): Contribution of tick-borne diseases to mortality in juvenile free-living cervids. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2, 215. <https://doi.org/10.26444/aaem/142513>

DZIĘGIEL, B., Ł. ADASZEK, M. ALINOWSKI, S. WINIARCZYK (2013): Equine granulocytic anaplasmosis. *Res. Vet. Sci.* 95, 316-320. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2013.05.010>

EBANI, V. V., S. NARDONI, F. BERTELLONI, G. ROCCHIGIANI, F. MANCIANTI (2015): Tick-borne infections in horses from Tuscany, Italy. *J. Equine Vet. Sci.* 35, 290-294. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2015.01.017>

EBANI, V. V. (2019): Serological evidence of *Anaplasma phagocytophilum* and spotted fever group *Rickettsia* spp. exposure in horses from Central Italy. *Pathogens.* 8, 88. <https://doi.org/10.3390/pathogens8030088>

ELSAWY, B. S., A. M. NASSAR, H. F. ALZAN, R. V. BHOORA, S. OZUBEK, M. S. MAHMOUD, O. M. KANDIL, O. A. MAHDY (2021): Rapid detection of equine piroplasms using multiplex PCR and first genetic characterization of *Theileria haneyi* in Egypt. *Pathogens.* 10, 141-144. <https://doi.org/10.3390/pathogens10111414>

ENIGK, K. (1943a): The epidemiology of equine piroplasmosis. *Dtsch. Tropenmed. Z.* 47, 333–38

- ENIGK, K. (1943b): The vectors of equine piroplasmosis, their distribution and biology. Arch. Wiss. Prakt.Tierheilk. 78, 209–40
- ENIGK, K. (1944): Further experiments in the transmission of equine piroplasmosis. Arch. Wiss. Prakt.Tierheilk. 79, 58–80
- ERBSLOH, J K. E, (1975): Babesiosis in the newborn foal. J. Reprod. Fertil. 23, 725–726.
- ESTRADA-PEÑA, A., J. M. VENZAL, C. SÁNCHEZ ACEDO (2006): The tick *Ixodes ricinus*: distribution and climate preferences in the western Palaearctic. Med. Vet. Entomol. 20, 189-197. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2006.00622.x>
- ESTRADA-PEÑA, A. (2008): Climate, niche, ticks, and models: what they are and how we should interpret them. Parasitol. Res. 103, 87-95. <https://doi.org/10.1007/s00436-008-1056-7>
- ESTRADA-PEÑA, A. A. D. MIHALCA, T. N. PETENEY (2018): Ticks of Europe and North Africa: a guide to species identification. Switzerland, Springer.
- FACILE, V., M. MAGLIOCCA, F. M. DINI, I. IMPOSIMATO, J. MARIELLA, F. FRECCERO, A. BALBONI (2025): Molecular diagnosis and identification of equine piroplasms: CHALLENGES and insights from a study in Northern Italy. Animals, 15, 437. <https://doi.org/10.3390/ani15030437>
- FAIRCHILD, G. B (1969): Notes on neotropical Tabanidae XII. Classification and distribution, with keys to genera and subgenera. Archos. Zool. 17, 199–255
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.09.035>
- FERNANDES, T. A., P. PAULINO, P. G. DOS SANTOS JULIANO, D. RABELLO, C. A. DE OLIVEIRA, N. V. B. DE SOUZA, M. SANTANA, H. A. SANTOS (2025): Epidemiology and genetic diversity of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in draft horses in the Distrito Federal, Brazil. Trop. Anim. Health Prod. 57, 72. <https://doi.org/10.1007/s11250-025-04321-x>

FERNÁNDEZ-RUIZ, N., A. ESTRADA-PEÑA (2021): Towards New Horizons: Climate Trends in Europe Increase the Environmental Suitability for Permanent Populations of *Hyalomma marginatum* (Ixodidae). *Pathogens*. 10, 95. <https://doi.org/10.3390/pathogens10020095>

FOIL, L. D., C. L. MEEK, W. V. ADAMS, C. J. ISSEL (1983): Mechanical transmission of equine infectious anemia virus by deer flies (*Chrysops flavidus*) and stable flies (*Stomoxys calcitrans*). *Am. J. Vet. Res.* 44, 155-156. <https://doi.org/10.2460/ajvr.1983.44.01.155>

FOIL, L. D., W. V. ADAMS, J. M. MCMANUS, C. J. ISSEL (1987): Bloodmeal residues on mouthparts of *Tabanus fuscicostatus* (Diptera: Tabanidae) and the potential for mechanical transmission of pathogens. *J. Med. Entomol.* 24, 613–616. <https://doi.org/10.1093/jmedent/24.6.613>

FOIL, L. D. (1989): Tabanids as vectors of disease agents. *Parasitol. Today*. 5, 88-96. [https://doi.org/10.1016/0169-4758\(89\)90009-4](https://doi.org/10.1016/0169-4758(89)90009-4)

FRANZÉN, P., A. L. BERG, A. ASPAN, A. GUNNARSSON, J. D. PRINGLE (2007): Death of a horse infected experimentally with *Anaplasma phagocytophilum*. *Vet. Rec.* 160, 122-125. <https://doi.org/10.1136/vr.160.4.122>

FRIEDHOFF K.T., C. SOULE (1996): An account on equine babesiosis. *Rev. Sci. Tech.* 15, 1191–1201.

FRISCH, V., A. S. RAMSAUER, I. PREINING, M. S. UNTERKÖFLER, H. P. FUEHRER, M. L. HOFER, M. LYRAKIS, E. BOUHSIRA, E. LIÉNARD, J. M. CAVALLERI (2025): First detection of equine hepacivirus RNA in *Stomoxys calcitrans* (Diptera, Muscidae) in eastern Austria. *Vet. Res.* 21, 474. <https://doi.org/10.1186/s12917-025-04890-x>

FRITZ, D. (2010): A PCR study of piroplasms in 166 dogs and 111 horses in France (March 2006 to March 2008). *Parasitol. Res.* 106, 1339-1342. <https://doi.org/10.1007/s00436-010-1804-3>

GANDY, S., K. HANSFORD, L. MCGINLEY, B. CULL, R. SMITH, A. SEMPERJ, M. MEDLOCK (2022): Prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* in questing *Ixodes ricinus* nymphs across twenty recreational areas in England and Wales. *Ticks Tick Borne Dis.* 13, 101-112. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2022.101965>

GARYU, J. W., J. S. DUMLER (2005): Anaplasma phagocytophilum Infection Reduces Expression of Phagocytosis-Related Receptors on Neutrophils. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1, 416-419. <https://doi.org/10.1196/annals.1355.075>

GEORGES, K. C, C. D. EZEOKOLI, O. SPARAGANO, I. PARGASS, M. CAMPBELL, R. D'ABADIE, M. J. YABSLEY (2011): A case of transplacental transmission of Theileria equi in a foal in Trinidad. *Vet. Parasitol.* 175, 363–366. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.10.019>

GONZÁLEZ, M. A., D. BRAVO-BARRIGA, E. B. FERNÁNDEZ, E. FRONTERA, I. RUIZ-ARRONDO (2022): Severe Skin lesions caused by persistent bites of the stable fly Stomoxys calcitrans (Diptera: Muscidae) in a donkey sanctuary of Western Spain. *J. Equine Vet. Sci.* 116, 104-106. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2022.104056>

GÓRECKA-BRUZDA, A., C. AURICH (2025): Importance of the social environment for reproductive and general welfare of domestic horse (Equus caballus) stallions. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 106- 110. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2025.106827>

GOTIĆ, J. (2015): Klinička i serološka dijagnostika, te molekularna tipizacija uzročnika piroplazmoze konja na području Republike Hrvatske. Disertacija. Veterinarski fakultet Sveučilište u Zagrebu. Zagreb, Hrvatska.

GOTIĆ, J., N. BRKLJAČA BOTTEGARO, I. KIŠ, M. CRNOGAJ, V. MRLJAK, R. BECK (2017): Prvi opis slučaja anaplazmoze konja u Hrvatskoj. *Vet. Arh.* 87, 113-120.

GRACIA-CALVO, L. A., M. MARTÍN-CUERVO, J. JIMÉNEZ, V. VIEÍTEZ, D. ARGÜELLES, M. E. DURÁN, J. EZQUERRA (2015): Development of a technique for standing hand-assisted laparoscopic splenectomy in five horses. *Aus. Vet. J.* 96, 183-188. <https://doi.org/10.1111/avj.12326>

GRANDI, G., L. CHITIMIA-DOBLER, P. CHOKLIKITUMNUEY, C. STRUBE, A. SPRINGER, A. ALBIHN, A. OMAZIC (2020): First records of adult Hyalomma marginatum and H. rufipes ticks (Acari: Ixodidae) in Sweden. *Ticks Tick Borne Dis.* 11, 101 - 104. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101403>

GRASSI, L., G. FRANZO, M. MARTINI, A. MONDIN, R. CASSINI, M DRIGO, D. PASSOTO, E. VIDORIN, M. L. MENANDRO (2021): Ecotyping of Anaplasma phagocytophilum from wild

ungulates and ticks shows circulation of zoonotic strains in northeastern Italy. *Animals*. 11, 310. <https://doi.org/10.3390/ani11020310>

GRECH-ANGELINI, S., F. STACHURSKI, T. VAYSSIER-TAUSSAT, E. DEVILLERS, F. CASABIANCA, R. LANCELOT, G. ULIENBERG, S. MOUTAILLER (2020): Tick-borne pathogens in ticks (Acari: Ixodidae) collected from various domestic and wild hosts in Corsica (France), a Mediterranean island environment. *Transbound. Emerg. Dis.* 67, 745-757. <https://doi.org/10.1111/tbed.13393>

GRETILLAT, S. (1978): L'hémobartonellose équine au Niger. *Bull. L'academie Veterinaire Fr.* 131, 351-358.

GRIBBLE, D. (1969): Equine ehrlichiosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 155, 462–469.

GUGLIELMONE, A. A., R. G. ROBBINS, D. A. APANASKEVICH, T. N. PETNEY, A. ESTRADA PEÑA, I. G. HORAK, S. RENFU, S. C. BARKER (2010): The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida) of the world: a list of valid species names. *Zootaxa*. 10. 1-29.

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. *Par. Res.* 114, 71-83. <https://doi.org/10.1007/s00436-014-4161-9>

GUIMARAES, A. M, J. D. LIMA, M. F. B. RIBEIRO, E. R. S. CAMARGOS, I. A. BOZZI (1997): Ultrastructure of sporogony in *Babesia equi* in salivary glands of adult female *Boophilus microplus* ticks. *Parasitol. Res.* 84, 69–74. <https://doi.org/10.1007/s004360050359>

GUIMARAES, A. M, J. D. LIMA, M. F. B. RIBEIRO (1998): Sporogony and experimental transmission of *Babesia equi* by *Boophilus microplus*. *Parasitol. Res.* 84, 323–27. <https://doi.org/10.1007/s004360050404>

GUO, W. P., B. ZHANG, Y. H. WANG, G. XU, X. WANG, X. NI, E. M. ZHOU (2019): Molecular identification and characterization of *Anaplasma capra* and *Anaplasma platys*-like in *Rhipicephalus microplus* in Ankang, Northwest China. *BMC Infect. Dis.* 19, 434. <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4075-3>

GUSSMANN, K., C. CZECH, M. HERMANN, D. SCHAARSCHMIDT-KIENER, F. D. VON LOEWENICH (2014): *Anaplasma phagocytophilum* infection in a horse from Switzerland with severe neurological symptoms. *Schweiz. Arch. Für Tierheil.* 156, 345-348.

HAFEZ, M., M. HILALI, M. FOUDA (1977): Biological studies on *Hippobosca equina* (L.)(Diptera: Hippoboscidae) infesting domestic animals in Egypt 1. *Z. Ange. Entomol.* 83, 426-441.

HALL, C. M., J. D. BUSCH, G. A. SCOLES, K. A., PALMA-CAGLE, M. W. UETI, L. S. KAPPMAYER, D. M. WAGNER (2013): Genetic characterization of *Theileria equi* infecting horses in North America: evidence for a limited source of US introductions. *Parasit. Vectors.* 6, 35. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-35>

HALL, D. C., R. R. GERHARDT (2002): Flies (Diptera). U: Mullen, G., and L. Durden, ur. *Medical and Veterinary Entomology.* San Diego (CA): Academic Press.

HAMIDINEJAT, H., M. H. JALLALI, S. BAHRAMI, M. BAGHERI (2021): First molecular survey of *Anaplasma phagocytophilum* in hard ticks (Ixodidae) from Southwestern Iran. *J. Vector Borne Dis.* 58, 115-118. <https://doi.org/0.4103/0972-9062.316273>

HANAFUSA, Y., K. CHO, T. KANEMARU, R. WADA, C. SUGIMOTO, M. ONUMA (1998): Pathogenesis of *Babesia caballi* infection in experimental horses. *J. Vet. Med. Sci.* 60, 1127-1132. <https://doi.org/10.1292/jvms.60.1127>

HAPPI, A.N., P. E. OLUNIYI (2020): A rare case of equine Haemotropic *Mycoplasma* infection in Nigeria. *Niger. Vet. J.* 41, 274–286. <https://dx.doi.org/10.4314/nvj.v41i3.8>

HASPESLAGH, M., L. VLAMINCK, L., A. ARTENS (2018): The possible role of *Stomoxys calcitrans* in equine sarcoid transmission. *Vet. J.* 231, 8-12. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2017.11.009>

HAWKINS, J. A., W. V. ADAMS, L. COOK, B. H. WILSON, E. E. ROTH (1973): Role of Horse Fly (*Tabanus fuscicostatus* Hine) and Stable Fly *Stomoxys calcitrans* L.) in Transmission of Equine Infectious Anemia to Ponies in Louisiana. *Am. J. Vet. Res.* 34, 1583-1586. <https://doi.org/10.2460/ajvr.1973.34.12.1583>

HAWKINS, J. A., W. V. ADAMS, B. H. WILSON, C. J. ISSEL, E. E. ROTH (1976): Transmission of equine infectious anemia virus by *Tabanus fuscicostatus*. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 168, 63-64. <https://doi.org/10.2460/javma.1976.168.01.63>

HEKIMOGLU, O., C. ELVERICI, A. C. KUYUCU (2023): Predicting climate-driven distribution shifts in *Hyalomma marginatum* (Ixodidae). *Parasitol.* 10, 883-893. <https://doi.org/10.1017/S0031182023000689>

HELLER, L. M., T. D. S. A. BASTOS, D. M. B. ZAPA, I. M. L. DE MORAIS, V. F. SALVADOR, L. L. LEAL, L. F. MONTEIRO COUTO, L. CARDOSO NEVES, W. VIEIRA DE FREITAS, L. LOPES FERREIRA, A. T. MEDEIROS DE BARROS, P. H. D. CANÇADO, R. Z. MACHADO, V. E. SOARES, F. A. CADIOLI, F. DA SILVA KRAWCZAK, W. D. ZANETTI LOPES (2024): Evaluation of mechanical transmission of *Trypanosoma vivax* by *Stomoxys calcitrans* in a region without a cyclic vector. *Par. Res.* 123, 96. <https://doi.org/10.1007/s00436-023-08102-z>

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. <https://doi.org/10.3201/eid0908.020748>

HERMANS, L. M., C. BONSERGENT, A. JOSSON, G. ROCAFORT-FERRER, M. LE GUYADER, S. ANGELLOZ-PESSEY, L. MALANDRIN (2025): Evaluation of *Theileria equi* vertical transmission rate and routes in a cohort of asymptomatic mares and their foals. *Ticks Tick Borne Dis.* 16, 102432. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2024.102432>

HEUCHERT, C. M. S, V. DE GIULLI, D. F. DE ATHAIDE, R. BOSE, K. T. FRIEDHOFF (1999): Seroepidemiologic studies on *Babesia equi* and *Babesia caballi* infections in Brazil. *Vet. Parasitol.* 85, 1–11. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(99\)00108-9](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(99)00108-9)

HILTON, H., J. E. MADIGAN, M. ALEMAN (2008): Rhabdomyolysis associated with *Anaplasma phagocytophilum* infection in a horse. *J. Vet. Intern. Med.* 22, 1061-1064. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2008.0115.x>

- HOMER, M. J., I. AGUILAR-DELFIN, S. R. TELFORD, P. J. KRAUSE, D. H. PERSING, D. H. (2000): Babesiosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 13, 451–469. <https://doi.org/10.1093/jme/tjw213>
- HORNOK, S. (2009): Allochronic seasonal peak activities of *Dermacentor* and *Haemaphysalis* spp. under continental climate in Hungary. *Vet. Parasitol.* 163, 366-369. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.03.048>
- HORNOK, S., N. TAKÁCS, S. SZEKERES, K. SZÓKE, J. KONTSCHÁN, G. HORVÁTH, L. SUGÁR (2020): DNA of *Theileria orientalis*, *T. equi* and *T. capreoli* in stable flies (*Stomoxys calcitrans*). *Parasit. Vectors.* 13, 186. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04041-1>
- HUBER, D., I. REIL, S. DUVNJAK, D. JURKOVIĆ, D. LUKAČEVIĆ, M. PILAT, R. BECK (2017): Molecular detection of *Anaplasma platys*, *Anaplasma phagocytophilum* and *Wolbachia* sp. but not *Ehrlichia canis* in Croatian dogs. *Parasitol. Res.* 116, 319-326. <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5611-y>
- HUHN, C., C. WINTER, T. WOLFSPERGER, N. WÜPPENHORST, K. STRAŠEK SMRDEL, J. SKUBALLA, M. PFÄFFLE, T. PETNEY, C. SILAGHI, V. DYACHENKO, N. PANTCHEV, R. K. STRAUBINGER, D. SCHAARSCHMIDT-KIENER, M. GANTER, M. L. AARDEMA, F. D. VON LOEWENICH (2014): Analysis of the population structure of *Anaplasma phagocytophilum* using multilocus sequence typing. *PLoS One.* 9, 937-941. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093725>
- HURTADO, C., R. TORRES, S. PÉREZ-MACCHI, K. SAGREDO, B. UBERTI, D. C. DE SOUZA ZANATTO, R. Z. MACHADO, M. R. ANDRÉ, P. BITTENCOURT, A. MÜLLER (2020): Serological and molecular detection of *Anaplasma phagocytophilum* in Thoroughbred horses from Chilean racecourses. *Ticks Tick Borne Dis.* 11, 101- 104. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101441>
- HUTSON, A., M. KEDS (1984): Flat –flies and Bat-flies. Handbooks for the identification of British Insects. 1st ed., Royal Entomological Society of London, London.
- IOFFE-USPENSKY, I., K. Y. MUMCUOGLU, I. USPENSKY, R. GALUN (1997): *Rhipicephalus sanguineus* and *R. Turanicus* (Acari: Ixodidae): closely related species with

different biological characteristics. *J. Med. Entomol.* 34, 74– 81.
<https://doi.org/10.1093/jmedent/34.1.74>

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, 291–96. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.02.027>

IVKIĆ, Z., D. SOKOLIĆ, M. MOLNAR, D. PAŠALIĆ, F. POLJAK, V. TOMŠE ĐURANEC, J. PAVIČIĆ, D. TADIĆ, M. ŠOŠIĆ, V. TISSAUER, F. VRBANIĆ, J. CVITAŠ (2024): Godišnje izvješće Hrvatske agencije za poljoprivredu i hranu za 2024. Godinu kopitari. Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu. Osijek. S.22.

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. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3583-8>

JAFFER, O., F. ABDISHAKUR, F. HAKIMUDDIN, A. RIYA, U. WERNERY, R. K. SCHUSTER (2010): A comparative study of serological tests and PCR for the diagnosis of equine piroplasmiasis. *Parasitol. Res.* 106, 709–713. <https://doi.org/10.1007/s00436-009-1669-5>

JAHFARI, S., E. 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. <https://doi.org/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.* 2, 155-158. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2065-0>

- JAHN, P., P. ZEMAN, B. BEZDEKOVA, I. PRASKOVA (2010): Equine granulocytic anaplasmosis in the Czech Republic. *Vet. Rec.* 166, 646-649. <https://doi.org/10.1136/vr.4852>
- JALOVECKA, M., O. HAJDUSEK, D. SOJKA, P. KOPACEK, L. MALANDRIN (2018): The complexity of piroplasms life cycles. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 8, 248. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00248>
- JARAD, A., K. M. ALSAAD (2026): Evaluation of multiple methods for the diagnosis of equine Hemomyoplasmosis in Misan, Iraq. *Open Vet. J.* 16, 861-861. <https://doi.org/10.1186/s13071-258-0841-1>
- JESSE, F. F. A., N. JAZID, K. MOHAMMED, A. TIJANI, E. CHUNG, Y. ABBA, M. SADIQ, A. SAHAREE (2015): Hemotropic Mycoplasma ovis infection in goats with concurrent gastrointestinal parasitism in Malaysia. *J. Adv. Vet. Anim. Res.* 2, 464-468. <https://doi.org/10.5455/javar.2015.b119>
- JONGEJAN, F., M. RINGENIER, M. PUTTING (2015): Novel foci of Dermacentor reticulatus ticks infected with Babesia canis and Babesia caballi in The Netherlands and in Belgium. *Parasit. Vectors.* 8, 232. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0841-2>
- JOUGLIN, M., C. BONSERGENT, N. DE LA COTTE, M. MEGE, C. BIZON, A. COUROUCE, É. A. LALLEMAND, A. LEBLOND, L. C. LEMONNIER, A. LEROUX, I. MARANO, A. MUZARD, É. QUÉRÉ, M. TOUSSAINT, A. AGOULON, L. MALANDRIN (2025): Equine piroplasmosis in different geographical areas in France: Prevalence heterogeneity of asymptomatic carriers and low genetic diversity of Theileria equi and Babesia caballi. *Ticks Tick Borne Dis.* 16, 102-104. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2024.102434>
- JURKOVIĆ-ŽILIĆ, D., E. GAGOVIĆ, T. DUMIĆ, K. PINTUR, R. BECK (2024): Molecular investigation of Rhipicephalus ticks and their pathogens from Croatia. *Ann. Parasitol.* 70, 25-25.
- JURKOVIĆ- ŽILIĆ, D. J., Š. NALETILIĆ, Ž. MIHALJEVIĆ, E. GAGOVIĆ, S. ŠPIČIĆ, I. REIL, R. BECK, (2025): Hemotropic pathogens in aborted fetuses of domestic ruminants: transplacental transmission and implications for reproductive loss. *Front. Microbiol.* 16, 163-168. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1632135>

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, 101- 105. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101469>

JURKOVIĆ, D. (2021): Genska tipizacija krpelja i patogeni prenosivih krpeljima na području Republike Hrvatske. Disertacija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.

KAKIMORI, M.T.A., L. D. BARROS, F. C. M. COLLERE, L. D. R. FERRARI, A. DE MATOS, J. I. LUCAS, V. S. CORADI, A. C. B. MONGRUEL, D. M. AGUIAR, R. Z. MACHADO, M. R. ANDRÉ, T. S.W. J. VIEIRA, R. F.C. VIEIRA (2023): First molecular detection of *Mycoplasma ovis* in horses from Brazil. *Acta. Trop.* 237, 106- 121. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2022.106697>

KALANTARI, M.; H. SHARIFIYAZDI, M. GHANE, S. NAZIFI (2020): The occurrence of hemotropic *Mycoplasma ovis*-like species in horses. *Prev. Vet. Med.* 175, 104- 110. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.855731>

KALANTARI, M., H. SHARIFIYAZDI, M. GHAEMI, M. GHANE, S. NAZIFI (2022): *Theileria equi* in the horses of Iran: Molecular detection, genetic diversity, and hematological findings. *Vet. Parasitol. Reg. Stud. Reports* 36, 72-79. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2022.100792>

KAPO, N., I. ZUBER BOGDANOVIĆ, E. GAGOVIĆ, M. ŽEKIĆ, G. VEINOVIĆ, R. SUKARA, A. HODŽIĆ (2024): Ixodid ticks and zoonotic tick-borne pathogens of the Western Balkans. *Parasit. Vectors.* 17, 45-48. <https://doi.org/10.1186/s13071-023-06116-1>

KAPPMAYER, L. S., M. THIAGARAJAN, D. R. HERNDON, J. D. RAMSAY, E. CALER, A. DJIKENG, J. J. GILLESPIE, A. O. T. LAU, E. H. ROALSON, J. C. SILVA, M. G. SILVA, C. E. SUAREZ, M. W. UETI, V. M. NENE, R. H. MEALEY, D. P. KNOWLES, K. A. BRAYTON (2012): Comparative genomic analysis and phylogenetic position of *Theileria equi*. *BMC Genom.* 13, 603. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-603>

KARBOWIAK, G., B. BIERNAT, J. STANCZAK, J. WERSZKO, P. WRÓBLEWSKI, T. SZEWCZYK, H. SYTYKIEWICZ (2016): The role of particular ticks developmental stages in the

circulation of tick-borne pathogens in Central Europe. 4. Anaplasmatataceae. *Anna. Parasitol.* 62, 114-118. <http://dx.doi.org/10.17420/ap6204.62>

KARTASHOV, M. Y., E. V. NAIDENOVA, K. S. ZAKHAROV, S. A. YAKOVLEV, M. O. SKARNOVICH, S. BOUMBALY, K. A. NIKIFOROV, N. A. PLEKHANOV, A. A. KRITZKIY, V. A. TERNOVOI, M. Y. BOIRO, V. B. LOKTEV (2021): Detection of *Babesia caballi*, *Theileria mutans* and *Th. velifera* in ixodid ticks collected from cattle in Guinea in 2017–2018. *Vet. Parasitol. Reg. Stud. Rep.* 24, 100- 112. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2021.100564>

KAWAHARA, M., Y. RIKIHISA, Q. LIN, E. ISOGAI, K. TAHARA, A. ITAGAKI, Y. HIRAMITSU, T. TAJIMA (2006): Novel genetic variants of *Anaplasma phagocytophilum*, *Anaplasma bovis*, *Anaplasma centrale*, and a novel *Ehrlichia* sp. in wild deer and ticks on two major islands in Japan. *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 1102-1109. <https://doi.org/10.1128/AEM.72.2.1102-1109.2006>

KAZIMÍROVÁ, M., Z. HAMŠÍKOVÁ, E. ŠPITALSKÁ, L. MINICHOVÁ, L. MAHRÍKOVÁ, H. 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. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3068-1>

KERBER, C. E., M. B. LABRUNA, F. FERREIRA, D. T. DE WAAL, D. P. KNOWLES, S. M. GENNARI (2009): Prevalence of equine piroplasmiasis and its association with tick infestation in the state of Sao Paulo, Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 18, 1–8. <https://doi.org/10.4322/rbpv.01804001>

KESKIN, A., E. SIMSEK, A. BURSALI, A. KESKIN (2016): Morphological abnormalities in ticks (Acari: Ixodidae) feeding on humans in Central Black Sea region, Turkey. *Zoomorph.* 135, 167-172. <https://doi.org/10.1007/s00435-016-0306-y>

KETTER-RATZON, D., S. TIROSH-LEVY, Y. NACHUM-BIALA, T. SAAR, L. QURA'N, D. ZIVOTOFSKY, Z. ABDEEN, G. BANETH, A. STEINMANN (2017): Characterization of *Theileria equi* genotypes in horses in Israel, the Palestinian Authority and Jordan. *Ticks Tick Borne Dis.* 8, 499-505. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2017.02.010>

- KEYTE, S., S. ABDULLAH, K. JAMES, H. NEWBURY, C. HELPS, S. TASKER, R. WALL (2021): Prevalence and distribution of *Anaplasma phagocytophilum* in ticks collected from dogs in the United Kingdom. *Vet. Rec.*, 188, 55-59. <https://doi.org/10.1002/vetr.12>
- KNOWLES, J. R, D. P. PERRYMAN, L. E. GOFF, W. L. MILLER, C. D. HARRINGTON, J. R. GORHAM (1991): A monoclonal antibody defines a geographically conserved surface protein epitope of *Babesia equi* merozoites. *Infect. Immun.* 59, 2412-2417. <https://doi.org/10.1128/iai.59.7.2412-2417.1991>
- KNOWLES, J. R, D. P., L. S. KAPPEMEYER, D. STILLER, S. G. HENNAGER, L. E. PERRYMAN (1992): Antibody to a recombinant merozoite protein epitope identifies horses infected with *Babesia equi*. *J. Clin. Microbiol.* 30, 3122-3126. <https://doi.org/10.1128/jcm.30.12.3122-3126.1992>
- KNOWLES, J. R, D. P., L. S. KAPPEMEYER, D. HANEY, D. R. HERNDON, L. M. FRY, J. B. MUNRO, J. C. SILVA (2018): Discovery of a novel species, *Theileria haneyi* n. sp., infective to equids, highlights exceptional genomic diversity within the genus *Theileria*: implications for apicomplexan parasite surveillance. *Int. J. Parasitol.* 48, 679-690. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2018.03.010>
- KOCH, R. (1906): Contributions to the history of the development of piroplasma. *J. Hyg. Infect. Dis.* 54, 1-9.
- KOH, C. Y., R. M. KINI (2009): Molecular diversity of anticoagulants from haematophagous animals. *Thromb. Haemos.* 102, 437-453. <https://doi.org/10.1160/TH09-04-0221>
- KOUAM, M. K., V. KANTZOURA, P. M. MASUOKA, A. A. GAJADHAR, G. THEODOROPOULOS (2010): Genetic diversity of equine piroplasms in Greece with a note on speciation within *Theileria* genotypes (*T. equi* and *T. equi*-like). *Infect. Genet. Evol.* 10, 963-968. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2010.06.008>
- KRČMAR, S., P. DURBEŠIĆ, J. FRANJIĆ (1995): Uzimanje krvnog obroka nekih vrsta obada (Diptera, Tabanidae) na konjima (*Equus caballus*). *Stočarstvo.* 49, 15-21.

- KRČMAR, S., D. K. HACKENBERGER, B. K. HACKENBERGER (2011): Key to the horse flies fauna of Croatia (Diptera, Tabanidae). *Period. Biol.* 113, 1-61. <https://doi.org/10.3390/life13091856>
- KRČMAR, S. (2012): Hard ticks (Acari, Ixodidae) of Croatia. *ZooKeys.* 234, 19-57. <https://doi.org/10.3897/zookeys.234.3658>
- KRČMAR, S., M. VEREŠ, T. TRILAR (2014): Fauna of hard ticks (Acari: Ixodidae) in different habitats in Croatian part of Baranja. *Šumar. list,* 138, 309-313.
- KRINSKY, W. L. (1976): Animal disease agents transmitted by horse flies and deer flies (Diptera: Tabanidae). *J. Med. Entomol.* 13, 225-275. <https://doi.org/10.1093/jmedent/13.3.225>
- KUMAR, S, D. V. MALHOTRA, A. K. SANGWAN, P. GOEL, A. KUMAR, S. KUMAR (2007): Infectivity rate and transmission potential of *Hyalomma anatolicum anatolicum* ticks for *Babesia equi* infection. *Vet. Parasitol.* 144, 338–43. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.10.009>
- KUMAR, S., R. KUMAR, A. K. GUPTA, S. K. DWIVEDI (2008): Passive transfer of *Theileria equi* antibodies to neonate foals of immune tolerant mares. *Vet. Parasitol.* 151, 80-85. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.10.001>
- KUMAR, S., V. SUDAN, S. SINGH, D. SHANKER, A. DEVI, R. S. GAUR (2021): Equi merozoite antigen 1 (ema 1) gene based phylogenetic characterization of *Theileria equi* from Mathura, India. *Journal of Vet. Parasitol.* 35, 108-113. <https://doi.org/10.5958/0974-0813.2021.00017.6>
- LAKIEW, B. T., S. K. KHERAVII, S. B. WU, S. EASTWOOD, N. R. ANDREW, A. H. NICHOLAS, S. W. WALKDEN-BROWN (2021): Detection and distribution of haematophagous flies and lice on cattle farms and potential role in the transmission of *Theileria orientalis*. *Vet. Parasitol.* 298, 109-111. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2021.109516>
- LANGENWALDER, D. B., C. SILAGHI, M. NIEDER, M. PFEFFER, M., F. M. VON LOEWENICH (2020): Co-infection, reinfection and superinfection with *Anaplasma phagocytophilum* strains in a cattle herd based on ankA gene and multilocus sequence typing. *Parasit. Vectors.* 13, 157. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04032-2>

- LAUS, F., F. VERONESI, F. PASSAMONTI, E. PAGGI, M. CERQUETELLA, D. HYATT, D. D. P. FIORETTI (2013): Prevalence of tick borne pathogens in horses from Italy. *J. Vet. Med. Sci.* 75, 715-720. <https://doi.org/10.1292/jvms.12-0449>
- LEBLOND, A., S. PRADIER, P. H. PITEL, G. FORTIER, P. BOIREAU, J. CHADOEUF, P. SABATIER (2005): An epidemiological survey of equine anaplasmosis (*Anaplasma phagocytophilum*) in Southern France. *Rev. Sci. Tech.* 24, 899–908.
- LEVI, M. M., S. TIROSH-LEVY, R. DAHAN, D. BERLIN, A. STEINMAN, N. EDERY, I. SAVITSKI, B. LEBOVICH, D. KNOWELS, C. E. SUAREZ, G. BANETH, M. L. MAZUZ (2018): First detection of diffuse and cerebral *Theileria equi* infection in neonatal filly. *J. Equine. Vet. Sci.* 60, 23-28. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2017.10.016>
- LEVINE, N. D. (1971): Taxonomy of the piroplasms. *Trans. Am. Microsc. Soc.* 2, 33. <https://doi.org/10.2307/3224894>
- LEWIS, S. R., K. ZIMMERMAN, J. J. DASCANIO, R. S. PLEASANT, S. G. WITONSKY (2009): Equine granulocytic anaplasmosis: a case report and review. *J. Equine Vet. Sci.* 29, 160-166. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2009.01.002>
- LI, E., X. WU, L. TANG, M. YANG, S. HORNOK, C. ZHANG, G. ZHAO, Y. WANG (2024): Molecular-phylogenetic analyses of *Babesia* and *Theileria* species from small mammals and their ticks in northern China suggest new reservoirs of bovine and equine piroplasms. *Vet. Parasitol.* 332, 110 -115. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2024.110304>
- M'GHIRBI, Y., H. YAÏCH, A. HORBEL, A. BOUATTOUR (2012): *Anaplasma phagocytophilum* in horses and ticks in Tunisia. *Parasit. Vectors.* 5, 180. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-180>
- MACHADO, R. Z., M. R. ANDRÉ, J. G. PEREIRA, M. S. C. OLIVEIRA, L. S. S. RIBEIRO C. Z. P. TOLEDO (2025): Newly designed PCR assays based on the EMA-10 and EMA-11 genes confirms the circulation of *Theileria haneyi* in horses in Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 34, 520-531. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612025049>
- MADIGAN, J. (2021): *Anaplasma phagocytophilum* (*Ehrlichia equi*) 50 years later. *Equine Vet. Educ.* 33, 268-277. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2015.00061>

- MAGGI, R.G., S. M. COMPTON, C. L. TRULL, P. E. MASCARELLI, B. R. MOZAYENI, E. B. BREITSCHWERDT (2013): Infection with hemotropic Mycoplasma species in patients with or without extensive arthropod or animal contact. *J. Clin. Microbiol.* 51, 3237–3241. <https://doi.org/10.1128/jcm.01125-13>
- MAHMOUD, M. S., N. T. EL-EZZ, S. ABDEL-SHAFY, S. A. NASSAR, E. L. NAMAKY, A. H. KHALIL (2016): Assessment of Theileria equi and Babesia caballi infections in equine populations in Egypt by molecular, serological and hematological approaches. *Parasit Vectors.* 9, 260. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1539-9>
- 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, 112-120. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.05.005>
- MARKOFF, W. N. (1916): Piroplasmosis and other diseases of domesticated animals due to blood parasites in the Balkans. *Arch. Schiffs. Trop. Hyg.* 20, 313–35.
- MARKOV, A. A., V. I. KURCHATOV, G. S. DZASOKHOV (1940): Part played by Rhipicephalus bursa in the spread of equine Nuttalliasis. *Sov. Vet.* 17, 33.
- MASAKE, R., A. MUSOKE (2010): Blood parasitic diseases and specific immune responses. *Int. Livest. Res. Inst.* 4, 43-55.
- MAŚLANKO, W., E. SZWAJ, M. GAZDA, K. BARTOSIK (2022). Hippobosca equina L.(Hippoboscidae: Hippobosca)—An old enemy as an emerging threat in the paleartic zone. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 19, 169- 178. <https://doi.org/10.3390/ijerph192416978>
- MASSUNG, R. F., K. G. SLATER (2003): Comparison of PCR assays for detection of the agent of human granulocytic ehrlichiosis, Anaplasma phagocytophilum. *J. Clin. Microbiol.* 41, 717-722. <https://doi.org/10.1128/jcm.41.2.717-722.2003>
- MATEI, I. A., A. ESTRADA-PEÑA, S. J. CUTLER, M. VAYSSIER-TAUSSAT, L. VARELA-CASTRO, A. POTKONJAK, 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. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3852-6>

MEDLOCK, J. M., K. M. HANSFORD, A. BORMANE, M. DERDAKOVA, A. ESTRADA-PEÑA, J. C. GEORGE, I. GOLOVLJOVA, T. G. T. JAENSON, J. JENS-KJELD, 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, 116-125. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-1>

MEDRANO-BUGARINI, R. A., J. V. FIGUEROA-MILLÁN, B. E. RIVERA-CHAVIRA, J. J. LIRA-AMAYA, C. A. RODRÍGUEZ-ALARCÓN, D. M. BERISTAIN-RUIZ, J. R. ADAME-GALLEGOS (2019): Detection of *Theileria equi*, *Babesia caballi*, and *Anaplasma phagocytophilum* DNA in soft ticks and horses at Ciudad Juarez, Mexico. *Southwest. Entomol.* 44, 647-658. <https://doi.org/10.3958/059.044.0310>

MÈGE, M., C. BONSERGENT, L. VIRY, M. DHUNE, S. LECOLLINET, L. MALANDRIN (2025): Genetic diversity of equine piroplasmosis agents in Guadeloupe (Caribbeans): first report of *Theileria haneyi*, evaluation of diagnostic tools and impact of horse movement. *Ticks Tick Borne Dis.* 16, 102-114. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2025.102547>

MEHLHORN, H., E. SHEIN (1984): The piroplasms: life cycle and sexual stages. *Adv. Parasitol.* 23, 37–103. [https://doi.org/10.1016/S0065-308X\(08\)60285-7](https://doi.org/10.1016/S0065-308X(08)60285-7)

MEHLHORN, H., E. SCHEIN (1998): Redescription of *Babesia equi* Laveran, 1901 as *Theileria equi*. *Parasitol. Res.* 84, 467–475. <https://doi.org/10.1007/s004360050431>

MENDOZA, F. J., A. PÉREZ-ÉCIJA, L. S. KAPPMAYER, C. E. SUAREZ, R. G. BASTOS (2024): New insights in the diagnosis and treatment of equine piroplasmosis: pitfalls, idiosyncrasies, and myths. *Front. Vet. Sci.* 11, 14-19. <https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1459989>

MILLÁN, J., R. RODRÍGUEZ-PASTOR, A. ESTRADA-PEÑA (2024): Description of *Rhipicephalus hibericus* sp. nov. (Ixodoidea: Ixodidae), a species of the *Rhipicephalus sanguineus* group in southwestern Europe. *Ticks Tick Borne Dis.* 15, 102-108. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2024.102340>

MITREA, E., A. M. BOGDAN, A. M. ZISOPOL, I. L. MITREA, AND M. IONITA (2024): Preliminary Data on Molecular Testing for *Anaplasma phagocytophilum* Infection in Cattle and Horses, Romania. *Med. Vet.* 67, 23-26. <https://doi.org/10.61900/SPJVS.2024.01.04>

MOLTMANN, U. G., H. MEHLHORN, E. SCHEIN, W. P. VOIGT, K. T. FRIEDHOFF (1983): Ultrastructural study on the development of *Babesia equi* (Coccidia: Piroplasmia) in the salivary glands of its vector ticks. *J. Protozool.* 30, 218-225. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.1983.tb02907.x>

MONTES-CORTÉS, M. G., J. L. FERNÁNDEZ-GARCÍA, A. A. MARTÍNEZ-ESTÉLLEZ (2017): Genetic Variation of the β -tubulin Gene of *Babesia caballi* Strains. *J. Arthropod. Borne Dis.* 11, 344. <https://doi.org/10.1051/parasite/2017015>

MONYAMA, M. C., T. RAMTATLA, B. KHOSA, T. MAFOKWANE, O. THEKISOE (2025): *Anaplasma Phagocytophilum*, a Zoonotic Vector-Borne Bacterial Species in Rodents and Its Associated Tick Vector: Systematic Review. *Vet. Med. Sci.* 11, 703-715. <https://doi.org/10.1002/vms3.70387>

MORETTI, A., V. MANGILI, R. SALVATORI, C. MARESCA, E. SCOCCIA, A. TORINA, I. MORETTA, S. GABRIELLI, M. P. TAMPIERI, M. PIETROBELLI (2010): Prevalence and diagnosis of *Babesia* and *Theileria* infections in horses in Italy: A preliminary study. *Vet. J.* 184, 346–350. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2009.03.021>

MSHELIA, P. W, L. KAPPMAYER, W. C. JOHNSON, C. A. KUDI, O. O. OLUYINKA, E. O. BALOGUN (2020): Molecular detection of *Theileria* species and *Babesia caballi* from horses in Nigeria. *Parasitol Res.* 119, 255–263. <https://doi.org/10.1007/s00436-020-06797-y>

MUNKHJARGAL, T., T. SIVAKUMAR, B. BATTSETSEG, T. NYAMJARGAL, M. ABOULAILA, B. PUREVTSEREN, I. IGARASHI (2013): Prevalence and genetic diversity of equine piroplasms in Tov province, Mongolia. *Infect. Genet. Evol.* 16, 178-185. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.02.005>

MURRELL, A., N. J. CAMPBELL, S. C. BARKER (2000): Phylogenetic analyses of the rhipicephaline ticks indicate that the genus *Rhipicephalus* is paraphyletic. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 16, 1-7. <https://doi.org/10.1006/mpev.2000.0762>

MWAKI, D. M. (2023): Molecular Detection of Selected Haemopathogens in Domestic Animals and Their Associated Ectoparasitic Biting Keds (Genus Hippobosca) Collected from Laisamis, northern Kenya. Doktorska disertacija. Nairobi. Fakultet zdravstvenih znanosti.

MYCZKA, A. W., S. KACZOR, K. FILIP-HUTSCH, M. CZOPOWICZ, E. PLIS-KUPRIANOWICZ, Z. LASKOWSKI (2022): Prevalence and genotyping of *Anaplasma phagocytophilum* strains from wild animals, European bison (*Bison bonasus*) and Eurasian moose (*Alces alces*) in Poland. *Animals*. 12, 122-129. <https://doi.org/10.3390/ani12091222>

NADAL, C., S. I. BONNET, M. MARSOT (2022): Eco-epidemiology of equine piroplasmiasis and its associated tick vectors in Europe: A systematic literature review and a meta-analysis of prevalence. *Transbound. Emerg. Dis.* 69, 47-49. <https://doi.org/10.1111/tbed.14261>

NADAL, C., C. CHANET, C. DELAUNAY, P. H. PITEL, M. MARSOT, S. I. BONNET (2025): Risk factors for tick infestation and equine Piroplasmiasis infection among draught horses in France. *Ticks Tick Borne Dis.* 16, 102-110. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2025.102468>

NADER, J., N. KRÓL, M. PFEFFER, V. OHLENDORF, M. MARKLEWITZ, C. DROSTEN, S. JUNGLEN, A. OBIEGALA (2018): The diversity of tick-borne bacteria and parasites in ticks collected from the Strandja Nature Park in southeastern Bulgaria. *Parasit.Vectors.* 11, 165. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2721-z>

NAGORE, D., J. GARCÍA-SANMARTÍN, A. L. GARCÍA-PÉREZ, R. A. JUSTE, A. HURTADO (2004): Detection and identification of equine *Theileria* and *Babesia* species by reverse line blotting: epidemiological survey and phylogenetic analysis. *Vet. Parasitol.* 123, 41-54. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.04.010>

NEHRA, A. K., A. KUMARI, A. D. MOUDGIL, S. VOHRA (2021): Phylogenetic analysis, genetic diversity and geographical distribution of *Babesia caballi* based on 18S rRNA gene. *Ticks Tick Borne Dis.* 12, 101-112. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2021.101776>

NEIMARK, H., E. E. JOHANSSON, Y. RIKIHISA, J. G. TULLY (2001): Proposal to transfer some members of the genera *Haemobartonella* and *Eperythrozoon* to the genus *Mycoplasma* with descriptions of “*Candidatus Mycoplasma haemofelis*”, “*Candidatus Mycoplasma haemomuris*”,

“Candidatus Mycoplasma haemosuis” and “Candidatus Mycoplasma wenyonii”. *Internat. J. Syst. Evol. Microbiol.* 51, 891–899. <https://doi.org/10.1099/00207713-51-3-891>

NEIMARK, H., E. E. JOHANSSON, Y. RIKIHISA, J. G. TULLY (2002): Revision of haemotrophic Mycoplasma species names. *Internat. J. Syst. Evol. Microbiol.* 52, 683. <https://doi.org/10.1099/00207713-52-2-683>

NEIMARK, H., B. HOFF, M. GANTER (2004): *Mycoplasma ovis* comb. nov. (formerly *Eperythrozoon ovis*), an eperythrocytic agent of haemolytic anaemia in sheep and goats. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 54, 365–371. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02858-0>

NEITZ, W. O. (1956): Classification, transmission, and biology of piroplasms of domestic animals. *Ann. NY Acad. Sci.* 64, 56–111. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1956.tb36607.x>

NIETO, N. C., J. E. FOLEY, J., BETTASO, S. R. LANE (2009): Reptile infection with *Anaplasma phagocytophilum*, the causative agent of granulocytic anaplasmosis. *J. Parasitol.* 95, 1165–1170. <https://doi.org/10.1645/GE-1983.1>

NOSEK, J. (1972): The ecology, bionomics, behaviour and public health importance of *Dermacentor marginatus* and *D. reticulatus* ticks. *Wiadomości Parazytolog.* 18, 45–47.

NOWICKA, B., I. POLKOWSKA, Ł. ADASZEK, W. ŁOPUSZYNSKI, R., KOMSTA, A. KOROLCZUK, J. JACKOW-NOWICKA (2022): Horse anaplasmosis as a cause of CNS infections and the use of computed tomography as a diagnostic imaging tool to present of its cerebral form: literature review supplemented with a clinical case. *Med. Weter.* 78, 239–243. <https://doi.org/dx.doi.org/10.21521/mw.6651>

OBOŇA, J., O. SYCHRA, S. GREŠ (2019): A revised annotated checklist of louse flies (Diptera, Hippoboscidae) from Slovakia. *ZooKeys.* 862, 129–152. <https://doi.org/10.3897/zookeys.862.25992>

OBOŇA, J., J. FOGAŠOVA, M. FULIN, S. GREŠ, P. MANKO, J. REPASKY, J. ROHAČEK, O. SYCHRA, M. HROMADA (2022): Updated taxonomic keys for European Hippoboscidae (Diptera), and expansion in Central Europe of the bird louse fly *Ornithomya comosa* (Austen, 1930) with the first record from Slovakia. *Zookeys.* 115, 81–101. <https://doi.org/10.3897/zookeys.115.80146>

OGDEN, N. H., A. N. J. CASEY, Z. WOLDEHIWET, N. P. FRENCH (2003): Transmission of *Anaplasma phagocytophilum* to *Ixodes ricinus* ticks from sheep in the acute and post-acute phases of infection. *Infect. Immun.* 71, 2071-2078. <https://doi.org/10.1128/iai.71.4.2071-2078.2003>

OĞUZ, B. (2021): First molecular detection and phylogenetic analysis of *Anaplasma phagocytophilum* in horses in Muş Province of Turkey. *Kou. Sag. Bil. Derg.* 7, 312-318. <https://doi.org/10.30934/kusbed.895438>

OHASHI, N. (2013): Potential emerging “Anaplasmosis” and “Ehrlichiosis” infectious diseases and their arthropod vectors in Japan. *Med. Entomol. Zool.* 64, 9-10. <https://doi.org/10.7601/mez.64.9>

OIE, (2021): CHAPTER 3.6.8. EQUINE PIROPLASMOSIS dostupno online chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgclefindmkaj/https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.06.08_EQUINE_PIROPLASMOSIS.pdf

ONYICHE, T. E., K. SUGANUMA, I. IGARASHI, N. YOKOYAMA, X. XUAN, O.THEKISOE (2019): A review on equine piroplasmosis: epidemiology, vector ecology, risk factors, host immunity, diagnosis and control. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 16, 173-178. <https://doi.org/10.3390/ijerph16101736>

ONYICHE, T. E., M. O. TAI OE, N. I. MOLEFE, A. A. BIU, J. LUKA, I. J. OMEH, O. THEKISOE (2020): Equine piroplasmosis: An insight into global exposure of equids from 1990 to 2019 by systematic review and meta-analysis. *Parasitology.* 147, 1411-1424. <https://doi.org/10.1017/S0031182020001407>

OTGONSUREN, D., T. AMGALANBAATAR, L. NARANTSATSRAL, S. ENKHTAIVAN, D. MUNKHGEREL, M. ZOLJARGAL, N. YOKOYAMA (2024): Epidemiology and genetic diversity of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in Mongolian horses. *Infect. Genet. Evol.* 119, 155-159. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2024.105571>

OZUBEK, S., M. AKTAS (2017): Molecular and parasitological survey of ovine piroplasmosis, including the first report of *Theileria annulata* (Apicomplexa: Theileridae) in sheep and goats from Turkey. *J. Med. Entomol.* 54, 212-220. <https://doi.org/10.1093/jme/tjw134>

PALOMAR, A. M., A. PORTILLO, P. SANTIBÁÑEZ, D. MAZUELAS, L. RONCERO, L. GARCÍA-ÁLVAREZ, J. A. OTEO (2015): Detection of tick-borne *Anaplasma bovis*, *Anaplasma phagocytophilum* and *Anaplasma centrale* in Spain. *Med. Vet. Entmol.* 29, 349-353. <https://doi.org/10.1111/mve.12124>

PASSAMONTI, F., V. FABRIZIA, C. KATIA, C. STEFANO, C. GIACOMO, M. LUISA, D. PIERGILI FIORETTI, A. VERINI SUPPLIZI, C. MAURO (2010): *Anaplasma phagocytophilum* in horses and ticks: a preliminary survey of Central Italy. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 33, 73-83. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2008.08.002>

PATRA, G., P. BEHERA, S. K. DAS, B. SAIKIA, S. GHOSH, P. BISWAS, A. KUMAR, S. S. ALAM, L. KAWLNI, C. LALNUNPUIA, C. LALCHHANDAMA (2018): *Stomoxys calcitrans* and its importance in livestock. *Int. J. Adv. Agric. Res.* 6, 0-37. <https://doi.org/10.7601/mez.64.9>

PAWEŁCZYK, O., M. ASMAN, K. SOLARZ (2019): The molecular detection of *Anaplasma phagocytophilum* and *Rickettsia* spp. in cat and dog fleas collected from companion animals. *Folia Parasitol.* 66, 1-5. <http://dx.doi.org/10.14411/fp.2019.020>

PEARSON, P., G. XU, E. L. SIEGEL, M. RYAN, C. RICH, M. J., FEEHAN, S. M. RICH (2025): Detection of *Anaplasma phagocytophilum* dna in deer keds: Massachusetts, USA. *Insects.* 16, 42. <https://doi.org/10.3390/insects16010042>

PECKLE, M., M. PIRES, T. SANTOS, E. R. ROIER, C. SILVA (2013): Molecular epidemiology of *Theileria equi* in horses and their association with possible tick vectors in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Parasitol. Res.* 112, 2017–2025. <https://doi.org/10.1007/s00436-013-3360-0>

PEÑA-ESPINOZA, M., B. SHAHI-BAROGH, D. BERER, G. G. DUSCHER, L. VAN DER VLOEDT, W. GLAWISCHNIG, S. REHBEIN, J. HARL, M. S. UNTERKÖFLER, H. P. FUEHRER (2023). Molecular pathogen screening of louse flies (Diptera: Hippoboscidae) from domestic and wild ruminants in Austria. *Parasit. Vectors.* 16, 179. <https://doi.org/10.1186/s13071-023-05810-4>

PERIS, M. P., M. SERRANO, A. ROMERO, M. GARCÍA, N. HALAIHEL, J. CASTILLO, M. J. GRACIA (2025): Prevalence rates of *Babesia caballi* and *Theileria equi* in the horse population of

northern Spain: a serological and molecular study. *Vet. Res. Commun.* 49, 151. <https://doi.org/10.1007/s11259-025-10722-y>

PFEIFER-BARBOSA, I., R. BOSE, B. PEYMANN, K. T. FRIEDHOFF (1995): Epidemiological aspects of equine babesiosis in a herd of horses in Brazil. *Vet. Parasitol.* 58, 1–8. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(94\)00704-G](https://doi.org/10.1016/0304-4017(94)00704-G)

PHELIPON, R., N. HENNES, A. RUET, A. BRET-MOREL, A. GÓRECKA-BRUZDA, L. LANSADE (2024): Forage, freedom of movement, and social interactions remain essential fundamentals for the welfare of high-level sport horses. *Front. Vet. Sci.* 11, 150-158. <https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1504116>

PHETKARL, T., P. FUNGWITHAYA, S. UDOMPORNPRASITH, J. AMENDT, N. SONTIGUN (2023): Preliminary study on prevalence of hemoprotozoan parasites harbored by *Stomoxys* (Diptera: Muscidae) and tabanid flies (Diptera: Tabanidae) in horse farms in Nakhon Si Thammarat province, Southern Thailand. *Vet. World* 16, 21-28. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2023.2128-2134>

PHIPPS, L. P., A. OTTER (2004) Transplacental transmission of *Theileria equi* in two foals born and reared in the United Kingdom. *Vet. Rec.* 154, 406–408.

POH, K. C., K. OYEN, C. K. ONZERE, L. S. KAPPMAYER, R. G. BASTOS (2025): *Haemaphysalis longicornis* ticks are unable to transstadially transmit *Theileria haneyi* to horses. *Front. Vet. Sci.*, 12, 157-163. <https://doi.org/10.3389/fvets.2025.1572944>

POTGIETER, F. T., D. D. WAAL, E. S. POSNETT (1992): Transmission and diagnosis of equine babesiosis in South Africa. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 87, 139-142. <https://doi.org/10.1590/S0074-02761992000700021>

POVOLNÝ, D., Y. VERVES (1997): The Flesh-Flies of Central Europe (Insecta, Diptera, Sarcophagidae). *Spixiana.* 24, 264-280.

PUSTERLA, N., J. S. CHAE, R. B. KIMSEY, J. BERGER PUSTERLA, E. DEROCK, J. S. DUMLER, J. E. MADIGAN (2002): Transmission of *Anaplasma phagocytophila* (human granulocytic ehrlichiosis agent) in horses using experimentally infected ticks (*Ixodes scapularis*). *J. Vet. Med.* 49, 484-488. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0450.2002.00598.x>

- PUSTERLA, N., J. E. MADIGAN (2013): Equine granulocytic anaplasmosis. *J. Equine Vet. Sci.* 33, 493-496. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2013.03.188>
- QABLAN, M. A., M. SLOBODA, M. JIRKŮ, M. OBORNÍK, S. DWAIRI, Z. S. AMR, P. HOŘÍN, J. LUKEŠ, D. MODRÝ (2012): Quest for the piroplasms in camels: identification of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in Jordanian dromedaries by PCR. *Vet Parasitol.* 186, 456–460. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.11.070>
- QABLAN, M.A., M. OBORNIK, K. J. PETRŽELKOVÁ, M. SLOBODA, M. SHUDIEFAT, P. HOŘÍN, D. MODRÝ (2013): Infections by *Babesia caballi* and *Theileria equi* in Jordanian equids: Epidemiology and genetic diversity. *Parasitol.* 140, 1096–1103. <https://doi.org/10.1017/S0031182013000486>
- QIN, S., T. KULABIEKE, D. MIZHAMUHAN, M. ZHANG, M. JIN, G. ABULA, M. PI, H. WANG, Y. ZHANG, Q. GUO. (2025): Molecular Prevalence and Genotypic Diversity of *Theileria equi* in Xinjiang, China, Based on Three Genes. *Vet. Sci.* 13, 27-30. <https://doi.org/10.3390/vetsci13010027>
- RAELE, D. A., D. GALANTE, N. PUGLIESE, E. DE SIMONE, M. A. CAFIERO (2015): Coxiella-like endosymbiont associated to the “Anatolian brown tick” *Rhipicephalus bursa* in Southern Italy. *Microbes Infect.* 17, 799-805. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2015.09.011>
- RAPOPORT, A., K. AHARONSON-RAZ, D. BERLIN, S. TAL, Y. GOTTLIEB, E. KLEMENT, A. STEINMAN (2014): Molecular characterization of the *Babesia caballi* rap-1 gene and epidemiological survey in horses in Israel. *Infect. Genet. Evol.* 23, 115-120. <https://doi.org/10.3390/ijms20010138>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2011.09.019>
- RAR, V., T. I. EPIKHINA, V. V. YAKIMENKO, M. G. MALKOVA, A. K. TANCEV, E. I. BONDARENKO, M. K. IVANOV, N. V. TIKUNOVA (2014): Genetic variability of *Anaplasma phagocytophilum* in ticks and voles from *Ixodes persulcatus*/*Ixodes trianguliceps* sympatric areas

from Western Siberia, Russia. *Ticks Tick Borne Dis.* 5, 854-863.
<https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2014.07.008>

RAR, V., S. TKACHEV, N. TIKUNOVA, N. (2021): Genetic diversity of *Anaplasma* bacteria: Twenty years later. *Infect. Genet. Evol.* 91, 104- 112.
<https://doi.org/10.1016/j.meegid.2021.104833>

RAR, V., V. MARCHENKO, O. SUNTSOVA, T. EPIKHINA, A. TIKUNOV, I. MELTSOV, V. FEDORETS, Y. IGOLKINA, I. KOZLOVA, N. TIKUNOVA (2024): The first study of the prevalence and genetic diversity of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in horses in Russia. *Parasitol. Res.* 123, 279. <https://doi.org/10.1007/s00436-024-08300-3>

RAR, V., V. MARCHENKO, T. EPIKHINA, A. TIKUNOV, O. SUNTSOVA, L. KOZLOVA, N. TIKUNOVA (2025): The first genetic study of *Babesia caballi*, *Theileria equi*, and *Babesia occultans* in *Dermacentor* spp. in Russian Siberia. *Exp. Appl. Acarol.* 95, 1-13.
<https://doi.org/10.1007/s10493-025-01057-z>

RAZA, A., M. IJAZ, K. MEHMOOD, K. AHMED, A. JAVED, M. U. ANWAAR, N. Z. GHUMMAN (2024): *Theileria equi* infection in working horses of Pakistan: epidemiology, molecular characterization, and hematobiochemical analysis. *J. Parasitol.* 110, 79-89.
<https://doi.org/10.1645/23-58>

RAŽANSKĚ, I., O. ROSEF, J. RADZIJEVSKAJA, R. KRIKŠTOLAITIS, A. PAULASKAS (2021): Impact of tick-borne *Anaplasma phagocytophilum* infections in calves of moose (*Alces alces*) in southern Norway. *Folia Parasitol.* 68, 268-276. <https://doi.org/10.14411/fp.2021.023>

REMESAR, S., D. CANO-TERRIZA, P. MORRONDO, A. OLEAGA, B. MORONI, N. SANTOS, R. ORUSA, L. GUARDONE, P. DÍAZ, D. GARCÍA-DIOS, SAÚL JIMÉNEZ-RUIZ, J. FERREIRA-SILVA, M. GONZÁLVEZ, S. ROBETTO, I. GARCÍA-BOCANEGRA, I. GARCÍA-BOCANEGRA (2025): Prevalence of tick-borne pathogens in grey wolves (*Canis lupus*) in southwestern Europe. *Vet. Microbiol.* 307, 110-121.
<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2025.110579>

- RESTIFO, M. M., D. BEDENICE, K. E. THANE, M. R. MAZAN (2015): Cavitary effusion associated with *Anaplasma phagocytophilum* infection in 2 equids. *J. Vet. Intern. Med.* 29, 732-735. <https://doi.org/10.1111/jvim.12552>
- RICHTER, S. (1954): Vrste Haemosporidia konja i goveda u NR Hrvatskoj njihova raširenost i vrijeme pojavljivanja. Doktorska disertacija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
- RIKIHISA, Y. (2010): *Anaplasma phagocytophilum* and *Ehrlichia chaffeensis*: subversive manipulators of host cells. *Nat. Rev. Microbiol.* 8, 328-339. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2318>
- RJEIBI, M. R., S. AMAIRIA, M. MHADHBI, M. REKIK, M. GHARBI (2022): Detection and molecular identification of *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia* spp. infections in *Hyalomma aegyptium* ticks in Tunisia. *Arch. Microbiol.* 204, 385. <https://doi.org/10.1007/s00203-022-02995-7>
- ROBERTS, C. W., W. WALKER, J. ALEXANDER (2001): Sex-associated hormones and immunity to protozoan parasites. *Clin. Microbiol. Rev.* 14, 476–488. <https://doi.org/10.1128/cmr.14.3.476-488.2001>
- ROBY, T. O., D. W. ANTHONY, C. W. THORNTON, J. R. HOLBROOK (1964): The hereditary transmission of *Babesia caballi* in the tropical horse tick, *Dermacentor nitens* Neumann. *Am. J. Vet. Res.* 25, 494–99.
- ROCAFORT-FERRER, G., A. LEBLOND, A. JOULIÉ, M. ENÉ-MARTELLET, A. SANDOZ, V. POUX, S. PRADIER, S. BARRY, L. VIAL, L. LEGRAND (2022): Molecular assessment of *Theileria equi* and *Babesia caballi* prevalence in horses and ticks on horses in southeastern France. *Parasitol. Res.* 12, 999-1008. <https://doi.org/10.1007/s00436-022-07441-7>
- RODRIGUEZ-BAUTISTA J. L., H. IKADAI, M. YOU, B. BATTSETSEG, I. IGARASHI (2001): Molecular evidence of *Babesia caballi* (Nuttall and Strickland, 1910) parasite transmission from experimentally-infected SCID mice to the ixodid tick, *Haemaphysalis longicornis* (Neuman, 1901). *Vet. Parasitol.* 102, 185–91. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(01\)00531-3](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(01)00531-3)
- ROMANENKO, V. N. (2005): Visual potentialities of the tick *Hyalomma asiaticum asiaticum* (Ixodidae). *Parazitologija.* 39, 186-190. <https://doi.org/10.1089/vbz.2009.0033>

- ROMITI, F., A. MAGLIANO, V. ANTOGNETTI, G. MANNA, A. CERSINI, M. T. SCICLUNA, C. DE LIBERATO (2020): Investigation of Ixodid ticks as vectors of *Babesia caballi* and *Theileria equi* (Protozoa: Apicomplexa) in central Italy. *J. Vector Ecol.* 45, 25-31. <https://doi.org/10.1111/jvec.12370>
- ROS-GARCIA, A., Y. M'GHIRBI, A. HURTADO, A. BOUATTOUR (2013): Prevalence and genetic diversity of piroplasm species in horses and ticks from Tunisia. *Infect. Genet. Evol.* 17, 33–37. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.03.038>
- ROTHSCHILD, C. M. (2013): Equine piroplasmosis. *J. Equine Vet. Sci.* 33, 497-508. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2013.03.189>
- RUBEL, F., K. BRUGGER, M. PFEFFER, L. CHITIMIA-DOBLER, Y. DIDYK, S. LEVERENZ, O. KAHL (2016): Geographical distribution of *Dermacentor marginatus* and *Dermacentor reticulatus* in Europe. *Ticks Tick Borne Dis.* 7, 224-233. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2015.10.015>
- RÜEGG, S. R., P. TORGERSON, P. DEPLAZES, A. MATHIS (2007): Age-dependent dynamics of *Theileria equi* and *Babesia caballi* infections in southwest Mongolia based on IFAT and/or PCR prevalence data from domestic horses and ticks. *Parasitol.* 134, 939-47. <https://doi.org/10.1017/S0031182007002405>
- RÜEGG, S. R., D. HEINZMANN, A. D. BARBOUR P. R. TORGERSON (2008): Estimation of the transmission dynamics of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in horses. *Parasitol.* 135, 555–565. <https://doi.org/10.1017/S0031182008004204>
- RUSSELL, A., N. SHOST, M. BURCH, L. L. SALAZARA, K. FIKES, J. BECHELLI, J. SUAGEE-BEDORE (2021): Serological and molecular detection of *Anaplasma* spp. in blood from healthy horses: a preliminary study of horses in East Texas. *J. Equine Vet. Sci.* 106, 103-108. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2021.103757>
- SADEDDINE, R., S. RIGHI, K. SAIDANI, A. BENAKHLA (2025): First molecular characterization of *Theileria equi* from Northeastern Algeria. *Acta Parasitol.* 70, 66. <https://doi.org/10.1007/s11686-025-01006-1>

SAINZ, Á., X. ROURA, G. MIRÓ, A. ESTRADA-PEÑA, B. KOHN, S. HARRUS, L. SOLANO-GALLEGO, L. (2015): Guideline for veterinary practitioners on canine ehrlichiosis and anaplasmosis in Europe. *Parasit. Vectors.* 8, 75. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0649-0>

SALEEM, S., M. IJAZ, S. H. FAROOQI, M. I. RASHID, A. KHAN, A. MASUD, A. I. AQIB, K. HUSSAIN, K. MEHMOOD, H. ZHANG (2018): First molecular evidence of equine granulocytic anaplasmosis in Pakistan. *Acta Trop.* 180, 18-25. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.12.032>

SALEM, A., M. FRANC, P. JACQUIET, E. BOUHSIRA, AND E. LIÉNARD (2012): Feeding and breeding aspects of *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) under laboratory conditions. *Parasite.* 19, 309–317. <https://doi.org/10.1051/parasite/2012194309>

SALIM, B., A. D. ALANAZI, R. OMORI, M. S. ALYOSUIF, I. ALANAZI, I. O. KATAKURA, R. NAKAO (2019): Potential role of dogs as sentinels and reservoirs for piroplasms infecting equine and cattle in Riyadh City, Saudi Arabia. *Acta trop.* 193, 78-83.

SANG, C., M. YANG, B. XU, G. LIU, Y. YANG, K. KAIRULLAYEV, Y. WANG (2021): Tick distribution and detection of *Babesia* and *Theileria* species in Eastern and Southern Kazakhstan. *Ticks Tick Borne Dis.* 12, 101-115. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2021.101817>

SANT, C., R. D'ABADIE, I. PARGASS, A. K. BASU, Z. ASGARALI, R. A. CHARLES, K. C. GEORGES (2016): Prospective study investigating transplacental transmission of equine piroplasmosis in thoroughbred foals in Trinidad. *Vet. Parasitol.* 226, 132-137. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.07.008>

SANTOS, A. S., A. DE BRUIN, A. R. VELOSO, C. MARQUES, I. P. DA FONSECA, R. DE SOUSA, M. M. SANTOS-SILVA (2018): Detection of *Anaplasma phagocytophilum*, *Candidatus Neoehrlichia* sp., *Coxiella burnetii* and *Rickettsia* spp. in questing ticks from a recreational park, Portugal. *Ticks Tick Borne Dis.* 9, 1555-1564. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.07.010>

SCHÄFER, I., C. S. SILAGHI, C. FISCHER, G. MARSBOOM, H. HENDRICKX, E. GEHLEN, M. MÜLLER (2022): Detection of *Anaplasma phagocytophilum* in horses from Germany by

molecular and serological testing (2008–2021). *Vet. Parasitol.* 312, 109-114. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2022.109840>

SCHARF, W., S. SCHAUER, F. FREYBURGER, M. PETROVEC D. SCHAARSCHMIDT-KIENER, G. LIEBISCH (2011): Distinct host species correlate with *Anaplasma phagocytophilum* ankA gene clusters. *J. Clin. Microbiol.* 49, 790–6. <https://doi.org/10.1128/jcm.02051-10>

SCHEIN, E., G. REHBEIN, W. P. VOIGT, E. ZWEYGARTH (1981): *Babesia equi* (Laveran 1901) 1. Development in horses and in lymphocyte culture. *Tropenmed. Parasitol. Dec.* 32, 223-7.

SCHNITTGER, L., H. YIN, B. QI, J. M. GUBBELS, D. BEYER, S. NIEMANN, E. JONGEJAN, J. S AHMED (2004): Simultaneous detection and differentiation of *Theileria* and *Babesia* parasites infecting small ruminants by reverse line blotting *Parasitol. Res.* 92, 189-196. <https://doi.org/10.1007/s00436-003-0980-9>

SCHOFIELD, S., S. J. TORR (2002): A comparison of the feeding behaviour of tsetse and stable flies. *Med. Vet. Entomol.* 16, 177-185. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2915.2002.00361.x>

SCHREEG, M. E., H. S. MARR, J. L. TARIGO, L. A. COHN, D. M. BIRD, E. H. SCHOLL (2016): Mitochondrial genome sequences and structures aid in the resolution of piroplasmida phylogeny. *PLoS One.* 11, 620-631. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165702>

SCHWINT O. N., D. P. KNOWLES, N. W. UETI, L. S. KAPPMAYER, G. A. SCOLES (2008) Transmission of *Babesia caballi* by *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae) is restricted to one generation in the absence of alimentary reinfection on a susceptible equine host. *J. Med. Entomol.* 45, 1152–55. <https://doi.org/10.1093/jmedent/45.6.1152>

SCOLES, G. A., M. W. UETI (2015): Vector ecology of equine piroplasmosis. *Annu. Rev. Entomol.* 60, 561-580. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-010814-021110>

SEARS, K. P., L. S. KAPPMAYER, L. N. WISE, M. SILVA, M. W. UETI, S. WHITE, D. P. KNOWLES (2019): Infection dynamics of *Theileria equi* and *Theileria haneyi*, a newly discovered apicomplexan of the horse. *Vet. Parasitol.* 71, 68-75. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2019.06.009>

SEARS, K., D. KNOWLES, K. DINKEL, P. W. MSHELIA, C. ONZERE, M. SILVA, L. FRY, (2020): Imidocarb dipropionate lacks efficacy against *Theileria haneyi* and fails to consistently

clear *Theileria equi* in horses co-infected with *T. haneyi*. *Pathogens*. 9, 103-115.
<https://doi.org/10.3390/pathogens9121035>

SEARS, K. P., D. P. KNOWLES, L. M. FRY (2022): Clinical progression of *Theileria haneyi* in splenectomized horses reveals decreased virulence compared to *Theileria equi*. *Pathogens*. 11, 254.
<https://doi.org/10.3390/pathogens11020254>

SELMI, R.; M. BEN SAID, M. DHIBI, H. BEN YAHIA, H. ABDELAALI, L. MESSADI (2020): Genetic diversity of groEL and msp4 sequences of *Anaplasma ovis* infecting camels from Tunisia. *Parasitol. Int.* 74, 101- 119. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2019.101980>

SEO, M. G., S. H. YUN, S. K. CHOI, G. J. CHO, Y. S. PARK, O. D. KWON, D. KWAK (2011): Seroprevalence of equine piroplasms in the Republic of Korea. *Vet. Parasitol.* 179, 224-226.
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.02.020>

SEO, M. G., O. D. KWON, D. KWAK (2019): *Anaplasma bovis* infection in a horse: First clinical report and molecular analysis. *Vet. Microbiol.* 233, 47-51.
<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2019.04.024>

SEO, M. G., I. OUH, D. KWAK (2023): Detection and genotypic analysis of *Anaplasma bovis* and *A. phagocytophilum* in horse blood and lung tissue. *J. Mol. Sci.* 24, 3239.
<https://doi.org/10.3390/ijms24043239>

SHARIF, M. (1938): Diseases transmitted by the Indian species of ticks and the possibility of their prevention through biological control. *Indian J. Vet. Sci.* 8, 353–66.

SHORT, M. A, C. K. CLARK, J. W. HARVEY, N. WENZLOW, I. K. HAWKINS, D. R. ALLRED, D. P. KNOWLES, J. L. CORN, J. F. GRAUSE, S. G. HENNAGER, D. L. KITCHEN, J. L. TRAUB-DARGATZ (2012): Outbreak of equine piroplasmiasis in Florida. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 240, 588–595. <https://doi.org/10.2460/javma.240.5.588>

SILAGHI, C., G. LIEBISCH, K. PFISTER (2011): Genetic variants of *Anaplasma phagocytophilum* from 14 equine granulocytic anaplasmosis cases. *Parasit. Vectors.* 4, 161.
<https://doi.org/10.1186/1756-3305-4-161>

SIM, R. R., P. H. JOYNER, L. R. PADILLA, P. ANIKIS, C. AITKEN-PALMER (2017): Clinical disease associated with *Anaplasma phagocytophilum* infection in captive Przewalski's horses (*Equus ferus przewalskii*). *J. Zoo Wildl. Med.* 48, 497-505. <https://doi.org/10.1638/2016-0247R.1>

SIMPSON, C. F., W. W. KIRKHAM, J. M. KLING (1967): Comparative morphologic features of *Babesia caballi* and *Babesia equi*. *Am. J. Vet. Res.* 28, 1693– 1697.

SIPPEL, W. L., D. E. COOPERRIDER, J. H. GAINER, R. W. ALLEN, J. E. B. MOUW, M. B. TIEGLAND (1962): Equine piroplasmiasis in the United States. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 141, 694-8.

SISKA, W. D., R. E. TUTTLE, J. B. MESSICK, T. M. BISBY, B. TOTH, B., J. E. KRITCHEVSKY (2013): Clinicopathologic characterization of six cases of Equine Granulocytic Anaplasmosis in a nonendemic area (2008-2011). *J. Equine Vet. Sci.* 33, 653-657. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2012.10.003>

SIVELL, O. (2021): Blow flies (Diptera: Calliphoridae, Polleniidae, Rhiniidae) Handbooks for the identification of British Insects. 1st ed., Royal Entomological Society. London. (33)

SLIVINSKA, K., B. VÍCHOVÁ, J. WERSZKO, T. SZEWCZYK, Z. WRÓBLEWSKI, B. PEŤKO, G. KARBOWIAK (2016): Molecular surveillance of *Theileria equi* and *Anaplasma phagocytophilum* infections in horses from Ukraine, Poland and Slovakia. *Vet. Parasitol.* 215, 35-37. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.10.025>

SMITH, T., F. H. KILBORNE (1893): Investigations into the nature, causation and prevention of Texas or Southern cattle fever. *Bull. Bureau. Anim. Ind. Wash.* 1, 177-185.

SNEGIRIOVAITĖ, J., I. LIPATOVA, M. RAZGŪNAITĖ, A. PAULAUSKAS, J. RADZIJEVSKAJA (2025): Molecular Surveillance of *Neoehrlichia mikurensis* and *Anaplasma phagocytophilum* in Ticks from Urbanized Areas of Lithuania. *Pathogens.* 14, 642. <https://doi.org/10.3390/pathogens14070642>

SOKÓŁ, R., M. MICHALSKI (2015): Occurrence of *Hippobosca equina* in Polish primitive horses during the grazing season. *Ann. Parasitol.* 61, 118–122. <https://doi.org/10.3390/ijerph192416978>

SPRONG, H., M. FONVILLE, A. D. VAN LEEUWEN, E. DEVILLERS, A. IBAÑEZ-JUSTICIA, A. STROO, S. MOUTAILLER (2019): Detection of pathogens in *Dermacentor reticulatus* in northwestern Europe: evaluation of a high-throughput array. *Heliyon*. 5, 10-15. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01270>

STIGUM, V. M., R. I. JAARSMA, H. SPRONG, C. M. ROLANDSEN, C. M. A. MYSTERUD, (2019): Infection prevalence and ecotypes of *Anaplasma phagocytophilum* in moose *Alces alces*, red deer *Cervus elaphus*, roe deer *Capreolus capreolus* and *Ixodes ricinus* ticks from Norway. *Parasit. Vectors*. 12, 168-175. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3256-z>

STILLER, D., M. E. COAN , W. L. GOFF (1982): Experimental transmission of equine piroplasmiasis by the American dog tick, *Dermacentor variabilis*. *Proc. Int. Congr. Parasitol.*, 5th, Tor., Can. Amsterdam: Elsevier Biomed. Press

STILLER, D., M. E. COAN (1995): Recent developments in elucidating tick vector relationships for anaplasmosis and equine piroplasmiasis. *Vet. Parasitol.* 57, 97-108. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(94\)03114-C](https://doi.org/10.1016/0304-4017(94)03114-C)

STILLER, D., W. L. GOFF, D. P. KNOWLES (2002): *Dermacentor variabilis* and *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae): experimental vectors of *Babesia equi* to equids. *J. Med. Entomol.* 39, 667–670. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-39.4.667>

STOFFOLANO, J. G. (2022): Synanthropic flies—a review including how they obtain nutrients, along with pathogens, store them in the crop and mechanisms of transmission. *Insects*. 13, 776.

STOUTE, R.A. (1917): Piroplasmiasis equine malaria *J. Am. Vet. Med. Asso.* 51, 239. <https://doi.org/10.3390/insects13090776>

STRICKLAND R. K, R. R. GARRISH (1964): Distribution of the tropical horse tick in the United States with notes on associated cases of equine piroplasmiasis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 144, 875–78

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. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2013.00031>

STUEN, S., W. OKSTAD, A. M. SAGEN (2018): Intrauterine transmission of *Anaplasma phagocytophilum* in persistently infected lambs. *Vet. Sci.* 5, 25. <https://doi.org/10.3390/vetsci5010025>

SUBBIAH, M., N. THIRUMALAPURA, D. THOMPSON, S. V. KUCHIPUDI, B. JAYARAO, D. TEWARI (2021): Detection of *Anaplasma Phagocytophilum* in horses with suspected tick-borne disease in northeastern United States by metagenomic sequencing. *Front. Vet. Sci.*, 8, 673-680. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.673193>

SUDAN, V., A. K. JAISWAL, A. SRIVASTAVA, A. SAXENA, D. SHANKER, D. (2015): A rare clinical presentation of transplacental transmission and subsequent abortion by *Babesia (Theileria) equi* in a mare. *J. Parasit. Dis.* 39, 336-338. <https://doi.org/10.1007/s12639-013-0337-y>

SUZUKI, J., F. SASAOKA, M. FUJIHARA, Y. WATANABE, T. TASAKI, S. ODA S. KOBAYASHI, R. SATO, K. NAGAI, R. HARASAWA (2011): Molecular identification of 'Candidatus *Mycoplasma haemovis*' in sheep with hemolytic anemia. *J. Vet. Med. Sci.* 73, 1113–1115. <https://doi.org/10.1292/jvms.11-0113>

TAGAWA, M., T. TAKEUCHI, T. FUJISAWA, Y. KONNO, S. YAMAMOTO, K. MATSUMOTO, N. YOKOYAMA, H. INOKUMA (2012): A clinical case of severe anemia in a sheep coinfecting with *Mycoplasma ovis* and “Candidatus *Mycoplasma haemovis*” in Hokkaido, Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 74, 99–102. <https://doi.org/10.1292/jvms.11-0296>

TAMZALI, Y. (2013): Equine piroplasmiasis: An updated review. *Equine Vet. Educ.* 25, 590-598. <https://doi.org/10.1111/eve.12070>

TAN, L. P., N. Z. RAJDI, I. M. MOHAMAD, M. MOHAMED, R. H. HAMDAN, M. A. KHAN, S. A. SYAZWAN, L. S. HUA (2022): First report of *Trypanosoma theileri* in equine host and *tabanus* sp. in Malaysia. *J. Equine Vet. Sci.* 108, 103-108. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2021.103807>

TATE, C. M., E. W. HOWERTH, D. G. MEAD, V. G. DUGAN, M. P. LUTTRELL, A. I. SAHORA, M. J. YABSLEY (2013): *Anaplasma odocoilei* sp. nov. (family Anaplasmataceae) from

white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). *Ticks Tick Borne Dis.* 4, 110-119. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2012.09.005>

TEODOROWSKI, O., M. KALINOWSKI, D. WINIARCZYK, R. JANECKI, S. WINIARCZYK, Ł. ADASZEK (2021): Molecular surveillance of tick-borne diseases affecting horses in Poland—Own observations. *Vet. Med. Sci.* 7, 1159-1165. <https://doi.org/10.1002/vms3.451>

THEILER, A. (1901): Die Pferde-Malaria. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* 43, 253–280.

THEILER, A. (1905): Further notes on piroplasmiasis of the horse, mule, and donkey. *J. Comp. Pathol. Ther.* 18, 229-239.

THEILER, A. (1906): Transmission of equine piroplasmiasis by ticks in South Africa. *J. Comp. Pathol. Ther.* 19, 283–92.

THOMAS, A. W. (1973): Foliicle developmental stages in blood-seeking horseflies (Diptera: Tabanidae) in Alberta, Canada. *J. Med. Entomol.* 10, 325-328. <https://doi.org/10.1093/jmedent/10.4.325>

THOMPSON, P. H. (1969): Ticks as vectors of equine piroplasmiasis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 155, 454-745.

TIAN, Z. C., G. Y. LIU, H. YIN, J. X. LUO, G. Q. GUAN, J. LUO, X. JUN-REN, S. HUI, T. MEI-YUAN, Z. JIN-FENG, Y. XIAO-SONG, WANG, F. F. (2013): RPS8—A NEW INFORMATIVE DNA MARKER FOR PHYLOGENY OF BABESIA AND THEILERIA PARASITES IN CHINA. *Plos One.* 8, 760-789. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079860>

TIROSH-LEVY, S., A. STEINMAN, A. EINHORN, A. APANASKEVICH, K. Y. MUMCUOGLU, Y. GOTTLIEB (2020a): Potential tick vectors for *Theileria equi* in Israel. *Med. Vet. Entomol.* 34, 291-294. <https://doi.org/10.1111/mve.12435>

TIROSH-LEVY, S., A. STEINMAN, H. LEVY, Y. KATZ, M. Y. SHTILMAN, M., Y. GOTTLIEB (2020b). Parasite load and genotype are associated with clinical outcome of piroplasm-infected equines in Israel. *Parasit. Vectors* 13, 267. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04133-y>

TIROSH-LEVY, S., Y. GOTTLIEB, L. M. FRY, D. P. KNOWLES, A. STEINMAN (2020c): Twenty years of equine piroplasmosis research: global distribution, molecular diagnosis, and phylogeny. *Pathogens* 9, 926-931. <https://doi.org/10.3390/pathogens911092>

TIROSH-LEVY, S., Y. GOTTLIEB, L. MIMOUN, M. L. MAZUZ, A. STEINMAN (2020d): Transplacental transmission of *Theileria equi* is not a common cause of abortions and infection of foals in Israel. *Animals*, 10, 341. <https://doi.org/10.3390/ani10020341>

TIROSH-LEVY, S., A. STEINMAN, E. ELIRAN ABU, A. SHNAIDERMAN-TORBAN, R. ZVEIBIL, N. EDERY, L. MOSS, M. L. MAZUZ (2021): Co-Infection with *Theileria equi* and *Babesia caballi* in a Yearling Filly. *Isr. J. Vet. Med.* 76, 3. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2022.109664>

TORINA, A., V. BLANDA, S. VILLARI, A. PIAZZA, F. LA RUSSA, F. GRIPPI, M. P. LA MANNA, D. DI LIBERTO, J. DE LA FUENTE, G. SIRECI (2020): Immune response to Tick-Borne hemoparasites: Host adaptive immune response mechanisms as potential targets for therapies and vaccines. *Int. J. Mol. Sci.* 21, 281-283. <https://doi.org/10.3390/ijms21228813>

TSACHEV, I., V. PANTCHEV, P. MARUTSOV, V. PETROV, D. GUNDASHEVA, M. BAYMAKOVA (2018): Serological evidence of *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum* and *Ehrlichia* spp. infections in horses from Southeastern Bulgaria. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 18, 588-594. <https://doi.org/10.1089/vbz.2018.2293>

UETI, M. W., G. H. PALMER, L. S. KAPPEMEYER, G. A. SCOLES, D. P. KNOWLES (2003): Expression of equi merozoite antigen 2 during development of *Babesia equi* in the midgut and salivary gland of the vector tick *Boophilus microplus*. *J. Clin. Microbiol.* 41, 5803-5809. <https://doi.org/10.1128/jcm.41.12.5803-5809.2003>

UETI, M. W., G. H. PALMER, L. S. KAPPEMEYER, M. STATDFIELD, G. A. SCOLES, D. P. KNOWLES (2005): Ability of the vector tick *Boophilus microplus* to acquire and transmit *Babesia equi* following feeding on chronically infected horses with low-level parasitemia. *J. Clin. Microbiol.* 43, 3755-59. <https://doi.org/10.1128/jcm.43.8.3755-3759.2005>

UETI, M. W., G. H. PALMER, G. A. SCOLES, L. S. KAPPEMEYER, D. P. KNOWLES (2008): Persistently infected horses are reservoirs for intrastadial tick-borne transmission of the

apicomplexan parasite *Babesia equi*. *Infect. Immun.* 76, 3525–3529.
<https://doi.org/10.1128/iai.00251-08>

UETI, M. W., R. H. MEALEY, L. S. KAPPMAYER LS (2012): Re-emergence of the apicomplexan *Theileria equi* in the United States: Elimination of persistent infection and transmission risk. *PLoS One.* 7, 447-451. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044713>

URIE, N. J., M. A. HIGHLAND, D. P. KNOWLES, M. A. BRANAN, D. R. HERNDON, K. L. MARSHALL (2019): *Mycoplasma ovis* infection in domestic sheep (*Ovis aries*) in the United States: Prevalence, distribution, associated risk factors, and associated outcomes. *Prev. Vet. Med.* 171, 104 -112. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2019.104750>

VALENTE, J. D. M., A. C. B. MONGRUEL, C. A. L. MACHADO, L. CHIYO, A. S. LEANDRO, A. A. BRITTO, T. F. MARTINS, I. R. BARROS-FILHO, A. W. BIONDO, J. H. PEROTTA, A. N. S. CAMPOS, O. VIDOTTO, M. B. LABRUNA, D. M. AGUIAR, T. S.W. J. VIEIRA, R. F. C. VIEIRA (2019.): Tick-borne pathogens in carthorses from Foz do Iguacu City, Paraná State, southern Brazil: A tri-border area of Brazil, Paraguay and Argentina. *Vet. Parasitol.* 273, 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2019.08.008>

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. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2011.00811.x>

VÍCHOVÁ, B., V. MAJLÁTHOVÁ, M. NOVÁKOVÁ, I. MAJLÁTH, J. ČURLÍK, M. BONA, M. KOMJÁTI-NAGYOVÁ, B. PET'KO (2011): PCR detection of re-emerging tick-borne pathogen, *Anaplasma phagocytophilum*, in deer ked (*Lipoptena cervi*) ablood-sucking ectoparasite of cervids. *Biologia* 66, 1082–1086. <https://doi.org/10.2478/s11756-011-0123-1>

VIEIRA, R. F., O. VIDOTTO, T. S. VIEIRA, A. M. GUIMARAES, A. P. SANTOS, N. C. NASCIMENTO, N. J. SANTOS, T. F. MARTINS, M. B. LABRUNA, M. MARCONDES (2015): Molecular investigation of hemotropic mycoplasmas in human beings, dogs and horses in a rural settlement in southern Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo.* 57, 353–357. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652015000400014>

VIEIRA, T. S, R. F VIEIRA, M. A. FINGER, D. A. NASCIMENTO, P. M. SICUPIRA, L. H. DUTRA, I. DECONTO, I. R. BARROS-FILHO, P. T. DORNBUSCH, A. W. BIONDO, O. VIDOTTO (2013): Seroepidemiological survey of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in horses from a rural and from urban areas of Paraná State, southern Brazil. *Ticks Tick Borne Dis.* 4, 537–541. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2013.07.005>

VILLA, L., A. L. GAZZONIS, C. ALLIEVI, C. DE MARIA, M. F. PERSICHETTI, G. CARACAPPA, S. A. ZANZANI, M. T. MANFREDI (2022): Seroprevalence of Tick-Borne Infections in Horses from Northern Italy. *Animals* 12, 999. <https://doi.org/10.3390/ani12080999>

VILLA, L., A. CAFISO, C. CIALINI, E. OLIVIERI, C. ALLIEVI, E. PINTORE, G. GARIPPA, M. T. MANFREDI, C. BAZZOCCHI (2025): Serological and molecular insights into tick-borne pathogens in wild donkeys from an unexplored Mediterranean nature reserve. *Curr. Res. Parasitol. Vector-Borne Dis.* 6, 100- 121. <https://doi.org/10.1016/j.crpvbd.2025.100267>

VON LOEWENICH, F. D., B. U. BAUMGARTEN, K. SCHROPPEL, W. GEISSDORFER, M. ROLLINGHOF, C. BOGDAN (2003): High diversity of *ankA* sequences of *Anaplasma phagocytophilum* among *Ixodes ricinus* ticks in Germany. *J Clin Microbiol.* 41, 5033–5040. <https://doi.org/10.1128/jcm.41.11.5033-5040.2003>

WANG, X, Y. CUI, Y. ZHANG, K. SHI, Y. YAN, F. JIAN, L. ZHANG, R. WANG, C. NING (2017): Molecular characterization of hemotropic mycoplasmas (*Mycoplasma ovis* and ‘*Candidatus Mycoplasma haemovis*’) in sheep and goats in China. *BMC Vet. Res.* 13, 142. <https://doi.org/10.1186/s12917-017-1062-z>

WANG, J., J. LIU, J. YANG, X. WANG, Z. LI, J. XU, X. LI, Q. XIANG, Y. LI, Z. LIU, J. LUO, G. GUAN, H. YIN (2019): The first molecular detection and genetic diversity of *Babesia caballi* and *Theileria equi* in horses of Gansu province, China. *Ticks Tick Borne Dis.* 10, 528-532. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.01.003>

WEILAND, G. (1986): Species-specific serodiagnosis of equine piroplasma infections by means of complement fixation test (CFT), immunofluorescence (IIF), and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Vet. Parasitol.* 20, 43-48. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(86\)90091-9](https://doi.org/10.1016/0304-4017(86)90091-9)

- WERSZKO, J., T. SZEWCZYK, Ž. STEINER-BOGDASZEWSKA, Z. LASKOWSKI, G. KARBOWIAK (2019): Molecular detection of *Anaplasma phagocytophilum* in blood-sucking flies (Diptera: Tabanidae) in Poland. *J. Med. Entomol.* 56, 822-827. <https://doi.org/10.1093/jme/tjy217>
- WISE, L. N., L. S. KAPPMAYER, R. H. MEALEY, D. P. KNOWLES (2013): Review of equine piroplasmiasis. *J. Vet. Int. Med.* 27, 1334-1346. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2014.08.008>
- WU, X., J. XU, L. SU, S. WANG, S. HORNOK, Y. WANG (2024). First molecular evidence of *Babesia caballi* and *Theileria equi* in imported donkeys from Kyrgyzstan. *Pathogens*, 13, 713. <https://doi.org/10.3390/pathogens13090713>
- YANG, J., Z. LIU, Q. NIU, J. LIU, R. HAN, G. GUAN, Y. LI, G. LIU, J. LUO, H. YIN (2016): *Anaplasma phagocytophilum* in sheep and goats in central and southeastern China. *Parasit. Vectors.* 9, 593. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1880-z>
- YASMIN, A. R., L. P. TAN, I. A. AZEEZ-OKENE, H. NUR ATIKAH, C. W. SALMA, Z. HAMDAN, S. K. LOONG (2022): Retrospective prevalence and associated risk factors of *Mycoplasma haemofelis* infection in owned cats. *Trop. Biomed.* 25, 255-261. <https://doi.org/10.47665/tb.39.3.015>
- ZAJAC, Z., A. WOZNIAK, J. KULISZ (2020): Infestation of dairy cows by ticks *Dermacentor reticulatus* (Fabricius, 1794) and *Ixodes ricinus* (Linnaeus, 1758) in eastern Poland. *Ann. Parasitol.* 66, 230-236. <http://dx.doi.org/10.17420/ap6601.241>
- ZAPF, F, E. SCHEIN (1994): A The development of *Babesia* (*Theileria*) *equi* (Laveran, 1901) in the gut and the haemolymph of the vector ticks, *Hyalomma* species. *Parasitol. Res.* 80, 297–302. <https://doi.org/10.1007/BF02351869>
- ZEMAN, P., M. PECHA (2008): Segregation of genetic variants of *Anaplasma phagocytophilum* circulating among wild ruminants within a Bohemian forest (Czech Republic). *Int. J. Med. Microbiol.* 298, 203-210. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2008.03.003>
- ZENG, W., Z. KAIRAT, M. AWULIBIEER, S. ABYLAY, K. SERIK, M. YANG, W. HAZIHAN (2025): Molecular detection of piroplasms, *Anaplasma*, and *Ehrlichia* species in Kazakhstan. *Front. Vet. Sci.* 12, 153-161. <https://doi.org/10.3389/fvets.2025.1533589>

ZHANG, Y., X. WEN, O. XIAO, X. FAN, M. LI, B. CHAHAN (2021): Molecular identification of *Theileria equi*, *Babesia caballi*, and *Rickettsia* in adult ticks from North of Xinjiang, China. *Vet. Med. Sci.* 7, 219-222. <https://doi.org/10.1002/vms3.613>

ZHOU, B., G. YANG, Z. HU, K. CHEN, W. GUO, X. WANG, C. DU (2023): Development of a real-time quantitative PCR based on a Taqman-MGB probe for the rapid detection of *Theileria haneyi*. *Microorganisms.* 11, 263. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11112633>

ZIMMERMANN, D. E., I. VORSTER, C. DREYER, W. FOWLDS, B. L. PENZHORN (2022): Successful treatment of babesiosis in a south-western black rhinoceros (*Diceros bicornis bicornis*). *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 93, 139-143. <https://doi.org/10.36303/JSAVA.478>

ZOBBA, R., C. MURGIA, M. DAHMANI, O. MEDIANNIKOV, B. DAVOUST, R. PIREDDA, E. SCHIANCHI, A. SCAGLIARINI, M. PITTAU, A. ALBERTI (2022): Emergence of *Anaplasma* Species Related to *A. phagocytophilum* and *A. platys* in Senegal. *Int. J. Mol. Sci.* 24, 35. <https://doi.org/10.3390/ijms24010035>

ZWEYGARTH, E., L. M. LOPEZ-REBOLLAR, J. NURTON, A. J. GUTHRIE (2002): Culture isolation and propagation of *Babesia caballi* from naturally infected horses. *Parasitol. Res.* 88, 460–462. <https://doi.org/10.1007/s00436-002-0609-4>

9. PRILOZI

Slika 1. Konj držan za rekreaciju s područja Istarske županije i konji namjenjeni uzgoju iz Karlobaga.....	42
Slika 2. Infestacija krpeljima kobile u podrepnom području.....	43
Slika 3. Lokacije prikupljenih konjskih kožnatice (<i>H. equina</i>) (QGIS).....	45
Slika 4. Geografska rasprostranjenost genotipova <i>T. equi</i> i <i>B. caballi</i> na području RH (QGIS)...	59
Slika 5. Rasprostranjenost bakterije <i>A. phagocytophilum</i> u konja na području RH (QGIS).....	59
Slika 6. Rasprostranjenost hemotropne mikoplazme <i>M. wenyonii</i> u konja na području RH (QGIS).....	60
Slika 7. Krpelji vrste <i>H. punctata</i>	65
Slika 8. Lokacije prikupljenih vrsta krpelja (QGIS).....	66
Slika 9. Konjska kožnatice (<i>H. equina</i>)	67
Slika 10. Glava i usni aparat vrste <i>T. exclusus</i>	68
Slika 11. Prednji dio vrste <i>H. pluvialis</i>	69
Slika 12. Prednji dio vrste <i>H. italica</i>	69
Slika 13. Krilo vrste <i>H. italica</i> s karakterističnim šarama.....	70
Slika 14. Prednji dio vrste <i>T. bromius</i>	70
Slika 15. Geografski prikaz patogena pronađenih u krpeljima (QGIS).....	72
Graf 1. Zastupljenost <i>T. equi</i> genotipova na razini regija RH.....	58
Graf 2. Povezanost namjene s PCR statusom.....	61
Graf 3. Povezanost pasmine s PCR statusom.....	61
Graf 4. Krivulja logističke regresije s predviđenom vjerojatnošću infekcije (y) u odnosu na dob konja u godinama (x).....	62
Graf 5. Povezanost spola i PCR statusa.....	63

Graf 6. Povezanost čimbenika pristupa pašnjaku i PCR statusa.....	64
Graf 7. Zastupljenost rodova krpelja u istraživanju.....	67
Tablica 1: Prikaz prisutnosti DNK uzročnika pirop plazmoze u krvi konja po županijama.....	56
Tablica 2. Prikaz vrsta i rasprostranjenosti prikupljenih obada.....	71
Tablica 3. Prikaz patogena detektiranih u krpeljima uz nalaz patogena u krvi konja.....	73

10. ŽIVOTOPIS AUTORA S POPISOM OBJAVLJENIH RADOVA

Nika Konstantinović dr. med. vet. (Zagreb, 1991.) diplomirala je na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu 2017. godine. Tijekom studija usavršavala se u klinikama specijaliziranim za liječenje konja na području Republike Irske. Nakon završetka studija odmah počinje raditi kao terenski veterinar, a zatim kao veterinar u ambulanti male prakse u Zagrebu. 2018. godine odlazi u Ujedinjeno Kraljevstvo gdje je radila kao veterinar u ambulanti za kućne ljubimce. Na Zavodu za parazitologiju i invazijske bolesti s klinikom počinje raditi u studenom 2020. godine, u zvanju asistenta. Njezino znanstveno područje rada je usmjereno na područje parazitologije konja, posebice na bolesti prenosive vektorima. Autorica je nekoliko stručnih i znanstvenih radova. Do sada je sudjelovala s radovima na temu parazitologije konja na domaćim i međunarodnim znanstveno- stručnim skupovima. Usavršavala se u Institutu za mikrobiologiju i parazitologiju Veterinarskog fakulteta u Ljubljani te u Laboratoriju za parazitologiju Sveučilišta Federico II u Napulju.

POPIS OBJAVLJENIH RADOVA

Znanstveni i pregledni radovi

KONSTANTINOVIĆ, N., J. GOTIĆ, M. BABAN, G. CSIK, E. LISTEŠ, E. GAGOVIĆ, D. JURKOVIĆ ŽILIĆ, I. AREŽINA, G. ŠUBARA, F. E. ČULINA, N. DELIĆ, Z. ZVONAR, D. VIŠAL, R. BECK (2026): Absence of Host-Specific Hemotropic Mycoplasmas in Horses and Donkeys from Croatia: First Systematic Survey in Southeastern Europe. *Animals* 16, 1-8.

GRBAVAC, L., F. DÁMEK, S. THOUMIRE, A. MERCIER, K. PASSEBOSC-FAURE, N. KONSTANTINOVIĆ, M. KIŠ, Ž. MIHALJEVIĆ, T. ŽIVIČNJAK, R. BLAGA (2025): Seroprevalence and genetic characterization of *Toxoplasma gondii* in hunted wild boars (*Sus scrofa*) from Croatia. *Par. Res.* 124, 30.

KONSTANTINOVIĆ, N. (2025): Najčešće pogreške pri provođenju dehelmintizacije konja. *HVV.* 33, 60-65

KONSTANTINOVIĆ, N., A. M. KOVAČ (2024): Case of larval cyathostomiasis in a young stallion in Croatia. *Equine Vet. J.* 56, 83-83

KONSTANTINOVIĆ, N. (2024): Larval cyathostomiasis in horses. *Vet. stanica* 56, 1-10.

KONSTANTINOVIĆ, N., L. GRBAVAC (2022): Parazitologija konja u novom ruhu. HVV. 30, 28-37.

KONSTANTINOVIĆ, N., A. MARINCULIĆ (2022): Haemonchus contortus – nova ili stara prijetnja? HVV. 3, 42-49.

Sažeci u zbornicima i časopisima

KONSTANTINOVIĆ, N., E. GAGOVIĆ, J. GOTIĆ, D. JURKOVIĆ-ŽILIĆ, A. KOSTELIĆ, G. ŠUBARA, R. BECK (2026): FIRST EVIDENCE OF THEILERIA EQUI INFECTION IN APPARENTLY HEALTHY DONKEYS FROM CROATIA. 11th International Congress Veterinary Science and Profession. (Zagreb 23-24. veljače 2026). Zbornik sažetaka. Zagreb (87-87).

KONSTANTINOVIĆ, N, F. E. ČULINA, N. DELIĆ, P. BRATIĆ, E. GAGOVIĆ, J. GOTIĆ, D. JURKOVIĆ-ŽILIĆ, A. KOSTELIĆ, D. VIŠAL, R. BECK (2026): MOLECULAR PREVALENCE OF EQUINE PIROPLASMOSIS IN ISTRIA REGION. 11th International Congress Veterinary Science and Profession (Zagreb 23-24. veljače 2026). Zbornik sažetaka. Zagreb (86-86).

MARIĆ, V., B. BARIŠIĆ, I. CIPRIĆ, I. ČUSTOVIĆ, H. ĐUKIĆ, J. GRGINČIĆ, G. JURKIĆ KRSTESKA, D. VIŠAL, N. KONSTANTINOVIĆ (2026): Case of coccidiosis in the group of guinea pigs. 11th International Congress Veterinary Science and Profession (Zagreb 23-24. veljače 2026). Zbornik sažetaka. Zagreb (107-107).

BUJANIĆ, M.; N. KONSTANTINOVIĆ, E. MUŠKARDIN, C. D. SABLJAK, M. LUBURA S. STRUNJAK, E. GAGOVIĆ, R. BECK, K. KRAPINEC, A. ŠIKIĆ (2025): Lonjsko polje kao sučelje divlje-domaće životinje: paraziti probavnoga sustava Kongres Veterinarski dani 2025. (Dubrovnik 7.-9. studeni 2025.). Zagreb (Zagreb 115-115).

JURKOVIĆ ŽILIĆ DARIA; GAGOVIĆ, EMA; NALETILIĆ, ŠIMUN; LUKAČEVIĆ, DAMIR; KOSTELIĆ, ANTUN; KONSTANTINOVIĆ, NIKA; BECK RELJA (2025): Piroplazme, anaplazme i hemotropne mikoplazme malih preživača: rezultati preliminarnih istraživanja. Kongres Veterinarski dani 2025. (Dubrovnik 7.-9. studeni 2025.). Zagreb (136-137).

KONSTANTINOVIĆ, NIKA; KOSTELIĆ, ANTUN; BRAJKOVIĆ VLADIMIR; MARINCULIĆ, ALBERT (2025): Pilot survey of Haemonchus contortus infection in croatian ruminants using PNA detection method. 27th International Congress of the Mediterranean Federation for Health and Production of Ruminants (Fe.Me.S.P.Rum.) (Bologna 4.- 6. rujan 2025.) Bologna (36-37).

STILES, C. F., E. GAGOVIĆ, M. BUJANIĆ, I. BOŠKOVIĆ, A. ŠIKIĆ, N. KONSTANTINOVIĆ, R. BECK, D. KONJEVIĆ (2025): Paraziti probavnog sustava čagljeva s područja Slavonije Kongres Veterinarski dani 2025. (Dubrovnik 7.-9. studeni 2025.). Zagreb (141-141).

KONSTANTINOVIĆ, NIKA; KOVAČ, ANA MARIJA CASE OF LARVAL CYATHOSTOMINOSIS IN A YOUNG STALLION IN CROATIA. 10th International Congress Veterinary Science and Profession (Zagreb 5.-7. listopada 2023.) Zbornik sažetaka. Zagreb (64-64).

KONSTANTINOVIĆ, N. (2023): Mali strongilidi - velik problem parazitologije konja. Kongres Veterinarski dani 2023. Osijek (26. do 29. listopada 2023.) Zbornik sažetaka. Zagreb (108-111).

KONSTANTINOVIĆ, N. (2022): Parazitologija ždrebadi i mladih konja. Kongres Veterinarski dani 2021. (Poreč 20-22. listopada 2021.) Zbornik sažetaka. Zagreb (72-74).

KONSTANTINOVIĆ, N. (2021): Česu li se kunići i džepni glodavci zbog ektoparazita? Kongres Veterinarski dani 2021. (Vodice 26-29. rujna 2021.) Zbornik sažetaka. Zagreb (111-118).

KONSTANTINOVIĆ, N. (2021): Znamo li liječiti parazite konja? Kongres Veterinarski dani 2021. (Vodice 26-29. rujna 2021.) Zbornik sažetaka. Zagreb (281-284).

KONSTANTINOVIĆ, N., L. LOVRIĆ (2021): Paraspidodera uncinata in guinea pig. 9th International Congress Veterinary Science and Profession (Zagreb 9.10.2021.) Zbornik sažetaka. Zagreb. (78-78).

MARINCULIĆ, A., L. GRBAVAC, N. KONSTANTINOVIĆ (2021): Što to gmiže u plućima pasa i mačaka Kongres Veterinarski dani 2021. (Vodice 26-29. rujna 2021.) Zbornik sažetaka. Zagreb (99-106).