

Širenje areala i vektorska uloga *Aedes albopictus* i *Aedes japonicus* u sjeverozapadnoj hrvatskoj

Klobučar, Ana

Doctoral thesis / Disertacija

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:430577>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-20**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu

PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

Ana Klobučar

**ŠIRENJE AREALA I VEKTORSKA ULOGA
INVAZIVNIH VRSTA KOMARACA
Aedes albopictus | *Aedes japonicus*
U SJEVEROZAPADNOJ HRVATSKOJ**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2017.



University of Zagreb

FACULTY OF SCIENCE
DEPARTMENT OF BIOLOGY

Ana Klobučar

**SPREADING AND VECTOR ROLE OF INVASIVE
MOSQUITOES *Aedes albopictus* AND *Aedes
japonicus* IN THE NORTHWESTERN CROATIA**

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2017.

Ovaj doktorski rad izrađen je u Nastavnom zavodu za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“. Molekularna dijagnostika učinjena je u Hrvatskom veterinarskom institutu u Zagrebu. Rad je izrađen pod vodstvom prof.dr.sc. Enriha Merdića i doc.dr.sc. Tatjane Vilibić–Čavlek, u sklopu Sveučilišnog poslijediplomskog doktorskog studija Biologije pri Biološkom odsjeku Prirodoslovno–matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Zahvaljujem se mentoru prof.dr.sc. Enrihu Merdiću na vođenju rada, podršci, stručnim savjetima i poticanju pri radu. Veliku zahvalnost dugujem mentorici doc.dr.sc. Tatjani Vilibić-Čavlek na organizaciji provedbe detekcije virusa u komarcima, pomoći i podršci tijekom izrade rada.

Dr.sc. Vladimiru Saviću, znanstvenom savjetniku veliko hvala za provedbu molekularne dijagnostike virusa u komarcima. Hvala doc.dr.sc. Andrei Babić-Erceg na dodijeljenim pozitivnim kontrolama potrebnima za dijagnostiku virusa.

Zahvaljujem se svim suradnicima Odjela za dezinfekciju, dezinsekciju i deratizaciju Nastavnog zavoda za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“ na savjesnom radu tijekom pomoći pri uzorkovanju komaraca i laboratorijskom radu.

Djelatnicima iz suradnih Zavoda za javno zdravstvo hvala na ugodnoj suradnji: specijalistima epidemiologije dr. Ivanu Lipovcu, dr. Sanji Hamzić-Mitrović, dr. Vanji Slavić-Vrzić, dr. Biserki Hranilović; sanitarnim inženjerima Vedranu Trupcu i Snježani Čopor te svim suradnicima koji su sudjelovali u uzorkovanju komaraca.

Doc.dr.sc. Vanji Tešić, prim.dr. Mirjani Lani Kosanović Ličina i prof.dr.sc. Mladenu Kučiniću zahvaljujem na podršci u radu, kao i svima ostalima koji su mi bili podrška i na bilo koji način pomogli tijekom izrade rada.

Mojoj obitelji hvala na podršci. Posebno hvala mojem suprugu na strpljenju, podršci i pomoći pri izradi karata, a djeci hvala na razumijevanju tijekom pisanja rada.

**ŠIRENJE AREALA I VEKTORSKA ULOGA INVAZIVNIH VRSTA KOMARACA
Aedes albopictus I *Aedes japonicus* U SJEVEROZAPADNOJ HRVATSKOJ**

ANA KLOBUČAR

Nastavni zavod za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“

U radu su prikazani rezultati praćenja širenja areala invazivnih vrsta komaraca *Aedes albopictus* i *Aedes japonicus* na području sjeverozapadne Hrvatske od prvog nalaza do kraja 2016. godine. U razdoblju od 2012. do 2015. godine uočeno je invazivno širenje vrste *Ae. albopictus* na području grada Zagreba gdje je vrsta prvi put pronađena 2004. godine. Zabilježeno je širenje areala vrste i na područje susjednih županija. Vrsta *Ae. japonicus* prvi put je pronađena u Krapinsko-zagorskoj županiji 2013. godine, a do 2016. godine također se proširila na šire područje sjeverozapadne Hrvatske. Iako istraživane invazivne vrste imaju različite temperaturne zahtjeve, promatrano područje pogoduje udomaćivanju obje vrste. Razdoblje ovipozicije vrste *Ae. albopictus* kraće je u odnosu na vrstu *Ae. japonicus*. Testiranjem komaraca na prisustvo arbovirusa, RNA virusa Usutu dokazana je u jednom od ukupno 61 testiranog skupnog uzorka komaraca vrste *Ae. albopictus* s područja grada Zagreba. RNA virusa West Nile, dengue i chikungunya nije dokazana.

Rad sadrži: 168 stranica, 84 slike, 38 tablica, 247 literaturnih navoda, jezik izvornika hrvatski

Ključne riječi: *Aedes albopictus*, *Aedes japonicus*, širenje areala, aktivnost vrste, virusi, sjeverozapadna Hrvatska

Mentori: Prof. dr. sc. Enrih Merdić, Odjel za biologiju, Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku

Doc. dr. sc. Tatjana Vilibić-Čavlek, Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Ocjenjivači: Prof. dr. sc. Stjepan Krčmar

Prof. dr. sc. Mladen Kučinić

Izv. prof. dr. sc. Sunčanica Ljubin-Sternak

**SPREADING AND VECTOR ROLE OF INVASIVE MOSQUITOES *Aedes albopictus*
AND *Aedes japonicus* IN THE NORTHWESTERN CROATIA**

ANA KLOBUČAR

Andrija Štampar Teaching Institute of Public Health

Thesis presents results of the two invasive mosquito species *Aedes albopictus* and *Aedes japonicus* spreading in the northwestern Croatia from their first record to the end of 2016. *Ae. albopictus* species was first recorded in Zagreb in 2004, but invasive spreading throughout the city was recorded during 2012-2015. Moreover, the species has spread to the neighbouring counties. *Ae. japonicus* species was first recorded in 2013 in Krapina-Zagorje Country, whereas in 2016 it was spread over the wider area of the northwestern Croatia. Although these two invasive mosquito species require somewhat different temperature conditions, climate of the region represents a suitable habitat for both species. The period of seasonal activity of *Ae. albopictus* is shorter than for *Ae. japonicus*. Samples of *Ae. albopictus* were tested for the presence of arboviruses. Usutu RNA was detected in one of 61 tested mosquito pools from Zagreb area. West Nile, dengue and chikungunya viral RNA was not detected.

Thesis contains: 168 pages, 84 figures, 38 tables, 247 references, original in Croatian

Keywords: *Aedes albopictus*, *Aedes japonicus*, spreading, species activity, viruses, northwestern Croatia

Supervisors: Enrih Merdić, PhD, Full Professor, University of J. J. Strossmayer in Osijek
Tatjana Vilibić-Čavlek, MD, PhD, Assistant Professor, Croatian Institute of Public Health, School of Medicine University of Zagreb

Reviewers: Prof. Stjepan Krčmar, PhD
Prof. Mladen Kučinić, PhD
Assoc. Prof. Sunčanica Ljubin-Sternak, MD, PhD

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. LITERATURNI PREGLED	4
2.1. Značajke istraživnog područja	4
2.1.1. Zemljopisni položaj i prirodna obilježja sjeverozapadne Hrvatske	4
2.1.2. Klima istraživnog područja	8
2.2. Pregled dosadašnjih istraživanja invazivnih vrsta komaraca <i>Ae. albopictus</i> i <i>Ae. japonicus</i>	15
2.2.1. Biološke i ekološke značajke vrste <i>Ae. albopictus</i>	15
2.2.2. Rasprostranjenost i širenje areala vrste <i>Ae. albopictus</i>	21
2.2.3. Ekološki čimbenici koji utječu na aktivnost i rasprostranjenost vrste <i>Ae. albopictus</i>	23
2.2.4. Biologija i ekologija vrste <i>Ae. japonicus</i>	25
2.2.5. Rasprostranjenost i širenje areala vrste <i>Ae. japonicus</i>	29
2.2.6. Načini širenja invazivnih vrsta komaraca	31
2.3. Vektorska uloga invazivnih vrsta komaraca <i>Ae. albopictus</i> i <i>Ae. japonicus</i>	35
2.3.1. Vektorska uloga vrste <i>Ae. albopictus</i>	35
2.3.2. Vektorska uloga vrste <i>Ae. japonicus</i>	38
2.3.3. Komarci kao vektori arbovirusnih infekcija u Hrvatskoj	39
2.3.5. Dijagnostika arbovirusa	41
3. MATERIJAL I METODE	44
3.1. Metode uzorkovanja komaraca	44
3.1.1. Uzorkovanje komaraca ovipozicijskim klopama	44
3.1.2. Uzorkovanje ličinki komaraca	45
3.1.3. Uzorkovanje odraslih jedinki komaraca	45
3.2. Istraživanje rasprostranjenosti, aktivnosti ovipozicije i širenja areala invazivnih vrsta komaraca	47
3.2.1. Istraživanje rasprostranjenosti, aktivnosti ovipozicije i širenja areala vrste <i>Ae. albopictus</i> na području grada Zagreba	47
3.2.2. Istraživanje rasprostranjenosti, aktivnosti i širenja areala invazivnih vrsta komaraca u Krapinsko-zagorskoj, Bjelovarsko-bilogorskoj, Zagrebačkoj i Karlovačkoj županiji	48
3.3. Detekcija virusa u komarcima vrste <i>Ae. albopictus</i>	53
3.3.1. Uzorkovanje komaraca	53
3.3.2. Dijagnostika virusa u komarcima	53
3.4. Statistička analiza rezultata uzorkovanja jaja komaraca	56
4. REZULTATI	58
4.1. Rasprostranjenost i širenje areala invazivnih vrsta komaraca <i>Ae. albopictus</i> i <i>Ae.</i> <i>japonicus</i> na području grada Zagreba	58
4.1.1. Prvi nalaz i širenje areala vrste <i>Ae. albopictus</i> na području grada Zagreba	58
4.1.2. Istraživanje širenja areala i sezonske ovipozicije vrste <i>Ae. albopictus</i> od 2013. do 2015. godine	62
4.1.3. Ovipozicija vrste <i>Ae. albopictus</i> na istim lokalitetima tijekom 2014. i 2015. godine	75
4.1.3.1. Vremenska raspodjela ovipozicije	75
4.1.3.2. Statistička analiza ovipozicije između ispitivanih godina	79

4.1.3.3. Statistička analiza ovipozicije na uspoređivanim lokalitetima	80
4.1.3.4. Statistička analiza ovipozicije na mikrolokalitetima istog lokaliteta	81
4.1.3.5. Odnos ovipozicije i klimatskih parametara	83
4.1.4. Prvi nalaz vrste <i>Ae. japonicus</i> na području grada Zagreba	85
4.2. Rasprostranjenost i širenje areala invazivnih vrsta komaraca na području Krapinsko-zagorske županije	86
4.2.1. Prvi nalaz vrste <i>Ae. japonicus</i> u Krapinsko-zagorskoj županiji i u Hrvatskoj	89
4.2.2. Pregled nalaza i širenja invazivnih vrsta komaraca u Krapinsko-Zagorskoj županiji u razdoblju od 2013. – 2016. godine	91
4.2.2.1. Uzorkovanje ličinki komaraca	96
4.2.3. Vremenska raspodjela ovipozicije u razdoblju od 2013 do 2016. godine	97
4.2.4. Ovipozicija invazivnih vrsta komaraca na istim lokalitetima u razdoblju od 2013. do 2016. godine	100
4.2.4.1. Vremenska raspodjela ovipozicije	100
4.2.4.2. Statistička analiza ovipozicije između ispitivanih godina	104
4.2.4.3. Statistička analiza ovipozicije na uspoređivanim lokalitetima	106
4.2.4.4. Odnos ovipozicije i klimatskih parametara	108
4.3. Rasprostranjenost i širenje areala invazivnih vrsta komaraca <i>Ae. albopictus</i> i <i>Ae. japonicus</i> na području Bjelovarsko–bilogorske županije	111
4.4. Rasprostranjenost invazivnih vrsta komaraca <i>Ae. albopictus</i> i <i>Ae. japonicus</i> na području Zagrebačke županije	115
4.5. Rasprostranjenost invazivnih vrsta komaraca <i>Ae. albopictus</i> i <i>Ae. japonicus</i> na području Karlovačke županije	126
4.6. Rezultati istraživanja virusa u komarcima	132
5. RASPRAVA	137
6. ZAKLJUČCI	152
7. LITERATURA	154
8. PRILOZI	IX
9. ŽIVOTOPIS	XXIII

1. UVOD

Komarci pripadaju porodici Culicidae (Edwards, 1932), redu dvokrilaca, Diptera. Obitavaju u svim područjima svijeta pri čemu priroda staništa uvjetuje faunu vrsta. Posljednjih nekoliko desetljeća svijetom se šire invazivne vrste komaraca, značajne kao napasnici (molestanti) i kao prijenosnici brojnih patogena i parazita koji uzrokuju značajne bolesti u ljudi i životinja (Becker i sur., 2010.).

Komarac vrste *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) (*Stegomyia albopicta*, Reinert i sur., 2004.), azijski tigrasti komarac autohtona je vrsta u tropskim šumama jugoistočne Azije. Posljednjih nekoliko desetljeća vrsta se proširila globalno i udomaćila u mnogim područjima svijeta. Najčešći način prijenosa vrste je trgovina rabljenim gumama i kontejnerima s ukrasnim biljkama u koje polaže jaja. Vrsta *Ae. albopictus* lako se prilagođava novim staništima, istiskuje domicilne vrste, a karakteristika da se lako razvija u različitim umjetnim leglima značajno joj pomaže u invazivnom širenju i udomaćivanju na novim prostorima. Vrsta je iznimno napasna i aktivna u traženju krvnog obroka tijekom većeg dijela dana (Paupy i sur., 2009.; Medlock i sur., 2015.).

Vrsta *Ae. albopictus* proširila se i udomaćila na području južne Europe i Mediterana. U Europi je prvi put zabilježena u Albaniji 1979. godine. Nakon toga je pronađena u Italiji 1990. godine, a od tada do danas je zabilježena u 26 europskih država od čega je u 20 država udomaćena (Medlock i sur., 2015.; ECDC, 2017.).

U Hrvatskoj je ova vrsta prvi put pronađena u Zagrebu 2004. tijekom redovitog uzorkovanja komaraca i stručnog nadzora nad mjerama dezinfekcije komaraca koje provodi Nastavni zavod za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“ (Klobučar i sur., 2006.). Tijekom 2005. godine ponovno je pronađena u Zagrebu, ali i na brojim lokalitetima u priobalju: Istra, Zadar, Split i Dubrovnik (Boca i sur., 2006.; Klobučar i sur., 2006.; Žitko i sur., 2007.). Od tada do danas zabilježeno je udomaćivanje i širenje vrste na gradove i naselja u priobalju te na otoke, od Istre do krajnjeg juga Hrvatske (Benić i sur., 2008.; Merdić i sur., 2009.; Merdić i sur., 2012.; Žitko i Merdić, 2014.).

Prema predviđanjima temeljenima na ključnim klimatskim čimbenicima, ali i biologiji same vrste, uvjeti u priobalnom području Hrvatske pogoduju dugoj sezonskoj aktivnosti vrste *Ae. albopictus*, dok je područje kontinentalne Hrvatske slabije pogodno za udomaćivanje vrste (Mitchell i sur., 1995.; Fischer i sur., 2014.). Istraživanje aktivnosti i sezonske dinamike vrste

Ae. albopictus provedeno 2009. i 2010. godine u Dalmaciji pokazuje da aktivnost traje gotovo osam mjeseci; polaganje jaja započinje u travnju, postiže maksimum od kraja srpnja do početka rujna, a završava krajem studenog i početkom prosinca (Žitko i Merdić, 2014.).

Na području grada Zagreba komarac *Ae. albopictus* pronađen je prvi put u samo jednom umjetnom leglu (Klobučar i sur., 2006.). Sljedeće, 2005. godine pronađen je u tvrtci koja posluje gumama, udaljenoj nekoliko kilometara od mjesta prvog nalaza. Od tada do danas komarac se postupno širio na području grada, no pritužbe građana na ovu vrstu počele su pristizati u Nastavni zavod za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“ posljednjih nekoliko godina tijekom ljetnih mjeseci. Stoga je bilo potrebno istražiti rasprostranjenost vrste i njenu sezonsku aktivnost u Zagrebu koji se nalazi u području Hrvatske s kontinentalnom klimom te evidentirati prisutnost i širenje vrste u okolnim županijama područja sjeverozapadne Hrvatske.

Invazivna vrsta komarca *Aedes* (Finlaya) *japonicus* (Theobald, 1901), engleskog naziva „Asian bush mosquito“ ili „Asian rock pool mosquito“ potječe iz istočne Azije i Dalekog Istoka. Četiri su morfološki slične podvrste vrste *Aedes japonicus*. Podvrsta *Aedes japonicus japonicus* jedina je postala invazivna (razlozi nisu potpuno jasni). Kada se govori o invazivnom komarcu *Ae. japonicus*, podrazumijeva se da se govori o jedinoj invazivnoj podvrsti *Ae. j. japonicus*, stoga se dalje u tekstu ovoga rada za podvrstu *Ae. j. japonicus* koristi pojam vrsta *Ae. japonicus* (Kaufman i Fonseca, 2014.).

Kao i *Ae. albopictus*, vrsta *Ae. japonicus* prenesena je u prekontinentalna područja najčešće trgovinom i prijevozom jaja komaraca u rabljenim gumama. Prva otkrića izvan endemskog područja sežu u rane 1990-te. Do sada je otkrivena u Sjevernoj Americi i Europi gdje osvaja nova područja te u Novom Zelandu na kojem se nije udomaćila. U Europi je prvi put pronađena u Francuskoj 2000. godine, a zatim su slijedili nalazi u drugim srednjeeuropskim državama. U susjednoj Austriji i Sloveniji vrsta je pronađena 2013. godine (Seidel i sur., 2012.; ECDC, 2017.). Stoga je širenje vrste *Ae. japonicus* na područje Hrvatske očekivano te je potrebno istražiti je li vrsta prisutna u sjeverozapadnoj Hrvatskoj, osobito u graničnim područjima sa Slovenijom.

Obje invazivne vrste su medicinski značajne kao dokazani prijenosnici različitih arbovirusa u laboratorijskim uvjetima i u prirodi.

Dosadašnja istraživanja komaraca na prisustvo arbovirusa provedena su na području hrvatskog priobalja i dijela istočne Hrvatske, a na području sjeverozapadne Hrvatske nisu provedena.

S obzirom na pojavu i širenje vrste komarca *Ae. albopictus* na području grada Zagreba te na pojavu bolesti na području sjeverozapadne Hrvatske, ciljevi ovog istraživanja su:

- utvrditi dinamiku širenja vrste *Ae. albopictus* na području Grada Zagreba od njena prvog nalaza 2004. godine do kraja razdoblja istraživanja,
- utvrditi dinamiku i trajanje ovipozicije vrste *Ae. albopictus* na području Grada Zagreba te usporediti s ovipozicijom na priobalnom dijelu Hrvatske,
- odrediti razliku u ovipoziciji vrste *Ae. albopictus* na mikrolokalitetima istog lokaliteta,
- evidentirati širenje vrste *Ae. albopictus* na druga područja sjeverozapadne Hrvatske (izvan Zagreba),
- evidentirati postoji li širenje vrste *Ae. japonicus* na područje sjeverozapadne Hrvatske,
- odrediti prisutnost virusa dengue (engl. *Dengue virus*; DENV), West Nile virusa (engl. *West Nile virus*; WNV), Usutu virusa (engl. *Usutu virus*; USUV) i chikungunya virusa (engl. *Chikungunya virus*; CHIKV) u komarcima.

Hipoteze istraživanja su:

- komarci vrste *Ae. albopictus* šire se Zagrebom,
- vrste komaraca *Ae. albopictus* i *Ae. japonicus* prisutne su na području sjeverozapadne Hrvatske,
- razdoblje aktivnosti vrste *Ae. albopictus* kraće je u sjeverozapadnoj Hrvatskoj nego u priobalnoj Hrvatskoj,
- arbovirusi su prisutni u komarcima prikupljenima na području sjeverozapadne Hrvatske.

2. LITERATURNI PREGLED

2.1. Značajke istraživanog područja

2.1.1. Zemljopisni položaj i prirodna obilježja sjeverozapadne Hrvatske

Grad Zagreb

Grad Zagreb je najveći i glavni grad Republike Hrvatske, predstavlja upravno, gospodarsko, kulturno, prometno i znanstveno središte Hrvatske. Položajem spada u gradove srednje Europe, a nalazi se na prijelazu prema europskom Sredozemlju, u kontinentalnoj Hrvatskoj. Zbog povoljnog zemljopisnog smještaja na jugozapadnom dijelu Panonske nizine, između alpske, dinarske, jadranske i panonske regije, Zagreb se nalazi na prometnom čvorištu puteva između srednje i jugoistočne Europe te Jadranskog mora (www.zagreb.hr).

Grad Zagreb je posebna teritorijalna, upravna i samoupravna jedinica koja ima položaj jedinice područne (regionalne) samouprave, odnosno županije. Smješten je na južnim obroncima Medvednice te na obalama rijeke Save. Veći dio grada nalazi se na 122 mnv (Zrinjevac). Prema geografskim koordinatama grad Zagreb se nalazi na 45°49'N i 15°59'E. Ukupna površina grada iznosi 641,32 km². Na području grada Zagreba, prema službenom popisu stanovništva iz 2011. godine, živjelo je 790.017 stanovnika. Prosječna gustoća naseljenosti grada iznosi oko 1.232,48 stanovnika na km² (Cvjetko Jerković i sur., 2016.)

Krajobraz grada Zagreba rezultat je međudjelovanja prirodnih (geološka podloga, tlo, voda, klima, vegetacija) i antropogenih (korištenje zemljišta, arheologija, arhitektura) čimbenika. Područje grada moguće je na temelju prirodno-geografskih obilježja podijeliti na nekoliko osnovnih prostorno-funkcionalnih cjelina: Medvednica (padine južne ekspozicije), šire područje Savske nizine te sjeveroistočne padine Vukomeričkih gorica. Najgušće naseljena područja su urbano područje naselja Zagreb na padinama Medvednice nižih nadmorskih visina te urbano područje naselja Zagreb i Sesvete šireg područja Savske nizine (www.zagreb.hr).

Krapinsko-zagorska županija

Krapinsko-zagorska županija nalazi se u sjeverozapadnom dijelu Republike Hrvatske i pripada prostoru središnje Hrvatske. Zasebna je geografska cjelina koja se pruža od vrhova Macelja i Ivančice na sjeveru do Medvednice na jugoistoku. Županija graniči na sjeveru i istoku s Varaždinskom županijom, na sjeverozapadu i zapadu s Republikom Slovenijom, a na jugu s gradom Zagrebom i Zagrebačkom županijom. Prostor županije podudara se s prirodnom regijom Donje Zagorje.

Površinom je jedna od manjih županija, obuhvaća 1.229 km², a na njenom području živi 132.892 stanovnika (3,1% od ukupnog broja stanovnika Republike Hrvatske). Županija ima veće demografsko značenje jer je gustoćom stanovnika od 108,1 stanovnika/km² iznad prosjeka Republike Hrvatske (koji iznosi 75,8 stan./km²) te je uz Međimursku i Varaždinsku županiju najgušće naseljeno područje Republike Hrvatske. Veliko prometno značenje županiji daje međunarodna trasa autoceste koja prolazi duž cijele županije i predstavlja sastavni dio sjeverozapadnog ulaza/izlaza Republike Hrvatske prema Europi.

Krapinsko-zagorska županija obuhvaća 7 gradova i 25 općina. Prevladavaju naselja koja su pretežno seoskih obilježja. Gradovi predstavljaju područja koja imaju prijelazna obilježja između urbaniziranog prostora i sela. U urbaniziranom području općina i gradova živi oko 36.142 stanovnika što čini 24% ukupnog broja stanovnika županije. Poljoprivredne površine obuhvaćaju 57,7% ukupne površine županije, a površina šuma iznosi 43.718 hektara (<http://www.kzz.hr/>).

Zagrebačka županija

Zagrebačka županija nalazi se u središnjem sjeverozapadnom dijelu Hrvatske sa sjedištem u gradu Zagrebu. Prostornim smještajem stvara prsten oko grada Zagreba pa se popularno zove i „zagrebački zeleni prsten“. Zapadno graniči s Republikom Slovenijom. Obuhvaća površinu od 3.078 km². Na njenom području živi 317.642 stanovnika, s gustoćom naseljenosti od 100 stanovnika/km². Površinom je šesta, naseljenošću druga, a brojem stanovnika treća hrvatska županija. Površinom, brojem stanovnika, brojnim prirodnim resursima i gospodarskim potencijalom Zagrebačka županija predstavlja važno političko i razvojno središte sjeverozapadne Hrvatske.

Na prostoru županije ističe se reljefna raznolikost, s prevladavajućim nizinskim područjima do 200 mnv koja čine 81,88% površine županije. Brežuljkasti krajevi i pobrđa (200-500 mnv) obuhvaćaju 12,47%, a površine iznad 500 mnv 5,65% ukupne površine županije.

Područja viša od 1.000 m obuhvaćaju 0,07% površine županije (ukupna površina manja od 1 km²). Prema reljefnim obilježjima i rasporedu površinskih voda, Zagrebačku županiju obilježavaju dva različita dijela: istočni, nizinski, kojim dominiraju rijeke Sava, Lonja, Kupa, malobrojni vodotoci te hidromelioracijski kanali i zapadni dio, kojim dominiraju brojni potoci koji se slijevaju s brdskih i gorskih predjela toga kraja.

Na prostoru županije je devet gradova i 25 općina. To je kraj izuzetno bogate kulturno-povijesne baštine i prirodnih ljepota. Na njenom području je velik broj zaštićenih prirodnih područja, dva parka prirode: Medvednica i Žumberak-Samoborsko gorje te jedinstveni posebni ornitološki rezervat Crna Mlaka. Najveći dio površina, približno 55%, koristi se kao poljoprivredno, zatim slijedi šumsko zemljište s udjelom približno 40%, potom vodne površine s 1% i na kraju izgrađene strukture s udjelom približno 4% (Sabranović i sur., 2017.).

Bjelovarsko-bilogorska županija

Bjelovarsko-bilogorska županija geografski pripada prostoru Panonske (i peripanonske) megaregije, najvećim dijelom makroregiji Zavale sjeverozapadne Hrvatske, a rubnim istočnim dijelom dodiruje makroregiju Slavenskog gromadnog gorja. Smještena je istočno od Zagrebačke županije. Površina županije iznosi 2.652 km² (3,03% površine Republike Hrvatske). U pet gradova i 18 općina Bjelovarsko-bilogorske županije živi 119.743 stanovnika (2011. godine).

Bjelovarsko-bilogorska županija smještena je na području ključnog čvorišta europskih i regionalnih prometnih pravaca, između najznačajnijih pravaca (Posavskog i Podravskog koridora, te poprečnih koridora srednja Europa-Jadran i Podunavlje-Jadran), dijelom je ostala izvan interesa dosadašnjih razvojnih usmjerenja, što je došlo do izražaja nakon prekida sekundarnih prometnih veza sjevera i juga Hrvatske preko Bosne i Hercegovine.

Obuhvaća prostor četiri karakteristične geografske cjeline: Bilogore (sjeverno i sjeveroistočno), rubnih masiva Papuka i Ravne gore (istočno), Moslavačke gore (jugozapadno), te ravni i dolina Česme i Ilove (zapadno, centralno i južno). Županija je izrazito poljoprivrednog karaktera (ratarstvo i stočarstvo). Udio šumskih površina od 36% određuje ovo područje kao srednje šumovito. Od ukupne površine županije, 55,68% pripada područjima očuvanja značajnima za vrste i stanišne tipove te područjima očuvanja značajnima za ptice (18 područja ekološke mreže NATURA 2000) (www.bbz.hr).

Karlovačka županija

Karlovačka županija nalazi se u središnjoj Hrvatskoj. Graniči s četiri hrvatske županije i s dvije susjedne države, Republikom Slovenijom te Bosnom i Hercegovinom. Obuhvaća površinu od 3.626 km², a na njenom području živi 128.899 (2011. godine), s gustoćom stanovništva 35,55 stanovnika/km². Na području županije je pet gradova i 17 općina. Administrativno, političko, gospodarsko, kulturno i sportsko središte županije je grad Karlovac (www.kazup.hr).

Na prostoru Karlovačke županije dotiču se različitosti prirodnih osobitosti alpskog, panonskog i kraškog krajolika. Područje županije pripada najvećim dijelom krajobraznoj jedinici Kordunska zaravan, rubno na jugozapadu jedinicama Gorski Kotar i Lika, na sjeveru i sjeveroistoku krajobraznim jedinicama Žumberak i Samoborsko gorje, nizinsko područje sjeverne Hrvatske i Panonsko gorje. Ljepote karlovačkih rijeka Kupe, Korane, Mrežnice i Dobre, šumovitost gorja Velike i Male Kapele, zelenilo kordunskog krša, tranzitni položaj i bogata povijesna baština trajne su vrijednosti na kojima počiva gospodarsko privređivanje i kvaliteta življenja stanovništva županije (Hršak i sur., 2007.).

Zahvaljujući svom tranzitnom, prometnom i geostrateškom položaju jedna je od najvažnijih županija, u njoj je sjecište i čvorište najvažnijih prometnica koje povezuju Europu s Jadranskom obalom (www.kazup.hr).



Slika 1. Karta Hrvatske s označenim županijama istraživanja.

2.1.2. Klima istraživanog područja

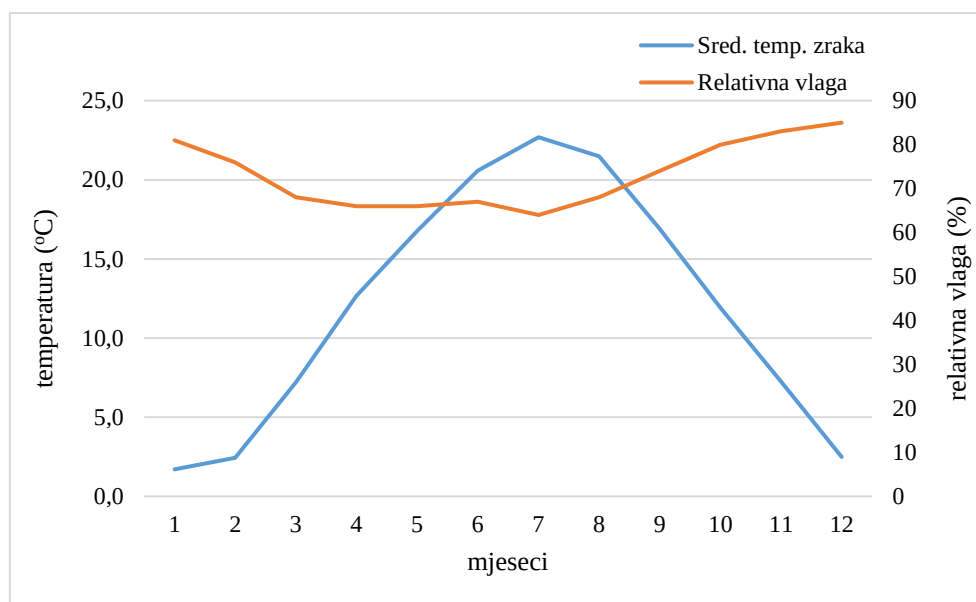
Hrvatska se nalazi u sjevernom umjerenom klimatskom pojasu pa su klimatske prilike povoljne i umjerene, bez velikih temperaturnih razlika i s pravilnom izmjenom četiriju godišnjih doba. Prema Köppenovoj klasifikaciji, koja uvažava srednji godišnji hod temperature i raspodjelu oborina, u kontinentalnoj Hrvatskoj prevladava Cf tip klime - umjereno topla vlažna klima. Područje sjeverozapadne Hrvatske obuhvaćeno istraživanjem (slika 1), u kojem se nalazi Grad Zagreb, Krapinsko-zagorska, Zagrebačka, Bjelovarsko-bilogorska i Karlovačka županija, ima tip klime Cfbwx". Takva klima ima srednju mjesečnu temperaturu najhladnijeg mjeseca u godini višu od -3°C i nižu od 18°C (oznaka C), a najtopliji mjesec u godini ima srednju temperaturu nižu od 22°C (oznaka b). Tijekom godine nema izrazito suhih mjeseci, a mjesec s najmanje oborina je u hladnom dijelu godine (oznaka fw). U godišnjem hodu oborine javljaju se dva maksimuma (x") (Zaninović i sur., 2008.).

U radu su korišteni meteorološki podaci Državnog hidrometeorološkog zavoda za područje grada Zagreba izmjereni na postaji Zagreb-Maksimir u razdoblju od 2004. do 2015. godine, a za područje Krapinsko-zagorske županije izmjereni na postaji Krapina u razdoblju od 2013. do 2016. godine. Za usporedbu su korišteni višegodišnji prosjeci za razdoblje od 1971. do 2000. godine.

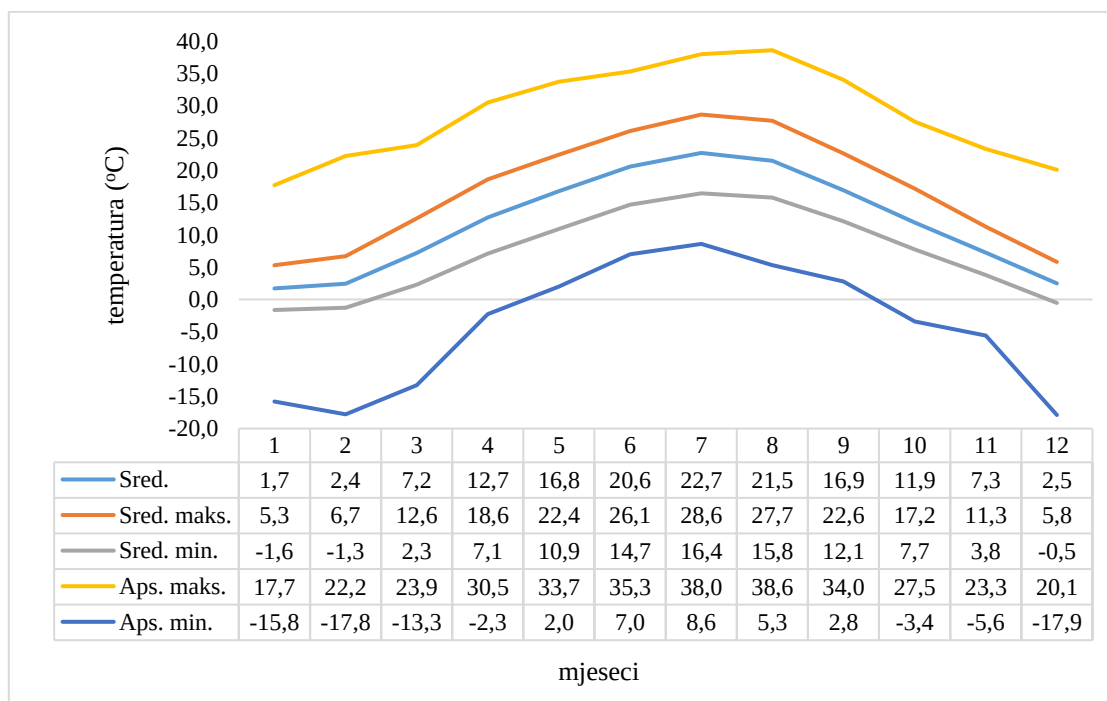
Temperatura zraka

Prema mjerenju meteorološke postaje Zagreb-Maksimir, srednja godišnja temperatura zraka u razdoblju od 2004. do 2015. (12 godina) iznosi $12,0^{\circ}\text{C}$. Najhladniji mjesec u godini je siječanj u kojem srednja temperatura iznosi $1,7^{\circ}\text{C}$. Srednja minimalna temperatura zabilježena je u veljači i iznosi $-1,3^{\circ}\text{C}$, kao i apsolutna minimalna temperatura izmjerena u veljači 2005. i iznosi $-17,8^{\circ}\text{C}$. Najtopliji mjesec u godini je srpanj sa srednjom temperaturom $22,7^{\circ}\text{C}$, srednjom maksimalnom temperaturom $28,6^{\circ}\text{C}$ (slike 2 i 3). Najviša temperatura izmjerena je u kolovozu 2012. godine i iznosi $38,6^{\circ}\text{C}$. Temperature manje od nule zabilježene su od listopada do travnja, no najveći broj dana s temperaturom zraka manjom od nule (srednje minimalne temperature zraka) izmjerene su od prosinca do veljače i kretale su se od $-0,5$ do $-1,6^{\circ}\text{C}$. Mjesec s najviše vrućih dana je srpanj. Srednje mjesečne temperature više od 20°C su u lipnju ($20,6^{\circ}\text{C}$), srpnju ($22,7^{\circ}\text{C}$) i kolovozu ($21,5^{\circ}\text{C}$).

U istom razdoblju srednja godišnja relativna vlaga iznosi 73%, a kreće se od 64% u srpnju do 85% u prosincu (slika 2).

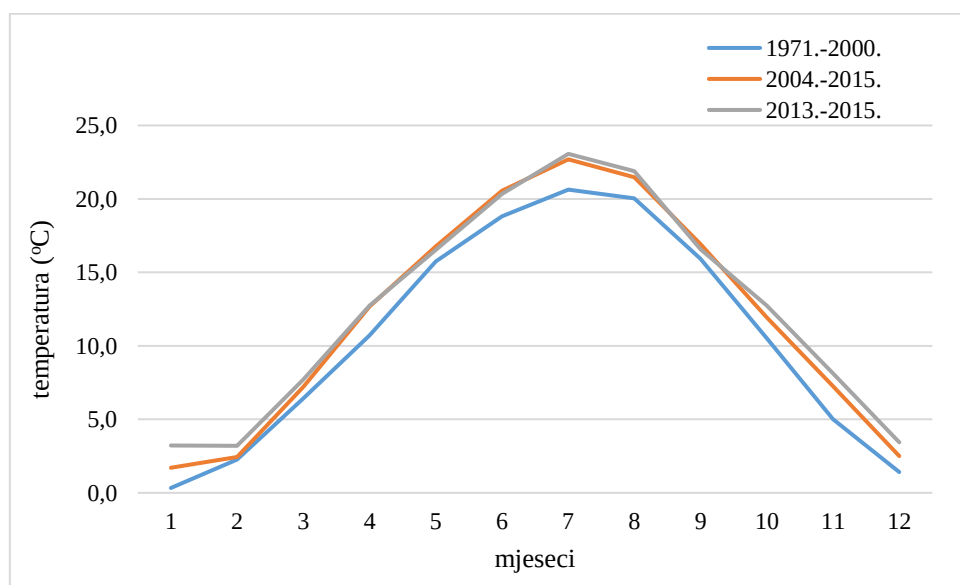


Slika 2. Kretanje srednje temperature i relativne vlage u Zagrebu u razdoblju od 2004. do 2015. godine.



Slika 3. Kretanje srednje dnevne, minimalne i maksimalne temperature zraka te apsolutne maksimalne i minimalne temperature u Zagrebu u razdoblju od 2004. do 2015. godine.

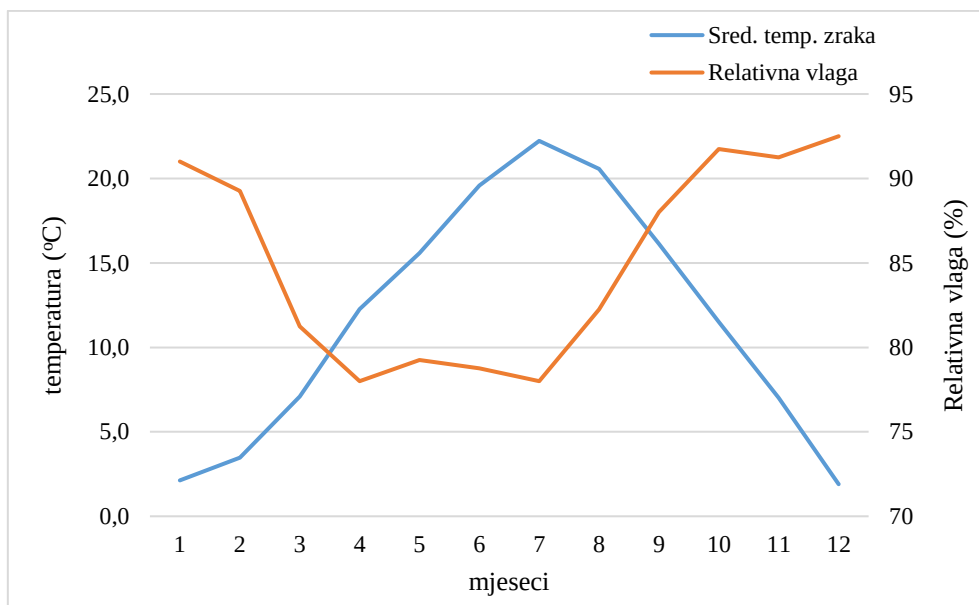
Uspoređuju li se prikazane srednje temperature zraka za promatrana razdoblja s višegodišnjom srednjom temperaturom, uočava se porast temperature. Srednja temperatura zraka za razdoblje od 1971. do 2000. godine iznosi 10,7°C, što je u odnosu na razdoblje od 2004. do 2015. godine niže za 1,3°C. U razdoblju od 2013. do 2015. godine srednja godišnja temperatura iznosi 12,5°C, što je u usporedbi s temperaturom višegodišnjeg srednjaka više za 1,8°C (slika 4). Višegodišnja srednja vrijednost (od 1971. do 2000. godine) relativne vlage iznosi 85%, a za razdoblje od 2013. do 2015. godine iznosi 82%.



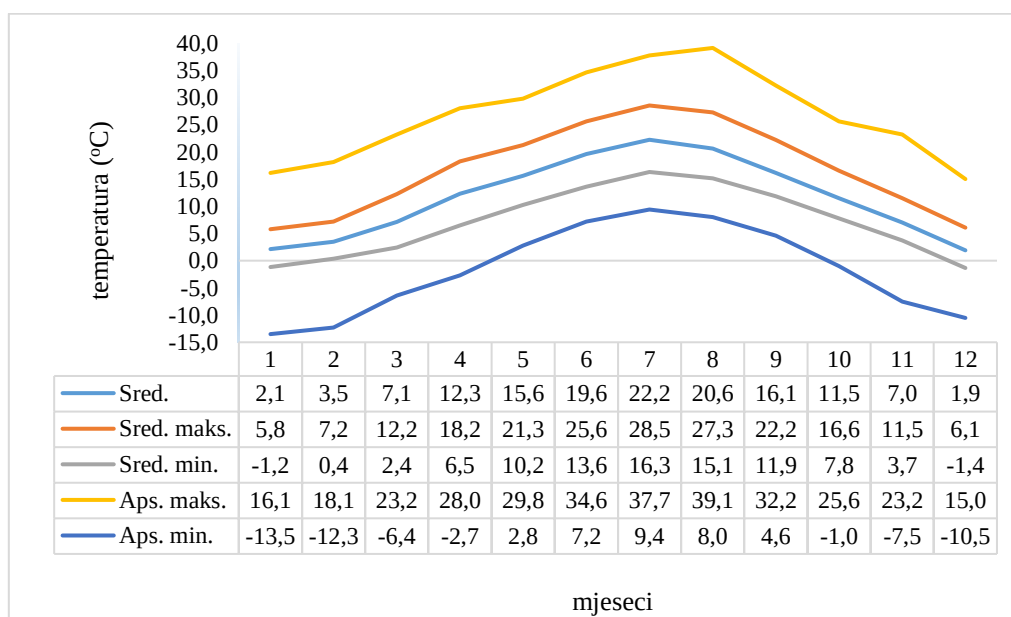
Slika 4. Kretanje srednje dnevne temperature zraka u Zagrebu u razdobljima: 1971.-2000., 2004.-2015. i 2013.-2015. godine.

Prema mjerenju meteorološke postaje Krapina (predstavlja Krapinsko-zagorsku županiju) srednja godišnja temperatura zraka u razdoblju od 2013. do 2016. iznosi je 11,6°C što je 0,4°C manje nego u Zagrebu. U promatranom razdoblju najhladniji mjesec u godini bio je prosinac sa srednjom temperaturom 1,9°C (slika 5). Srednja minimalna temperatura zabilježena je u prosincu i iznosi -1,4°C, apsolutna minimalna temperatura izmjerena je u siječnju 2015. i iznosi -13,5°C. Najtopliji mjesec u godini je srpanj sa srednjom temperaturom 22,2°C, srednjom maksimalnom temperaturom 28,5°C (slika 6). Najviša temperatura izmjerena je u kolovozu 2015. godine i iznosi 39,1°C. U razdoblju od 2013. do 2016. srednja godišnja relativna vlaga iznosi 85%, a kreće se od 79% u srpnju do 93% u prosincu (slika 5). Kretanja temperature tijekom godine vrlo su slična kretanjima na području Zagreba.

Stalna mjerenja temperature na području Krapine obavljaju se od 1993. godine. U razdoblju od 1993. do 2000. godine srednja godišnja temperatura zraka iznosi 10,7°C, što je 0,9°C manje od temperature posljednje četiri godine.



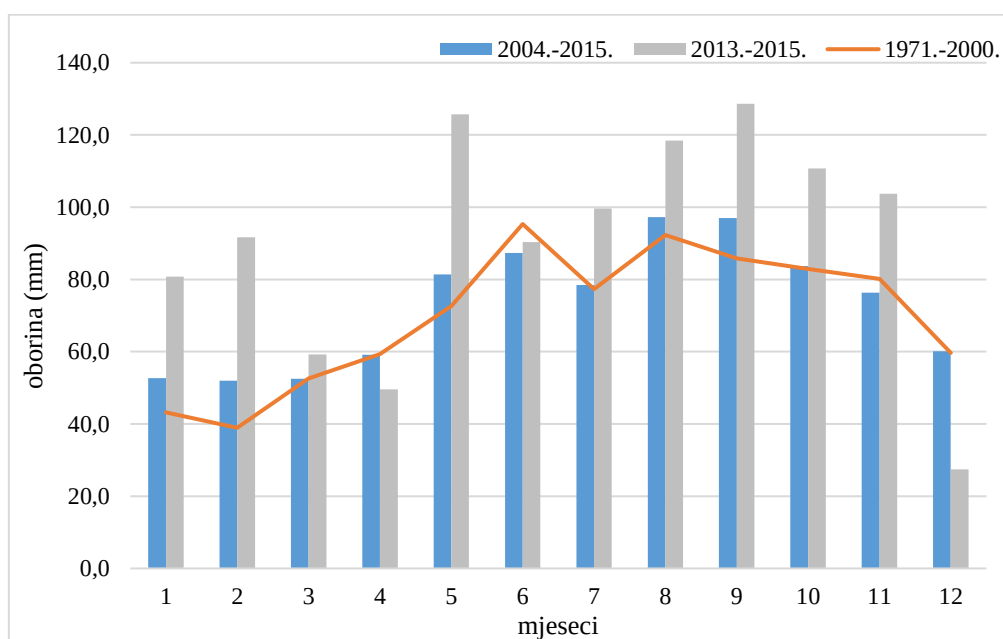
Slika 5. Kretanje srednje temperature i relativne vlage u Krapini u razdoblju od 2013. do 2016. godine.



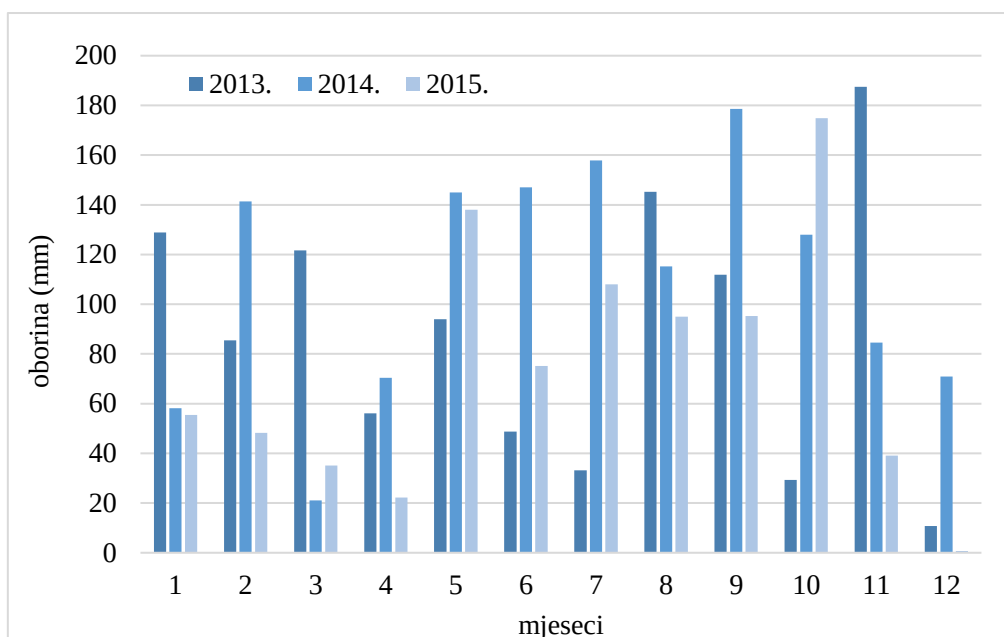
Slika 6. Kretanje srednje dnevne, minimalne i maksimalne temperature zraka te apsolutne maksimalne i minimalne temperature u Krapini u razdoblju od 2013. do 2016. godine.

Oborine

U razdoblju od 2004. do 2015. godine Zagreb prosječno ima 878 mm oborina godišnje. Višegodišnja srednja količina oborina za razdoblje od 30 godina (1971.-2000.), nešto manja i iznosi 840,2 mm. Oborine su neravnomjerno raspoređene tijekom godine, a najveća količina bilježi se u toplom dijelu godine. Nema izrazito suhih mjeseci. Uočavaju se dva mjeseca s najvišim oborinama: lipanj (95,3 mm) i kolovoz (92,3 mm). Najmanja količina oborina zabilježena je u veljači (38,9 mm), a zatim u siječnju (43,2 mm). U razdoblju od 2004. do 2015. godine najveća količina oborina zabilježena je u kolovozu (97,3 mm) i rujnu (97,0 mm), a najmanja i gotovo jednaka u siječnju (52,7 mm), veljači (52 mm) i ožujku (52,5 mm) (slika 7). Najsušnija godina bila je 2011. sa samo 517 mm oborina, a godina s najvećom količinom bila je 2014. kada je izmjereno ukupno 1.317,8 mm oborina. Postaja Zagreb-Maksimir u razdoblju od 2013. do 2015. godine bilježi znatan porast prosječne ukupne količine oborina koja iznosi 1.085,9 mm. U istom razdoblju razlikuje se i kretanje srednje mjesečne količine oborina u odnosu na prethodno promatrana razdoblja; najveća količina oborina zabilježena je u svibnju (125,7 mm) i rujnu (128,6 mm), a najmanja u prosincu (27,5 mm) (slike 7 i 8).

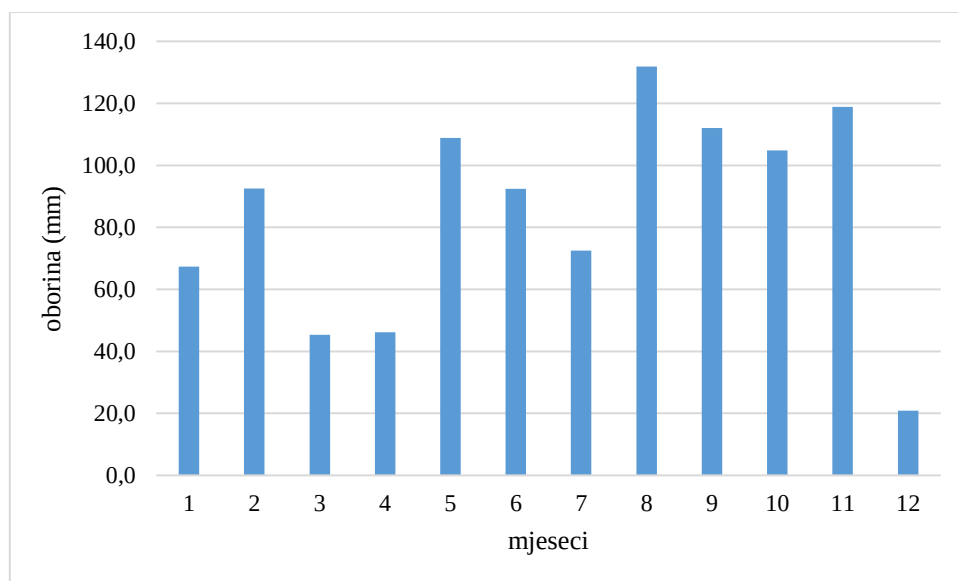


Slika 7. Kretanje srednje mjesečne količine oborina u Zagrebu u razdobljima: 1971.-2000., 2004.-2015. i 2013.-2015. godine.

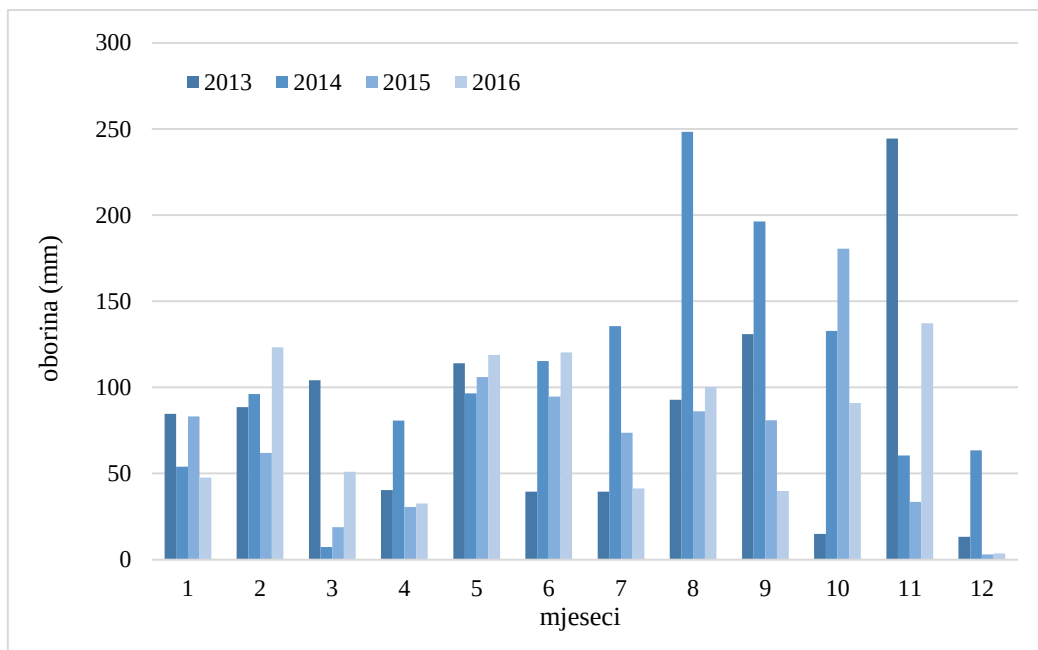


Slika 8. Kretanje ukupne mjesečne količine oborina u Zagrebu u razdoblju od 2013. do 2015. godine.

Mjerna postaja Krapina u razdoblju od 2013. do 2016. godine bilježi prosječno 1013,6 mm oborina. Kretanje količine oborina tijekom godine slično je kretanju oborina na području Zagreba u razdoblju od 2013. do 2015. godine (slike 9 i 10). Najviše oborina je palo u kolovozu (131,9 mm), a najmanje u prosincu (20,9 mm) (slika 9).



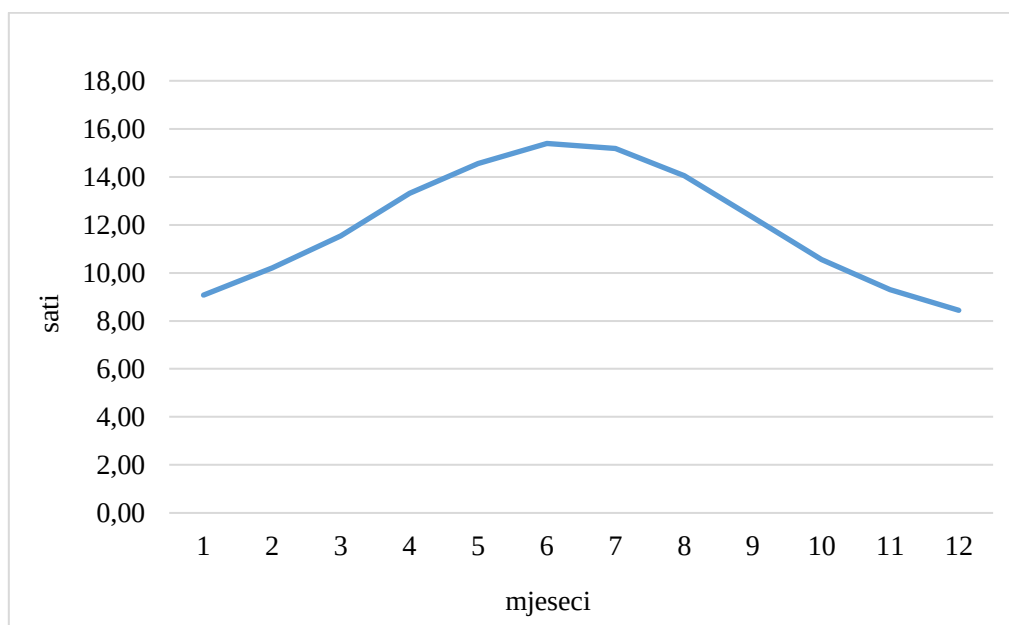
Slika 9. Srednja mjesečna količina oborina u Krapini u razdoblju od 2013. do 2016. godine.



Slika 10. Ukupna mjesečna količina oborina u Krapini u razdoblju od 2013. do 2016. godine.

Duljina dana

U sjevernoj Hrvatskoj sunce sja godišnje 1.800 do 2.000 sati, u Zagrebu prosječno 1.889 sati. Slika 11 prikazuje prosječnu mjesečnu duljinu dana izmjerenu na postaji Zagreb-Maksimir u 2015. godini.



Slika 11. Prosječna mjesečna duljina dana (postaja Zagreb-Maksimir), 2015. godina.

2.2. Pregled dosadašnjih istraživanja invazivnih vrsta komaraca *Ae. albopictus* i *Ae. japonicus*

Na području Europe do sada je udomaćeno pet invazivnih vrsta komaraca: *Ae. albopictus*, *Aedes aegypti*, *Ae. japonicus*, *Aedes koreicus* i *Aedes atropalpus* (Medlock i sur., 2015.; ECDC, 2017.). Zabilježen je unos i šeste vrste, *Aedes triseriatus* u Francuskoj (Medlock i sur., 2012.), ali do sada nema potvrde o njenom udomaćivanju (Medlock i sur., 2015.; ECDC, 2017.). Među navedenim vrstama, *Ae. albopictus* i *Ae. japonicus* dvije su najraširenije invazivne vrste komaraca s različitim temperaturnim zahtjevima staništa (Paupy i sur., 2009.; Kaufman i Fonseca, 2014.; Cunze i sur., 2016a.).

2.2.1. Biološke i ekološke značajke vrste *Ae. albopictus*

Komarac vrste *Ae. albopictus* (Skuse, 1894) prema posljednjoj reviziji genetičke klasifikacije tribusa Aedini naziva se *Stegomyia albopicta* (Reinert i sur., 2004.), uobičajenog je engleskog naziva „Asian tiger mosquito“, ili „Forest day mosquito“ (Paupy i sur., 2009.), a na našim prostorima naziva se „tigrasti komarac“.



Slika 12. Ženka vrste *Ae. albopictus* (foto A. Klobučar).

Odrasle jedinke su relativno male veličine (približno 1 cm), prekrivene sjajnim crnim ljuskicama i karakteristično raspoređenim bijelim/srebrnim ljuskicama na tijelu i nogama. Glavna morfološka karakteristika koja razlikuje ovu vrstu od drugih sličnih vrsta (*Ae. aegypti*, *Ae. japonicus* i *Ae. koreicus*) je prisutnost srebrene pruge u središnjem dijelu crnog skutuma (dorzalni dio prsa) (Hawley, 1988.).

Invazija je biološki zanimljiva pojava i jedan od načina širenja područja rasprostranjenosti pojedine biljne ili životinjske vrste. Bez invazije ne bi bilo života na zemlji. Ljudi najčešće istražuju vrste koje izazivaju štetu, stoga se najčešće govori o negativnom aspektu invazivnih vrsta. Vrsta *Ae. albopictus* na listi je 100 najinvazivnijih vrsta svijeta koju izrađuje Ekspertna skupina za invazivne vrste (Invasive Species Specialist Group) i danas se smatra najinvazivnijom vrstom komaraca u svijetu. Uspjehu u invazivnosti pridonose brojni čimbenici: globalizacija, ekološka prilagodljivost, sposobnost kompeticije, nedostatak nadzora te nedostatak efikasne kontrole i suzbijanja vrste (Medlock i sur., 2015.). Uz predviđanje budućih klimatskih promjena, znanstvenici smatraju da će *Ae. albopictus* uspješno nastaviti invazivno širenje izvan sadašnjih granica areala. Vrsta je pokazala prilagodbu hladnijoj klimi, što može imati za posljedicu ne samo njeno širenje nego i prijenos te pojavu bolesti koje vrsta prenosi u područjima svijeta gdje do sada bolesti nisu zabilježene ili su zabilježene tek posljednjih godina (Paupy i sur., 2009.; Medlock i sur., 2015.).

Vrsta *Ae. albopictus* potječe iz jugoistočne Azije gdje su tropske i suptropske populacije aktivne tijekom cijele godine bez prezimljavanja. Proširila se u znatno sjevernije geografske širine od područja svoje prirodne rasprostranjenosti. Glavna karakteristika koja je pridonijela širenju je prilagodba niskim temperaturama stvaranjem jaja za prezimljavanje u područjima umjerenog klimatskog pojasa (Hawley, 1998.; Knudsen i sur., 1996.; Medlock i sur., 2015.).

Komarac *Ae. albopictus* posjeduje sposobnost prilagođavanja vrlo raznolikim staništima. Premda potječe iz šumskih staništa Azije, sada je i na području Azije prilagođen na okoliš čovjeka i javlja se najčešće u prigradskim sredinama, ali i u gusto naseljenim urbanim područjima. Legla vrste su raznolika: prirodna, kao što su bambusove stabljike i duplje drveća te umjetna, nastala posredovanjem ljudi, kao što su spremnici za vodu, gume, odbačeni otpad i vaze na grobljima (Hawley, 1988.).

Studije provedene na otvorenome u Japanu i otoku Reunion pokazuju da je *Ae. albopictus* aktivan i razmnožava se na srednjim temperaturama iznad 10°C (Nawrocki i Hawley, 1987.). U umjerenim klimatskim područjima Europe i SAD-a jaja su sposobna prezimiti kada temperatura padne ispod tog praga. Na području SAD-a vrsta je udomaćena u područjima gdje zimske srednje temperature dosežu i do -5°C (Mitchell, 1995.; Paupy i sur.,

2009.; Leisnham i Juliano, 2012.). Otpornost jaja na niske temperature vjerojatno je povezana sa sposobnošću sintetiziranja visoke količine lipida, odnosno stvaranja veće količine lipida u jajima koja će prezimiti (Briegel i Timmermann, 2001.). Otpornost jaja koje vrsta stvara za prezimljavanje ispitana je u laboratorijskim uvjetima na europskom soju vrste pri čemu je zabilježeno preživljavanje jaja pri kratkoročnom izlaganju (1 sat) temperaturi od -12°C te pri dugoročnom izlaganju (12 i 24 sata) pri temperaturi -10°C. Razlika u preživljavanju između jaja za prezimljavanje i sezonskih jaja iznosila je 75% prema 10% (Thomas i sur., 2012.). Ličinke i odrasle jedinke mogu se pronaći od travnja ili svibnja do studenoga. Na području sjeverne Italije zabilježena je slaba aktivnost odraslih jedinki ispod 9°C (Roiz i sur., 2010.).

Komarac *Ae. albopictus* uglavnom je dnevno aktivna vrsta, najčešće bode u jutarnjim i kasnim popodnevnim satima, premda su zabilježeni mnogi izuzetci, ovisno o sezoni, području, dostupnosti domaćina i prirodi ljudskog okruženja (Hawley, 1988.; Paupy i sur., 2009.; Delatte i sur.; 2010.). Najviše bode sisavce, ali se može hraniti na većini kralježnjaka, što uključuje vodozemce, gmazove i ptice (toplokrvne i hladnokrvne životinje) (Hawley, 1988.; Eritja i sur., 2005.). Analizom obroka komaraca iz prirode češće je dokazano da je izvor krvi čovjek nego životinje (Niebylski i sur., 1994.). Laboratorijske studije i analiza krvnih obroka također su pokazali sklonost hranjenju ljudskom krvlju (Paupy i sur., 2009.). Sklonost vrste hranjenju na domaćinima varijabilna je ovisno o zemljopisnom području. Istraživanje sklonosti hranjenja vrste *Ae. albopictus* provedeno je na otoku La Reunion pri čemu su korištene divlje populacije komaraca. Komarci su mogli odabrati domaćina za prehranu, čovjeka ili životinje, s jednakom dostupnošću jedne od četiri vrste životinja (tele, pile, pas i koza). Vrsta *Ae. albopictus* češće se hranila na čovjeku, što podupire navode istraživača o antropofilnosti vrste (Delatte i sur., 2010.). Eksperimentima je dokazano i da su se jedinke *Ae. albopictus* hranile na 12 vrsta domaćina koji pripadaju pticama, sisavcima i gmazovima (Delatte i sur., 2010.). Studija u Italiji je pokazala je da se vrsta *Ae. albopictus* radije hrani na sisavcima nego na pticama te da su krvni obroci na ljudima u urbanim područjima bili češći nego u ruralnim mjestima pa se može zaključiti da dostupnost domaćina direktno utječe na hranidbene aktivnosti ove vrste (Valerio i sur., 2009.). Iako se vrsta rado hrani na ljudima, uz čovjeka je i niz drugih domaćina pa slijedi da *Ae. albopictus* ima „oportunističku“ sklonost hranjenju (Richards i sur., 2006.).

Ae. albopictus je trenutno ozbiljan molestant za stanovništvo Italije, Južne Francuske, Španjolske te pojedinih dijelova Hrvatske gdje značajno smanjuje kvalitetu života u infestiranim područjima (Žitko i Merdić, 2014.; Medlock i sur.; 2015.). Ženke bodu agresivno, najčešće tijekom dana i na otvorenome. No, pojedini istraživači opisuju *Ae. albopictus* komarca kao djelomično endofilnu vrstu (Drago, 2003.; Genchi i sur., 2009.; Medlock i sur., 2015.). Na

području Rima nahranjene ženke pronađene su uglavnom u zatvorenim prostorima, što pokazuje da jedinke lokalne populacije borave u zatvorenome nakon krvnog obroka (Valerio i sur., 2009.).

Nakon što je unesena u novo područje, udomaćivanje i širenje vrste uvjetovano je abiotičkim (klima, okoliš) i biotičkim čimbenicima (interakcije s predatorima ili već postojećim vrstama koje iskorištavaju iste resurse na području iste ekološke niše). Takve kompetitivne interakcije mogu dovesti do isključenja nekih vrsta ili stvaranja stabilnog suživota. U područjima gdje se pojavljuju *Ae. albopictus* i *Ae. aegypti*, obje vrste često dijele isto leglo. U Sjevernoj Americi, Brazilu i Središnjoj Africi u nekim urbanim i suburbanim područjima obje vrste obitavaju zajedno (Paupy i sur., 2009.). Na otoku Mayotte, sedam godina nakon prvog pronalaska vrste *Ae. albopictus*, u 40% legla pronađene su obje vrste: *Ae. albopictus* i *Ae. aegypti*. Međutim, ne može se isključiti da je suživot prolazna situacija te da će *Ae. albopictus* postati dominantna vrsta (Paupy i sur., 2009.). Dvadeset godina nakon unosa vrste *Ae. albopictus* u Brazil, uočen je pad brojnosti lokalnih populacija *Ae. aegypti*, a terenska istraživanja kompeticije potvrdila su superiornost vrste *Ae. albopictus* (Braks i sur., 2004.).

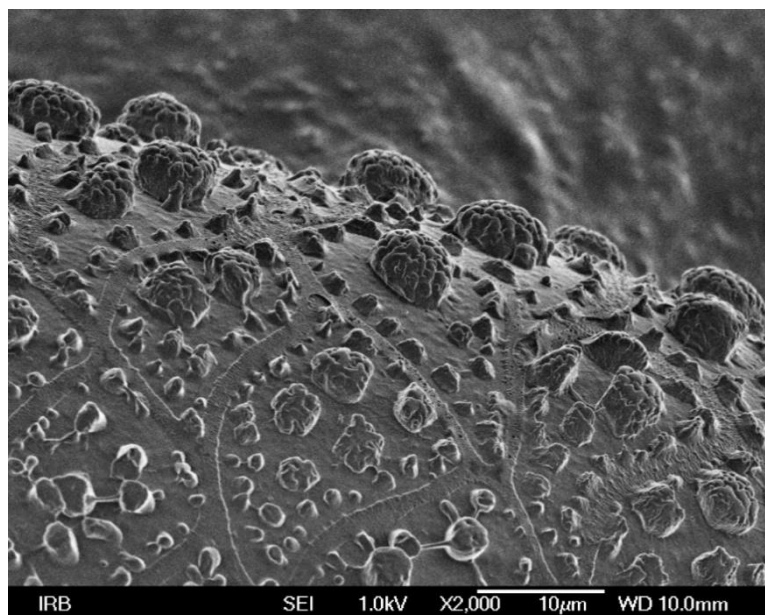
Ženke vrste *Ae. albopictus* najčešće polažu jaja iznad vodene površine na tamne, grube i okomite podloge. Voda koja sadrži lišće ili travu je vrlo pogodno mjesto za polaganje jaja (Hawley, 1988.).



Slika 13. Jaja vrste *Ae. albopictus* na lesonitnoj daščici (foto: A. Klobučar).

Jaja su crna i ovalna, dužine oko 0,5 mm, a ženka ih polaže pojedinačno (slika 13). Njihovu smrt u prirodi mogu izazvati predatori, isušivanje i hladnoća. Važnost svakog od čimbenika ovisi o zemljopisnoj lokaciji i o starosti. Laboratorijska istraživanja su pokazala da

sposobnost jaja da izdrže isušivanje ovisi o njihovoj starosti. Nakon podvrgavanja isušivanju smrtnost jaja starih oko 12 sati bila je gotovo potpuna, dok je smrtnost jaja starih 16 sati bila 60%. Nakon 24 sata jaja su potpuno otporna na isušivanje. Isušivanje mogu podnijeti do godinu dana što olakšava njihov transport u gumama u udaljena područja svijeta. Osim isušivanja i starosti, na izlijeganje jaja utječu promjene temperature, duljina svijetlog dijela dana i zasićenost vode kisikom. Brojne studije su pokazale da niska zasićenost kisikom potiče izlijeganje jaja i to je važniji faktor za izlijeganje od temperature. Na srednjoj temperaturi od 30°C na otvorenome za izlijeganje jaja potrebno je 6-7 dana, u laboratoriju samo 3 dana. Nasuprot tome, tijekom hladnijeg perioda godine (srednja temperatura 21°C) za izlijeganje jaja potrebno je do 10 dana, a u laboratorijskim uvjetima 10-14 dana (Hawley, 1988.).



Slika 14. Površina jaja vrste *Ae. albopictus* snimljena elektronskim mikroskopom, povećanje 2.000 X (foto: A. Klobučar).

Razvoj ličinki ovisi o temperaturi i količini hranjivih tvari u vodi. U laboratorijskim uvjetima pri temperaturi blizu 25°C, s optimalnim količinama hrane, stadij ličinke traje od 5-10 dana, a stadij kukuljice traje najčešće 2 dana. Niske temperature usporavaju vrijeme razvoja. Istraživanja japanske populacije pokazuju da razvoj ličinki prestaje pri temperaturi od 11°C. Pri temperaturi od 14-18°C srednje razvojno vrijeme od izlijeganja jaja do stvaranja kukuljice može trajati do 3 tjedna. Ako ličinkama nedostaje hrane, razvoj može biti znatno produljen

(Hawley, 1988.). Tako je zabilježena duljina razvoja ličinki od 3-8 tjedana, a odrasli komarci mogu preživjeti više od tri tjedna (Gatt i sur., 2009.). Na području New Jersey ličinke vrste *Ae. albopictus* su pronađene u leglima s temperaturom vode od 12 do 33°C (Barlett-Healy i sur.; 2012.).

Ae. albopictus stvara veći broj generacija u godini. Na otvorenom je najčešće zabilježeno najviše pet generacija u jednoj godini, generacije se mogu preklapati zbog odgođenog izlijevanja i raznolikosti legla (Hawley, 1988.). Istraživanja na Malti pokazuju pet do 17 generacija (Gatt i sur., 2009.), pri čemu gustoća populacija ovisi o temperaturi i dostupnosti hrane i vode. Više temperature ubrzavaju razvoj ličinki, povećavaju broj generacija odraslih jedinki i stupanj prezimljavanja jaja (Medlock i sur., 2015.). Studija provedena u provinciji Trento u sjevernoj Italiji pokazuje porast broja ženki u razdoblju od 20. tjedna (svibanj) do 37. tjedna (rujan), s dva maksimuma aktivnosti i brojnosti: prvi u 31., a drugi, viši u 37. tjednu (Roiz i sur., 2010.). Nešto južnije, na području regije Emilia-Romagna tijekom 2008. godine zabilježena je aktivnost ženki od 21. (druga polovina svibnja) do 41. tjedna (listopad) s najvećom aktivnošću u 33. tjednu (sredina kolovoza) (Carrieri i sur., 2011.). U Grčkoj je *Ae. albopictus* kontinuirano aktivan više od osam mjeseci godišnje, zabilježeno je polaganje jaja od sredine travnja do prosinca, najveći broj jaja zabilježen je od sredine srpnja do kraja jeseni, s najvećom pojavnošću ženki u listopadu (Giatropoulos i sur., 2012). Na području Splita jaja u ovipozicijskim klopka pronađena su kontinuirano u razdoblju od 13. (druga polovina ožujka) do 48. tjedna (kraj studenog i početak prosinca) (Žitko i Merdić, 2014.). Istraživanjem na području Rima zabilježena je aktivnost ženki tijekom zime, pronađeno je 30% pozitivnih ovipozicijskih klopki u razdoblju od prosinca 2003. do ožujka 2004. godine (Romi i sur., 2006.).

Na temelju istraživanja sposobnosti preživljavanja odraslih jedinki u laboratorijskim uvjetima pri temperaturi od 25°C i relativnoj vlažnosti od 30%, utvrđeno je da ženke vrste *Ae. albopictus* u laboratoriju žive od četiri do osam tjedana, a mogu preživjeti i do šest mjeseci. Ženke žive duže od mužjaka. Vrijeme od izlijevanja do prvog krvnog obroka traje od dva do tri dana, dok je vremenski interval između dva polaganja jaja oko 5 dana. Ženka u toku svog života ukupno položi prosječno 300 do 345 jaja, između 42 i 80 jaja odjednom. Jaja iste starosti (serije) polaže u više legla (Hawley, 1988.).

Radius kretanja vrste je mali, ako je u okolišu prisutno dovoljno mjesta za polaganje jaja odrasle jedinke najčešće prelijeću udaljenosti do 200 m (Hawley, 1988.; Turell i sur., 2005.). Za vrijeme dana, odrasli se odmaraju blizu tla u niskoj vegetaciji.

2.2.2. Rasprostranjenost i širenje vrste *Ae. albopictus*

Vrsta *Ae. albopictus* potječe iz šuma jugoistočne Azije gdje je najvjerojatnije zoofilna vrsta i hrani se na divljim životinjama (Hawley, 1988.). Prva širenja u druga područja zabilježena su na otocima Indijskog oceana uključujući Madagaskar. Širenje je potpomognuto međukontinentalnom trgovinom koja bilježi značajan porast tijekom 20. stoljeća. Vezu između širenja vrste *Ae. albopictus* i ljudskih aktivnosti potvrđuje pojava vrste u Sjedinjenim Američkim Državama (Teksas) 1985. godine gdje je vrsta prenesena međukontinentalnom brodskom trgovinom i prijevozom guma (Reiter i Sprenger, 1987.). Unesena vrsta širila je areal prema sjeveru i istoku te je do danas udomaćena i zabilježena u najmanje 32 države SAD-a (Bonizzoni i sur., 2013.; Medlock i sur., 2015.). Širenje je ubrzao prijevoz rabljenih guma međudržavnim autocestama (Moore i Mitchell, 1997.). Prvi nalaz vrste u Latinskoj Americi zabilježen je u Brazilu 1986. godine, a dvije godine kasnije u Meksiku (Rossi i sur., 1999.). Novi nalazi zabilježeni su zatim u brojnim zemljama srednje i južne Amerike, na Pacifičkim otocima, Novom Zelandu i u Australiji (Paupy i sur., 2009.; Medlock i sur., 2015.).

U Africi je *Ae. albopictus* prvi put otkriven 1989. u Južnoafričkoj Republici (gdje do sada nije udomaćen), kasnije u brojnim drugim državama (Alžir, Nigerija, Kamerun, Ekvatorijalna Gvineja, Gabon, Madagaskar, Srednjoafrička Republika) (Paupy i sur., 2009.; Medlock i sur., 2015.).

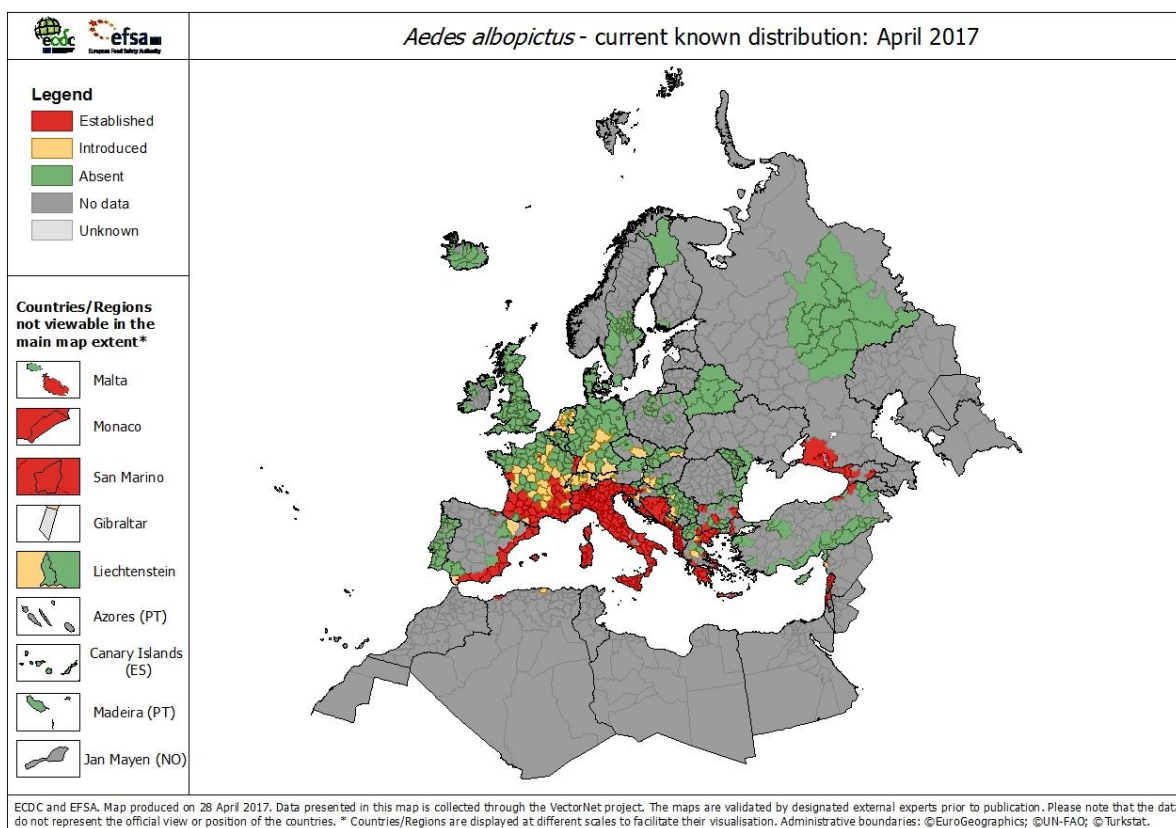
Prvo nalaz vrste u Europi zabilježen je 1979. godine u Albaniji gdje je komarac vjerojatno pristigao iz Kine (Adhami i Reiter, 1998.). Sljedeći nalaz bio je u Italiji (Genova) 1990. godine. Iako nema sigurnih dokaza, pretpostavlja se da je vrsta donesena na talijansko područje uvozom guma iz SAD-a (Della Pozza i Majori, 1992.; Della Pozza i sur., 1994.). Do 1999. godine *Ae. albopictus* proširio se u devet talijanskih regija s najvećom brojnošću u sjeveroistočnom dijelu zemlje (Romi i sur., 1999.). Danas je rasprostranjen na cjelokupnom području Italije uključujući Sardiniju, Siciliju, Lampedusu i druge otoke. Italija je najjače infestirana zemlja u Europi, vrsta je osvojila većinu područja zemlje do nadmorske visine od 600 m, naročito regiju Friuli-Venezia-Giulia, područja Lombardie i regije Emilia Romagna, obalna područja središnje Italije, a visoka infestacija je prisutna u mnogim urbanim područjima (ECDC, 2017.; Romi i Majori, 2008.; Valerio i sur., 2009.). U Francuskoj je *Ae. albopictus* zabilježen prvi put 1999. (Schaffner i Karch, 2000.), Belgiji 2000. godine (Schaffner i sur., 2004.), ali se populacija do danas nije udomaćila (ECDC, 2017.). Od 2001. godine do danas *Ae. albopictus* je zabilježen u brojnim državama Europe: Austrija (nije udomaćen do sada), Bosna i Hercegovina, Bugarska, Crna Gora, Hrvatska, Češka Republika (nije udomaćen do

sada), Gruzija, Grčka, Mađarska, Malta, Monako, Nizozemska (nije udomaćen do sada), Njemačka, Rumunjska, Rusija, San Marino, Srbija (nije udomaćen do sada), Slovačka (nije udomaćen do sada), Slovenija, Španjolska, Švicarska, Turska i Vatikan (ECDC, 2017.) (slika 15).

Komarac *Ae. albopictus* u Hrvatskoj je prvi put pronađen u Zagrebu 2004. godine (Klobučar i sur., 2006.). Tijekom 2005. godine pronađen je na nekoliko lokaliteta u priobalju: u Istri, Zadru, Splitu, Dubrovniku, a 2006. godine zabilježen je u Šibeniku (Boca i sur., 2006.; Klobučar i sur., 2006.; Žitko i sur., 2007.). Tijekom 2007. godine obavljeno je opsežnije istraživanje rasprostranjenosti vrste *Ae. albopictus* na hrvatskoj obali. Obuhvaćeno je područje Istre, Primorja od Opatije do Novog Vinodolskog uključujući otoke Rab, Cres, Lošinj i Krk, područje Dalmacije uključujući Split i okolicu, Makarsku, šire područje Dubrovnika te otoke Hvar i Vis. Pregledano je ukupno 349 lokacija, a komarci *Ae. albopictus* pronađeni su na 195 lokacija (55,87%) (Benić i sur., 2008.). U sljedećim se godinama komarac *Ae. albopictus* proširio na cjelokupno područje priobalja i na većinu otoka (Merdić i sur., 2009.; Merdić i sur., 2012.). U istraživanju provedenom 2011. godine u priobalju, *Ae. albopictus* zabilježen je prvi put na području Ličko-senjske županije u mjestima Jablanac i Stinica (Benić i sur., 2012.).

U nastavku ovog rada prikazuju se rezultati istraživanja širenja areala vrste *Ae. albopictus* u sjeverozapadnoj Hrvatskoj. Na području istočne Hrvatske *Ae. albopictus* zabilježen je prvi put 2013. godine kada je uzorkovana jedna odrasla jedinka u Tenji. Tijekom 2014. godine vrsta je pronađena u Čepinu u vulkanizerskoj radionici, a od tada do danas bilježi se širenje na području grada Osijeka i okolice (Vručina i sur., 2015.; Vručina i sur., 2016.). Do sada je *Ae. albopictus* zabilježen u 19 od ukupno 21 hrvatske županije, nije zabilježen na području Požeško-slavonske (istraživanja nisu provedena) i Sisačko-moslavačke županije (Capak i sur., 2017.).

Procjene temeljene na ključnim klimatskim čimbenicima pokazuju da uvjeti u čitavom priobalnom području Hrvatske pogoduju dugoj sezonskoj aktivnosti vrste *Ae. albopictus* (Mitchell, 1995.; ECDC, 2017.), što je istraživanjima i potvrđeno.



Slika 15. Rasprostranjenost vrste *Ae. albopictus* na području Europe, travanj 2017. godine (izvor: <http://ecdc.europa.eu/>).

2.2.3. Ekološki čimbenici koji utječu na aktivnost i rasprostranjenost *Ae. albopictus*

Staništa vrste *Ae. albopictus* u endemskom području su uglavnom tropske i suptropske šume karakterizirane prilično konstantnim klimatskim uvjetima. To omogućuje populacijama komaraca kontinuiranu aktivnost tijekom cijele godine (Knudsen i sur., 1996.; Medlock i sur., 2015.). Populacije u umjerenom klimatskom pojasu u hladnom dijelu godine pogođene su nepovoljnim zimskim temperaturama i kratkim svijetlim dijelom dana (fotoperiod dana), a kao odgovor na ove čimbenike vrsta je razvila prilagodbu - stvara jaja kojima prezimljava, što uvelike olakšava udomaćivanje populacija u umjerenom klimatskom pojasu (Hawley, 1988.; Medlock i sur., 2015.). Na području Europe *Ae. albopictus* je izložen različitim klimatskim uvjetima u odnosu na njegovo prirodno stanište. Pretpostavlja se da će *Ae. albopictus* pronaći pogodne uvjete u centralnoj Europi zahvaljujući klimatskim promjenama pa se predviđa da će proširiti područja svojeg obitavanja prema sjeveru (Fischer i sur., 2011.; Koch i sur., 2015.).

Prag širenja vrste određuje nekoliko klimatskih čimbenika. Smatra se da je za prezimljavanje jaja potrebna prosječna zimska temperatura viša od 0°C, dok je za život i aktivnost odraslih jedinki potrebna srednja godišnja temperatura iznad 11°C. Obzirom da vrsta treba mala vodena staništa za polaganje jaja i razvoj ličinki, smatra se da godišnja količina oborina od najmanje 500 mm osigurava održavanje legla komaraca (Mitchell, 1995.; Kobayashi i sur., 2002.; Medlock i sur., 2006.; Roiz i sur., 2011.; Caminade i sur., 2012.; Medlock i sur., 2015.; Cunze i sur., 2016b.). Oborine trebaju biti prisutne za vrijeme ljetnih mjeseci kako bi se održala mala legla komaraca. Nasuprot tome, razdoblja obilnih oborina kratkoročno smanjuju brojnost ženki koje traže krvni obrok (Roiz i sur., 2010.). Za optimalnu uspostavu populacija smatraju se potrebnima ljetne temperature od 25 do 30°C (Straetmans, 2008.; Delatte i sur., 2009.; Brady i sur., 2013.; Medlock i sur., 2015.). Međutim, znanstvenici izvješćuju o udomaćivanju populacija u područjima s nižim prosječnim temperaturama (5-28,5°C) i nižim oborinama (290 mm godišnje) nego što se smatra potrebnim (Benedict i sur., 2007.; Severini i sur., 2008.). Važna je činjenica da se voda može akumulirati i čuvati, tako da su prisutna pogodna vodena staništa i u odsutnosti oborina (Medlock i sur., 2015.), pogotovo u naseljima gdje ljudi stvaraju mogućnosti za nastanak brojnih raznolikih legla komaraca.

Duljina reproduktivnog razdoblja određena je porastom temperatura u proljeće i početkom prezimljavanja u stadiju jaja u jesen. Stvaranje jaja za prezimljavanje počinje tijekom kasnog ljeta i/ili rane jeseni kada dan postaje kraći. Kritični prag fotoperioda za prezimljavanje razlikuje se među pojedinim zemljopisnim područjima. Općenito, stvaranje jaja za prezimljavanje počinje u danima s 13-14 sati dnevnog svjetla, kako je zabilježeno na području Rima (Toma i sur., 2003.), Šangaja i Nagasakija (Wang, 1966.; Mori i sur., 1981.) te na području Sjeverne Amerike (Pumpuni i sur., 1992.). Novija istraživanja u Nagasakiju pokazuju da kritični fotoperiod počinje pri 11-12 sati (Kobayashi i sur., 2002.). Istraživanja su pokazala da su jaja europskih populacija *Ae. albopictus* u prezimljavanju preživjela temperature okoliša -10°C, pri čemu su važna mikrostaništa u kojima se jaja nalaze, dok su jaja tropskih populacija preživjela temperature -2°C (Thomas i sur., 2012.). Uspjeh u razvoju jaja u ličinke i tolerancija na hladnoću prezimljenih jaja europskih populacija *Ae. albopictus* pokazala su se uspješnija u usporedbi s jajima koja nisu bila u prezimljavanju (Thomas i sur., 2012.). Izlijeganje jaja u proljeće povezano je s promjenama u fotoperiodu, dostupnosti hrane, temperaturi i prisutnosti vode.

Medlock i suradnici (2015.) prikazali su rezultate nekoliko znanstvenih studija vezanih za buduće širenje vrste *Ae. albopictus* (ECDC, 2009.; Fischer i sur., 2011., 2014.; Caminade i sur., 2012.; Leisnham i Juliano, 2012.). Populacije su do sada udomaćene u brojnim zemljama

Mediterrana. Na temelju primjene klimatskih modela koji uključuju dosadašnje spoznaje o proširenosti vrste i ekološke zahtjeve *Ae. albopictus* vrste, znanstvenici predviđaju daljnje širenje u mediteranskom području prema istoku i zapadu, udomaćivanje na području Portugala, u obalnim dijelovima Grčke i Turske, istočne Turske, Bugarske, u obalnom dijelu Rusije uz Kaspijsko more te dijelu Bosne i Hercegovine i Srbije (Benedict i sur., 2007.; ECDC, 2009; Fischer i sur., 2011., 2014.; Caminade i sur., 2012.). Uzimaju li se u obzir buduće klimatske promjene, većina Europe će postati pogodna za širenje vrste *Ae. albopictus* (ECDC, 2009.; Caminade i sur.; 2012.). Predviđa se da će se u dolazećem razdoblju radi vlažnih i toplijih uvjeta populacije vrste udomaćiti u sjevernoj Europi, a radi vrućih i suhih ljeta širenje neznatno smanjiti na području južne Europe (Fischer i sur., 2011., 2014.; Caminade i sur., 2012.). Promjene u iskorištavanju zemljišta, osobito urbanizacija, povećavat će mogućnost stvaranja staništa za vrstu *Ae. albopictus* u odnosu na domicilne vrste komaraca, pomažući tako udomaćivanje vrste na novim područjima (Leisnham i Juliano, 2012.).

2.2.4. Biologija i ekologija vrste *Ae. japonicus*

Vrsta *Aedes* (Finlaya) *japonicus* na području Azije i Dalekog Istoka pojavljuje se u obliku četiri morfološki vrlo slične podvrste: *Ae. j. japonicus* (Theobald, 1901), *Ae. j. shintienensis* (Tsai i Lien, 1950), *Ae. j. amamiensis* (Tanaka, Mizusawa i Saugstad, 1979) i *Ae. j. yaeyamensis* (Tanaka, Mizusawa i Saugstad, 1979). Podvrsta *Aedes j. japonicus* (Theobald, 1901) najrasprostranjenija je i jedina od četiri podvrste, iz ne sasvim jasnih razloga, postala invazivna (Tanaka i sur., 1979.). Dakle, podvrsta *Aedes j. japonicus* (slika 16) prenesena je na druge kontinente gdje je postala invazivna.

Sinonimi imena podvrste su *Ochlerotatus japonicus japonicus* (Reinert, 2000.), *Hulecoeteomyia japonica japonica* (Reinert i sur., 2006.).

U području svoga podrijetla, podvrsta *Aedes j. japonicus* (dalje u tekstu: vrsta *Ae. japonicus*) rasprostranjena je u Japanu, otočju Ryukyu, Korei, južnoj Kini uključujući Hong Kong, u Taiwanu i jugoistočnom Sibiru. Za prijenos u prekontinentalna područja koristi iste transportne mehanizme kao vrsta *Ae. albopictus*, dakle prvenstveno prijenos jaja otpornih na isušivanje putem trgovine rabljenim gumama, a na kopnu također trgovinu i različita prijevozna sredstva kojima se prenose jaja, ličinke i odrasle jedinke (Reiter i Sprenger, 1987.; Kampen i

Werner, 2014.). Na području Europe *Ae. japonicus* se pojavio kao treća invazivna vrsta komaraca. Danas se nalazi među prvih 100 invazivnih vrsta svijeta (Medlock i sur., 2015.).



Slika 16. Mužjak vrste *Ae. japonicus* (foto: A. Klobučar).

Iako je vrsta *Ae. japonicus* je relativno česta u svom endemskom području, što uključuje i urbana područja (Tanaka i sur., 1979), nije česta vrsta u Japanu i Koreji. Zabilježena je kao napasnik (molestant) na nekim lokalitetima (Schaffner i sur., 2009.), ali ne kao agresivna vrsta (Tanaka i sur., 1979.; Kaufman i Fonseca, 2014.; Kampern i Werner, 2014.). Općenito, u području prirodne raširenosti vrsta najčešće nije uočljiva jer nije agresivan napasnik ljudi, niti se smatra primarnim vektorom bolesti u ljudi, no nastanjuje širi raspon staništa u usporedbi s ekološki sličnim vrstama. Odrasle jedinke su aktivne već od ranog proljeća pa sve do kasne jeseni. Ličinke se razvijaju u stijenama, dupljama drveća, panjevima bambusa, različitim posudama (umjetna legla), osobito posudama od kamena ili betona, a u umjetnim leglima pojavljuju se ranije u proljeće nego druge vrste (Tanaka i sur., 1979.; Kaufman i Fonseca, 2014.; Kampern i Werner, 2014.). Karakteristike vrste kao što su sklonost šumskim staništima, nastanjivanje umjetnih legla i dobro podnošenje niskih temperatura važne su za uspješno širenje i potencijalnu ulogu vrste u prijenosu uzročnika bolesti (Kaufman i Fonseca, 2014.).

Jedinke *Ae. japonicus* primarno se hrane na sisavcima (Apperson i sur., 2004.; Hoshino i sur., 2010; Molaei i sur., 2009.; Scott, 2003.). Analize krvnih obroka jedinki uhvaćenih u

prirodi su pokazale da se hrane na jelenima, konjima, oposumima i vjevericama, a ljudska krv je pronađena u udjelu do 63% (Apperson i sur., 2004.; Molaei i sur., 2009.; Scott, 2003.). Damiens i sur. 2014. na području Belgije analizirali su krvne obroke 25 nahranjenih ženki; 23 su se hranile na jednom domaćinu, a dvije na dva domaćina. Analiza je pokazala da su u 60% obroka sisavci (najčešće ljudi) jedini izvor krvi, 32% obroka je krv krava, a 2% ljudi i krave. Izravni dokazi za hranjenje vrste na pticama i prema tome za mogućnost da vrsta služi kao posrednik u prijenosu virusa uzročnika bolesti na području Sjeverne Amerike su mali. Budući da je WNV izoliran iz odraslih jedinki komaraca uzorkovanih na otvorenome (Scott, 2003., Turell i sur., 2001.), podrazumijeva se da se odrasle jedinke hrane na pticama. Međutim, drugi dokazi sklonosti hranjenju na pticama temelje se na laboratorijskim studijama (Williges i sur., 2008.)

Ženke su opisane kao dnevno ili krepuskularno aktivne (Tanaka i sur., 1979.; Sardelis i sur., 2002.; Scott, 2003., Kaufman i Fonseca, 2014.; Kampfern i Werner, 2014.), s relativno kratkim dometom leta (Fonseca i sur., 2001.).

Vrsta *Ae. japonicus* podnosi niske temperature i prezimljuje u stadiju jaja, ponekad u stadiju ličinke (Andreadis i sur., 2001.; Andreadis i Wolfe, 2010.; Kaufman i sur., 2012.; Scott, 2003.). U istraživanju provedenom u New Jersey (Bartlett-Healy i sur., 2012.) uočeno je da su ličinke *Ae. japonicus* brojnije u kontejnerima s nižom srednjom temperaturom vode nego druge vrste koje su također pronađene (prisutnost ličinki je u negativnoj korelaciji s višom temperaturom). Širenje vrste vjerojatno je ograničeno na južnim geografskim širinama sjeverne hemisfere temperaturom koja prelazi 30-35°C, a širenje u južnijim područjima povezuje se s nastanjivanjem viših nadmorskih visina i dobro zasjenjenih područja (Bevins i sur., 2007., Grim i sur., 2007., Kaufman i Fonseca, 2014.). Razvoj ličinki *Ae. japonicus* je u pozitivnoj korelaciji s temperaturom do približno 30°C, više temperature su utjecale inhibirajuće, a pri temperaturama od 34°C i 40°C nema razvoja odraslih jedinki. Dio ličinki se razvio u odrasle jedinke pri 10°C premda je vrijeme razvojnog ciklusa trajalo 141 dan (Scott, 2003.). Međutim, na 28°C uspjeh razvoja četvrtog stadija ličinki bio je slab, što upućuje na približavanje temperaturi koja je granična za razvoj. U laboratorijskim uvjetima pri 22°C za razvoj od izlijevanja jaja do odrasle jedinke potrebno je dva do četiri tjedna (Scott, 2003.; Kampfern i Werner, 2014.).

U većini područja vrsta *Ae. japonicus* ima veći broj generacija tijekom godine. Rano pojavljivanje podvrste u Japanu ukazalo je na aktivnost od proljeća do jeseni, tijekom dužeg razdoblja nego je razdoblje aktivnosti drugih vrsta u umjetnim leglima. To također vrijedi i za područja gdje je vrsta prenesena i postala invazivna, kao što su pojedine države SAD-a:

Connecticut, New Hampshire i Michigan (Andreadis i sur., 2001.; Burger i Davis, 2008.; Kaufman i sur., 2012.). Na području New Hampshire i države Ontario (Kanada), vrsta *Ae. japonicus* je bila jedina vrsta pronađena u rano proljeće i pojavila se na otvorenome pri temperaturama karakterističnima za ranoproljetne vrste roda *Aedes* (u vodama nakon topljenja snijega) (Burger i Davis, 2008.; Thielman i Hunter, 2006.). Na područjima Virginije gdje prevladava blaža klima zabilježeno je prezimljavanje ličinki (Armistead i sur., 2012.). Rezultati laboratorijskih istraživanja o utjecaju temperature na razvoj, kao i terenska istraživanja koja pokazuju višu brojnost ličinki *Ae. japonicus* u rano proljeće i kasnu jesen, ukazuju da je upravo ova karakteristika važan ključ u invazivnom širenju vrste. Raniji početak aktivnosti osigurava veći broj generacija i manju prisutnost sličnih stadija razvoja drugih vrsta komaraca u leglima (Kaufman i Fonseca, 2014.).

Ae. japonicus koristi širok raspon staništa za razvoj. Na različitim zemljopisnim područjima *Ae. japonicus* ličinke češće su pronađene u šumovitim i ruralnim područjima nego u urbanim središtima. U području svog podrijetla vrsta se često može pronaći u vodama u stijenama (Tanaka i sur., 1979.). Navedena staništa opisuju engleski nazivi vrste: „Asian bush mosquito“ i „Asian rock pool mosquito“. Međutim, brojna druga prirodna i umjetna legla su zabilježena kao legla ove vrste (Kaufman i Fonseca, 2014.; Kampfern i Werner, 2014.). Ličinke su pronađene u dupljama drveća, peteljka listova, panjevima, lokvama nastalima nakon kiše, kanalima, gumama, vazama, kantama, pojilištima za ptice, odbačenim tetrapak kutijama, podlošcima tegli s cvijećem, spremnicima od betona, kamena, plastike i metala, slivnicima (Andreadis i sur., 2001.; Bevins, 2007.; Grim i sur., 2007.; Schaffner i sur., 2009.; Kaufman i sur., 2012.). Ličinke su pronađene u sustavima odvodnje oborinskih voda, uključujući ulične slivnike (Andreadis i sur., 2001.; Neitzel i sur., 2009.). U područjima svijeta gdje je vrsta *Ae. japonicus* prenesena i proširila se, ličinke su često brojne u lokvicama vode u stijenama. Tako je na području Virginije vrsta najčešće pronađena u stijenama, a *Ae. albopictus* u umjetnim spremnicima (Armistead i sur., 2012.). Ličinke su često prisutne u leglima s drugim invazivnim vrstama komaraca koje dominiraju na mnogim prostorima gdje je *Ae. japonicus* pronađen (Armistead i sur., 2012.; Seidel i sur., 2016.).

Barlett-Healy i suradnici (2012.) istraživali su rasprostranjenost vrsta *Ae. albopictus* i *Ae. japonicus* u leglima komaraca na području države New Jersey. Uključili su legla u gradskoj, prigradskoj i ruralnoj sredini, odlagališta otpada i šume. Vrsta *Ae. albopictus* češće je pronađena u leglima gradske i prigradske sredine, dok je *Ae. japonicus* češće pronađena u leglima ruralne sredine i u leglima s temperaturom vode ispod 14°C. Vrsta *Ae. japonicus* češće je pronađena u leglima s nižom temperaturom, osobito tijekom listopada, a najčešća legla bila su posude za

cvijeće. Gume, kante za smeće i posude za cvijeće bile su najčešća legla vrste *Ae. albopictus*. Utvrđena je pozitivna korelacija prisutnosti obje vrste s crnom i sivom bojom posuda (legla) komaraca, gumom kao materijalom i gumom kao leglom komaraca. Vrsta *Ae. japonicus* češće je pronađena u zasjenjenim leglima. Armistead i suradnici (2012.) također su utvrdili da izloženost legla suncu utječe na prisutnost vrsta. Vrsta *Ae. japonicus* češće je pronađena u umjetnim leglima koja su potpuno ili djelomično zasjenjena, rijetko je pronađena u leglima potpuno izloženima suncu. Nasuprot tome, na području Japana i Koreje te zapadne Virginije nije uočena manja brojnost ličinki u leglima koja su bila izložena suncu (Tanaka i sur., 1979.; Joy i Sullivan, 2005.). Kad je riječ o vrsti *Ae. albopictus*, izloženost legla suncu ne utječe značajno na prisutnost vrste.

Unos i širenje areala vrste *Ae. japonicus* u Europi i Sjevernoj Americi najčešće je povezan s trgovinom uvezenim gumama, kao što je slučaj i s vrstom *Ae. albopictus* te drugim invazivnim vrstama (Kaufman i Fonseca, 2014.; Kampen i Werner, 2014.).

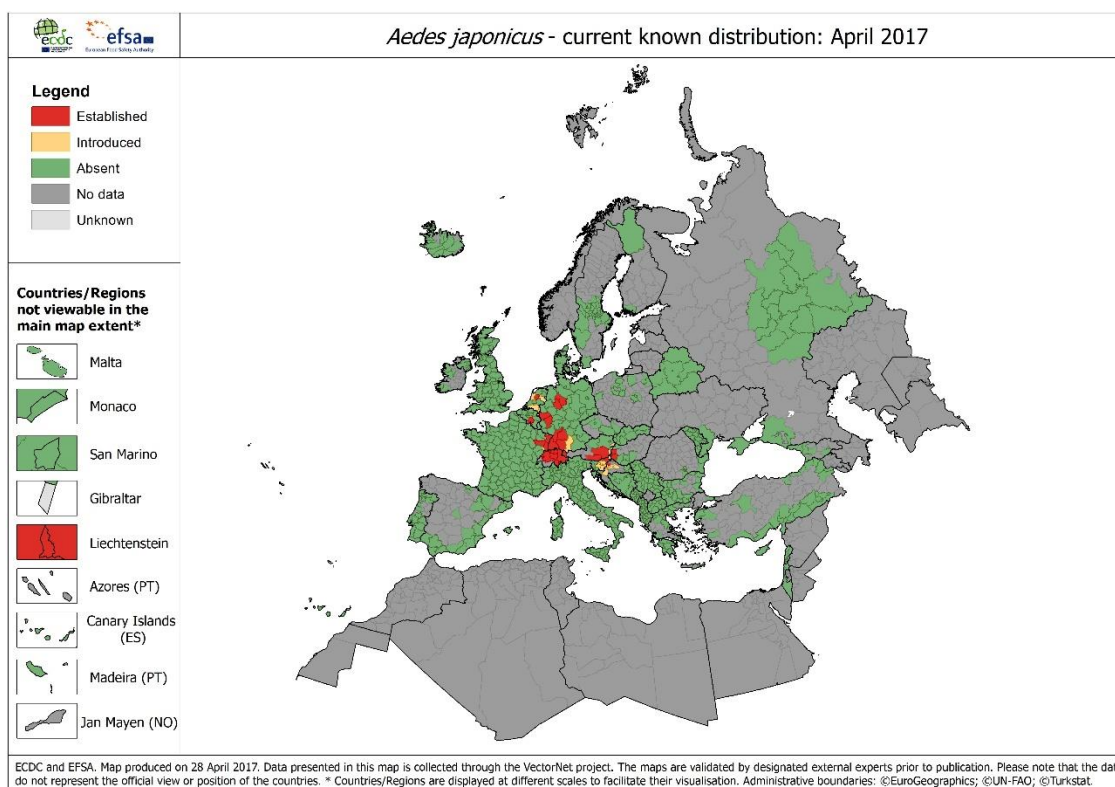
2.2.5. Rasprostranjenost i širenje areala vrste *Ae. japonicus*

Širenje vrste *Ae. japonicus* s područja prirodne rasprostranjenosti događa se od 1990-tih godina. Izvan autohtonog područja *Ae. japonicus* pronađen je prvi put na Novom Zelandu 1993. gdje je prenesen trgovinom rabljenih guma iz Japana (Laird i sur., 1994.). Od tada su zabilježeni novi unosi vrste u luke (1998. i 1999.), no nema objavljenih podataka o udomaćenosti vrste na Novom Zelandu (Kampen i Werner, 2014.; ECDC, 2017.). U Sjedinjenim Američkim Državama prvi nalazi komarca *Ae. japonicus* zabilježeni su 1998. godine u tri države: New Jersey, New York i Connecticut. Do 2011. godine komarac je zabilježen u 33 savezne države SAD-a uključujući Havaje (Kampen i Werner, 2014.). Nije sasvim jasno je li invazivno širenje vrste na području SAD-a rezultat pasivnog prijenosa guma (iz zemalja istočnog dijela SAD-a prema zapadu) i drugih predmeta i opreme s jajima komaraca ili su međukontinentalni višestruki unosi vrste pridonijeli invazivnom širenju. Ličinke vrste *Ae. japonicus* pronađene su u stijenama uz glavne rijeke na područjima gorja Appalachi i planina Blue Ridge, što ukazuje na mogućnost aktivnog širenja vrste duž riječnih koridora (Gray i sur., 2005.; Bevins, 2007.). Filogenetska istraživanja na komarcima s područja istočnih država SAD-a pokazuju da su postojala najmanje dva neovisna unosa (Fonseca i sur., 2001.), odnosno na

području SAD-a prisutne su najmanje dvije genetske forme ove vrste (Falco i sur., 2002.; Fonseca i sur., 2010.).

Širenje vrste *Ae. japonicus* iz sjeveroistočnog područja SAD-a prema Kanadi, u južni Quebec i Ontario zabilježeno je 2001. godine (Thielman i Hunter, 2006.).

Prvi nalaz vrste *Ae. japonicus* u Europi zabilježen je 2000. godine u sjeverozapadnoj Francuskoj (regija Basse-Normandie) gdje su ličinke pronađene u skladišnom prostoru recikliranih guma (Schaffner i sur., 2003.). Vrsta je uspješno suzbijena (Schaffner i sur., 2009.). Slijedi nalaz 2002. u središnjoj Belgiji. Ličinke su pronađene u skladištu tvrtke koja posluje rabljenim gumama, a tek 2007. i 2008. godine vrsta je otkrivena u drugoj tvrtci iste djelatnosti. Do tada je utvrđeno da se udomaćila na prostorima pronalaska, no širenje nije zabilježeno (Versteirt i sur., 2009.). Slijedio je nalaz u sjevernoj Švicarskoj 2008. godine, u pograničnom području uz Njemačku (Schaffner i sur., 2009.). Nakon nalaza, tijekom 2009. i 2010. godine provedeno je istraživanje koje je pokazalo da je vrsta rasprostranjena na području duž 1.400 km južne Njemačke. Time je potvrđeno prvo invazivno širenje vrste u središnjoj Europi (Schaffner i sur., 2009.). Tijekom istraživanja ličinke komaraca *Ae. japonicus* pronađene su i u planinskom području Black Forest (Bernau) na visini od oko 1200 m (Becker i sur., 2011.). Prvi nalaz u Sloveniji zabilježen je 2011. godine, komarci su pronađeni u graničnom području Slovenije i Austrije (Styria), a zatim je vrsta pronađena u okolici Maribora u rujnu 2011. godine (Seidel i sur., 2012.). Istraživanje provedeno tijekom 2013. godine u Sloveniji pokazalo je da je *Ae. japonicus* rasprostranjen na gotovo čitavom sjeveroistočnom području Slovenije (Kalan i sur., 2014). U razdoblju od svibnja do srpnja 2012. godine istraživanje u Austriji pokazalo je da se vrsta s područja Styria proširila zapadno prema Koruškoj, a istočno prema saveznoj državi Burgenland. Iste godine zabilježen je i prvi nalaz u Mađarskoj, a do 2015. godine zabilježeno je invazivno širenje u jugoistočnoj Austriji (Seidel i sur., 2016a.). U 2015. godini zabilježen je nalaz i u Kraljevini Lihtenštajn (Seidel i sur., 2016b.). U Italiji je *Ae. japonicus* pronađen prvi put krajem srpnja 2015. godine u tri sela duž rijeke Fella, a udaljenost do najbližeg mjesta nalaza vrste u Austriji iznosi 36 km. Kasnije su zabilježeni nalazi vrste u okolici na novim lokalitetima, a svi upućuju na širenje vrste s područja južne Austrije prema sjevernoj Italiji preko Alpskog područja (Seidel i sur., 2016b.). Rasprostranjenost vrste *Ae. japonicus* na području Europe do travnja 2017. godine prikazana je na slici 17.



Slika 17. Rasprostranjenost vrste *Ae. japonicus* na području Europe, travanj 2017. godine (izvor: <http://ecdc.europa.eu/>).

2.2.6. Načini širenja invazivnih vrsta komaraca

Invazivne vrste komaraca karakterizira njihova sposobnost lakog širenja i osvajanja novih područja. Trgovina robama na globalnoj razini dovela je do pasivnog širenja vrsta koje su prethodno bile ograničene na samo određena područja. Tijekom protekla tri desetljeća opisani su različiti načini širenja invazivnih vrsta u svijetu, osobito komarca *Ae. albopictus*.

Europski centar za prevenciju i nadzor bolesti (European Center for Disease Prevention and Control) objavio je u kolovozu 2012. godine „Smjernice za nadzor invazivnih komaraca u Europi“ (Guidelines for the surveillance of invasive mosquitoes in Europe) (ECDC, 2012.). Obzirom na potrebu nadzora unosa invazivnih vrsta komaraca, smjernice definiraju najčešće puteve i mjesta unosa.

1. Trgovina rabljenim gumama. Širenje invazivnih komaraca roda *Aedes* na globalnoj razini olakšano je njihovom sposobnošću da iskorištavaju različite kontejnere u koje polažu

jaja, a najčešći kontejneri su rabljene gume. Međunarodnom trgovinom i prijevozom rabljenih guma u koje polaže jaja otporna na isušivanje, vrsta *Ae. albopictus* prenesena je na druge kontinente (Hawley, 1988.; Knudsen, 1995.). Transport i trgovina rabljenim gumama predstavlja najveći rizik širenja drugih invazivnih komaraca u Europi. Stoga je rizik od unosa komaraca na nekom području izravno povezan s geografskim podrijetlom gume te sve gume uvezene iz zemalja gdje su invazivne vrste autohtone ili udomaćene predstavljaju visoki rizik. Neke od zemalja Europske unije (npr. Belgija, Nizozemska, Velika Britanija) izvoze gume prethodno uvezene putem međukontinentalne trgovine, što također predstavlja visoki rizik prijenosa jaja komaraca. Nacionalna trgovina gumama također predstavlja put širenja invazivnih vrsta ako je u državi invazivna vrsta udomaćena na određenom području jer se s mjesta unosa gume najčešće razvoze u različita područja države čime se osigurava brzo širenje i udomaćivanje vrsta.

2. Trgovina ukrasnim biljkama. Trgovina dekorativnim biljkama pokazala se kao način unosa vrste *Ae. albopictus* na nova područja. Posude s ukrasnim biljkama (najčešće reznicama biljaka) koje se tijekom transporta čuvaju s dovoljnom količinom vode koja osigurava život ličinkama komaraca predstavljaju put unosa komaraca. Nakon prijevoza biljke se najčešće privremeno čuvaju u staklenicima koji pružaju povoljne uvjete za razvoj komaraca tijekom toplog i hladnog vremena. Prijenos komaraca *Ae. albopictus* ovim putem zabilježen je 2001. godine iz Kine u južnu Kaliforniju (Madon i sur., 2002.). Prvi nalaz vrste *Ae. albopictus* u Nizozemskoj zabilježen je 2005. godine u tvrtkama koje su uvozile hortikulturne biljke vrste *Dracena sanderiana* („Lucky bamboo“) iz južne Kine, endemskog područja ove vrste (Scholte i sur., 2007.). Unatoč pokušajima da se biljke prevoze u gel supstratu umjesto u vodi, izvješća o unosu vrste *Ae. albopictus* uvozom biljaka i dalje su pristizala (Scholte i sur., 2008.). U Belgiji su 2013. godine ličinke vrste *Ae. albopictus* pronađene u gel supstratu s biljkama vrste *Dracena braunii*.

3. Trgovina drugim robama. Različite vrste roba i opreme koja može zadržavati vodu, a čuva se na otvorenome, prevoze li se iz područja obitavanja invazivne vrste komaraca, predstavljaju rizik za unos komaraca. Pretpostavlja se da *Ae. albopictus* pristigao u Texas s povratkom vojne opreme, građevnog materijala i vozila iz Vijetnama (Nowell, 1996.). Na području Europe, uvoz kamenih fontana iz Kine na područje francuske rivijere smatra se načinom unosa vrste *Ae. albopictus* na to područje (ECDC, 2012.)

4. Kopneni promet. Kopnena transportna sredstva mogu slučajno, nenamjerno prevoziti komarce. Komarci se mogu skloniti u kabine vozila i izletjeti tijekom stajanja na benzinskim crpkama ili odmorištima. Obzirom na gustoću prometa koji se svakodnevno odvija,

moгуćnost prijevoza komaraca je značajna. Benzinske crpke i parkirališta uz autoceste te glavne međunarodne i nacionalne ceste trebale bi biti mjesta nadzora unosa komaraca. Rizik unosa u kopnenom prometu umanjuje se s povećanjem udaljenosti od područja u kojem je udomaćena invazivna vrsta. Pretpostavlja se da se vozila zaustavljaju svaka dva sata. Dakle, visoko rizično mjesto unosa je mjesto prvog zaustavljanja, dva (dva i pol) sata vožnje od područja kretanja (ECDC, 2012.). Prijenos vrste *Ae. albopictus* javnim ili privatnim prijevozom smatra se glavnim načinom širenja komaraca duž autocesta iz Italije u južnu Švicarsku (kanton Ticino) i južnu Njemačku, a vjerojatno i u Hrvatsku (ECDC, 2009.). Unos tigrastih komaraca u Njemačku također se opisuje na ovaj način (Pluskota i sur., 2008.; Werner i sur., 2012.). Druga moguća mjesta unosa su trgovački centri u blizini granice, turistička stajališta i odmorišta s restoranima. Takva mjesta je potrebno nadzirati, pogotovo tijekom turističke sezone kada brojni turisti dolaze iz susjednih europskih zemalja u kojima su udomaćeni tigrasti komarci (ECDC, 2012.).

4. Luke i zračne luke. Vozila koja prevoze trajekti mogu prevoziti invazivne vrste komaraca. Turistički brodovi također su put, a marine mjesta unosa invazivnih komaraca. Širenje komarca *Ae. albopictus* na otoke Jadranske obale brodovima i jahtama zabilježeno je tijekom ljetnih mjeseci (Merdić i sur., 2009.). Trgovačke luke također su mjesta unosa invazivnih vrsta. Rizik je moguće procijeniti analizirajući gustoću prometa i smjerove kretanja morskih prijevoznih sredstava (ECDC, 2012.). Zrakoplovi također predstavljaju put prijenosa komaraca u nova područja. Stoga međunarodna zdravstvena regulativa (International Health Regulation) donesena 2005. godine preporuča dezinsekciju zrakoplova i brodova prije početka putovanja ako ono započinje u zemljama koje su endemska ili epidemijska područja malarije, dengue ili chikungunya groznice (WHO; 2005.). Rizik unosa invazivnih komaraca je veći što su učestalije veze sa zemljama u kojima su invazivne vrste udomaćene.

Nakon prijenosa u nova područja, komarci pronalaze brojna mjesta gdje mogu položiti jaja čemu najviše pridonosi aktivnost ljudi. Ljudi stvaraju mogućnosti za nastanak raznolikih legla komaraca što pomaže stvaranju brojnih populacija na novim područjima. Legla komaraca mogu postati različiti otvoreni spremnici za vodu u dvorištima i vrtovima, začepljeni oluci, ulični slivnici u kojima stoji voda, vaze na grobljima, različiti predmeti u kojima se nakuplja kišnica kao što su plitice lonaca za cvijeće, odbačene boce i limenke, automobilske gume, nakupine vode na nepropusnim podlogama, nepropisno odbačen krupni otpad i još mnoštvo sličnih predmeta različitih veličina, oblika i materijala koji nas okružuju.

Sposobnost nastanjivanja vrsta u raznolikim leglima, otpornost jaja prema isušivanju te različiti domaćini na kojima se hrane omogućuju opstanak i brzo udomaćivanje vrste *Ae. albopictus* na novim područjima (Hawley, 1988.; Medlock i sur., 2015.). Nakon udomaćivanja populacije na nekom području aktivno kretanje vrste, lokalni promet i prisutnost raznolikih legla u okolini kontinuirano pridonose postupnom povećavanju područja proširenosti vrste.

2.3. Vektorska uloga invazivnih vrsta komaraca *Ae. albopictus* i *Ae. japonicus*

2.3.1. Vektorska uloga vrste *Ae. albopictus*

Komarac *Ae. albopictus* dokazani je prijenosnik najmanje 26 različitih arbovirusa u laboratorijskim uvjetima od kojih najveće javnozdravstveno značenje imaju virusi iz porodice *Flaviviridae* (rod *Flavivirus*), *Togaviridae* (rod *Alphavirus*) i *Bunyaviridae* (rodovi *Bunyavirus* i *Phlebovirus*). Manji je broj virusa (njih 14) dokazan u komarcima uhvaćenima u prirodi. Sve češće pojave emergentnih i re-emergentnih bolesti na području Europe dokazuju ulogu ove vrste komaraca kao vektora bolesti i na našem području (Paupy i sur., 2009.).

Uz vrstu *Ae. aegypti* kao glavnog vektora, na području Azije jedinke vrste *Ae. albopictus* povremeno su prijenosnici virusa dengue (DENV). Sva četiri tipa DENV (1-4) su izolirana iz komaraca *Ae. albopictus* (Gratz, 2004.; Tewari i sur., 2004.). I u ostalim dijelovima svijeta, vrsta *Ae. albopictus* smatra se glavnim vektorom u povremenim epidemijama dengue: na Havajima (Effler i sur., 2005.) te otocima Reunion i Mauricius (Ramchurn i sur., 2009.). Na području Europe, prvi autohtoni prijenos dengue zabilježen je u Francuskoj u Nici u rujnu 2010. godine (La Ruche i sur., 2010.) te gotovo istovremeno u Hrvatskoj (Gjenero-Margan i sur., 2011.). U Francuskoj su zabilježene ponovne pojave dengue groznice 2013., 2014. i 2015. godine (Cotteaux-Lautard i sur., 2013.; Marchand i sur., 2013.; Succo i sur., 2016.). Opetovana pojava dengue na području Francuske u kojoj je glavni vektor *Ae. albopictus* ukazuje da je autohtoni prijenos dengue moguć i u drugim područjima Europe gdje je uspostavljena stabilna populacija vrste *Ae. albopictus* (La Ruche i sur., 2010.). DENV se prenosi i transovarijskim putem, što znači da unos jaja komaraca zaraženih virusom može utjecati na pojavu i širenje bolesti (Mitchell i Miller, 1990.; Buhagiar, 2009.).

Vrsta *Ae. albopictus* dokazana je kao vektor u nedavnim epidemijama uzrokovanim chikungunya virusom (CHIKV) u Europi. Prvi lokalni prijenos CHIKV u Europi dokazan je u Italiji 2007. godine u pokrajini Emilia-Romagna. U entomološkom istraživanju provedenom tijekom epidemije, CHIKV je izoliran u komarcima *Ae. albopictus* uhvaćenima u prirodi (Bonilaurii sur., 2008.). Autohtona chikungunya groznica zabilježena je i u jugoistočnoj Francuskoj 2010. i 2014. godine (Grandadam i sur., 2011.; Delisle i sur., 2015.). Do pojave epidemija tijekom posljednja dva desetljeća, primarnim vektorom CHIKV smatrala se vrsta *Ae. aegypti*, a *Ae. albopictus* uzimao se u obzir tek kao sekundarni vektor. No, u epidemijama na otocima Indijskog oceana i okolnim zemljama (Madagascar, Mauricius, Seychelles, La Reunion, Maldives, Sri Lanka, India, Indonesia i Malaysia) u razdoblju od 2005. do 2007.

godine oboljelo je više milijuna ljudi, a glavni vektor bila je vrsta *Ae. albopictus* (Paupy i sur., 2009.). Epidemija u Italiji 2007. također je potvrdila vrstu *Ae. albopictus* kao glavnog vektora CHIKV.

Vrsta *Ae. albopictus* smatra se potencijalnim vektorom Zika virusa (engl. *Zika virus*; ZIKV). Tijekom epidemije u Gabonu i Senegalu 2007. godine, ZIKV je dokazan u *Ae. albopictus* komarcima uhvaćenima u prirodi (Grard i sur., 2014.). Studija provedena u Singapuru također ukazuje na potencijal vrste za prijenos ovog virusa (Wong i sur., 2013.). Rezultati novijih studija koje su provedene na američkim i europskim populacijama komaraca pokazuju da *Ae. albopictus* ima slabiju vektorsku sposobnost za ZIKV u odnosu na *Ae. aegypti* (Chouin-Carneiro i sur., 2016.; Di Luca i sur., 2016.).

Brojni drugi virusi izolirani su iz *Ae. albopictus* komaraca uhvaćenih u prirodi, kao što su virus istočnog konjskog encefalitisa (engl. *Eastern equine encephalitis virus*; EEEV) (Mitchell i sur., 1992), La Crosse virus (eng. *La Crosse virus*; LACV) (Gerhardt i sur., 2001., Grimstad i sur., 1989.), virus venecuelskog konjskog encefalitisa (engl. *Venezuelan equine encephalitis virus*; VEEV) (Beaman i Turell., 1991.; Turell i Beaman, 1992.) i virus japanskog encefalitisa (engl. *Japanese encephalitis virus*; JEV) (Paupy i sur., 2009.). Usutu virus (USUV) izoliran je u komarcima *Ae. albopictus* koji su uhvaćeni u prirodi u pokrajini Emilia-Romagna u Italiji istovremeno kada je dokazan West Nile virus (WNV) u jedinkama vrste *Culex pipiens*, no do sada nije poznato može li vrsta *Ae. albopictus* prenijeti USUV (Calzolari i sur., 2010.).

U Italiji je dokazana visoka prevalencija flavivirusa u komarcima *Ae. albopictus* što ukazuje da njihovo prisustvo u ovoj vrsti komaraca može utjecati na dinamiku prijenosa nekih flavivirusa značajnih za humanu patologiju kao što su WNV i USUV (Roiz i sur., 2012.).

WNV je dokazan u komarcima *Ae. albopictus* s područja Sjeverne Amerike (Holick i sur., 2002.; Sardelis i sur., 2002c.), a prema trenutno dostupnim podacima na području Europe do sada nema takvog dokaza.

Premda dokazi različitih virusa u *Ae. albopictus* komarcima uhvaćenima u prirodi naglašavaju značaj ove vrste kao vektora, uloga *Ae. albopictus* u pojavi arbovirusnih epidemija većih razmjera do sada je prepoznata samo u prijenosu DENV i CHIKV (Paupy i sur., 2009.). Vektorska sposobnost vrste *Ae. albopictus* u prijenosu arbovirusa prikazana je u tablici 1.

Tablica 1. Pregled vektorske sposobnosti vrste *Ae. albopictus* na temelju Mitchell (1991.), Paupy i sur. (2009.) i Cancrini i sur. (2003.a) (izvor: Koch i sur., 2016.).

Uzročnik bolesti	Porodica	Detekcija virusa u komarcima u prirodi	Sposobnost vektora (laboratorijska istraživanja)	
			Infekcija (komarca)	Prijenos (na domaćina)
Cache Valley virus	<i>Bunyaviridae</i>	+		
Potosi virus		+	+	+
Tensaw virus		+		
Jamestown Canyon virus		+	+	+
La Crosse virus		+	+	+
San Angelo virus			+	+
Keystone virus		+	+	
Trivittatus virus			+	
Oropouche virus			+	
Virus groznice Rift Valley			+	+
Dengue virus	<i>Flaviviridae</i>	+	+	+
Virus japanskog encefalitisa		+	+	+
Virus St. Louis encefalitisa			+	+
West Nile virus		+	+	+
Virus žute groznice		+	+	+
Chikungunya virus	<i>Togaviridae</i>	+	+	+
Virus istočnog konjskog encefalitisa		+	+	+
Mayaro virus			+	+
Ross River virus			+	+
Sindbis virus			+	+
Virus venecuelskog konjskog encefalitisa			+	+
Virus zapadnog konjskog encefalitisa			+	+
Getah virus			+	+
Orungo virus	<i>Reoviridae</i>		+	+
Nodamura virus	<i>Nodaviridae</i>		+	

Osim prijenosnikom arbovirusa, vrsta *Ae. albopictus* smatra se prijenosnikom nematoda *Dirofilaria* sa životinje na životinju i sa životinje na čovjeka u Aziji, Sjevernoj Americi i Europi (Paupy i sur., 2009.). Istraživanja provedena u Italiji od 2000. godine do sada potvrđuju izolaciju vrste *Dirofilaria repens* iz vrste *Ae. albopictus* (Cancrini i sur., 2003b.; Giangaspero i sur., 2013.) te porast prevalencije humane dirofilarioze (Pampiglione i sur. 2001).

2.3.2. Vektorska uloga vrste *Ae. japonicus*

U razdoblju prije pojave i širenja vrste *Ae. japonicus* izvan endemskog područja, ruski i japanski znanstvenici istraživali su vektorsku ulogu ove vrste u prijenosu JEV, koji je endemski u brojnim istočno-azijskim zemalja u kojima se pojavljuje komarac. Pojavom vrste u zapadnom dijelu svijeta, znanstvenici istražuju njenu vektorsku ulogu i u prijenosu drugih bolesti (Kampen i Werner, 2014.).

Na području Sjedinjenih Američkih Država, WNV je dokazan više puta u jedinkama vrste *Ae. japonicus* koje su prikupljene u prirodi (Andreadis i sur., 2001.; Turell i sur., 2005.). Laboratorijske studije pokazuju da je *Ae. japonicus* kompetentan vektor WNV (Sardelis i Turell, 2001.), JEV (Takashimi i Rosen, 1989.), LACV (Sardelis i sur., 2002b), a umjereno uspješan vektor za EEEV (Sardelis i sur. 2002a) i SLEV (Sardelis i sur., 2003.). Također može djelovati kao mogući posrednik u prijenosu EEEV, LACV i WNV, što se može zaključiti na temelju čestih nalaza WNV RNA u komarcima prikupljenima u prirodi na području Sjedinjenih Američkih Država (Kampen i Werner, 2014.).

Vrsta *Ae. japonicus* vjerojatno je posrednik u prijenosu LACV s obzirom da je područje gdje je udomaćen istovremeno područje gdje je primarni vektor virusa (*Ae. triseriatus*) također prisutan (Dunphy i sur., 2009.). Isto podupire i činjenica da su laboratorijske studije dokazale kompetenciju *Ae. japonicus* kao vektora ovog virusa. LACV je također izoliran iz jedinki *Ae. japonicus* koje su prikupljene u prirodi u državi Eastern Tennessee (na istočnom području SAD-a) tijekom 2010. godine (Westby i sur., 2011.), što je prvi opisani slučaj prirodne infekcije vrste *Ae. japonicus* ovim virusom (Dunphy i sur., 2009.).

Međutim, uloga vrste *Ae. japonicus* u prijenosu navedenih virusa u prirodnim uvjetima nije posve jasna (Versteirt i sur., 2009.). Njenu moguću ulogu u prijenosu bolesti uvjetuje i sklonost ovog komarca hranjenju na ljudima, no još uvijek nema dovoljno podataka o molestiranju ove vrste, pogotovo u usporedbi s vrstom *Ae. albopictus* (Schaffner i sur., 2011.).

Vrsta *Ae. japonicus* bila je uključena u prijenos JEV sa svinja na ljude u područjima gdje je vektor komarac *Culex sp.* bio odsutan ili prisutan u premalom broju da bi bio uključen u prirodni ciklus (Takashimi i Rosen, 1989.). Pregled vektorske uloge vrste *Ae. japonicus* prikazan je u tablici 2.

Tablica 2. Prikaz uloge vrste *Ae. japonicus* u prijenosu arbovirusa (izvor: Kampen i Werner, 2014.).

Vektorima prenosivi virusi	Infekcija u prirodi	Prijenos u laboratoriju	Infekcija u laboratoriju
West Nile virus	+	+	+
Virus japanskog encefalitisa	+	+	+
Virus St. Louis encefalitisa		+	+
Virus istočnog konjskog encefalitisa		+	+
La Crosse virus		+	+
Virus groznice Rift Valley		+	+
Chikungunya virus			+
Dengue virus			+
Getah virus			+

2.3.3. Komarci kao vektori arbovirusnih infekcija u Hrvatskoj

Na području Hrvatske zabilježene su infekcije uzrokovane DENV, WNV te USUV čije se prisustvo prati niz godina. Seroepidemiološka istraživanja DENV iz 1970-ih i 1980-ih godina dokazala su protutijela na DENV sporadično u stanovnika priobalja te seropozitivitet od 2,1% na području sjeveroistočne Hrvatske (Vesenjāk-Hirjan i sur., 1980.; Ropac i sur., 1988). Prvi autohtoni klinički slučajevi DENV infekcije opisani su 2010. godine u dva stanovnika poluotoka Pelješca (Genero-Margan i sur., 2011.). U tom su razdoblju na istom području, protutijela na DENV dokazana u još 15 osoba. Nakon dokazane dengue u mjestu Podobuće, uzorkovani su komarci *Ae. albopictus*, no nije dokazan DENV u njima (Gjenero-Margan i sur., 2011.). Seroepidemiološko istraživanje provedeno tijekom 2011. i 2012. godine na području priobalja i tri kontinentalne županije pokazalo je seropozitivitet od 0,9%. U istom je razdoblju u priobalju provedeno entomološko istraživanje u kojem je najčešće dokazana vrsta komaraca bila *Ae. albopictus* (81,37%), međutim DENV RNA nije dokazana u skupnim uzorcima komaraca (Pem-Novosel i sur., 2015.).

Na prisustvo WNV od ranih 1970-godina ukazuje sporadičan nalaz protutijela u ljudi, konja i smeđeg medvjeda (Vesenjāk-Hirjan i sur., 1980.; Barbić i sur., 2012.). Prvi slučajevi neuroinvazivne WNV infekcije u ljudi zabilježeni su 2012. godine u tri županije istočne

Hrvatske, kada je infekcija laboratorijski potvrđena u sedam bolesnika (Pem-Novosel i sur., 2014.). Prije pojave prvih klinički manifestnih infekcija u ljudi, asimptomatska akutna WNV infekcija dokazana je tijekom 2010. i 2011. godine u konja na području istih županija gdje su zabilježeni prvi slučajevi neuroinvazivne WNV infekcije u ljudi (Barbić i sur., 2012.). Tijekom epidemije neuroinvazivne WNV infekcije 2012. godine, na području istočne Hrvatske provedeno je entomološko i virološko istraživanje, no WNV RNA nije dokazana niti u jednom skupnom uzorku komaraca (Merdić i sur., 2014.). Tijekom 2013. godine, neuroinvazivna WNV infekcija zabilježena je u 20 bolesnika s područja sjeverozapadne Hrvatske (Grad Zagreb, Zagrebačka i Međimurska županija) (Vilibić-Čavlek i sur., 2014.). Nadalje, opažen je porast seroprevalencije na WNV (0,9%) u odnosu na 2007. i 2011. godinu (0,3%) (Vilibić-Čavlek i sur., 2014.; Golubić i Dobler, 2012.). Uz dokazane infekcije u ljudi dokazane su i akutne asimptomatske infekcije kao i porast seropozitiviteta u konja u istim županijama u kojima je dokazana infekcija u ljudi (Vilibić-Čavlek i sur., 2014.).

Prisutnost USUV na području Hrvatske prati se od 2011. godine kada su prvi put potvrđena dva seropozitivna konja na području Zagrebačke i Sisačko-moslavačke županije te potom jedna seropozitivna osoba s područja Vukovarsko-srijemske županije (Barbić i sur., 2013.). Prve neuroinvazivne USUV infekcije u ljudi opisane su tijekom epidemije uzrokovane WNV od srpnja do listopada 2013. godine kada su oboljele tri osobe na području Zagreba i Zagrebačke županije (Vilibić-Čavlek i sur., 2014.; Santini i sur., 2015.). Testiranje komaraca na USUV do sada u Hrvatskoj nije provedeno.

Autohtone infekcije uzrokovane CHIKV do sada nisu opisane na području Hrvatske, ali su IgG protutijela sporadično dokazana u povratnika iz endemskih područja. Tijekom seroepidemiološkog i entomološkog istraživanja (2011.-2012.) u priobalnim županijama, IgG protutijela nađena su u 0,7% ispitanika dok CHIKV RNA nije dokazana u komarcima (Vilibić-Čavlek i sur., 2015.). Početkom 2017. godine, zabilježena je prva unesena klinički manifestna CHIKV infekcija (Lukšić i sur., 2017.). Iste su godine zabilježena i tri slučaja unesene ZIKV infekcije (Vilibić-Čavlek i sur., u tisku).

Dosadašnja istraživanja prisutnosti arbovirusa u komarcima provedena su na ograničenim zemljopisnim područjima (DENV i CHIKV na području hrvatskog priobalja, na području istočne Slavonije istraživanje manjeg opsega na WNV), dok za područje sjeverozapadne Hrvatske nema podataka.

2.3.5. Dijagnostika arbovirusa

Dijagnostika arbovirusa uključuje izravne (izolacija virusa, molekularna dijagnostika - detekcija virusnog genoma, detekcija virusnih antigena) i neizravne metode (serološka dijagnostika) (tablica 3).

Tablica 3. Osnovne značajke metoda koje se koriste u dijagnostici arbovirusa (Niedrig i sur., 2010.).

	Trajanje testa	Osjetljivost	Specifičnost
Detekcija virusa			
Izolacija virusa	1-7 dana	Visoka	Visoka
RT-PCR	2-4 sata	Visoka ^a	Visoka
Hibridizacijske metode	3-4 sata	Visoka ^b	Umjerena
Detekcija antigena (ELISA)	3-5 sati	Umjerena ^c	Visoka
Elektronska mikroskopija	30 min	Niska ^d	Visoka
Serološka dijagnostika			
ELISA	3-4 sata	Visoka	Niska
IFA	2-3 sata	Umjerena	Umjerena
Imunoblot testovi	2-4 sata	Umjerena	Umjerena
Neutralizacijski testovi	4-7 dana	Umjerena	Visoka
Inhibicija hemaglutinacije	2-4 sata	Niska	Umjerena

^aoko 200 virusnih kopija/ml; ^boko 10^4 virusnih čestica/mL; ^coko 0,01 g virusnih antigena/ml;

^d $\geq 10^6$ virusnih čestica/ml

Dijagnostika arbovirusa iz komaraca

Izolacija virusa

Arbovirusi se umnožavaju u različitim vrstama primarnih i kontinuiranih staničnih kultura, kultura dobivenih od komaraca te u mišjoj sisančadi.

Za izolaciju DENV i CHIKV su najpogodnije stanične kulture dobivene od komaraca kao npr. C6/36 (*Ae. albopictus*) i AP-61 (*Ae. pseudoscutellaris*) na kojima virusi ne stvaraju citopatski učinak (CPU) već se dokazuju pomoću imunofluorescentnog testa (IFA) ili RT-PCR (Walker i sur., 2014.). Nadalje, arbovirusi rastu u kulturama stanica majmunskog bubrega (Vero, LLC-MK2) te bubrega jednodnevnog hrčka (BHK-21, engl. *baby hamster kidney*) (Niedrig i sur., 2010.). Za izolaciju WNV rabi se i kultura stanica bubrega kunića (RK-13, engl.

rabbit kidney) u kojoj je vidljiv CPU (Rossi i sur., 2010.). USUV raste u različitim vrstama kultura, ali CPU stvara samo u Vero staničnoj kulturi, kulturi svinjskog bubrega (PK-15, engl. *porcine kidney*) te primarnoj kulturi embrionalnih fibroblasta guske (GEF, engl. *goose embryo fibroblast*) (Barr i sur., 2016.). Također, USUV virus je moguće izolirati u alantoisnoj vrećici oplodjenog gušćjeg jajeta (Bakonyi i sur., 2005.).

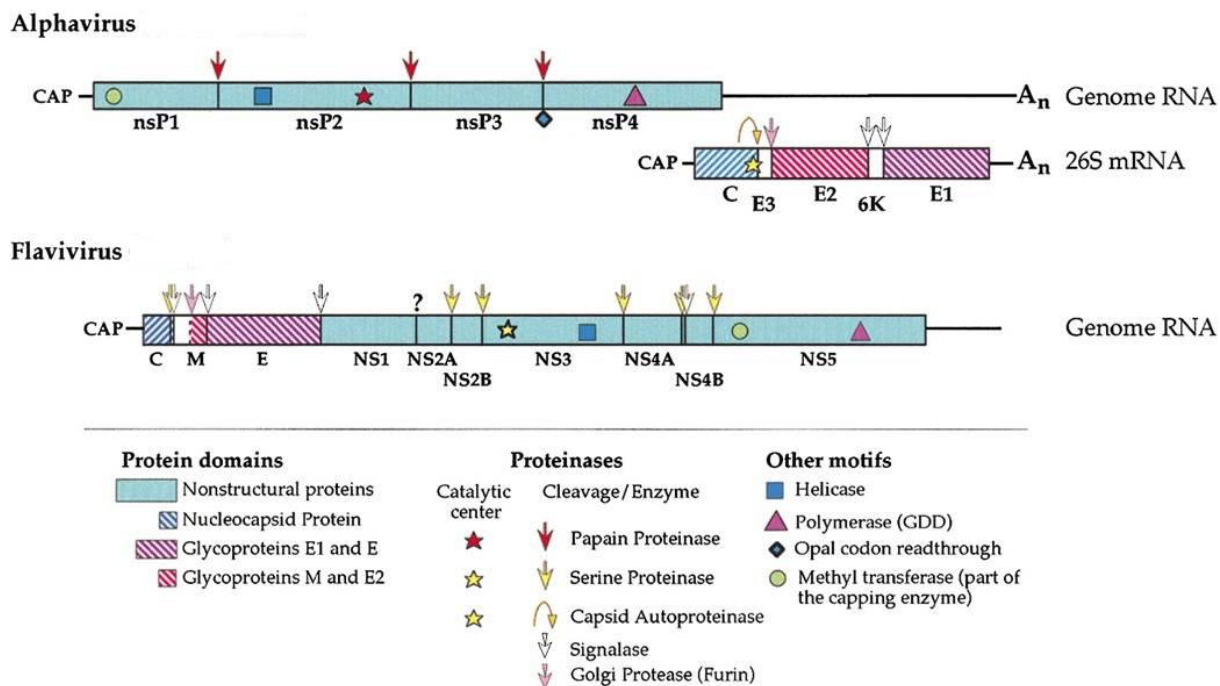
Izolacija arbovirusa moguća je i u mišjoj sisančadi u koje nakon intracerebralne inokulacije dolazi do razvoja encefalitisa te se virusni antigen dokazuje pomoću IFA. Za izolaciju su potrebni biosigurnosni uvjeti trećeg stupnja (BSL-3) pa se ne provodi rutinski već samo u referentnim laboratorijima (Niedrig i sur., 2010.).

Molekularna dijagnostika

Nazočnost genoma arbovirusa u uzorcima komaraca dokazuje se metodom reverzne transkripcije i lančane reakcije polimerazom (engl. *reverse transcriptase-polymerase chain reaction*; RT-PCR). Dvije su inačice ove metode: klasični RT-PCR i RT-qPCR u stvarnom vremenu (engl. *real-time RT-PCR*) koji detektira >10 kopija virusne RNA/ml što je oko 1000 puta osjetljivije od izolacije virusa. U usporedbi s klasičnom RT-PCR metodom, metoda RT-qPCR ima veću osjetljivost i specifičnost, moguće je kvantitativno odrediti broj kopija virusne RNA te je manja mogućnost kontaminacije uzorka (Linke i sur., 2007.).

Molekularne metode su vrlo osjetljive i tehnički manje zahtjevne od izolacije te su metoda izbora u rutinskoj dijagnostici arbovirusa.

U skupini arbovirusa, najveći medicinski značaj imaju flavivirusi (DENV, ZIKV, WNV, USUV) te alfavirusi (CHIKV). Organizacija genoma flavirusa i alfavirusa prikazana je na slici 18. Genom flavirusa čini jednolančana, pozitivna (+) RNA, 10-11 kb koja sadrži jedan otvoreni okvir čitanja (engl. *open reading frame*; ORF) te dvije kratke nekodirajuće regije (NCR) na 3' - i 5' -kraju. Produkt prevođenja ORF-a je poliprotein koji se posttranslacijski cijepa na tri strukturna proteina: protein nukleokapside (C), membranski protein (M) te glikoprotein (E) i sedam nestrukturnih proteina: NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b, NS5. Genom alfavirusa čini jednolančana linearna (+) RNA, 11-12 kb koja sadrži dva ORF-a. ORF na 3'-kraju (1/3 genoma) kodira četiri strukturna proteina: protein nukleokapside (C), glikoproteine ovojnice (E1 i E2) te signalni protein 6K, a ORF na 5'-kraju (2/3 genoma) nestrukturne proteine: nsP1-nsP4 (Hernandez i sur., 2014.).



Slika 18. Organizacija genoma flavivirusa i alfavirusa (izvor: Strauss i Strauss, 2001.).

Većina molekularnih testova za detekciju flavivirusa rabi početnice usmjerene na gen NS5 ili 3'-NCR koji predstavljaju visoko očuvane dijelove virusnog genoma (Lanciotti, 2003.). U genomu alfavirusa, visoko očuvane regije čine 3'- i 5'- terminalne sekvence (Jose i sur., 2009.).

3. MATERIJAL I METODE

3.1. Metode uzorkovanja komaraca

3.1.1. Uzorkovanje komaraca ovipozicijskim klopka

Za utvrđivanje širenja i sezonske aktivnosti ovipozicije komaraca na odabranim područjima prikupljana su jaja komaraca pomoću ovipozicijskih klopki.

Korištena ovipozicijska klopka sastoji se od crne plastične posude, volumena 500 ml (crna plastična vaza za groblje). U posudu se postavlja „lesonitna“ daščica dimenzija 16 X 2,5 cm i voda u količini 2/3 volumena posude, a posuda se probuši sa strane približno 3 cm niže od gornjeg ruba (da kišnica ne napuni posudu) (Albieri i sur., 2010.; Carrieri i sur., 2011.). Klopke su postavljene na sjenovita mjesta blizu tla (do 0,5 m visine), u podnožju stabala, grmlja, živice ili druge prisutne vegetacije (slika 19). Daščice su zamijenjene jedan put tjedno (uvijek sedmi dan) pri čemu je zamijenjena i / ili dolivena voda. Svaka prikupljena daščica zamotana je u papirnati ubrus na kojem je označen lokalitet i datum uzorkovanja.



Slika 19. Ovipozicijska klopka postavljena na terenu (foto: A. Klobučar).

Daščice su donesene u Laboratorij za nadzor vektora bolesti Nastavnog zavoda za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“, tijekom slijedećih nekoliko dana su pregledane, a pronađena jaja prebrojena sa svih površina daščice. Zabilježen je broj položenih jaja na svakoj daščici. Za brojenje jaja korištena je stereo lupa Olympus pri povećanju 80 do 120 X.

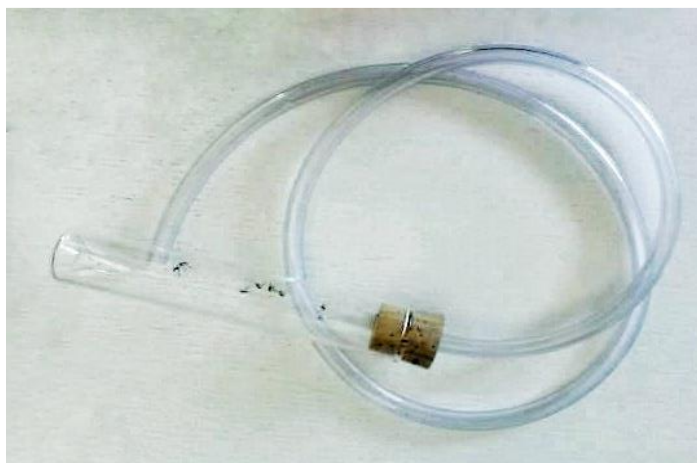
Obzirom da se jaja vrsta *Ae. albopictus* i *Ae. japonicus* morfološki ne mogu razlikovati pri povećanju od 120 puta, potrebno je određivanje vrste obaviti drugom metodom dijagnostike jaja ili na temelju morfoloških razlika ličinki. Za određivanje vrste korištena je morfologija ličinki. Kako bi se iz prikupljenih jaja razvile ličinke komaraca, svaka daščica s jajima stavljena je u crnu vazru (jednake vazama koje su korištene na terenu) s vodom iz slavine. Vaze su držane pri sobnim laboratorijskim uvjetima. Ličinke su razvijane do trećeg ili četvrtog stadija razvoja, zatim spremljene u 70% alkohol etanol i determinirane.

3.1.2. Uzorkovanje ličinki komaraca

Ličinke komaraca sakupljane su posudicom za uzorkovanje komaraca (plastična čašica) i grabilicom iz raznovrsnih legla. Zabilježen je tip legla prema porijeklu te prisutnost ličinki u leglu. Ličinke su spremljene u 70% alkohol etanol i determinirane.

3.1.3. Uzorkovanje odraslih jedinki komaraca

Odrasle jedinke komaraca prikupljane su hvataljkom (aspiratorom) na tijelu skupljača (slika 20) i BG Sentinel klopama (slika 21). Jedinke su preparirane, a zatim su determinirane. Vrste prikupljenih ličinki i odraslih jedinki komaraca određene su pomoću morfoloških obilježja pri čemu su korišteni ključevi za određivanje: Schaffner i sur., 2001; Becker i sur., 2010. i ECDC, 2012.



Slika 20. Aspirator za uzorkovanje komaraca (foto: A. Klobučar).

BG Sentinel klopka primarno je namijenjena uzorkovanju vrste *Ae. albopictus*. Koristi atraktant proizvođača klopke (tvrtka Biogents), naziva „BG-Lure“, zaštićenog sastava koji je znatno učinkovitiji od standardne CDC klopke u prikupljanju komaraca *Ae. albopictus* (Meeraus i sur., 2008.; Frajollahi i sur., 2009.). Atraktant sadrži netoksične tvari koje oponašaju glavne komponente ljudskog tijela koje se izlučuju kožom i privlače komarce. Klopka se postavlja na zemlju, u zasjenjena područja (slika 21). Za rad klopke je potreban izvor električne energije koja stvara struju zraka kojom usisava komarce.



Slika 21. BG-Sentinel klopka postavljena na terenu (foto: A. Klobučar).

3.2. Istraživanje rasprostranjenosti, aktivnosti ovipozicije i širenja areala invazivnih vrsta komaraca

3.2.1. Istraživanje rasprostranjenosti, aktivnosti ovipozicije i širenja areala vrste *Ae. albopictus* na području grada Zagreba

Istraživanje širenja i rasprostranjenosti vrste *Ae. albopictus* na području grada Zagreba provedeno je u razdoblju od prvog pronalaska vrste 2004. godine do kraja 2015. godine.

Obavljeni su terenski izvidi potencijalnih legla komaraca *Ae. albopictus* i uzorkovane ličinke komaraca. Zabilježene su pritužbe građana na komarce primljene u Nastavnom zavodu za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“ u Zagrebu, a zatim su obavljeni terenski izvidi na adresama građana koji su se žalili na komarce.

Za utvrđivanje rasprostranjenosti, vremenske aktivnosti ovipozicije i širenja areala vrste *Ae. albopictus* na području Grada Zagreba prikupljena su jaja komaraca položena tijekom sedam dana (tjedni uzorci) u ovipozicijskim klopama. Istraživanje je provedeno u razdoblju od 2013. do 2015. godine tijekom sezone aktivnosti komaraca.

U 2013. godini klopke su postavljene na 56 lokaliteta u naseljenim dijelovima grada. Odabrana površina grada podijeljena je mrežom kvadrata 2 X 2 km u kojoj je 51 klopka raspoređena na približno jednakoj udaljenosti jedna od druge te pet klopki na mjestima gdje je vrsta *Ae. albopictus* utvrđena tijekom prethodnih godina. U 2014. godini klopke su postavljene na 29, a u 2015. na 15 lokaliteta odabranih u 2013. godini (tablica 4). U Prilogu 1 navedeni su lokaliteti uzorkovanja u svakoj godini opisani adresom i GPS lokacijom.

U 2013. godini na svakom lokalitetu postavljena je jedna ovipozicijska klopka, a jaja su prikupljena tijekom 20 tjedana. Uzorkovanja su obavljena naizmjenično: tjedno (7 puta, 7 tjedana - klopka izložena tjedan dana) i dvotjedno (5 puta, 10 tjedana - klopka izložena dva tjedna) te jednom trotjedno (klopka izložena tri tjedna). U 2014. i 2015. godini sve klopke su izložene tijekom sedam dana (tjedno uzorkovanje).

Radi utvrđivanja razlike u ovipoziciji na mikrolokalitetima istog lokaliteta, u 2014. i 2015. godini na svakom lokalitetu postavljene su tri klopke međusobno udaljene od 10 do 50 m (ECDC, 2012.). Klopke su izložene kontinuirano od svibnja ili lipnja do listopada.

Tablica 4. Razdoblje uzorkovanja, broj lokaliteta i broj postavljenih klopki u Zagrebu.

Godina uzorkovanja	Broj lokaliteta (mikrolokaliteta na svakom lokalitetu) postavljanja klopki	Broj postavljenih klopki	Razdoblje uzorkovanja
2013.	56 (1)	754	T22-T41
2014.	28 (3)	1671	T24-T43
2015.	15 (3)	963	T21-T42

3.2.2. Istraživanje rasprostranjenosti, aktivnosti ovipozicije i širenja areala invazivnih vrsta komaraca u Krapinsko-zagorskoj, Bjelovarsko-bilogorskoj, Zagrebačkoj i Karlovačkoj županiji

Krapinsko-zagorska županija

Istraživanje širenja i rasprostranjenosti te razdoblja aktivnosti vrsta *Ae. albopictus* i *Ae. japonicus* u Krapinsko-zagorskoj županiji provedeno je u razdoblju od 2013. do 2016. godine. Korištena je metoda uzorkovanja jaja ovipozicijskim klopkama. Lokaliteti uzorkovanja određeni su sukladno Smjernicama ECDC za nadzor invazivnih vrsta komaraca u Europi (2012.), stoga su odabrani lokaliteti uzorkovanja najčešća mjesta unosa invazivnih vrsta komaraca. Uzorkovanja su obavljena tjedno (klopke su zamijenjene sedmog dana, osim u pojedinačnim situacijama kada nije bilo moguće tjedno uzorkovanje), u kontinuitetu. Na svakom lokalitetu postavljane su tri ovipozicijske klopke međusobno udaljene 10 do 50 m (ECDC, 2012.).

U 2013. godini ovipozicijske klopke su postavljene na sedam lokaliteta, od čega su šest najčešća mjesta unosa invazivnih vrsta: odlagalište guma, groblje, granični prijelaz, benzinska crpka, parkiralište za kamione. Uzorkovanje je obavljeno tjedno, izuzetak su klopke postavljene 26. srpnja 2013. te podignute 23. kolovoza 2013. godine (izložene 28 dana). Tijekom 2014. godine istraživanje je provedeno na osam lokaliteta (uključuje šest iz 2013. godine), u 2015. godini na deset lokaliteta (uključuje sedam lokaliteta iz 2014), a tijekom 2016. godine na 11 lokaliteta (tablica 5).

Tablica 5. Mjesta i broj lokaliteta uzorkovanja, razdoblje uzorkovanja i broj klopki u Krapinsko-zagorskoj županiji.

Godina uzorkovanja	2013.	2014.	2015.	2016.
Broj tjedana i razdoblje uzorkovanja	12 (T27-T41)	17 (T26-T42)	22 (T21-T42)	29 (T18-T46)
Broj lokaliteta (mikrolokaliteta) uzorkovanja	7 (21)	8 (24)	10 (30)	11 (33)
Mjesta uzorkovanja	Broj postavljenih klopki			
Hum na Sutli	36	51	66	
Macelj	36	51	66	87
Macelj	36	51	66	87
Đurmanec	36	51	66	87
Sv. Križ Začretje	33	51	66	87
Zlatar Bistrica	30			
Hum na Sutli	24	51	66	87
Veliko Trgovišće		45		87
Krapina		51	66	87
Pregrada			66	
Krapina			66	87
Zlatar			66	87
Jezerčica				87
Zabok				87
Ukupno postavljeno klopki	231	402	660	957
Ukupno pregledano daščica iz klopki	226	394	649	944

Tijekom razdoblja istraživanja uzorkovane su ličinke u nekoliko prirodnih i umjetnih legla komaraca. Uzorkovanje ličinki obavljeno je na groblju u Đurmancu 24. rujna 2013. godine, nakon što su iz jaja prethodno uzorkovanih na groblju razvijene ličinke u laboratoriju i determinirane kao vrsta *Ae. japonicus*. U kolovozu 2015. godine obavljeno je uzorkovanje ličinki komaraca na četiri groblja u mjestima Krapina, Zabok, Zlatar Bistrica i Sv. Križ Začretje. Pregledano je ukupno 369 vaza s vodom kako bi se utvrdila prisutnost ličinki. Ličinke spremljene u alkohol, a zatim determinirane. U Prilogu 2 nalaze se svi lokaliteti uzorkovanja opisani adresom i GPS lokacijom.

Bjelovarsko–bilogorska županija

Istraživanje rasprostranjenosti i širenja areala vrsta *Ae. albopictus* i *Ae. japonicus* na području Bjelovarsko–bilogorske županije provedeno je tijekom 2015. i 2016. godine. Korištene su ovipozicijske klopke s tjednom dinamikom uzorkovanja. Uzorkovanje je obavljeno u šest gradova i naselja na 20 lokaliteta u 2015. i na 21 lokalitetu u 2016. godini, s najvećim brojem lokaliteta u Bjelovaru (tablica 6). Lokaliteti uzorkovanja bili su: groblja (6 lokaliteta), odmorište i parkiralište za kamione (1) te dvorišni prostori u koje pripadaju vulkanizerske radionice (2), benzinske crpke (2), tvrtka uz carinsku službu (1), tvrtke za sakupljanje i obradu otpada (2), tvornica (1), domovi zdravlja (4), obiteljske kuće (2) i autoservis (2). Ličinke su uzorkovane u nekoliko umjetnih legla. U Prilogu 3 nalaze se svi lokaliteti uzorkovanja opisani adresom i GPS lokacijom.

Tablica 6. Mjesta i broj lokaliteta uzorkovanja, razdoblje uzorkovanja i broj klopki u Bjelovarsko-bilogorskoj županiji.

Godina uzorkovanja	2015.		2016.		Broj postavljenih klopki
Ukupan broj tjedana uzorkovanja	22 (T21-T42)		25 (T18-T42)		
Mjesta uzorkovanja	Broj lokaliteta (mikrolokaliteta) uzorkovanja			2015.	2016.
Rovišće	1 (3)		1 (3)	66	75
Bjelovar	7 (21)		9 (27)	462	675
Grubišno Polje	2 (6)		2 (6)	132	150
Daruvar	4 (12)		4 (12)	264	300
Čazma	3 (9)		3 (9)	198	225
Gornji Draganec	1 (3)		1 (3)	132	75
Garešnica	2 (6)		-	66	
Štefanje	-		1 (3)		75
Ukupno	20 (60)		21 (63)	1320	1575
Ukupno pregledano daščica iz klopki				1306	1541

Zagrebačka županija

Istraživanje rasprostranjenosti vrsta *Ae. albopictus* i *Ae. japonicus* na području Zagrebačke županije provedeno je tijekom 2016. godine. Uzorkovanje je obavljeno ovipozicijskim klopama tjednom dinamikom, osim na pojedinim lokalitetima gdje su tijekom sezone nekoliko puta klopke bile izložene 14 dana. Uzorkovanje je obavljeno na 26 lokaliteta (78 mikrolokaliteta) u osam gradova i naselja, a u svakome su odabrana tri ili četiri lokaliteta: benzinske crpke (4), groblja (8), dvorišta domova zdravlja (8), dvorišta privatnih kuća (5) i zračna luka (1). Tablica 7 prikazuje mjesta s lokalitetima i razdoblje uzorkovanja jaja. U Prilogu 4 nalaze se svi lokaliteti uzorkovanja opisani adresom i GPS lokacijom.

Tablica 7. Mjesta i broj lokaliteta uzorkovanja, razdoblje uzorkovanja i broj klopki u Zagrebačkoj županiji.

Godina uzorkovanja	2016.		
Mjesta uzorkovanja	Broj lokaliteta (mikrolokaliteta) uzorkovanja	Broj tjedana uzorkovanja	Broj postavljenih klopki
Zaprešić	4 (12)	26 (T20-T45)	288
Samobor	3 (9)	26 (T20-T45)	225
Jastrebarsko	3 (9)	26 (T20-T45)	234
Velika Gorica	4 (12)	27 (T19-T45)	288
Ivanić Grad	3 (9)	25 (T21-T45)	225
Dugo Selo	3 (9)	25 (T21-T45)	225
Vrbovec	3 (9)	25 (T21-T45)	216
Sveti Ivan Zelina	3 (9)	26 (T20-T45)	234
Ukupno	26 (78)		1935
Ukupno pregledano daščica iz klopki			1848

Karlovačka županija

Istraživanje širenja i rasprostranjenosti vrsta *Ae. albopictus* i *Ae. japonicus* na području Karlovačke županije provedeno je tijekom 2016. godine. Korištene su ovipozicijske klopke s tjednom dinamikom provedbe. Uzorkovanje je obavljeno na 20 lokaliteta (33 mikrolokaliteta) u šest gradova i naselja, a u svakome je odabrano nekoliko lokaliteta: benzinska crpka (2), groblje (6), vulkanizer (2), dvorište Doma zdravlja (1), centar za beskućnike (1), park (1), kamp

(1) i kaštel (1). U Prilogu 5 nalaze se svi lokaliteti uzorkovanja opisani adresom i GPS lokacijom.

Tablica 8. Mjesta i broj lokaliteta uzorkovanja, razdoblje uzorkovanja i broj klopki u Karlovačkoj županiji.

Godina uzorkovanja	2016.		
Mjesto uzorkovanja	Broj lokaliteta (mikrolokaliteta) uzorkovanja	Broj tjedana uzorkovanja	Broj postavljenih klopki
Karlovac	7 (18)	24 (T20-T43)	414
Vodostaj	1 (2)	7 (T20-T26)	14
Ozalj	3 (3)	24 (T20-T43)	69
Duga Resa	4 (5)	24 (T20-T43)	96
Ogulin	3 (3)	24 (T20-T43)	30
Slunj	2 (2)	5 (T21-T34)	10
Ukupno	20 (33)		633
Ukupno pregledano daščica iz klopki			575

3.3. Detekcija virusa u komarcima vrste *Ae. albopictus*

3.3.1. Uzorkovanje komaraca

Tijekom 2015. i 2016. godine obavljeno je uzorkovanje odraslih jedinki komaraca s naglaskom na vrstu *Ae. albopictus* kao dokazanog vektora virusa. Komarci su uzorkovani aspiratorom na tijelu skupljača i BG-Sentinel klopke. U 2015. godini obavljeno je 68 uzorkovanja tijekom srpnja, kolovoza i rujna na 22 lokaliteta, a u 2016. godini 23 uzorkovanja tijekom rujna na 17 lokaliteta (dva lokaliteta su jednaka u 2015. i 2016. godini). Ukupno je obavljeno 91 uzorkovanje jedinki *Ae. albopictus* tijekom dvije godine na 37 lokaliteta grada Zagreba. Uzorkovanje komaraca aspiratorom obavljeno je 84 puta, a BG-Sentinel klopama devet puta.

Jedinke komaraca determinirane su prema vrsti i spolu. Od ženki su načinjeni skupni uzorci (do 50 jedinki) prema lokalitetima i razdoblju uzorkovanja (Prilog 6). Uzorci su do testiranja pohranjeni na -70°C.

3.3.2. Dijagnostika virusa u komarcima

Skupni uzorci su testirani na prisustvo DENV, WNV, USUV i CHIKV RNA metodom RT-qPCR u stvarnom vremenu. Dijagnostika virusa učinjena je u Hrvatskom veterinarskom institutu u Zagrebu.

Izdvajanje virusne RNA

Za izdvajanje virusne RNA korišteni su prethodno pripremljeni nadtalozni dobiveni homogenizacijom prikupljenih jedinki komaraca uz dodatak sterilne fiziološke otopine i centrifugiranjem. Izdvajanje RNA obavljeno je komercijalno dostupnim kompletom *High Pure Viral Nucleic Acid Kit* (Roche, Mannheim, Njemačka).

Dokaz virusnog genoma

Prisutnost virusnih genoma testirana je reverznom transkripcijom i lančanom reakcijom polimerazom u stvarnom vremenu u jednom koraku (RT-qPCR). Za RT-qPCR korišten je komercijalno dostupan komplet *Brilliant III Ultra-Fast QRT-PCR Master Mix* (Agilent Technologies, SAD) i specifične početnice i dvostruko označene probe. Testiranje je učinjeno

u uređaju *Rotor-Gene Q* (Qiagen, Hilden, Njemačka). Postupak dokazivanja genoma WNV učinjen je postupkom prema Tang i sur. (2006.), genom USUV prema Nikolay i sur. (2014.), genom DENV prema Leparc-Goffart i sur. (2009.) i genom CHIKV prema Smith i sur. (2009.). Početnice i probe korištene za detekciju WNV, USUV, DENV i CHIKV u uzorcima komaraca navedene su u tablici 9.

Tablica 9. Početnice i probe korištene za detekciju WNV, USUV, DENV i CHIKV u uzorcima komaraca.

Virus	Ciljna sekvenca	Autor
WNV FP: AAGTTGAGTAGACGGTGCTG RP: AGACGGTTCTGAGGGCTTAC Proba: CTCAACCCCAGGAGGACTGG	3'NCR 92 bp 10,533-10,625 nt	Tang i sur., 2006.
USUV FP: CAAAGCTGGACAGACATCCCT-TAC RP: CGTAGATGTTTTTCAGCCCACGT Proba: 6FAM-AAGACATATGGTGTGGAAGCCTGATAGGCA-TMR	NS5 103 bp 10,190-10,293 nt	Nikolay i sur., 2014.
DENV FP: 5 AGGACYAGAGGTTAGAGGAGA RP: CGYTCTGTGCCTGGAWTGAT Proba: 6FAM-ACAGCATATTGACGCTGGGARAGACC-TMR	3'NCR	Leparc-Goffart i sur., 2009.
CHIKV FP: CCGAAAGGAACTTCAAAGCAACT RP: CAGATGCCCCGCCATTATTGATG Proba: 6FAM-GGGAGGTGGAGCATG-NFQ	nsP2 70 bp 3,000-3,070 nt	Smith i sur., 2009.

FP=forward primer, RP=reverse primer

Reverzna transkripcija i inicijalna denaturacija (95°C/3 min) učinjene su prema uputama proizvođača reagenasa. Temperature za PCR u skladu su s korištenim referencama za pojedini virus, dok je trajanje pojedinih faza za svaki ciklus PCR-a prilagođeno preporukama proizvođača reagenasa za RT-qPCR u stvarnom vremenu (tablica 10). Fluorescencija za FAM je očitavana na kraju svakog ciklusa.

Tablica 10. Korišteni temperaturni protokoli za RT-qPCR u stvarnom vremenu pri detekciji pojedinih virusa.

		WNV	USUV	DENV	CHIKV
Reverzna transkripcija		50°C / 10 min			
Denaturacija		95°C / 3 min			
PCR	Broj ciklusa	45x	40x	40x	40x
	95°C	15 s	15 s	15 s	5 s
	60°C	30 s	30 s	30 s	20 s

Pozitivne kontrole za RT-qPCR dobivene su ljubaznošću doc.dr.sc. Andree Babić-Erceg, voditeljice Odjela za molekularnu dijagnostiku Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo i dr.sc. Vladimira Savića, voditelja Centra za peradarstvo Hrvatskog veterinarskog instituta Zagreb.

3.4. Statistička analiza rezultata uzorkovanja jaja komaraca

Nakon prikupljanja podataka izrađena je baza podataka. Podaci su obrađeni statistički. Za deskriptivnu statistiku korišteni su grafički prikazi te mjere centralne tendencije i raspršenja. Razina statističke značajnosti određena je na 5% ($p < 0,05$). U svim su analizama primjenjivani dvosmjerni (engl. *two-tailed*) statistički testovi. Normalnost raspodjela testirana je putem Shapiro-Wilk testa. U slučaju normalno raspodijeljene varijable, kao mjere centralne tendencije i raspršenja korištene su aritmetička sredina i standardna devijacija. U slučaju odstupanja raspodjele rezultata od normalne raspodjele kao mjere centralne tendencije i raspršenja korišteni su medijan i interkvartilni raspon. Za utvrđivanje razlike u ovipoziciji među pojedinim godinama, lokalitetima i mikrolokalitetima istog lokaliteta te odnosa klimatskih parametara i ovipozicije korištena je inferencijalna statistika. Izbor testova (parametrijski i/ili neparametrijski) ovisio je o normalnosti razdiobe i varijabilnosti analiziranih podataka. Za usporedbu skupina na normalno distribuiranim varijablama korišten je t-test u slučaju usporedbe dviju skupina, odnosno analiza varijance u slučaju triju skupina, s pripadnim post hoc testovima. Homogenost varijanci testirana je putem Levenovog testa. U slučaju heterogenih varijanci pri usporedbi dviju skupina korišten je t-test s korigiranim stupnjevima slobode. Pri usporedbi triju skupina, ukoliko je analizom varijance utvrđena statistički značajna razlika između njih, korišten je Fisherov LSD post hoc test u slučaju homogenih varijanci, dok je u slučaju heterogenih varijanci korišten Games-Howellov post hoc test. U slučajevima odstupanja raspodjela od normalne raspodjele, kod usporedbe dviju skupina korišten je Mann-Whitney U test, dok je kod usporedbe triju skupina korišten Kruskal-Wallis test. Ukoliko je Kruskal-Wallis testom utvrđena statistički značajna razlika između skupina, razlike su dalje ispitane serijom Mann-Whitney U testova, uz Bonferronijevu korekciju razine statističke značajnosti. Obzirom da su raspodjele dobivenih rezultata uglavnom odstupale od normalne raspodjele, za mjerenje povezanosti između varijabli korišten je Spearmanov koeficijent rang korelacije (Sheskin, 2011.; Petz, 2004.).

U istraživanju i opisivanju aktivnosti polaganja jaja u ovipozijskim klopama te za usporedbu ovipozicije korišteno je nekoliko mjera (Kitron i sur., 1989.; Carrieri i sur., 2011.; Regis i sur., 2008.; Žitko i Merdić, 2014.):

- prevalencija: odnos broja klopki s položenim jajima (pozitivnih klopki) i ukupnog broja postavljenih klopki, izražen kao postotak,
- intenzitet: ukupan broj jaja u klopama u odnosu na pozitivan broj klopki,

- gustoća: broj jaja u klopama u odnosu na ukupan broj svih klopki (umnožak prevalencije i prosječnog intenziteta).

Za grafički prikaz (vizualizaciju) prostorne raspodjele položenih jaja upotrijebljena je Kringing metoda s interpolacijom podataka (Cressie, 1992.; Malvić, 2008.), paketom Golden software Surfer verzija 11.

U radu su korišteni meteorološki podaci Državnog hidrometeorološkog zavoda za područje grada Zagreba izmjereni na postaji Zagreb-Maksimir u razdoblju od 2004. do 2015. godine te za područje Krapinsko-zagorske županije izmjereni u razdoblju od 2013. do 2016. godine na postaji Krapina. Za određivanje povezanosti temperature, oborina, relativne vlažnosti zraka i trajanja dana s brojem položenih jaja tijekom istraživnog razdoblja u Zagrebu i na području Krapinsko-zagorske županije izračunate su srednje tjedne vrijednosti temperature zraka, količine oborina, relativne vlažnosti zraka i trajanja dana za Zagreb i za Krapinu.

4. REZULTATI

4.1. Rasprostranjenost i širenje areala invazivnih vrsta komaraca *Ae. albopictus* i *Ae. japonicus* na području grada Zagreba

4.1.1. Prvi nalaz i širenje areala vrste *Ae. albopictus* na području grada Zagreba

Prvi nalaz vrste *Ae. albopictus* u Hrvatskoj zabilježen je u Zagrebu 28. listopada 2004. godine tijekom redovitog javnozdravstvenog praćenja prijenosnika zaraznih bolesti, što uključuje istraživanje i kontroliranje legla komaraca na području grada, koje provode djelatnici Odjela za dezinfekciju, dezinsekciju i deratizaciju Epidemiološke službe Nastavnog zavoda za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“. Na području naselja Prečko, u šumi zapadno od športsko-rekreacijskog centra (ŠRC) Jarun, uzorkovane su ličinke iz različitih malih umjetnih legla. Ličinke četvrtog stadija sakupljene su iz tri različita umjetna legla (ilegalno odbačen krupni otpad): stara guma, porculanska toaletna školjka i spremnik za vodu. Tijekom jednodnevnog boravka u laboratoriju, ličinke iz toaletne školjke (slika 22) preobrazile su se u kukuljice, a nakon tri dana u odrasle jedinke komaraca koje su determinirane kao vrsta *Ae. albopictus*. Ličinke iz druga dva legla pripadale su vrsti *Cx. pipiens*.

Leglo vrste *Ae. albopictus* sadržavalo je oko jednu litru kišnice i trulo lišće. Ukupno je prikupljeno 13 ličinki od čega je nakon razvoja u odrasle jedinke bilo sedam ženki. Sve jedinke pripadale su jednoj generaciji. Daljnjim praćenjem legla vrste *Ae. albopictus* (i ostalih zabilježenih legla) tijekom mjeseca studenog nisu pronađene nove ličinke ove vrste.

Šuma s leglom vrste *Ae. albopictus* nalazi se na jugozapadnom dijelu grada, zapadno od ŠRC Jarun. koji obuhvaća površinu od 235 ha od čega je 75 ha vodene površine, a ostalo su zelene površine. Južno od šume je rijeka Sava s povremeno poplavnim površinama, a zapadno je urbani dio naselja Prečko. Područje na kojem su pronađene jedinke vrste *Ae. albopictus* prethodno je uključeno u larvicidni i adulticidni program suzbijanja komaraca. Od svibnja do rujna iste godine (2004.) obavljeno je mjerenje molestiranja krilatica uzorkovanjem aspiratorom tijekom 15 minuta svakih tri ili četiri dana. Mjerenja su obavljena na dvije lokacije, prva je udaljena oko 50, a druga oko 400 metara od mjesta nalaza vrste *Ae. albopictus*. U sakupljenim uzorcima nije bilo jedinki vrste *Ae. albopictus*.

Nekoliko kilometara od mjesta prvog nalaza nalaze se dvije tvrtke koje posluju gumama (uvoz, obnavljanje i prodaja rabljenih guma), stoga se pojava komaraca može dovesti u vezu s

tvrtkama. Nalaz komarca *Ae. albopictus* zabilježen je krajem listopada nakon čega su nastupili nepovoljni klimatski uvjeti, stoga nije bilo moguće provoditi izvide u tvrtkama s gumama.

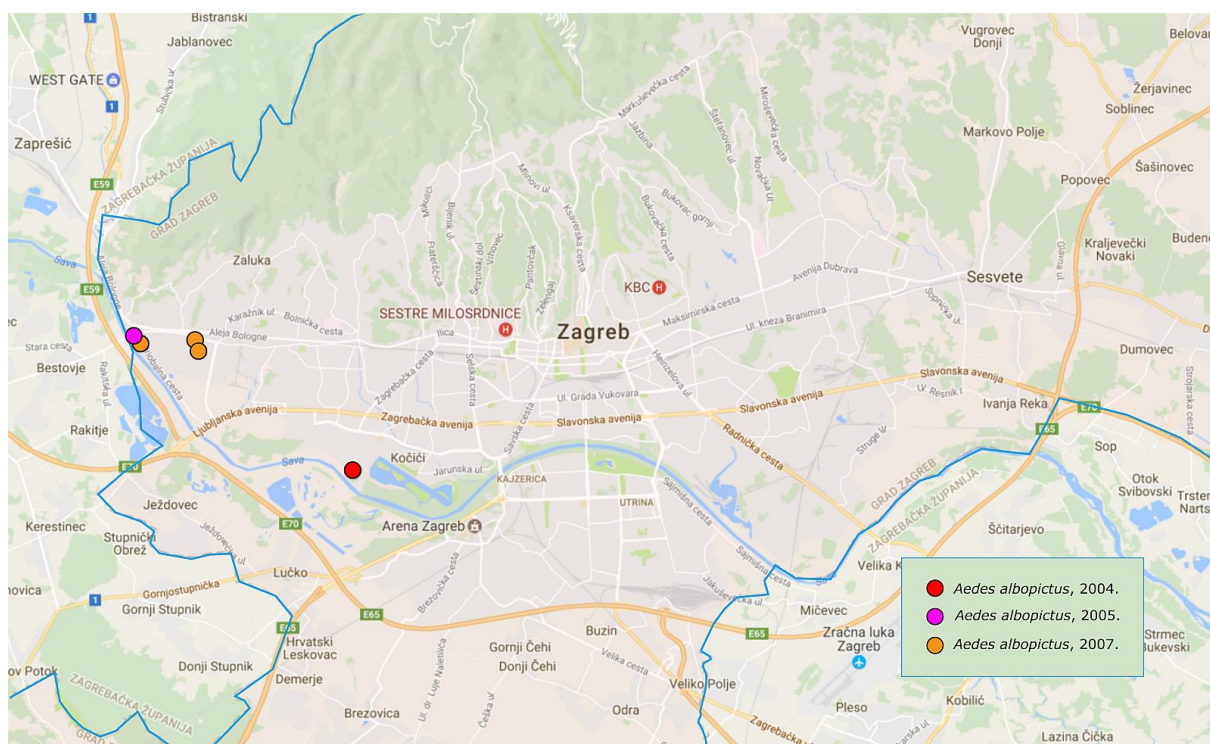


Slika 22. Leglo u kojem je prvi put pronađena vrsta *Ae. albopictus* u Hrvatskoj
(foto: A. Klobučar).

Tijekom 2005. godine nastavljeno je istraživanje komaraca i nadzor legla na području grada, s posebnim naglaskom na područje gdje je komarac *Ae. albopictus* prethodno pronađen. Nekoliko puta tijekom sezone obavljani su izvidi u spomenutim tvrtkama koje posluju gumama, a nalaze se na rubnom zapadnom dijelu grada. U jednoj od tvrtki (Samoborska cesta 257) 7. listopada 2005. godine aspiratorom je uhvaćeno nekoliko odraslih jedinki *Ae. albopictus*, a nakon nekoliko dana u samo jednoj gumi nekoliko jedinki u stadiju kukuljice. Ličinke komaraca uzorkovane u ostalim gumama bile su vrste *Cx. pipiens*. Ponovnim uzorkovanjima ličinki i odraslih jedinki tijekom listopada i studenog nisu pronađene jedinke vrste *Ae. albopictus*. Rabljene gume uvezene su iz nekoliko zemalja Europe od kojih je tada jedino Italija bilježila infestaciju komarcima *Ae. albopictus*, a gume su uvezene iz nekoliko mjesta sjeveroistočne Italije.

U 2006. godini *Ae. albopictus* nije zabilježen u spomenutim tvrtkama niti okolnom području. U 2007. godini *Ae. albopictus* pronađen je u obje tvrtke (Samoborska cesta 257 i Vučak 1c) te na adresi privatne kuće Franje Lučića 9 (slika 23). Od 2008. do 2010. godine nalazi vrste *Ae. albopictus* bili su ograničeni na navedene tvrtke, vulkanizerske radnje i mjestimične adrese područja oko tvrtki u ulicama Franje Lučića, Vučak i Samoborska cesta

(rubni zapadni dio grada). Nadzor je obavljan uz pomoć ovipozicijskih klopki, uzorkovanjem ličinki i uzorkovanjem odraslih jedinki. U 2011. godini, u drugoj polovini rujna zabilježen je prvi nalaz udaljen od opisanog područja, u sjeverozapadnom dijelu grada na adresama Lisičina 54 i Lisičina 62 (Bizek). Uzorkovane su ličinke komaraca iz različitih umjetnih legla u dvorištu i vrtu, a zatim u listopadu jaja komaraca ovipozicijskim klopkama. Izvidi su obavljani nakon pritužbe građana s jedne od adresa.

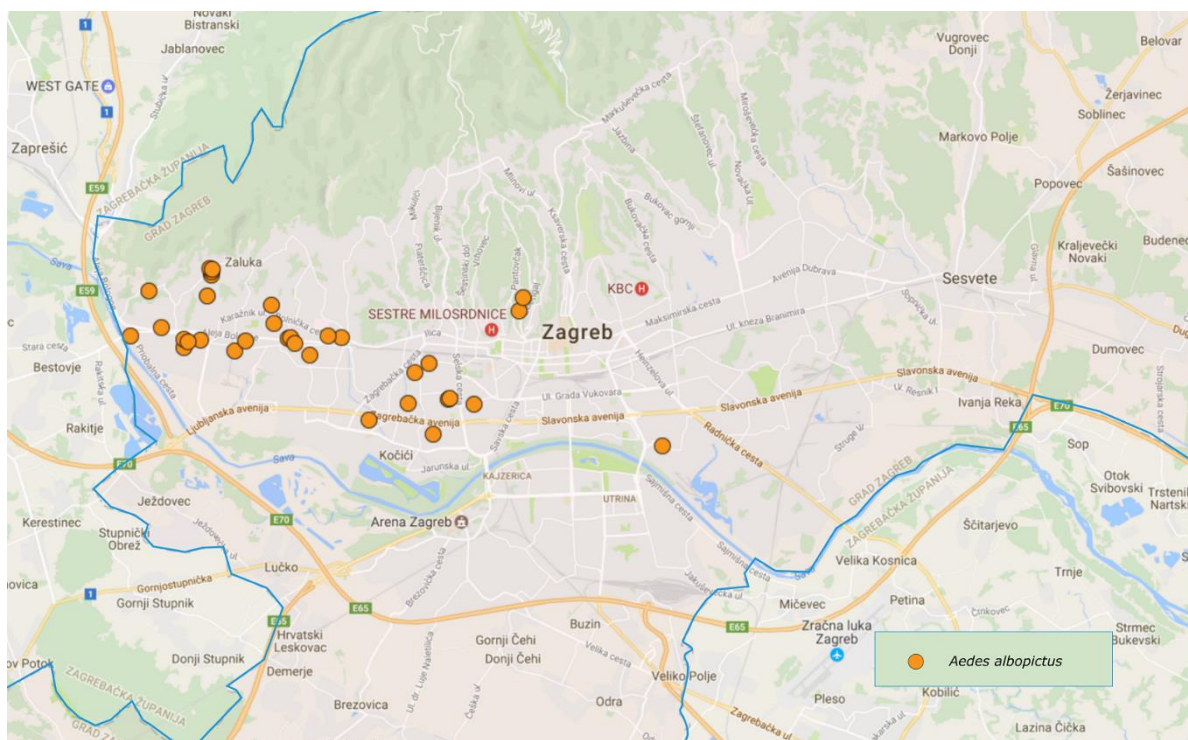


Slika 23. Lokaliteti nalaza vrste *Ae. albopictus* od 2004. do 2007. godine.

Tijekom 2012. godine vrsta je zabilježena na 33 lokaliteta, od čega je na sedam *Ae. albopictus* pronađen i tijekom prethodnih godina. Najveći broj nalaza (25 lokaliteta) utvrđen je uzorkovanjem jaja ovipozicijskim klopkama, a nakon pritužbi građana na komarce. Od ukupno 99 postavljenih ovipozicijskih klopki, jaja komaraca pronađena su u 36 (36,36%). U tablici 11 naveden je broj lokaliteta te broj klopki s nalazima jaja komaraca tijekom ljetnih mjeseci, a na slici 24 su prikazani lokaliteti s nalazom vrste *Ae. albopictus*.

Tablica 11. Broj lokaliteta nalaza jaja komaraca.

Mjesec 2012.	Broj lokaliteta ovipozicijskih klopki (Broj postavljenih ovipozicijskih klopki)	Broj lokaliteta s nalazom jaja komaraca (Broj klopki s jajima komaraca)
Lipanj	5 (9)	4 (6)
Srpanj	13 (17)	13 (17)
Kolovoz	12 (12)	10 (10)
Rujan	1 (1)	0 (0)
Listopad	54 (60)	3 (3)



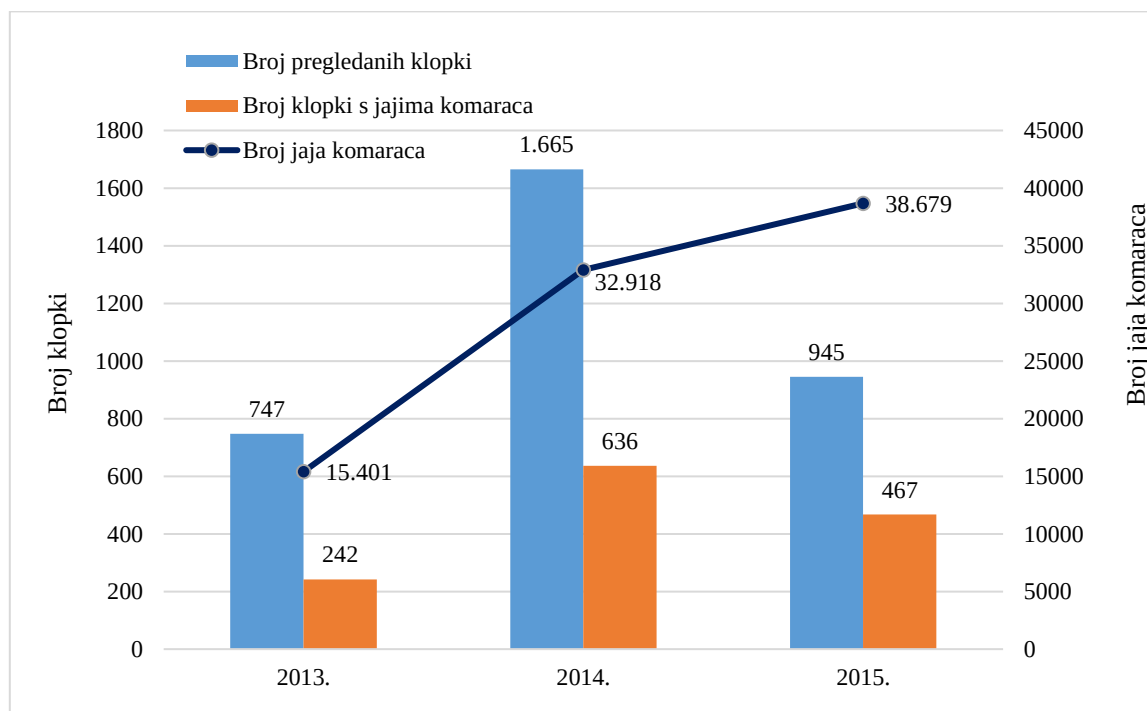
Slika 24. Lokaliteti nalaza vrste *Ae. albopictus* tijekom 2012. godine.

4.1.2. Istraživanje širenja areala i sezonske ovipozicije vrste *Ae. albopictus* od 2013. do 2015. godine

U istraživanju koje je provedeno na području Zagreba u razdoblju od tri godine (2013.-2015.) na lokalitetima kontinuiranog praćenja ukupno je pregledano 3.357 ovipozicijskih klopki. Jaja komaraca pronađena su u 1.345 (40,07%) klopki (dalje u tekstu: pozitivne klopke), a u njima je prebrojeno 86.998 jaja komaraca (tablica 12 i slika 25).

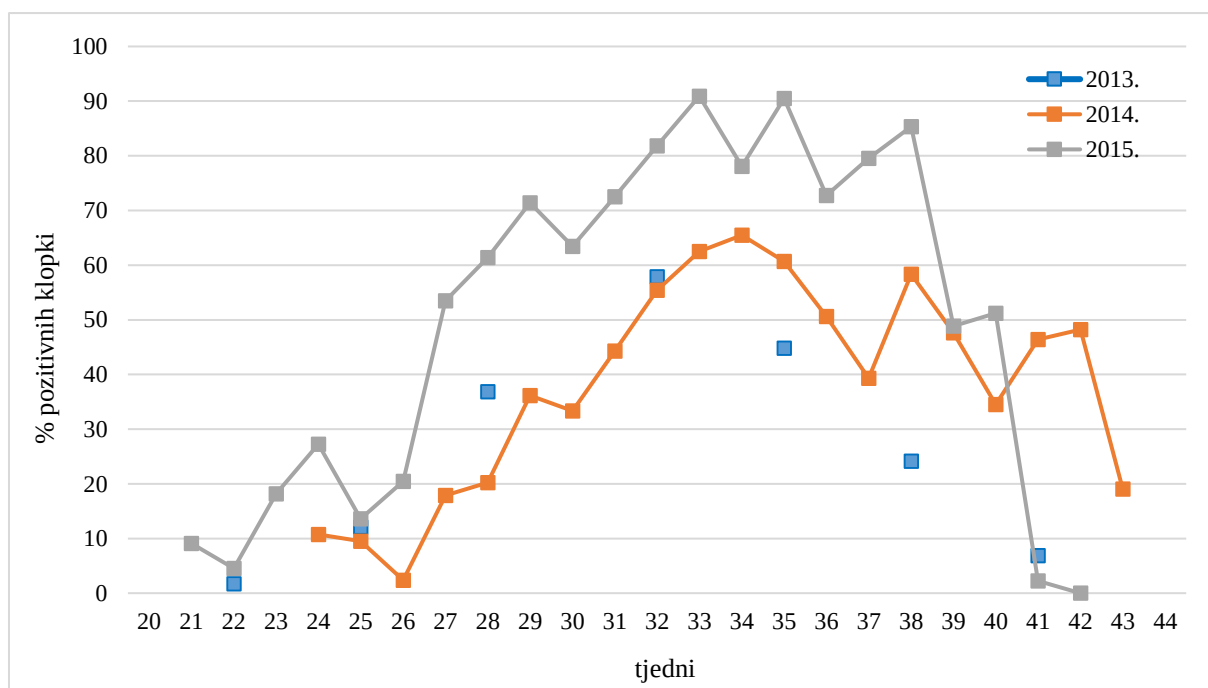
Tablica 12. Broj uzorkovanja i klopki u godinama istraživanja.

Godina istraživanja	2013.	2014.	2015.
Ukupan broj tjedana uzorkovanja	20	20	22
Broj lokaliteta (mikrolokaliteta) uzorkovanja	56 (58)	28 (84)	15 (44)
Ukupno pregledano klopki	747	1.665	945
Broj pozitivnih klopki	242 (32,40%)	633 (38,02%)	467 (49,42%)
Ukupan broj jaja u klopka	15.401	32.918	38.679
Prosječan broj jaja / poz. klopka	63,64	52,00	82,82
Ukupan broj jaja	86.998		



Slika 25. Broj pregledanih i pozitivnih klopki te broj jaja komaraca u 2013., 2014. i 2015. godini u Zagrebu.

Tijekom tri godine istraživanja početak sezonske aktivnosti vrste *Ae. albopictus* najranije je zabilježen u 21. tjednu (druga polovina svibnja) 2015. godine pri prosječnoj temperaturi 15,7°C. Pri tome je prevalencija pozitivnih klopki (broj pozitivnih klopki u odnosu na broj postavljenih klopki izražen kao postotak) iznosila 9,09% (4/44), intenzitet 19,75 (broj položenih jaja u odnosu na broj pozitivnih klopki), a gustoća položenih jaja 1,80 (broj položenih jaja u odnosu na broj postavljenih klopki). Najveći broj pozitivnih klopki zabilježen je 2015. godine tijekom kolovoza kroz četiri uzastopna tjedna (od 32. do 35.), a kretao se od 78,05% do 90,91%. Slijedio je blagi pad aktivnosti, a zatim opet porast u 38. tjednu (druga polovina rujna) kada je zabilježeno 85,37%. U 42. tjednu (sredina listopada) zabilježen je prestanak aktivnosti (nije pronađena ni jedna pozitivna klopka), prosječna tjedna temperatura je bila 10,84°C. Tjedan dana ranije pronađeno je 2,27% pozitivnih klopki, s gustoćom položenih jaja 0,05 i intenzitetom 2,00 (slike 26, 27 i 28). Tijekom 2015. godine ukupno je zabilježeno 49,42% pozitivnih klopki.



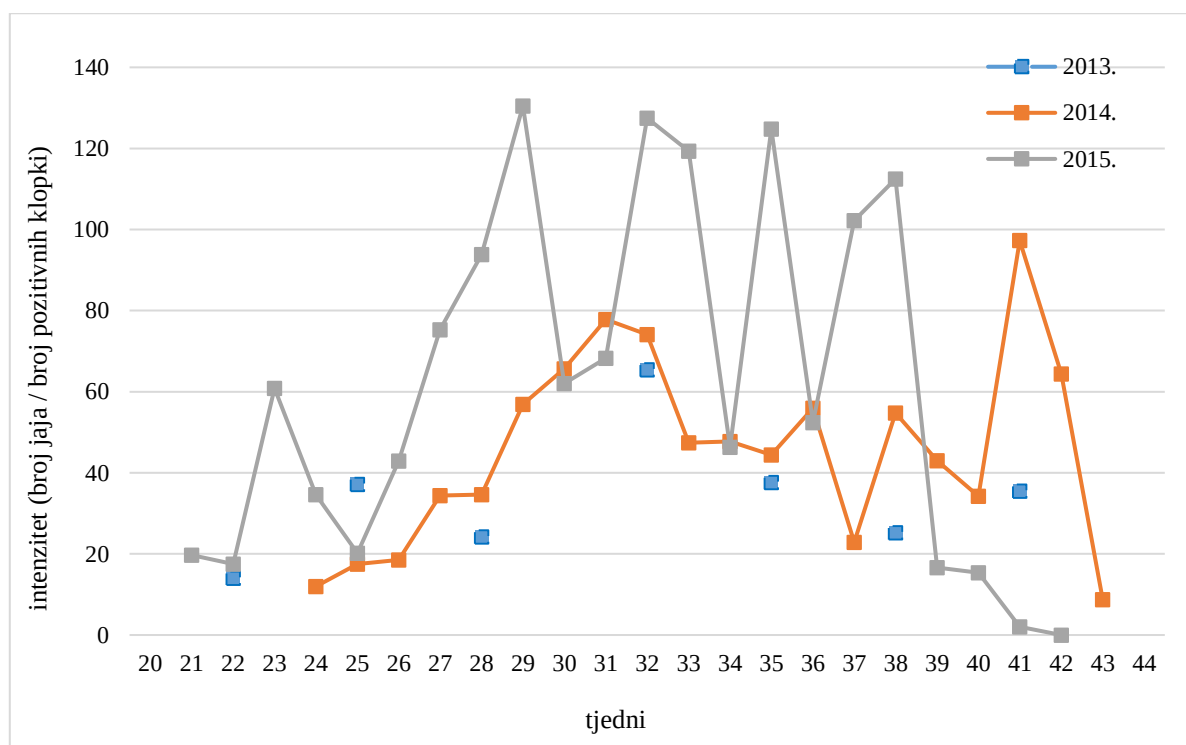
Slika 26. Prevalencija pozitivnih klopki u tjednima tijekom 2013., 2014. i 2015. godine.

U 2014. godini uzorkovanje je započelo u 24. tjednu kada je zabilježeno 10,71% (9/84) pozitivnih klopki, ali s malom gustoćom položenih jaja od 1,29. Slijedi blagi pad a zatim porast do 34. tjedna kada je zabilježen najveći postotak pozitivnih klopki (65,48%). Završetak aktivnosti zabilježen je u 43. tjednu (kraj listopada) s 19,05% pozitivnih klopki, gustoćom

položenih jaja 1,67 i intenzitetom 8,75. Tijekom 2014. godine ukupno je zabilježeno 38,02% pozitivnih klopki (slike 26, 27 i 28).

Obzirom da u 2013. godini sva uzorkovanja nisu obavljena tjednom dinamikom, u analizi broja jaja za usporedbu u obzir su uzeti samo rezultati jednotjednog uzorkovanja (tijekom ukupno sedam tjedana). Početak ovipozicije zabilježen je u prvom tjednu uzorkovanja, u 22. tjednu (druga polovina svibnja) kada je zabilježeno samo 1,72% (1/58) pozitivnih klopki. Najviša aktivnost zabilježena je u 32. tjednu s 57,89% pozitivnih klopki, a u 41. tjednu (posljednjem tjednu uzorkovanja, prva polovina listopada) pronađeno je 6,90% pozitivnih klopki (slika 26).

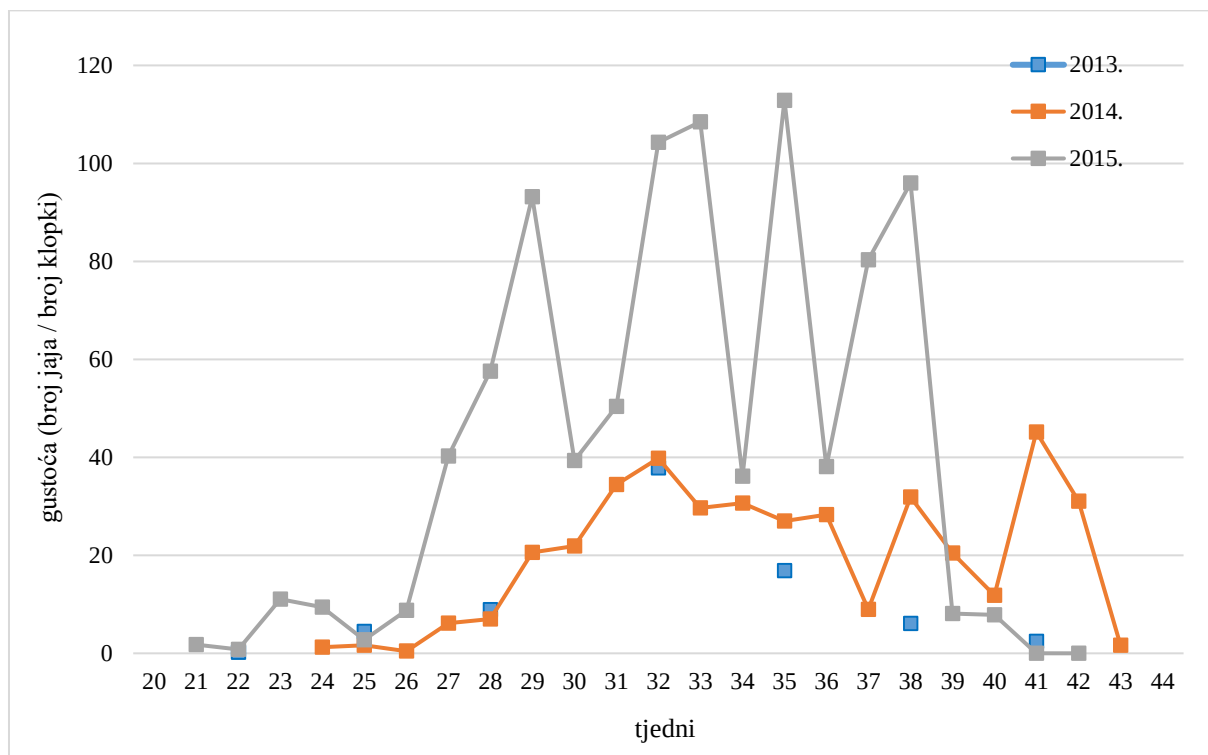
Najveći intenzitet (broj položenih jaja u odnosu na ukupan broj pozitivnih klopki) zabilježen je u 29. tjednu 2015. godine i iznosio je 130,50. Slijedio je pad intenziteta a zatim ponovni porast od 32. tjedna koji se izmjenjivao s višim i nižim vrijednostima do 38. tjedna, nakon čega je slijedio nagli pad vrijednosti. Prosječan intenzitet u 2015. godini iznosio je 82,82. Za razliku od 2015. godine kada je intenzitet bio najveći u kolovozu i varijabilan, u 2014. godini bio je najviši u 41. tjednu (prva polovina listopada) s vrijednošću 97,28 dok je prosječna vrijednost intenziteta u 2014. godini iznosila 52,00. U 2013. godini bio je najviši u 32. tjednu kada je iznosio 65,39, a prosječna vrijednost u toj godini iznosila je 41,65 (slika 27).



Slika 27. Intenzitet položenih jaja u tjednima tijekom 2013., 2014. i 2015. godine.

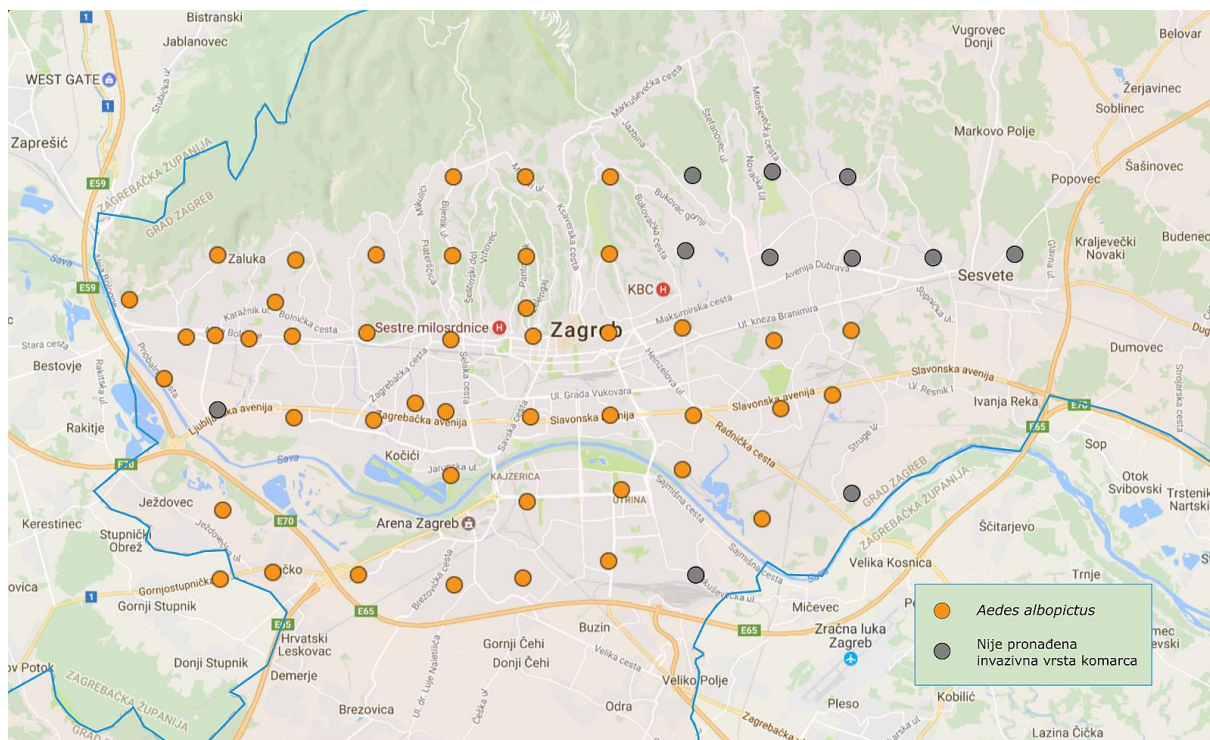
Gustoća (broj položenih jaja u odnosu na ukupan broj klopki) u 2013. godini bila je najviša u 32. tjednu (kao i intenzitet), kada je iznosila 37,86. U 2014. godini prvi vrhunac doseže u 32. tjednu, kada je iznosila 39,81. Najveća gustoća u 2014. godini izmjerena je u 41. tjednu (kao i intenzitet) te je iznosila 45,17, a u zadnjem tjednu uzorkovanja iznosila je 1,67. Prosječna gustoća u sezoni iznosila je 19,77.

U 2015. godini gustoća je bila razmjerno varijabilna te je kao i intenzitet imala nekoliko porasta i padova, a najvišu vrijednost dosegla je u 35. tjednu kada je iznosila 112,88 (slika 28). Prosječna gustoća položenih jaja u 2015. godini iznosila je 40,93 što je dvostruko više nego u 2014., a približno četiri puta više nego u 2013. godini.



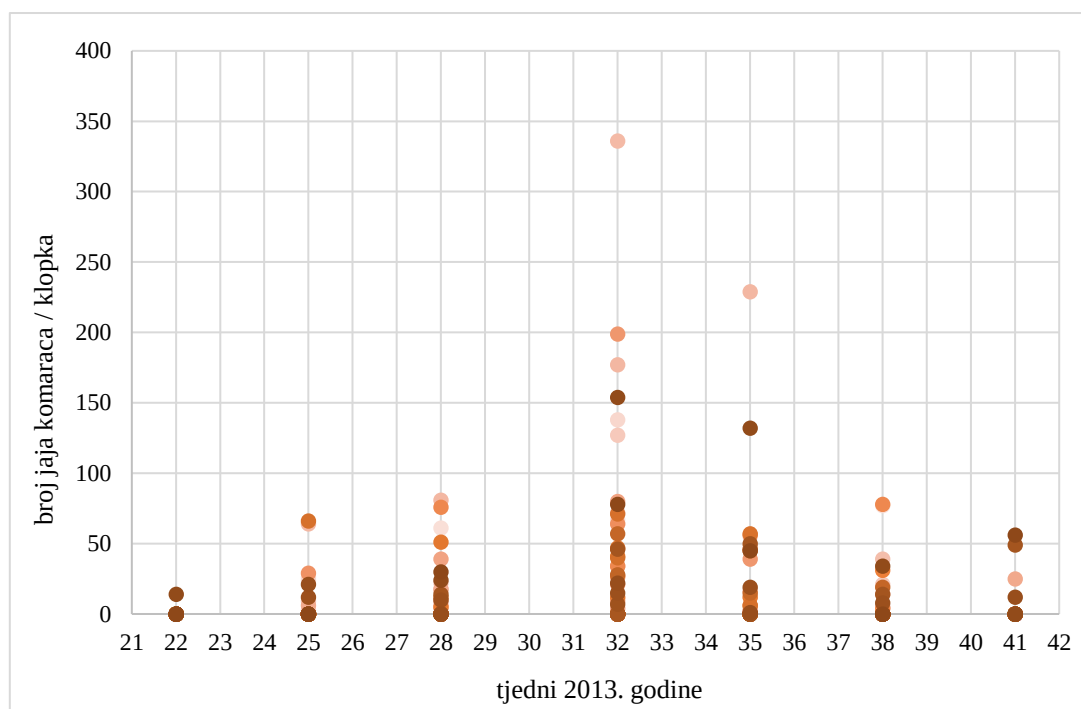
Slika 28. Gustoća položenih jaja u tjednima 2013., 2014. i 2015. godine.

U 2013. godini od ukupno 56 lokaliteta uzorkovanja na području grada, komarci *Ae. albopictus* su pronađeni na 45 lokaliteta, odnosno nisu pronađeni na 11 lokaliteta od čega je osam smješteno u sjeveroistočnom dijelu grada: L34 (Čret), L35 (Prilesje), L40 (Fabijanićeva), L41 (Ljubijaska), L45 (Prašnica gornja), L46 (Knezovečki put), L50 (Vilka Gecana) i L51 (Zelinska) (slika 29).



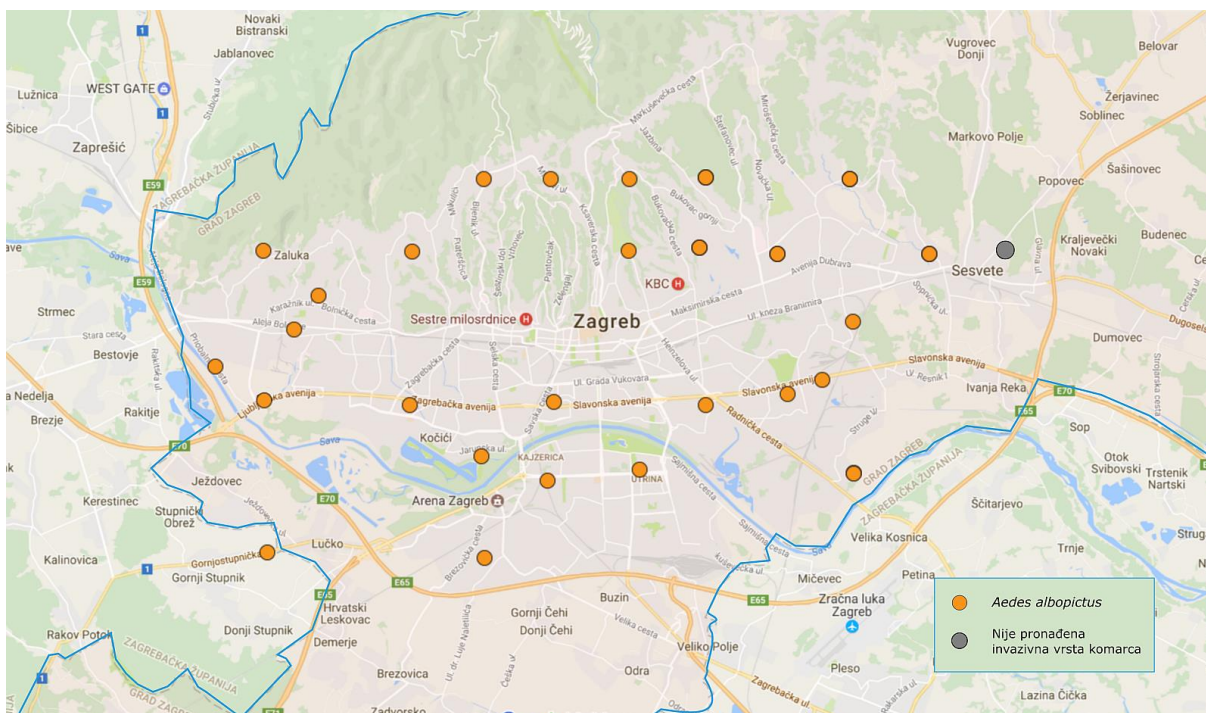
Slika 29. Lokaliteti nalaza vrste *Ae. albopictus* utvrđeni uzorkovanjem ovipozicijskim klopka u 2013. godini.

Kada je riječ o broju položenih jaja u pojedinoj klopci tijekom 2013. godine, najveći broj jaja položen u klopci izloženoj jedan tjedan bio je 336 u 32. tjednu na lokalitetu L13 (Debanićeva), u zapadnom središnjem dijelu grada (slika 30). Osim na navedenom lokalitetu, na još nekoliko lokaliteta u 32. i 35. tjednu zabilježene su relativno visoke (za tu godinu) vrijednosti položenih jaja: 177 jaja u 32. tjednu i 229 jaja u 35. tjednu na lokalitetu L14 (Vrbani); 199 jaja u 32. tjednu na lokalitetu L23 (Pantovčak); 154 jaja u 32. tjednu na lokalitetu L55 (Mangartska). Najveći ukupni broj jaja u iznosu od 1.858 tijekom sezone 2013. godine uzorkovan je na lokalitetu L14 (Vrbani) u jugozapadnom dijelu grada. Lokalitet se nalazi uz vrtove u kojima je mnoštvo posuda s vodom, a područje je urbanog karaktera (stambene zgrade višekatnice). Prema ukupnom broju jaja slijedi lokalitet L26 (Trnsko) u središnjem južnom dijelu grada, s ukupnim brojem jaja 1.257. Najveći ukupni broj jaja na svim lokalitetima uzorkovan je u 32. tjednu (ukupno 2.158, tada je zabilježen najveći intenzitet i gustoća), a najmanji u 22. tjednu (14 jaja).

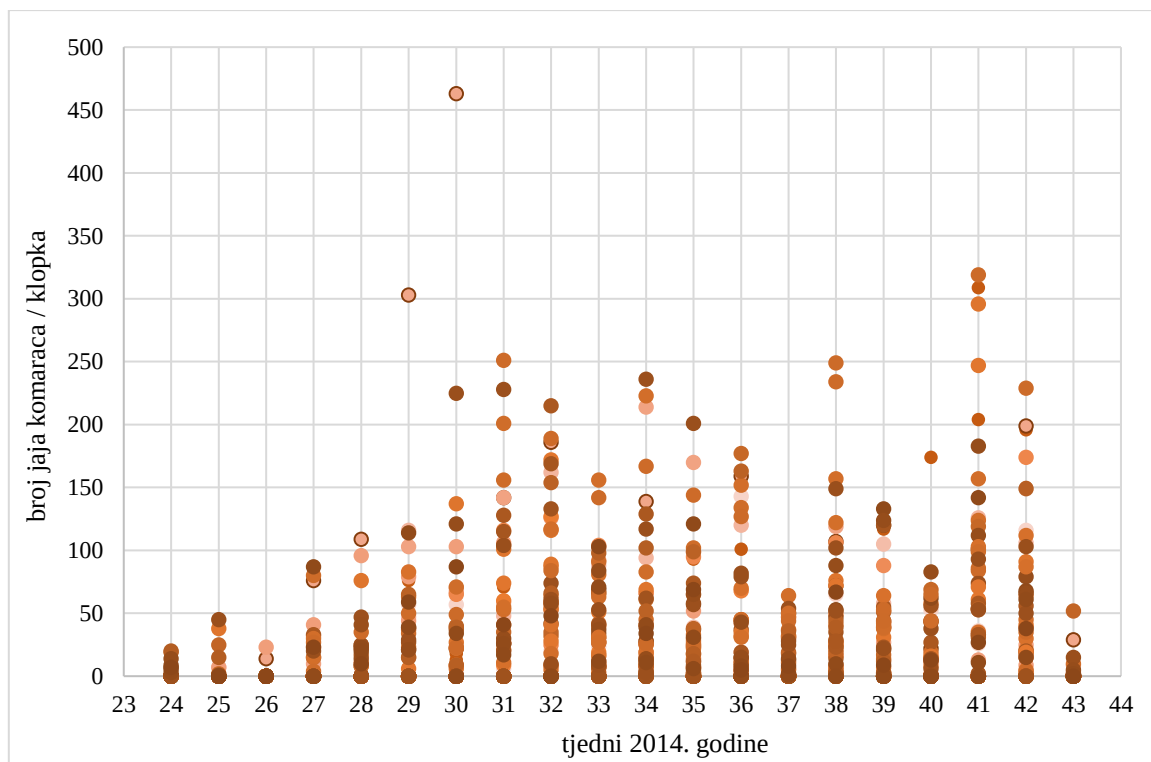


Slika 30. Broj jaja u klopka tijekom sedmodnevne izloženosti klopki u 2013. godini.

U 2014. godini ovipozicijske klopke su postavljane na 28 lokaliteta pri čemu su odabrani lokaliteti na kojima komarci nisu pronađeni u prethodnoj godini te nekoliko lokaliteta na kojima je uzorkovano najviše jaja, srednji broj i mali broj jaja u prethodnoj godini. Komarci su pronađeni na 27 lokaliteta uzorkovanja, što uključuje osam lokaliteta na kojima u 2013. godini nisu pronađena jaja komaraca (slika 31). Na najistočnije smještenom lokalitetu L51 (Zelinska, Sesvete) nisu uzorkovana jaja komaraca (slika 31). Najveći broj jaja u 2014. godini položen je u 30. tjednu na mikrolokalitetu L14.1 lokaliteta Vrbani, a iznosio je 463 (slika 32), a na istom mikrolokalitetu uzorkovan je najveći ukupni broj jaja tijekom sezone 2014. godine (kao i 2013. godine) i iznosio je 2.325. U tri klopke lokaliteta Vrbani u sezoni je uzorkovano 4.276 jaja što iznosi 12,98% ukupnog broja jaja te godine. Prema broju jaja slijedi mikrolokalitet L43.3, Radnički put (jugozapadni dio grada) s 319 položenih jaja u 41. tjednu, odnosno 1.529 jaja tijekom sezone, a u tri klopke tog lokaliteta ukupno je uzorkovano 3.836 jaja. Lokalitet Radnički put nalazi se u području grada s obiteljskim kućama. Najveći ukupni broj jaja na svim lokalitetima položen je u 41. tjednu (ukupno 3.794, tada je zabilježen najveći intenzitet i gustoća), a najmanji u 26. tjednu (37 jaja).



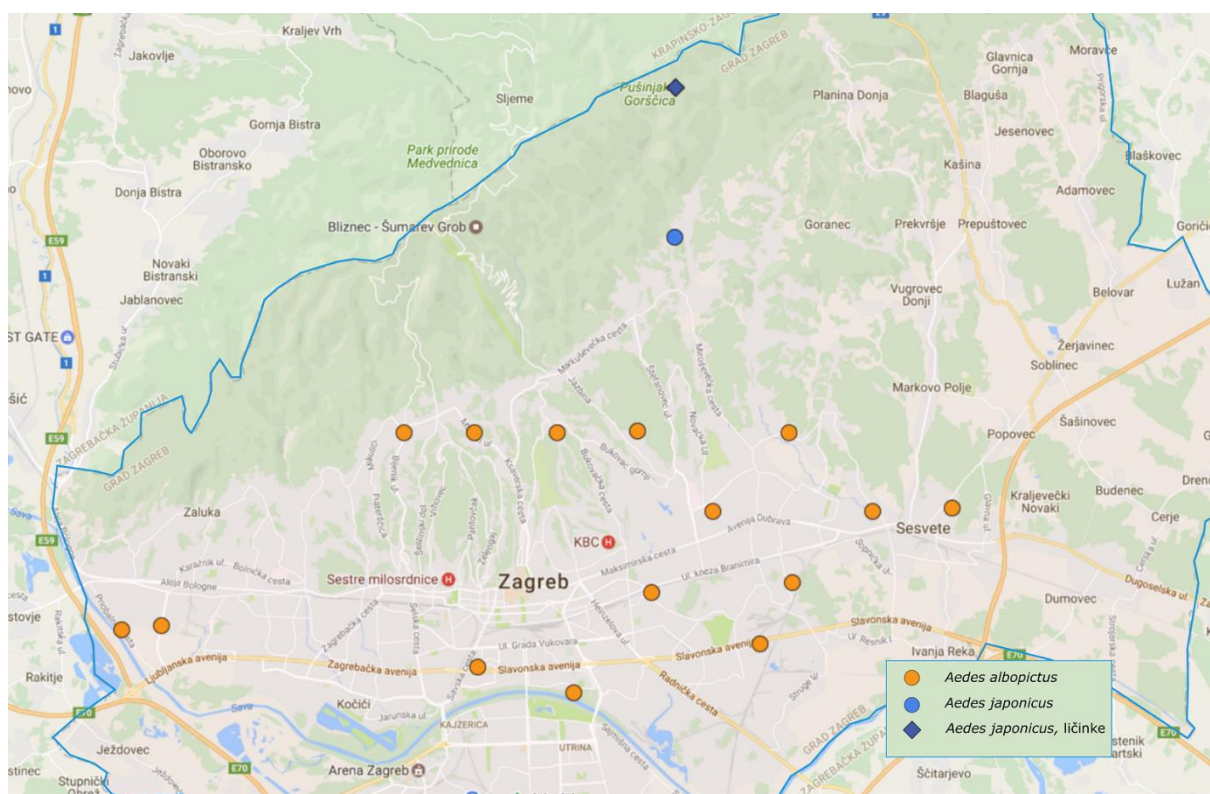
Slika 31. Lokaliteti nalaza vrste *Ae. albopictus* utvrđeni uzorkovanjem ovipozicijskim klopka u 2014. godini.



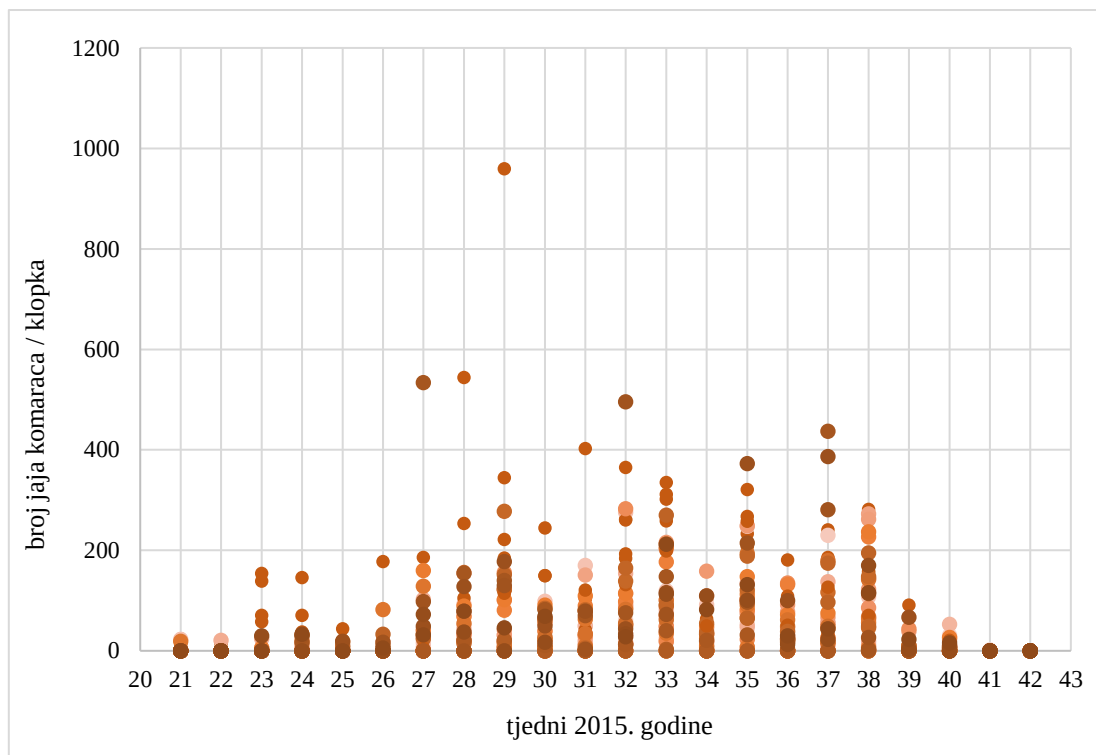
Slika 32. Broj jaja u klopka tijekom sedmodnevne izloženosti klopki na svim lokalitetima u 2014. godini.

U 2015. godini komarci su pronađeni na svih 15 lokaliteta (slika 33). Najveći broj jaja položen je u 29. tjednu na mikrolokalitetu L2.1, Priobalna cesta (dvorište tvrtke za obnavljanje guma, rubni zapadni dio grada) i iznosio je 960 jaja (slika 34). To je ujedno najveći broj jaja pronađen u klopki tijekom tri godine istraživanja. U tri klopke lokaliteta L2 tijekom sezone ukupno je uzorkovano 7.435 jaja što iznosi 19,22% jaja uzorkovanih na svih 15 lokaliteta u 2015. godini. U istoj tvrtci vrsta *Ae. albopictus* je pronađena 2005. godine. Najmanji broj jaja u sezoni uzorkovan je na lokalitetu L51 (Zelinska) i iznosi 178 (0,46% ukupnog broja jaja). U 35. tjednu uzorkovan je najveći ukupni broj jaja na svim lokalitetima (4.931) i najveća gustoća s vrijednošću 117,40.

Tijekom tri godine uzorkovanja uočeno je da je veći broj jaja uzorkovan na lokalitetima uz obiteljske kuće i uz umjetna legla komaraca u blizini.

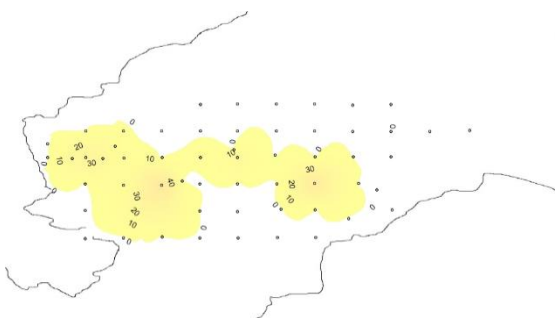


Slika 33. Lokaliteti nalaza invazivnih vrsta komaraca utvrđeni uzorkovanjem ovipozicijskim klopka te lokalitet nalaza ličinki vrste *Ae. japonicus* tijekom 2015. godine.

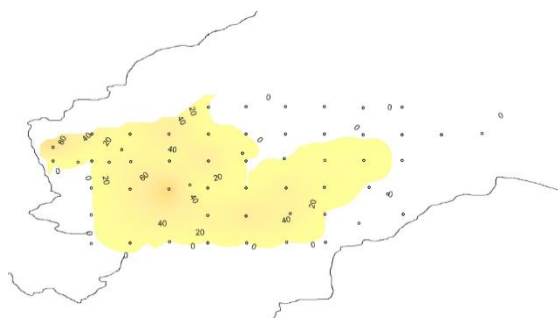


Slika 34. Broj jaja u klopka tijekom sedmodnevne izloženosti klopki na svim lokalitetima u 2015. godini.

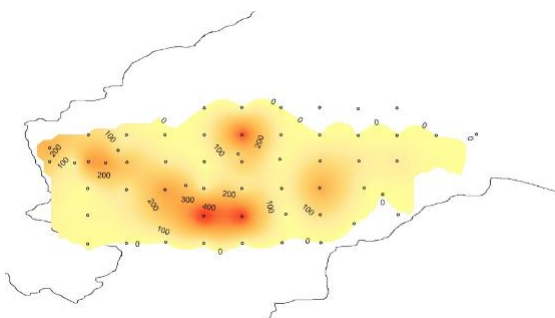
Na slikama 35, 36 i 37 prikazana je aktivnost polaganja jaja na području grada Zagreba tijekom tri godine istraživanja, dobivena korištenjem „Kriging“ metode i interpolacije vrijednosti za točke gdje vrijednosti nisu izmjerene.



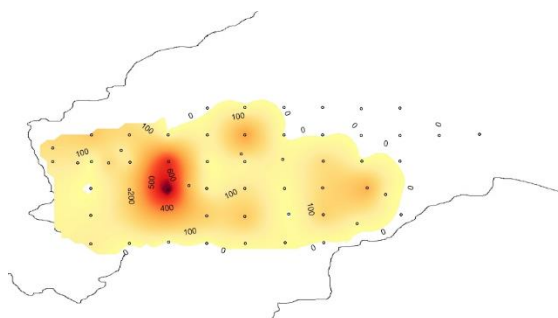
Tjedni 22. – 25.



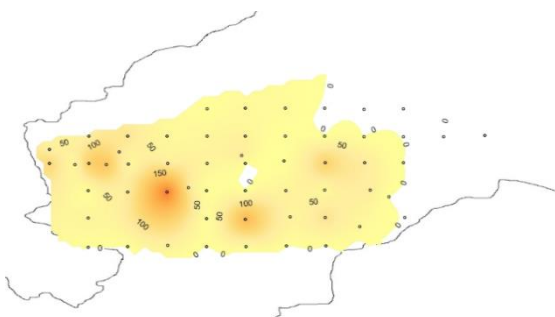
Tjedni 26. – 28.



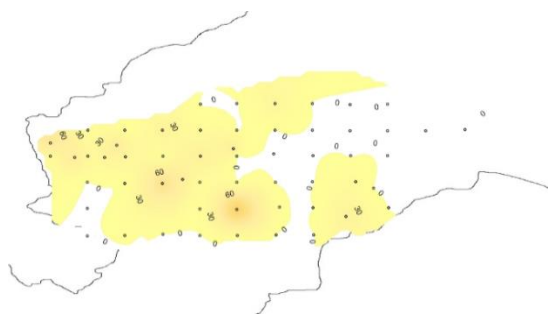
Tjedni 29. – 31.



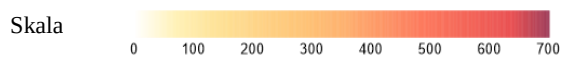
Tjedni 32. – 34.



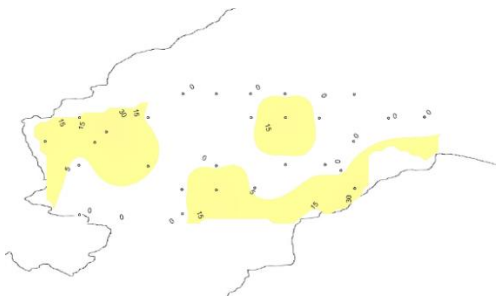
Tjedni 35. – 37.



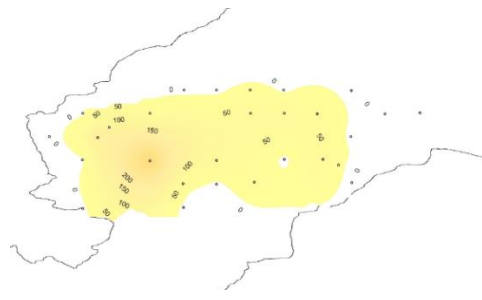
Tjedni 38. – 41.



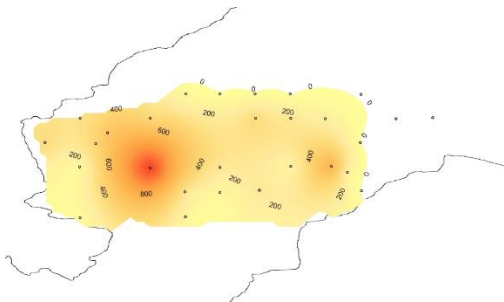
Slika 35. Kriging interpolacija broja položenih jaja vrste *Ae. albopictus* na području grada Zagreba tijekom 2013. godine.



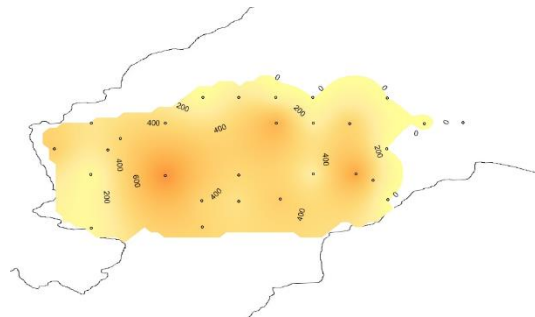
Tjedni 24. – 25.



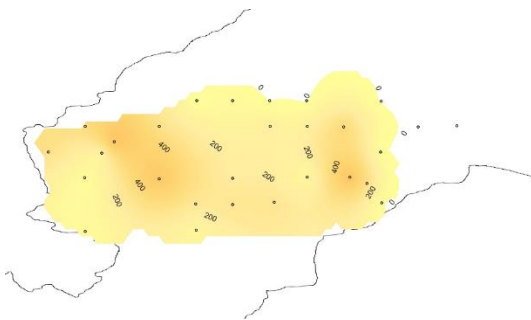
Tjedni 26. – 28.



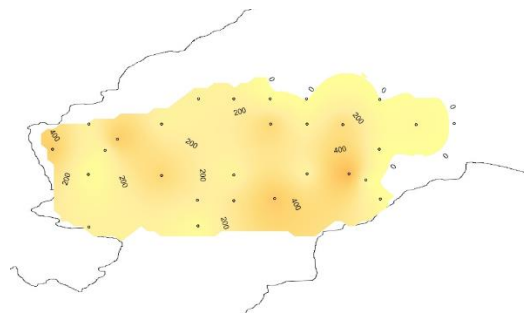
Tjedni 29. – 31.



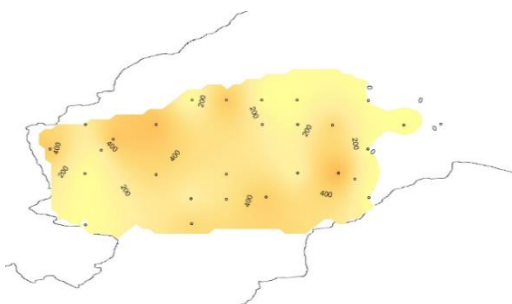
Tjedni 32. – 34.



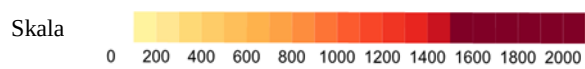
Tjedni 35. – 37.



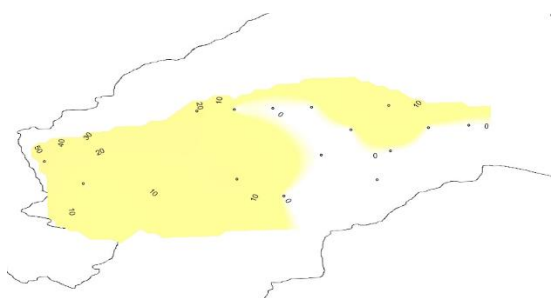
Tjedni 38. – 40.



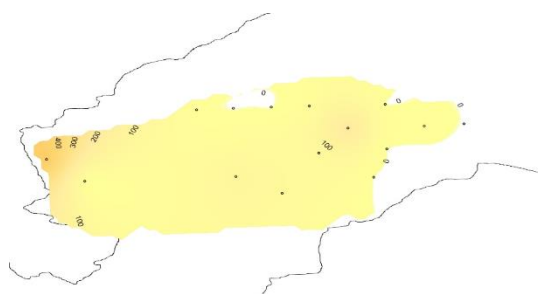
Tjedni 41. – 43.



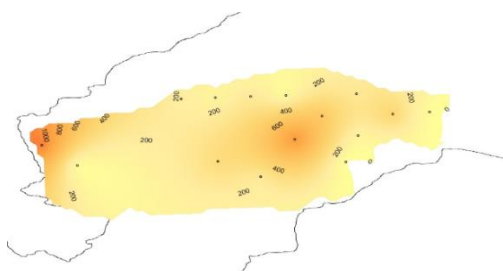
Slika 36. Kriging interpolacija broja položenih jaja vrste *Ae. albopictus* na području grada Zagreba tijekom 2014. godine.



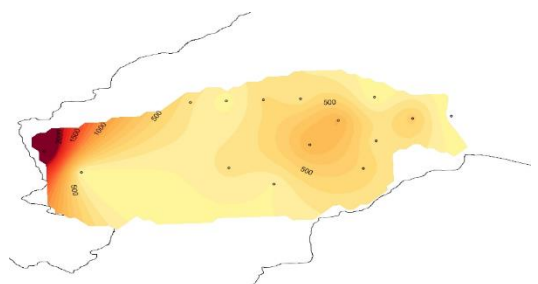
Tjedni 21. - 22.



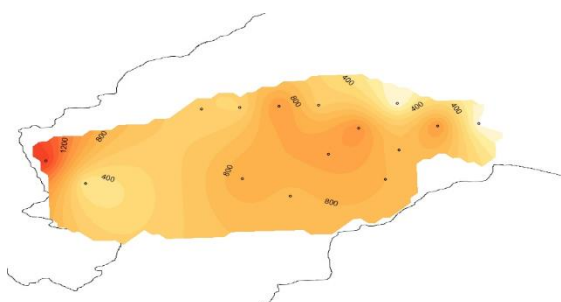
Tjedni 23. – 25.



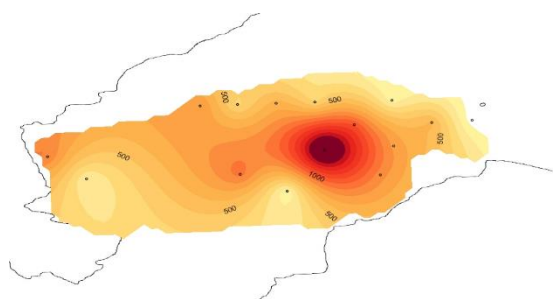
Tjedni 26. – 28.



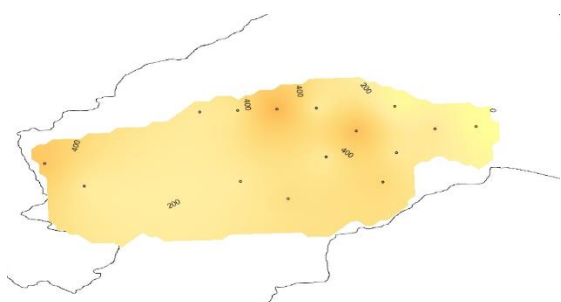
Tjedni 29. – 31.



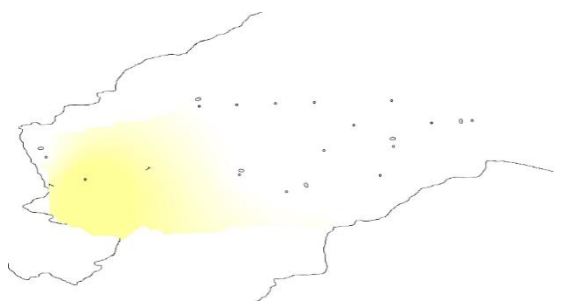
Tjedni 32. – 34.



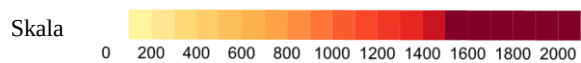
Tjedni 35. – 37.



Tjedni 38. – 40.



Tjedni 41. – 42.



Slika 37. Kriging interpolacija broja položenih jaja vrste *Ae. albopictus* na području grada Zagreba tijekom 2015. godine.

Tijekom tri godine uzorkovanja u Zagrebu na nekoliko lokaliteta na istoj ovipozicijskoj daščici pronađena su jaja dvije vrste komaraca: *Ochlerotatus geniculatus* i *Ae. albopictus*. Jaja vrste *Oc. geniculatus* morfološki se mogu razlikovati pod stereo lupom od jaja vrste *Ae. albopictus*, veća su, zaobljenija i manje sjajna (slika 38). Jaja su razvijena u ličinke i vrste su određene iz stadija ličinke.



Slika 38. Jaja vrste *Oc. geniculatus* (veća) i *Ae. albopictus* (manja) na istoj lesonitnoj daščici (foto: A . Klobučar).

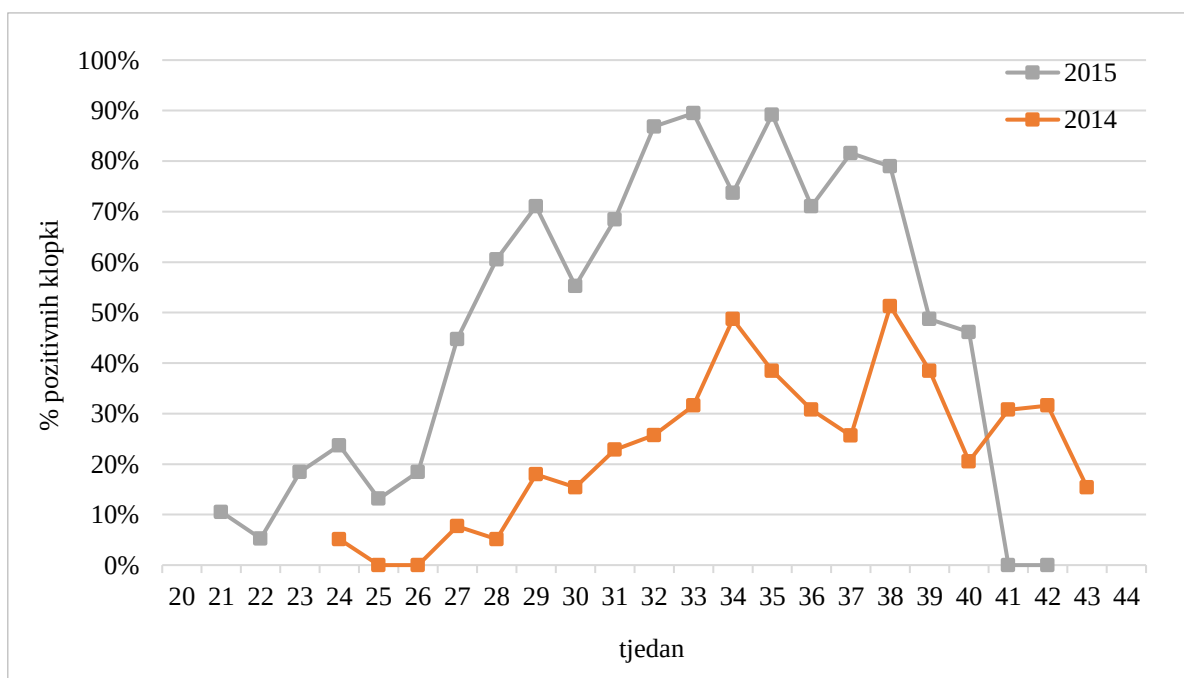
4.1.3. Ovipozicija vrste *Ae. albopictus* na istim lokalitetima tijekom 2014. i 2015. godine

4.1.3.1. Vremenska raspodjela ovipozicije

Za usporedbu i utvrđivanje razlike u ovipoziciji vrste *Ae. albopictus* tijekom 2014. i 2015. godine, u analizu su uključene vrijednosti broja položenih jaja s 13 lokaliteta zastupljenih tijekom obje godine (pri čemu je svaki lokalitet uključivao tri mikrolokaliteta). U 2014. godini prikupljeno je i pobrojano 7.821 jaje položeno u 770 klopki tijekom 20 tjedana, dok su u 2015. godini prikupljena 31.723 jaja položena u 838 klopki tijekom 22 tjedna.

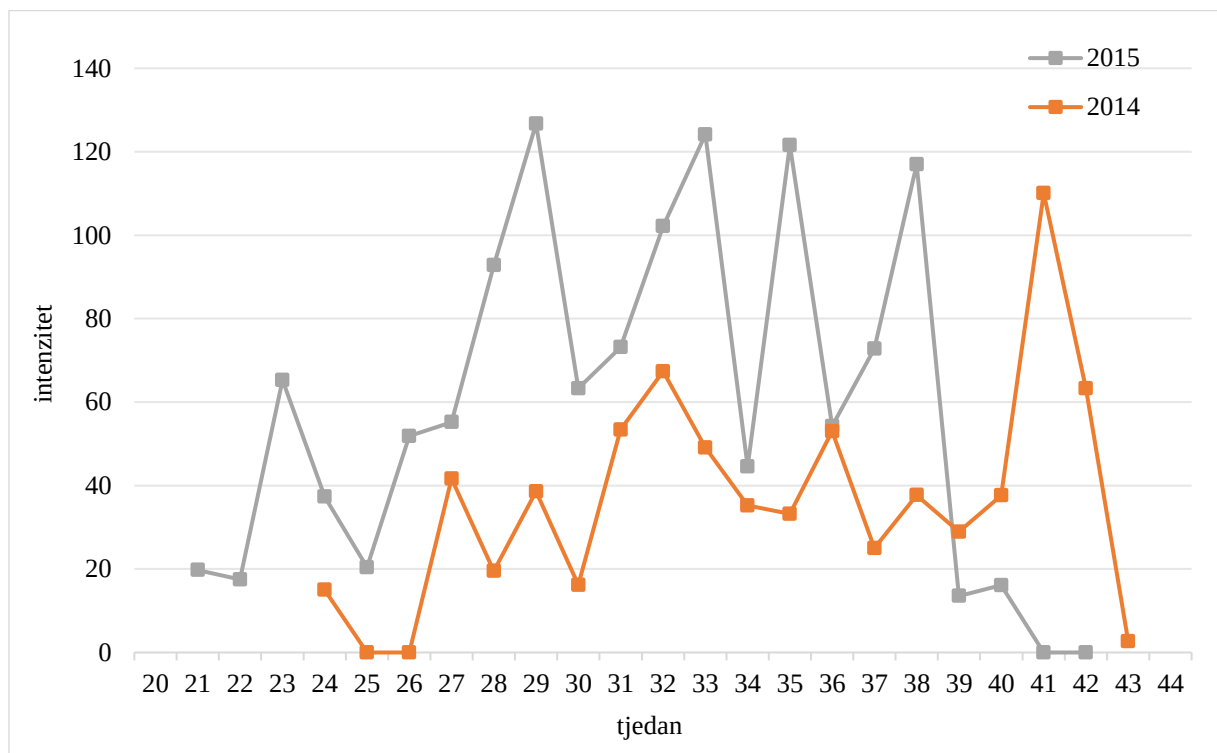
U 2014. godini sezonska aktivnost je prvi vrhunac dosegla u 34. tjednu s 48,70% (19/39) pozitivnih klopki. Nakon tog tjedna došlo je do pada aktivnosti, a ponovni porast bio je prisutan u 38. tjednu s 51,3% (20/39) pozitivnih klopki (slika 39).

U 2015. godini nakon 25. tjedna bio je prisutan kontinuiran porast aktivnosti koji je dosegao vrhunac u 28. tjednu sa 60,5% (23/38) pozitivnih klopki. Nakon manjeg pada u broju pozitivnih klopki (tjedan 30), uslijedio je vrhunac sezonske aktivnosti, koja je nakon 38. tjedna počela padati (slika 39).



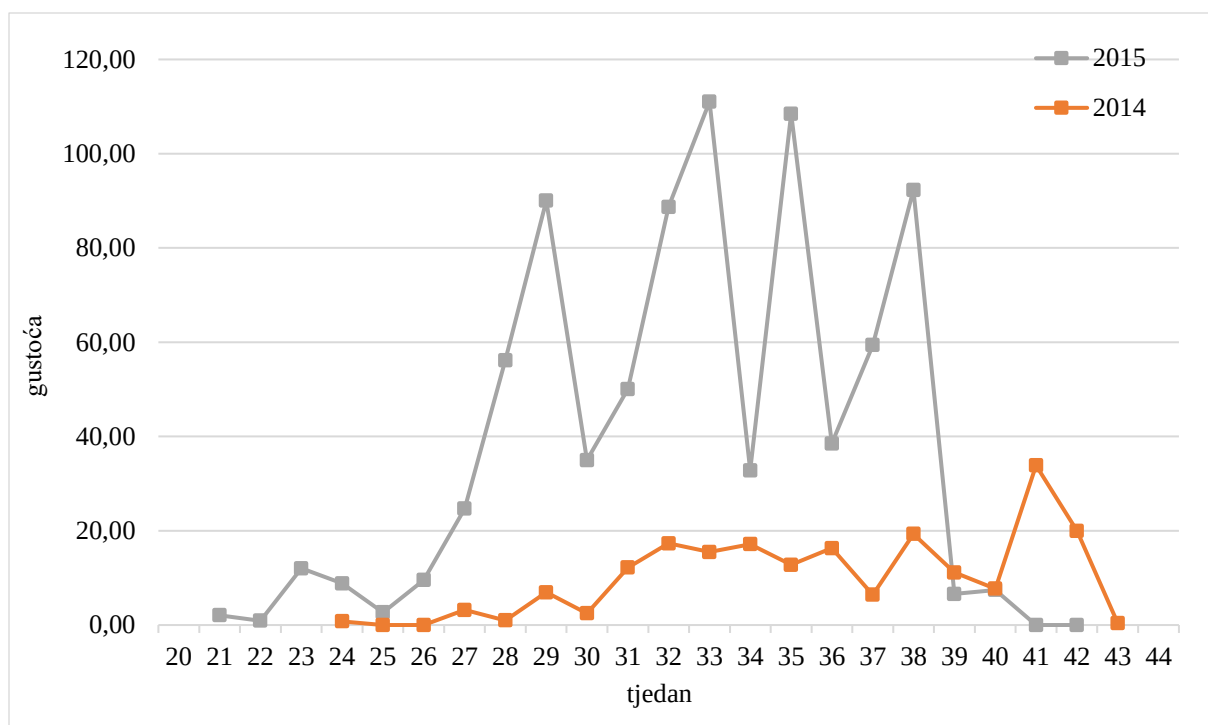
Slika 39. Prevalencija pozitivnih klopki u tjednima 2014. i 2015. godine.

U 2014. godini intenzitet je prvi vrhunac dosegao u 32. tjednu kada je iznosio 67,33. Slijedio je pad intenziteta položenih jaja, zatim porast, a najviši intenzitet utvrđen je u 41. tjednu kada je iznosio 110,08. U 2015. godini intenzitet je bio varijabilan, no u gotovo svim tjednima je bio viši nego u 2014. godini. Najviše vrijednosti dosegao je u 29., 33., 35. i 38. tjednu, a njegova najviša vrijednost utvrđena je u 29. tjednu kada je iznosio 126,70 (slika 40).



Slika 40. Intenzitet položenih jaja u pojedinom tjednu 2014. i 2015. godine.

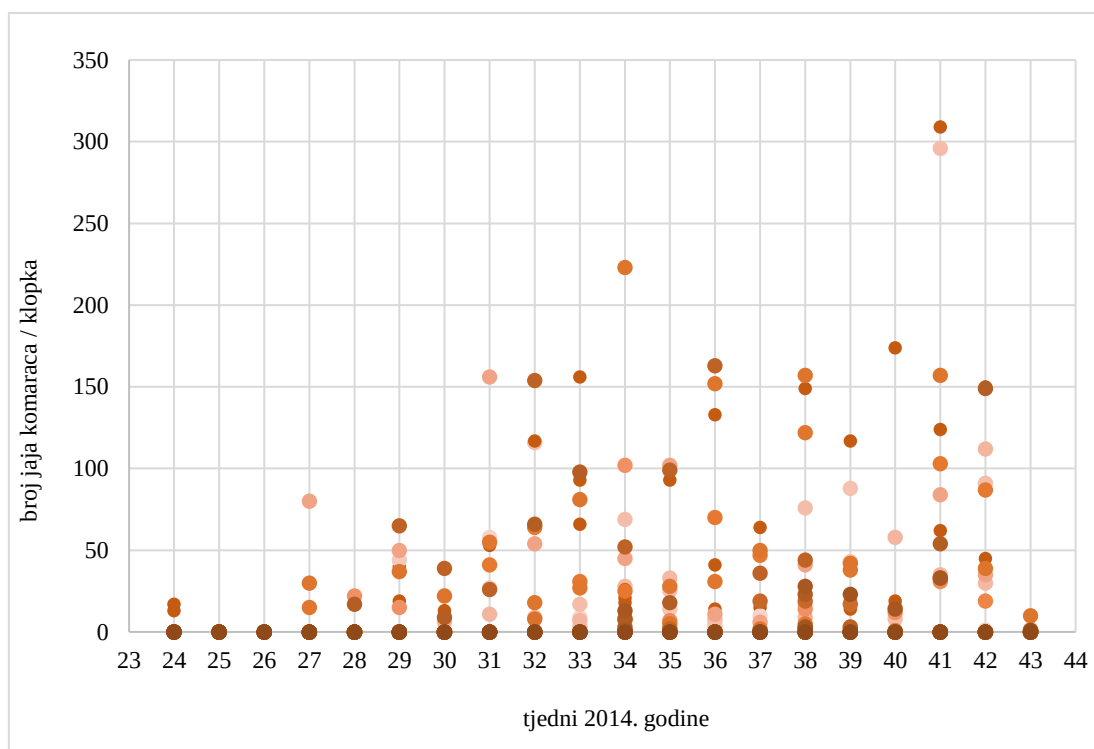
Najviša gustoća položenih jaja u 2014. godini utvrđena je u 41. tjednu kada je iznosila 33,87. U 2015. godini gustoća položenih jaja najviše vrijednosti dosegala je u 29., 33., 35. i 38. tjednu, pri čemu je najviša vrijednost utvrđena u 33. tjednu kada je iznosila 111,05 (slika 41).



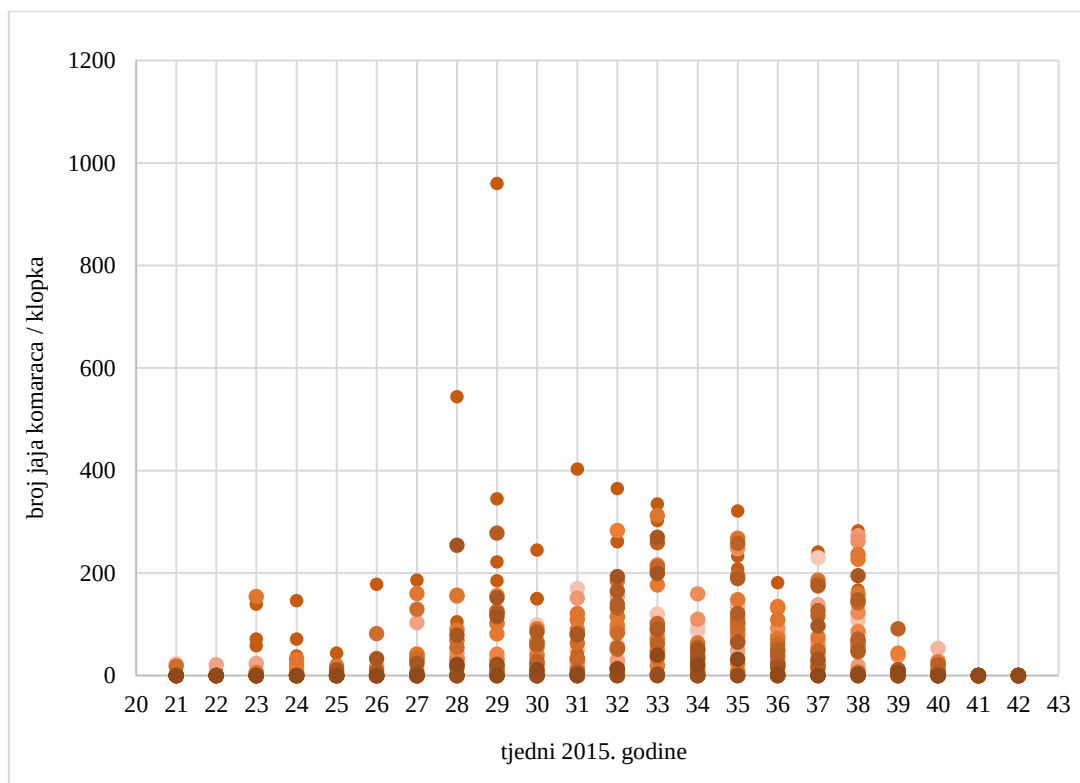
Slika 41. Gustoća položenih jaja u pojedinom tjednu 2014. i 2015. godine.

Analizirajući broj položenih jaja na pojedinom lokalitetu (uzimajući u obzir 13 lokaliteta koji se uspoređuju tijekom dvije godine), najveći broj jaja u 2014. godini položen je u 41. tjednu na mikrolokalitetu L2.1 te je iznosio 309 jaja (slika 42).

Najveći broj jaja u 2015. godini položen je u 29. tjednu na istom mikrolokalitetu L2.1 te je iznosio 960 jaja (slika 43).



Slika 42. Broj jaja u klopka tijekom sedmodnevne izloženosti na 13 lokaliteta u 2014. godini.



Slika 43. Broj jaja u klopka tijekom sedmodnevne izloženosti na 13 lokaliteta u 2015. godini.

4.1.3.2. Statistička analiza ovipozicije između ispitivanih godina

Kako bi se ispitala razlika u ovipoziciji između ispitivanih godina, promatrane godine su zbog usporedivosti usklađene s obzirom na tjedne u kojima su prikupljena položena jaja na način da je promatrano razdoblje od 24. do 42. tjedna. Shapiro-Wilk test pokazao je statistički značajno odstupanje raspodjele opaženih vrijednosti u barem jednoj od promatranih godina u slučaju ukupnog broja položenih jaja te gustoće, stoga su u slučaju tih parametara kao mjere centralne tendencije i raspršenja korišteni medijan i interkvartilni raspon.

Provedenom analizom utvrđeno je da je ukupan broj položenih jaja bio statistički značajno veći u 2015. u odnosu na 2014. godinu (Mann-Whitney $U=95,0$; $p=0,013$). U 2015. godini također je utvrđena statistički značajno viša prevalencija pozitivnih klopki ($t=-3,92$; korigirani $df=26,89$ $p=0,001$), veći intenzitet ($t=-2,14$; korigirani $df=29,58$; $p=0,041$) te veća gustoća položenih jaja (Mann-Whitney $U=95,0$; $p=0,013$) (tablica 13).

Tablica 13. Vrijednosti iz uzoraka položenih jaja i klimatski parametri u promatranim godinama.

	2014. godina <i>M (SD)</i>	2015. godina <i>M (SD)</i>	<i>p</i>
Vrijednosti iz uzoraka položenih jaja			
Ukupan broj položenih jaja*	427,0 (97,0-636,0)	1329,0 (290,0-3371,0)	0,013
Prevalencija (%)	23,6 (15,34)	53,7 (29,85)	0,001**
Intenzitet	38,1 (25,61)	62,5 (42,43)	0,041**
Gustoća*	11,1 (2,5-17,2)	35,0 (7,4-88,7)	0,013
Klimatski parametri			
Temperatura	19,2 (2,84)	19,9 (4,82)	0,617**
Vlaga	75,5 (7,41)	69,0 (9,35)	0,024
Oborine*	5,26 (0,81-7,59)	2,84 (0,10-7,50)	0,530

Kratice: *M* = aritmetička sredina; *SD* = standardna devijacija; *p* = razina statističke značajnosti, rezultat t-testa u slučaju normalno raspodijeljenih varijabli, odnosno Mann-Whitneyevog U testa u slučaju odstupanja raspodjela od normalne

*Medijan (interkvartilni raspon)

**t-test s korigiranim stupnjevima slobode zbog heterogenih varijanci skupina

U slučaju klimatskih parametara Shapiro-Wilk test pokazao je statistički značajno odstupanje raspodjele oborina u 2015. godini od normalne raspodjele, stoga su u slučaju ovog parametra za obje godine kao mjere centralne tendencije i raspršenja korišteni medijan i interkvartilni raspon, a za usporedbu godina korišten je Mann-Whitney U test. U slučaju ostalih klimatskih parametara kao mjere centralne tendencije i raspršenja korištene su aritmetička

sredina i standardna devijacija, a promatrane godine međusobno su uspoređene putem t-testa. Provedenim testiranjima utvrđeno je da je vlaga u promatranom razdoblju bila statistički značajno viša u 2014. u odnosu na 2015. godinu ($t=2,37$; $df=36$; $p=0,024$).

4.1.3.3. Statistička analiza ovipozicije na uspoređivanim lokalitetima

U analizu razlika između lokaliteta tijekom iste godine i tijekom različitih godina uključeno je 13 lokaliteta na kojima su prikupljana jaja tijekom 2014. i 2015. godine. Lokaliteti su u pojedinoj godini uspoređeni s obzirom na ukupan broj položenih jaja u tjednima. Pri tome je u 2014. godini promatrano razdoblje od 24. do 43., dok je u 2015. godini promatrano razdoblje od 21. do 42. tjedna. Budući da su na svakom lokalitetu promatrana 3 mikrolokaliteta, vrijednost jaja na pojedinom lokalitetu u pojedinom tjednu određena je kao ukupan broj jaja (na svim mikrolokalitetima) podijeljen s brojem klopki (mikrolokaliteta).

Kruskal-Wallis testom utvrđeno je da se lokaliteti međusobno statistički značajno razlikuju s obzirom na broj položenih jaja tijekom obje godine: u 2014. godini ($\chi^2=89,73$; $df=12$; $p<0,001$) (tablica 14), u 2015. godini ($\chi^2=42,19$; $df=12$; $p<0,001$) (tablica 15).

Tablica 14. Vrijednosti prosjeka položenih jaja na pojedinom lokalitetu u 2014. godini.

Lokalitet	Medijan	(IQR)	Maksimum
L2	18,3	(0,3-57,7)	309
L5	0,0	(0,0-2,2)	58
L16	0,2	(0,0-3,5)	88
L22	2,3	(0,0-27,7)	296
L25	17,8	(0,0-33,3)	156
L28	0,0	(0,0-4,3)	102
L34	0,0	(0,0-0,0)	19
L41	21,0	(1,7-47,2)	223
L45	0,0	(0,0-0,0)	8
L47	0,0	(0,0-0,2)	19
L48	13, 7	(0,3-30,8)	163
L50	0,0	(0,0-2,3)	33
L51	0,0	(0,0-0,0)	1

Kratice: IQR = interkvartilni raspon

Tablica 15. Vrijednosti položenih jaja na pojedinom lokalitetu u 2015. godini.

Lokalitet	Medijan	(IQR)	Maksimum
L2	76,8	(15,7-181,7)	960
L5	0,3	(0,0-28,0)	146
L16	10,7	(0,0-66,0)	248
L22	13,3	(0,0-35,0)	144
L25	22,3	(4,3-77,3)	321
L28	19,0	(0,0-70,0)	273
L34	6,5	(0,0-39,3)	283
L41	59,3	(1,7-104,7)	312
L45	0,2	(0,0-11,7)	129
L47	8,5	(0,0-49,3)	213
L48	14,8	(0,0-87,0)	278
L50	16,7	(0,0-101,3)	270
L51	0,3	(0,0-4,3)	40

Kratice: IQR = interkvartilni raspon

4.1.3.4. Statistička analiza ovipozicije na mikrolokalitetima istog lokaliteta

Tijekom 2014. i 2015. godine unutar svakog od ispitivanih lokaliteta postavljene su dvije ili tri klopke, stoga je analizirana razlika u broju položenih jaja između mikrolokaliteta istog lokaliteta u pojedinoj godini. Pri tome su, zbog usporedivosti rezultata između dviju godina, u obje godine promatrani tjedni od 24. do 40. Budući da su gotovo sve raspodjele prikupljenih jaja statistički značajno odstupale od normalnih, kao mjere centralne tendencije i varijabiliteta korišteni su medijan i interkvartilni raspon za sve mikrolokalitete (tablica 16). Budući da su uspoređivani mikrolokaliteti unutar istog lokaliteta, koji međusobno dijele vanjske faktore, odnosno karakteristike lokaliteta unutar kojeg se nalaze, tretirani su kao međusobno zavisni te uspoređeni putem testa za zavisne uzorke.

Provedenim analizama utvrđena je statistički značajna razlika između broja položenih jaja na mikrolokalitetima unutar sedam od trinaest lokaliteta u 2014. godini. Razlike nisu utvrđene na lokalitetima L22, L34, L45, L47 i L50. Na lokalitetu L51 nije položeno ni jedno jaje u promatranom periodu, stoga mikrolokaliteti tog lokaliteta nisu međusobno uspoređeni. Kad je riječ o 2015. godini, na devet od 13 lokaliteta utvrđena je statistički značajna razlika između mikrolokaliteta s obzirom na broj položenih jaja. Razlike nisu utvrđene na lokalitetima L28, L45, L47 i L50.

Tablica 16. Usporedba broja jaja na pojedinim mikrolokalitetima istog lokaliteta.

Lokalitet	Mikrolokalitet 1 Medijan (<i>IQR</i>)	Mikrolokalitet 2 Medijan (<i>IQR</i>)	Mikrolokalitet 3 Medijan (<i>IQR</i>)	<i>p</i>
2014. godina				
L2	<u>15,0 (0,0-117,0)</u>	<u>3,5 (0,0-18,3)</u>	<u>8,0 (0,0-19,0)</u>	0,058
L5	<u>0,0 (0,0-8,0)</u>	<u>0,0 (0,0-0,0)</u>	<u>0,0 (0,0-0,0)</u>	0,030
L16	<u>0,0 (0,0-0,0)</u>	<u>0,0 (0,0-12,3)</u>	<u>0,0 (0,0-0,0)</u>	0,030
L22	0,0 (0,0-21,5)	- -	0,0 (0,0-6,5)	0,173
L25	<u>14,0 (0,0-39,5)</u>	<u>6,0 (0,0-52,0)</u>	<u>0,0 (0,0-0,0)</u>	0,002
L28	<u>0,0 (0,0-0,0)</u>	<u>0,0 (0,0-13,0)</u>	<u>0,0 (0,0-0,0)</u>	0,012
L34	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	0,368
L41	<u>1,0 (0,0-36,0)</u>	<u>2,0 (0,0-29,5)</u>	<u>26,0 (0,0-73,3)</u>	0,003
L45	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	0,867
L47	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	0,449
L48	<u>26,0 (0,0-58,5)</u>	<u>0,0 (0,0-0,0)</u>	<u>0,0 (0,0-13,0)</u>	0,004
L50	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	0,257
L51	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	*
2015. godina				
L2	<u>208,0 (83,0-308,5)</u>	<u>85,0 (0,0-158,5)</u>	<u>37,0 (21,5-128,0)</u>	0,002
L5	<u>0,0 (0,0-23,5)</u>	<u>7,0 (0,0-55,5)</u>	<u>0,0 (0,0-0,50)</u>	0,021
L16	<u>25,0 (0,0-85,0)</u>	<u>0,0 (0,0-0,0)</u>	<u>31,0 (1,5-103,5)</u>	<0,001
L22	<u>0,0 (0,0-34,5)</u>	- -	<u>34,0 (4,0-60,0)</u>	0,004
L25	<u>71,0 (6,0-183,0)</u>	<u>22,0 (0,0-77,0)</u>	<u>18,0 (0,0-29,5)</u>	0,007
L28	20,0 (0,0-91,0)	39,0 (0,0-105,5)	32,0 (0,0-107,5)	0,801
L34	<u>14,0 (0,0-51,5)</u>	<u>18,0 (0,0-83,5)</u>	<u>0,0 (0,0-11,5)</u>	0,012
L41	<u>50,0 (10,5-94,0)</u>	<u>75,0 (26,0-112,5)</u>	<u>109,0 (6,0-171,5)</u>	0,011
L45	0,0 (0,0-20,0)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-34,0)	0,107
L47	32,0 (0,5-75,0)	13,0 (2,5-67,5)	8,0 (0,0-50,5)	0,945
L48	<u>2,0 (0,0-52,0)</u>	<u>5,0 (0,0-109,0)</u>	<u>39,0 (0,0-106,5)</u>	0,027
L50	23,0 (3,0-106,0)	33,0 (11,0-88,0)	8,5 (0,0-98,75)	0,282
L51	<u>0,0 (0,0-0,0)</u>	<u>0,0 (0,0-0,0)</u>	<u>3,0 (0,0-17,0)</u>	<0,001

Kratice: *IQR* = interkvartilni raspon; *p* = razina statističke značajnosti, rezultat Friedmanovog testa u slučaju usporedbe tri mikrolokaliteta, odnosno Wilcoxonovog testa ekvivalentnih parova u slučaju usporedbe dva mikrolokaliteta (lokalitet 22).

*Razlika nije testirana jer nije položeno niti jedno jaje na niti jednom mikrolokalitetu

4.1.3.5. Odnos ovipozicije i klimatskih parametara

Budući da su raspodjele nekih vrijednosti iz uzoraka položenih jaja većinom odstupale od normalne raspodjele, za analizu povezanosti svih vrijednosti iz uzoraka položenih jaja i klimatskih parametara radi usporedivosti korišten je Spearmanov koeficijent rank-korelacije. Godine su također usklađene s obzirom na tjedne u kojima su prikupljena položena jaja.

U 2014. godini veći ukupan broj položenih jaja bio je statistički značajno povezan s višom vlagom i kraćim trajanjem dana. S druge strane, viša temperatura bila je statistički značajno povezana s većim ukupnim brojem položenih jaja u 2015. godini, dok je povezanost u 2014. godini bila negativna te nije dosegla statističku značajnost. U 2015. godini također je utvrđena statistički značajna negativna povezanost između količine oborina i ukupnog broja položenih jaja (tablica 17).

Tablica 17. Povezanost klimatskih parametara s ukupnim brojem položenih jaja u pojedinoj godini.

Godina	2014.		2015.	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
Temperatura	-0,41	0,081	<u>0,68</u>	<u>0,001</u>
Vlaga	<u>0,49</u>	<u>0,034</u>	-0,45	0,053
Oborine	-0,26	0,290	<u>-0,63</u>	<u>0,004</u>
Trajanje dana (min)	<u>-0,80</u>	<u>≤0,001</u>	0,12	0,629

Kratice: *r* = Spearmanov koeficijent korelacije; *p* = razina statističke značajnosti

Viša prevalencija pozitivnih klopki bila je statistički značajno povezana s nižom temperaturom u 2014. godini, dok je u 2015. godini viša prevalencija pozitivnih klopki bila statistički značajno povezana s višom temperaturom. Također, u 2014. godini viša prevalencija je bila statistički značajno povezana s većom vlagom i kraćim trajanjem dana (tablica 18).

Tablica 18. Povezanost klimatskih parametara s prevalencijom pozitivnih klopki u pojedinoj godini.

Godina	2014.		2015.	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
Temperatura	<u>-0,49</u>	<u>0,034</u>	<u>0,51</u>	<u>0,024</u>
Vlaga	<u>0,61</u>	<u>0,006</u>	-0,27	0,261
Oborine	-0,02	0,926	<u>-0,49</u>	<u>0,035</u>
Trajanje dana (min)	<u>-0,77</u>	<u><0,001</u>	-0,09	0,705

Kratice: *r* = Pearsonov, odnosno Spearmanov koeficijent korelacije;
p = razina statističke značajnosti

U 2015. godini utvrđena je statistički značajna povezanost između većeg intenziteta položenih jaja te više temperature i niže vlage, dok ta povezanost nije bila prisutna u 2014. godini. U 2015. godini također je utvrđena statistički značajna povezanost između niže razine oborina i većeg intenziteta položenih jaja. Ita povezanost je utvrđena i u 2014. godini, no nije dosegla statističku značajnost. S druge strane, u 2014. godini utvrđena je statistički značajna povezanost između većeg intenziteta i kraćeg trajanja dana (tablica19).

Tablica 19. Povezanost klimatskih parametara s intenzitetom položenih jaja u pojedinoj godini.

Godina	2014.		2015.	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
Temperatura	-0,09	0,729	<u>0,78</u>	<u><0,001</u>
Vlaga	0,24	0,332	<u>-0,57</u>	<u>0,011</u>
Oborine	-0,41	0,081	<u>-0,68</u>	<u>0,001</u>
Trajanje dana (min)	<u>-0,54</u>	<u>0,018</u>	0,29	0,234

Kratice: *r* = Spearmanov koeficijent korelacije; *p* = razina statističke značajnosti

U 2014. godini utvrđena je statistički značajna povezanost između veće gustoće položenih jaja i kraćeg trajanja dana. S druge strane, u 2015. godini je utvrđena statistički značajna povezanost između veće gustoće i više temperature. U istoj godini također je utvrđena statistički značajna povezanost između veće gustoće i manje količine oborina (tablicaTablica 20).

Tablica 20. Povezanost klimatskih parametara s gustoćom položenih jaja u pojedinoj godini.

Godina	2014.		2015.	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
Temperatura	-0,36	0,135	<u>0,68</u>	<u>0,001</u>
Vlaga	0,45	0,051	-0,45	0,053
Oborine	-0,27	0,266	<u>-0,63</u>	<u>0,004</u>
Trajanje dana (min)	<u>-0,78</u>	<u><0,001</u>	0,12	0,629

Kratice: *r* = Pearsonov, odnosno Spearmanov koeficijent korelacije;
p = razina statističke značajnosti

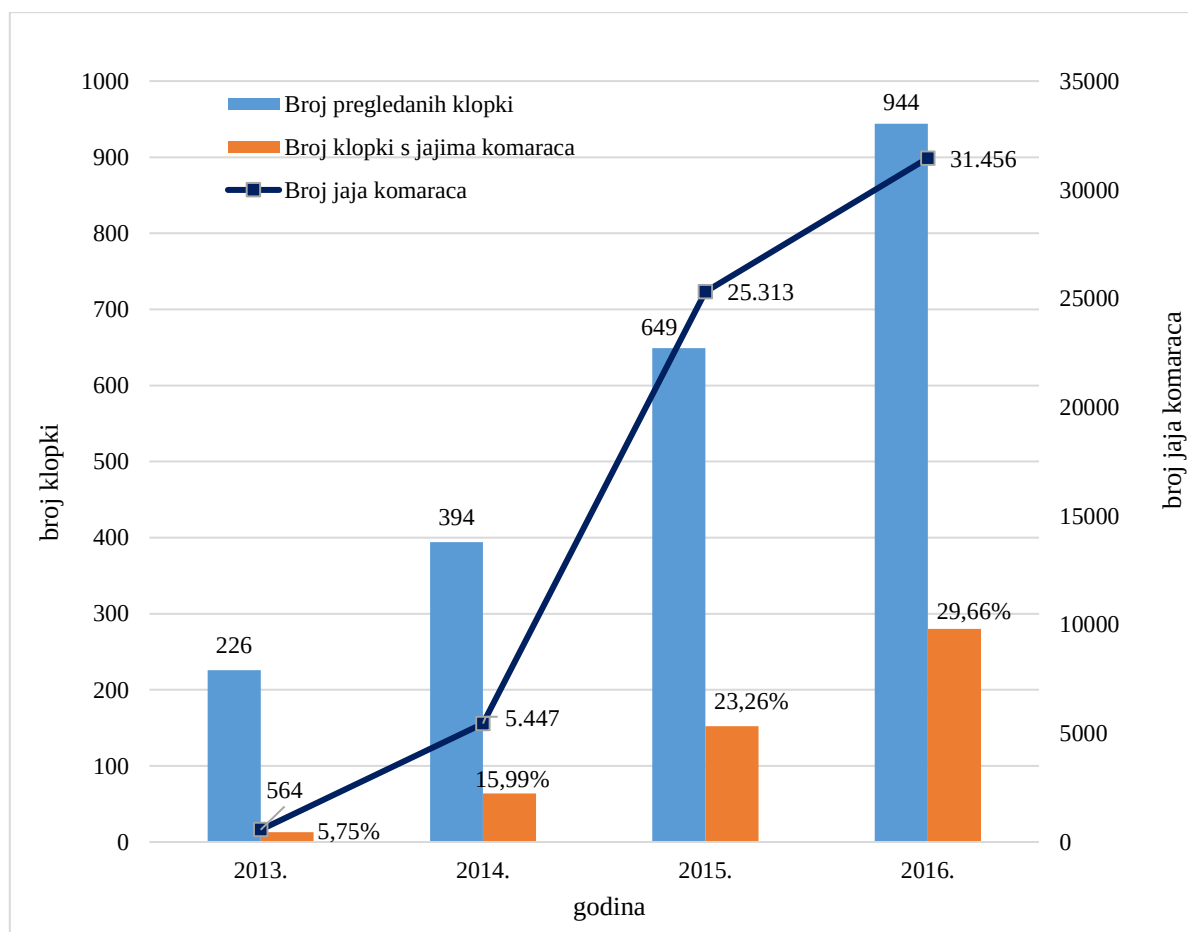
4.1.4. Prvi nalaz vrste *Ae. japonicus* na području grada Zagreba

Dana 5. kolovoza 2015. godine uzorkovane su ličinke invazivne vrste *Ae. japonicus*. Ličinke su pronađene u drvenoj posudi kod planinarskog doma Gorščica na Medvednici (740 mnv) (slika 33). Nakon determinacije vrste postavljene su ovipozicijske klopke na tri lokaliteta u naselju Bidrovec (Markuševac) u području koje je u blizini šume i smješteno južno od planinarskog doma (286 mnv). Na najsjevernijem lokalitetu (ulica Punjeki) (slika 33) pronađena su jaja vrste *Ae. japonicus*. Opisani nalazi prvi su nalazi vrste *Ae. japonicus* na području grada Zagreba.

4.2. Invazivne vrste komaraca na području Krapinsko-zagorske županije

Tijekom četiri godine istraživanja (2013.-2016.) na području Krapinsko-zagorske županije na lokalitetima kontinuiranog praćenja tijekom ukupno 80 tjedana uzorkovanja postavljeno je 2.250 klopki, a pregledano 2.213 (37 klopki nije pronađeno). Jaja komaraca su pronađena u 507 (22,9%) klopki, a u njima je prebrojeno 62.780 jaja (slika 45).

Pronađene su dvije invazivne vrste komaraca, *Ae. japonicus* i *Ae. albopictus*. Vrsta komaraca određena je u 48,32% (245 klopki). Pri tome je vrsta *Ae. japonicus* određena u 47,14% (239) klopki, vrsta *Ae. albopictus* u 1,18% (6) klopki, a vrste komaraca iz 51,87% (263) klopki nije određena.



Slika 45. Broj pregledanih i pozitivnih klopki te broj jaja komaraca u razdoblju od 2013. do 2016. godine na području Krapinsko-zagorske županije.

Prikaz broja izloženih i pozitivnih klopki te pronađenih vrsta komaraca na svakom lokalitetu i mikrolokalitetu u razdoblju od 2013. do 2016. godine nalazi se u tablicama 21 i 22.

Tablica 21. Broj pregledanih i pozitivnih klopki te prosječan broj jaja na svakom mikrolokalitetu u 2013. i 2014. godini.

Lokalitet		Broj klopki	Broj pozitivnih klopki (%)	Prosječan broj jaja / klopka	Broj klopki	Broj pozitivnih klopki (%)	Prosječan broj jaja / klopka
		2013			2014		
Hum na Sutli	1-1	12	1 (8.3)**	22	17	1 (5.9)*	6
	1-2	12	1 (8.3)**	228	17	1 (5.9)*	6
	1-3	12	1 (8.3)***	2	17	3 (17.6)*	83.7
Macelj	2-1	12	0 (0)	0	17	2 (11.8)*	43.5
	2-2	12	2 (16.7)*	16.5	17	4 (23.5)*	26.5
	2-3	12	1 (8.3)***	23	17	6 (35.3)*	103.3
Macelj	3-1	12	2 (16.7)***	32.5	17	7 (41.2)*; 1 (5.9)**	56.6
	3-2	12	2 (16.7)***	52.5	17	15 (88.2)*; 1 (5.9)**	158.3
	3-3	12	1 (8.3)*	17	17	13 (76.5)*	65.6
Đurmanec	4-1	12	0 (0)	0	17	2 (11.8)*	95
	4-2	12	0 (0)	0	17	1 (5.9)*	196
	4-3	12	2 (16.7)*	34.5	17	1 (5.9)*	47
Sv. Križ Začretje	5-1	11	0 (0)	0	15	1 (6.7)***	11
	5-2	11	0 (0)	0	17	0	0
	5-3	11	0 (0)	0	17	0	0
Zlatar Bistrica	6-1	7	0 (0)	0			
	6-2	8	0 (0)	0			
	6-3	10	0 (0)	0			
Hum na Sutli	7-1	8	0 (0)	0	17	1 (5.9)*	14
	7-2	8	0 (0)	0	17	0	0
	7-3	8	0 (0)	0	17	1 (5.9)*	43
Veliko Trgovišće	8-1				15	1 (6.7)*	67
	8-2				13	0	0
	8-3				12	0	0
Krapina	9-1				17	0	0
	9-2				17	2 (11.8)*	39.5
	9-3				16	1 (6.3)***	100
		226	13 (5.8)		394	63 (16.0)	

* dokazana je vrsta *Ae. japonicus*

**dokazana je vrsta *Ae. albopictus*

*** nije dokazana vrsta komarca

Tablica 22. Broj pregledanih i pozitivnih klopki te prosječan broj jaja na svakom mikrolokalitetu u 2015. i 2016. godini.

Lokalitet		Broj klopki	Broj pozitivnih klopki (%) 2015	Prosječan broj jaja / klopka	Broj klopki	Broj pozitivnih klopki (%) 2016	Prosječan broj jaja / klopka
Hum na Sutli	L1.1	22	11 (50.0)*	78.1			
	L1.2	22	4 (18.2)*	75.3			
	1-3	22	8 (36.4)*	99.3			
Macelj	2-1	21	10 (47.6)*	206.3	29	8 (27,6)*	112,6
	2-2	22	14 (63.6)*	348.9	29	8 (27,6)*	137,4
	2-3	22	17 (77.3)*	266.1	27	14 (51,9)*	220,4
Macelj	3-1	22	12 (54.5)*	215.6	29	10 (34,5)*	61,4
	3-2	22	18 (81.8)*	205.2	29	21 (72,4)*	318,0
	3-3	22	15 (68.2)*	72.1	29	10 (34,5)*	63,6
Đurmanec	4-1	22	6 (27.3)*	106.8	29	16 (55,2)*	110,1
	4-2	21	7 (33.3)*	194	28	5 (17,9)*	87,0
	4-3	22	1 (4.5)*	44	29	2 (6,9)*	253,5
Sv. Križ Začretje	5-1	22	0	0	28	6 (21,4)*	44,8
	5-2	21	1 (4.8)**	25	28	2 (7,1)*	18,5
	5-3	22	0	0	29	3 (10,3)*	59,0
Hum na Sutli	7-1	22	1 (4.5)*	24	28	7 (25,0)*	63,0
	7-2	22	0	0	29	18 (62,1)*	178,9
	7-3	21	1 (4.8)*	131	28	1 (3,6)*	121,0
Krapina	9-1	22	1 (4.5)***	18	28	1 (3,6)*	119,0
	9-2	20	3 (15.0)*	42.7	29	17 (58,6)*	61,1
	9-3	21	0	0	28	4 (14,3)*	81,3
Pregrada	10-1	22	2 (9.1)*	115	29	10 (34,5)*	90,6
	10-2	21	4 (19.0)*	84	29	13 (44,8)*	71,6
	10-3	22	12 (54.5)*	116.9	29	1 (3,4)**	78,3
Krapina	11-1	21	0	0	29	5 (17,2)*	58,4
	11-2	20	0	0	29	5 (17,2)*	47,2
	11-3	22	0	0	29	3 (10,3)*	16,3
Zlatar	12-1	22	2 (9.1)*	27	29	7 (24,1)*	59,1
	12-2	22	1 (4.5)*	121	29	13 (44,8)*	40,8
	12-3	22	1 (4.5)*	14	29	2 (6,9)*	58,0
Jezerčica	13-1				27	18 (66,7)*	139,2
	13-2				29	3 (10,3)*	87,7
	13-3				29	16 (55,2)*	124,6
Zabok	14-1				28	5 (17,9)*	74,6
	14-2				29	2 (6,9)*	20,5
	14-3				28	8 (28,6)*	40,5
		649	151 (23.3)		944	276 (29,2)	

* dokazana je vrsta *Ae. japonicus*

**dokazana je vrsta *Ae. albopictus*

*** nije dokazana vrsta komarca

4.2.1. Prvi nalaz vrste *Ae. japonicus* u Krapinsko-zagorskoj županiji i u Hrvatskoj

Tijekom 2013. godine u Krapinsko-zagorskoj županiji na 7 lokaliteta (21 mikrolokalitet) tijekom 12 tjedana uzorkovanja postavljeno je 250, a pronađeno 226 ovipozicijskih klopki. Jaja komaraca pronađena su u 13 (5,75% klopki). Ukupno su prebrojena 564 jaja komaraca.

Na prisustvo jaja vrste *Ae. japonicus* u ovipozicijskim klopkama prvi se put posumnjalo pri pregledavanju daščice s jajima koja je uzeta iz ovipozicijske klopke 30. kolovoza 2013. godine na lokalitetu groblje u Đurmancu (L4.3). Jaja su bila položena pravilno i samo u udubine daščice (slika 46), što do tada nije uočeno ni na jednoj daščici. Daščica sa 65 jaja komaraca potopljena je 3. rujna u crnu vazu s vodom pri sobnim uvjetima. Prvi stadij ličinki razvio se 12. rujna, a nekoliko dana kasnije ličinke su se presvukle u drugi stadij. Ličinke su determinirane kao vrsta *Ae. japonicus* (slika 48). Sijedio je terenski izvid i uzorkovanje ličinki komaraca na groblju u Đurmancu 24. rujna pri čemu su ličinke *Ae. japonicus* pronađene u vazama i u betonskoj česmi na groblju. Od ukupno pet vaza s ličinkama i kukuljicama komaraca, jedinke vrste *Ae. japonicus* pronađene su u tri vaze, a u dvije vaze pronađene su ličinke vrste *Culex pipiens*. Ličinke vrste *Culex hortensis* uzorkovane su u plastičnoj posudi na groblju.

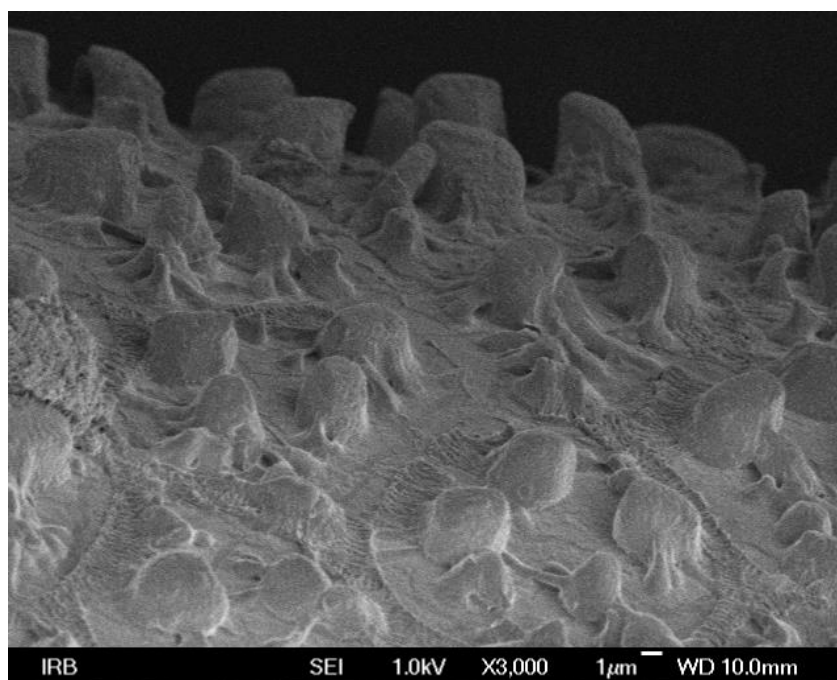
U laboratoriju su se razvile ličinke i kukuljice komaraca u odrasle jedinke pa je determinacija vrste obavljena i iz stadija odrasle jedinke. Potvrdu determinacije obavio je prof.dr.sc. Enrih Merdić iz Odjela za biologiju Sveučilišta J. J. Strossmayer iz Osijeka. Ovo je prvi nalaz vrste *Ae. japonicus* u Hrvatskoj.

Tijekom 2013. godine jaja komaraca uzorkovana su na groblju u Đurmancu pri još jednom uzorkovanju (T40, 4 jaja), no vrsta nije dokazana. Vrsta *Ae. japonicus* pronađena je u ovipozicijskim klopkama i na graničnom prijelazu Hrvatske sa Slovenijom u Macelju, na području ulaza za automobile u Hrvatsku (L2.2, T36, 23 jaja) i na području izlaza za kamione iz Hrvatske (L3.3, T35, 17 jaja). Ličinke i odrasli komarci su razvijeni iz jaja. U 2013. godini jaja komaraca uzorkovana su još pet puta na graničnom prijelazu u Macelju, no vrsta komaraca nije dokazana (tablica 20).

Ličinke vrste *Ae. albopictus* razvijene su iz jaja prikupljenih u klopkama koje su postavljene 23. kolovoza (T33) u privatnom dvorištu u Humu na Sutli (L1.1; 22 jaja i L1.2; 228 jaja). Ovo je prvi nalaz vrste *Ae. albopictus* u Krapinsko-zagorskoj županiji.



Slika 46. Jaja vrste *Ae. japonicus* na daščici ovipozicijske klopke (foto: A. Klobučar).



Slika 47. Površina jaja vrste *Ae. japonicus* snimljena elektronskim mikroskopom, povečanje 3.000 X (foto: A. Klobučar).



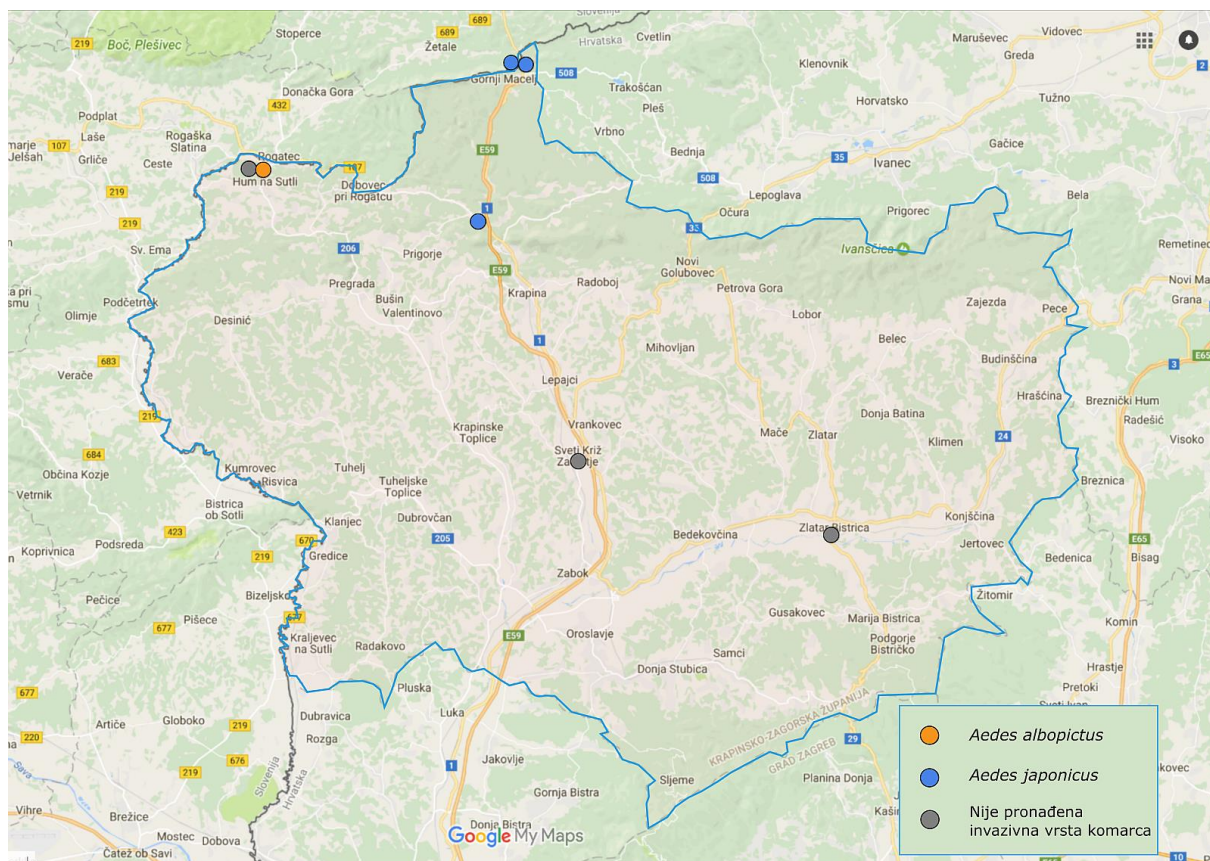
Slika 48. Posteriorni dio ličinke vrste *Ae. japonicus* (foto: A. Singer).

4.2.2. Pregled nalaza i širenja invazivnih vrsta komaraca u Krapinsko-Zagorskoj županiji u razdoblju od 2013. do 2016. godine

Nalazi invazivnih vrsta u ovipozicijskim klopama

Kako je prethodno navedeno, u 2013. godini vrsta *Ae. japonicus* pronađena je u Đurmancu (L4) i u Macelju (L2 i L3), na tri od sedam lokaliteta istraživanja (slika 49).

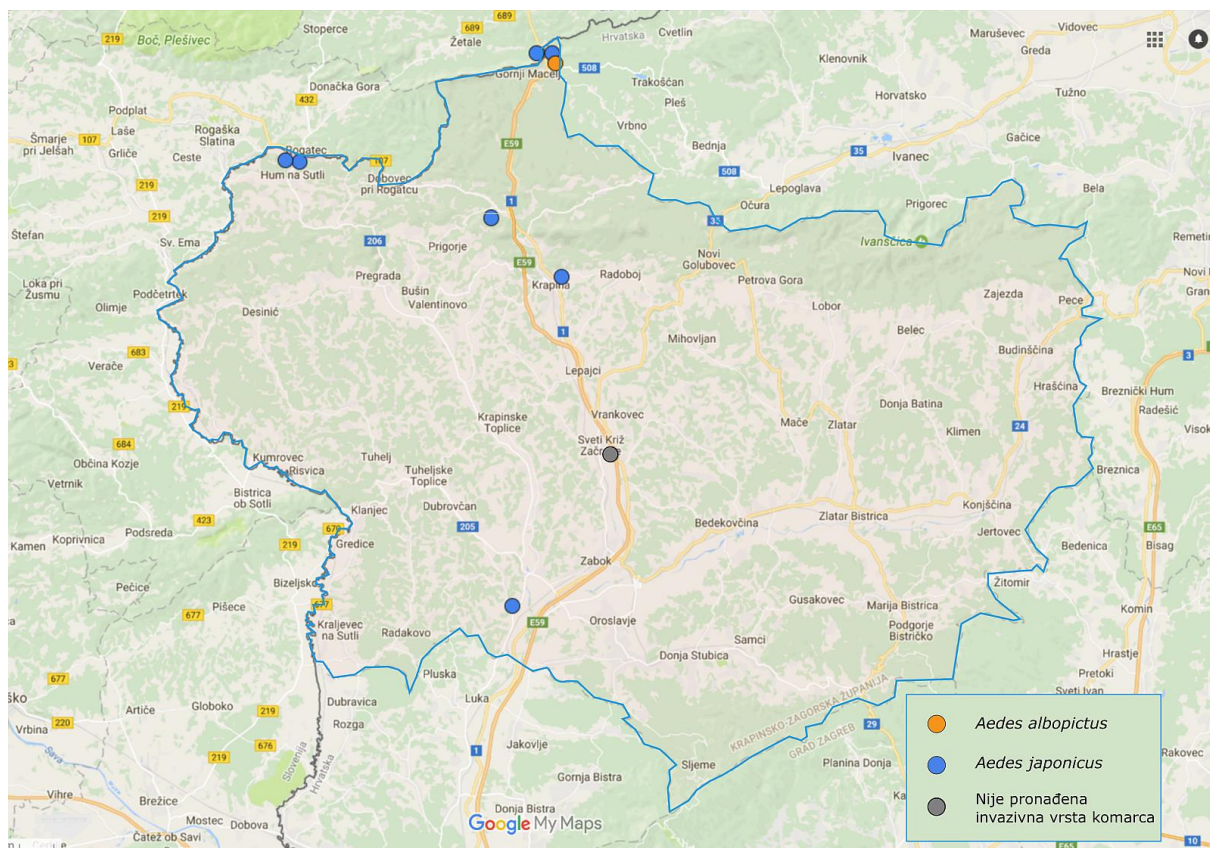
Ličinke vrste *Ae. albopictus* razvijene su iz jaja prikupljenih u klopama koje su izložene u 33. tjednu (sredina kolovoza) u privatnom dvorištu u Humu na Sutli (L1.1; 22 jaja i L1.2; 228 jaja). To je prvi nalaz vrste *Ae. albopictus* u Krapinsko-zagorskoj županiji.



Slika 49. Karta s lokalitetima nalaza invazivnih vrsta komaraca u Krapinsko-zagorskoj županiji u 2013. godini.

U 2014. godini vrsta *Ae. japonicus* pronađena je na sedam od ukupno osam lokaliteta istraživanja: Humu na Sutli (dvorište obiteljske kuće i parkiralište za kamione), Macelju (granični prijelaz za automobile i kamione), Đurmancu (groblje), Velikom Trgovišću (vulkanizerska radionica) i Krapini (groblje), a nije dokazana u Sv. Križu Začretje (benzinska crpka) (slika 50). Ukupno uzorkovani broj jaja u 2014. godini iznosio je 5.447 i bio je približno 10 puta veći nego u 2013. godini. Pri tome je u Macelju (L3, izlaz za kamione iz Hrvatske) zabilježena znatno veća brojnost jedinki nego u 2013. godini kada je na tri mikrolokaliteta tijekom 12 tjedana ukupno prebrojeno 187 jaja komaraca. U 2014. godini tijekom 17 tjedana uzorkovanja ukupno je pobrojeno 3.624 jaja što iznosi 66,53% od ukupno izbrojenih jaja u županiji. Pri tome je *Ae. japonicus* zabilježen kontinuirano u svakom tjednu uzorkovanja. Česti nalazi vrste zabilježeni su i u Macelju na graničnom ulazu za automobile u Hrvatsku (L2). Na ostalim lokalitetima vrsta je pronađena povremeno tijekom sezone, u svega nekoliko klopki. U Velikom Trgovišću u vulkanizerskoj radnji (L8) jaja vrste *Ae. japonicus* uzorkovana su samo jedan put.

U Macelju na graničnom prijelazu za kamione (L3), u 32. i 36. tjednu na lesionitnoj dašici klopke pronađena su jaja obje invazivne vrste: *Ae. albopictus* i *Ae. japonicus* (L3.1, 68 jaja i L3.2, 51 jaje). Iz jaja su razvijene ličinke.

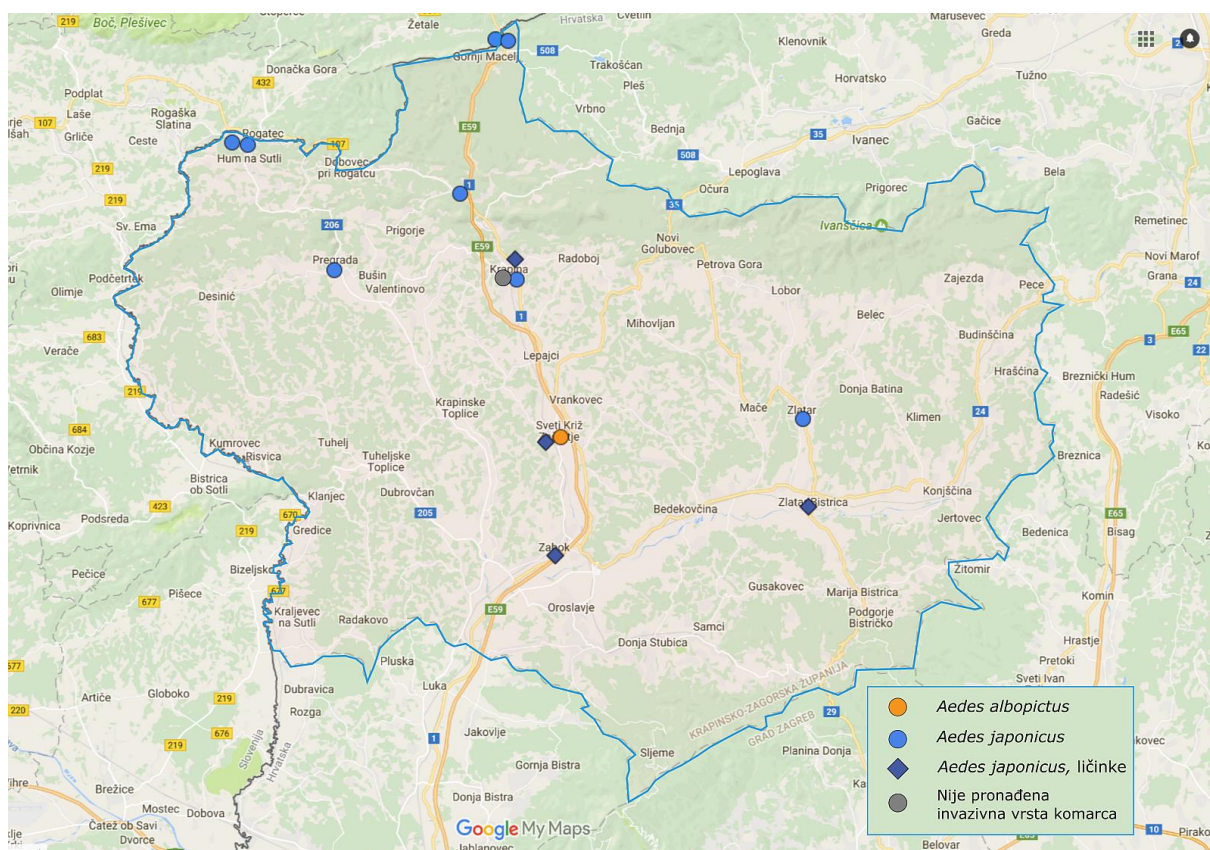


Slika 50. Karta s lokalitetima nalaza invazivnih komaraca u Krapinsko-zagorskoj županiji u 2014. godini.

U 2015. godini uzorkovanje je obavljeno na 10 lokaliteta. Vrsta *Ae. japonicus* zabilježena je na osam lokaliteta: Hum na Sutli (dva lokaliteta), Macelj (dva lokaliteta), Đurmanec, Krapina, Pregrada (vulkanizerska radionica) i Zlatar (dvorište doma zdravlja); nije pronađena u Sv. Križu Začretje (dvorište benzinske crpke) i u Krapini (kod naplatne postaje na autocesti) (slika 51). Ukupno je uzorkovano 25.313 jaja komaraca. Najveći broj jaja ponovno je zabilježen u Macelju, u području graničnog prijelaza za automobile koji ulaze u Hrvatsku (L2), ukupno 11.471 jaja što iznosi 45,32% ukupnog broja jaja uzorkovanih u 2015. godini. Na dva lokaliteta u Macelju uzorkovano je 74,39% svih prebrojenih jaja. Osim u Macelju, veći broj nalaza u sezoni zabilježen je u dvorištu obiteljske kuće u Humu na Sutli na sva tri

mikrolokaliteta i u vulkanizerskoj radionici u Pregradi na jednom mikrolokalitetu (L10.3). Na ostalim lokalitetima zabilježeni su povremeni nalazi.

Tijekom 2015. godine vrsta *Ae. albopictus* pronađena je na samo jednom lokalitetu: u 34. tjednu u klopki izloženoj u dvorištu benzinske crpke uz autoput u Sv. Križu Začretje (L5.2) pronađeno je 25 jaja iz kojih su se razvile ličinke *Ae. albopictus* (slika 52). U 27. tjednu u Humu na Sutli (L1.2) na lesonitnoj daščici klopke pronađeno je 125 jaja vrste *Oc. geniculatus* i 18 jaja *Ae. japonicus*. Vrste su određene iz stadija ličinke.

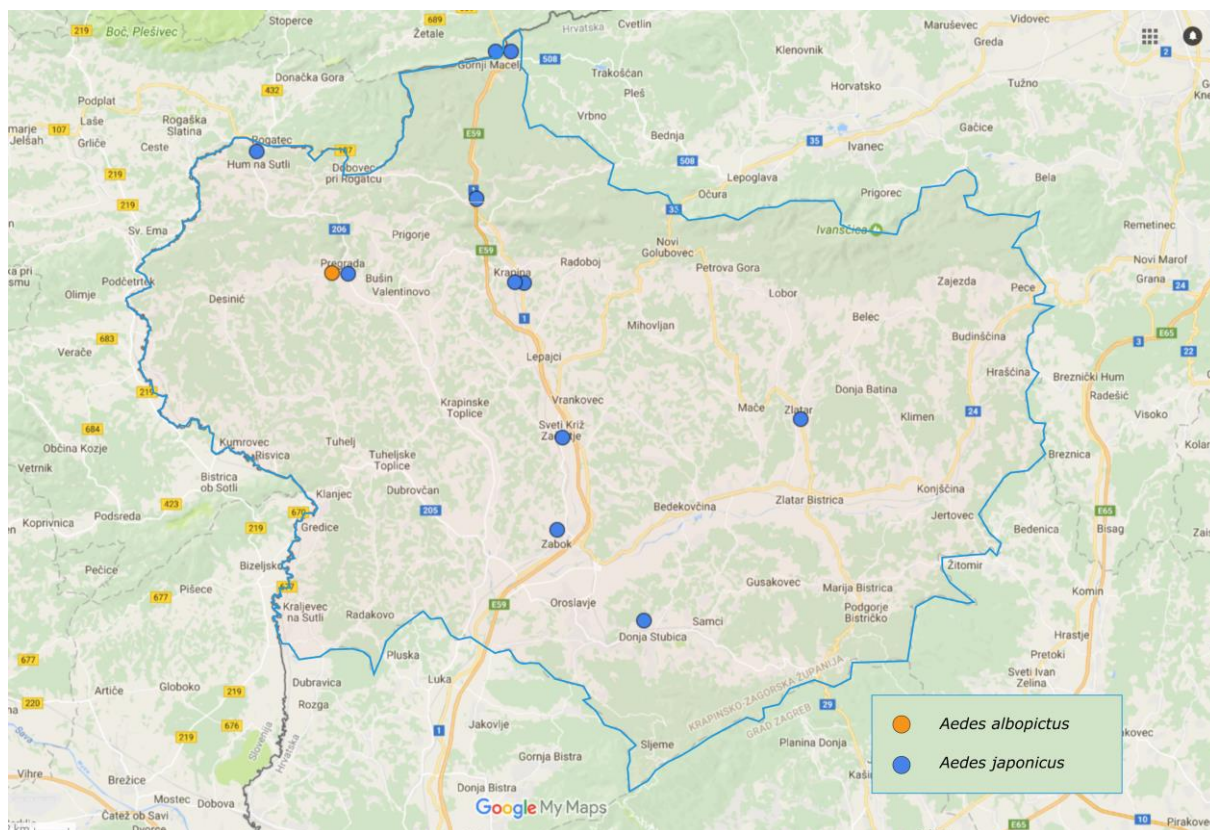


Slika 52. Karta s lokalitetima nalaza invazivnih komaraca u Krapinsko-zagorskoj županiji u 2015. godini.

U 2016. godini u istraživanje su uključena dva nova lokaliteta: Jezerčica i Zabok, a isključen je lokalitet u Humu na Sutli (dvorište obiteljske kuće, L1), stoga ih je ukupno bilo 10. Vrsta *Ae. japonicus* pronađena je na svim lokalitetima (slika 53). Tijekom ukupno 29 tjedana uzorkovanja u 280 pozitivnih klopki (29,66% klopki) prebrojeno je 31.456 jaja komaraca. Najveći broj jaja uzorkovan je na lokalitetu L3 (Macelj), ukupno 7.929 jaja (25,21%), zatim na

lokalitetu L2 (Macelj) s 5.085 (16,17%) jaja, slijedi lokalitet Jezerčica L13 s 4.761 (15,14%) jaja. Na svim lokalitetima vrsta je uzorkovana tijekom cijele godine, više ili manje kontinuirano.

U Pregradi (L10.3) u 33. tjednu na lesonitnoj daščici klopke pronađena su 74 jaja iz kojih su se razvile ličinke. Određene su obje invazivne vrste komaraca: *Ae. albopictus* i *Ae. japonicus* (slika 53).



Slika 53. Karta s lokalitetima nalaza invazivnih komaraca u Krapinsko-zagorskoj županiji u 2016. godini.

4.2.2.1. Uzorkovanje ličinki komaraca

Tijekom razdoblja istraživanja, osim na groblju u Đurmancu u rujnu 2013. godine (prethodno opisano), ličinke komaraca su prikupljene iz drugih umjetnih legla u županiji. Određene su slijedeće vrste:

srpanj 2013.: *Cx. pipiens* i *Cx. hortensis* (Hum na Sutli, bačve)

Cx. pipiens (Veliko Trgovišće, auto guma)

rujan 2014.: *Ae. japonicus* (Đurmanec, vaze na groblju)

Cx. pipiens (Krapina, posuda s vodom)

kolovoz 2015.: *Ae. japonicus* (Mali Tabor, bačva).

Istraživanje prisutnih vrsta komaraca u stadiju ličinke u vazama i posudama na grobljima u Krapinsko-zagorskoj županiji obavljeno je 28.08.2015. godine u slijedećim mjestima: Krapina, Zabok, Zlatar Bistrica i Sv. Križ Začretje (slika 52). Pregledano je ukupno 369 vaza s vodom, a ličinke su pronađene u 3,8% (14) vaza. Vrsta *Ae. japonicus* pronađena je u 12 vaza i jednoj plastičnoj posudi, a vrsta *Cx. pipiens* u dvije vaze (tablica 23). Najveći broj vaza s ličinkama pronađen je u Sv. Križu Začretje gdje su u 9/72 (12,5%) vaze s vodom pronađene ličinke, od čega je u osam pronađena vrsta *Ae. japonicus*. Vrsta *Ae. albopictus* nije pronađena ni na jednom groblju.

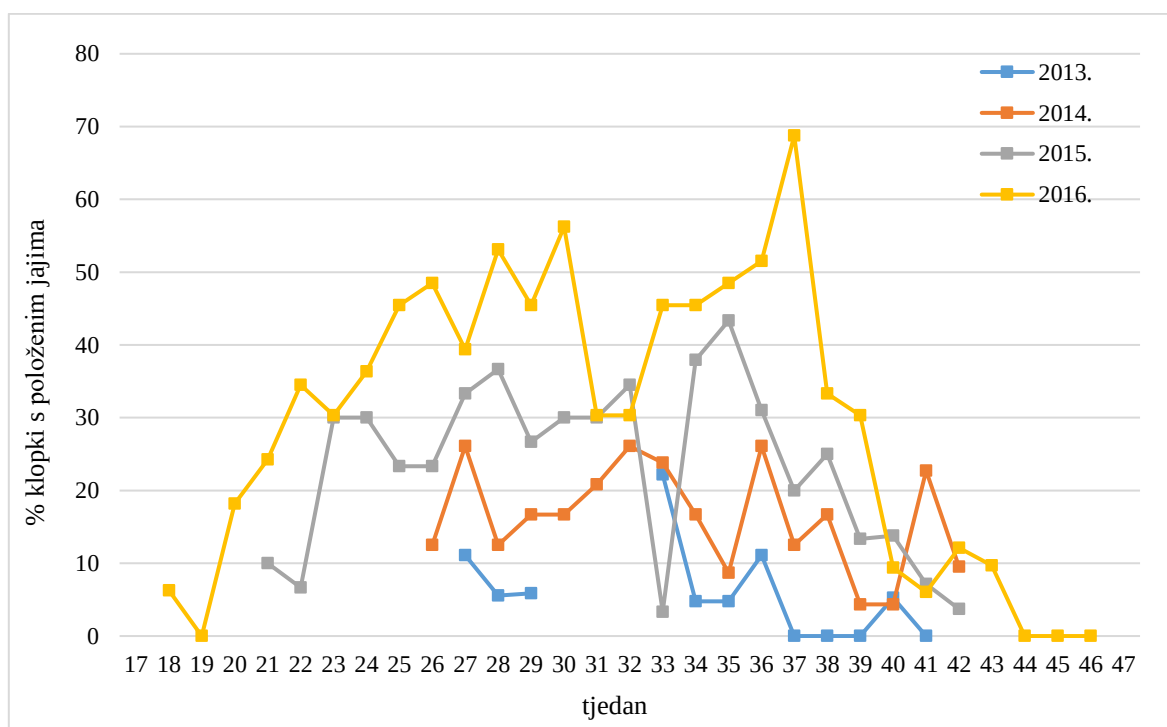
Tablica 23. Broj pregledanih vaza na grobljima i pronađene vrste komaraca u 2015. godini.

Lokalitet groblja	Broj pregledanih vaza s vodom	Broj vaza s ličinkama komaraca (%)	Broj vaza s vrstom <i>Ae. japonicus</i>
Krapina	132	1 (0,7)	1
Zabok	72	1 (1,4)	1
Zlatar Bistrica	93	3 (3,2)	2 (1 <i>Cx. pipiens</i>)
Sv. Križ Začretje	72	9 (12,5)	8 (1 <i>Cx. pipiens</i>)
Ukupno	369	14 (3,8)	12 (2 <i>Cx. pipiens</i>)

4.2.3. Vremenska raspodjela ovipozicije u razdoblju od 2013. do 2016. godine

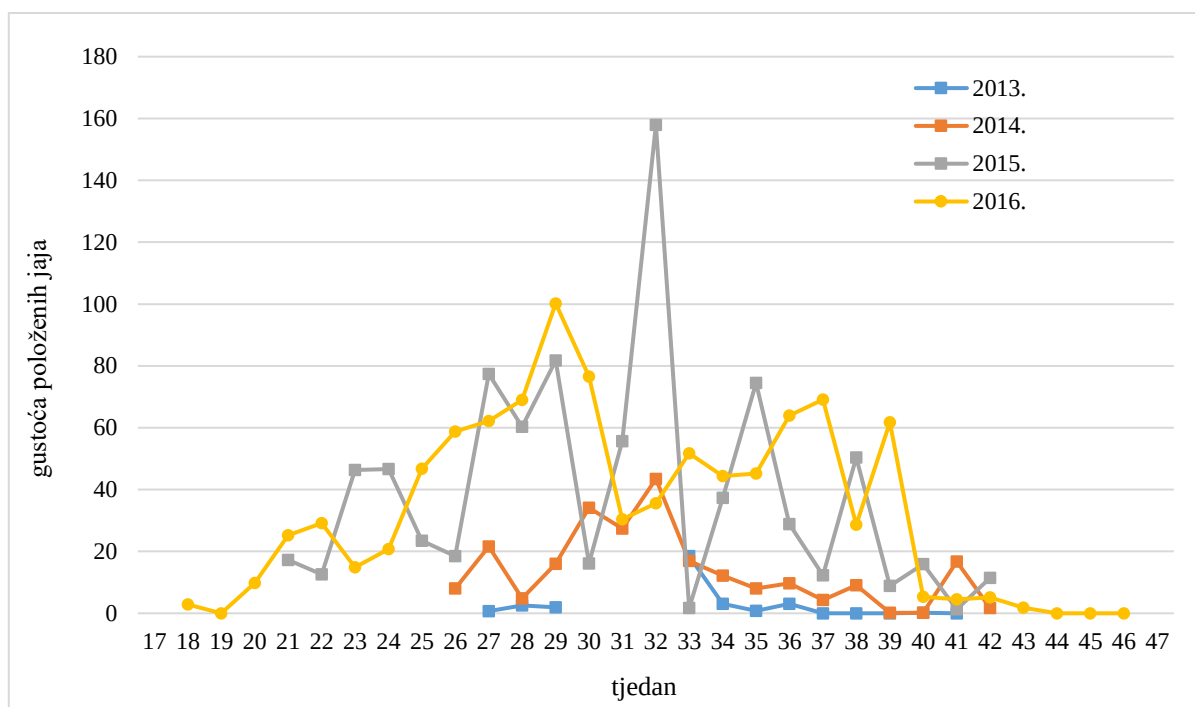
Najraniji početak uzorkovanja bio je u 18. tjednu (početak svibnja) 2016. godine pri čemu je zabilježeno 6,25% (2/32) pozitivnih klopki, a gustoća jaja je iznosila 2,88 (srednja tjedna temperatura iznosila je 14,06°C). Završetak aktivnosti (0,00% pozitivnih klopki) zabilježen je u 44. tjednu 2016. godine (početak studenog) pri temperaturi 7,37°C, a u tjednu ranije (T43) zabilježeno je 9,68% (3/31) pozitivnih klopki (pri temperaturi 9,81°C) (slika 54).

Promatrajući klopke s položenim jajima od 2013. do 2016. godine, u svakoj sljedećoj godini uočava se porast broja pozitivnih klopki. Najveći postotak pozitivnih klopki zabilježen je u 37. tjednu 2016. godine kada je iznosio 68,75% (22/32), pri čemu je gustoća bila 69,16. U 2015. godini najveći broj pozitivnih klopki zabilježen je u 35. tjednu (43,33%), a gustoća je iznosila 74,53 (slike 55 i 56).

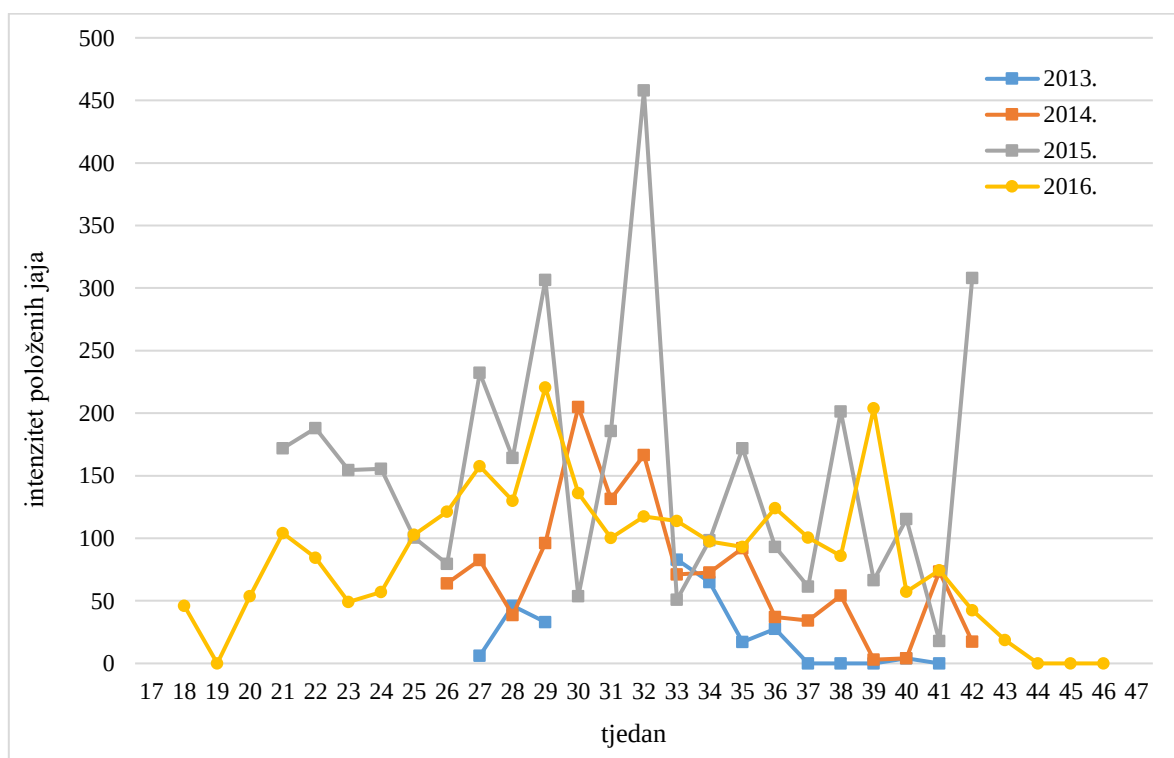


Slika 54. Prevalencija klopki s jajima u tjednima u razdoblju od 2013. do 2016. godine.

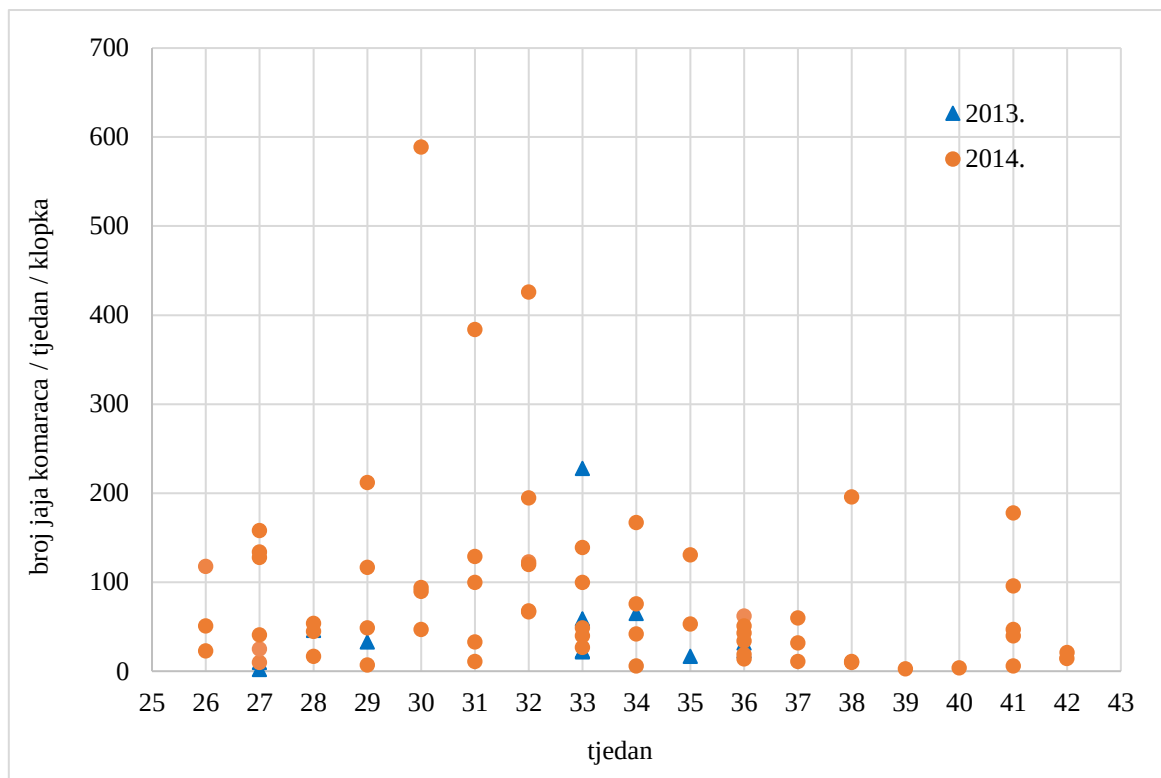
Najveći postotak pozitivnih klopki nije ujedno i pokazatelj najvećeg intenziteta odnosno gustoće jaja. Najveći intenzitet (457,90) i gustoća (157,90) jaja u 2015. godini zabilježeni su u 32. tjednu (34,5% pozitivnih klopki). U 2016. godini najveća gustoća (100,21) i intenzitet (220,47) zabilježeni su u 29. tjednu (45,5% pozitivnih klopki) (slika 55 i 56).



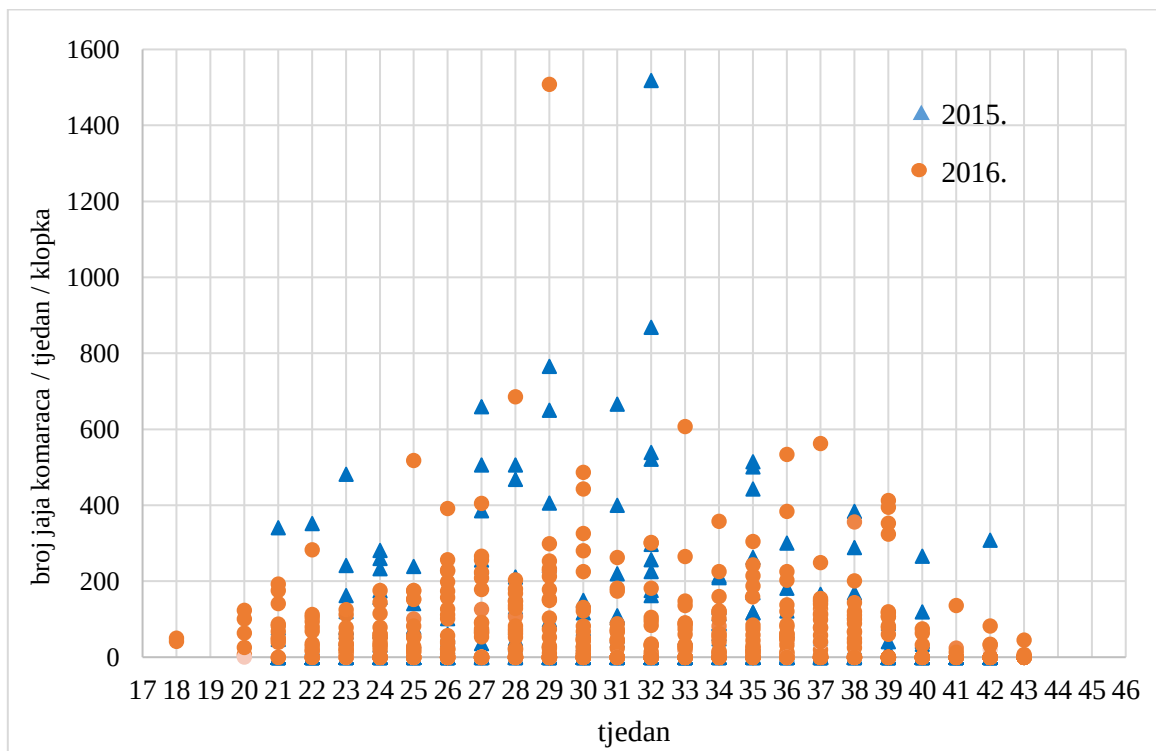
Slika 55. Prosječna gustoća položenih jaja u tjednima u razdoblju od 2013. do 2016. godine.



Slika 56. Prosječan intenzitet položenih jaja u tjednima u razdoblju od 2013. do 2016. godine.



Slika 57. Broj jaja u klopka tijekom 2013. i 2014. godine na području Krapinsko-zagorske županije.



Slika 58. Broj jaja u klopka tijekom 2015. i 2016. godine na području Krapinsko-zagorske županije.

4.2.4. Ovipozicija invazivnih vrsta komaraca na istim lokalitetima u razdoblju od 2013. do 2016. godine

4.2.4.1. Vremenska raspodjela ovipozicije

Za praćenje promjena ovipozicije, intenziteta i gustoće jaja tijekom četiri godine, promatrani su rezultati uzorkovanja s pet slijedećih lokaliteta koji su u praćenje bili uključeni sve četiri godine istraživanja (2013.-2016.): L2 – Macelj, granični prijelaz za automobile iz Slovenije u Hrvatsku; L3 - Macelj, granični prijelaz za kamione iz Hrvatske u Sloveniju; L4 – Đurmanec, groblje; L5 - Sv. Križ Začretje, benzinska crpka i L7 – Hum na Sutli, parkiralište za kamione.

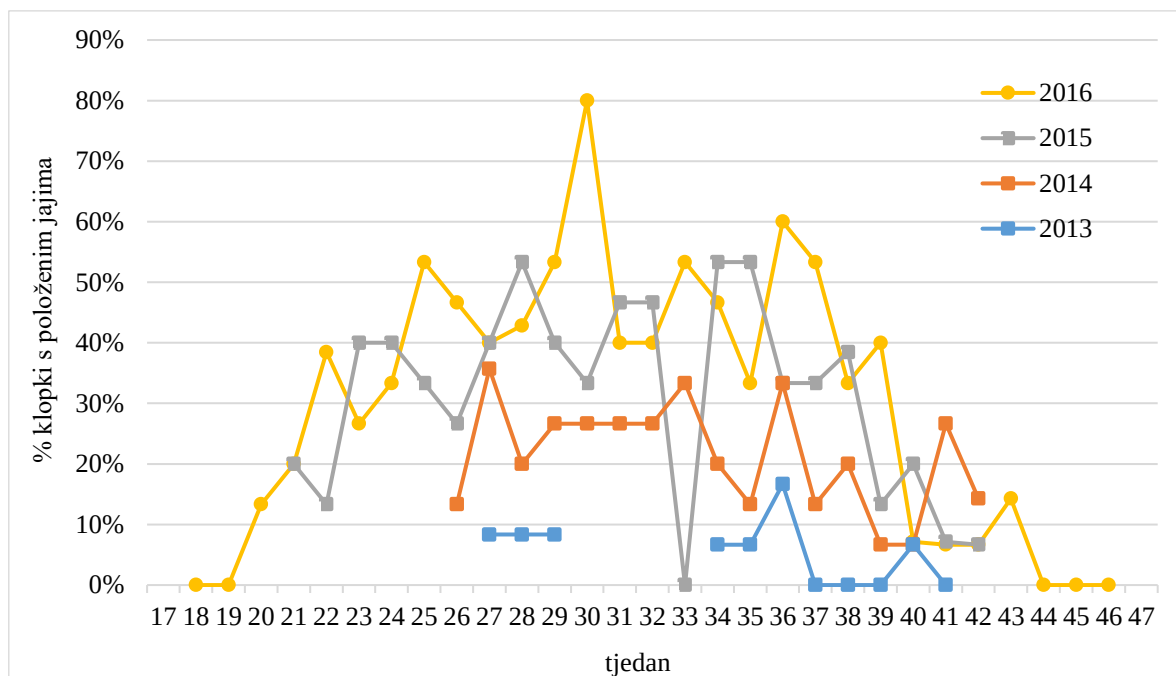
Tijekom četiri godine na pet lokaliteta u 79 tjedana i 1.161 ovipozicijskoj klopci prebrojeno je 46.206 jaja što čini 73,60% jaja uzorkovanih na svim lokalitetima u Krapinsko-zagorskoj županiji. U tablici 24 je prikazan broj tjedana uzorkovanja, broj pregledanih klopki i broj jaja komaraca u svakoj godini. Uzimajući u obzir povećanje broja tjedana, a time i broja klopki tijekom svake slijedeće godine, broj jaja se značajno povećava, osim u 2016. godini.

Tablica 24. Broj tjedana uzorkovanja, pregledanih klopki i jaja komaraca na pet lokaliteta tijekom 2013., 2014., 2015. i 2016. godine.

Godina	2013.	2014.	2015.	2016.
Ukupan broj tjedana uzorkovanja	11	17	22	29
Broj pregledanih klopki	153	253	327	428
Broj pozitivnih klopki (%)	8 (5,23)	54 (21,34)	103 (31,49)	131 (30,60)
Broj jaja	230	4.938	21.055	19.983
Prosječan broj jaja u klopci	28,75	91,44	204,42	152,54

Kako je prethodno opisano, u 2013. godini na svim lokalitetima zabilježena je mala prevalencija pozitivnih klopki (5,75%), a na pet promatranih lokaliteta 5,23% s najviše 2/12 (16,7%) pozitivnih klopki u 36. tjednu. U 2014. godini najviša prevalencija zabilježena je u 27. tjednu, s 35,7% (5/14) pozitivnih klopki, nakon kojeg su slijedili 33. i 36. tjedan s 5/15 (33,3%) pozitivnih klopki. Najviša prevalencija u 2015. godini iznosila je 53,3% (8/15) pozitivnih klopki, a bila je prisutna u 28, 34. i 35. tjednu. Početak sezonske aktivnosti u 2016. godini zabilježen je u 20. tjednu s 2/15 (13,3%) pozitivnih klopki, a aktivnost je najvišu vrijednost

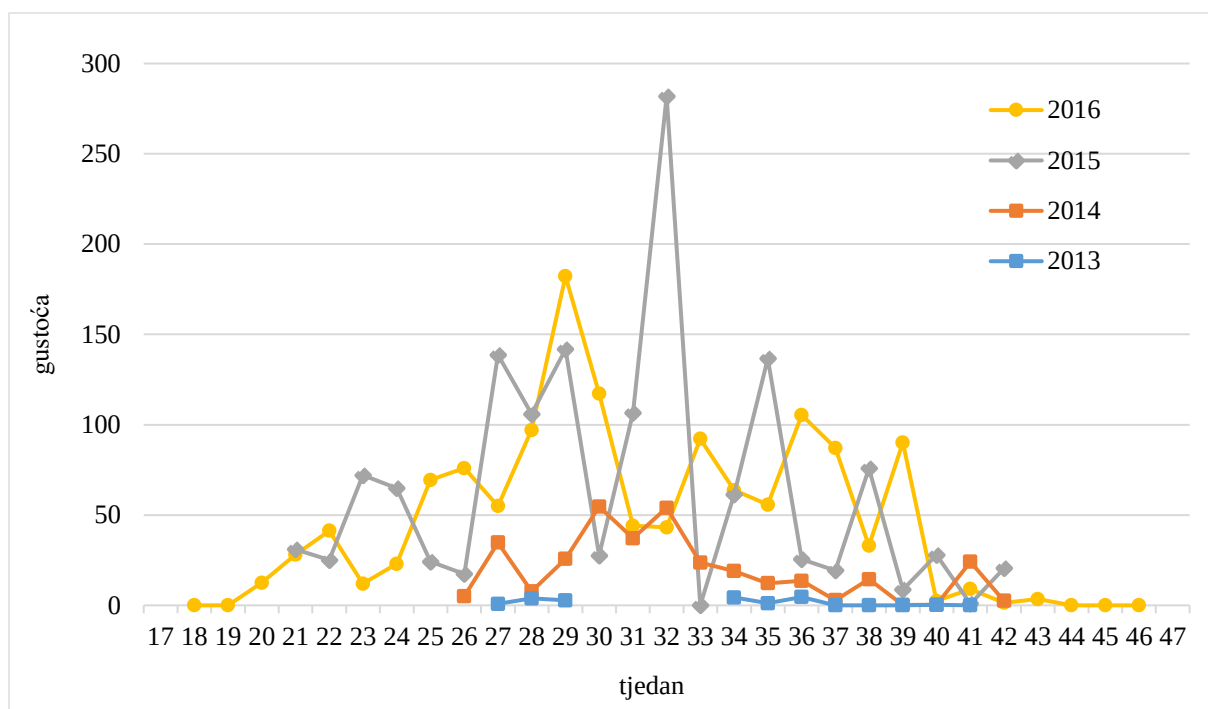
dosegla u 30. tjednu s 12/15 (80,0%) pozitivnih klopki (pri temperaturi 22,60°C). Prestanak sezonske aktivnosti zabilježen je u 44. tjednu (slika 59).



Slika 59. Prevalencija pozitivnih klopki u tjednima u razdoblju od 2013. do 2016. godine.

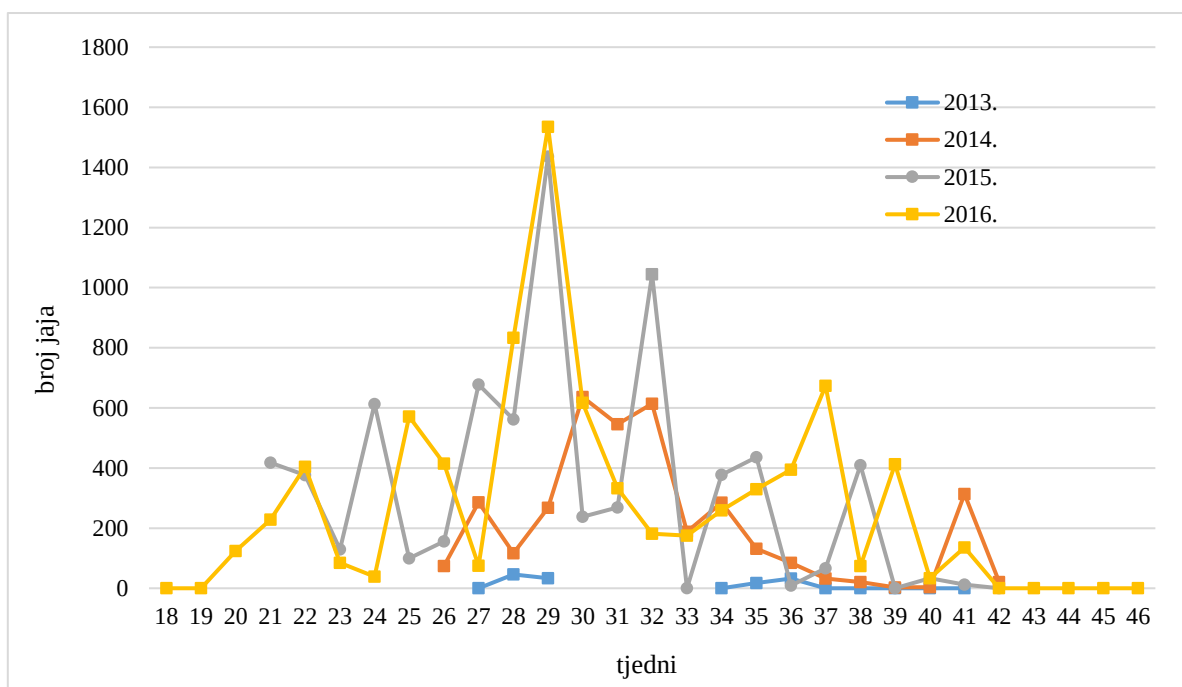
Kretanje intenziteta položenih jaja na pet lokaliteta tijekom najvećeg dijela sezone prati kretanje intenziteta na svim lokalitetima tijekom godina istraživanja, no s višim vrijednostima. Među promatranim godinama najniži intenzitet zabilježen je u 2013. godini u 34. tjednu kada je iznosio 65,00; dok je najviši intenzitet utvrđen je u 2015. godini u 32. tjednu i iznosio je 603,86 položenih jaja.

Gustoća, odnosno broj položenih jaja u odnosu na ukupan broj klopki, na pet promatranih lokaliteta također prati kretanje gustoće na svim lokalitetima, ali s višim vrijednostima. U 2013. godini bila je najviša u 36. tjednu kada je iznosila 4,58, dok je u 2014. godini bila najviša u 30. tjednu kada je iznosila 54,67 jaja. U 2015. godini najviša gustoća iznosila je 281,80 i zabilježena je u 32. tjednu (na svim lokalitetima iznosila je 157,90), a u 2016. godini iznosila je 182,27 i zabilježena je u 29. tjednu (na svim lokalitetima iznosila je 100,21) (slika 60).

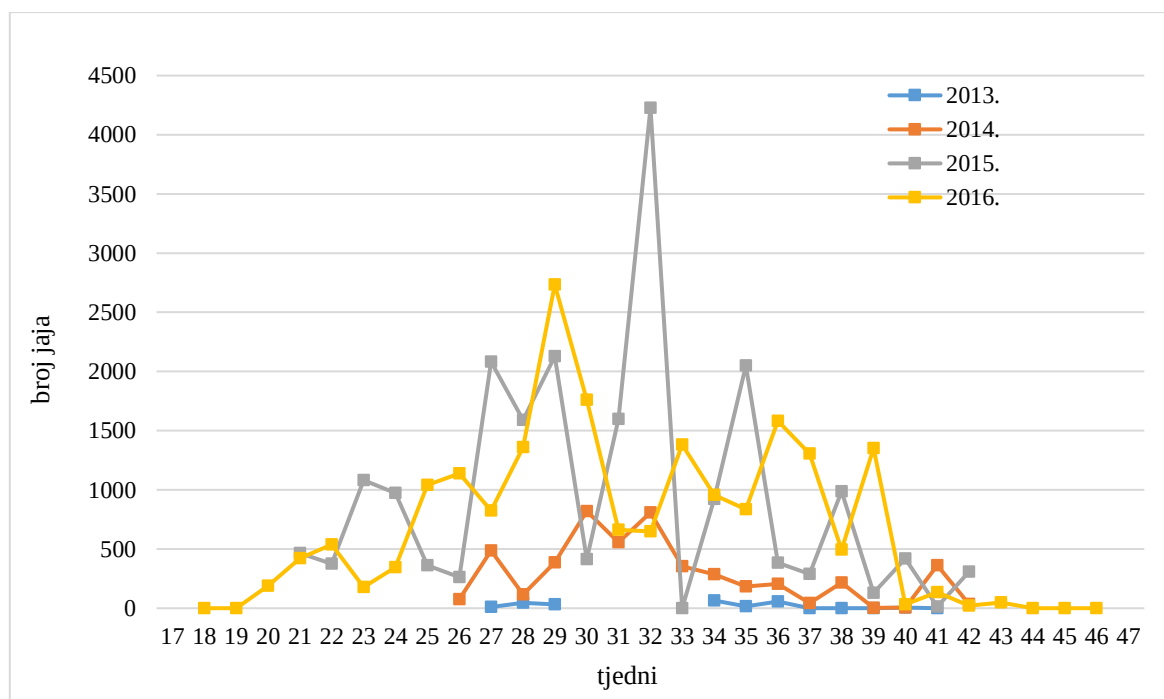


Slika 60. Gustoća položenih jaja u tjednima u razdoblju od 2013. do 2016. godine.

Najveći broj položenih jaja u 2013. godini zabilježen je u 34. tjednu na groblju u Đurmancu (L4.3) i iznosio je 65. U 2014. godini najveći broj jaja položen u jednu klopku pronađen je u 30. tjednu u Macelju na graničnom prijelazu za kamione (L3.2) i iznosio je 589 jaja (636 u tri klopke). Na istom lokalitetu u sljedeća dva tjedna također je položen velik broj jaja, pri čemu je u 31. tjednu iznosio 546 (u tri klopke), a u 32. tjednu 614 jaja (u tri klopke). Najveći broj jaja u 2015. godini izbrojen je u 32. tjednu u Macelju (L2) te je iznosio 2.926 jaja, dok je 2016. godini zabilježen također u Macelju (L3) u 29. tjednu i iznosio je 1.535 (slika 61).



Slika 61. Kretanje broja položenih jaja na lokalitetu L3 (Macelj, granični prijelaz za kamione) u razdoblju od 2013. do 2016. godine.



Slika 62. Kretanje tjednog ukupnog broja jaja izbrojenih na pet lokaliteta u razdoblju od 2013. do 2016. godine.

Na krivuljama koje prikazuju kretanje intenziteta i gustoće na svim lokalitetima te intenziteta, gustoće i broja jaja na pet lokaliteta na kojima su uzorkovanja obavljena tijekom sve četiri godine, ističe se nekoliko vrhunaca aktivnosti vrste *Ae. japonicus* tijekom pojedine sezone (slike 55, 56, 60 i 62). Promatramo li linije kretanja gustoće i broja položenih jaja (slike 60 i 62), u 2015. godini kada se vrsta udomaćila na dijelu promatranih lokaliteta na području Krapinsko-zagorske županije, jasno se ističe najmanje pet vrhunaca aktivnosti. Prvi je zabilježen tijekom 23. i 24. tjedna (početak lipnja) s prosječnom gustoćom 72,06 i intenzitetom 180,17 (23. tjedan). Drugi vrhunac počinje početkom srpnja i traje tri tjedna (od 27. do 29. tjedna) te doseže prosječnu gustoću 141,8 i intenzitet 354,50 (29. tjedan). Treći i najviši vrhunac aktivnosti zabilježen je u prvoj polovini kolovoza (32 tjedan) s gustoćom 281,8 i intenzitetom 603,86. U zadnjem tjednu kolovoza (35 tjedan) slijedi četvrti vrhunac aktivnosti s vrijednostima sličnima drugom vrhuncu (gustoća 136,67 i intenzitet 256,25). Peti porast aktivnosti zabilježen je u 38. tjednu (sredina rujna) aktivnosti s vrijednostima sličnima prvome porastu aktivnosti. U 2016. godini također se uočava najmanje pet vrhunaca aktivnosti pri čemu je porast aktivnosti u proljeće zabilježen ranije kao i svi sljedeći porasti aktivnosti tijekom cijele sezone.

4.2.4.2. Statistička analiza ovipozicije između ispitivanih godina

Kako bi se utvrdila razlika u ovipoziciji između ispitivanih godina, promatrane godine su zbog usporedivosti usklađene s obzirom na tjedne u kojima su prikupljena položena jaja na način da je promatrano razdoblje od 26. do 42. tjedna. U usporedbi nije uključena 2013. godina zbog malog broja tjedana u kojima su prikupljena jaja. Promatrane godine su uspoređene s obzirom na ukupni broj položenih jaja, prevalenciju, intenzitet i gustoću položenih jaja, kao i s obzirom na klimatske parametre.

Shapiro-Wilk test je indicirao statistički značajno odstupanje raspodjele opaženih vrijednosti od normalne u slučaju unutar barem jedne od promatranih godina kad je riječ o ukupnom broju jaja te o njihovoj gustoći, stoga su u slučaju ovih dvaju parametara uzorka položenih jaja kao mjere centralne tendencije korišteni medijan i interkvartilni raspon. Također, promatrane godine su međusobno uspoređene neparametrijskim Kruskal-Wallisovim testom.

Provedenim testiranjem utvrđena je statistički značajna razlika u ukupnom broju položenih jaja između ispitivanih godina ($\chi^2=11,01$; $df=2$; $p=0,004$), stoga su promatrane godine dodatno uspoređene serijom Mann-Whitneyevih U testova uz korištenje Bonferronijeve

korekcije. Uz korekciju razine statističke značajnosti, između 2014. i 2015. godine nije utvrđena statistički značajna razlika s obzirom na ukupan broj položenih jaja (Mann-Whitney $U=78,0$; Bonferroni korigirani $p=0,066$), kao ni između 2015. i 2016. godine (Mann-Whitney $U=132,0$; Bonferroni korigirani $p>0,099$). Međutim, ukupan broj položenih jaja bio je statistički značajno veći u 2016. nego u 2014. godini (Mann-Whitney $U=48,0$; Bonferroni korigirani $p=0,003$). Medijan ukupnog broja položenih jaja u 2014. iznosi 217,0, a u 2016. godini 956,0 (tablica 25).

Provedenim testiranjem utvrđena je i statistički značajna razlika u prevalenciji pozitivnih klopki između ispitivanih godina ($F=6,01$; $df_1=2$; $df_2=48$; $p=0,005$), stoga su promatrane godine međusobno dodatno uspoređene pomoću Fisherovog LSD post hoc testa. Pri tome je između 2014. i 2015. godine utvrđena razlika, međutim statistička značajnost nije dostignuta ($p=0,055$), dok je prevalencija bila statistički značajno niža u 2014. godini u odnosu na 2016. godinu ($p=0,001$). Između 2015. i 2016. godine nije utvrđena statistički značajna razlika u prevalenciji položenih jaja ($p=0,144$).

Tablica 25. Vrijednosti iz uzoraka položenih jaja te klimatski parametri s obzirom na promatranu godinu.

	2014. <i>C (IQR)</i>	2015. <i>C (IQR)</i>	2016. <i>C (IQR)</i>	<i>p</i>
<u>Uzorci položenih jaja</u>				
Ukupan broj položenih jaja	217,0 (58,5-435,5)	419,0 (275,5-1824,5)	956,0 (571,5-1370,5)	0,004
Prevalencija (%)*	21,4 (9,06)	32,1 (17,28)	40,20 (19,40)	0,005
Intenzitet*	77,8 (60,88)	182,8 (156,30)	150,8 (73,71)	0,018
Gustoća	14,5 (3,9-30,2)	27,9 (18,4-121,6)	63,7 (38,1-94,6)	0,004
<u>Klimatski parametri</u>				
Temperatura	17,5 (16,3-20,9)	19,0 (14,9-23,3)	20,0 (13,8-21,3)	0,642
Vlaga*	80,9 (5,96)	75,2 (8,05)	77,0 (7,09)	0,067
Oborine	5,6 (0,9-6,9)	2,3 (0,1-6,6)	1,8 (0,4-3,2)	0,213

KRATICE: *C* = medijan; *IQR* = interkvartilni raspon; *p* = razina statističke značajnosti, rezultat jednosmjerne analize varijance u slučaju varijabli čije raspodjele nisu odstupale od normalnih, odnosno Kruskal-Wallisovog testa u slučaju ostalih varijabli

*Aritmetička sredina (standardna devijacija)

Kad je riječ o intenzitetu, provedenom analizom varijance utvrđena je statistički značajna razlika između promatranih godina s obzirom na ovaj parametar ($F=4,40$; $df_1=2$, $df_2=48$; $p=0,018$). Kako je između promatranih godina variranje intenziteta bilo statistički

značajno različito, godine su međusobno uspoređene putem Games-Howellovog post hoc testa. Najviši intenzitet zabilježen je u 2015. godini s vrijednošću medijana 182,8; u 2016. godini je iznosio 150,8; a u 2014. godini 77,8. Provedenim testiranjima utvrđeno je da je intenzitet položenih jaja bio statistički značajno manji u 2014. godini u odnosu na 2015. ($p=0,044$) te u odnosu na 2016. godinu ($p=0,010$). S druge strane, između 2015. i 2016. godine nije utvrđena statistički značajna razlika s obzirom na intenzitet položenih jaja ($p=0,728$).

Provedenim testiranjem utvrđena je statistički značajna razlika u gustoći položenih jaja između promatranih godina ($\chi^2=10,87$; $df=2$; $p=0,004$). Uz Bonferronijevu korekciju razine statističke značajnosti, nije utvrđena statistički značajna razlika u gustoći između 2014. i 2015. godine (Mann-Whitney $U=78,0$; Bonferroni korigirani $p=0,066$), niti između 2015. i 2016. godine (Mann-Whitney $U=132,0$; Bonferroni korigirani $p>0,999$). Daljnjim testiranjem je utvrđeno da je gustoća položenih jaja bila je statistički značajno viša u 2016. u odnosu na 2014. godinu (Mann-Whitney $U=48,0$; Bonferroni korigirani $p=0,003$). Vrijednost medijana za gustoću u 2014. iznosi 14,5; u 2016. godini 63,7 (tablica 25).

U slučaju klimatskih parametara, provedenim testiranjem između ispitivanih godina nije utvrđena statistički značajna razlika u temperaturi ($\chi^2=0,89$; $df=2$; $p=0,642$), vlažnosti zraka ($F=2,86$; $df_1=2$, $df_2=48$; $p=0,067$), ni u količini oborina ($\chi^2=3,10$; $df=2$; $p=0,213$).

4.2.4.3. Statistička analiza ovipozicije na uspoređivanim lokalitetima

Broj jaja uzorkovan na pet lokaliteta (zastupljeni su od 2014. do 2016. godine) u pojedinoj godini su uspoređeni s obzirom na ukupan broj položenih jaja po tjednima. Pri tome je u 2014. godini promatrano razdoblje od 26. do 42. tjedna, u 2015. godini od 21. do 42. tjedna, a u 2016. godini od 18. do 46. tjedna. Budući da su na svakom lokalitetu promatrana tri mikrolokaliteta, vrijednost jaja na pojedinom lokalitetu u pojedinom tjednu određena je kao ukupan broj jaja (na svim mikrolokalitetima) podijeljen s brojem klopki (mikrolokaliteta).

Kruskal-Wallisovim testom utvrđeno je da se lokaliteti međusobno statistički značajno razlikuju s obzirom na broj položenih jaja u 2014. ($\chi^2=44,89$; $df=4$; $p<0,001$), u 2015. ($\chi^2=55,10$; $df=4$; $p<0,001$) te u 2016. godini ($\chi^2=28,88$; $df=4$; $p<0,001$) (tablice 26, 27 i 28).

Tablica 26. Vrijednosti položenih jaja na pojedinom lokalitetu u 2014. godini.

Lokalitet	Medijan	(IQR)	Maksimum
L2 (Macelj)	0,0	(0,0-25,3)	195
L3 (Macelj)	43,7	(10,67-95,3)	589
L4 (Đurmanec)	0,0	(0,0-0,0)	196
L5 (Sv. Križ Začretje)	0,0	(0,0-0,0)	11
L7 (Hum na Sutli)	0,0	(0,0-0,0)	43

Kratice: IQR = interkvartilni raspon

Tablica 27. Vrijednosti položenih jaja na pojedinom lokalitetu u 2015. godini.

Lokalitet	Medijan	(IQR)	Maksimum
L2	78,8	(15,7-276,5)	1518
L3	84,5	(11,3-145,3)	766
L4	11,5	(0,0-56,0)	308
L5	0,0	(0,0-0,0)	25
L7	0,0	(0,0-0,0)	131

Kratice: IQR = interkvartilni raspon

Tablica 28. Vrijednosti položenih jaja na pojedinom lokalitetu u 2016. godini.

Lokalitet	Medijan	(IQR)	Maksimum
L2	33,3	(0,0-81,0)	607
L3	58,3	(11,0-134,7)	1508
L4	19,3	(0,0-53,3)	443
L5	0,0	(0,0-7,0)	115
L7	37,7	(0,0-75,3)	326

Kratice: IQR = interkvartilni raspon

4.2.4.4. Odnos ovipozicije i klimatskih parametara

Za analizu povezanosti vrijednosti iz uzoraka položenih jaja radi usporedivosti godine su usklađene s obzirom na tjedne u kojima su jaja prikupljena. Kako je u slučaju dosta parametara barem jedna raspodjela odstupala od normalne, za analizu povezanosti vrijednosti iz uzoraka položenih jaja i klimatskih parametara radi usporedivosti u svim slučajevima je korišten Spearmanov koeficijent rank-korelacije.

Utvrđena je statistički značajna povezanost između više temperature i većeg ukupnog broja položenih jaja, prevalencije pozitivnih klopki i gustoće položenih jaja u svim promatranim godinama. Veći intenzitet položenih jaja bio je također statistički značajno povezan s višom temperaturom u 2014. te 2016. godini, dok je u 2015. godini opažena povezanost istog smjera, no nešto manjeg iznosa te stoga nije dosegla statističku značajnost (tablice 29-32).

Niža vlažnost zraka bila je statistički značajno povezana s većim ukupnim brojem položenih jaja i većom gustoćom jaja u 2014. godini, dok su povezanosti u preostale dvije godine bile istog smjera, no nižeg iznosa. Također, niža vlažnost zraka bila je statistički značajno povezana s većim intenzitetom u 2014. godini. Viša prevalencija pozitivnih klopki također je povezana s nižom vlagom, no nije dosegla statističku značajnost (tablice 29-32).

U 2015. godini utvrđena je visoka povezanost između manje količine oborina i većeg ukupnog broja položenih jaja, više prevalencije pozitivnih klopki, višeg intenziteta i veće gustoće, dok ta povezanost nije bila prisutna ni u jednoj drugoj godini (tablice 29-32).

Trajanje dana je pozitivno povezano s brojem položenih jaja i gustoćom, pri čemu su iznosi koeficijenata korelacije podjednaki u svim promatranim godinama (radi malog broja promatranih tjedana, koeficijent korelacije u 2015. godini nije dosegao statističku značajnost). Također, viša prevalencija bila je statistički značajno povezana s duljim trajanjem dana u 2015. te 2016. godini, dok je u 2014. godini opažena povezanost istog smjera, no nešto manjeg iznosa te stoga nije dosegla statističku značajnost. Trajanje dana je bilo statistički značajno pozitivno povezano s intenzitetom u 2014. godini, dok su u ostalim promatranim godinama opažene povezanosti istog smjera, no nešto nižeg iznosa te stoga nisu dosegle statističku značajnost (tablice 29-32).

Tablica 29. Povezanost klimatskih parametara s ukupnim brojem položenih jaja u pojedinoj godini.

	2014.		2015.		2016.	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
Temperatura	<u>0,80</u>	<u><0,001</u>	<u>0,64</u>	<u>0,005</u>	<u>0,65</u>	<u>0,005</u>
Vlaga	<u>-0,60</u>	<u>0,012</u>	-0,33	0,198	-0,17	0,523
Oborine	0,09	0,729	<u>-0,81</u>	<u><0,001</u>	0,04	0,889
Trajanje dana (min)	<u>0,49</u>	<u>0,047</u>	0,43	0,082	<u>0,52</u>	<u>0,035</u>

Kratice: *r* = Spearmanov koeficijent korelacije; *p* = razina statističke značajnosti

Tablica 30. Povezanost klimatskih parametara s prevalencijom pozitivnih klopki u pojedinoj godini.

	2014		2015		2016	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
Temperatura	<u>0,66</u>	<u>0,004</u>	<u>0,53</u>	<u>0,030</u>	<u>0,67</u>	<u>0,003</u>
Vlaga	-0,45	0,072	-0,14	0,580	-0,18	0,487
Oborine	0,12	0,661	<u>-0,63</u>	<u>0,007</u>	-0,02	0,951
Trajanje dana (min)	0,39	0,125	<u>0,49</u>	<u>0,045</u>	<u>0,54</u>	<u>0,024</u>

Kratice: *r* = Spearmanov koeficijent korelacije; *p* = razina statističke značajnosti

Tablica 31. Povezanost klimatskih parametara s intenzitetom položenih jaja u pojedinoj godini.

	2014		2015		2016	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
Temperatura	<u>0,78</u>	<u><0,001</u>	0,47	0,057	<u>0,49</u>	<u>0,046</u>
Vlaga	<u>-0,62</u>	<u>0,008</u>	-0,23	0,373	-0,16	0,548
Oborine	0,08	0,758	<u>-0,60</u>	<u>0,011</u>	0,16	0,541
Trajanje dana (min)	<u>0,51</u>	<u>0,037</u>	0,28	0,269	0,41	0,103

Kratice: *r* = Spearmanov koeficijent korelacije; *p* = razina statističke značajnosti

Tablica 32. Povezanost klimatskih parametara s gustoćom položenih jaja u pojedinoj godini.

	2014		2015		2016	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
Temperatura	<u>0,80</u>	<u><0,001</u>	<u>0,64</u>	<u>0,005</u>	<u>0,65</u>	<u>0,004</u>
Vlaga	<u>-0,60</u>	<u>0,012</u>	-0,33	0,198	-0,20	0,451
Oborine	0,09	0,729	<u>-0,81</u>	<u><0,001</u>	0,03	0,903
Trajanje dana (min)	<u>0,49</u>	<u>0,047</u>	0,43	0,082	<u>0,53</u>	<u>0,030</u>

Kratice: r = Spearmanov koeficijent korelacije; p = razina statističke značajnosti

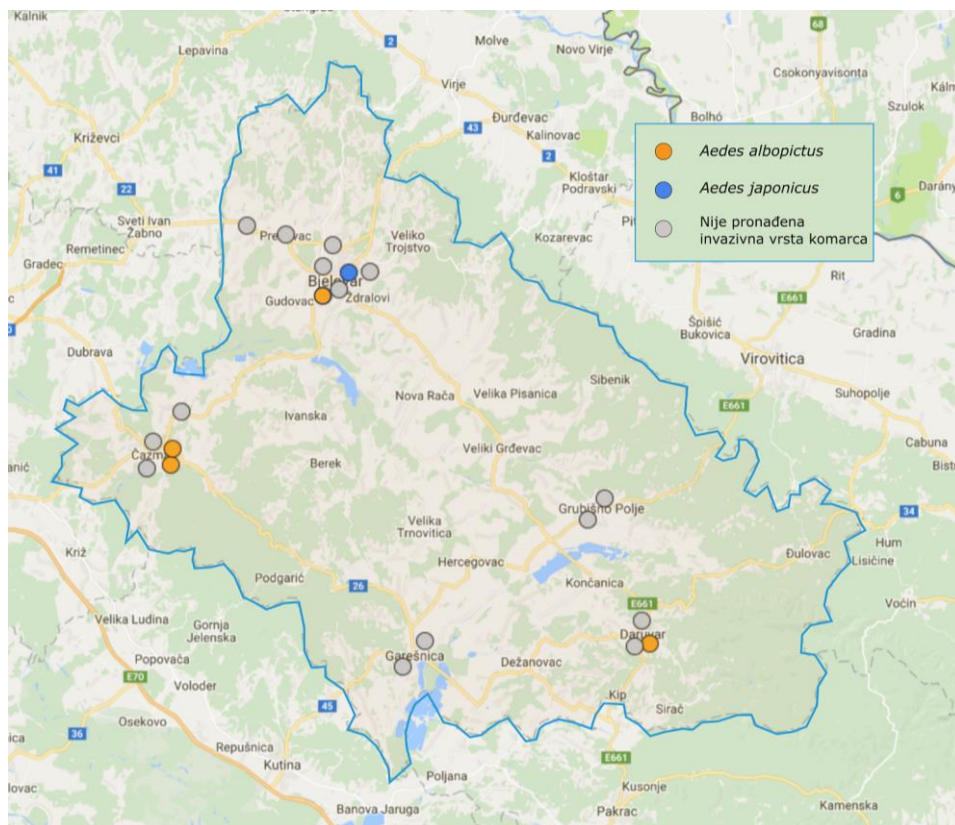
4.3. Rasprostranjenost i širenje areala invazivnih vrsta komaraca *Ae. albopictus* i *Ae. japonicus* na području Bjelovarsko-bilogorske županije

Tijekom istraživanja koje je provedeno u Bjelovarsko-bilogorskoj županiji u 2015. i 2016. godini ukupno je postavljeno 2.895, a pregledano 2.847 klopki (48 nije pronađeno) (tablica 33).

Tablica 33. Broj uzorkovanja, klopki i jaja komaraca tijekom 2015. i 2016. godine.

Godina uzorkovanja	2015.	2016.
Ukupno pregledano klopki	1.306	1.541
Broj pozitivnih klopki	9 (0,69 %)	44 (2,86%)
Ukupan broj jaja u klopkama	305	1.067

U 2015. godini tijekom 22 tjedna uzorkovanja s 20 lokaliteta pregledano je 1.306 klopki. Jaja komaraca pronađena su u devet klopki (0,69%) na šest lokaliteta, ukupno je izbrojeno 385 jaja. Na četiri lokaliteta u četiri klopke dokazana je vrsta *Ae. albopictus*: Čazma (dvorište obiteljske kuće i dvorište Doma zdravlja), Bjelovar (dvorište vulkanizerske radionice) i Daruvar (dvorište Doma zdravlja) (slika 63). Nakon nalaza u vulkanizerskoj radionici u Bjelovaru (klopka izložena u 37. tjednu, sredina rujna), tijekom narednih dva tjedna obavljani su terenski izvidi i pregled guma kako bi se pronašle ličinke komaraca, no ličinke nisu pronađene. Sva četiri nalaza vrste *Ae. albopictus* zabilježena su u rujnu. U samo jednoj klopki dokazana je vrsta *Ae. japonicus*; daščica s ukupno pet jaja uzeta je iz klopke 28.07. (T30) u dvorištu vulkanizerske radionice u Bjelovaru (slika 32). Broj uzorkovanih jaja u klopkama kreće se od jedan do 23. U dvije ovipozicijske klopke pronađena su jaja vrste *Oc. geniculatus* koja su uzorkovana u 23. i 26. tjednu (lipanj) u dvorištu Doma zdravlja u Grubišnom polju. Iz dvije klopke jaja komaraca nisu se razvila u ličinke, stoga vrsta nije dokazana: Daruvar (29. tjedan, 136 jaja, dvorište stanice za tehnički pregled vozila) i Bjelovar (38. tjedan, 47 jaja, dvorište obiteljske kuće). Odrasla jedinka vrste *Ae. albopictus* uzorkovana je u istoj obiteljskoj kući u Bjelovaru u 34. tjednu.



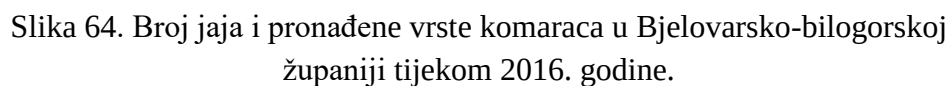
Slika 63. Lokaliteti nalaza invazivnih vrsta komaraca u Bjelovarsko-bilogorskoj županiji tijekom 2015. godine.

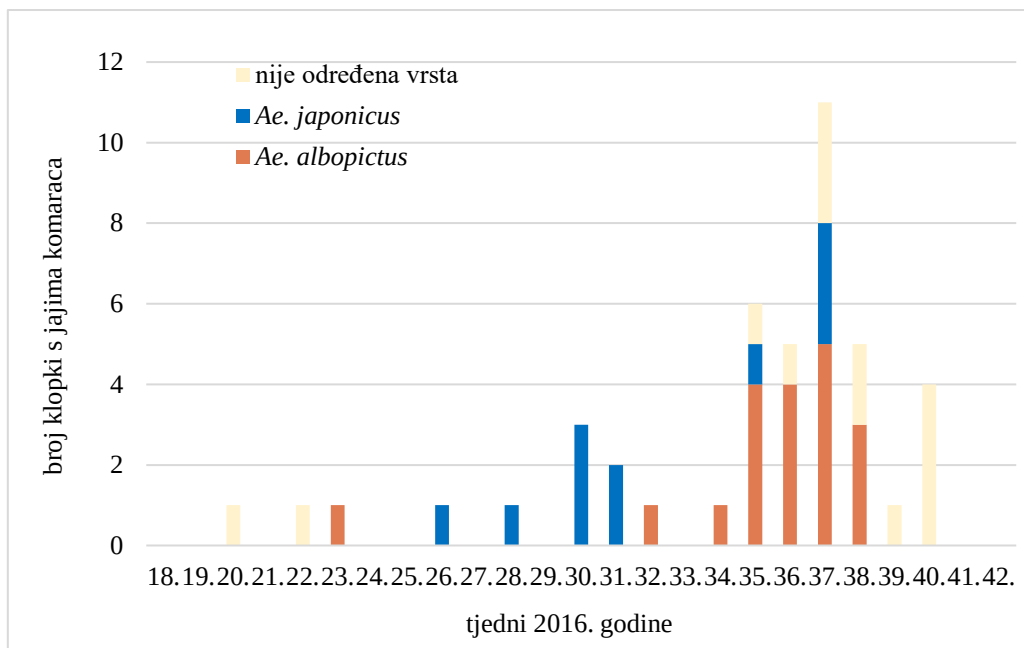
U 2016. godini ukupno je pregledana 1541 klopka s 21 lokaliteta tijekom 25 tjedana. Ukupno je izbrojeno 1067 jaja komaraca u 44 klopke (2,86%).

Vrsta *Ae. albopictus* dokazana u 19 klopki (1,23%), u četiri grada na 11 lokaliteta: Bjelovar (5), Čazma (1), Daruvar (4) i Grubišno Polje (1) (slika 64). Lokaliteti nalaza su: vulkanizerska radionica (5 nalaza), dvorište građevinske tvrtke (2), dvorišta obiteljskih kuća (4), tvrtka za sakupljanje i obradu otpada (1), groblja (3) dvorište doma zdravlja (1), stanica za tehnički pregled vozila (1), autoservis (1), odmorište i parkiralište za kamione (1). Vrsta je najčešće dokazana u kolovozu i prvoj polovini rujna (od 32. do 38. tjedna), a broj jaja se kreće od 1 do 32 (slike 64 i 65). Najčešći nalaz (pet puta) bio je u dvorištu vulkanizerske radionice u Bjelovaru (lokalitet nalaza iz 2015. godine).

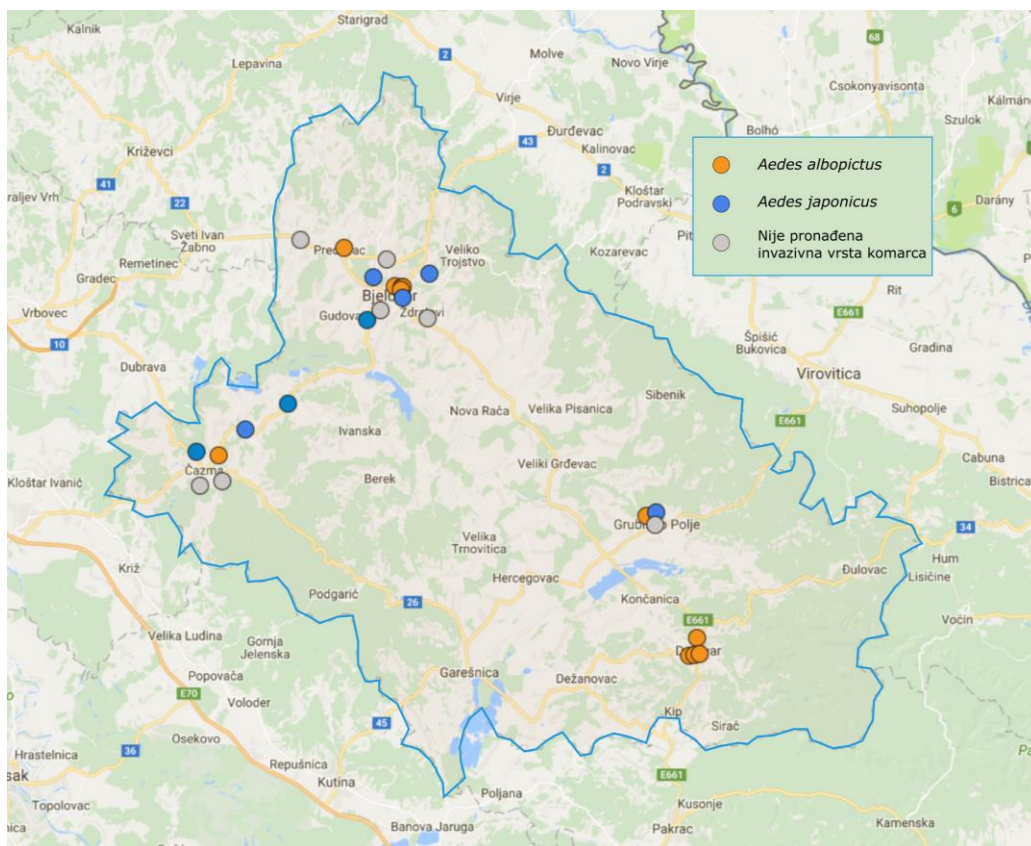
Vrsta *Ae. japonicus* pronađena je u 11 (0,71%) klopki u pet gradova (naselja), na ukupno osam lokaliteta: Bjelovar (4), Štefanje (1), Čazma (1), Grubišno Polje (1) i Gornji Draganec (1) (slika 66). Lokaliteti nalaza su vulkanizerska radionica (1), groblja (4), dvorišta obiteljske kuće (2), dvorište građevinske tvrtke koja se nalazi uz carinsku službu (1) i dvorište tvornice za

Jaja iz 14 klopki nisu se razvila u ličinke, a uzorkovana su na lokalitetima na kojima je prethodno dokazana jedna ili obje invazivne vrste.





Slika 65. Dinamika pojave invazivnih vrsta komaraca u Bjelovarsko-bilogorskoj županiji tijekom 2016. godine.



Slika 66. Karta s lokalitetima nalaza invazivnih vrsta komaraca u Bjelovarsko-bilogorskoj županiji tijekom 2016. godine.

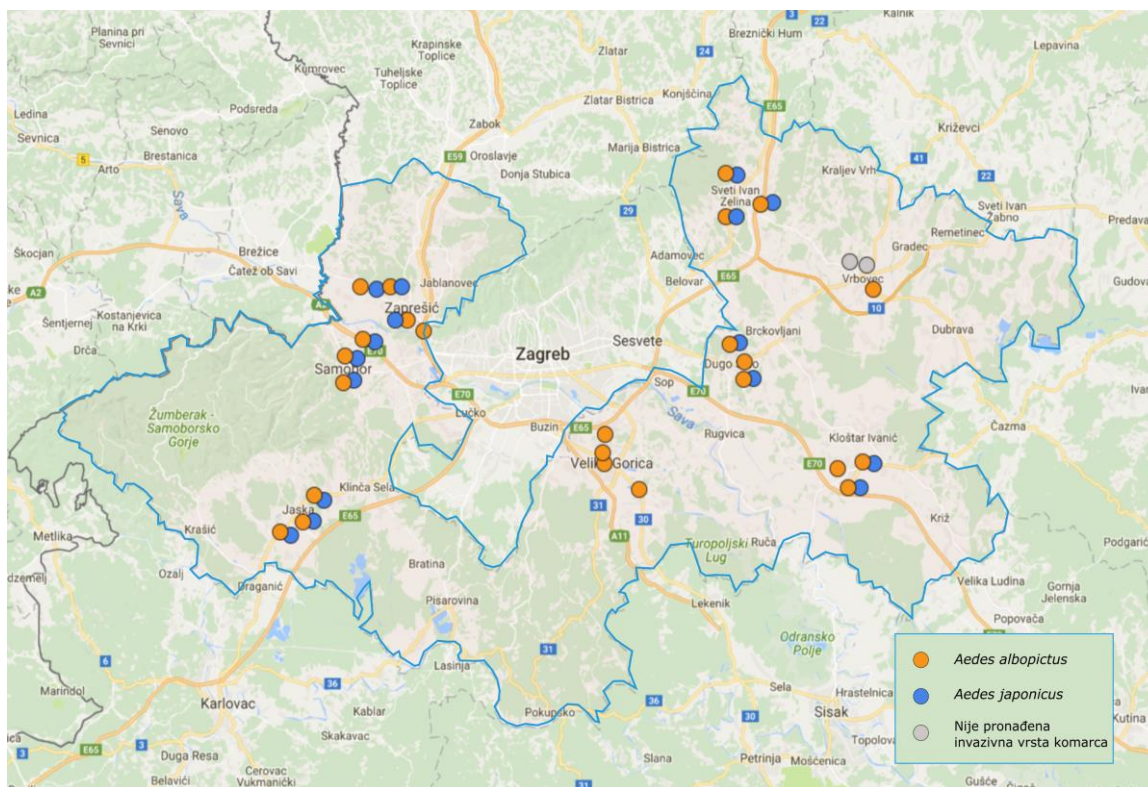
4.5. Rasprostranjenost invazivnih vrsta komaraca *Ae. albopictus* i *Ae. japonicus* na području Zagrebačke županije

Istraživanje rasprostranjenosti invazivnih vrsta komaraca u Zagrebačkoj županiji provedeno je tijekom 2016. godine u osam gradova i naselja (od sjeverozapada prema sjeveroistoku): Zaprešić, Samobor, Jastrebarsko, Velika Gorica, Ivanić Grad, Dugo Selo, Vrbovec i Sveti Ivan Zelina. Ukupno je pregledano 1.848 klopki s 26 lokaliteta, u 26,73% (494) klopki pronađena su jaja invazivnih vrsta komaraca. Prebrojeno je ukupno 28.881 jaje (tablica 34).

Tablica 34. Broj uzorkovanja, klopki, jaja te nalazi vrsta komaraca u Zagrebačkoj županiji u 2016. godini.

	Ukupan broj tjedana uzorkovanja	Broj lokaliteta (mikrolokaliteta) uzorkovanja	Ukupno pregledano klopki	Broj pozitivnih klopki	Ukupan broj jaja u klopkama	Pronađene vrste komaraca
Zaprešić	26	4 (12)	285	111 (38,94%)	7.214	<i>Ae. albopictus</i> , <i>Ae. japonicus</i>
Samobor	26	3 (9)	198	89 (44,94%)	5.576	<i>Ae. albopictus</i> , <i>Ae. japonicus</i>
Jastrebarsko	26	3 (9)	222	48 (21,62%)	1.329	<i>Ae. albopictus</i> , <i>Ae. japonicus</i>
Velika Gorica	27	4 (12)	259	143 (55,21%)	10.976	<i>Ae. albopictus</i>
Ivanić Grad	25	3 (9)	221	28 (12,67%)	885	<i>Ae. albopictus</i> , <i>Ae. japonicus</i>
Dugo Selo	25	3 (9)	221	39 (17,64)	1.454	<i>Ae. albopictus</i> , <i>Ae. japonicus</i>
Vrbovec	25	3 (9)	211	1 (0,47%)	7	<i>Ae. albopictus</i>
Sveti Ivan Zelina	26	3 (9)	231	34 (14,71%)	1.440	<i>Ae. albopictus</i> , <i>Ae. japonicus</i>
		26 (78)	1848	494 (26,73%)	28.881	

Vrsta *Ae. albopictus* pronađena je u svim gradovima, a vrsta *Ae. japonicus* u Zaprešiću, Samoboru, Jastrebarskom, Ivanić Gradu, Dugom Selu i Zelini (slika 67).

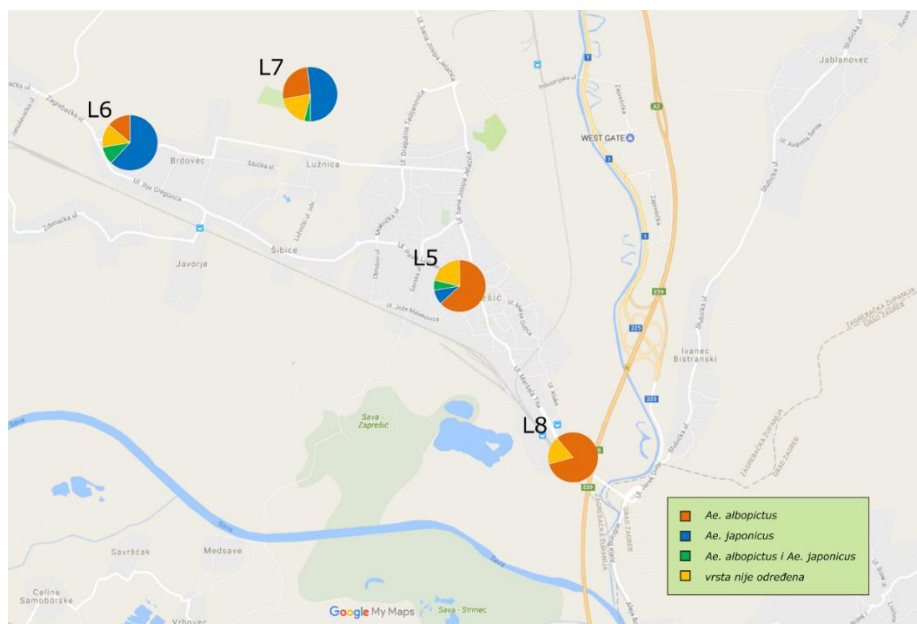


Slika 67. Karta s lokalitetima nalaza invazivnih vrsta komaraca u Zagrebačkoj županiji tijekom 2016. godine.

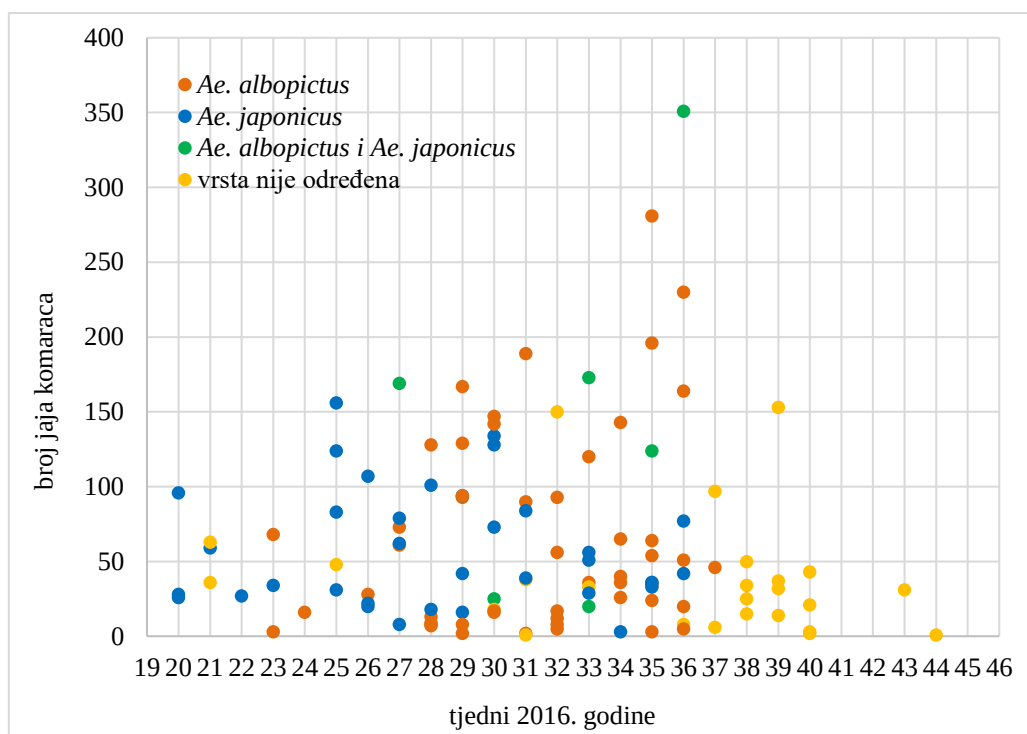
Tijekom 26 tjedana uzorkovanja jaja komaraca na području Zaprešića, u 111 pozitivnih klopki (38,94% ukupnog broja klopki), s četiri lokaliteta (12 mikrolokaliteta) pobrojeno je ukupno 7.214 jaja komaraca. Vrsta *Ae. japonicus* dokazana je u 36,94% (41/111) pozitivnih klopki, vrsta *Ae. albopictus* u 50,45% (56/111) pozitivnih klopki, a u šest klopki (5,40%) se pojavljuju zajedno (na istoj lesionitnoj daščici). Na tri lokaliteta (L5, dvorište doma zdravlja; L6, dvorište privatne kuće u Brdovcu i L7, gradsko groblje) pronađene su obje invazivne vrste komaraca pri čemu je u dvorištu doma zdravlja (L5) vrsta *Ae. albopictus* pronađena 23 puta (23/28 ili 82,14% determiniranih uzoraka), a vrsta *Ae. japonicus* pet puta (dakle u 5/28 ili 17,86% determiniranih uzoraka). Na lokalitetima L6 i L7 (nalaze se zapadnije od L5) dominantna vrsta je *Ae. japonicus*, pri čemu je na lokalitetu L6 *Ae. japonicus* pronađen u 84,00% (21/25), a na lokalitetu L7 u 68,18% (15/22) determiniranih uzoraka. Na sva tri

lokaliteta tijekom jednog, dva ili tri uzorkovanja zabilježene su obje vrste komaraca na istoj lesonitnoj daščici. Na četvrtom lokalitetu uzorkovanja (L8, benzinska postaja) koji je smješten najistočnije među promatranim točkama (u blizini granice s gradom Zagrebom) pronađena je samo vrsta *Ae. albopictus* (slika 68).

Broj jaja u klopama kreće se od 1 do 351. Pojava vrste *Ae. japonicus* zabilježena je već u prvom tjednu uzorkovanja (20. tjednu) na lokalitetu L6, a pojava *Ae. albopictus* u 23. tjednu na dva lokaliteta. Najveći zbirni broj jaja u svih 12 klopki i obje vrste komaraca na području Zaprešića zabilježen je u 36. tjednu (prva polovina rujna) s 948 jaja i gustoćom 79,00. Broj jaja i pojavljivanje vrsta komaraca u sezoni prikazuje slika 69.



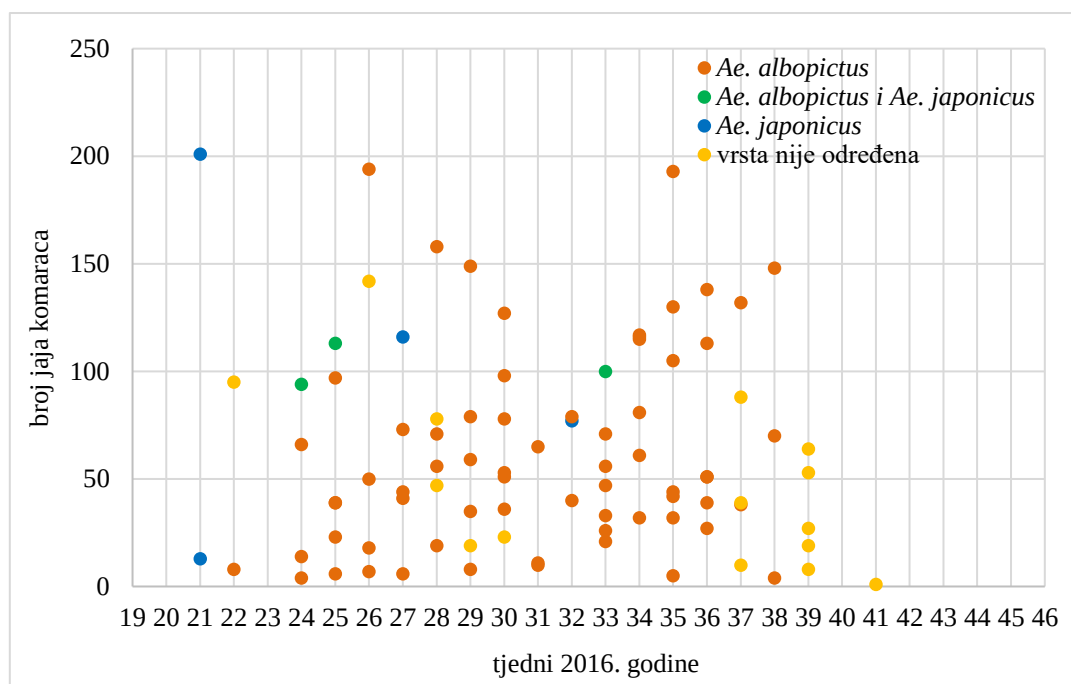
Slika 68. Zastupljenost invazivnih vrsta komaraca na lokalitetima u Zaprešiću tijekom 2016. godine.



Slika 69. Broj jaja i vrste komaraca uzorkovane u Zaprešiću tijekom 2016. godine.

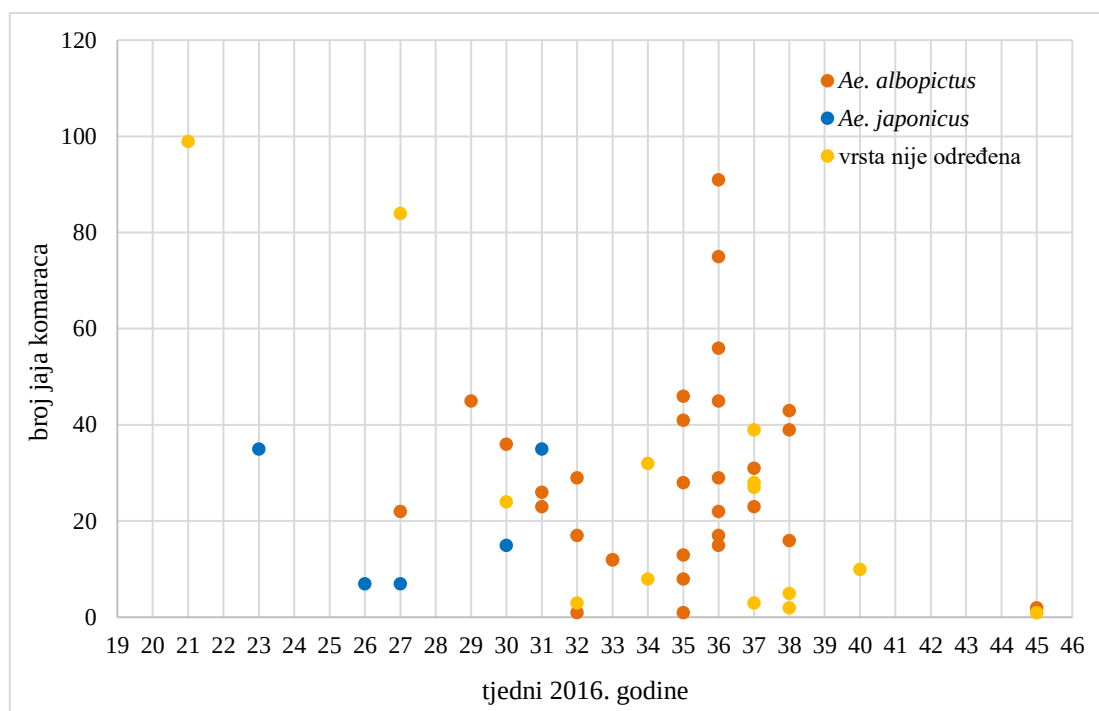
Na području Samobora prebrojeno je 5.576 jaja u 44,94% (89/198) pozitivnih klopki tijekom 26 tjedana uzorkovanja (od 20. do 45. tjedna) na tri lokaliteta (9 mikrolokaliteta). Pri tome je vrsta *Ae. albopictus* pronađena u 75,28% pozitivnih klopki, vrsta *Ae. japonicus* u 7,86%, a u 16,85% klopki nije određena vrsta komarca (slika 70). Na svakom je lokalitetu kontinuirano tijekom sezone zabilježena vrsta *Ae. albopictus*. Najveći ukupni broj jaja zabilježen je na gradskom groblju Samobor (L17) gdje je 66,66% klopki izloženih na tom lokalitetu bilo pozitivno, pri čemu je vrsta *Ae. albopictus* pronađena u 80,95% (34/42) pozitivnih klopki tog lokaliteta. Na groblju je zabilježen i najveći broj jaja vrste *Ae. albopictus* u pojedinačnoj klopci, a iznosi 193. Na ostala dva lokaliteta postotak pozitivnih klopki je bio manji: kod doma zdravlja (L15) 34,78%, a kod benzinske crpke na sjeveru Samobora (L16) 27,94%. Vrsta *Ae. japonicus* pronađena je na svakom lokalitetu: na groblju u četiri klopke (9,52%, 4/42 pozitivnih klopki), od čega u dvije klopke zajedno s vrstom *Ae. albopictus*; na L15 je pronađena jedan put u klopci zajedno s vrstom *Ae. albopictus*, dok je na L16 zabilježena dva puta.

Najveći ukupni broj jaja zabilježen je u 26. tjednu kada je u pet pozitivnih klopki izbrojeno 343 jaja, a zabilježen je i maksimalni broj jaja vrste *Ae. albopictus* u klopci, iznosio je 194 jaja (slika 70).



Slika 70. Broj jaja i vrste komaraca uzorkovane tijekom 2016. godine u Samoboru.

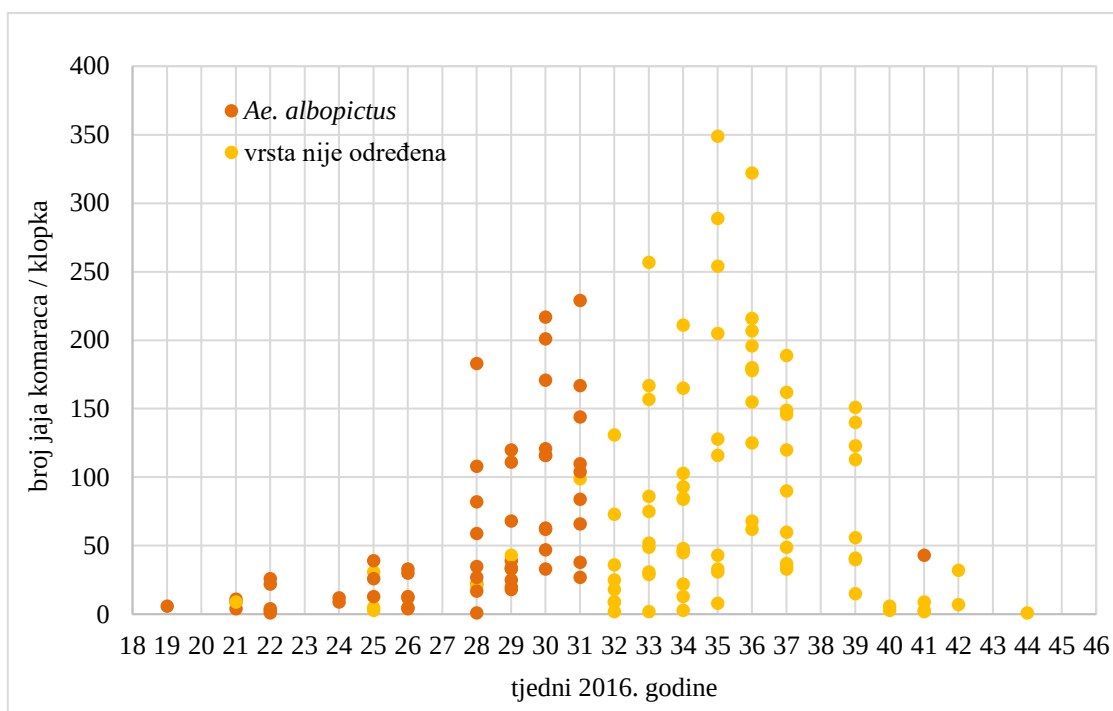
Tijekom 26 tjedana uzorkovanja (od 20. do 45. tjedna) na tri lokaliteta (9 mikrolokaliteta) u Jastrebarskom jaja komaraca zabilježena su u 21,62% (48/222) klopki, ukupno je pobrojeno 1.329 jaja komaraca. Vrsta *Ae. japonicus* zabilježena je u samo šest klopki (12,5% pozitivnih klopki), s jednim nalazom na gradskom groblju (15 jaja) i pored benzinske crpke (99 jaja) (L10 i L11) te s četiri nalaza (7, 7, 35 i 35 jaja) u dvorištu doma zdravlja (L9). Nakon 31. tjedna više nije zabilježena. Ostali determinirani uzorci su vrsta *Ae. albopictus*. Najveći broj jaja vrste *Ae. albopictus* uzorkovan u jednoj klopci iznosi 91 (slika 71) i pronađen je u 36. tjednu. U istom tjednu je zabilježen najveći ukupni tjedni broj jaja (350) i najveća prevalencija pozitivnih klopki (88,9%), pri čemu je gustoća iznosila 43,75.



Slika 71. Broj jaja i vrste komaraca uzorkovane tijekom 2016. godine u Jastrebarskom.

U Velikoj Gorici uzorkovanje je provedeno tijekom 27 tjedana (od 19. do 45. tjedna) pri čemu su četiri puta klopke bile izložene dva tjedna. Lokaliteti uzorkovanja (12 mikrolokaliteta) su: dvorište doma zdravlja, benzinska crpka, gradsko groblje i područje Zračne luke Pleso. Jaja komaraca zabilježena su u 55,21% (143) klopki, ukupno je pobrojeno 10.976 jaja. Na svakom lokalitetu kontinuirano tijekom sezone zabilježena je vrsta *Ae. albopictus*. Vrsta *Ae. japonicus* nije dokazana.

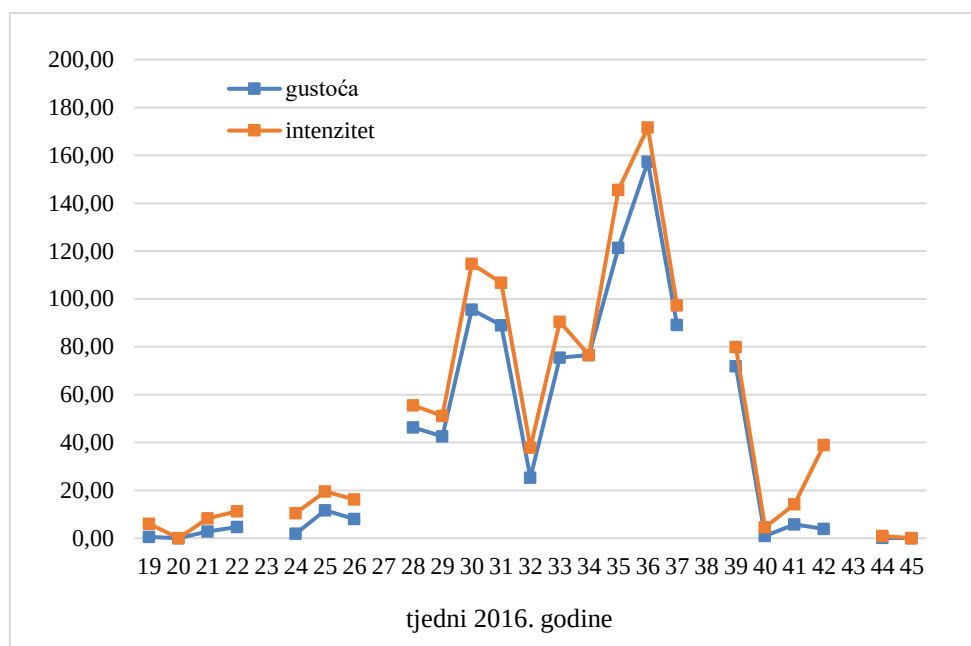
Broj jaja u klopama kreće se od 1 do 349 (slika 72). Pojava vrste *Ae. albopictus* zabilježena je već u prvom tjednu uzorkovanja (19. tjedan) s 1/11 pozitivnih klopki, klopka sa šest jaja pronađena je na području zračne luke Pleso (L4). Uočljiv porast broja položenih jaja zabilježen je u 28. tjednu s 83,33% (10/12) pozitivnih klopki. Najveći zbirni broj jaja (1.888 jaja) u svih 12 klopki u Velikoj Gorici zabilježen je u 36. tjednu (kao i u Zaprešiću) pri čemu je gustoća iznosila 157,33; a intenzitet 171,64 (slika 73). Najveći broj pozitivnih klopki (100%) zabilježen je u 34. tjednu. U 35. tjednu zabilježen je najveći broj jaja u jednoj klopki pronađen tijekom sezone (kao i na području Zaprešića), izbrojeno je 349 jaja u klopki s područja zračne luke Pleso. Na istom lokalitetu uzorkovan je najveći ukupni broj jaja u sezoni (ukupno 3.518). Pad aktivnosti komaraca uočava se u 40., a prestanak aktivnosti u 45. tjednu.



Slika 72. Broj jaja i vrste komaraca uzorkovane tijekom 2016. godine u Velikoj Gorici.

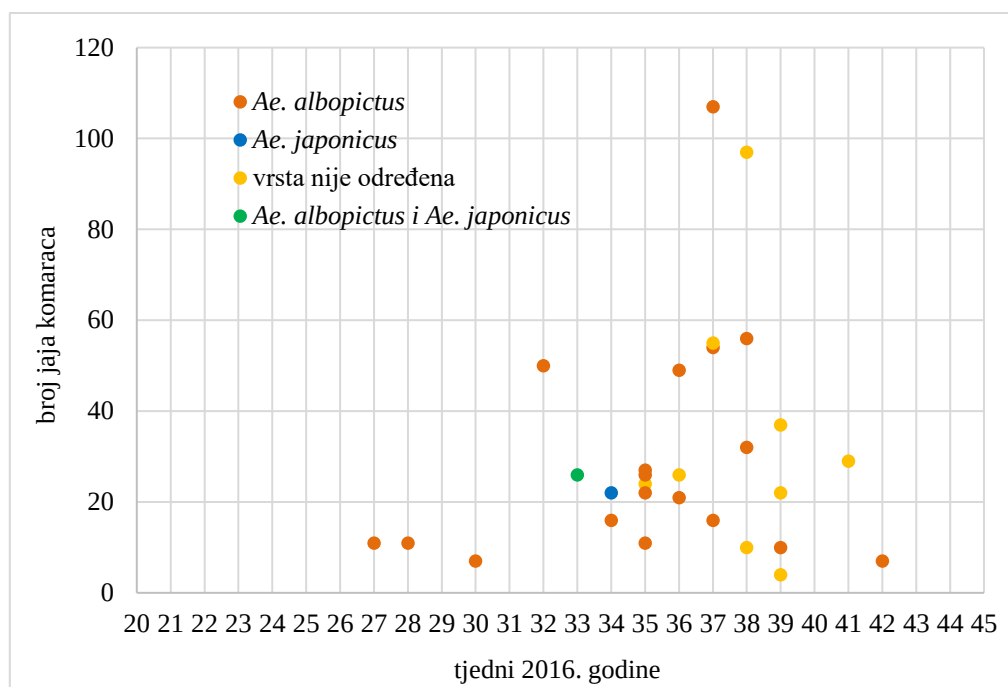
Prosječna tjedna gustoća položenih jaja na četiri lokaliteta u Velikoj Gorici tijekom sezone 2016. godine iznosila je 42,38. Krivulja gustoće položenih jaja tijekom sezone prati krivulju intenziteta, a u vrijeme najviše aktivnosti komaraca male su razlike u vrijednostima prosječne gustoće i intenziteta što pokazuje visoki postotak pozitivnih klopki (slika 73).

Dokazivanje vrste komaraca iz jaja (razvijanje jaja u ličinke radi determinacije vrsta) uspješno je obavljeno do 31. tjedna (slika 70). Nakon toga postupak razvijanja se odvijao u drugoj prostoriji Odjela za DDD Nastavnog Zavoda za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“, što je utjecalo na vrlo slab rezultat razvijanja jaja u ličinke (nisu se razvijala).



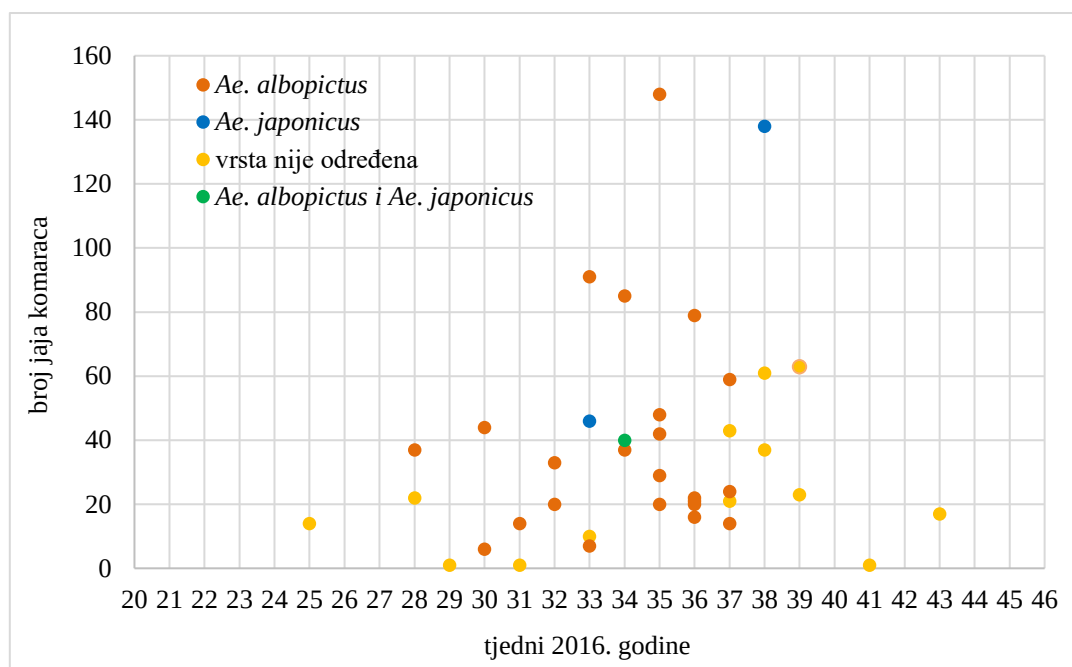
Slika 73. Kretanje gustoće i intenziteta položenih jaja tijekom 2016. godine u Velikoj Gorici.

U Ivanić Gradu je zabilježeno 12,67% (28/221) pozitivnih klopki tijekom 25 tjedana uzorkovanja na tri lokaliteta (9 mikrolokaliteta). Ukupno je prebrojeno 885 jaja komaraca. Najveći broj jaja komaraca zabilježen je kod doma zdravlja (L21) i iznosi 70,39% (623) od ukupnog broja jaja uzorkovanih na tri lokaliteta. Na tom lokalitetu vrsta *Ae. albopictus* zabilježena je od 29. do 41. tjedna, najveći broj jaja bio je 107, dok je na ostala dva lokaliteta dokazana u svega u nekoliko klopki. Vrsta *Ae. japonicus* zabilježena je u dvije klopke; kod doma zdravlja (L21) i u privatnom dvorištu na adresi I. G. Kovačića (L22). Na gradskom groblju (L23) zabilježeno je 6,85% (5/73) pozitivnih klopki pri čemu je uzorkovano ukupno 86 jaja (9,72% od ukupnog broja) (slika 74).



Slika 74. Broj jaja i vrste komaraca uzorkovane tijekom 2016. godine u Ivanić Gradu.

Tijekom 25 tjedana uzorkovanja na tri lokaliteta (9 mikrolokaliteta) u Dugom Selu zabilježeno je 17,65% (39/221) pozitivnih klopki. Vrsta *Ae. albopictus* pronađena je u 24 klopke (61,53% pozitivnih klopki), a vrsta *Ae. japonicus* u tri klopke (7,69%). Ukupno su izbrojena 1.454 jaja komaraca. Najveći broj jaja komaraca zabilježen je kod doma zdravlja (L24) i iznosi 56,39% (820) od ukupnog broja. Na tom lokalitetu zabilježena je samo vrsta *Ae. albopictus*, dok je na ostala dva zabilježena i vrsta *Ae. japonicus* s jednim (privatno dvorište, B. Huzanića, L25) te dva nalaza (gradsko groblje, L26). Najveći zabilježen broj jaja vrste *Ae. albopictus* iznosi 148 (L24) (slika 75).

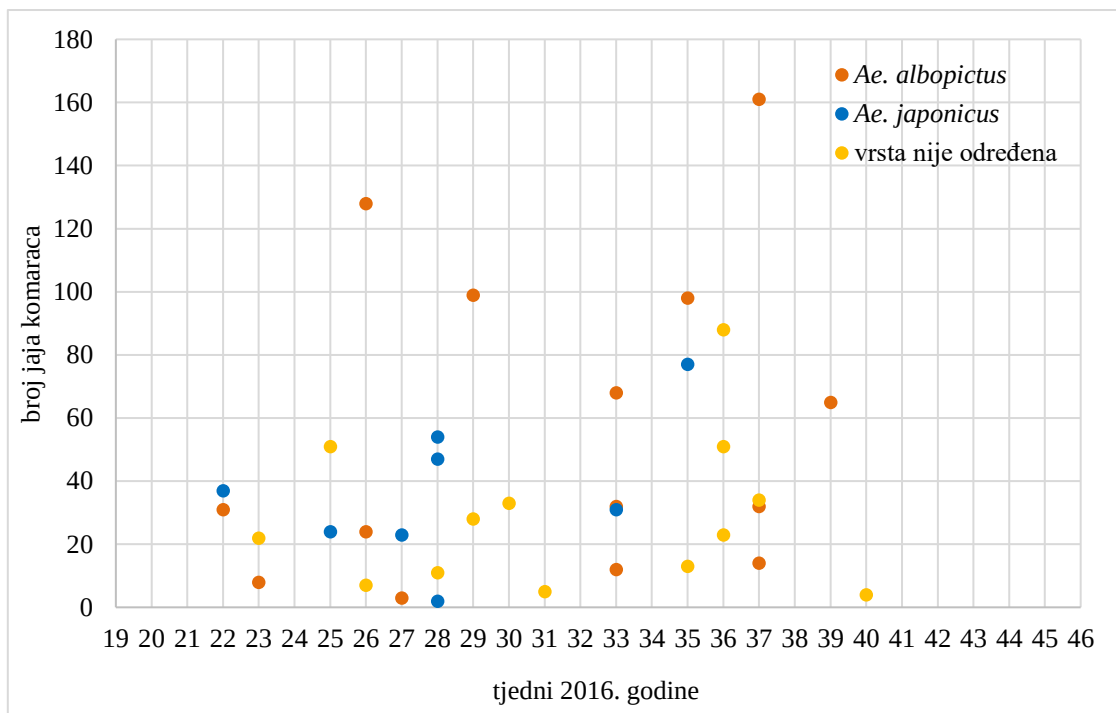


Slika 75. Broj jaja i vrste komaraca tijekom uzorkovanja u 2016. godini u Dugom Selu.

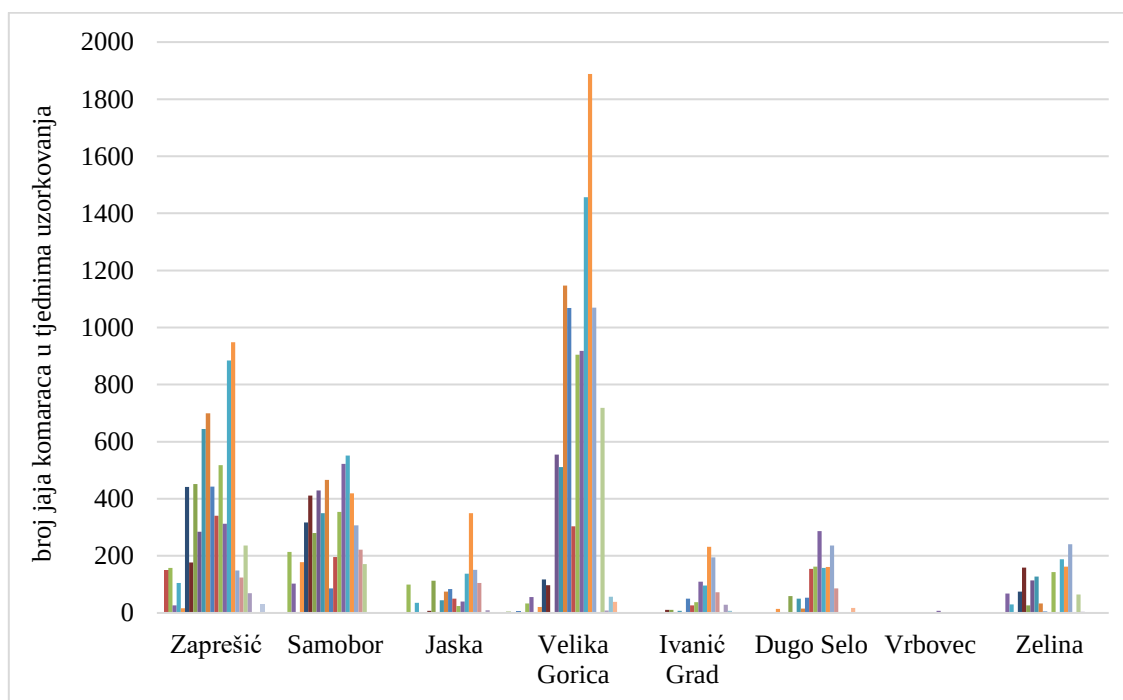
U Vrbovcu je tijekom 25 tjedana zabilježena samo jedna pozitivna klopka sa sedam jaja komaraca vrste *Ae. albopictus*, a uzorkovana je u 34. tjednu na gradskom groblju.

U Svetom Ivanu Zelini tijekom 26 tjedana uzorkovanja na tri lokaliteta (9 mikrolokaliteta) zabilježeno je 14,71% (34/231) pozitivnih klopki i obje invazivne vrste komaraca, *Ae. albopictus* i *Ae. japonicus* (slika 76). Ukupno su izbrojena 1.440 jaja komaraca. Najveći broj jaja komaraca zabilježen je kod doma zdravlja (L12) i iznosi 52,29% (753) od ukupnog broja. Vrsta *Ae. japonicus* zabilježena je u 41,17% (14/34) pozitivnih klopki, a vrsta *Ae. albopictus* u manjem postotku, 23,53% (8/34).

Na slici 77 prikazano je kretanje broja jaja komaraca na svim lokalitetima u Zagrebačkoj županiji tijekom istraživanja 2016. godine. Zapaža se da je najveći tjedni broj komaraca uzorkovan u Velikoj Gorici, a zatim u Zaprešiću.



Slika 76. Broj jaja i vrste komaraca tijekom uzorkovanja u 2016. godini u Sv. Ivanu Zelini.



Slika 77. Broj jaja komaraca tijekom tjedana istraživanja u 2016. godini na svim lokalitetima u Zagrebačkoj županiji.

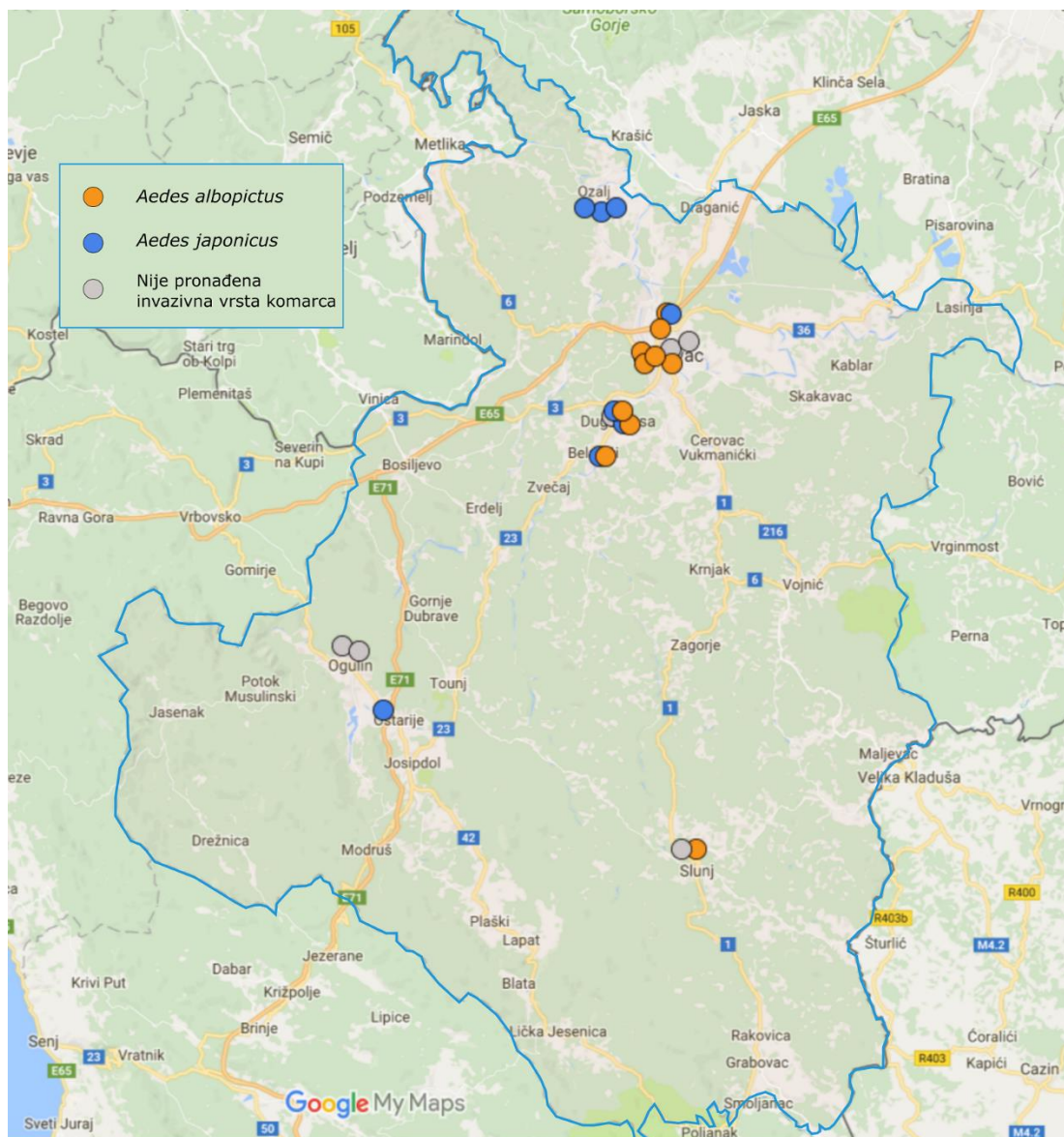
4.5. Rasprostranjenost invazivnih vrsta komaraca *Ae. albopictus* i *Ae. japonicus* na području Karlovačke županije

Istraživanje u Karlovačkoj županiji provedeno je tijekom 2016. godine u šest gradova i naselja: Karlovac, Vodostaj, Ozalj, Duga Resa, Ogulin i Slunj. Ukupno je pregledano 575 klopki s 21 lokaliteta, na 34,96% (201) klopki pronađena su jaja invazivnih vrsta komaraca. Prebrojeno je ukupno 15.142 jaja (tablica 35).

Tablica 35. Broj uzorkovanja, klopki, jaja te nalazi vrsta komaraca u Karlovačkoj županiji u 2016. godini.

	Ukupan broj tjedana uzorkovanja	Broj lokaliteta (mikrolokaliteta) uzorkovanja	Ukupno obrađeno klopki	Broj pozitivnih klopki	Ukupan broj jaja u klopama	Pronađene vrste komaraca
Karlovac	24	7 (18)	363	146 (40,22%)	9.894	<i>Ae. albopictus</i> , <i>Ae. japonicus</i>
Vodostaj	7	1 (2)	14	0	0	-
Ozalj	24	3 (3)	62	18 (29,03%)	1.251	<i>Ae. japonicus</i>
Duga Resa	24	5 (13)	96	33 (34,37%)	3.737	<i>Ae. albopictus</i> , <i>Ae. japonicus</i>
Ogulin	24 (klopke izložene 14 dana)	3 (3)	30	2 (6,66%)	69	<i>Ae. japonicus</i>
Slunj	5	2 (2)	10	2 (20,00%)	97	<i>Ae. albopictus</i>
Ukupno		21 (41)	575	201 (34,96%)	15.121	

Vrsta *Ae. albopictus* pronađena je Karlovcu, Dugoj Resi i Slunju, a vrsta *Ae. japonicus* u Karlovcu, Ozlju, Dugoj Resi i Ogulinu (slika 78).

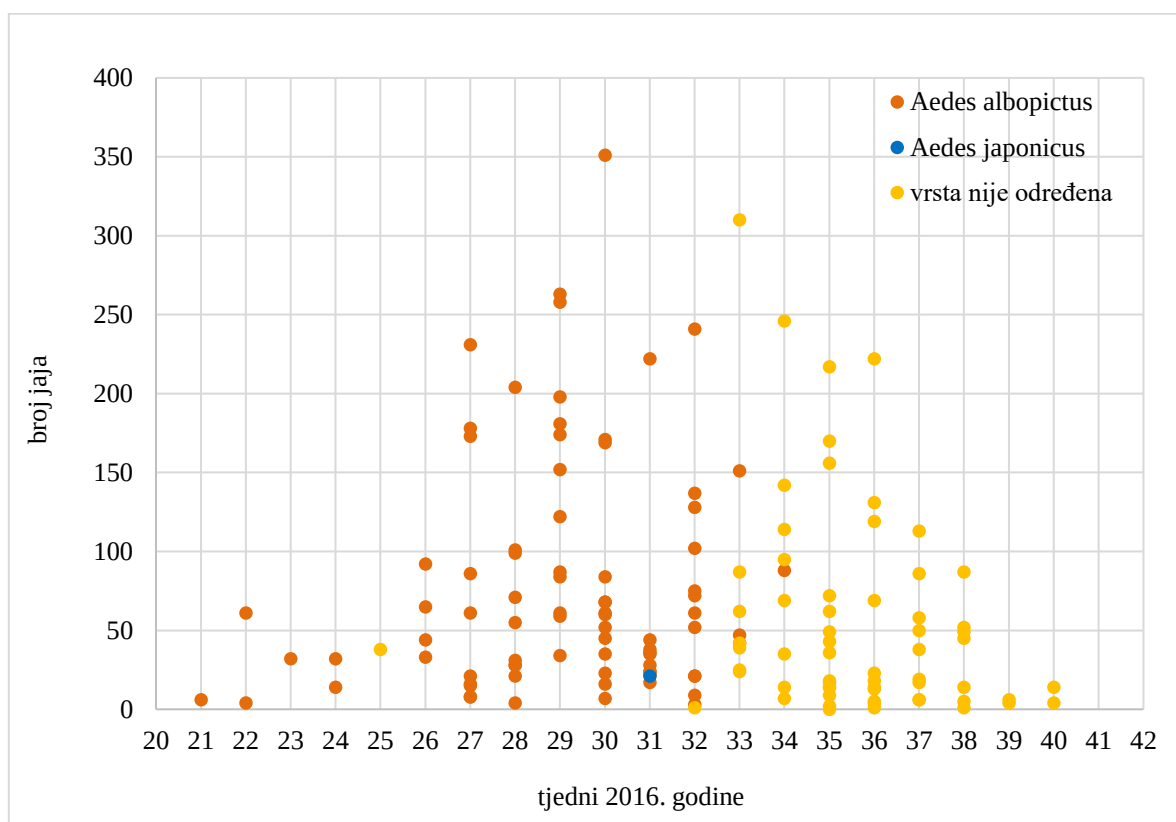


Slika 78. Karta s lokalitetima nalaza invazivnih vrsta komaraca u Karlovačkoj županiji.

U gradu Karlovcu uzorkovanje je tijekom 24 tjedna provedeno na šest lokaliteta, a sedmi lokalitet je bio uključen od svibnja do kraja lipnja (tijekom sedam tjedana). Ukupno su prebrojena 9.894 jaja. Vrsta *Ae. albopictus* pronađena je na šest lokaliteta, na pojedinima kontinuirano tijekom sezone. Na sedmom lokalitetu (uzorkovanje provedeno kraće) vrsta nije pronađena. Vrsta *Ae. japonicus* dokazana je samo jedan put u ovipozicijskoj klopki koja je postavljena u dvorištu vulkanizerske radionice.

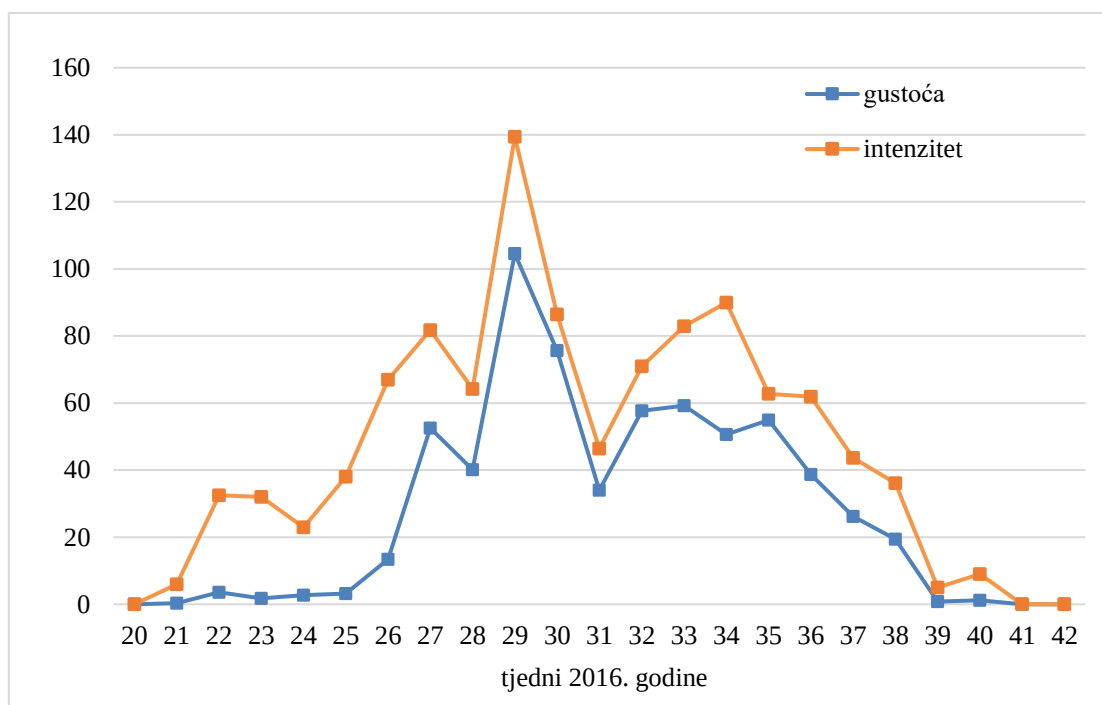
Broj jaja u klopama kreće se od 1 do 351 (slika 79). Najranija pojava vrste *Ae. albopictus* zabilježena je u 21. tjednu (početak lipnja) na groblju Dubovac kada je u klopki

pronađeno šest jaja. Najveći zbirni broj jaja u svim klopama u Karlovcu zabilježen je u 29. tjednu (konac srpnja), a najveći broj pozitivnih klopki (87,50%) u 31. tjednu. U istom, 31. tjednu zabilježen je i najveći broj jaja u klopci uzorkovan tijekom sezone, prebrojeno je 351 jaje iz klopke s groblja Jamadol. Na istom lokalitetu uzorkovan je najveći ukupni broj jaja u sezoni, ukupno 3.393 jaja na tri mikrolokaliteta, a zabilježena je i najduža aktivnost komaraca u Karlovcu (do 41. tjedna, druga polovina listopada).



Slika 79. Broj jaja i vrste komaraca tijekom uzorkovanja 2016. godine u Karlovcu.

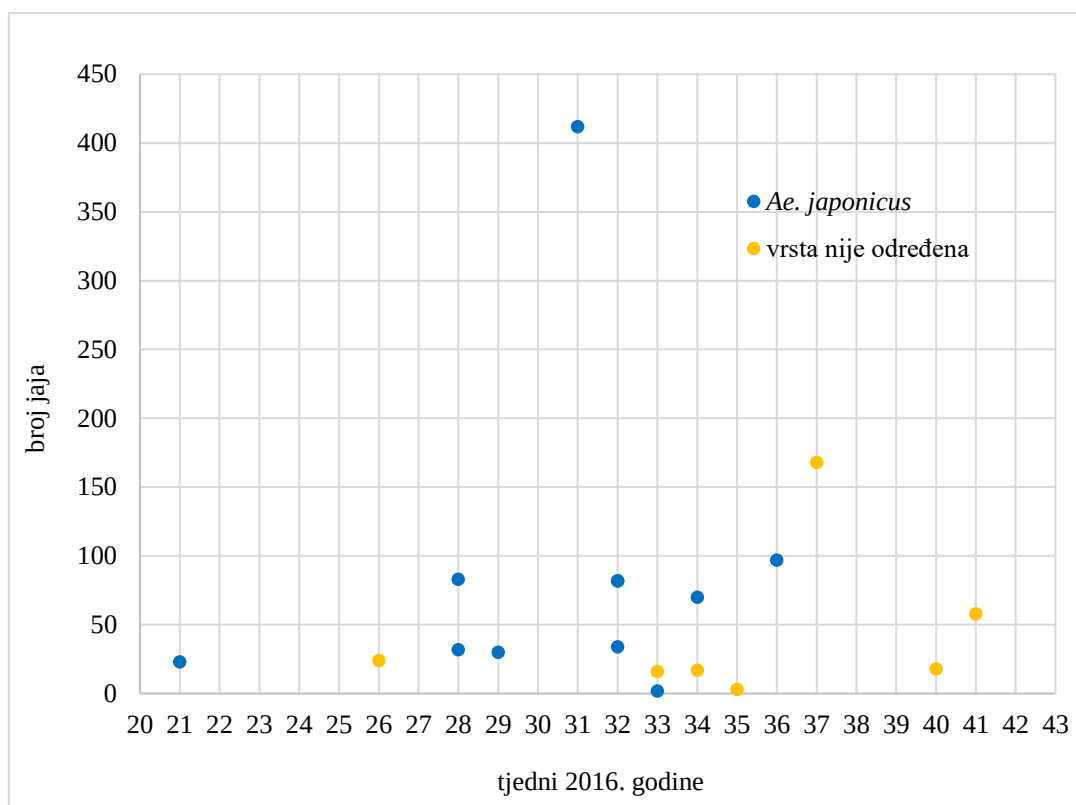
Najveća prosječna gustoća položenih jaja u Karlovcu iznosi 104,56, a zabilježena je u 29. tjednu kada je zabilježen i najviši intenzitet (139,42). Prosječna gustoća u sezoni 2016. godine iznosi 27,71, a prosječan intenzitet 69,68. Krivulja gustoće položenih jaja u većem dijelu sezone prati krivulju intenziteta položenih jaja (slika 80).



Slika 80. Kretanje intenziteta i gustoće položenih jaja tijekom 2016. godine u Karlovcu.

U mjestu Vodostaj istraživanje je provedeno od 20. do 26. tjedna na dva mikrolokaliteta, jaja komaraca nisu pronađena.

U Ozlju su pregledane 62 ovipozicijske klopke s tri lokaliteta (benzinska postaja, park i groblje), u 18 klopki (29,0%) i na sva tri lokaliteta su pronađena jaja vrste *Ae. japonicus*, ukupno 1.251 jaje. Vrsta *Ae. albopictus* nije dokazana (slika 81).

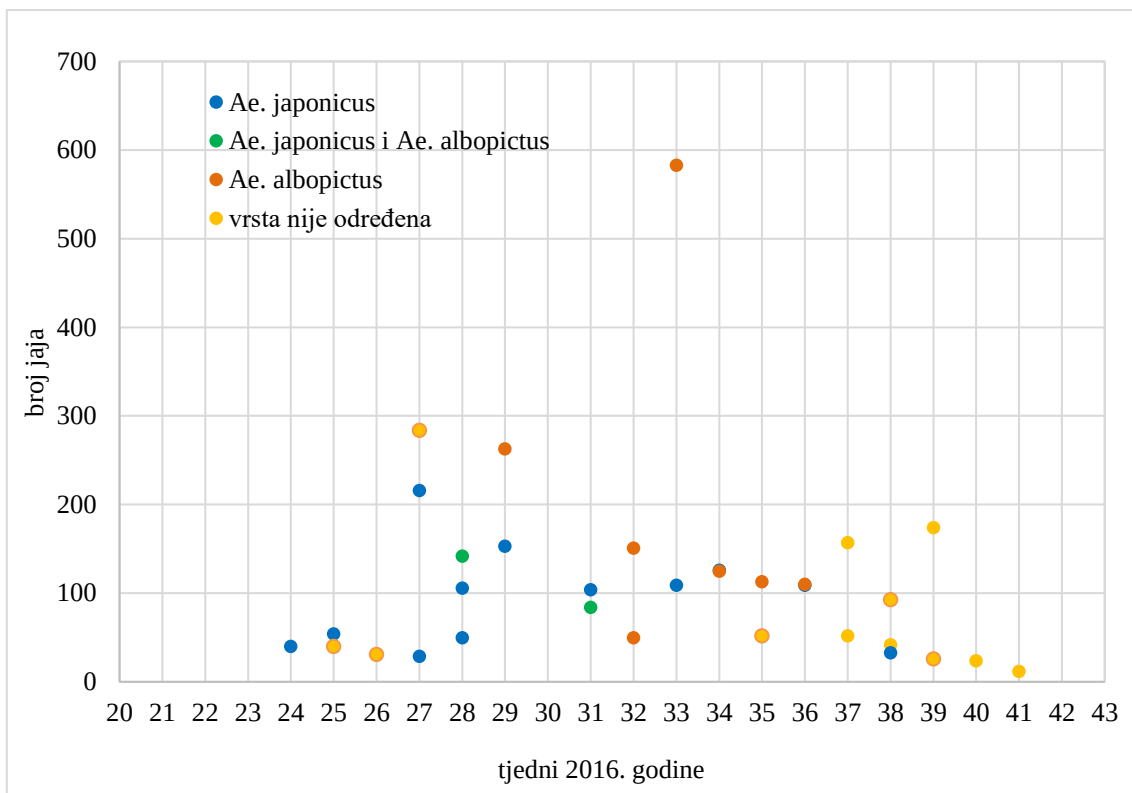


Slika 81. Broj jaja i vrste komaraca u klopama tijekom 2016. godine u Oslju.

U Dugoj Resi uzorkovanje je provedeno tijekom 21 tjedna na četiri lokaliteta. Ukupno je pregledano 96 klopki, pri čemu je u 33 (34,37%) klopke izbrojeno 3.737 jaja komaraca. Na tri lokaliteta pronađene su obje invazivne vrste komaraca, a na četvrtom (na groblju, L13.1) nisu pronađena jaja komaraca. Vrsta *Ae. albopictus* pronađena je u sedam (21,21% pozitivnih klopki), a *Ae. japonicus* u 12 (36,36% pozitivnih klopki) klopki. U 12 klopki nije dokazana vrsta komaraca (jaja se nisu razvila u ličinke). Tijekom dva uzorkovanja, jaja obje vrste su pronađena na istoj lesionitnoj daščici. Najveći broja jaja zabilježen je u 33. tjednu u Parku dr. Franje Tuđmana (L15.1); 583 jaja vrste *Ae. albopictus* (slika 82).

U Slunju je tijekom sezone postavljeno ukupno 10 ovipozicijskih klopki na dva mikrolokaliteta. U dvije klopke kod doma zdravlja pronađena su jaja vrste *Ae. albopictus* (ukupno 97 jaja).

U Ogulinu je uzorkovanje provedeno tijekom 23 tjedna na tri lokaliteta, ukupno je pregledano 30 klopki, a klopke su bile izložene 14 dana. Na lokalitetu u blizini benzinske postaje tijekom dva uzorkovanja pronađena su jaja komaraca i dokazana vrsta *Ae. japonicus* (18.08., 20 jaja). Na ostalim lokalitetima u klopama nije bilo jaja komaraca.



Slika 82. Broj jaja i vrste komaraca uzorkovane tijekom 2016. godine u Dugoj Resi.

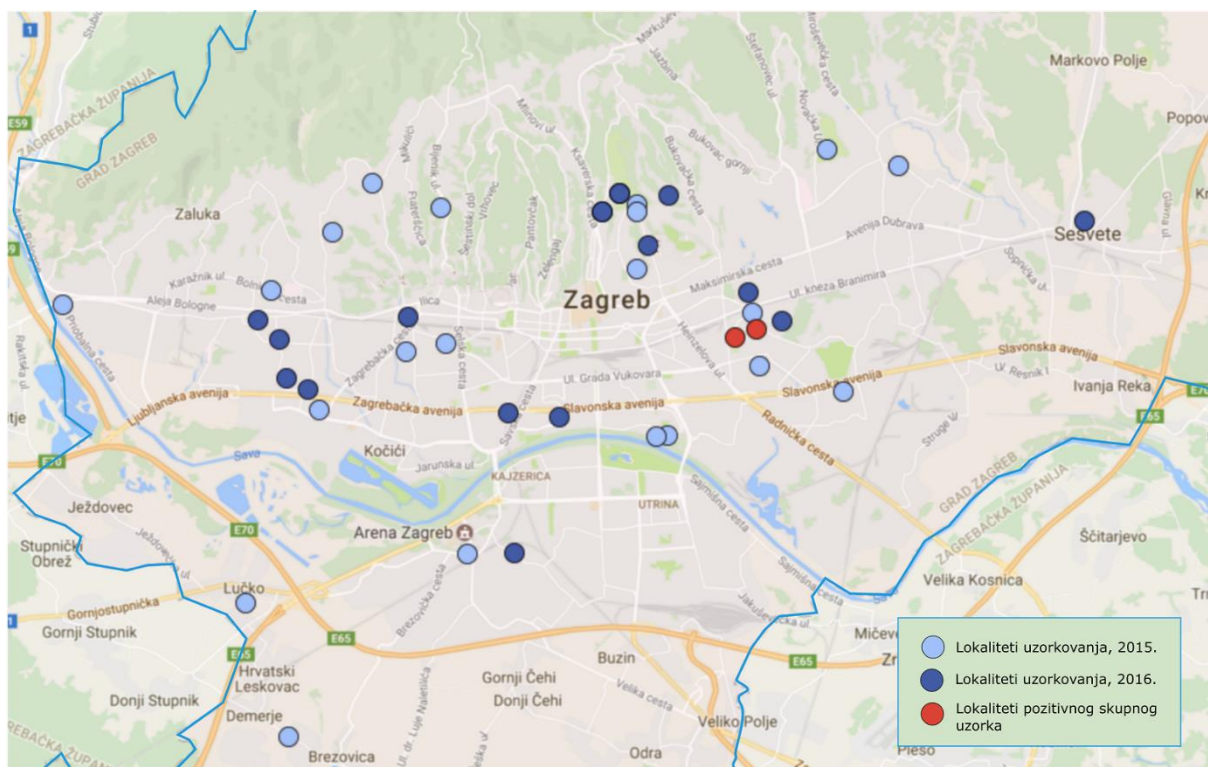
4.6. Rezultati istraživanja virusa u komarcima

Za istraživanje prisustva virusa u komarcima, tijekom 2015. i 2016. godine na 37 lokaliteta grada Zagreba (slika 83) prikupljene su ukupno 2.593 jedinke vrste *Ae. albopictus* (tablica 36), od čega 1.915 ženki i 678 mužjaka. Tijekom 2015. godine (srpanj, kolovoz i rujan) prikupljeno je 1.460 ženki, od čega je 1.191 prikupljena aspiratorom, a 269 jedinki BG-Sentinel klopama. Od ženki su načinjena 42 skupna uzorka (do 50 jedinki). U 2016. godini (rujan) aspiratorom je prikupljeno 455 ženki od kojih je načinjeno 19 skupnih uzoraka. Ukupan broj skupnih uzoraka tijekom dvije godine iznosio je 61.

Tablica 36. Lokaliteti uzorkovanja i broj uzorkovanih komaraca tijekom 2015. i 2016. godine.

Lokaliteti, 2015.	Broj ženki	Lokaliteti, 2016.	Broj ženki
Groblje Mirogoj	273	Groblje Mirogoj	191
Mirogojska c. 16	218	Groblje Stenjevec	71
Priobalna cesta	181	Krešićeva 11	36
VI Ferenščica 28	118	Kašinska 13a	31
Groblje Miroševac	107	Mirogojska c. 16	20
Dekanići bb	101	Josipa Marohnića	14
M. Pavelića 35	98	Borongaj, vrtovi	14
Hanamanova ul, vrtovi	63	M. Tartaglije 16	11
M. Lovraka, vrtovi	44	Nova cesta 180	10
Hrvatskoselska 10	40	Utinjska 44	10
Radnički put III	34	Karting centar Špansko	8
Bolnička 53	37	Nartska 22	8
Trsje 15B	24	Rimski jarak	8
Karlovačka, Jaruščica	22	Dinka Šimunovića 13	7
Groblje Vrapče	22	Srebrnjak	6
Savica, gradski vrt	18	Jospia Pupačića	6
Groblje Brezovica	17	Gosposvedska 16	4
Krvarić 5B	17		
Bijenička 92	14		
Bistranska 15	5		
Wicherhauserova 18	4		
Srebrnjak 164	3		
Ukupno	1.460	Ukupno	455

Skupni uzorci komaraca načinjeni su prema lokalitetima i razdoblju uzorkovanja. U prilogu 6 nalazi se tablica s podacima o svakom skupnim uzorcima: datum, lokalitet/i uzorkovanja, broj jedinki i metoda uzorkovanja komaraca.



Slika 83. Lokaliteti uzorkovanja komaraca za detekciju virusa (plavo) i lokaliteti pozitivnog skupnog uzorka komaraca (crveno) tijekom 2015. i 2016. godine.

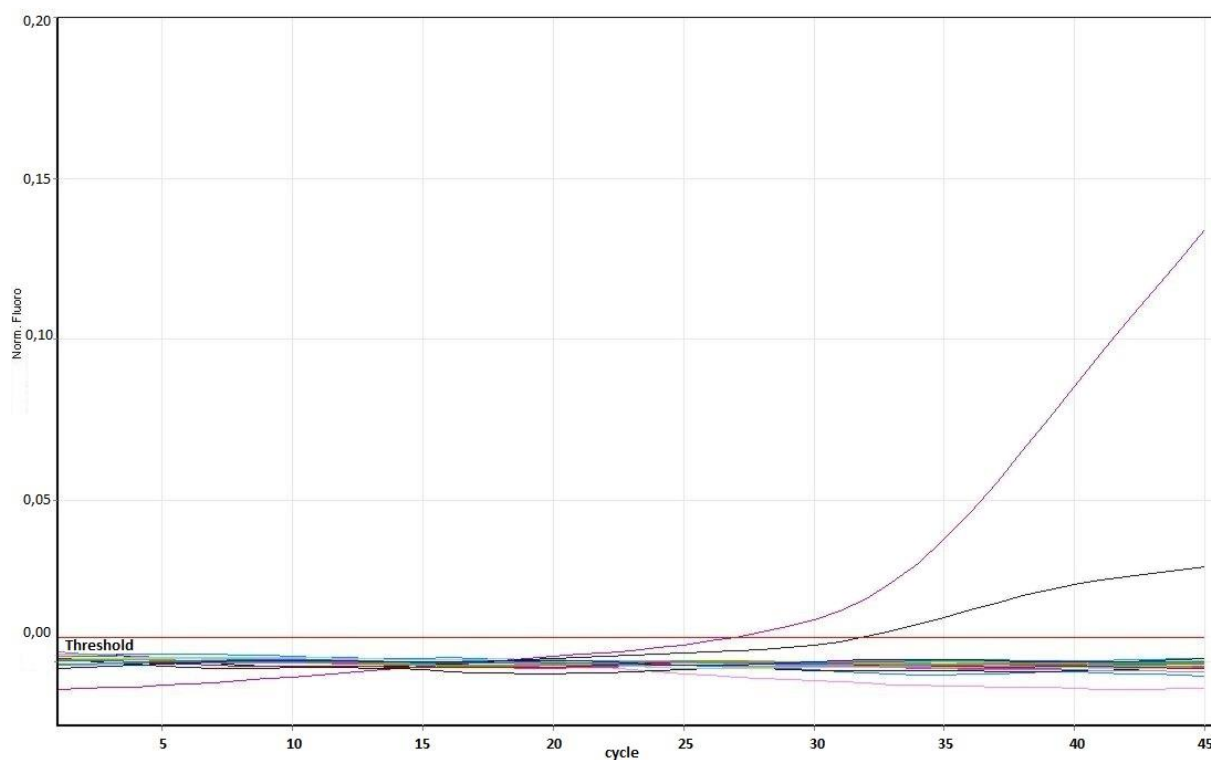
RNA USUV dokazana je u jednom skupnom uzorku komaraca (uzorak 7, tablice 37 i 38, slika 83). Skupni uzorak sadržavao je ukupno 15 ženki komaraca koje su prikupljene aspiratorom na dvije adrese u rujnu 2016. godine: osam jedinki na adresi Nartska 22 (02.09.2016.) i sedam jedinki na adresi Dinka Šimunovića 13 (07.09.2016.).

Tablica 37. Rezultati testiranja skupnih uzoraka komaraca na prisustvo DENV, CHIKV, WNV i USUV RNA tijekom 2016. godine.

Lokaliteti, 2016. godine	Dokazano prisustvo virusne RNA			
	DENV	CHIKV	WNV	USUV
Uzorak 1	-	-	-	-
Uzorak 2	-	-	-	-
Uzorak 3	-	-	-	-
Uzorak 4	-	-	-	-
Uzorak 5	-	-	-	-
Uzorak 6	-	-	-	-
Uzorak 7	-	-	-	+
Uzorak 9	-	-	-	-
Uzorak 11	-	-	-	-
Uzorak 12	-	-	-	-
Uzorak 14	-	-	-	-
Uzorak 15	-	-	-	-
Uzorak 16	-	-	-	-
Uzorak 17	-	-	-	-
Uzorak 18	-	-	-	-
Uzorak 19	-	-	-	-
Uzorak 20	-	-	-	-
Uzorak 21	-	-	-	-
Uzorak 22	-	-	-	-
Pozitivna kontrola	+	+	+	+
Negativna kontrola	-	-	-	-

Tablica 38. Rezultati testiranja skupnih uzoraka komaraca na prisustvo USUV u 2016. godini.

No.	Colour	Name	Type	Ct
1		1	Unknown	
2		2	Unknown	
3		3	Unknown	
4		4	Unknown	
5		5	Unknown	
6		6	Unknown	
7		7	Unknown	31,96
8		9	Unknown	
9		11	Unknown	
10		12	Unknown	
11		14	Unknown	
12		15	Unknown	
13		16	Unknown	
14		17	Unknown	
15		18	Unknown	
16		19	Unknown	
17		20	Unknown	
18		21	Unknown	
19		22	Unknown	
21		Negative	Negative Control	
22		A/USUV/0216	Positive Control	27,01



Slika 84. Krivulje dobivene RT-qPCR testiranjem skupnih uzoraka komaraca u 2016. godini:
USUV pozitivni uzorak (crna linija), USUV pozitivna kontrola (ljubičasta linija).

Klasičnom RT-PCR metodom za skupni uzorak broj 7 nije dobiven zadovoljavajući proizvod za sekvenciranje (niska razina virusne RNA). WNV, CHIKV i DENV RNA nije dokazana niti u jednom testiranom skupnom uzorku.

5. RASPRAVA

Mjesto prvog nalaza vrste *Ae. albopictus* u listopadu 2004. godine u Zagrebu je šuma na jugozapadu grada, a ličinke su uzorkovane u umjetnom leglu. Obzirom da tijekom prethodnih sezona kao i nakon prvog nalaza obavljenim uzorkovanjima nije pronađena vrsta *Ae. albopictus*, može se zaključiti da je pojavljivanje vrste moglo biti slučajno, donosom oplođene ženke u vozilu, koja je zatim položila jaja u dostupno leglo.

Mjesto nalaza vrste *Ae. albopictus* u 2005. godini je tvrtka na koja posluje gumama na rubnom zapadnom području grada, a udaljena je nekoliko km od mjesta prvog nalaza vrste u 2004. godini. Slijedećih godina nalazi su zabilježeni u istoj tvrtci te u drugoj iste djelatnosti (udaljena je približno 500 m od prethodno spomenute tvrtke). Rabljene gume uvezene su iz nekoliko zemalja Europe među kojima je Italija tada jedina bilježila infestaciju vrstom *Ae. albopictus*. Budući da su gume uvezene iz nekoliko mjesta sjeveroistočne Italije, može se zaključiti da je *Ae. albopictus* najvjerojatnije u Zagreb unesen gumama iz Italije. Prijenos vrste *Ae. albopictus* gumama u svijetu je zabilježen, već od samih početaka praćenja širenja areala vrste. Tako je prvi „izolirani“ unos vrste u rabljenim gumama u državu California zabilježen još 1972. godine, a gume su uvezene iz jugoistočne Azije (Madon i sur., 2002.). U gradu Cape Town (Južnoafrička Republika) 1992. godine u tek uvezenim gumama iz Japana pronađene su ličinke *Ae. albopictus* (Jupp i Kemp, 1992). Pretpostavlja se da je pojava vrste u Italiji u Padovi 1991. godine posljedica uvoza guma iz SAD-a (Della Pozza i Majori, 1992.; Della Pozza i sur., 1994.).

U razdoblju do 2011. godine nalazi vrste *Ae. albopictus* na području Hrvatske bili su ograničeni na područje gdje se nalaze tvrtke koje posluju gumama te na okolne privatne adrese (rubni zapadni dio grada). Tome su pridonijele kemijske mjere suzbijanja komaraca koje su uvedene u tvrtkama, a provodile su se dva puta mjesečno od svibnja do listopada. U drugim dijelovima grada nisu zabilježeni nalazi. Nalazi na većem broju novih adresa zabilježeni su 2012. godine u zapadnom dijelu grada. Praćenje nalaza od 2004. godine nadalje te provedeno istraživanje širenja na području grada Zagreba od 2013. do 2015. godine ukazuje da se vrsta najprije udomaćila u zapadnom dijelu grada. Premda komarac vrste *Ae. albopictus* nije migratorna vrsta, u razdoblju od nalaza vrste u tvrtkama koje posluju gumama (2005. godina) pa sve do 2012. godine, uz pasivno širenje lokalnim prijevozom, ne može se zanemariti i aktivno širenje vrste u okolno područje. Ako je u okolišu prisutno dovoljno mjesta za polaganje

jaja odrasle jedinke najčešće aktivno prelaze udaljenosti do 200 ili nekoliko stotina metara (Hawley, 1988., Turell i sur., 2005., Venturelli i sur., 2008.). U Rimu je zabilježen prosječni dnevni aktivni let od 119 m (Marini i sur., 2010.).

Komarci su u priobalju Hrvatske (Istra, Zadar, Split i Dubrovnik) prvi put pronađeni 2005. godine (Boca i sur., 2006.; Klobučar i sur., 2006.; Žitko i sur., 2007.). Do 2009. godine pronađeni su na svim otocima zahvaljujući pasivnom prijenosu automobilima na trajektima, jahtama i drugim vrstama brodova, naročito tijekom ljeta (Benić i sur., 2008.; Merdić i sur., 2009.). Do 2012. godine vrsta se udomaćila u cijelom priobalju i na otocima, stoga su pasivni unosi jedinki u vozilima i putem različite opreme u kontinentalno područje (posebno Zagreb kroz koji prolaze glavne ceste prema kontinentu) bili kontinuirano prisutni, osobito tijekom ljeta kada je promet iz priobalja i susjednih zemalja u kontinentalni dio Hrvatske gust. Pasivni kopneni promet (trgovački ili privatni) opisuje se u radovima mnogih istraživača kao način unosa te kao glavni način širenja vrste. Pasivni prijenos jedinki u vozilima glavni je način unosa vrste u Austriju, zemlje jugoistočne Europe (uključujući i Hrvatsku), Češku, Južnu Francusku, Njemačku, Španjolsku i Švicarsku (Pluskota i sur., 2008.; Scholte i Schaffner, 2007.; Šebesta i sur., 2012.; Werner i sur., 2012.; Kampen i sur., 2013.; Flacio i sur., 2016.). Prve pozitivne ovipozicijske klopke u južnoj Švicarskoj zabilježene su 2003. godine uz „trans-europsku“ autocestu E35 u blizini granice Italije (okrug Mendrisio, kanton Ticino), a benzinske postaje i odmorišta uz autocestu bile su među prvim lokalitetima gdje je vrsta *Ae. albopictus* unesena na to područje. Rezultati praćenja od 2003. godine pokazuju da se širenje areala vrste u kantonu Ticino odvijalo od juga prema sjeveru, uglavnom duž autoceste kojom u prosjeku dnevno prijeđe granicu 66.200 vozila i više od milijun kamiona u godini (Flacio i sur., 2016.). Prvi nalaz vrste *Ae. albopictus* u SAD-u zabilježen je 1985. godine u gradu Houston, država Texas. Slijedeće, 1986. godine vrsta je pronađena u 13, a 1987. u 23 okruga države Texas. U prosincu 1987. godine (samo dvije godine nakon prvog nalaza u Houstonu) vrsta je zabilježena u 15 država i 92 okruga. Uočeno je da je u početku širenja pojavljivanje vrste u SAD-u bilo češće u okruzima koji su u blizini međudržavnih autocesta. Nakon uspostavljanja populacije na određenom području, lokalni transporti i aktivna migracija uzrokovali su širenje vrste na okolno područje (Moore i Mitchell, 1997.).

Širenje areala i udomaćivanje vrste *Ae. albopictus* na području grada Zagreba i sjeverozapadne Hrvatske događalo se znatno sporije nego u priobalju. Prvi nalaz vrste *Ae. albopictus* u Zagrebu zabilježen je 2004. godine. Veći broj pritužbi građana zabilježen je tek 2012. godine. Tijekom tri godine (2013.-2015.) istraživanja rasprostranjenosti i ovipozicijske

aktivnosti vrste *Ae. albopictus*, uočeno je širenje njenog areala, porast prevalencije broja pozitivnih klopki, broja položenih jaja, intenziteta i gustoće jaja, što ukazuje na udomaćivanje vrste na sve većem području grada. U 2013. godini od ukupno 56 lokaliteta uzorkovanja na području grada, vrsta nije pronađena na 11 lokaliteta. Najveći broj jaja bio je 336, a prosječna gustoća jaja položenih na svih 56 lokaliteta iznosila je 10,93. Slijedeće, 2014. godine vrsta nije pronađena na samo jednom lokalitetu. Dakle, utvrđeno je širenje areala vrste. Pri tome je izbrojen maksimalni broj jaja u klopci 463 i dvostruko viša prosječna gustoća položenih jaja s iznosom od 19,77 (na svih 28 lokaliteta). U 2015. godini maksimalni broj jaja iznosio je 960, a prosječna gustoća 40,93 (na 15 lokaliteta). U istoj godini je zabilježen najveći postotak pozitivnih klopki, iznosio je 90,91% (u 33. tjednu). Najviša gustoća iznosila je 112,88 položenih jaja u klopci tjedno (35. tjedan). Ako se promatra istih 13 lokaliteta praćenja vrste *Ae. albopictus* tijekom 2014. i 2015. godine, analizom je utvrđena statistički značajna razlika u svim vrijednostima kojima se u ovom radu opisuju brojnost i aktivnost vrste: u broju položenih jaja, prevalenciji pozitivnih klopki, intenzitetu i gustoći. Dakle, dogodio se statistički značajan porast u brojnosti i aktivnosti vrste na zagrebačkom području: prosjek položenih jaja u 2015. godini bio je 1.329,0 (290,0-3.371,0), u 2014. godini 427,0 (97,0-636,0), $p=0,013$; dok je gustoća u 2014. godini iznosila 11,1 (2,5-17,2), a u 2015. 35,0 (7,4-88,7), $p=0,013$.

Promatra li se splitsko područje, vrijednosti položenih jaja značajno su veće. Na području Splita prvi nalaz vrste *Ae. albopictus* zabilježen je 2005. godine. Već četvrtu i petu godinu kasnije (2009. i 2010. godine) u razdoblju od 29. do 36. tjedna 2009. i od 28. do 36. tjedna 2010. godine kontinuirano su zabilježene sve pozitivne klopke. Najviša gustoća na splitskom području iznosila je 786,70 položenih jaja u klopci tjedno, a zabilježena je u 29. tjednu 2010. godine (Žitko i Merdić, 2014.). Dakle približno sedam puta veća gustoća zabilježena je na području Splita u odnosu na Zagreb. Vrijednost prosječne gustoće u promatranim godinama u Splitu iznosi $205,80 \pm 259,1$ jaja u klopci tjedno, što je pet puta više nego u Zagrebu. Najveći broj jaja položen tijekom sedam dana u klopci na splitskom području iznosi 1.723 jaja i položen je u 29. tjednu (Žitko i Merdić, 2014.), dok je na zagrebačkom području najveći broj jaja znatno manji i iznosi 960, a zabilježen je također u 29. tjednu. Jedan od razloga za veliku razliku u izmjerenoj gustoći u Splitu u odnosu na Zagreb je izbor lokaliteta za postavljanje ovipozicijske klopke: na splitskom području klopke su postavljene na lokalitete koji su većinom u prethodnom praćenju zabilježeni kao područja s kojih su primljene pritužbe građana na komarce, dok su u Zagrebu lokaliteti odabrani po pravilnoj raspodjeli površine grada, prvenstveno kako bi se utvrdila proširenost vrste komarca (što je i glavni cilj ovog rada). Rezultati u Splitu pokazuju da je vrsta na tom području do 2010. postigla visoku gustoću

populacija. Vrijednosti gustoće na zagrebačkom području sličnije su vrijednostima dobivenima u talijanskoj pokrajini Emilia-Romagna nego u Splitu. Tijekom 2007. i 2008. godine prosječna gustoća položenih jaja u urbanim područjima pokrajine Emilia-Romagna u razdoblju od 22. do 44. tjedna bila je $49,2 \pm 80,8$ jaja u klopki tjedno. Razdoblje najviše aktivnosti komaraca uočeno je od 27. do 37. tjedna, kada je prosječna gustoća položenih jaja u regiji bila $77,7 \pm 95,7$ jaja u klopki tjedno. U istom razdoblju maksimalna gustoća jaja zabilježena je u mjestu Riccione s vrijednošću $133,9 \pm 155,3$ jaja u klopki tjedno (Carrieri i sur., 2011.).

Rezultati ovog rada pokazali su da je razdoblje aktivnosti vrste *Ae. albopictus* na području grada Zagreba kraće nego u srednjoj Dalmaciji. Početak sezonske aktivnosti vrste u Zagrebu zabilježen je najranije u 21. tjednu 2015. godine (druga polovina svibnja) s 9,09% pozitivnih klopki i prosječnom gustoćom položenih jaja 1,80; pri tome je srednja temperatura tog tjedna iznosila $15,37^{\circ}\text{C}$. Najkasniji završetak ovipozicijske aktivnosti tijekom tri godine s 19,05% pozitivnih klopki i prosječnom gustoćom položenih jaja 1,67 zabilježen je u 43. tjednu (druga polovina listopada) 2014. godine. U istraživanju provedenom na području Splita tijekom 2009. i 2010. godine početak sezonske aktivnosti vrste *Ae. albopictus* zabilježen metodom uzorkovanja jaja ovipozicijskim klopama je u 13. tjednu (druga polovina ožujka) s 3,8% pozitivnih klopki i prosječnom gustoćom 0,08. Završetak sezonske aktivnosti zabilježen je u 48. tjednu (kraj studenog i početak prosinca) s 11% pozitivnih klopki i gustoćom 0,2 (Žitko i Merdić, 2014.). Obzirom na navedena istraživanja, početak aktivnosti vrste *Ae. albopictus* na području Splita zabilježen je osam tjedana (približno dva mjeseca) ranije nego na području Zagreba. Završetak aktivnosti u jesen u Splitu zabilježen je pet tjedana kasnije nego u Zagrebu. Promatrajući sezonu aktivnosti vrste u cjelini, prema prikazanim istraživanjima aktivnost je u kontinentalnoj sjeverozapadnoj Hrvatskoj kraća oko 13 tjedana (približno 3 mjeseca). Prosječna godišnja temperatura u Zagrebu iznosi 12°C (2004.-2015. godine), a u Splitu, gdje vlada mediteranska klima s vrućim ljetom, $16,8^{\circ}\text{C}$ (2005.-2009. godine). Srednja temperatura mjeseca siječnja u Zagrebu iznosi $1,7^{\circ}\text{C}$, a srpnja $22,7^{\circ}\text{C}$, dok je u Splitu srednja temperatura istih mjeseci $8,2^{\circ}\text{C}$ i $27,2^{\circ}\text{C}$. Dakle, znatno više temperature u srednjoj Dalmaciji pogoduju dužoj aktivnosti vrste *Ae. albopictus*. Obzirom na klimatske uvjete, početak i završetak aktivnosti u kontinentalnoj Hrvatskoj može biti vremenski pomaknut. Kraće razdoblje aktivnosti uvjetuje kraće razdoblje aktivnog i pasivnog širenja.

U južnoj je Švicarskoj (kanton Ticino), istraživanje uz pomoć ovipozicijskih klopki provedeno od 2009. do 2014. godine. Srednja godišnja temperatura istraživanog područja iznosi $12,5^{\circ}\text{C}$, srednja temperatura najtoplijeg mjeseca (srpanj) 22°C , a najhladnijeg (siječanj) $2,9^{\circ}\text{C}$ (Flacio i sur., 2016.). Dakle, istraživano područje ima nešto višu prosječnu zimsku temperaturu

od zagrebačke. Urbano područje najvećim se dijelom nalazi do 400 m n.v. Ovipozicijske klopke su postavljene u 20. tjednu, a sezonska jaja su pronađena tijekom ili nakon 22. tjedna (sredina svibnja). Polaganje jaja zabilježeno je sve do 48. tjedna (sredina studenog) kada je duljina dana iznosila 10 sati, a srednja tjedna temperatura tog područja je bila 7,6°C. Tijekom toplijih jesenskih dana kada je srednja temperatura bila oko 9°C, ženke vrste *Ae. albopictus* još su uvijek polagale sezonska jaja, a četvrti stadij ličinki je pronađen sredinom studenog. Maksimalni broj jaja zabilježen je u kolovozu u 34. tjednu kada je srednja temperatura iznosila 21,1°C. Stadij prezimljavanja započinje od sredine studenog i traje do sredine ili kraja travnja (16. ili 18. tjedan) kada je duljina dana 11-11,5 sati, a srednja temperatura 12,3°C (Flacio i sur., 2016.). Navedeno razdoblje početka aktivnosti podudara se početkom aktivnosti u Zagrebu, no najkasniji završetak aktivnosti u Zagrebu zabilježen je u 43. tjednu (druga polovina listopada) 2014. godine, pri duljini dana 10,5 sati i 10,31°C, dakle nekoliko tjedana ranije nego u Švicarskoj. U 2015. godini završetak aktivnosti na zagrebačkom području je zabilježen ranije. Pozitivne su klopke posljednji put pronađene u 41. tjednu, a srednja temperatura tog tjedna je iznosila 11,79°C. Praćenje tijekom više uzastopnih godina na području gdje je vrsta udomaćena donijelo bi objektivniji rezultat o početku aktivnosti u proljeće i završetku u jesen.

U provinciji Trento u sjevernoj Italiji sa submediteranskom klimom i prosječnom nadmorskom visinom od 70 m, 2008. godine zabilježena je aktivnost vrste *Ae. albopictus* gotovo u istom razdoblju kao u Švicarskoj. Aktivnost ženki je zabilježena od 20. do 46. tjedna, pri čemu je rast aktivnosti zabilježen od 20. do 37. tjedna, s prvim vrhuncem aktivnosti u 31. tjednu i drugim višim vrhuncem u 37. tjednu. Značajan pad aktivnosti zabilježen je od 38. tjedna (Roiz i sur., 2010.). Južnije, u pokrajini Emilia-Romagna zabilježeno je gotovo isto razdoblje aktivnosti kao u Zagrebu, od 22. do 44. tjedna, (Carrieri i sur., 2011.). Na području Rima početak sezone aktivnosti je zabilježen sredinom ili krajem travnja pri prosječnim temperaturama 10-11°C i duljini dana 11-11,5 sati, a maksimalni broj jaja zabilježen je u kolovozu pri srednjoj temperaturi 21,1°C (Toma i sur., 2003.). Na oba spomenuta talijanska područja (Rim i pokrajina Emilia-Romagna) s prosječnom godišnjom temperaturom 15,7°C i 12,5°C, zabilježena je aktivnost jedinki *Ae. albopictus* tijekom zime (Romi i sur., 2006.).

Provedeno istraživanje u Zagrebu je pokazalo da je vrsta od proljeća do jeseni stalno aktivna. No, primjenjenom istraživačkom metodom nije moguće utvrditi broj generacija koji se razvija tijekom sezone (nije bio cilj ovog rada).

U 2014. i 2015. godini u Zagrebu na svakom lokalitetu su postavljene tri ovipozicijske klopke međusobno udaljene od nekoliko do 50 m. Pri tome su za mikrolokalitete odabrana

pogodna mjesta za postavljanje klopke. Analizom je utvrđena statistički značajna razlika u broju položenih jaja na mikrolokalitetima na sedam od trinaest lokaliteta u 2014. godini te na devet od 13 lokaliteta u 2015. godini. Promatrajući mikrolokalitete istog lokaliteta na kojima je utvrđena statistički značajna razlika u broju položenih jaja te one na kojima nije utvrđena, nije moguće zaključiti o čemu ovisi veći ili manji broj jaja u klopki pojedinog mikrolokaliteta. Pri tome valja napomenuti da mikrolokaliteti svake klopke nisu posebno opisani obzirom na moguće utjecaje, kao što su npr. dostupnost klopke radi prisutne vegetacije, veća ili manja izloženost suncu, blizina drugih potencijalnih mjesta za polaganje jaja u okolini klopke. Utvrđena statistički značajna razlika može biti polazište za daljnje istraživanje. Dokazano je da ženka vrste *Ae. albopictus* polaže jaja istog „seta“ u veći broj legla (Rozeboom i sur., 1973.; Hawley, 1998.). Ovipozicijska klopka je samo jedno od brojnih potencijalnih mjesta za polaganje jaja u okolišu. Za otkrivanje vrste *Ae. albopictus* i procjenu relativne veličine populacije vrste, ovipozicijske klopke su metoda izbora mnogih istraživača jer su osjetljive i pri niskoj gustoći komaraca (Paupy i sur., 2009., Roiz i sur., 2010., Carrieri i sur., 2011., Carrieri i sur., 2012.; Flacio i sur., 2016.), relativno su jeftine i lako se održavaju. Istovremeno, pojedini autori dovode u pitanje ovipozicijsku klopku kao izbor u procjeni relativne gustoće upravo zato što je ona samo jedno od brojnih potencijalnih legla u okolišu (Flacio i sur., 2016.).

Širenje areala vrste *Ae. japonicus* prema području Hrvatske je očekivano. Vrsta je u Sloveniji zabilježena prvi put u kolovozu 2011. godine na sjeveru u pograničnom planinskom području austrijske provincije Styria, a već u rujnu zabilježeni su novi nalazi u okolini Maribora (Seidel i sur., 2012.). Istraživanje provedeno tijekom 2013. u Sloveniji je pokazalo da je rasprostranjena na gotovo čitavom sjeveroistočnom području Slovenije (Kalan i sur., 2014). Tijekom prve godine ovog istraživanja u Krapinsko-zagorskoj županiji (2013.) zabilježena je prisutnost vrste u Macelju na području graničnog prijelaza i u Đurmancu na groblju. Pri tome je tijekom cijele sezone na tri mikrolokaliteta u Đurmancu izloženo 36 ovipozicijskih klopki, a jaja komaraca su pronađena na samo dvije klopke: klopka sa 65 jaja pronađena je krajem kolovoza i u njoj je dokazana vrsta *Ae. japonicus*, dok je druga klopka sa samo četiri jaja pronađena sredinom listopada (vrsta nije dokazana). Na području graničnog prijelaza u Macelju na dva lokaliteta (L2 i L3, šest mikrolokaliteta) tijekom sezone jaja komaraca su pronađena u 8/72 (11,11%) klopki. Na svim ostalim lokalitetima uzorkovanja vrsta nije pronađena. Nalazi u Macelju ukazuju na širenje areala vrste s područja Slovenije te na pasivan unos na području Đurmanca. Tijekom 2014. godine 81,46% svih uzorkovanih jaja *Ae. japonicus* utvrđeno je na dva lokaliteta u Macelju u području graničnog prijelaza, a na ostalih šest lokaliteta zabilježeni

su povremeni nalazi. Dakle, na području Macelja vrsta je već tijekom 2014. bila udomaćena dok je na svim ostalim lokalitetima zabilježen unos (Hum na Sutli, Đurmanec, Veliko Trgovišće i Krapina). Prema broju nalaza i broju jaja komaraca u 2015. godini može se zaključiti da se vrsta, osim u Macelju, udomaćila u Humu na Sutli (L1) (zabilježen je veći broj nalaza na sva tri mikrolokaliteta) i u Pregradi (kontinuirani nalazi tijekom sezone na mikrolokalitetu L10.3). Tijekom 2016. godine vrsta *Ae. japonicus* uzorkovana je na svim lokalitetima više ili manje kontinuirano tijekom cijele godine, stoga je udomaćena na svim lokalitetima uzorkovanja.

Tijekom četiri godine istraživanja u Krapinsko-zagorskoj županiji zabilježeno je invazivno širenje areala i udomaćivanje vrste *Ae. japonicus*. Statističkom analizom vrijednosti dobivenih na pet lokaliteta uzorkovanja koji su zastupljeni od 2014. do 2016. godine utvrđen je statistički značajno veći broj položenih jaja u 2016. u odnosu na 2014. godinu ($p=0,003$) i statistički značajno niža prevalencija pozitivnih klopki u 2014. godini u odnosu na 2016. godinu ($p=0,001$). Intenzitet položenih jaja bio statistički značajno manji u 2014. godini u odnosu na 2015. ($p=0,044$) te u odnosu na 2016. godinu ($p=0,010$). Također, testiranjem je utvrđeno da je gustoća položenih jaja bila je statistički značajno viša u 2016. u odnosu na 2014. godinu ($p=0,003$). Prosječna gustoća položenih jaja u 2014. iznosi 14,5 (3,9-30,2); a u 2016. godini 63,7 (38,1-94,6). Dakle, statistički značajan porast svih parametara mjerenja potvrđuje da se u razdoblju od 2014. do 2016. godine vrsta udomaćila u Krapinsko-zagorskoj županiji. Kaufman i Fonseca (2014.) u pregledu biologije vrste *Ae. japonicus* zaključuju da se širenje vrste događa izuzetno brzo i opsežno zbog nekoliko glavnih činjenica: a) Višestruki unosi vrste održavaju visoku genetsku raznolikost (ova značajka je često povezana s invazivnošću). b) Legla vrste uključuju prirodna staništa i vode, zatim različite posude koje zadržavaju vodu (umjetna legla), kao i legla nastala u sustavu odvodnje oborinskih voda. Navedena sposobnost ne samo da omogućava nastanjivanje različitih staništa, već i pomaže širenju vrste putem prekograničnog transporta različitih kontejnera, guma, građevinske i druge opreme. c) Ličinke i odrasle jedinke dobro podnose niske temperature. U umjerenim klimatskim područjima sezonska aktivnost vrste je duža nego ostalih vrsta koje se mogu pronaći u kontejnerima. *Ae. japonicus* prezimljava u stadiju jaja, a u područjima blažih klima može prezimiti i u stadiju ličinke. d) Početak aktivnosti vrste ranije u proljeće i kasnije u jesen omogućava izbjegavanje kompeticije za legla s drugim vrstama.

Tijekom četiri godine, istraživanje u Krapinsko-zagorskoj županiji najranije je započelo u 2016. godini, u 18. tjednu (početak svibnja), kada su jaja komaraca pronađena na dva lokaliteta. U jesen je aktivnost vrste zadnji put zabilježena u 43. tjednu - početkom studenog. Na području Japana i Koreje razdoblje aktivnosti odraslih jedinki traje od svibnja do listopada

(Kamper i Werner, 2014.). Isto je razdoblje aktivnosti zabilježeno na sjevernoameričkom kontinentu u državi New York tijekom 2000. godine, odrasle jedinke su uzorkovane CDC svjetlosnim klopama i klopama za oplođene ženke („gravid traps“). Pri tome je najviše ženki u CDC svjetlosnim klopama uzorkovano početkom srpnja, a u klopama za oplođene ženke sredinom kolovoza (Falco i sur., 2002.). Na području države New Jersey pri blažoj klimi zabilježena je aktivnost odraslih jedinki do početka prosinca (Scott i Crans, 2004.). U južnom dijelu države New Hampshire (SAD) tijekom petogodišnjeg istraživanja uočeno je da se ličinke pojavljuju već krajem ožujka, nakon što se otopi led u leglima, jaja se izlegu pri temperaturi vode od 4-4,5 °C (Burger i Davis, 2008.). Razvoj ličinki i novih generacija traje tijekom cijele sezone, do stvaranja novog ledenog pokrivača krajem listopada ili početkom studenoga. U Virginiji su ličinke *Ae. japonicus* pronađene u razdoblju od svibnja do rujna, a najveći broj legla s ličinkama pronađen je u srpnju (Armistead i sur., 2012.). Na području Europe, u Belgiji su 2009. godine ličinke *Ae. japonicus* pronađene u svibnju, a odrasle jedinke od sredine lipnja do sredine listopada. Najviša brojnost odraslih jedinki zabilježena je koncem srpnja, a zatim slijedi postupni pad odraslih jedinki (Damiens i sur., 2014.). Na području Krapinsko-zagorske županije najviša gustoća i intenzitet položenih jaja u 2015. godini zabilježeni su početkom kolovoza (32. tjedan), a u 2016. godini u drugoj polovini srpnja (29. tjedan), dakle u gotovo istom razdoblju kao u Belgiji. Najveći broj jaja položen u jednoj ovipozicijskoj klopci u Krapinsko-zagorskoj županiji položen je u 29. tjednu 2016. godine, a iznosio je 1.508 jaja. Najveći broj jaja položen u tri klopke u Macelju na području graničnog prijelaza tijekom dvije uzastopne godine (2015. i 2016.) položen je također u 29. tjednu. Promatraju li se temperature, u 2015. i 2016. godini najviša prosječna tjedna temperatura izmjerena je u 29. tjednu, a iznosila je 26,13 °C u 2015. i 23,86 °C u 2016. godini. Statistička analiza potvrdila je povezanost temperature i broja položenih jaja, odnosno utvrdila statistički značajnu povezanost između više temperature i većeg ukupnog broja položenih jaja, prevalencije pozitivnih klopki i gustoće položenih jaja u svim promatranim godinama (2014.-2016. godine). Također je i veći intenzitet položenih jaja bio statistički značajno povezan s višom temperaturom u 2014. te 2016. godini, dok je u 2015. godini opažena povezanost istog smjera, no nešto manjeg iznosa te stoga nije dosegla statističku značajnost. Vrsta *Ae. japonicus* dobro podnosi niske temperature; porast temperature pozitivno utječe na razvoj ličinki do određenih granica, no visoke temperature mogu djelovati inhibirajuće (Kaufman i Fonseca, 2014.; Cunze i sur., 2016.). Utvrđeno je da je razvoj ličinki vrste *Ae. japonicus* u pozitivnoj korelaciji s temperaturom do približno 30°C, dok su više temperature utjecale inhibirajuće na razvoj (Scott, 2003.). Navedene najviše temperature u 2015. i 2016. godini (kao i srednja maksimalna temperatura od 28,5°C u srpnju)

u Krapinsko-zagorskoj županiji niže su od spomenute temperature od 30°C koja je okvirna granica pozitivne korelacije za razvoj i aktivnost vrste.

U 2015. godini utvrđena je statistički značajna povezanost između manje količine oborina i većeg ukupnog broja položenih jaja, manje količine oborina i više prevalencije pozitivnih klopki, višeg intenziteta i veće gustoće, dok ta povezanost nije bila prisutna niti u jednoj drugoj godini. Oborine stvaraju potencijalna legla komaraca što omogućava komarcima polaganje jaja na druga prisutna mjesta s vodom u okolišu, odnosno smanjuje vjerojatnost polaganja jaja u postavljenu ovipozicijsku klopku. Tijekom istraživanog razdoblja najmanja količina oborina pala je u sezoni 2015. godine. Promatra li se broj položenih jaja u tjednima, u 33. tjednu 2015. godine na pet lokaliteta (odabranih za analizu razlika u ovipoziciji) nije uzorkovano ni jedno jaje, a zabilježena je relativno visoka prosječna dnevna količina oborina (6,46 mm). U 32. tjednu na odabranim lokalitetima zabilježen je najveći broj jaja u sezoni, a oborina nije bilo.

Na području Krapinsko-zagorske županije *Ae. japonicus* zabilježen je u 48,32% (245) pozitivnih klopki, dok je vrsta *Ae. albopictus* pronađena u samo 1,18% (6) klopki. U studijama koje su istraživale međusobne odnose ovih dviju vrsta komaraca, *Ae. japonicus* nije pokazao jasnu kompetitivnu prednost u odnosu na vrstu *Ae. albopictus* (Armistead i sur., 2008.; 2012.). Međutim, ove dvije vrste dijelom nastanjuju različita staništa. Komarac *Ae. japonicus*, primarno je vrsta raslinja, stijena i šume, nastanjuje poljoprivredna, ruralna, prigradska i gradska područja (Andreadis i sur., 2001., Kamper i Werner, 2014., Kaufman i Fonseca, 2014.; Medlock i sur., 2015.). U Krapinsko-zagorskoj županiji prevladavaju naselja koja su po svom karakteru pretežno seoskih obilježja, a gradovi predstavljaju područja koja imaju prijelazna obilježja između urbaniziranog prostora i sela. Približno 60% površine županije su poljoprivredne površine, a šume također zauzimaju velike površine (www.kzz.hr). Dakle, prirodna obilježja županije pogoduju naseljavanju vrste *Ae. japonicus* koja se zbog svojih karakteristika (Kaufman i Fonseca, 2015.) invazivno proširila na prostoru županije i pokazala kompetitivnu prednost u odnosu na vrstu *Ae. albopictus*.

Na području Bjelovarsko-bilogorske županije u 2015. godini zabilježen je nalaz jaja komaraca na ukupno devet od 1.306 postavljenih klopki (0,69%), od čega je u četiri klopke dokazana vrsta *Ae. albopictus*, a u jednoj *Ae. japonicus*. Svi su nalazi zabilježeni na različitim lokalitetima, u različito vrijeme i samo jedanput na pojedinom lokalitetu, a broj jaja kreće se od 1 do 23. Nalazi ukazuju na mjestimičnu prisutnost invazivnih vrsta te potvrđuju stalne pasivne unose komaraca na nova područja. Broj nalaza jaja komaraca u 2016. godini je veći i iznosi

2,86% (44/1067), od čega je vrsta *Ae. albopictus* pronađena u 1,23% (19 klopki). Najčešći nalazi vrste *Ae. albopictus* u vulkanizerskoj radionici ponovno potvrđuju da su gume primarna legla vrste *Ae. albopictus*, a nalazi u kolovozu i rujnu tijekom obje godine ukazuju da su ovi mjeseci razdoblje njene najviše aktivnosti. Povremeni i mjestimični nalazi vrste *Ae. japonicus* (11 klopki) zabilježeni su ravnomjerno tijekom cijele sezone aktivnosti komaraca. Dinamika pojave jaja komaraca ukazuje na stalne unose (širenje) vrsta koje nisu udomaćene.

Prvi uzorci vrste *Ae. albopictus* iz Zagrebačke županije primljeni su u Nastavnom zavodu za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“ 2011. godine iz Zaprešića te zatim 2013. godine iz Velike Gorice. Tvrtke u kojima su pronađeni komarci *Ae. albopictus* 2005. i narednih godina u Zagrebu nalaze se na rubnom zapadnom dijelu grada, nedaleko od Zaprešića te je stoga širenje vrste (aktivno i pasivno) na prostore prema zapadu očekivano. Prvo opsežnije istraživanje invazivnih vrsta na području Zagrebačke županije provedeno je 2016. godine. Prema rezultatima, vrsta *Ae. albopictus* je udomaćena na području Zaprešića i pronađena je u 50,45% (56/111) pozitivnih klopki. Također je udomaćena i na području Samobora, Jastrebarskog i Velike Gorice. Prosječna tjedna gustoća položenih jaja na četiri lokaliteta u Velikoj Gorici tijekom sezone 2016. iznosila je 42,38 i malo je viša od prosječne gustoće u Zagrebu u 2015. godini gdje je iznosila 40,93. Najveća zabilježena gustoća iznosila je 157,33 dok je u Zagrebu bila 112,88. U vrijeme najviše aktivnosti komaraca krivulje prosječne gustoće i intenziteta položenih jaja su visokih vrijednosti i preklapaju se što ukazuje na udomaćenost vrste u Velikoj Gorici.

Nalazi vrste *Ae. japonicus* na području Zagrebačke županije tijekom sezone 2016. godine ukazuju na širenje vrste sa zapada i sjeverozapada prema istoku, odnosno s područja Slovenije i s područja sjevera koje pripada Krapinsko-zagorskoj županiji gdje je vrsta pronađena i udomaćena tijekom prethodnih godina. Značajno je veći broj nalaza vrste u zapadnom dijelu županije koji je bliže Sloveniji. Tako je najveći broj nalaza zabilježen je u Zaprešiću koji je smješten u sjeverozapadnom dijelu županije, gdje je vrsta dokazana u ukupno 36,94% (41/111) pozitivnih klopki. Promatraju li se nalazi na četiri lokaliteta uzorkovanja u Zaprešiću, najveći broj zabilježen je na lokalitetu smještenom najzapadnije. Na najistočnije smještenom lokalitetu (u blizini granice s gradom Zagrebom) pronađena je samo vrsta *Ae. albopictus*. Nešto južnije, u Samoboru vrsta *Ae. japonicus* pronađena je u samo sedam klopki (7,86% pozitivnih klopki), a vrsta *Ae. albopictus* u 75,28%. Približan broj nalaza vrste *Ae. japonicus* je zabilježen i u Jastrebarskom (12,5% pozitivnih klopki). U Velikoj Gorici koja se nalazi u središnjem dijelu županije, južno od grada Zagreba, vrsta nije zabilježena. Promatra li

se istočni dio Zagrebačke županije, u najsjevernijem mjestu Sv. Ivan Zelina pronađeno je svega 14,71% pozitivnih klopki od čega je vrsta *Ae. japonicus* evidentirana u 6,06%. U Dugom Selu je vrsta *Ae. japonicus* pronađena u samo tri klopke (3/39), a u Ivanić Gradu u dvije (2/28). U Vrbovcu koji se nalazi najistočnije vrsta nije zabilježena. Najveći broj nalaza u Sv. Ivanu Zelina smještenom u sjevernom istočnom dijelu županije, kao i drugi navedeni nalazi, ukazuju na širenje vrste sa sjevera iz Krapinsko-zagorske županije koja se nalazi granično. Južnije su zabilježeni samo povremeni nalazi koji ukazuju da je vrsta unesena (nije udomaćena). Na lokalitetima gdje je prisutna tijekom sezone, nalazi vrste *Ae. japonicus* bilježe se već na samom početku praćenja, u 20. ili 21. tjednu (npr. u Zaprešiću), dok se vrsta *Ae. albopictus* pojavljuje nešto kasnije. U Samoboru je vrsta *Ae. japonicus* zabilježena u svega sedam klopki, a prvi nalazi su zabilježeni već u 21. tjednu (krajem svibnja).

Na području Zagrebačke županije su na većem broju lokaliteta pronađene obje invazivne vrste. U Zaprešiću je npr. *Ae. albopictus* pronađen u 50,45% (56/111) pozitivnih klopki, *Ae. japonicus* u 36,94% (41/111), a u šest klopki (5,40%) su pronađene obje vrste. Ukupan broj jaja u sezoni također je bio veći u vrste *Ae. albopictus* i iznosio je 46,30% ukupno položenih jaja, dok je u vrste *Ae. japonicus* iznosio 28,50%. Na području Virginije utvrđeno je da je vrsta *Ae. albopictus* češće u umjetnim leglima, a vrsta *Ae. japonicus* u vodama stijena (Armistead i sur., 2012.). U umjetnim leglima vrsta *Ae. albopictus* pronađena je u 68,9% legla, vrsta *Ae. japonicus* u 43,9%, dok su u 21,2% umjetnih legla pronađene obje vrste. Zabilježena je aktivnost obje vrste od svibnja do kolovoza pri čemu je vrsta *Ae. albopictus* bila zastupljena u većem broju u svim mjesecima osim u svibnju. Također su utvrdili da izloženost legla suncu utječe na prisutnost vrsta. *Ae. japonicus* češće je pronađen u umjetnim leglima koja su potpuno ili djelomično zasjenjena, a rijetko je pronađen u leglima na suncu. Izloženost legla suncu ne utječe značajno na prisutnost vrste *Ae. albopictus*. Na području Zaprešića zabilježena je veća aktivnost vrste *Ae. japonicus* u svibnju i lipnju u odnosu na vrstu *Ae. albopictus*.

Istraživanja pokazuju da postoji populacijska kompeticija vrsta *Ae. japonicus* i *Ae. albopictus* u stadiju ličinki u terenskim uvjetima. Utvrđen je stupanj porasta populacije za svaku vrstu i utvrđen sastav vrsta i gustoća ličinki. U posudama koje su sadržavale vodu s hrastovim lišćem, broj *Ae. japonicus* ličinki je bio veći, ali su *Ae. albopictus* ličinke pokazale prednost pred ličinkama *Ae. japonicus*, dulje su preživljavale i kraće se razvijale sa znatno višom procijenjenom stopom rasta populacije u uvjetima kompeticije dviju vrsta. Međutim, kompeticija unutar vrste *Ae. albopictus* ograničila je populacijski porast te vrste znatno više od kompeticije s vrstom *Ae. japonicus*. (Armistead i sur., 2008.).

Nalazi u Zagrebačkoj županiji na lokalitetima gdje se tijekom sezone pojavljuju obje invazivne vrste pokazuju da se vrsta *Ae. japonicus* u odnosu na vrstu *Ae. albopictus* pojavljuje ranije u proljeće. Tako je npr. na području Jastrebarskog zabilježena samo u proljeće u nekoliko klopki (kasnije tijekom sezone nije zabilježena), a u Samoboru je također zabilježena u nekoliko klopki u proljeće i tijekom ljeta u jednoj klopci. Raniju pojavu vrste *Ae. japonicus* opravdava njena karakteristika da dobro podnosi niske temperature i započinje svoju aktivnost u rano proljeće.

Vrsta *Ae. japonicus* prvi je put pronađena u Italiji (Santa Caterina) u lipnju 2015. godine u leglu zajedno s još tri vrste komaraca: *Cx. pipiens*, *Cx. hortensis* i *Oc. geniculatus* (Seidel i sur., 2016.). Tijekom kasnijeg istraživanja u rujnu iste godine na 20 km udaljenom području gdje je udomaćena vrsta *Ae. albopictus*, pronađena je jedna ličinka *Ae. japonicus* je u leglu zajedno s 12 ličinki *Ae. albopictus*, tri *Cx. pipiens* i jednom ličinkom *Cx. hortensis*. U spomenutom području sjeverne Italije sada su prisutne tri invazivne vrste komaraca: *Ae. albopictus*, *Ae. japonicus* i *Ae. koreicus*. Daljnja će praćenja pokazati kako će tri invazivne vrste s različitim ekološkim zahtjevima egzistirati (Seidel i sur., 2016.). Također, praćenje prisutnosti vrsta na području Zagrebačke županije u narednim godinama pokazat će odnose vrsta *Ae. albopictus* i *Ae. japonicus*, osobito na lokalitetima na kojima je *Ae. albopictus* prethodno udomaćen (npr. u Zaprešiću i Samoboru).

Istraživanje invazivnih vrsta komaraca na području Karlovačke županije provedeno je prvi put 2016. godine. Rezultati pokazuju da je *Ae. albopictus* udomaćena vrsta u Karlovcu. Na tri lokaliteta pronađena je kontinuirano tijekom sezone. Najviša zabilježena tjedna prosječna gustoća položenih jaja iznosi 104,56, nešto manje nego u Zagrebu gdje je u 2015. godini najviša gustoća iznosila 112,88. Prosječna gustoća u Zagrebu u 2015. godini iznosila je 40,93, dok je u Karlovcu bila 27,71. Rezultati nalaza vrste *Ae. albopictus* na području Duge Rese i Slunja pokazuju da je vrsta unesena, tj. do sada nije udomaćena. Kad je riječ o vrsti *Ae. japonicus*, zabilježen je unos u Karlovcu i Ogulinu gdje je vrsta dokazana u samo jednoj klopci tijekom cijele sezone. U Ozlju je zabilježena na svim lokalitetima kontinuirano tijekom ljetnih mjeseci, stoga se može zaključiti da se unos vrste dogodio prije 2016. godine.

Prema prikazanim rezultatima na području sjeverozapadne Hrvatske udomaćene su dvije invazivne vrste komaraca, *Ae. albopictus* i *Ae. japonicus*. Nastavak istraživanja širenja i brojnosti ovih vrsta omogućio bi nove spoznaje o njihovom međusobnom odnosu, osobito u područjima gdje je vrsta *Ae. albopictus* udomaćena, a vrsta *Ae. japonicus* tek unesena.

Uz pomoć klimatskih modela može se predvidjeti pogodnost europskog područja za obje vrste komaraca, *Ae. albopictus* i *Ae. japonicus*, a na osnovi trenutnih klimatskih uvjeta te predviđanja o budućim klimatskim promjenama. Pri tome se uspoređuju vrste obzirom na njihove zahtjeve za temperaturom i oborinama. Rezultati predviđaju daljnje širenje vrste *Ae. albopictus* u mediteranskom području Europe prema istoku i zapadu te udomaćivanje vrste *Ae. japonicus* na području srednje Europe s umjerenom klimom (Cunze i sur., 2016.).

Istraživanjem invazivnih vrsta komaraca na širem području grada Osijeka tijekom posljednje tri godine utvrđeno je da se vrsta *Ae. albopictus* udomaćila i na tom području (Vrućina i sur., 2016.). Tijekom 2016. godine prvi put su zabilježeni nalazi vrste *Ae. albopictus* u još šest županija kontinentalne Hrvatske: Varaždinskoj, Međimurskoj, Koprivničko-križevačkoj, Virovitičko-podravskoj, Brodsko-posavskoj i Vukovarsko-srijemskoj. Vrsta *Ae. japonicus* također je pronađena u 2016. godini u nekoliko županija kontinentalne Hrvatske (Capak i sur., 2017.). Cjelokupno područje kontinentalne Hrvatske ima približno ista klimatska obilježja i zadovoljava zahtjevima obje invazivne vrste za temperaturom (kao glavnim klimatskim parametrom). Stoga se na području kontinentalne Hrvatske očekuje njihovo daljnje širenje areala i udomaćivanje.

Hrvatska fauna komaraca sada broji 52 vrste (Merdić i sur., 2004.; Klobučar i sur., 2006., Žitko i Merdić, 2006., Klobučar i sur., 2015.; Vignjević, 2014.), a zagrebačko područje 31 vrstu (Klobučar i sur., 2006.; Klobučar i sur., 2016.). U nekoliko pokrajina sjeverne Italije udomaćena je invazivna vrsta *Ae. koreicus* (ECDC, 2017.), stoga se nalaz ove vrste može očekivati i na području Hrvatske.

Dosadašnjim istraživanjima u svijetu dokazano je da je vrsta *Ae. albopictus* sposobna prenijeti najmanje 26 različitih patogena (Paupy i sur., 2009.; Medlock i sur., 2015.; Koch i sur., 2016.). Među njima su brojni virusi izolirani iz komaraca uzorkovanih u prirodi u različitim zemljama, nakon čega je dokazan prijenos ovih virusa u laboratorijskim uvjetima (Paupy i sur., 2009.). Istraživanjem u ovom radu na relativno malom uzorku (1.915 jedinki, 61 skupni uzorak) dokazano je prisustvo USUV u jednom skupnom uzorku jedinki *Ae. albopictus* s područja Zagreba. Dokaz USUV na malom uzorku vrste *Ae. albopictus* stavlja naglasak na još veću potrebu nadzora nad ovom vrstom komaraca te potrebu promatranja vrste kao potencijalnog vektora USUV na našim prostorima budući da su autohtone humane neuroinvazive USUV infekcije dokazane na području Hrvatske.

Prirodni ciklus USUV sličan je ciklusu VZN. Rezervoari USUV su različite vrste divljih ptica, a u širenju virusa na nova područja važnu ulogu imaju ptice selice (Sanchez-Seco i Vazquez, 2013.). Vektori USUV u Africi su ornitofilni komarci roda *Culex* (*Culex neavei* je glavni vektor, *Culex perfuscus*, *Culex quinquefasciatus*), *Coquillettidia aurites* i *Mansonia africana* (Hubalek, 2008.; Nikolay i sur., 2011.; Nikolay i sur., 2012.). Na području Europe USUV je dokazan u više vrsta komaraca. Posljednjih desetak godina otkako se USUV prati na području Italije, virus je dokazan u više vrsta komaraca uzorkovanih u prirodi: *Cx. pipiens*, *Ae. albopictus*, *An. maculipennis* i *Ae. caspius* (Tamba i sur., 2011.; Calzolari i sur., 2012.; Calzolari i sur., 2013.). U Španjolskoj je virus dokazan u jedinkama vrsta *Cx. pipiens* i *Cx. perexignus* (Busquets i sur., 2008.; Vazquez i sur., 2011.), u Njemačkoj u jedinkama *Cx. pipiens* (Jost i sur., 2011.), a u Češkoj u jedinkama vrste *Cx. modestus* (Rudolf i sur., 2015.). Dakle, vrsta *Cx. pipiens* najčešća je vrsta na području Europe u kojoj je dokazan USUV u jedinkama iz prirode. Nadalje, laboratorijska studija je pokazala da su komarci vrste *Cx. pipiens* s područja sjeverozapadne Europe (Nizozemska) visoke vektorske sposobnosti za prijenos USUV (Fros i sur., 2015.).

Prvi dokaz prisustva USUV u komarcima *Ae. albopictus* zabilježen je u Italiji na području pokrajine Emilia-Romagna, gdje je istraživana prisutnost WNV i USUV u komaraca i ptica tijekom četiri godine (2008.-2011.). U prvog godini praćenja USUV nije dokazan u jedinkama *Ae. albopictus*, a tijekom naredne tri godine broj pozitivnih skupnih uzoraka iznosio je: 1,9% (2/108) 2009. godine; 1,5% (2/131) 2010. godine te 3,1% (6/192) 2011. godine. USUV je dokazan i u jedinkama *Cx. pipiens* s većim udjelom nego u vrste *Ae. albopictus*: 4,3% (2009.), 3,8 (2010.), 4,5% (2011.) (Calzolari i sur., 2013.). Osim u komarcima, USUV virus je pronađen u 11 ptica tijekom 2009. (sedam aktivno prikupljenih i četiri pronađene uginule ptice) te u 12 ptica tijekom 2010. godine (jedna aktivno prikupljena i 11 uginulih ptica) (Calzolari i sur., 2013.).

Na području Hrvatske prisutnost USUV se prati od 2011. godine tijekom koje su prvi put potvrđena dva seropozitivna konja na području Zagrebačke i Sisačko-moslavačke županije (Barbić i sur., 2013.). Tijekom WNV epidemije u razdoblju od druge polovine srpnja do prve polovine listopada 2013. godine na području sjeverozapadne Hrvatske zabilježeni su prvi klinički slučajevi humane USUV infekcije kada su opisana tri slučaja neuroinvazivne bolesti uzrokovane USUV s kliničkom slikom meningitisa i meningoencefalitisa (Vilibić-Čavlek i sur., 2014.; Santini i sur., 2014.; Pem-Novosel i sur., 2014.). Epidemiološki podaci pokazuju da se radilo o autohtonoj infekciji USUV, a oboljele osobe bile su s područja grada Zagreba i Zagrebačke županije (Santini i sur., 2014.).

Održavanje USUV na određenom području najvjerojatnije omogućuje prezimljavanje uzročnika u inficiranim komarcima te uspostavljanje prirodnog ciklusa prijenosa između ptica i komaraca na početku nove sezone (Chvala i sur., 2007.). Virus može prezimiti u odraslim jedinkama komarca vektora (kao što je slučaj s vrstom *Cx. pipiens*), a može prezimiti u stadiju jaja ili u stadiju ličinki koje prezimljavaju (što je znatno rjeđe) (Kuno i Chang, 2005.).

Sklonost vrste *Ae. albopictus* hranjenju na različitim životinjskim vrstama ne samo da poboljšava njezine biološke osobine (npr. reproduktivnost i preživljavanje), već i rizik za širenje uzročnika sa životinje na životinju i sa životinje na čovjeka. Široki spektar domaćina nedvojbeno je jedna od osobina vrste koja pridonosi njenoj invazivnosti i naseljavanju različitih okruženja, od šume do urbaniziranih područja (Paupy i sur., 2009.). Sklonost *Ae. albopictus* vrste hranjenju na različitim domaćinima, što uključuje i ptice, značajno povećava potencijalnu ulogu vrste u prijenosu USUV.

Dakle, na području sjeverozapadne Hrvatske do sada su zabilježene neuroinvazivne infekcije uzrokovane USUV u ljudi, a dokazana je i prisutnost USUV u konja. Ovim je istraživanjem USUV dokazan i u komarcima vrste *Ae. albopictus*. Ova vrsta komaraca udomaćena je na području Zagreba, u pojedinim dijelovima Zagrebačke županije i u Karlovcu. Uz komarce vrste *Cx. pipiens* koji imaju visoku vektorsku sposobnost za prijenos USUV, uzorkovanje i detekcija virusa u jedinkama vrste *Ae. albopictus* omogućila bi nove spoznaje vektorske uloge ove vrste u prijenosu USUV.

Pojava vrste *Ae. albopictus*, njeno širenje i udomaćivanje na području Hrvatske donijelo je sa sobom brojne nove situacije. Od prve pojave 2004. godine do danas postupno se povećavala angažiranost javnozdravstvenih djelatnika u praćenju proširenosti vrste, nadzoru nad bolestima koje vrsta prenosi, provedbi mjera suzbijanja te edukaciji građana. Zabilježeni su i prvi autohtoni slučajevi dengue u Hrvatskoj te druge bolesti (neuroinvazivna WNV i USUV infekcija) čiji primarni vektor nije vrsta *Ae. albopictus*. Povremeno se bilježe uneseni slučajevi bolesti koje prenose invazivni komarci (ZIKV i CHIKV infekcija), a zbog prisutnih vektora moguć je prijenos virusa na lokalno stanovništvo. Sve navedeno ukazuje na vjerojatnost ponovne pojave već zabilježenih bolesti te bolesti koje do sada u Hrvatskoj nisu zabilježene.

6. ZAKLJUČCI

- Vrsta *Ae. albopictus* pronađena je u Zagrebu na početku svog širenja. Nalazi 2005. i 2007. godine u tvrtkama koje posluju gumama upućuju na vjerojatni unos vrste u Zagreb uvozom guma iz sjeveroistočne Italije.
- Invazivno širenje vrste *Ae. albopictus* u Zagrebu zabilježeno je u razdoblju od 2012. do 2015. godine kada je vrsta bila prisutna na svim promatranim lokalitetima. Utvrđena je statistički značajna razlika u svim vrijednostima kojima se u radu opisuju brojnost i aktivnost vrste: u broju položenih jaja, prevalenciji pozivnih klopki, intenzitetu i gustoći položenih jaja između 2014. i 2015. godine. Uočeno je širenje areala od zapadnog prema istočnim dijelovima grada. Vrsta *Ae. albopictus* pokazuje prostornu raspodjelu ovipozicije; istraživani lokaliteti statistički se značajno razlikuju prema broju položenih jaja. Također je utvrđena statistički značajna razlika u broju položenih jaja na mikrolokalitetima istog lokaliteta kod većine lokaliteta.
- Početak ovipozicije vrste *Ae. albopictus* u Zagrebu zabilježen je u svibnju, visoka aktivnost ovipozicije od 27. do 38. tjedna, a prestanak sredinom listopada. Ovipozicijska aktivnost u kontinentalnoj Hrvatskoj kraća je za približno tri mjeseca nego u srednjoj Dalmaciji, započinje kasnije u proljeće i završava ranije u jesen.
- Vrsta *Ae. albopictus* proširila je areal na područja Zagrebačke, Bjelovarsko-bilogorske i Karlovačke županije, pri čemu je udomaćena na području Zaprešića, Samobora, Jastrebarskog, Velike Gorice i Karlovca. Na području Krapinsko-zagorske županije zabilježeni su povremeni unosi vrste.
- Vrsta *Ae. japonicus* pronađena je u Krapinsko-zagorskoj županiji na početku svog širenja (2013. godine). Do kraja 2016. godine invazivno se proširila na području sjeverozapadne Hrvatske. Uočeno je širenje areala sa zapada i sjeverozapada prema istoku, odnosno s područja Slovenije. Vrsta se udomaćila na području Krapinsko-zagorske županije; utvrđena je statistički značajna razlika u broju položenih jaja, prevalenciji pozivnih klopki, intenzitetu i gustoći položenih jaja između 2014. i 2016. godine.
- Ovipozicijska aktivnost vrste *Ae. japonicus* u Krapinsko-zagorskoj županiji zabilježena je u razdoblju od 18. (početak svibnja) do 43. tjedna (konac listopada).
- Dinamika pojave obje invazivne vrste komaraca na području Bjelovarsko-bilogorske županije ukazuje na stalne unose (širenje) vrsta koje nisu udomaćene.

- Razdoblje ovipozicije vrste *Ae. albopictus* u sjeverozapadnoj Hrvatskoj kraće je u odnosu na vrstu *Ae. japonicus*.
- Iako istraživane invazivne vrste imaju različite temperaturne zahtjeve, područje sjeverozapadne Hrvatske pogoduje udomaćivanju obje vrste.
- Dokaz RNA virusa usutu u komarcima vrste *Ae. albopictus* s područja grada Zagreba naglašava potrebu daljnjeg uzorkovanja jedinki ove vrste komaraca te provedbe detekcije virusa radi razjašnjavanja uloge ove vrste u prijenosu USUV.
- Širenje areala invazivnih vrsta komaraca *Ae. albopictus* i *Ae. japonicus* u Hrvatskoj donosi različite štetne posljedice za okoliš i ljude, a najvažnija je mogućnost pojave bolesti koje vrste mogu prenijeti. Radi toga je potrebno kontinuirano provoditi nadzor nad invazivnim vrstama, mjere suzbijanja te edukaciju građana.

7. LITERATURA

1. Adhami J, Reiter P (1998) Introduction and establishment of *Aedes (Stegomyia) albopictus*, Skuse (Diptera: Culicidae) in Albania. J Am Mosq Control Assoc 14: 340-343.
2. Albieri A, Carrieri M, Angelini P, Baldacchini F, Venturelli C, Mascali Zeo S, Bellini R (2010) Quantitative monitoring of *Aedes albopictus* in Emilia-Romagna, Northern Italy: cluster investigation and geostatistical analysis. Bull Insectol 63(2): 209-216.
3. Andreadis TG, Anderson JF, Munstermann LE, Wolfe RJ, Florin D (2001) Discovery, distribution, and abundance of the newly introduced mosquito *Ochlerotatus japonicus* (Diptera: Culicidae) in Connecticut, USA. J Med Entomol 38: 774-779.
4. Andreadis TG, Wolfe RJ (2010) Evidence for reduction of native mosquitoes with increased expansion of invasive *Ochlerotatus japonicus japonicus* (Diptera: Culicidae) in the northeastern United States. J Med Entomol 47: 43-52.
5. Angelini P, Tamba M, Finarelli AC, Bellini R, Albieri A, Bonilauri P, Cavrini F, Dottori M, Gaibani P, Martini E, Mattivi A, Pierro AM, Rugna G, Sambri V, Squintani G, Macini P (2010) West Nile virus circulation in Emilia-Romagna, Italy: the integrated surveillance system 2009. Euro Surveill 15(16): pii=19547.
6. Apperson CS, Hassan HK, Harrison BA, Savage HM, Aspen SE, Farajollahi A, Crans W, Daniels TJ, Falco RC, Benedict M, Anderson M, McMillen L, Unnasch TR. (2004) Host feeding patterns of established and potential mosquito vectors of West Nile virus in the eastern United States. Vector Borne Zoonotic Dis 4: 71-82.
7. Armistead JS, Arias JR, Nishimura N, Lounibos LP (2008) Interspecific larval competition between *Aedes albopictus* and *Aedes japonicus* (Diptera: Culicidae) in northern Virginia. J Med Entomol 45: 629-637.
8. Armistead JS, Nishimura N, Arias JR, Lounibos LP (2012) Community ecology of container mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Virginia following invasion by *Aedes japonicus*. J Med Entomol 49: 1318-1327.
9. Bakonyi T, Lussy H, Weissenböck H, Hornyak A, Nowotny N (2005) In vitro host-cell susceptibility to Usutu virus. Emerg Infect Dis 11: 298-301.
10. Barbic L, Listes E, Katic S, Stevanovic V, Madic J, Staresina V, Labrovic A, Di Gennaro A, Savini G (2012) Spreading of West Nile virus infection in Croatia. Vet Microbiol 159: 504-508.
11. Barbic L, Vilibic-Cavlek T, Listes E, Stevanovic V, Gjenero-Margan I, Ljubin-Sternak S, Pem-Novosel I, Listes I, Mlinaric-Galinovic G, Di Gennaro A, Savini G (2013) Demonstration of Usutu virus antibodies in horses, Croatia. Vector Borne Zoonotic Dis 13: 772-774.
12. Barr KL, Anderson BD, Prakoso D, Long MT (2016) Working with Zika and Usutu Viruses In Vitro. PLoS Negl Trop Dis 10(8): e0004931.
13. Bartlett-Healy K, Unlu I, Obenauer P, Hughes T, Healy S, Crepeau T, Farajollahi A, Kesavaraju B, Fonseca D, Schoeler G, Gaugler R, Strickman D (2012) Larval mosquito habitat utilization and community dynamics of *Aedes albopictus* and *Aedes japonicus* (Diptera: Culicidae). J Med Entomol 49(4): 813-824.
14. Beaman JR, Turell MJ (1991) Transmission of Venezuelan equine encephalomyelitis virus by strains of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) collected in North and South America. J Med Entomol 28(1): 161-164.

15. Becker N, Huber K, Pluskota B, Kaiser A (2011) *Ochlerotatus japonicus japonicus* – a neozoon in Germany and a revised list of the German mosquito fauna. *Eur Mosq Bull* 9: 88–102.
16. Becker N, Jost H, Ziegler U, Eiden M, Hoper D, Emmerich P, Fichet-Calvet E, Ehichioya DU, Czajka C, Gabriel M, Hoffmann B, Beer M, Tenner-Racz K, Racz P, Gunther S, Wink M, Bosch S, Konrad A, Pfeffer M, Groschup MH, Schmidt-Chanasit J (2012) Epizootic emergence of Usutu virus in wild and captive birds in Germany. *PLoS One* 7: e32604.
17. Becker N, Petric D, Zgomba M, Boase C, Dahl C, Madon M, Kaiser A (2010) *Mosquito and Their Control*, 2nd edition. Springer Heidelberg Dordrecht, London New York 577 p.
18. Benedict MQ, Levine RS, Hawley WA, Philip L (2007) Spread of the Tiger: global risk of invasion by the mosquito *Aedes albopictus*. *Vector Borne Zoonotic Dis* 7(1): 76–85.
19. Benić N, Klobučar A, Krajcar D, Lesnikar V, Bačun-Ivček Lj, Pahor Đ, Šušnić V (2012) Naša iskustva u uzorkovanju tigrastih komaraca BG Sentinel klopama na području Primorsko-goranske i Ličko-senjske županije. *Zbornik radova seminara djelatnosti dezinfekcije, dezinfekcije, deratizacije i zaštite uskladištenih poljoprivrednih proizvoda 2012*. Korunić d.o.o., Zagreb, 138-144.
20. Benić N, Merdić E, Žitko T, Landeka N, Krajcar D, Klobučar A (2008) Istraživanje rasprostranjenosti komaraca *Aedes albopictus* na hrvatskoj obali. *Zbornik radova seminara djelatnosti dezinfekcije, dezinfekcije, deratizacije i zaštite uskladištenih poljoprivrednih proizvoda 2008*. Korunić d.o.o., Zagreb, 141-148.
21. Bevins SN (2007) Establishment and abundance of a recently introduced mosquito species *Ochlerotatus japonicus* (Diptera: Culicidae) in the Southern Appalachians, USA. *J Med Entomol* 44: 945-952.
22. Boca I, Landeka N, Merdić E (2006) Trenutno stanje vrste *Aedes albopictus* na području Istarske županije. *Zbornik radova seminara djelatnosti dezinfekcije, dezinfekcije, deratizacije i zaštite uskladištenih poljoprivrednih proizvoda 2006*. Korunić d.o.o., Zagreb, 57-60.
23. Bonilauri P, Bellini R, Calzolari M, Angelini R, Venturi L, Fallacara F, Cordioli P, Angelini P, Venturelli C, Merialdi G, Dottori M (2008) Chikungunya virus in *Aedes albopictus*, Italy. *Emerg Infect Dis* 14: 852-854.
24. Bonizzoni M, Gasperi G, Chen X, James AA (2013) The invasive mosquito species *Aedes albopictus*: current knowledge and future perspectives. *Trends Parasitol* 29(9): 460–468.
25. Brady OJ, Johansson MA, Guerra CA, Bhatt S, Golding N, Pigott DM, Delatte H, Grech MG, Leishnam PT, Maciel-de-Freitas R, Styer LM, Smith DL, Scott TW, Gething PW, Hay SI (2013) Modelling adult *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* survival at different temperatures in laboratory and field settings. *Parasit Vectors* 6(1): 351.
26. Braks M A H, Honorio N A, Lounibos L P, Lourenco-De-Oliveira R, Juliano S A (2004) Interspecific competition between two invasive species of container mosquitoes, *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in Brazil. *Ann Entomol Soc Am* 97: 130-139.
27. Briegel H, Timmermann SE (2001) *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae): physiological aspects of development and reproduction. *J Med Entomol* 38: 566-571.
28. Buhagiar JA (2009) A second record of *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Diptera: Culicidae) in Malta. *Eu Mosq Bull* 27: 65-67.
29. Burger JF, Davis H (2008) Discovery of *Ochlerotatus japonicus japonicus* (Theobald) (Diptera: Culicidae) in southern New Hampshire, USA and its subsequent increase in abundance in used tire casings. *Entomol News* 119: 439-444.

30. Busquets N, Alba A, Allepuz A, Aranda C, Ignacio Nuñez J (2008) Usutu virus sequences in *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae), Spain. *Emerg Infect Dis* 14: 861-863.
31. Calzolari M, Bonilauri P, Bellini R, Albieri A, Defilippo F, Maioli G, Galletti G, Gelati A, Barbieri I, Tamba M, Lelli D, Carra E, Cordioli P, Angelini P, Dottori M (2010) Evidence of simultaneous circulation of West Nile and Usutu viruses in mosquitoes sampled in Emilia-Romagna region (Italy) in 2009. *PLoS One* 5: e14324.
32. Calzolari M, Bonilauri P, Bellini R, Albieri A, Defilippo F, Tamba M, Tassinari M, Gelati A, Cordioli P, Angelini P, Dottori M (2013) Usutu virus persistence and West Nile virus inactivity in the Emilia-Romagna region (Italy) in 2011. *PLoS One* 8: e63978.
33. Calzolari M, Gaibani P, Bellini R, Defilippo F, Pierro A, Albieri A, Maioli G, Luppi A, Rossini G, Balzani A, Tamba M, Galletti G, Gelati A, Carrieri M, Poglayen G, Cavrini F, Natalini S, Dottori M, Sambri V, Angelini P, Bonilauri P (2012) Mosquito, bird and human surveillance of West Nile and Usutu viruses in Emilia Romagna region (Italy) in 2010. *PLoS One* 7: e38058.
34. Caminade C, Medlock JM, Ducheyne E, McIntyre KM, Leach S, Baylis M, Morse AP (2012) Suitability of European climate for the Asian tiger mosquito *Aedes albopictus*: recent trends and future scenarios. *J R Soc Interface* doi:10.1098/rsif.2012.0138
35. Cancrini G, Frangipane Di Regalbono A, Ricci I, Tessarin C, Gabrielli S, Pietrobelli M (2003b) *Aedes albopictus* is a natural vector of *Dirofilaria immitis* in Italy. *Vet Parasitol* 118: 195-202.
36. Cancrini G, Romi R, Gabrielli S, Toma L, di Paolo M, Scaramozzino P (2003a) First finding of *Dirofilaria repens* in a natural population of *Aedes albopictus*. *Med Veterinary Entomology* 17(4): 448-451.
37. Capak K, Jeličić P, Janev Holcer N, Trumbetić I, Klobučar A, Landeka N, Žitrko T, Sikora M, Bokan I, Merdić E, Krešić K, Cvitković A, Lipovac I, Medić A, Slavić-Vrzić V, Klemenčić M, Slavica S, Sanković A, Mitrović-Hamzić S, Fičko I, Vrsaljko Z, Hranilović B, Grgić I, Stanić I, Putarek B (2017) Provedba nacionalnog sustava praćenja invazivnih vrsta komaraca na području Republike Hrvatske. *Zbornik radova seminara djelatnosti dezinfekcije, dezinfekcije, deratizacije i zaštite uskladištenih poljoprivrednih proizvoda 2017*. Korunić d.o.o., Zagreb, 37-53.
38. Carrieri M, Albieri A, Angelini P, Baldacchini F, Claudio Venturelli, Silvia Mascali Zeo, Romeo Bellini (2011) Surveillance of the chikungunya vector *Aedes albopictus* (Skuse) in Emilia-Romagna (northern Italy): organizational and technical aspects of a large scale monitoring system. *Journal of Vector Ecology* 36 (1): 108-116.
39. Carrieri M, Angelini P, Venturelli C, Maccagnani B, Bellini R (2012) *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) population size survey in the 2007 chikungunya outbreak area in Italy. II: Estimating epidemic thresholds. *J Med Entomol* 49(2): 388-399.
40. Chouin-Carneiro T, Vega-Rua A, Vazeille M, Yebakima A, Girod R, Goindin D, Dupont-Rouzeyrol M, Lourenço-de-Oliveira R, Failloux AB (2016) Differential Susceptibilities of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from the Americas to Zika Virus. *PLoS Negl Trop Dis* 10(3): e0004543.
41. Chvala S, Bakonyi T, Bukovsky C, Meister T, Brugger K, Rubel F, Nowotny N, Weissenböck H (2007) Monitoring of Usutu virus activity and spread by using dead bird surveillance in Austria, 2003–2005. *Vet Microbiol* 122: 237-45.
42. Cotteaux-Lautard C, Berenger JM, Fusca F, Chardon H, Simon F, Pagès F (2013) A new challenge for hospitals in southeast France: monitoring local populations of *Aedes albopictus* to prevent nosocomial transmission of dengue or chikungunya. *J Am Mosq Control Assoc* 29: 81-83.
43. Cressie N (1992) *Statistics for Spatial Data*. John Wiley & Sons, New York.

44. Cunze S, Koch LK, Kochmann J, Klimpel S (2016a) *Aedes albopictus* and *Aedes japonicus* - two invasive mosquito species with different temperature niches in Europe. *Parasit Vectors* 9: 573.
45. Cunze S, Kochmann J, Koch LK, Klimpel S (2016b) *Aedes albopictus* and Its Environmental Limits in Europe. *PLoS ONE* 11(9): e0162116.
46. Cvjetko Jerković S (2016) Statistički ljetopis grada Zagreba. Grad Zagreb, Gradski ured za strategijsko planiranje i razvoj grada. Zagreb
47. Damiens D, Ayrinhac A, Van Bortel W, Versteirt V, Dekoninck W, Hance T (2014) Invasive process and repeated cross-sectional survey of the mosquito *Aedes japonicus japonicus* establishment in Belgium. *PLoS ONE* 9(4): e89358.
48. Delatte H, Desvars A, Bouetard A, Bord S, Gimonneau G, Vourc'h G, Fontenille D (2010) Blood-feeding behavior of *Aedes albopictus*, vector of chikungunya on La Re'union. *Vector Borne Zoonotic Dis* 8: 249-258.
49. Delatte H, Gimonneau G, Triboire A, Fontenille D (2009) Influence of temperature on immature development, survival, longevity, fecundity, and gonotrophic cycles of *Aedes albopictus*, vector of chikungunya and dengue in the Indian Ocean. *J Med Entomol* 46(1): 33-41.
50. Delisle E, Rousseau C, Broche B, Leparç-Goffart I, L'Ambert G, Cochet A, Prat C, Foulongne V, Ferre JB, Catelinois O, Flusin O, Tchernonog E, Moussion IE, Wiegandt A, Septfonds A, Mendy A, Moyano MB, Laporte L, Maurel J, Jourdain F, Reynes J, Paty MC, Golliot F (2015) Chikungunya outbreak in Montpellier, France, September to October 2014. *Euro Surveill* 20(17): 21108.
51. Della Pozza GL, Majori G (1992) First record of *Aedes albopictus* establishment in Italy. *J Am Mosq Control Assoc* 8: 318-320.
52. Della Pozza GL, Romi R, Severini C (1994) Source and spread of *Aedes albopictus* in the Veneto region of Italy. *J Am Mosq Control Assoc* 10: 589-592.
53. Di Luca M, Severini F, Toma L, Boccolini D, Romi R, Remoli ME, et al. (2016) Experimental studies of susceptibility of Italian *Aedes albopictus* to Zika virus. *Euro Surveill* 21(18): 30223.
54. Drago A (2003) Education, information and public awareness in vector control. in Presentation to the 14th European Conference of the Society of Vector Ecology, 3-6 September 2003, Bellinzona, Switzerland.
55. Duffy MR, Chen TH, Hancock WT, Powers AM, Kool JL, Lanciotti RS, Pretrick M, Marfel M, Holzbauer S, Dubray C, Guillaumot L, Griggs A, Bel M, Lambert AJ, Laven J, Kosoy O, Panella A, Biggerstaff BJ, Fischer M, Hayes EB (2009) Zika virus outbreak on Yap island, Federated States of Micronesia. *N Engl J Med* 360: 2536-2543.
56. Dunphy BM, Tucker BJ, Petersen MJ, Blitvich BJ, Bartholomay LC (2009) Arrival and establishment of *Aedes japonicus japonicus* in Iowa. *J Med Entomol* 46 (6): 1282-1289.
57. Effler PV, Pang L, Kitsutani P, Vorndam V, Nakata M, Ayers T, Elm J, Tom T, Reiter P, Rigau-Perez JG, Hayes JM, Mills K, Napier M, Clark GG, Gubler DJ; Hawaii, Dengue Outbreak Investigation Team. (2005) Dengue fever, Hawaii, 2001-2002. *Emerg Infect Dis* 11(5): 742-749.
58. Eritja, R., Escosa, R., Lucientes, J., Marque, E., Molina, R., Roiz, D. and Ruiz, S. 2005. Worldwide Invasion of Vector Mosquitoes: Present European Distribution and Challenges for Spain, *Biological Invasions* 7: 87-97.
59. European Centre for Disease Prevention and Control (2009) Development of *Aedes albopictus* Risk Maps. Stockholm, ECDC. Dostupno: <http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/0905> Pristupljeno: 12. listopada 2016.
60. European Centre for Disease Prevention and Control (2012) Guidelines for the surveillance of invasive mosquitoes in Europe. Stockholm, ECDC. Dostupno:

- <http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/publications/ter-mosquito-surveillance-guidelines>. Pristupljeno: 7. rujna 2012.
61. European Centre for Disease Prevention and Control (2017) Information on *Aedes albopictus*. Dostupno: <http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/vectors/mosquitoes/Pages/aedes-albopictus.aspx> pristupljeno: 5. ožujka 2017. godine
 62. Falco RC, Daniels TJ, Slameck MC (2002) Prevalence and distribution of *Ochlerotatus japonicus* (Diptera: Culicidae) in two counties in southern New York State. *J Med Entomol* 39(6): 920-925.
 63. Fischer D, Thomas SM, Neteler M et al. (2014) Climatic suitability of *Aedes albopictus* in Europe referring to climate change projections: comparison of mechanistic and correlative niche modelling approaches. *Euro Surveill* 19(6): pii=20696.
 64. Fischer D, Thomas SM, Niemitz F, Reineking B, Beierkuhnlein C (2011) Projection of climatic suitability for *Aedes albopictus* Skuse (Culicidae) in Europe under climate change conditions. *Glob Planet Change* 78 (1): 54–64.
 65. Flacio E, Engeler L, Tonolla M, Müller P (2016) Spread and establishment of *Aedes albopictus* in southern Switzerland between 2003 and 2014: an analysis of oviposition data and weather conditions. *Parasit Vectors* 9: 304.
 66. Fonseca DM, Campbell S, Crans WJ, Mogi M, Miyagi I, Toma T, Bullians M, Andreadis TG, Berry RL, Pagac B, Sardelis MR, Wilkerson RC (2001) *Aedes (Finlaya) japonicus* (Diptera: Culicidae), a newly recognized mosquito in the United States: analyses of genetic variation in the United States and putative source populations. *J Med Entomol* 38: 135-146. 10.1603/0022-2585-38.2.135.
 67. Fonseca DM, Widdel AK, Hutchinson M, Spichiger SE, Kramer LD (2010) Fine-scale spatial and temporal population genetics of *Aedes japonicus*, a new US mosquito, reveal multiple introductions. *Mol Ecol* 19(8): 1559-1572.
 68. Frajollahi A, Banugopan K, Price DC, Williams GM, Healy SP, Gaugler R, Nedler MP (2009) Field efficacy of BG-Sentinel and industry-standard traps for *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) and West Nile virus surveillance. *J Med Entomol* 46(4): 919-925.
 69. Gaibani P, Pierro A, Alicino R, Rossini G, Cavrini F, Landini MP, Sambri V (2012) Detection of Usutu-virus-specific IgG in blood donors from Northern Italy. *Vector Borne Zoonotic Dis* 12: 431-433.
 70. Garigliany MM, Marlier D, Tenner-Racz K, Eiden M, Cassart D, Gandar F, Beer M, Schmidt-Chanasit J, Desmecht D (2014) Detection of Usutu virus in a bullfinch (*Pyrrhula pyrrhula*) and a great spotted woodpecker (*Dendrocopos major*) in north-west Europe. *Vet J* 199: 191-193.
 71. Gaspar JP, McKay T, Huss MJ (2012) First report of *Aedes japonicus* in natural and artificial habitats in northeastern Arkansas. *J Am Mosq Control Assoc* 28(1): 38-42.
 72. Gatt P, Deeming JC, Schaffner F (2009) First records of *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) in Malta. *Europ Mosq Bull* 27: 56-64.
 73. Gatt P, Schaffner F, Cassai F (2010) *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) in Malta, the first winter. *Europ Mosq Bull* 28: 225-229.
 74. Genchi C, Rinaldi L, Mortarino M, Genchi M, Giuseppe C (2009) Climate and dirofilaria infection in Europe. *Vet Parasitol* 163(4): 268-292.
 75. Gerhardt RR, Gottfried KL, Apperson CS, Davis BS, Erwin PC, Smith AB, Panella NA, Powell EE, Nasci RS (2001) First isolation of La Crosse virus from naturally infected *Aedes albopictus*. *Emerg Infect Dis* 7(5): 807-811.
 76. Giangaspero A, Marangi M, Latrofa MS, Martinelli D, Traversa D, Otranto D, Genchi C (2013) Evidences of increasing risk of dirofilarioses in southern Italy. *Parasitol Res* 112(3): 1357-1361.

77. Giatropoulos A, Emmanouel N, Koliopoulos G, Michaelakis A (2012) A study on distribution and seasonal abundance of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) population in Athens, Greece. *J Med Entomol* 49(2): 262-269.
78. Gjenero-Margan I, Aleraj B, Krajcar D, Lesnikar V, Klobucar A, Pem-Novosel I, Kurecic-Filipovic S, Komparak S, Martic R, Đuricic S, Betica-Radic L, Okmadzic J, Vilibic-Cavlek T, Babic-Erceg A, Turkovic B, Avsic-Zupanc T, Radic I, Ljubic M, Sarac K, Benic N, Mlinaric-Galinovic G (2010) Autochthonous dengue fever in Croatia, August-September 2010. *Euro Surveill* 16(9): pii:19805.
79. Global Invasive Species Database (2017) Species profile: *Aedes albopictus*. Dostupno: <http://www.iucngisd.org/gisd/species.php?sc=109> pristupljeno: 18. travnja 2017.
80. Goenaga S, Fabbri C, Dueñas JC, Gardenal CN, Rossi GC, Calderon G, Morales MA, Garcia JB, Enria DA, Levis S (2012) Isolation of yellow fever virus from mosquitoes in Misiones province, Argentina. *Vector Borne Zoonotic Dis* 12(11): 986-993.
81. Golubic D, Dobler G (2012) Flaviviruses in northwest Croatia. *Croat J Infect* 32: 153-157.
82. Grandadam M, Caro V, Plumet S, Thiberge JM, Souares Y, Failloux AB, Tolou HJ, Budelot M, Cosserat D, Leparac-Goffart I, Desprès P (2011) Chikungunya virus, southeastern France. *Emerg Infect Dis* 17(5): 910-913.
83. Grard G, Caron M, Mombo IM, Nkoghe D, Mboui Ondo S, Jiolle D, Fontenille D, Paupy C, Leroy EM (2014) Zika virus in Gabon (Central Africa) - 2007: a new threat from *Aedes albopictus*? *PLOS Negl Trop Dis* 8(2): e2681.
84. Gratz NG (2004) Critical review of the vector status of *Aedes albopictus*. *Med Vet Entomol* 18: 215-227.
85. Gray EW, Harrison BA, Womack ML, Kerce J, Neely CJ, Noblet R (2005) *Ochlerotatus japonicus japonicus* (Theobald) in Georgia and North Carolina. *J Am Mosq Control Assoc* 21: 144-146.
86. Grim DC, Jackson BT, Paulson SL (2007) Abundance and bionomics of *Ochlerotatus j. japonicus* in two counties in southwestern Virginia. *J Am Mosq Control Assoc* 23: 259-263.
87. Grimstad PR, Kobayashi JF, Zhang MB, Craig Jr.GB (1989) Recently introduced *Aedes albopictus* in the United States: potential vector of La Crosse virus (Bunyaviridae: California serogroup). *J Am Mosq Control Assoc* 5(3): 422-427.
88. Hawley WA (1988) The biology of *Aedes albopictus*. *J Am Mosq Control Assoc* 4: 1-39.
89. Hennessey M, Fischer M, Staples JE (2016) Zika Virus Spreads to New Areas - Region of the Americas, May 2015-January 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 65: 55-58.
90. Hernandez R, Brown DT, Paredes A (2014) Structural differences observed in arboviruses of the alphavirus and flavivirus genera. *Adv Virol* 259382. doi: 10.1155/2014/259382.
91. Holick J, Kyle A, Ferraro W, Delaney RR, Iwaseczko M (2002) Discovery of *Aedes albopictus* infected with west nile virus in southeastern Pennsylvania. *J Am Mosq Control Assoc* 18(2): 131.
92. Hoshino K, Isawa H, Tsuda Y, Kobayashi M (2010) Laboratory colonization of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera: Culicidae) collected in Narita, Japan and the biological properties of the established colony. *Jpn J Infect Dis* 63(6): 401-404.
93. Hršak V, Duplic A, Krivanek G, Plavac I, Radović J, Topić R (2007) Stručna podloga zaštite prirode za reviziju Prostornog plana Karlovačke županije. Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb
94. Hubálek Z (2008) Mosquito-borne viruses in Europe. *Parasitol Res* 103 Suppl 1: 29-43.
95. Hubalek Z, Halouzka J (1999) West Nile Fever – a Reemerging Mosquito-Borne Viral Disease in Europe. *Emerg Infect Dis* 5: 643-650.

96. Hubalek Z, Rudolf I, Capek M, Bakonyi T, Betašova L, Nowotny N (2012) Usutu Virus in blackbirds (*Turdus merula*), Czech Republic, 2011–2012. *Transbound Emerg Dis* doi: 10.1111/tbed. 12025.
97. Jose J, Snyder JE, Kuhn RJ (2009) Structural and functional perspective of alphavirus replication and assembly. *Future Microbiol* 4: 837-856.
98. Jöst H, Bialonski A, Maus D, Sambri V, Eiden M, Groschup MH, Günther S, Becker N, Schmidt-Chanasit J (2011) Isolation of Usutu virus in Germany. *Am J Trop Med Hyg* 85: 551-553.
99. Joy JE, Sullivan SN (2005) Occurrence of tire inhabiting mosquito larvae in different geographic regions of West Virginia. *Am Mosq Control Assoc* 21(4): 380-386.
100. Jupp P, Kemp A (1992) *Aedes albopictus* and other mosquitoes imported in tires into Durban, South Africa. *J Am Mosq Control Assoc* 8(3): 321-322.
101. Kalan K, Buzan VE, Ivočić V (2014) Distribution of two invasive mosquito species in Slovenia. *Parasit Vectors* 7(1): 9.
102. Kampen H, Werner D (2014) Out of the bush: the Asian bush mosquito *Aedes japonicus japonicus* (Theobald, 1901) (Diptera, Culicidae) becomes invasive. *Parasit Vectors* 7: 59.
103. Kaufman GK, Fonseca DM (2014) Invasion Biology of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera: Culicidae). *Annu Rev Entomol* 59: 31-49.
104. Kaufman MG, Stanuszek WW, Brouhard EA, Knepper RG, Walker ED (2012) Establishment of *Aedes japonicus japonicus* and its colonization of container habitats in Michigan. *J Med Entomol* 49: 1307-1317.
105. Kitron UD, Webb DW, Novak RJ (1989) Oviposition behavior of *Aedes triseriatus* (Diptera: Culicidae): prevalence, intensity, and aggregation of eggs in oviposition traps. *J Med Entomol* 26: 462-467.
106. Klobucar A, Benic N, Krajcar D, Kosanovic-Licina ML, Tesic V, Merdic E, Vrucina I, Savic V, Barbic Lj, Stevanovic V, Pem-Novosel I, Vilibic-Cavlek T (2016) An overview of mosquitoes and emerging arboviral infections in the Zagreb area, Croatia. *J Infect Dev Ctries* 10(12): 1286-1293.
107. Klobucar A, Lipovac I, Merdic E, Volosen T, Tesic V (2015) First record and establishment of invasive mosquito *Aedes japonicus* in Croatia. Final Programme and Abstract book. 7th European Mosquito Control Association Workshop, Valencia 2015, 123.
108. Klobucar A, Merdic E, Benic N, Baklaic Z, Krcmar S (2006) First record of *Aedes albopictus* in Croatia. *J Am Mosq Control Assoc* 22(1): 147-148.
109. Klobučar A, Benić N, John V, Čulig J, Merdić E, Boca I, Landeka N, Žitko T (2006) *Stegomyia albopicta*, Asian tiger mosquito in Croatia - current status. 15th European Society for Vector Ecology Meeting, Programme and Abstract Book; 98.
110. Klobučar A, Lipovac I, Benić N; Krajcar D (2014) Novi nalazi invazivnih vrsta komaraca u sjeverozapadnoj Hrvatskoj tijekom 2013. godine. Zbornik radova djelatnosti dezinfekcije, dezinsekcije, deratizacije i zaštite uskladištenih poljoprivrednih proizvoda 2014. Korunić d.o.o., Zagreb, 49-59.
111. Knudsen AB (1995) Geographic spread of *Aedes albopictus* in Europe and the concern among public health authorities. *Eur J Epidemiol* 11: 345-348.
112. Knudsen AB, Romi R, Majori G (1996) Occurrence and spread in Italy of *Aedes albopictus*, with implications for its introduction into other parts of Europe. *J Am Mosq Control Assoc* 12 (2 Pt 1): 177-183.
113. Kobayashi M, Nihel N, Kurihara T (2002) Analysis of Northern Distribution of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in Japan by Geographical Information System. *J Med Ent* 39: 4-11.

114. Koch LK, Cunze S, Werblow A, Kochmann J, Dörge DD, Mehlhorn H, Klimpel S (2016) Modeling the habitat suitability for the arbovirus vector *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in Germany. *Parasitol Res* 115: 957-964.
115. Kuno G, Chang GJ (2005) Biological transmission of arboviruses: reexamination of and new insights into components, mechanisms, and unique traits as well as their evolutionary trends. *Clin Microbiol Rev* 18: 608-637.
116. La Ruche G, Souares Y, Armengaud A, Peloux-Petiot F, Despres P, Lenglet A, Jourdain F, Leparç-Goffart I, Charlet F, Ollier L, Mantey K, Mollet T, Fournier JP, Torrents R, Leitmyer K, Hilairat P, Zeller H, Van Bortel W, Dejour-Salamanca D, Grandadam M & Gastellu-Etchegorry M (2010) First two autochthonous dengue virus infections in metropolitan France, September 2010. *Eurosurveillance* 15(39): pii=19676.
117. Laird M, Calder L, Thornton RC, Syme R, Holder PW, Mogi M (1994) Japanese *Aedes albopictus* among four mosquito species reaching New Zealand in used tires. *J Am Mosq Control Assoc* 10: 14-23.
118. Lanciotti RS (2003) Molecular amplification assays for the detection of flaviviruses. *Adv Virus Res* 61: 67-99.
119. Leisnham PT, Juliano SA (2012) Impacts of climate, land use, and biological invasion on the ecology of immature *Aedes* mosquitoes: implications for La Crosse emergence. *EcoHealth* 9(2): 217-28.
120. Leparç-Goffart I, Baragatti M, Temmam S, Tuiskunen A, Moureau G, Charrel R, de Lamballerie X (2009) Development and validation of real-time one-step reverse transcription-PCR for the detection and typing of dengue viruses. *J Clin Virol* 45(1): 61-66.
121. Linke S, Ellerbrok H, Niedrig M, Nitsche A, Pauli G (2007) Detection of West Nile virus lineages and 2 by real-time RT-PCR. *J Virol Methods* 146: 355-358.
122. Llorente F, Perez-Ramirez E, Fernandez-Pinero J, Soriguer R, Figuerola J, Jimenez-Clavero MA (2013) Flaviviruses in game birds, southern Spain, 2011-2012. *Emerg Infect Dis* 19: 1023-1025.
123. Luksic B, Pandak N, Drazic-Maras E, Karabuvu S, Radic M, Babic-Erceg A, Barbic Lj, Stevanovic V, Vilibic-Cavlek T (2017) First case of imported chikungunya infection in Croatia. *Int Med Case Rep J* 10: 117-121.
124. Madon MB, Mulla MS, Shaw MW, Kluh S, Hazelrigg JE (2002) Introduction of *Aedes albopictus* (Skuse) in southern California and potential for its establishment. *J Vector Ecol Jun* 27(1): 149-154.
125. Malvić T (2008) Kriging geostatistička interpolacijska metoda. Hrvatsko geološko društvo, Zagreb
126. Marchand E, Prat C, Jeannin C, Lafont E, Bergmann T, Flusin O, Rizzi J, Roux N, BussoV, Deniau J, Noel H, Vaillant V, Leparç-Goffart I, Six C, Paty MC (2013) Autochthonous case of dengue in France, October 2013. *Euro Surveill* 18(50): 20661.
127. Marini F, Caputo B, Pombi M, Tarsitani G, Della TA (2010) Study of *Aedes albopictus* dispersal in Rome, Italy, using sticky traps in mark-release-recapture experiments. *Med Vet Entomol* 24: 361-368.
128. Medlock JM, Hansford KM, Schaffner F et al. (2012) A review of the invasive mosquitoes in Europe: ecology, public health risks, and control options. *Vector Borne Zoonotic Dis* 12(6): 435-447.
129. Medlock JM, Hansford KM, Versteirt V, Cull B, Kampen H, Fontenille D, Hendrickx G, Zeller H, Van Bortel W, Schaffner F (2015) An entomological review of invasive mosquitoes in Europe. *Bull Entomol Res* 105: 637-663.

130. Medlock JM1, Avenell D, Barrass I, Leach S (2006) Analysis of the potential for survival and seasonal activity of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in the United Kingdom. *J Vector Ecol* 31(2): 292-304.
131. Meeraus WH, Armistead JS, Arias JR (2008) Field comparison of novel and gold standard traps for collectin *Aedes albopictus* in Northern Virginia. *J Am Mosq Control Assoc* 24(2): 244-248.
132. Merdic E, Sudaric M, Lovakovic T, Boca I, Merdic S (2004) Checklist of mosquitoes (Diptera, Culicidae) of Croatia. *Europ Mosq Bull* 17: 8-13.
133. Merdic E, Vignjevic G, Turic N, Bogojevic Sudaric M, Milas J, Vrucina I, Zahirovic Z (2014) Mosquito survey during West Nile virus outbreak 2012 in northeast Croatia. *Coll Antropol* 38: 423-428.
134. Merdic E, Zitko T, Jelcic Z, Klobucar A (2009) Spreading of *Aedes albopictus* on Croatian islands by boats and yachts. 5th European Mosquito Control Association Workshop, Turin, Italy, Final Programme and Abstract book, Paper 5.1 Conference Programme and Abstract Book, 5th EMCA Workshop, Italy.
135. Merdić E, Turić N, Vignjević G, Žitko T, Benić N, Klobučar A, Krajcar D, Šarunić-Gulan J, Mumelaš N, Landeka N, Šuperak A (2012) Istraživanje vrste *Aedes albopictus* u jadranskim županijama tijekom 2011. *Zbornik radova djelatnosti dezinfekcije, dezinsekcije, deratizacije i zaštite uskladištenih poljoprivrednih proizvoda 2012*. Korunić d.o.o., Zagreb, 127-134.
136. Mitchell CJ (1991) Vector competence of North and South American strains of *Aedes albopictus* for certain arboviruses: a review. *J Am Mosq Control Assoc* 7: 446-451.
137. Mitchell CJ (1995) Geographic spread of *Aedes albopictus* and potential for involvement in arbovirus cycles in the Mediterranean basin. *J Vector Ecol* 20: 44-58.
138. Mitchell CJ, Miller BR (1990) Vertical transmission of dengue viruses by strains of *Aedes albopictus* recently introduced into Brazil. *J Am Mosq Control Assoc* 6: 251-253.
139. Mitchell CJ, Niebylski ML, Smith GC, Karabatsos N, Martin D, Mutebi JP, Craig GB Jr, Mahler MJ (1992) Isolation of eastern equine encephalitis virus from *Aedes albopictus* in Florida. *Science* 257(5069): 526-527.
140. Molaei G, Farajollahi A, Scott JJ, Gaugler R, Andreadis TG (2009) Human bloodfeeding by the recently introduced mosquito, *Aedes japonicus japonicus*, and public health implications. *J Am Mosq Control Assoc* 25: 210-214.
141. Moore CG, Mitchell CJ (1997) *Aedes albopictus* in the United States: ten-year presence and public health implications. *Emerg Infect Dis* 3(3): 329-334.
142. Nawrocki S, Hawley W (1987) Estimation of the northern limits of distribution of *Aedes albopictus* in North America. *J Am Mosq Contr Assoc* 3: 314-317.
143. Neitzel DF, Johnson KA, Brogren S, Kemperman MM (2009) First collection records of *Aedes japonicus* in Minnesota. *J Am Mosq Control Assoc* 25: 367-369.
144. Niebylski ML, Savage HM, Nasci RS, Craig Jr GB (1994) Blood hosts of *Aedes albopictus* in the United States, *J Am Mosq Control Assoc* 10: 447-450.
145. Niedrig M, Nitsche A, Donoso-Mantke O (2010) Arthropode-borne viruses. U: Jerome KR (ur). *Lennette's laboratory diagnosis of viral infections*. 4th ed. Informa Healthcare: New York, 450-457.
146. Nikolay B, Diallo M, Boye CSB, Sall AA. (2011) Usutu virus in Africa. *Vector Borne Zoonotic Dis* 11: 1417-1423.
147. Nikolay B, Diallo M, Faye O, Boye CSB, Sall AA (2012) Vector competence of *Culex neavei* (Diptera: Culicidae) for Usutu virus. *Am J Trop Med Hyg* 86: 993-996.
148. Nikolay B, Weidmann M, Dupressoir A, Faye O, Boye CS, Diallo M, Sall AA (2014) Development of a Usutu virus specific real-time reverse transcription PCR assay based on sequenced strains from Africa and Europe. *J Virol Methods* 197: 51-54.

149. Nowell WR (1996) Possible introduction of *Aedes albopictus* into Texas from Vietnam. J Am Mosq Control Assoc 12(4): 743-744
150. Pampiglione S, Rivasi F, Angeli G, Boldorini R (2001) *Dirofilariasis* due to *Dirofilaria repens* in Italy, an emergent zoonosis: report of 60 new cases. Histopathology 38: 344-354.
151. Paupy C, Delatte H, Bagny L, Corbel V, Fontenille D (2009) *Aedes albopictus*, an arbovirus vector: from the darkness to the light. Microbes Infect 11(14-15): 1177-1185.
152. Pem-Novosel I, Vilibic-Cavlek T, Gjenero-Margan I, Kaic B, Babic-Erceg A, Merdic E, Medic A, Ljubic M, Pahor D, Erceg M (2015) Dengue virus infection in Croatia: seroprevalence and entomological study. New Microbiol 38: 97-100.
153. Pem-Novosel I, Vilibic-Cavlek T, Gjenero-Margan I, Pandak N, Peric L, Barbic L, Listes E, Cvitkovic A, Stevanovic V, Savini G (2014) First outbreak of West Nile virus neuroinvasive disease in humans, Croatia, 2012. Vector Borne Zoonotic Dis 14: 82-84.
154. Petz B (2004) Osnovne statističke metode za nematematičare. Naklada Slap, Zagreb
155. Pluskota B, Storch V, Braunbeck T, Beck M, Becker N (2008) First record of *Stegomyia albopicta* (Skuse) (Diptera: Culicidae) in Germany. Europ Mosq Bull 26: 1-5.
156. Pradier S, Lecollinet S, Leblond A (2012) West Nile virus epidemiology and factors triggering change in its distribution in Europe. Rev Sci Tech 31: 829-844.
157. Program zaštite okoliša Grada Zagreba (2010) Dostupno: <http://www.zagreb.hr/UserDocsImages/okolis/obavijesti/NP%20PZOGZ.pdf> pristupljeno 17. listopada 2014.
158. Pumpuni CB, Knepler J, Craig GB (1992) Influence of temperature and larval nutrition on the diapause inducing photoperiod of *Aedes albopictus*. J Am Mosq Contr Assoc 8: 223-227.
159. Ramchurn SK, Moheeput K, Goorah SS (2009) An analysis of a short-lived outbreak of dengue fever in Mauritius. Euro Surveill 14(34): 19314.
160. Regis L, Monteiro AM, Melo-Santos MAV, Silveira JC, Furtado AF, Acioli RV, Santos GM, Nakazawa M, Carvalho MS, Ribeiro Jr PJ, Souza WV (2008) Developing new approaches for detecting and preventing *Aedes aegypti* population outbreaks: basis for surveillance, alert and control system. Mem Inst Oswaldo Cruz 103: 50-59.
161. Reinert JF (2000) New classification for the composite genus *Aedes* (Diptera: Culicidae: Aedini), elevation of subgenus *Ochlerotatus* to generic rank, reclassification of the other subgenera, and notes on certain subgenera and species. J Am Mosq Control Assoc 16(3): 175-188.
162. Reinert JF, Harbach RE, Kitching IJ (2004) Phylogeny and classification of *Aedini* (Diptera: Culicidae) based on morphological characters of all life stages. Zool J Linn Soc 142: 289-368.
163. Reinert JF, Harbach RE, Kitching IJ (2006) Phylogeny and classification of *Finlaya* and allied taxa (Diptera: Culicidae: *Aedini*) based on morphological data from all life stages. Zool J Linn Soc-Lond 148(1): 1-101.
164. Reiter P, Sprenger D (1987) The used tire trade: a mechanism for the worldwide dispersal of container breeding mosquitoes, J Am Mosq Control Assoc 3: 494-501.
165. Rezza G, Nicoletti L, Angelini R, Romi R, Finarelli AC, Panning M, Cordioli P, Fortuna C, Boros S, Magurano F, Silvi G, Angelini P, Dottori M, Ciufolini MG, Majori GC, Cassone A, CHIKV study group (2007) Infection with Chikungunya virus in Italy: an outbreak in a temperate region. Lancet 370: 1840-1846.
166. Richards SL, Ponnusamy L, Unnasch TR, Hassan HK, Apperson CS (2006) Host-feeding patterns of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in relation to availability of human and domestic animals in suburban landscapes of central North Carolina. J Med Entomol 43: 543-551

167. Roiz D, Neteler M, Castellani C, Arnoldi D, Rizzoli A. (2011) Climatic factors driving invasion of the tiger mosquito (*Aedes albopictus*) into new areas of Trentino, northern Italy. PLoS One 6(4): e14800.
168. Roiz D, Rosa R, Arnoldi D, Rizzoli A (2010) Effects of temperature and rainfall on the activity and dynamics of host-seeking *Aedes albopictus* females in northern Italy. Vector Borne Zoonotic Dis 10(8): 811-816.
169. Roiz D, Vazquez A, Rosso F, Arnoldi D, Girardi M, Cuevas L, et al. (2012) Detection of a new insect flavivirus and isolation of *Aedes flavivirus* in Northern Italy. Parasit Vectors 5: 223.
170. Romi R, Di Luca M, Majori G (1999) Current status of *Aedes albopictus* and *Aedes atropalpus* in Italy. J Am Mosq Control Assoc 15(3): 425-427.
171. Romi R, Majori G (2008) An overview of the lesson learned in almost 20 years of fight against the "tiger" mosquito. Parassitologia Jun 50(1-2): 117-119.
172. Romi R, Severini F, Toma L (2006) Cold acclimatation and overwintering of female *Aedes albopictus* in Roma. J Am Mosq Control Assoc 22: 149-151.
173. Ropac D, Gould E, Punda V, Vesenjask-Hirjan J (1988) Dengue viruses in northeastern Croatia. Lijec Vjesn 110: 177-180.
174. Rossi G., Pascual, N., Krsticevic, F. (1999) First Record of *Aedes albopictus* (Skuse) from Argentina. J Am Mosq Control Assoc 15: 422-422.
175. Rossi SL, Ross TM, Evans JD (2010) West Nile virus. Clin Lab Med 30(1): 47-65.
176. Rozeboom LE, Rosen L, Ikeda J (1973) Observations on oviposition by *Aedes* (S.) *albopictus* Skuse and *A. (S.) polynesiensis* Marks in Nature. J Med Entomol 10: 397-399.
177. Rudolf I, Bakonyi T, Šebesta O, Mendel J, Peško J, Betášová L, Blažejová H, Venclíková K, Straková P, Nowotny N. Hubálek Z (2015) Co-circulation of Usutu virus and West Nile virus in a reed bed ecosystem. Parasit Vectors 8: 520.
178. Sabranović M, Kujundžić H, Sivrić A, Mihelić, Štokić V, Galić A, Kučinić Ž, Pišpek R, Tonković Z (2017) Izvješće o stanju u prostoru Zagrebačke županije 2013.-2016. godine. Zavod za prostorno uređenje Zagrebačke županije, Zagreb.
179. Sanchez-Seco MP, Vazquez A. (2013) Emergence of novel viruses (Toscana, Usutu) in population and climate change. U: Singh SK, ur. Viral infections and global change. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, str. 535-535.
180. Santini M, Vilibic-Cavlek T, Barsic B, Barbic Lj, Savic V, Stevanovic V, Listes E, Di Gennaro A, Savini G (2015) First cases of human Usutu virus neuroinvasive infection in Croatia, August-September 2013: clinical and laboratory features. J Neurovirol 21: 92-97.
181. Sardelis MR & Turell MJ (2001) *Ochlerotatus j. japonicus* in Frederick County, Maryland: discovery, distribution and vector competence for West Nile virus. J Am Mosq Control Assoc 17(2): 137-141.
182. Sardelis MR, Dohm DJ, Pagac B, Andre RG & Turell MJ (2002a) Experimental transmission of eastern equine encephalitis virus by *Ochlerotatus j japonicus*. J Med Entomol 39(3): 480-484.
183. Sardelis MR, Turell MJ, Andre RG (2002b) Laboratory transmission of La Crosse virus by *Ochlerotatus j. japonicus*. J Med Entomol 39(4): 635-639.
184. Sardelis MR, Turell MJ, Andre RG (2003) Experimental transmission of St Louis encephalitis virus by *Ochlerotatus j japonicus*. J Am Mosq Control Assoc 19(2): 159-162.
185. Sardelis MR, Turell MJ, O'Guinn ML, Andre RG, Roberts DR (2002c) Vector competence of three North American strains of *Aedes albopictus* for West Nile virus. J Am Mosq Control Assoc 18(4): 284-289.

186. Schaffner F, Angel G, Geoffroy B, Hervy JP, Rhaïem A, Brunhes J (2001) The Mosquitoes of Europe - An Identification and Training Programme. CD Rom, IRD Editions & EID Méditerranée, Montpellier, France
187. Schaffner F, Chouin S, Guilloteau J (2003) First record of *Ochlerotatus (Finlaya) japonicus japonicus* (Theobald, 1901) in metropolitan France. *J Am Mosq Control Assoc* 19: 1-5.
188. Schaffner F, Karch S (2000) First report of *Aedes albopictus* in metropolitan France. *Comptes Rendus de l'Academie des sciences. Serie III* 323(4): 373-375.
189. Schaffner F, Kaufmann C, Hegglin D, Mathis A (2009) The invasive mosquito *Aedes japonicus* in Central Europe. *Med Vet Entomol* 23: 448-451.
190. Schaffner F, Medlock JM, Van Bortel W (2013) Public health significance of invasive mosquitoes in Europe. *Clin Microbiol Infect* 19: 685-692.
191. Schaffner F, Van Bortel W, Coosemans M (2004) First record of *Aedes (Stegomyia) albopictus* in Belgium. *J Am Mosq Control Assoc* 20: 201-203.
192. Schaffner F, Vazeille M, Kaufmann C, Failloux A, Mathis A (2011) Vector competence of *Aedes japonicus* for chikungunya and dengue viruses. *Europ Mosq Bull* 29: 141-142.
193. Scholte EJ, Dijkstra E, Blok H, de Vries A, Takken W, Hofhuis A, Koopmans M, de Boer A, Reusken C (2008) Accidental importation of the mosquito *Aedes albopictus* into the Netherlands: a survey of mosquito distribution and the presence of dengue virus. *Med Vet Entomol* 22: 352-358.
194. Scholte EJ, Jacobs F, Linton YM, Dijkstra E, Fransen J, Takken W (2007) First Record of *Aedes (Stegomyia) albopictus* in the Netherlands. *Europ Mosq Bull* 22: 5-9.
195. Scholte EJ, Schaffner F (2007) Waiting for the tiger: establishment and spread of the *Aedes albopictus* mosquito in Europe. In: Takken W, Knols BGJ, editors. *Emerging pests and vector-borne diseases in Europe*. 1. Wageningen, The Netherlands: Wageningen Academic Publishers, 241-260.
196. Scott JJ (2003) The Ecology of the Exotic Mosquito *Ochlerotatus (Finlaya) japonicus japonicus* (Theobald 1901) (Diptera: Culicidae) and an Examination of its Role in the West Nile Virus Cycle in New Jersey. New Brunswick, NJ: Ph.D. thesis, Rutgers University, p.179.
197. Scott JJ, Crans WJ (2004) Expanded polystyrene (EPS) floats for surveillance of *Ochlerotatus japonicus*. *J Am Mosq Control Assoc* 19: 376-381.
198. Seidel B, Duh D, Nowotny N, Allerberger F (2012) First record of the mosquitoes *Aedes (Ochlerotatus) japonicus japonicus* (Theobald, 1901) in Austria and Slovenia 2011 and for *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1895) in Austria 2012. *Entomol Zeitschrift* 122: 223-226.
199. Seidel B, Montarsi F, Huemer HP, Indra A, Capelli G, Allerberger F, Nowotny N (2016a) First record of the Asian bush mosquito, *Aedes japonicus japonicus*, in Italy: invasion from an established Austrian population. *Parasit Vectors* 9(1): 284.
200. Seidel B, Nowotny N, Bakonyi T, Allerberger F, Schaffner F (2016b) Spread of *Aedes japonicus japonicus* (Theobald, 1901) in Austria, 2011-2015, and first records of the subspecies for Hungary, 2012, and the principality of Liechtenstein, *Parasit Vectors* 9(1): 356.
201. Severini F, Di Luca M, Toma L, Romi R (2008) *Aedes albopictus* in Rome: results and perspectives after 10 years of monitoring. *Parassitologica* 50(1-2): 121-123.
202. Sheskin DJ (2011) *Handbook of Parametric and Nonparametric Statistical Procedures*. Chapman and Hall/CRC, Fifth Edition
203. Smith DR, Lee JS, Jahrling J, Kulesh DA, Turell MJ, Groebner JL, O'Guinn ML. (2009) Development of field-based real-time reverse transcription-polymerase chain reaction

- assays for detection of Chikungunya and O'nyong-nyong viruses in mosquitoes. *Am J Trop Med Hyg* 81(4): 679-684.
204. Sprenger D, Wuithiranyagool T (1986) The discovery and distribution of *Aedes albopictus* in Harris County, Texas. *J Am Mosq Control Assoc* 2: 217-219.
 205. Straetemans M, on behalf of the ECDC consultation group on vector-related risk for chikungunya virus transmission in Europe (2008) Vector-related risk mapping of the introduction and establishment of *Aedes albopictus* in Europe. *Euro Surveill* 13(7): pii=8040.
 206. Strauss JH, Strauss EG (2001) Virus evolution: how does an enveloped virus make a regular structure? *Cell* 105(1): 5-8.
 207. Succo T, Leparç-Goffart I, Ferre JB, Roiz D, Broche B, Maquart M, et al. (2016) Autochthonous dengue outbreak in Nîmes, South of France, July to September 2015. *Euro Surveill* 21(21): 30240.
 208. Šebesta O, Rudolf I, Betášová L, Peško J, Hubálek Z (2012) An invasive mosquito species *Aedes albopictus* found in the Czech Republic. *Euro Surveill* 17(43): 20301.
 209. Takashimi I, Rosen L (1989) Horizontal and vertical transmission of Japanese encephalitis virus by *Aedes japonicus* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol* 26: 454-458.
 210. Tamba M, Bonilauri P, Bellini R, Calzolari M, Albieri A, Sambri V, Dottori M, Angelini P (2011) Detection of Usutu virus within a West Nile virus surveillance program in Northern Italy. *Vector Borne Zoonotic Dis* 11: 551-557.
 211. Tanaka K, Mizusawa K, Saugstad ES (1979) A revision of the adult and larval mosquitoes of Japan (including the Ryukyu Archipelago and the Ogasawara Islands) and Korea (Diptera: Culicidae). *Contrib Amer Ent Inst* 16: 1-987.
 212. Tang Y, Anne Hapip C, Liu B, Fang CT (2006) Highly sensitive TaqMan RT-PCR assay for detection and quantification of both lineages of West Nile virus RNA. *J Clin Virol* 36(3): 177-182.
 213. Tewari SC, Thenmozhi V, Katholi CR, Manavalan R, Munirathinam A, Gajanana A (2004) Dengue vector prevalence and virus infection in a rural area in south India. *Tropical medicine, International Health* 9/4: 499.
 214. Thielman A, Hunter FF (2006) Establishment of *Ochlerotatus japonicus* (Diptera: Culicidae) in Ontario, Canada. *J Med Entomol* 43: 138-142.
 215. Thomas SM, Obermayr U, Fischer D, Kreyling J, Beierkuhnlein C (2012) Low-temperature thresholds hold foregg survival of a post-diapause and non-diapause European aedine strain, *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Parasit Vectors* 5: 100.
 216. Toma L, Severini F, Di Luca M, Bella A, Romi R (2003) Seasonal patterns of oviposition and egg hatching rate of *Aedes albopictus* in Rome. *J Am Mosq Control Assoc* 19(1): 19-22.
 217. Turell MJ, Beaman JR (1992) Experimental transmission of Venezuelan equine encephalomyelitis virus by a strain of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) from New Orleans, Louisiana. *J Med Entomol* 29(5): 802-805.
 218. Turell MJ, Byrd BD, Harrison BA (2013) Potential for populations of *Aedes j. japonicus* to transmit Rift Valley fever virus in the USA. *J Am Mosq Control Association* 29(2): 133-137.
 219. Turell MJ, Dohm DJ, Sardelis MR, Oguinn ML, Andreadis TG, Blow JA (2005) An update on the potential of north American mosquitoes (Diptera: Culicidae) to transmit West Nile virus. *J Med Entomol* 42(1): 57-62.
 220. Turell MJ, O'Guinn ML, Dohm DJ, Jones JW (2001) Vector competence of North American mosquitoes (Diptera: Culicidae) for West Nile virus. *J Med Entomol* 38: 130-134.

221. Valerio L, Marini F, Bongiorno G, Facchinelli L, Pombi M, Caputo B, Maroli M, Della Torre A (2009) Host-feeding patterns of *Aedes albopictus* in urban and rural contexts within Rome Province, Italy. *Vector Borne Zoonotic Dis* 10: 291-294.
222. Vazquez A, Ruiz S, Herrero L i sur (2011) West Nile and Usutu viruses in mosquitoes in Spain, 2008–2009. *Am J Trop Med Hyg* 85: 178-181.
223. Venturelli C, Mascali Zeo S, Paola Angelini P, Bellini R, Veronesi R (2008) Per una strategia integrata di lotta alla zanzara tigre. Linee guida per gli operatori dell'Emilia-Romagna, Bologna 83 pp Dostupno: http://www.zanzaratigreonline.it/Portals/zanzaratigreonline/Materiale_Campagna_2008/Zanzara_Linee%20Guida%202008.pdf pristupljeno: 12.svibnja 2017.
224. Versteirt V, Schaffner F, Garros C, Dekoninck W, Coosemans M, Van Bortel W (2009) Introduction and establishment of the exotic mosquito species *Aedes japonicus japonicus* (Diptera: Culicidae) in Belgium. *J Med Entomol* 46: 1464-1467.
225. Vesenjāk-Hirjan J, Galinovic-Weisglass M, Brudnjak Z, Calisher CH, Tovornik D, Lazuck JS, Rendic Z (1980) Island of Brac-Focus of Arbovirus Infections. U: Vesenjāk-Hirjan J (ed.) *Arboviruses in the Mediterranean Countries*. Stuttgart and New York: Gustav Fischer Verlag ZbL Bakt Suppl 9: 311-317.
226. Vignjević G (2014) Molekularna identifikacija i distribucija vrsta *Anopheles maculipennis* kompleks u Hrvatskoj. Doktorski rad, Poslijediplomski sveučilišni interdisciplinarni doktorski studij „Zaštita prirode i okoliša“ Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku i Institut Ruđer Bošković Zagreb
227. Vilibic-Cavlek T, Betica-Radic Lj, Venturi G, Fortuna C, Djuricic S, Salvia-Milos A, Tabain I, Barbic Lj, Stevanovic V, Listes E, Savini G (2017) First detection of Zika virus infection in a Croatian traveler returning from Brazil. *J Infect Dev Ctries* (u tisku)
228. Vilibic-Cavlek T, Kaic B, Barbic Lj, Pem-Novosel I, Slavic-Vrzic V, Lesnikar V, Kurecic-Filipovic S, Babic-Erceg A, Listes E, Stevanovic V, Gjenero-Margan I, Savini G (2014) First evidence of simultaneous occurrence of West Nile virus and Usutu virus neuroinvasive disease in humans in Croatia during the 2013 outbreak. *Infection* 42(4): 689-695.
229. Vilibic-Cavlek T, Pem-Novosel I, Kaic B, Babić-Erceg A, Kucinar J, Klobucar A, Medic A, Pahor Dj, Barac-Juretic K, Gjenero-Margan I (2015) Seroprevalence and entomological study on chikungunya virus at the Croatian littoral. *Acta Microbiol Immunol Hung* 62: 199-206.
230. Vručina I, Merdić E, Vignjević G, Zahirović Ž, Turić N, Sudarić Bogojević M (2015) Komarac *Ae. albopictus* u kontinentalnom dijelu Hrvatske. Zbornik radova seminara djelatnosti dezinfekcije, dezinsekcije, deratizacije i zaštite uskladištenih poljoprivrednih proizvoda 2015. Korunić d.o.o. Zagreb, 125-135.
231. Vručina I, Merdić E, Vignjević G, Zahirović Ž, Turić N, Sudarić Bogojević M, Kurtek I, Šag M (2016) širenje azijskog tigrastog komarca *Ae. albopictus* u Osijeku i okolnim područjima. Zbornik radova seminara djelatnosti dezinfekcije, dezinsekcije, deratizacije i zaštite uskladištenih poljoprivrednih proizvoda 2016. Korunić d.o.o. Zagreb, 157-169.
232. Walker T, Jeffries CL, Mansfield KL, Johnson N (2014) Mosquito cell lines: history, isolation, availability and application to assess the threat of arboviral transmission in the United Kingdom. *Parasit Vectors* 7: 382.
233. Wang KC (1966) Observations on the influence of photoperiod on egg diapause in *Aedes albopictus*. *Acta Entomol Sinica* 15: 75-77.
234. Werner D, Kronefeld M, Schaffner F, Kampen H (2012) Two invasive mosquito species, *Aedes albopictus* and *Aedes japonicus japonicus*, trapped in south-west Germany, July to August 2011. *Euro Surveill* 17(4): pii=20067

235. Westby K, Fritzen C, Huang J, Jaske E, Paulsen D, Jones C , Moncayo AC (2011) La Crosse encephalitis in Eastern Tennessee: evidence of invasive mosquito (*Aedes albopictus* and *Ochlerotatus japonicus*) involvement in the transmission of an indigenous disease. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 85(Suppl): 374.
236. Williges E, Farajollahi A, Scott JJ, McCuiston LJ, Crans WJ, Gaugler R. Laboratory colonization of *Aedes japonicus japonicus*. (2008) J Am Mosq Control Assoc 24: 591-593.
237. Wong PS, Li MZ, Chong CS, Ng LC, Tan CH (2013) *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse): a potential vector of Zika virus in Singapore. PLoS Negl Trop Dis 7(8): e2348.
238. World Health Organization (2005) International Health Regulations. dostupno: http://www.who.int/ihr/IHR_2005_en.pdf
239. Zaninović K, Gajić-Čapka M, Perčec Tadić M, Vucetić M, Milković J, Bajić A, Cindrić K, Cvitan L, Katušin Z, Kaučić D, Likso T, Lončar E, Lončar Z, Mihajlović D, Pandžić K, Patarčić M, Srnec L, Vučetić V (2008) Klimatski atlas Hrvatske 1961.-1990. 1971.-2000. Državni hidrometeorološki zavod, Zagreb, 200 p.
240. Zielke DE, Walther D, Kampen H (2016) Newly discovered population of *Aedes japonicus japonicus* (diptera: culicidae) in upper Bavaria, Germany, and Salzburg, Austria, is closely related to the Austrian/Slovenian bush mosquito population. Parasit Vectors 9: 163.
241. Žitko T, Merdić E (2006) *Culex laticinctus* Edwards 1913, New Mosquito Species in Croatian Fauna. Europ Mosq Bull 21: 11-13.
242. Žitko T, Landeka N, Šarunić Gulan J, Kronja Lj, Huljev Ž, Piskač I (2007) Prisustvo Azijskog tigrastog komarca *Aedes albopictus* (*Stegomyia albopicta*) Skuse 1859 u Hrvatskoj u 2006. godini. Zbornik radova seminara djelatnosti dezinfekcije, dezinsekcije, deratizacije i zaštite uskladištenih poljoprivrednih proizvoda 2007. Korunić d.o.o., Zagreb, 185-193.
243. Žitko T, Merdić E (2014) Seasonal and Spatial Oviposition Activity of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in Adriatic Croatia. J Med Entomol 51(4): 760-768.
244. www.bbz.hr
245. www.kazup.hr
246. www.kzz.hr
247. www.zagreb.hr

8. PRILOZI

Prilog 1. Lokaliteti uzorkovanja komaraca ovipozijskim klopama na području grada Zagreba

Grad Zagreb						
Lokaliteti uzorkovanja		Koordinate	Mikrolokaliteti uzorkovanja	2013.	2014.	2015.
L1	Sutinska vrela 3	45°49'17.61"S 15°50'0.19"I	L1.1, L1.2, L1.3	+		
L2	Priobalna cesta	45°48'50.49"S 15°50'5.52"I	L2.1, L2.2, L2.3	+	+	+
L3	Bizek IV, br 13	45°49'54.86"S 15°51'42.49"I	L3.1, L3.2, L3.3	+	+	
L4	Dolečki zavojek	45°48'48.64"S 15°51'42.03"I	L4.1, L4.2, L4.3	+		
L5	V. Škorpika	45°47'48.29"S 15°51'44.45"I	L5.1, L5.2, L5.3	+	+	+
L6	Kušnjačići 4a	45°46'27.17"S 15°51'50.63"I	L6.1, L6.2, L6.3	+		
L7	Gornjostupnička 1A	45°45'30.77"S 15°51'47.78"I	L7.1, L7.2, L7.3	+	+	
L8	Donje orešje 7	45°49'50.08"S 15°53'15.38"I	L8.1, L8.2, L8.3	+		
L9	Gospodska 1	45°48'47.97"S 15°53'11.61"I	L9.1, L9.2, L9.3	+		
L10	Savska opatovina 65	45°47'42.07"S 15°53'13.42"I	L10.1, L10.2, L10.3	+		
L11	Hrastovička ul.14	45°45'36.66"S 15°52'49.46"I	L11.1, L11.2, L11.3	+		
L12	Šinorija 23	45°49'54.43"S 15°54'49.38"I	L12.1, L12.2, L12.3	+	+	
L13	Debanićeva 25	45°48'50.64"S 15°54'39.26"I	L13.1, L13.2, L13.3	+		
L14	Vrbani ulica	45°47'40.15"S 15°54'47.07"I	L14.1, L14.2, L14.3	+	+	
L15	Karlovačka cesta	45°46'1.48"S 15°55'50.84"I	L15.1, L15.2, L15.3	+		
L16	Lukšić 25	45°50'57.68"S 15°56'19.89"I	L16.1, L16.2, L16.3	+	+	+
L17	Trsje 7	45°49'53.80"S 15°56'18.93"I	L17.1, L1 7.2, L17.3	+		

L18	Cankarova 12	45°48'45.48"S 15°56'17.18"I	L18.1, L18.2, L18.3	+		
L19	Fallerovo setalište 56	45°47'46.60"S 15°56'10.74"I	L19.1, L19.2, L19.3	+		
L20	Jarunska obala 9	45°47'2.94"S 15°56'26.72"I	L20.1, L20.2, L20.3	+	+	
L21	Zoranićeve planine 13	45°45'25.92"S 15°56'21.16"I	L21.1, L21.2, L21.3	+	+	
L22	Ćićarijska 5	45°50'57.52"S 15°57'44.05"I	L22.1, L22.2, L22.3	+	+	+
L23	Pantovčak 176	45°49'53.27"S 15°57'44.63"I	L23.1, L23.2, L23.3	+		
L24	I. K. Sakcinskog 1	45°48'46.72"S 15°57'53.16"I	L24.1, L24.2, L24.3	+		
L25	Zeleni trg 3	45°47'42.80"S 15°57'47.37"I	L25.1, L25.2, L25.3	+	+	+
L26	Trnsko 8	45°46'35.31"S 15°57'44.10"I	L26.1, L26.2, L26.3	+	+	
L27	Posedarska 38	45°45'31.97"S 15°57'41.30"I	L27.1, L27.2, L27.3	+		
L28	Remete 144	45°50'57.92"S 15°59'22.43"I	L28.1, L28.2, L28.3	+	+	+
L29	Srebrnjak 172	45°49'55.14"S 15°59'21.62"I	L29.1, L29.2, L29.3	+	+	
L30	Jurkovićeve 17	45°48'55.49"S 15°59'20.37"I	L30.1, L30.2, L30.3	+		
L31	Krivajska 5	45°47'44.44"S 15°59'22.87"I	L31.1, L31.2, L31.3	+		
L32	Balokovićeve 3	45°46'43.45"S 15°59'35.41"I	L32.1, L32.2, L32.3	+	+	
L33	Miškinina 36	45°45'45.21"S 15°59'20.93"I	L33.1, L33.2, L33.3	+		
L34	Čret 42	45°50'58.81"S 16° 0'58.92"I	L34.1, L34.2, L34.3	+	+	+
L35	Prilesje 57	45°49'58.02"S 16° 0'50.94"I	L35.1, L35.2, L35.3	+	+	
L36	Svetice	45°52'19.42"S 16° 3'18.13"I	L36.1, L36.2, L36.3	+		
L37	II Savica 9	45°47'40.10"S 16° 0'58.80"I	L37.1, L37.2, L37.3	+	+	
L38	Kuševečka 2A	45°47'0.01"S 16° 0'46.75"I	L38.1, L38.2, L38.3	+		

L39	Jakuševečka ulica, I odvojak 60	45°45'33.11"S 16° 1'7.77"I	L39.1, L39.2, L39.3	+		
L40	Fabijanićeva 14	45°51'1.81"S 16° 2'31.23"I	L40.1, L40.2, L40.3	+		
L41	Ljubijska 49	45°49'52.23"S 16° 2'28.15"I	L41.1, L41.2, L41.3	+	+	+
L42	Kampus, Borongaj	45°48'44.62"S 16° 2'33.07"I	L42.1, L42.2, L42.3	+		
L43	Radnički put II, 8	45°47'49.57"S 16° 2'41.76"I	L43.1, L43.2, L43.3	+	+	
L44	Črnkovečka ul. 59	45°46'19.77"S 16° 2'19.43"I	L44.1, L44.2, L44.3	+		
L45	Prašnica gornja 3	45°50'57.89"S 16° 3'59.24"I	L45.1, L45.2, L45.3	+	+	+
L46	Knezovečki put 4	45°49'51.80"S 16° 4'4.79"I	L46.1, L46.2, L46.3	+		
L47	Čulinec I, 96D	45°48'54.67"S 16° 4'3.19"I	L47.1, L47.2, L47.3	+	+	+
L48	Slavonska avenija 52	45°47'54.19"S 16° 3'26.73"I	L48.1, L48.2, L48.3	+	+	+
L49	Žitnjak, II odvojak 63	45°46'40.88"S 16° 4'4.25"I	L49.1, L49.2, L49.3	+	+	
L50	Vilka Gecana 5	45°49'51.97"S 16° 5'39.57"I	L50.1, L50.2, L50.3	+	+	+
L51	Zelinska 20A	45°49'54.93"S 16° 7'13.94"I	L51.1, L51.2, L51.3	+	+	+
L52	Kozarčeva 16	45°49'10.82"S 15°57'44.97"I	L52.1, L52.2, L52.3	+		
L53	Medpotoki 18	45°49'15.64"S 15°52'52.56"I	L53.1, L53.2, L53.3	+	+	
L54	Vučak 6	45°48'47.50"S 15°51'8.18"I	L54.1, L54.2, L54.3	+		
L55	Mangartska 9	45°48'46.38"S 15°52'21.55"I	L55.1, L55.2, L55.3	+	+	
L56	Jezerska 32	45°47'53.97"S 15°55'34.99"I	L56.1, L56.2, L56.3	+		
L57	M. Pavelića 35	45°48'44.67"S 16° 1'15.31"I	L57.1, L57.2, L57.3			+
L58	V. Ruždjaka 11	45°47'21.52"S 15°59'42.62"I	L58.1, L58.2, L58.3			+

**Prilog 2. Lokaliteti uzorkovanja komaraca oviozicijskim klopama na području
Krapinsko-zagorske županije**

Krapinsko-zagorska županija							
Lokalitet uzorkovanja		GPS koordinate	Oznaka mikrolokaliteta uzorkovanja	2013.	2014.	2015.	2016.
L1	Humu na Sutli, dvorište obiteljske kuće, Donje Brezno 25	46°10'27.74"S 15°37'45.38"I	L1.1, L1.2, L1.3	+	+	+	
L2	Macelj, granični prijelaz, ulaz za automobile u RH iz SLO	46°16'19.50"S 15°52'1.47"I	L2.1, L2.2, L2.3	+	+	+	+
L3	Macelj, granični prijelaz, izlaz za kamione iz RH	46°16'19.50"S 15°52'1.47"I	L3.1, L3.2, L3.3	+	+	+	+
L4	Đurmanec, groblje	46°11'57.49"S 15°50'19.12"I	L4.1, L4.2, L4.3	+	+	+	+
L5	Sv. Križ Začretje, benzinska crpka, Ciglenica Zagorska 60	46°4'0.46"S 15°55'12.26"I	L5.1, L5.2, L5.3	+	+	+	+
L6	Zlata Bistrica, odlagalište guma	46°2'48.40"S 16°4'59.65"I	L6.1, L6.2, L6.3	+			
L7	Hum na Sutli, parkiralište za kamione Hum na Sutli 203	46°13'17.80"S 15°42'27.65"I	L7.1, L7.2, L7.3	+	+	+	+
L8	Velikom Trgovišće, vulkanizerska radionica, Ul. K. Š. Đalskog 30	46°0'30.89"S 15°51'10.52"I	L8.1, L8.2, L8.3		+		
L9	Krapina, groblje	46°9'46.13"S 15°52'36.35"I	L9.1, L9.2, L9.3		+	+	+
L10	Pregrada, vulkanizerska radionica, Janka Leskovara 18	46°9'32.01"S 15°45'17.80"I	L10.1, L10.2, L10.3			+	+
L11	Krapina, naplatna postaja autoputa	46°8'0.57"S 15°52'59.75"I	L11.1, L11.2, L11.3			+	+
L12	Zlata, dvorište Doma zdravlja, Ul. Ante Kovačića 1	46°5'5.71"S 16°4'27.90"I	L12.1, L12.2, L12.3			+	+
L13	Jezerčica, dvorište toplica, Toplička c. 80	45°58'56.44"S 15°57'22.95"I	L13.1, L13.2, L13.3				+
L14	Zabok, dvorište Pivnice Punkt, Mokrice 180 A	46°0'21.25"S 15°52'47.12"I	L14.1, L14.2, L14.3				+

Prilog 3. Lokalizacija uzorkovanja komaraca ovipozicijskim klopama na području Bjelovarsko-bilogorske županije

Bjelovarsko-bilogorska županija					
Lokalitet uzorkovanja		GPS koordinate	Mikrolokalitet uzorkovanja	2015.	2016.
L1	Rovišće, groblje, Trg hrvatskih branitelja 2	45°56'45.21"S 16°43'56.18"I	L1.1, L1.2, L1.3	+	+
L2	Bjelovar, obiteljska kuća, Bilogorska 7	45°54'11.76"S 16°51'24.28"I	L2.1, L2.2, L2.3	+	+
L3	Bjelovar, dvorište građevinske tvrtke koja se nalazi uz carinsku službu, Vukovarska ulica	45°54'21.09``S 16°51'44.35``I	L3.1, L3.2, L3.3	+	+
L4	Bjelovar, tvrtka za sakupljanje i obradu otpada, Ulica 29. rujna	45°56'18.64``S 16°46'52.54``I	L4.1, L4.2, L4.3	+	+
L5	Bjelovar, vulkanizerska radionica, Vukovarska 24a	45°54'20.74``S 16°51'34.19``I	L5.1, L5.2, L5.3	+	+
L6	Grubišno Polje, dvorište ZZJZ, Braće Radić 1	45°42'04.78``S 17°10'14.76``I	L6.1, L6.2, L6.3	+	+
L7	Grubišno Polje, groblje, I. N. Jemeršića 37c	45°42'30.93``S 17°09'37.00``I	L7.1, L7.2, L7.3	+	+
L8	Daruvar, odmorište i parking za kamione, Gajeve ulica bb	45°35'22.03``S 17°13'05.52``I	L8.1, L8.2, L8.3	+	+
L9	Daruvar, dvorište zgrade ZZJZ, Ulica Petra Svačića 48	45°35'27.58``S 17°13'13.23``I	L9.1, L9.2, L9.3	+	+
L10	Daruvar, autoservis, Matije Gupca 90	45°36'07.18``S 17°13'22.28``I	L10.1, L10.2, L10.3	+	+
L11	Daruvar, Stanica za tehnički pregled vozila, Ulica Petra Zrinskog 32	45°35'18.20``S 17°12'43.49``I	L11.1, L11.2, L11.3	+	+
L12	Bjelovar, benzinska crpka, Južna obilaznica 4	45°53'19.18``S 16°51'05.32``I	L12.1, L12.2, L12.3	+	+
L13	Bjelovar, benzinska crpka, Lepirac 1/A	45°55'44.10``S 16°50'21.33``I	L13.1, L13.2, L13.3	+	+
L14	Bjelovar, groblje i park Borik, Ferde Livadića 14a	45°54'16.50``S 16°50'40.99``I	L14.1, L14.2, L14.3	+	+
L15	Čazma, obiteljska kuća, Kralja Tomislava 18	45°44'54.05``S 16°36'59.60``I	L15.1, L15.2, L15.3	+	+
L16	Čazma, dvorište ZZJZ, Kralja Tomislava 16	45°44'53.72``S 16°36'57.02``I	L16.1, L16.2, L16.3	+	+

L17	Čazma, groblje, Svetog Andrije 14	45°44'52.61``S 16°37'15.17``I	L17.1, L17.2, L17.3	+	+
L18	Gornji Draganec, dvorište tvornice za preradu žita, Gornji Draganec 251	45°47'08.60``S 16°39'07.05``I	L18.1, L18.2, L18.3	+	+
L19	Garešnica, dvorište tvrtke za sakupljanje i obradu otpada, Ulica Petra Svačića 40	45°34'20.92``S 16°55'48.10``I	L19.1, L19.2, L19.3	+	
L20	Garešnica, dvorište ZZJZ, Vladimira Nazora 18	45°34'38.45``S 16°56'30.13``I	L20.1, L20.2, L20.3	+	
L21	Bjelovar, groblje Svetog Andrije, istok grada	45°54'16.80``S 16°50'40.95``I	L21.1, L21.2, L21.3		+
L22	Bjelovar, vulkanizerska radionica, Prilaz Andrije Hebranga	45°54'32.96``S 16°51'17.73``I	L22.1, L22.2, L22.3		+
L23	Štefanje, groblje, Trg Franje Tuđmana 1	45°48'00.41``S 16°43'08.74``I	L23.1, L23.2, L23.3		+

**Prilog 4. Lokaliteti uzorkovanja komaraca ovipozijskim klopama na području
Zagrebačke županije**

Zagrebačka županija				
Lokaliteti uzorkovanja		GPS koordinate	Mikrolokaliteti uzorkovanja	2016.
L1	Velika Gorica ZZJZ, Matice Hrvatske bb	45°42'50.61"S 16° 3'58.05"I	L1.1, L1.2, L1.3	+
L2	Velika Gorica benzinska crpka Petrol, Sisačka ul. 38	45°42'26.53"S 16° 5'7.09"I	L2.1, L2.2, L2.3	+
L3	Velika Gorica gradsko groblje, Jurja Dobrile	45°43'14.87"S 16° 3'37.28"I	L3.1, L3.2, L3.3	+
L4	Velika Gorica zračna luka Pleso	45°44'26.70"S 16° 4'2.77"I	L4.1, L4.2, L4.3	+
L5	Zaprešić ZZJZ, Pavla Lončara 1	45°51'27.55"S 15°48'9.06"I	L5.1, L5.2, L5.3	+
L6	Zaprešić privatno dvorište, Brdovec, Bregovita ul.	45°52'17.68"S 15°45'44.58"I	L6.1, L6.2, L6.3	+
L7	Zaprešić gradsko groblje, Zelengaj	45°52'35.43"S 15°46'33.43"I	L7.1, L7.2, L7.3	+
L8	Zaprešić benzinska crpka Tifon, Maršala Tita 132	45°50'37.75"S 15°48'53.06"I	L8.1, L8.2, L8.3	+
L9	Jaska ZZJZ, Kralja Tomislava 29	45°40'24.08"S 15°39'29.30"I	L9.1, L9.2, L9.3	+
L10	Jaska gradsko groblje, Jastrebarsko	45°41'46.20"S 15°32'44.90"I	L10.1, L10.2, L10.3	+
L11	Jaska benzinska crpka INA, Franje Tuđmana 123	45°39'49.66"S 15°38'35.97"I	L11.1, L11.2, L11.3	+
L12	Sveti Ivan Zelina ZZJZ, Bocakova 5	45°57'41.57"S 16°14'33.45"I	L12.1, L12.2, L12.3	+
L13	Sveti Ivan Zelina privatno dvorište, Zagrebačka ul.	45°57'35.20"S 16°14'35.57"I	L13.1, L13.2, L13.3	+
L14	Sveti Ivan Zelina, gradsko groblje, Sv. Ivan Zelina	45°57'20.22"S 16°14'14.54"I	L14.1, L14.2, L14.3	+
L15	Samobor ZZJZ, Ljudevita Gaja 37	45°48'20.19"S 15°42'47.68"I	L15.1, L15.2, L15.3	+
L16	Samobor benzinska crpka, Gradna-sjever	45°49'36.37"S 15°44'20.17"I	L16.1, L16.2, L16.3	+

L17	Samobor gradsko groblje, Samobor	45°47'59.37"S 15°42'35.53"I	L17.1, L17.2, L17.3	+
L18	Vrbovec ZZJZ, 7. svibnja 14	45°53'13.18"S 16°25'3.48"I	L18.1, L18.2, L18.3	+
L19	Vrbovec privatno dvorište, I. G. Kovačića 23	45°52'12.57"S 16°24'13.34"I	L19.1, L19.2, L19.3	+
L20	Vrbovec gradsko groblje	45°52'40.93"S 16°25'14.71"I	L20.1, L20.2, L20.3	+
L21	Ivanić Grad ZZJZ, Omladinska 25	45°42'27.13"S 16°23'15.70"I	L21.1, L21.2, L21.3	+
L22	Ivanić Grad privatno dvorište, Matije Gupca 51	45°42'36.10"S 16°24'27.60"I	L22.1, L22.2, L22.3	+
L23	Ivanić Grad gradsko groblje	45°42'26.23"S 16°23'18.66"I	L23.1, L23.2, L23.3	+
L24	Dugo Selo ZZJZ, D. Domjanića 12A	45°48'25.74"S 16°14'6.12"I	L24.1, L24.2, L24.3	+
L25	Dugo Selo privatno dvorište, B. Huzanića 76	45°47'36.05"S 16°14'58.70"I	L25.1, L25.2, L25.3	+
L26	Dugo Selo gradsko groblje	45°48'52.14"S 16°14'59.18"I	L26.1, L26.2, L26.3	+

Prilog 5. Lokaliteti uzorkovanja komaraca ovipozicijskim klopama na području Karlovačke županije

Karlovačka županija				
Lokaliteti uzorkovanja		GPS koordinate	Mikrolokaliteti uzorkovanja	2016.
L1	Karlovac groblje Dubovac	45°29'31.74"S 15°34'2.64"I	L1.1, L1.2, L1.3	+
L2	Karlovac groblje Jamadol	45°29'11.51"S 15°31'52.77"I	L2.1, L2.2, L2.3	+
L3	Karlovac centar za beskućnike, Hrvatske Bratske Zajednice 2	45°29'50.06"S 15°33'29.37"I	L3.1, L3.2	+
L4	Karlovac vulkanizer Busak, Zagrebačka 88a	45°31'23.92"S 15°33'13.36"I	L4.1, L4.2, L4.3	+
L5	Karlovac benzinska crpka Petrol, Banija 162a	45°30'46.68"S 15°32'51.47"I	L5.1, L5.2, L5.3	+
L6	Karlovac Hotel Lana Korana, Koransko šetalište 6	45°29'14.78"S 15°33'35.34"I	L6.1	+
L7	Karlovac ZZJZ, Dr. Vladka Mačeka 48	45°29'31.23"S 15°32'29.35"I	L7.1, L7.2, L7.3	+
L8	Vodostaj Vodostaj 13	45°30'11.55"S 15°34'37.70"I	L8.1, L8.2	+
L9	Ozalj benzinska crpka Rožić, Karlovačka cesta 124	45°35'49.59"S 15°29'6.70"I	L9.1	+
L10	Ozalj park u centru Ozlja	45°36'50.55"S 15°28'4.89"I	L10.1	+
L11	Ozalj groblje Ozalj, Kolodvorska cesta 29	45°36'41.62"S 15°29'24.09"I	L11.1	+
L12	Duga Resa kamp "Slapić", Mrežnički Brig 79	45°25'11.27"S 15°29'1.05"I	L12.1, L12.2	+
L13	Duga Resa groblje Duga Resa, Kolodvorska ul.1	45°26'58.62"S 15°29'50.72"I	L13.1	+
L14	Duga Resa vulkanizer Kovačić, Domobranska 1	45°26'33.69"S 15°30'31.04"I	L14.1	+

L15	Duga Resa Park Dr. Franje Tuđmana	45°27'6.54"S 15°29'56.48"I	L15.1	+
L16	Ogulin groblje Sv. Jakov	45°15'46.35"S 15°13'35.99"I	L16.1	+
L17	Ogulin Frankopanski kaštel, ul. Ivana Gorana Kovačića	45°16'1.30"S 15°13'30.26"I	L17.1	+
L18	Ogulin autoservis uz Petrol benzinsku crpku, Otok Oštarski 8b	45°13'57.70"S 15°15'29.15"I	L18.1	+
L19	Slunj Dom zdravlja Slunj, Plitvička 18a	45° 6'43.59"S 15°34'59.44"I	L19.1	+
L20	Slunj groblje	45° 6'49.75"S 15°34'56.71"I	L20.1	+

Prilog 6. Lokaliteti uzorkovanja i broj uzorkovanih odraslih komaraca za određivanje virusa tijekom 2015. i 2016. godine

Zagreb, 2015. godina						
Adresa uzorkovanja	Datum uzorkovanja 2015.	Broj jedinki	Oznaka uzorka	Ukupan broj jedinki u uzorku	Metoda uzorkovanja	
					Aspirator	BG Sentinel klopka
Priobalna cesta	08.07.	17	1	32	+	
	29.07.	15			+	
	06.08.	25	2	42	+	
	12.08.	17			+	
	26.08.	45	3	45	+	
	02.09.	4	4	37	+	
	09.09.	33			+	
	23.09.	25	5	25	+	
VI Ferenščica 28	25.07.	2	6	44	+	
	12.08.	3			+	
	15.08.	12			+	
	18.08.	27			+	
	22.08.	7	7	18		+
	26.08.	11				+
	15.09.	40	8	40	+	
	30.09.	16	9	16	+	
Mirogojska c. 16	03.08.	2	10	44	+	
	10.08.	2			+	
	14.09.	40				+
	15.09.	40	11	40		+
	17.09.	45	12	45		+
	17.09.	18	13	36	+	
	22.09.	28				+
	18.09.	43	14	43	+	
M: Lovraka, vrtovi	06.08.	11	15	22	+	
	28.08.	11			+	
Hanamanova ul.	06.08.	19	16	31	+	
	11.08.	12			+	
	26.08.	18	17	32	+	
	15.09.	14			+	
Dekanići bb	06.08.	25	18	25	+	
	06.08.	36	19	36	+	
	06.08.	40	20	40	+	

Radnički put III	06.08.	34	21	34	+	
Savica, gradski vrt	12.08.	2	22	9	+	
	18.08.	5			+	
	25.08.	2			+	
Trsje 15B	12.08.	7	23	12	+	
	26.08.	5			+	
Groblje Mirogoj	14.08.	46	24	46	+	
	18.08.	50	25	50	+	
	18.08.	50	26	50	+	
	18.08.	37	27	37	+	
	24.08.	58	28	58	+	
	08.09.	32	29	32	+	
Groblje Miroševac	19.08.	17	30	42	+	
	24.08.	8			+	
	02.09.	17			+	
	03.09.	39	31	39	+	
	03.09.	26	32	26	+	
M. Pavelića 35	23.08.	14	33	48		+
	01.09.	28				+
	15.09.	6				+
	29.08.	50	34	50		+
Bolnička 53	24.08.	14	35	37	+	
	25.08.	23			+	
Hrvatskoselska 10	25.08.	40	36	40	+	
Groblje Brezovica	14.09.	17	37	17	+	
Vrapče, groblje	09.09.	4	38	22	+	
	23.09.	18			+	
Krvarić 5B	16.09.	17	39	17	+	
Karlovačka, Jaruščica	21.09.	22	40	22	+	
Bistranska 15	21.09.	5	41	5	+	
Bijenička 92	22.09.	14	42	21	+	
Srebrnjak 164	19.08.	3			+	
Wicherhauserova 18	12.08.	4			+	

Zagreb, 2016. godina					
Adresa uzorkovanja	Datum uzorkovanja 2016.	Broj jedinki	Oznaka uzorka	Ukupan broj jedinki u uzorku	Metoda uzorkovanja
					Aspirator
Utinjska 44	08.09.	10	1	10	+
Gosposvedska 16	08.09.	4	2	4	+
M. Tartaglije 16	07.09.	11	3	17	+
Jospia Pupačića	25.08.	6			+
Kašinska 13a	07.09.	31	4	31	+
Krešićeva 11	02.09.	36	5	36	+
Nova cesta 180	07.09.	10	6	10	+
Nartska 22	07.09.	8	7	15	+
D. Šimunovića 13	07.09.	7			+
Karting centar Špansko	25.08.	8	9	8	+
Groblje Mirogoj	02.09.	40	11	40	+
	02.09.	18	12	18	+
	15.09.	45	14	45	+
	15.09.	45	15	45	+
	15.09.	43	16	43	+
Josipa Marohnića	13.09.	14	17	14	+
Srebrnjak	13.09.	6	18	14	+
Rimski jarak	28.09.	8			+
Groblje Stenjevec	21.09.	40	19	40	+
Groblje Stenjevec	21.09.	31	20	31	+
Mirogojska c. 16	27.09.	20	21	20	+
Borongaj, vrtovi	23.09.	14	22	14	+

Prilog 7. Popis kratica

CHIKV - chikungunya virus

CPU - citopatski učinak

DENV - virus dengue

IFA - imunofluorescentni test

JEV - virus japanskog encefalitisa

L - lokalitet

LACV - La Crosse virus

PCR - lančana reakcija polimerazom

RNA - ribonukleinska kiselina

RT-qPCR - reverzna transkriptaza - lančana reakcija polimerazom

T - tjedan

USUV - Usutu virus

WNV - West Nile virus

ZIKV - Zika virus

9. ŽIVOTOPIS

Ana Klobučar rođena je 7. kolovoza 1973. godine u Splitu. Diplomirala je 1998. godine na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu u Zagrebu i stekla zvanje profesor biologije i kemije. Iste godine kratko je bila zaposlena u školi, a zatim do 2000. godine kao mlađa asistentica u Zavodu za farmaceutsku botaniku Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta u Zagrebu. Od 2002. godine do sada je zaposlena u Nastavnom zavodu za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“, u Službi za epidemiologiju i Odjelu za dezinfekciju, dezinsekciju i deratizaciju gdje se bavi zdravstveno značajnim člankonošcima i glodavcima. Godine 2007. stekla je akademski stupanj magistricе znanosti na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu u Zagrebu, u znanstvenom polju Biologija, Ekologija, s temom rada „Faunističko-ekološke značajke komaraca (Diptera, Culicidae) u parku Maksimir“. Od 2010. godine predavač je na Zdravstvenom Veleučilištu u Zagrebu u području biomedicine i zdravstva, u polju javno zdravstvo i zdravstvena zaštita. Autorica je većeg broja znanstvenih i stručnih radova. Članica je Hrvatskog entomološkog društva, Hrvatskog biološkog društva i Hrvatskog društva biologa u zdravstvu. Udana je i majka dvoje djece.