

Ignacio Ruiz Arrondo

Estudio de *Simulium
erythrocephalum* (De Geer, 1776)
en Zaragoza: ecología e impacto
en salud pública

Departamento
Patología Animal

Director/es
Lucientes Curdi, Javier
De Blas Giral, Ignacio

<http://zaguan.unizar.es/collection/Tesis>



Reconocimiento – NoComercial – SinObraDerivada (by-nc-nd): No se permite un uso comercial de la obra original ni la generación de obras derivadas.

© Universidad de Zaragoza
Servicio de Publicaciones

ISSN 2254-7606



Universidad
Zaragoza

Tesis Doctoral

ESTUDIO DE SIMULIUM ERYTHROCEPHALUM (DE
GEER, 1776) EN ZARAGOZA: ECOLOGÍA E
IMPACTO EN SALUD PÚBLICA

Autor

Ignacio Ruiz Arrondo

Director/es

Lucientes Curdi, Javier
De Blas Giral, Ignacio

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

Patología Animal

2018

Universidad de Zaragoza

Facultad de Veterinaria

Departamento de Patología Animal



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza

Estudio de *Simulium erythrocephalum*
(De Geer, 1776) en Zaragoza: ecología e
impacto en salud pública

Memoria presentada por D. **Ignacio Ruiz Arrondo**

para optar al grado de Doctor
con Mención de Tesis Internacional

Abril 2018



**Universidad
Zaragoza**

Dr. IGNACIO DE BLAS GIRAL, Profesor Titular del Departamento de Patología Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza, y Dr. JAVIER LUCIENTES CURDI, Catedrático del Departamento de Patología Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza, como Directores,

CERTIFICAN:

Que D. IGNACIO RUIZ ARRONDO ha realizado bajo nuestra dirección los trabajos correspondientes a su Tesis Doctoral titulada “Estudio de *Simulium erythrocephalum* (De Geer, 1776) en Zaragoza: ecología e impacto en salud pública” que se ajusta con el Plan de Investigación presentado y cumple las condiciones exigidas para optar al Grado de Doctor por la Universidad de Zaragoza, por lo que autorizan su presentación con la Mención Internacional para que pueda ser juzgada por el Tribunal correspondiente.

Y para que conste, firmamos el presente certificado

En Zaragoza, a 9 de abril de 2018

Dr. Ignacio de Blas Giral

Dr. Javier Lucientes Curdi



Agradecimientos

En primer lugar quiero agradecer a mis directores. Gracias por su paciencia, consejos y confianza. Estoy muy orgulloso de vosotros, este trabajo también es vuestro.

Al Dr. Ignacio de Blas, Maese Nacho, cuya dirección ha permitido que esta Tesis vea la luz. Gracias por tu amistad, por aceptar ser mi director y guiarme durante todo este tiempo, por tu dedicación y permanente disponibilidad para ayudarme a horas intempestivas e innumerables fines de semana y vacaciones enclaustrados en la Facultad de Veterinaria. Son muchas las cosas que me has enseñado y gracias a ti he crecido científicamente. Ha sido un verdadero placer. Por todo ello y más, gracias Nacho!!

Al Dr. Javier Lucientes, por haber confiado en mí desde los inicios cuando era estudiante. Jefe y amigo, Javier, a ti te lo debo todo en este “mundo entomológico”. Gracias por tu confianza y por contar siempre conmigo. Eres un trabajador infatigable que me ha enseñado que la ciencia puede ir de la mano de la generosidad y la humildad. Gracias, gracias, gracias Javier!!

Al Dr. José Antonio Oteo, por su confianza en esta nueva etapa emprendida en el CIBIR. José, gracias por tus consejos y apoyo y por dejarme dedicarle tiempo a la escritura de este trabajo.

Quiero dar las gracias a las personas que han participado de una manera directa en la elaboración de esta tesis prestándome su ayuda en cualquiera de sus facetas.

Gracias a mi amiga y compañera de fatigas mosquiteras (y en breves Doctora) Sarah Delacour. Tú sabes mejor que nadie que el desarrollo de nuestras Tesis no ha sido fácil y tu ayuda, apoyo y ánimos han sido fundamentales para llevarla a buen término. Gracias a mi amiga y futura Doctora, Ana Muñoz, otra gran persona que el destino me ha brindado conocer durante estos últimos años. Gracias por tu disponibilidad absoluta a ayudarme desinteresadamente en cualquier situación. Sois unas cracks!! Espero y deseo poder seguir colaborando con vosotras durante mucho tiempo.

Gracias al Dr. David Martínez Duran, infatigable compañero de escalada y muestreos en los ríos perdidos de la geografía aragonesa, por tu motivación y disposición permanente a ayudarme y por esas magníficas fotos, muchas de las cuales ilustran este trabajo. Gracias Charly! Gracias al Dr. Alfonso Garza, que empezó siendo un compañero de ciencia y al poco era ya un amigo inseparable durante la primavera y verano de 2015. Gracias Poncho por tu talento, tus conversaciones y aguantar el ritmo intenso de aquellos meses.

Esta memoria no hubiera sido posible sin el Dr. Antonio Ortíz, quien me ha prestado su ayuda para llevar a cabo el Capítulo 3. Gracias por tu dedicación y ánimos constantes Antonio.

Gracias también a la Dirección General de Salud Pública del Gobierno de Aragón y en especial al Servicio de Vigilancia Epidemiológica por cederme los datos sobre atenciones médicas por picadura de insecto en Aragón. Estoy muy agradecido a D^a Silvia Martínez y a D^a Begoña Adiego por su acogida en el servicio, su simpatía y por su entusiasmo en cuanto les comenté la idea de

desarrollar este trabajo. Gracias también a D^a Marí Paz Sinués por tu cariño, curiosidad entomológica y apoyo.

También quiero agradecer al Instituto Aragonés de Gestión Ambiental por la concesión de las autorizaciones pertinentes para la toma de muestras de simúlidos en los diferentes ríos de Aragón.

Muchas gracias a D. Sergio Simón (Bogart y Bacall) por las portadas de esta tesis, eres un auténtico fenómeno Sergio. Gracias también a D. Jorge García (Urbe Ingeniería Civil) y al Dr. Pablo M. Lucas por su ayuda con el SIG. Gracias al Dr. Óscar Soriano por facilitarme bibliografía y revisar el apartado de los antecedentes en España, por sus ánimos y por contar conmigo para seguir estudiando los simúlidos en Madrid. Gracias al Dr. Barry McMahon y a la Dra. Cristina Arroyo por sus correcciones con el inglés.

Aunque esta tesis propiamente dicha se empezó a forjar en la primavera del año 2015, la “inquietud científica” se remonta mucho antes, cuando en 2006, antes de acabar la carrera comienzo a formar parte del equipo del Dr. Javier Lucientes. Por ello voy a intentar nombrar a todas las personas que han ido formando parte de las diferentes etapas, siguiendo un orden cronológico.

A los profesores de Parasitología con los que he compartido muchos días de laboratorio, a la Dra. M^a Jesús Gracia, Chusa gracias por tu cercanía y sinceridad, al Dr. Miguel Ángel Peribáñez por su compañerismo y disponibilidad, al Dr. Juan Antonio Castillo, gracias paisano, por tu ayuda y por facilitarme medios para desarrollar mi investigación. También a la Dra. Rosa Estrada por su compañía en el laboratorio y por tus palabras siempre alentadoras.

A los compañeros de inicio en la unidad de Parasitología, a la Dra. Ana Peris y al Dr. José Miguel Marcén gracias por acogerme tan bien, a la Dra. Julieta Zacarías por su simpatía y cariño.

A las diferentes personas que han integrado en algún momento el “Lucientes Team”. Gracias al Dr. Pedro M. Alarcón, por su amistad, consejos, ayuda y por inculcarme ese gusanillo por publicar. Nos quedan todavía muchas aventuras y congresos por compartir Pedro ;) Gracias a D^a Rocío Pinal por compartir conmigo horas de laboratorio y campo y por su ayuda permanente siempre que la he necesitado, ánimo Rochi, un último empujón ☺. Gracias a D. Víctor Carmona y a D. Carlos Lucientes por la compañía y el buen ambiente en el laboratorio. Gracias a D. Ángel Casanova por su ayuda en los muestreos, su profesionalidad y esa sorna que lo hace tan especial. Gracias amigos!

Gracias a la Dra. Paz Peris y la Dra. Adriana Esteban (Peluqueras) por su amistad, por su simpatía y por su disponibilidad para ayudar en cualquier momento. Gracias chicas por esas terapias de humor en el despacho de becarios. Por último no puedo olvidarme de otras personas como D. Vladimir Oropeza y D^a Paula Ortega, gracias por tu simpatía.

Gracias también a los compañeros de Enfermedades Parasitarias: Dr. José Manuel Venzal por tu amistad y por acogerme en tu casa durante la estancia en Uruguay, al Dr. Agustín Estrada por tu rigor científico y por aconsejarme, al Dr. Fernando López por preocuparte por mi trayectoria profesional.

Gracias a los amigos y compañer@s del Servicio de Control de Mosquitos de Monegros. En especial a Ángela, Oscar y Pascual. Gracias por vuestra ayuda y por enseñarme a almorzar como

es debido. Gracias a los compañer@s de Quimera BS por su gran acogida durante mi trabajo en la empresa.

Gracias a los compañeros de otras unidades del departamento de Patología Animal de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza. De Reproducción: Dra. Felisa Martínez, Feli, gracias por tu cercanía, Dra. Clara Malo por tu simpatía, Dra. Lydia Gil por acogerme en el departamento en más de una ocasión, al Dr. Rodrigo Alberto Jerez y al Dr. Rafael Cano por su amistad; de Anatomía Patológica: Dr. Carlos Hedman, Dr. Miguel Revilla y Dra. Mari Cruz por vuestro compañerismo; de Infecciosas: Dr. Héctor Fuertes, Dr. Carmelo Ortega y Dr. Nabil Halaihel. Mención especial merecen los "amigos infecciosos": Dra. Ana Muniesa y el Dr. Imanol Ruiz, gracias a ambos por acogerme en el pasillo de al lado, por vuestra ayuda, consejos y ánimos permanentes. Ana no tengo ninguna duda que vas a triunfar en lo que hagas con esa gran motivación y capacidad de trabajo; de Patología Médica: Dr. Luis Miguel Ferrer por sus fotografías y por contar conmigo para el desarrollo de varios proyectos, D^a Miren Ortega por su aplomo y su espíritu infatigable, y en especial al Dr. Luis Figueras, por su amistad, su gracia pastricera y por su inestimable ayuda en los muestreos en el río Ebro. Estoy seguro Luis que algún día conseguiremos un proyecto juntos.

También quiero agradecer a otros profesores y compañeros de la Facultad de Veterinaria por su interés en mi investigación y por sus consejos: a la Dra. Chelo Ferreira, al Dr. Francisco Vázquez, al Dr. Antonio Romero, y a la Dra. Arantza Vitoria. También agradecer a la Dra. Rosario Osta, Charo, por las conversaciones desenfadadas y sus consejos.

Gracias a los compañeros de Master de Salud Pública, fue un año duro pero también disfrutamos mucho!

No me puedo olvidar de mis compañeras del CIBIR, gracias a tod@s por acogerme en esta nueva etapa. Al grupo de Infecciosas por aguantar mis quejas sobre la Tesis, es un gusto poder trabajar a vuestro lado. Gracias a la Dra. Ana M. Palomar por su ayuda en el día a día, por su gran esfuerzo, paciencia y dedicación, a D^a Lourdes Romero y a las Santibañez sisters, Sonia y Paula, por su simpatía y por enseñarme a moverme en el laboratorio y por resolver mis innumerables dudas sobre la biología molecular. Gracias a la Dra. Arantza Portillo, a la Dra. Patricia Pérez y a la Dra. Lara García por estar siempre dispuestas a ayudarme. Gracias a la Dra. Cristina Cervera por su cercanía. A la Dra. Laura Pérez por su sentido del humor. Gracias al Dr. José Ramón por su interés en mi investigación, por sus noticias entomológicas y por sus ánimos. Gracias a D^a María del Toro por su motivación y orientación. Gracias a D^a Ana Cristina Casado y la Dra. Rosario López por sus conversaciones tan amenas. Gracias también al resto de compañeras de otros grupos de investigación por su compañerismo y por esos momentos de distensión en el office. Gracias a D. Marcos Vilariño por su disponibilidad y dedicación y al Dr. Eduardo Mirpuri por su apoyo. A la gente de gestión por su ayuda, en especial a Mari Luz y Soraya por su buen trabajo y su excelente sentido del humor. A Vero por esos cafés atómicos y por su sonrisa. A Miguel Mejías por su motivación y entusiasmo. Muchas gracias a la Fundación Rioja Salud por confiar y apoyar esta nueva línea de investigación.

También quiero agradecer en este punto, el apoyo que he recibido de diferentes amig@s con los que he coincidido profesionalmente, en estancias internacionales y en congresos y que siempre han confiado en mí y me han hecho crecer científicamente. Gracias a todas las

personas e instituciones que me ayudaron y apoyaron en la organización del 7th International Simuliidae Symposium en Zaragoza en 2016.

Gracias al Dr. Heiko Kotter, por sus conocimientos, por mostrarme cómo se deben controlar los simúlidos, por su apoyo constante, por esas eternas jornadas de trabajo siempre amenas, pero sobre todo por tu amistad. Gracias al Dr. Luis M. Hernández Triana, por su entusiasmo, sus consejos, por las discusiones científicas y por su apoyo constante. Es un auténtico placer trabajar a tu lado Luis. Gracias a la Dra. Aleksandra Ignjatovic Cupina, Sandra, por confiar siempre en mí, por tus cálidas palabras y por enseñarme tanto.

Al Dr. Barry McMahon, gracias Barry no sólo por ofrecerte a ser mi supervisor en mi estancia en Dublín sino por darme cobijo en tu casa, detalle que nunca olvidaré. Gracias también por ilustrarme y por contagiarme de tu entusiasmo científico, hit the mark! Gracias a la Dra. Cristina Arroyo, Cris, siempre has mostrado interés por mis bichejos y gracias a tu insistencia pude hacer la tesis en Irlanda, gracias por tu acogida en Dublín, por tu sonrisa y por esas conversaciones en torno a unas pintas. En mi estancia en Dublín conocí varias personas que me ayudaron entre ellas Paula, Santiago, Rochelle y otros compañer@s. Mención especial para la Dra. Carol Melody, Carol, por su simpatía, su gran sentido del humor, por sacarme de paseo y por hacerme sentirme muy a gusto en el zulo. Gracias al Dr. Mario Rodríguez por su apoyo en la estancia en México, por incluirme en su equipo de trabajo y darme la oportunidad de participar en la Red Mexbol, fuiste la persona que me dio el empujón para realizar la Tesis sobre mosca negra. También gracias a los colegas de muestreo en México, al Dr. Aldo Ortega, a D. Ramón Méndez y a D. Vicente Homero González y al Dr. Alfonso Garza, gracias por ser como sois. Gracias por vuestra acogida y por esas inolvidables semanas en la selva.

También quiero agradecer a otros compañeros que han influido en mi formación positivamente como el Dr. Carlos Calvete y el Dr. Helder Cortés. Gracias Helder por tu amistad, tus consejos y por acogerme en Lisboa durante el Congreso 20th E-SOVE. Gracias a D^a Irene Bueno, una gran persona con la que siempre puedo contar. Gracias Irene por las conversaciones por skype y por tu ayuda constante, sé que llegarás lejos.

Quiero agradecer también la amistad y la ayuda de los “mosquiteros españoles” que tanto me han enseñado: al Dr. Miguel A. Miranda, al Dr. Ricardo Molina, al Dr. Carles Aranda, a D. Tomás Calvo, a D. Santiago Ruiz, a D. Carlos Barceló, al Dr. Andrea Drago, a la Dra. Ana García y al Dr. Eduardo Berriatua. Muchas gracias también a D^a Montse Masia y a D. Raúl Escosa por compartir conmigo su experiencia en el conocimiento de la mosca negra en Cataluña. Gracias a todo el equipo de Mosquito Alert por su confianza y a su director, el Dr. Frederic Bartumeus. En este apartado me tengo que detener y dar especialmente las gracias a varias personas y amigos. Gracias al Dr. Roger Eritja por su rigor científico y por contar conmigo para formar parte del equipo de Mosquito Alert. Gracias a la Dra. Rosario Melero por su amistad y consejos, que grande eres Chari. Gracias a D. Eduard Marqués por su ayuda desinteresada, por su humildad y amistad. Gracias al Dr. Francisco Collantes, Paco majó, por su sinceridad y sus ganas de trabajar. Y no me puedo olvidar del Dr. Mikel Bengoa, gran profesional, científico y mejor persona; nos quedan muchos congresos por compartir Mikel. Gracias a tod@s!!

También quiero agradecer a los “compañeros simulideros” que me he ido encontrado en el camino y con los cuales espero seguir trabajando activamente. Gracias al Dr. Rafael Obregón por su interés en los simúlidos y por las interesantes conversaciones científicas, a D. Miguel

Ángel por su motivación y ganas de trabajar. Gracias a los colegas europeos, al Dr. Matus Kudela y a la Dra. Tatiana Kúdelová por su ayuda en la obtención de artículos científicos, al Dr. Simone Ciadamidaro por su amistad y por acogerme en su casa durante 6th International Simuliidae Symposium en Turín. Muchas gracias también al Dr. Peter Adler por sus conocimientos y por su disponibilidad permanente para ayudarme. Gracias a D. Emilio Martínez por su ayuda e información sobre la situación del control de los simúlidos en Zaragoza. Gracias también al Dr. Dusan Petric y a la Dra. Maria Zgomba por vuestras buenas palabras y apoyo. No me puedo olvidar de agradecer al “pastor de La Cartuja”, sus valiosas observaciones en campo y su simpatía.

También agradecer la paciencia y apoyo de D^a Carolina Eseberri, Carol, por “raptar” a su marido tantos y tantos fines de semana durante estos años. Gracias a Manolo y Julián y resto de equipo de cocina, por vuestra simpatía y buen hacer en la cafetería de Veterinaria. Gracias a los bedeles de la uni por su simpatía, gracias Xabi por esas conversaciones de pasillo.

Qué sería de la vida sin amigos... aunque no hayan participado directamente en la elaboración de esta memoria siempre han estado ahí, apoyando con su amistad y aguantando en muchos momentos mis ausencias sociales.

Gracias a los amigos de Pérez: Antonio, Gerardo, Sergio, Juan Carlos, Ángel, Javi y Paola. A los gandules de Ágreda: Josi, Carlos, Nacho, Miguel, Busti, Quillo y Lucas. A los compañer@s de promoción, que buenos ratos hemos pasado amigos...y los que quedan: Manuel, Vaji, Neme, Pinse, Patri, Jon, Elena y muchos más. A Diego y Manu por estar siempre ahí y por compartir tantas experiencias juntos. A los amig@ de “ASC los de siempre”, sois muy grandes, vaya mezcolanza de personajes en un grupo siempre enriquecedor. Gracias a Fanidad por tu amistad y esos viajes vividos juntos. Gracias Mikel por acercarme al mundo de la escalada del que tanto disfruto. Gracias a Pelusa por esos momentos vitales compartiendo piso. Gracias a tod@s, viva el Posturas co! Gracias a los amigos de AVAFES con los que tanto he compartido en la naturaleza: Alfredo, Pili, María Feliú, María Cortes, Marco, Charly, Arrate, Diego, Ainhoa, Xabi, Isis, Isabel, Aitor y resto de amig@s. A las Ladies gracias por esa gran acogida en vuestro grupo. Gracias a los amig@s de Güixas: Ana Esther, Ana Teresa, Carlos, Isabel, Luis e Irene, un auténtico placer compartir el mundo del tiempo libre con vosotros. Gracias a los amigos de Oza por aquellos veranos tan fabulosos: Asun, Pepe, Julio, Chesa, Cris, Pablo, Mari Mar, José Manuel, Sofía, Natalia, Nieves y el resto de amig@s. A los colegas de Huauquipura y del curso de cooperación, sois unos fenómenos, gracias al comandante Lucho y Fustero, las dos mellizas con las que tanto comparto.

A mis amigos montañeros y escaladores. A los amigos del GM San Jorge. A mi amigo Carlos por compartir conmigo tantas y tantas vías, viajes y olas futuras, forjando una amistad única. A Diego, capitán, por su amistad y acogida espectacular en Logroño. A Papi por su autenticidad y su buen humor. A Luisito por su templanza, su empatía, su superación y por ese amor a la montaña que tanto me ha contagiado. A mi amigo Cárabo, por tu ayuda con el SIG, por tu sincera amistad y por compartir conmigo atardeceres únicos en el Pirineo, gracias amigo, siempre te tendré en el recuerdo. A mis amig@s del CRON: gracias Sonia por esa gran amistad, Jara, Nacho, Patri, María, José Antonio, Anita y demás amig@s orientadores.

Gracias a Garazi y Julia por compartir conmigo grandes momentos en mi vida.

Gracias a Iosi, Efrat, Cati, Idan, Yael, Naama, Maia, Galia y resto de familia adoptiva por vuestro cariño y por acogerme también en vuestra singular familia. Muchas gracias!! “Y el viento se levantó”... un gran abrazo Natalia, allá donde quiera que estés.

Gracias a mis tíos y primos. A mi abuelita Alicia y abuelo Emilio. Busti, vuelven las colmenas y vuelve la cordada de primates☺. Alf gracias por acogerme en tu casa y no perder la esperanza por arrastrarme lejos del ordenador durante estos últimos meses. Gracias Familia!!

Os debo todo lo que soy a vosotros, papá y mamá. Sé que nunca os lo agradezco lo suficiente y que habéis aguantado con tesón mi mala leche y estrés de estos últimos tiempos. Gracias por vuestro apoyo constante y ánimos siempre que los necesitaba. Gracias Papá por dejarte engañar para crear cualquier artilugio que necesitará en la tesis y en el trabajo.

Gracias bro!! Eres una gran persona y un auténtico crack hermanito. Estás lejos pero te siento cerca. Espero poder compartir contigo más tiempo cuando vuelvas a la Península y hacerte una visita como es debido pronto.

A Paloma, por tu amor. Gracias a ti he podido sortear estos tres años duros. Tu apoyo constante, tu interés por todo lo que hago y tu ilusión me han servido de inspiración para seguir adelante. Esta Tesis nos ha supuesto un inmenso sacrificio que has sabido aguantar con comprensión, buen humor y mucha paciencia. Gracias una vez más Paloma! A Trufa, esa podenco rata tan especial, porque aunque no tengas ni idea de lo que he hecho, siempre estabas ahí para reconfortarme en los momentos duros, sacarme una sonrisa y para desestresarme en tus paseos.

A todos vosotr@s y a alguna persona que seguro se me escapa os dedico este humilde trabajo de investigación.

A Paloma

A mis padres y mi hermano

A mi amigo José Manuel (Cárabo)

“Cuanto más amor das, mejor estás.”
Javier Ibarra Ramos

Índice

Índice	I
Índice de tablas	V
Índice de figuras	VII
Abreviaturas	X
Resumen	XI
Summary	XII
Justificación	1
Hipótesis y objetivos generales	5
Hipótesis	5
Objetivos generales	5
1. Introducción general	7
1.1. Taxonomía, distribución y antecedentes en España	7
1.1.1. Taxonomía	7
1.1.2. Distribución de especies en España	9
1.1.3. El estudio de los simúlidos en España	11
1.2. Morfología	13
1.2.1. Huevo	13
1.2.2. Larva	14
1.2.2.1. Cabeza	14
1.2.2.2. Aparato bucal	16
1.2.2.3. Tórax y abdomen	17
1.2.3. Pupa	17
1.2.4. Adulto	18
1.3. Biología	21
1.3.1. Biología de formas preimaginales	22
1.3.1.1. Movimiento y fijación a los sustratos	22
1.3.1.2. Hábitats larvarios	24
1.3.1.3. Desarrollo larvario, pupal y emergencia del adulto	27
1.3.1.4. Alimentación	29
1.3.2. Biología del adulto	29
1.3.2.1. Capacidad de vuelo, alimentación y lugares de reposo	30
1.3.2.2. Reproducción	30
1.3.2.3. Actividad de picadura	31
1.3.2.4. Desarrollo de los huevos y ovoposición	31
1.4. Impacto en salud pública y sanidad animal	32
1.4.1. Daños directos: picaduras	32
1.4.2. Daños indirectos: transmisión de enfermedades	32



1.5. Impacto económico	33
1.6. Control y prevención	36
1.6.1. Gestión ambiental	36
1.6.2. Control químico	36
1.6.3. Control biológico	37
1.6.4. Acción cultural	39
1.6.5. Control en España	40
2. Bioecología de <i>Simulium erythrocephalum</i> en Zaragoza	43
2.1. Introducción	43
2.1.1. Encuentro sexual y cópula	43
2.1.1.1. Comportamiento sexual pre-cópula	44
2.1.1.1.1. Cópula sin formación de enjambres	45
2.1.1.1.2. Encuentro sexual en enjambres	45
2.1.1.1.3. Marcadores de enjambres	46
2.1.1.1.4. Formación de los enjambres	48
2.1.1.1.5. Posición y movimiento dentro del enjambre	48
2.1.1.1.6. El rol de la visión en la cópula	49
2.1.1.1.7. Comunicación intersexual	50
2.1.1.2. Comportamiento de cópula	51
2.1.2. Hábitos de picadura	52
2.1.2.1. Clasificación de los hábitos de picadura	53
2.1.2.2. Comportamiento de picadura	53
2.1.2.3. Estacionalidad de la picadura	54
2.1.2.4. Condiciones climáticas y la picadura	54
2.1.2.5. Patrones diarios de picadura	55
2.1.2.6. Tasa de picadura	55
2.1.3. Los ovarios y la maduración de los huevos	57
2.1.3.1. Estadios de maduración de los huevos	57
2.1.3.2. Estimación de la edad	58
2.1.3.3. Estimación de la tasa de supervivencia	59
2.1.3.4. Estimación de la duración del CG	60
2.2. Objetivos	62
2.3. Material y métodos	62
2.3.1. Área de estudio	62
2.3.2. Patrón diario de aterrizaje sobre el ser humano (<i>daily human-landing pattern</i>)	64
2.3.3. Variables meteorológicas	66
2.3.4. Duración del CG y de la tasa de supervivencia	66
2.3.5. Confirmación de la duración del CG a través del estudio de la ovogénesis	68
2.3.6. Observaciones en el comportamiento de cópula	68
2.4. Resultados y discusión	68
2.4.1. Patrón diario de aterrizaje sobre ser humano (<i>daily human-landing pattern</i>)	69
2.4.2. Efecto de las variables meteorológicas en el patrón diario de aterrizaje sobre el ser humano (<i>daily human-landing pattern</i>)	71



4.3.2 Variables	113
4.3.2.1. Censos anuales de población por ZBS desglosados en quinquenios de edad y sexo	113
4.3.2.2. Datos de urgencias hospitalarias por cualquier motivo desagregados por hospital	114
4.3.2.3. Datos de urgencias hospitalarias por picadura de insecto en Aragón desagregados por hospital	114
4.3.2.4. Datos del sistema OMI-AP sobre las consultas en AP por cualquier motivo desagregados por ZBS	116
4.3.2.5. Datos del sistema OMI-AP sobre las consultas de picadura de insecto en AP desagregados por ZBS	117
4.3.3. Análisis estadístico	118
4.4. Resultados y discusión	119
4.4.1. Atenciones por picadura de insecto en servicios de urgencias hospitalarias	119
4.4.1.1. Descripción espacio-temporal del censo de población y las urgencias hospitalarias	119
4.4.1.2. Urgencias atendidas en hospitales por 1.000 hab	120
4.4.1.3. Urgencias atendidas en hospitales por 1.000 hab segmentando por sector sanitario	121
4.4.1.4. Urgencias por picaduras de insecto atendidas en hospitales por 10.000 hab	122
4.4.1.5. Urgencias por picaduras de insecto atendidas en hospitales por 10.000 hab segmentando por sector	124
4.4.1.6. Proporción de urgencias hospitalarias debidas a picaduras de insecto	126
4.4.1.7. Proporción de urgencias hospitalarias debidas a picaduras de insecto segmentando por sector	127
4.4.1.8. Urgencias por picaduras de insecto según la localización de la picadura e infección	128
4.4.2. Atenciones por picadura de insecto en Atención Primaria	129
4.4.2.1. Descripción espacio-temporal de consultas en AP en el área metropolitana de Zaragoza	129
4.4.2.2. Análisis de consultas por picaduras atendidas en AP acumuladas anualmente	129
4.4.2.2.1. De forma global	129
4.4.2.2.2. Según el sexo	139
4.4.2.2.3. Según la edad	141
4.4.2.3. Análisis de picaduras atendidas en AP acumuladas mensualmente	142
4.4.2.4. Análisis de picaduras atendidas en AP acumuladas semanalmente	152
4.4.3. Limitaciones	161
Conclusiones	163
Bibliografía	165
Anexos	193
Anexo I. Díptico informativo del Gobierno de Aragón	193
Anexo II. Autorización para la toma de muestras del Instituto Aragonés de Gestión Ambiental. INAGA 500201/24/2015/4464	195
Anexo III. Informe Comité Ético de Investigación Clínica de Aragón (CEICA) PI15/0147	198
Anexo IV. Autorización para la toma de muestras del Instituto Aragonés de Gestión Ambiental. INAGA 500201/24/2016/5803	199



Índice de tablas

Tabla 1.1. Lista de las especies presentes en España y su distribución en España peninsular, Islas Baleares e Islas Canarias, según Adler y Crosskey (2017)	9
Tabla 2.1. Número de hembras de <i>S. erythrocephalum</i> capturadas	74
Tabla 3.1. Media (>0,5%) de cada VOC del sudor humano y extraído mediante SPME de contacto	92
Tabla 3.2. Respuesta EAG de hembras de <i>S. erythrocephalum</i> frente a los VOC presentes en sudor humano	94
Tabla 4.1. Lista de los órdenes de artrópodos con interés sanitario	99
Tabla 4.2. Especies plaga de simúlidos por sus picaduras y molestias sobre humano y animales	104
Tabla 4.3. Hospitales públicos de Aragón con servicio de urgencias y su correspondiente sector sanitario que atienden	114
Tabla 4.4. Códigos CIE9MC utilizados para la selección de casos	115
Tabla 4.5. ZBS de los sectores sanitarios del área metropolitana de Zaragoza	116
Tabla 4.6. Censo de población (hab) estratificado por año y sector sanitario	119
Tabla 4.7. Urgencias hospitalarias por cualquier motivo estratificadas por año y sector sanitario	119
Tabla 4.8a. Urgencias totales atendidas por 100 hab estratificadas por año	120
Tabla 4.8b. Urgencias totales atendidas por 100 hab estratificadas por mes	120
Tabla 4.8c. Urgencias totales atendidas por 100 hab estratificadas por sector sanitario	121
Tabla 4.9a. Urgencias totales atendidas por 100 hab en cada sector sanitario estratificadas por año	121
Tabla 4.9b. Urgencias totales atendidas por 100 hab en cada sector sanitario estratificadas por mes	122
Tabla 4.10. Total de urgencias hospitalarias por picadura atendidas en el periodo 2009-2015 estratificadas por sector sanitario	122
Tabla 4.11a. Atenciones en urgencias por picadura por 10.000 hab estratificadas por año	123
Tabla 4.11b. Atenciones en urgencias por picadura por 10.000 hab estratificadas por mes ...	124
Tabla 4.11c. Atenciones en urgencias por picadura por 10.000 hab estratificadas por sector sanitario	124
Tabla 4.12a. Atenciones en urgencias por picadura por 10.000 hab en cada sector sanitario estratificadas por año	125
Tabla 4.12b. Atenciones en urgencias por picadura por 10.000 hab en cada sector sanitario estratificadas por mes	125
Tabla 4.13a. Proporción (%) de atenciones en urgencias debidas a picadura estratificada por año	126
Tabla 4.13b. Proporción (%) de atenciones en urgencias debidas a picadura estratificada por mes	126



Tabla 4.13c. Proporción (%) de atenciones en urgencias debidas a picadura estratificada por sector sanitario	127
Tabla 4.14a. Proporción (%) de atenciones en urgencias debidas a picadura en cada sector sanitario estratificada por año	128
Tabla 4.14b. Proporción (%) de atenciones en urgencias debidas a picadura en cada sector sanitario estratificada por mes	128
Tabla 4.15. Localización de las picaduras atendidas en urgencias hospitalarias y proporción de picaduras infectadas	128
Tabla 4.16. Atenciones primarias por cualquier motivo por año y sector sanitario	129
Tabla 4.17a. Consultas por picaduras atendidas según censo y nº de atenciones primarias en el área metropolitana de Zaragoza estratificadas por año	130
Tabla 4.17b. Consultas por picaduras atendidas según censo y nº de atenciones primarias en el área metropolitana de Zaragoza estratificadas por sector sanitario y zona	130
Tabla 4.18. Consultas por picaduras/1.000 hab, según el sexo de los pacientes, atendidas en AP en el área metropolitana de Zaragoza en el periodo 2009-2015 estratificadas por año	140
Tabla 4.19. Consultas por picaduras/1.000 hab, según el sexo de los pacientes, atendidas en AP en el área metropolitana de Zaragoza en el periodo 2009-2015 estratificadas espacialmente (según sector y zona rural/urbana)	140
Tabla 4.20. Consultas por picaduras/1.000 hab, según la edad de los pacientes, atendidas en AP en el área metropolitana de Zaragoza en el periodo 2009-2015 estratificadas por año	141
Tabla 4.21. Consultas por picaduras/1.000 hab, según la edad de los pacientes, atendidas en AP en el área metropolitana de Zaragoza en el periodo 2009-2015 estratificadas espacialmente (según sector y zona rural/urbana)	142
Tabla 4.22. Consultas por picaduras atendidas en AP/10.000 AP en el área metropolitana de Zaragoza en el periodo 2009-2015 según zona rural/urbana	143
Tabla 4.23. Comparación de la evolución mensual de las atenciones por picadura de insecto en AP AP/10.000 AP en el área metropolitana de Zaragoza en el periodo 2009-2015	144
Tabla 4.24. Atenciones mensuales por picadura de insecto en AP/10.000 AP según la ZBS en el área metropolitana de Zaragoza en el periodo 2009-2015	149
Tabla 4.25. Distribución de las atenciones por picadura a lo largo de la semana	153



Índice de figuras

Figura 1.1. Vista lateral de una larva de simúlido (Adler <i>et al.</i> , 2004)	14
Figura 1.2. Vista dorsal y ventral de la cápsula cefálica de una larva de simúlido (Adler <i>et al.</i> , 2004)	15
Figura 1.3. Distintos patrones de la hendidura postgenal en varias especies (Hernández-Triana, 2011)	16
Figura 1.4. Diferencias en la morfología de los filamentos respiratorios de varias especies de simúlidos (Hernández-Triana, 2011)	18
Figura 1.5. Diferencias en el patrón de coloración del mesonoto de varias especies (Hernández-Triana, 2011)	19
Figura 1.6. Genitalia de la hembra (Adler <i>et al.</i> , 2004)	21
Figura 1.7. Genitalia del macho (Adler <i>et al.</i> , 2004)	21
Figura 1.8. Ciclo biológico de los simúlidos (Wood, 1985)	22
Figura 1.9. Formas preimaginales adheridas a diferentes sustratos	24
Figura 1.10. Diferentes hábitats larvarios	25
Figura 1.11. Imagen de una pupa (izquierda) y de un estuche pupal vacío (derecha)	28
Figura 1.12. Estatua donde un niño guía a un hombre ciego debido a la oncocercosis en la sede de la WHO en Ginebra	34
Figura 1.13. Picaduras de simúlido en oveja	35
Figura 1.14. Corte de macrófitos con máquina en el río Henares	36
Figura 1.15. Aplicación de <i>Bti</i> en el río Cinca (Ruiz-Arrondo <i>et al.</i> , 2009)	38
Figura 1.16. Larva de simúlido parasitada por <i>Isomermis lairdi</i> (Ruiz-Arrondo <i>et al.</i> , 2017b)	38
Figura 1.17. Protectores de orejas y cabeza contra artrópodos para caballos	40
Figura 1.18. Control de simúlidos con <i>Bti</i> en Tarragona (Fuente: COPATE)	40
Figura 2.1. Diferentes marcadores de enjambres (Crooskey, 1990)	46
Figura 2.2. Ojo de un macho de simúlido (Fuente: http://www.alamy.com)	49
Figura 2.3. Postura común de cópula (Crosskey, 1990)	51
Figura 2.4. <i>Feeding</i> de varios simúlidos (Dima, 2006)	56
Figura 2.5. Anatomía de los órganos reproductivos femeninos y desarrollo de un huevo dentro de la ovariola (Crosskey, 1990)	57
Figura 2.6. Área de estudio (Ruiz-Arrondo <i>et al.</i> , 2017a)	63
Figura 2.7. Entorno del punto de muestreo	63
Figura 2.8. Técnica de cebo humano (<i>human landing collection</i> , HLC)	65
Figura 2.9. Disección en campo de una hembra de <i>S. erythrocephalum</i>	65
Figura 2.10. Patrón diario de landing (línea) y tasa de paras (barras) de las hembras de <i>S. erythrocephalum</i> (Ruiz-Arrondo <i>et al.</i> , 2017a)	70
Figura 2.11. Relación entre el número de hembras de <i>S. erythrocephalum</i> capturadas por hora y la temperatura del aire y la radiación solar (Ruiz-Arrondo <i>et al.</i> , 2017a)	72



Figura 2.12. Oogénesis de <i>S. erythrocephalum</i> (Ruiz-Arrondo <i>et al.</i> , 2017a)	75
Figura 2.13. Comportamiento de cópula observado en <i>S. erythrocephalum</i>	77
Figura 3.1. Órgano de Lutz del palpo maxilar (Crosskey, 1990)	83
Figura 3.2. Mecanismo de la detección de un semioquímico en los insectos (O'Connell, 1975) ..	86
Figura 3.3. Recolección de los VOC sobre un caballo usando una jeringa SPME	87
Figura 3.4. Tubo de poliestireno con una hembra de <i>S. erythrocephalum</i>	89
Figura 3.5. Cabeza de una hembra de <i>S. erythrocephalum</i> entre los dos electrodos de la EAG ...	90
Figura 3.6. Sistema EAG (Synthech, Holanda)	90
Figura 3.7. Señales de la EAG registradas al dirigir un compuesto sobre la antena	91
Figura 3.8. Cromatograma de iones (GC/MS/EI) del sudor extraído mediante SPME de contacto	92
Figura 4.1. Picadura de <i>S. erythrocephalum</i>	101
Figura 4.2. Tramos de ríos donde se producen los brotes de simúlidos más importantes en el noreste de España (Ruiz-Arrondo <i>et al.</i> , 2014b)	106
Figura 4.3. Portada del periódico La Rioja del 21 de julio de 2017	107
Figura 4.4. Trampa CDC cebada con CO ₂ con numerosos simúlidos adultos capturados durante el brote de 2012 en Zaragoza	107
Figura 4.5. Macrófitos en el río Ebro a su paso por Zaragoza	109
Figura 4.6. Hojas de <i>Potamogeton pectinatus</i> con larvas y pupas de simúlidos	109
Figura 4.7. Sectores sanitarios de Aragón (Gobierno de Aragón, 2004)	115
Figura 4.8. ZBS de los sectores sanitarios del área metropolitana de Zaragoza	117
Figura 4.9. Consultas por picadura de insecto en AP/1.000 hab en Zaragoza urbana durante 2012	131
Figura 4.10. Atenciones en AP por picadura/1.000 hab según ZBS en el periodo 2009-2015	134
Figura 4.11. Atenciones en AP por picadura/1.000 hab según ZBS en zona urbana en el periodo 2009-2015	135
Figura 4.12. Atenciones en AP por picadura/100 AP según ZBS en el periodo 2009-2015	136
Figura 4.13. Atenciones en AP por picadura/100 AP según ZBS en zona urbana en el periodo 2009-2015	137
Figura 4.14. Atenciones en AP por picadura/1.000 hab según ZBS en 2011 y 2012	138
Figura 4.15. Comparación de la evolución mensual de las atenciones por cualquier motivo en AP en el área metropolitana de Zaragoza en el periodo 2009-2015	143
Figura 4.16. Evolución mensual de las atenciones por picadura en AP/10.000 AP en el área metropolitana de Zaragoza en el periodo 2009-2015	145
Figura 4.17. Comparación de la evolución mensual de las atenciones por picadura de insecto en AP en el área metropolitana de Zaragoza en el periodo 2009-2015	146
Figura 4.18. Evolución mensual de las atenciones por picadura en AP/10.000 AP en el área metropolitana de Zaragoza en el periodo 2009-2015 según la zona	147
Figura 4.19. Caudales medio y máximo diarios del río Ebro a su paso por Zaragoza, del 1 de septiembre de 2011 al 31 de mayo de 2012	151
Figura 4.20. Evolución semanal de las atenciones por picadura en AP/10.000 hab en el área metropolitana de Zaragoza en el periodo 2009-2015	154



Figura 4.21. Comparación de la evolución semanal de las atenciones por picadura en AP/10.000 hab en el área metropolitana de Zaragoza en el periodo 2009-2015	156
Figura 4.22. Comparación de la evolución semanal de las atenciones por picadura en AP/10.000 hab en el área metropolitana de Zaragoza en el periodo 2009-2015 agrupada por fases del brote de simúlidos	156
Figura 4.23. Comparación de la evolución semanal de las atenciones por picadura en AP/10.000 hab en el área metropolitana de Zaragoza en el periodo 2011-2015 ajustada de forma absoluta según los datos de la fase pre brote	158
Figura 4.24. Comparación de la evolución semanal de las atenciones por picadura en AP/10.000 hab en el área metropolitana de Zaragoza en el periodo 2011-2015 ajustada de forma relativa según los datos de la fase pre brote	158
Figura 4.25. Comparación de la evolución semanal de las atenciones por picadura en AP/10.000 hab en el área metropolitana de Zaragoza en el periodo 2011-2012 ajustada de forma relativa según los datos de la fase pre brote	158
Figura 4.26. Evolución semanal de la evolución semanal de las atenciones por picadura en AP/10.000 hab en el área metropolitana de Zaragoza en el periodo 2009-2015 según la zona	159



Abreviaturas

AP	Atención Primaria
ARIMA	<i>Auto Regressive Integrated Moving Average</i>
<i>Bti</i>	<i>Bacillus thuringiensis var. israelensis</i>
CEICA	Comité Ético de Investigación Clínica de Aragón
CIAP-1	Clasificación Internacional de Enfermedades de Atención Primaria
CG	Ciclo gonotrófico
COI	Citocromo Oxidasa c subunidad I
COPATE	Consorti de Polítiques Ambientals de les Terres de l'Ebre
DDT	Dicloro-difenil-tricloroetano
DHLP	<i>Daily human-landing pattern</i>
DLR	<i>Daily landing rate</i>
DPR	<i>Daily parity rate</i>
DSR	<i>Daily survival rate</i>
EDO	Enfermedades de Declaración Obligatoria
ETAV	Enfermedades Transmitidas por Artrópodos Vectores
GLMM	<i>Generalized linear mixed model</i> (Modelo lineal mixto generalizado)
HLC	<i>Human landing collection</i>
HLCP	<i>Human landing collection periods</i>
HR	Humedad relativa
INAGA	Instituto Aragones de Gestión Ambiental
msnm	Metros sobre el nivel del mar
RS	Radiación solar
s.l.	<i>sensu lato</i>
SPME	<i>Solide Phase MicroExtraction</i> (MicroExtracción en Fase Sólida)



Resumen

En los últimos años son numerosas las regiones españolas que cada vez más están siendo afectadas por la plaga de simúlidos. La mayoría de los estudios sobre la familia Simuliidae en España versan sobre la taxonomía y distribución de las especies. Sin embargo, la creciente problemática de este grupo debido a sus hábitos hematófagos conlleva la necesidad de estudiar la familia Simuliidae en España desde el punto de vista de la salud pública y sanidad animal.

Entre las diversas especies plaga de simúlidos detectadas en el país, destaca *Simulium erythrocephalum*, especie muy agresiva con el ser humano y *a priori* principal responsable de las picaduras en diversas regiones. Por ello, en esta Tesis Doctoral se ha abordado el estudio de ciertos aspectos de la bioecología de *S. erythrocephalum* en la ciudad de Zaragoza, que nos permitan comprender mejor los mecanismos que favorecen la emergencia y el establecimiento de esta especie con interés en salud pública.

Esta Tesis Doctoral confirma a *S. erythrocephalum* como una especie altamente antropófila en Zaragoza. Se ha observado que el mayor riesgo de sufrir una picadura por parte de esta especie es durante las horas previas a la puesta de sol y que la actividad agresiva de las hembras está influenciada por la temperatura ambiental y por la radiación solar. Además, un ciclo gonotrófico corto y una alta supervivencia indican un gran éxito en el desarrollo de esta especie, con el consiguiente impacto en salud pública.

Además, se ha puesto a punto la técnica de la electroantenografía en el estudio de los simúlidos, con la consiguiente identificación de varios compuestos volátiles del sudor humano que tienen respuesta en la electroantenografía de las hembras de *S. erythrocephalum*; lo que abre la posibilidad a desarrollar un atrayente con potencial uso en la vigilancia y control de esta especie.

La ciudad de Zaragoza se ha convertido en los últimos años en el paradigma de las molestias por simúlidos a nivel europeo. Por este motivo, se ha evaluado el sistema OMI-AP del Gobierno de Aragón para describir el aumento de atenciones médicas en Atención Primaria por picaduras de insectos en Zaragoza tras el brote de simúlidos acontecido en 2011.

A través de los registros de la aplicación OMI-AP se ha analizado la causalidad en las consultas de Atención Primaria de Aragón y ha resultado una herramienta útil para describir el inicio de este problema de salud pública, además de ofrecer resultados interesantes sobre la dinámica poblacional y la distribución espacial de los simúlidos antropófilos en una serie temporal.

Todas estas contribuciones proporcionan datos objetivos y metodologías contrastadas aplicables en el futuro desarrollo de investigaciones y en la mejora de los programas de vigilancia y control de esta plaga en España.



Summary

In recent years, many Spanish regions are increasingly being affected by black flies bites. Most of the studies on the Simuliidae family carried out in Spain deal with the taxonomy and distribution of the species. However, due to its hematophagous habits, the growing problem with this family **requires** the study of the Simuliidae family from a public and animal health perspective.

Simulium erythrocephalum highlights among the diverse pest species of simuliids detected in Spain. It is a very aggressive man-biting species and *a priori* the principal responsible for bites in various regions. This Doctoral Thesis addresses the study of certain aspects of the bio-ecology of *S. erythrocephalum* in the city of Zaragoza, which provides a better understanding of the mechanisms that trigger the emergence and establishment of this species of public health interest.

This Doctoral Thesis confirms *S. erythrocephalum* as a highly anthropophilic species in the city of Zaragoza. The highest risk of bites from this species was observed during the hours before sunset; and the aggressive host-seeking activity of females was influenced by air temperature and solar radiation. Moreover, a short gonotrophic cycle and a high survival rate indicate a great success in the development of this species, with the consequent impact on public health.

Additionally, the technique of electroantennography has been developed for the study of the simuliids, with the subsequent identification of several volatile compounds from human perspiration that have a response in the electroantennography of the females of *S. erythrocephalum*. These results open the possibility to develop an attractant product with potential use in the surveillance and control of this species.

The city of Zaragoza has become in recent years the paradigm of the discomfort by simuliids at European level. For this reason, the OMI-AP system of the Government of Aragon has been evaluated in order to describe the increase of medical consultations in Primary Care due to insect bites in Zaragoza after the outbreak of simuliids occurred in 2011.

The causes of the Primary Care consultations in Aragón has been analyzed through the records of the OMI-AP application and it has been a useful tool to describe the beginning of this public health problem, besides offering interesting results about the population dynamics and the spatial distribution of anthropophilic simuliids in a time series.

All these contributions provide objective data and proven methodologies applicable in future researches and in the improvement of surveillance and management programs of this pest in Spain.



Justificación

En España, el número de estudios sobre moscas negras es reducido si lo comparamos con los realizados en otros países europeos. La mayoría de los estudios en nuestro país están basados en la taxonomía y distribución de las especies de simúlidos (Grenier y Bertrand, 1954; Crosskey, 1988; González, 1990; Vinçon y Clergue-Gazeau, 1993; Martínez Ruiz, 1996; Martínez y Portillo, 1999; Lestón *et al.*, 2013; Villanúa *et al.*, 2013). De las 55 especies de mosca negra descritas en España (Adler y Crosskey, 2018), 14 especies han sido citadas en alguna ocasión alimentándose sobre el ser humano: *Prosimulium hirtipes*, *P. rufipes* s.l., *S. latipes*, *S. angustitarse*, *S. costatum*, *S. monticola*, *S. variegatum*, *S. tuberosum* (Carlson, 1962), *S. intermedium* (Rivosecchi, 1997), *S. reptans* (Rubtsov, 1956; Rivosecchi, 1986), *S. argyreatum* (Rivosecchi, 1986), *S. bezzii* s.l. (Beaucournu *et al.*, 1992), *S. ornatum* s.l. (Gallego *et al.*, 1994), y *S. erythrocephalum* (Rhum, 1970; Bardin, 2001). Sin embargo, tan sólo *S. ornatum* s.l. y *S. erythrocephalum* han sido descritas con comportamiento agresivo hacia las personas en España (Gallego *et al.*, 1994; Ruiz-Arrondo *et al.*, 2017a). Si bien es cierto que hay un número de especies que pueden conllevar molestias por su revoloteo constante alrededor de las personas, como son las incluidas en el subgénero *Wilhelmia* en España: *S. sergenti*, *S. pseudequinum*, *S. equinum* y *S. lineatum* (Sariözkan *et al.*, 2013; Ruiz-Arrondo *et al.*, 2017a; Sánchez *et al.*, 2017b).

Se asume que probablemente sea *S. erythrocephalum* la especie que más molestias por picadura está ocasionando en el país debido a que sus estadios inmaduros se suelen identificar conjuntamente con especies no antropófilas (subgénero *Wilhelmia*) en los ríos cercanos a las regiones afectadas (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2014b). Sin embargo, hasta la fecha no hay constancia de identificaciones de esta especie en estadio de adulto capturado con trampas o en cebo vivo. Este es otro problema a añadir en la taxonomía de simúlidos de España, puesto que los trabajos realizados sobre la distribución de simúlidos se han basado básicamente en el estudio de la presencia de las formas preimaginales (larvas y pupas) en los ríos (González, 1990; Lestón *et al.*, 2013; Villanúa *et al.*, 2013; Ruiz-Arrondo *et al.*, 2014b). Incluso los servicios de control de mosquitos con experiencia en el control de la mosca negra basan las identificaciones de las especies únicamente en las formas pupales, sin realizar captura de adultos en trampas de aspiración cebadas con CO₂, ni reconociendo las especies que pican a personas y animales a través de la técnica del cebo vivo. Por este motivo, hay que ser prudentes y no desestimar la idea de que pueda haber más especies implicadas en las molestias por picadura a las personas en las regiones donde estos insectos están causando problemas.

La bionomía de los simúlidos está muy bien estudiada en las especies vectoras primarias de oncocercosis, en particular aspectos como la duración del ciclo gonotrófico, la tasa de sobrevivencia, el índice de picadura o la tasa de las hembras paras. Este tipo de estudios son cruciales para los programas de control y eliminación de oncocercosis en Latinoamérica y África. Quizás por este motivo, se carece de este tipo de trabajos en las especies propias de regiones templadas. Una excepción sería *S. erythrocephalum* que no comparte distribución geográfica con las zonas endémicas para *Onchocerca volvulus*, pero algunos estudios realizados en laboratorio han mostrado que esta especie podría potencialmente ser vector competente de *O. volvulus* (Ham y Bianco, 1983). Por lo que no puede descartarse el hecho que



S. erythrocephalum pudiera ser vector de *O. volvulus* en España si un alto número de inmigrantes o viajeros con el parásito se establecen en regiones donde esta especie sea abundante. Además, esta especie ha sido descrita como vector natural de *O. lienalis* (Crosskey, 1990) y *O. gutturosa* (Mikhailyuk, 1967) en ganado vacuno en Europa.

Los programas de control de simúlidos requieren de estudios entomológicos para evaluar la magnitud del problema e implementar estrategias óptimas de vigilancia y control (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2014b). Cada vez son más frecuentes las molestias producidas por simúlidos en diferentes regiones españolas (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2015); y sin embargo no hay estudios disponibles sobre los múltiples factores asociados con su dinámica poblacional y sobre la bionomía de las especies antropófilas que están involucradas en este emergente problema de salud pública. En nuestro conocimiento, por ejemplo, no existen estudios donde se haya capturado la especie *S. erythrocephalum* usando la técnica de cebo humano en España. Todo lo anteriormente comentado subraya la necesidad de estudiar la bioecología y el comportamiento de esta especie en España.

El muestreo de adultos de simúlidos (bien con el uso de trampas bien con la técnica de cebo humano) es importante en nuestras latitudes para evaluar los programas de control y la severidad de los problemas por picaduras en zonas hasta el momento libres de molestias; además de ser una herramienta fundamental en el desarrollo de estudios ecológicos (Service, 1987). Hasta la fecha el uso del cebo humano ha sido el método estándar para capturar las hembras de las especies antropófilas en zonas endémicas de oncocercosis (Service, 1987; Rodríguez-Pérez *et al.*, 2013). Este método además de éticamente cuestionable resulta ineficiente desde un punto de vista coste-efectivo (Young *et al.*, 2015). Un estudio reciente ha demostrado el potencial uso de la trampa Esperanza para reemplazar a las personas como cebo en la monitorización y vigilancia de los vectores de la oncocercosis (Rodríguez-Pérez *et al.*, 2013). En España no existe riesgo de transmisión de oncocercosis al realizar la técnica de cebo humano, y a pesar de ello se plantea un debate ético por sus molestas y dolorosas picaduras.

La identificación morfológica de adultos de simúlidos está muy atrasada en nuestro país (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2017a). En las escasas zonas donde la vigilancia entomológica de adultos de este grupo se realiza en España, se lleva a cabo través de trampas de aspiración cebadas con CO₂. Esto conlleva que se puedan capturar varias especies en una misma trampa y que posteriormente, bien por desconocimiento de la morfología de las especies, bien por ausencia de esta identificación taxonómica, se cometan errores en la interpretación de las densidades poblacionales de las especies antropófilas. Además el CO₂ normalmente se usa en forma de hielo seco, producto que tiene un coste elevado y una vida útil muy efímera.

El hospedador primario de *S. erythrocephalum* en Zaragoza es el ser humano (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2017a) que a través de la piel (aproximadamente un 12-15% del peso corporal) emite compuestos orgánicos volátiles (VOC) que configuran el perfil individual volátil de cada individuo. Este perfil viene determinado por la conjunción de VOC segregados por glándulas ecrinas, sebáceas y apocrinas junto con metabolitos secundarios generados por la microbiota. El estudio de estos VOC como mediadores químicos en la atracción de los simúlidos está escasamente estudiado hasta la fecha (Young *et al.*, 2015).

Por todas estas razones es interesante ahondar en la búsqueda de una técnica de captura de adultos de simúlidos antropófilos alternativa al cebo humano y al uso del CO₂ como cebo en las trampas. Además esta nueva metodología podría tener una aplicación práctica en el control de las poblaciones de *S. erythrocephalum* en ambientes concretos y sentar las bases para el estudio de otras especies con impacto en salud pública y sanidad animal.



La ciudad de Zaragoza se ha convertido en los últimos años en el paradigma de las molestias por simúlidos a nivel europeo. La aplicación OMI-AP para registrar la causalidad en las consultas de Atención Primaria (AP) de Aragón puede resultar una herramienta útil para describir el inicio de este problema de salud pública, además de ofrecer resultados interesantes sobre la dinámica poblacional y la distribución espacial de los simúlidos antropófilos en una serie temporal.

Como consecuencia de todo ello se ha desarrollado esta Tesis Doctoral, en la que se pretende conocer aspectos de la biología de *S. erythrocephalum*, potencial causante de las molestias en Zaragoza y realizar algunas aportaciones que puedan ser aplicadas en la gestión y control de esta plaga. En nuestro conocimiento, este trabajo es la tercera tesis doctoral que aborda el estudio de la familia *Simuliidae* en España y la primera que se centra en el impacto que tiene este grupo sobre la salud pública.







Hipótesis y objetivos generales

Hipótesis

En esta Tesis Doctoral se han evaluado tres hipótesis generales. Las dos primeras están relacionadas con la bioecología y comportamiento de *S. erythrocephalum*, y la tercera con el incremento de las atenciones médicas por picadura de insecto en Aragón:

1. *Simulium erythrocephalum* es la especie responsable de las molestias por picaduras en la ciudad de Zaragoza y su bioecología está relacionada con su papel como problema emergente de salud pública.
2. Ciertos VOC emitidos por el sudor del ser humano pueden intervenir en los mecanismos de localización y selección del hospedador por parte de la especie *S. erythrocephalum*, de tal forma que se pueda formular un cebo químico que junto con una trampa que permita capturar hembras de esta especie prescindiendo o reduciendo del uso del CO₂ como único producto de atracción.
3. El sistema OMI-AP del Gobierno de Aragón es una herramienta útil para evaluar el incremento en el número de atenciones por picaduras de insecto en la ciudad de Zaragoza en el periodo de tiempo 2011-2015; este incremento podría estar influenciado directamente por la abundancia de mosca negra en el río Ebro.

Objetivos generales

Los objetivos generales de esta Tesis Doctoral son:

1. Estudiar la bioecología de *S. erythrocephalum* en la ciudad de Zaragoza y su relación con la salud pública.
2. Determinar los VOC emitidos por el ser humano que están implicados en la localización y la elección de los hospedadores de *S. erythrocephalum*.
3. Evaluar el sistema OMI-AP usado en la gestión sanitaria por el Gobierno de Aragón para describir el aumento de la demanda de asistencia sanitaria en AP por picaduras de insectos en el área metropolitana de Zaragoza tras el incremento poblacional de simúlidos acontecido en 2011, comparándolo con años anteriores y su posterior evolución hasta el 2015.





1

Introducción general

En este primer capítulo se describen brevemente a modo de resumen, diferentes aspectos concernientes a la familia Simuliidae como son la taxonomía, la distribución, la morfología, la biología, el impacto en salud pública y sanidad animal y el control.

1.1. Taxonomía, distribución y antecedentes en España

1.1.1. Taxonomía

Los simúlidos son insectos pertenecientes al orden Diptera, infraorden Culicomorpha, superfamilia Simulioidea y familia Simuliidae. La primera descripción de este insecto corrió a cargo de Linnaeus situándolos dentro del género de mosquito *Culex* (1758 en Adler *et al.*, 2004). Posteriormente Latreille estableció el género *Simulium* en 1802 para incluir todas las especies conocidas hasta el momento. El nombre de la familia evolucionó desde el nombre original de “Simuliites”, taxón creado por Newman (1834), hasta el nombre final de “Simuliidae” por Dallas en 1869.

Los simúlidos se dividen en dos subfamilias, la primitiva Parasimuliinae que incluye 5 especies y la subfamilia Simuliinae que se divide a su vez en dos tribus: *Prosimuliini* y *Simuliini* (Alder y McCreadie, 2002). Actualmente están descritas 2.351 especies de simúlidos a nivel mundial, de las cuales 16 son registros fósiles (Adler y Crosskey, 2018). Cada año se describen nuevas especies dentro de esta familia; por ejemplo el último inventario antes citado, supone un incremento de 4 especies con respecto al anterior inventario de 2017 y de 32 especies con respecto al inventario de 2016 (Adler y Crosskey, 2016). Las más de 2.000 especies vivas descritas actualmente están repartidas en 26 géneros, siendo el género *Simulium* el más numeroso, integrando 1.919 especies (Adler y Crosskey, 2018). La región Paleártica es la región zoogeográfica con mayor número de especies (33%), seguidas de la región Oriental (17%), Neotropical (16%), Australasia (12%), Neártica (11%) y Afrotropical (11%) (Adler y Crosskey, 2017), aunque estos valores pueden oscilar por el descubrimiento continuo de nuevas especies en diversas regiones.

Los simúlidos son morfológicamente muy uniformes, lo que complica su identificación. La historia de la taxonomía de esta familia está marcada por una enorme cantidad de errores taxonómicos debidos a la extraordinaria similitud de muchas especies. Algunas identificaciones erróneas han sido serias, persistentes y prolongadas y aún tienen un potencial continuo de malentendidos (Adler y Crosskey, 2018). Fruto del esfuerzo taxonómico por solventar estos errores, es frecuente encontrarse en la literatura especies que han sido sinonimizadas. Esta complejidad taxonómica requiere de una aproximación holística, estudiando la morfología de cada uno de sus estadios y sexos, la citotaxonomía, la taxonomía molecular y prestando atención además a su distribución y ecología (Adler y McCreadie, 2002; Ruiz-Arrondo *et al.*, 2018). Esta investigación integrada, que conlleva una correcta identificación de las especies, tiene un impacto directo en los estudios ecológicos, estudios sobre la transmisión de patógenos y en los programas de control (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2018).



Otro problema añadido más a la taxonomía de la familia Simuliidae es que algunas especies aparentemente únicas (morfoespecie) son en realidad complejos de especies hermanas (*sibling species*) biológicamente separadas. Estas especies normalmente están definidas basándose en criterios cromosómicos (citotaxonomía) y son convenientemente llamadas citoespecies. En muchos complejos de especies, el estado de las especies que los forman no está determinado y aún carecen de una nomenclatura científica formal (Adler y Crosskey, 2018).

Existen más de 150 claves taxonómicas de simúlidos en todo el mundo (Adler y McCreadie, 2002). Muchas de estas claves, clasificadas por regiones zoogeográficas, están incluidas en el inventario mundial de Crosskey y Howard (1997). A nivel europeo están disponibles varias claves taxonómicas que incluyen las especies por países: Alemania (Seitz, 1998), la antigua Checoslovaquia (Knoz, 1965), Eslovaquia (Jedlička, 1996), España (González, 1997), Francia (Grenier, 1953), Dinamarca (Jensen, 1984), Italia (Rivosecchi, 1978a; Rivosecchi *et al.*, 2007), Reino Unido (Davies, 1968), Reino Unido e Irlanda (Bass, 1998), centro de Europa (Jedlička *et al.*, 2004), norte de Europa (Jensen, 1997; Rasstad *et al.*, 2010), centro y oeste de Europa (Lechthaler y Car, 2005). A nivel español también son fundamentales las claves de Belqat *et al.* (2004) sobre la fauna de simúlidos de Marruecos, las claves de especies del pirineo (Clergue-Gazeau, 1991) y las claves de Crosskey (1988b) sobre las especies de las Islas Canarias.

El estudio de los cromosomas politénicos gigantes (generalmente tres), que están mejor desarrollados en las glándulas de seda de las larvas, proporciona una herramienta muy útil para descubrir e identificar especies. Se han estudiado más de 500 especies de simúlidos usando la citotaxonomía (Adler y Crosskey, 2015). Los patrones a bandas de estos cromosomas revelan a menudo que muchos simúlidos considerados como especies únicas son en realidad complejos de dos o más especies. Estas especies crípticas, o especies hermanas, están reproductivamente aisladas y cada una es única biológicamente hablando (Adler y McCreadie, 2002). Su existencia tiene implicaciones en estudios biológicos y en los programas de control de manejo de especies plaga y vectores.

Además de la morfología y la citotaxonomía, existen otros métodos utilizados en la sistemática de la familia Simuliidae: el estudio de enzimas por electroforesis, los hidrocarburos cuticulares y los métodos moleculares. La aproximación molecular en el estudio de la sistemática de los simúlidos comenzó a utilizarse en los años 90 (Adler *et al.*, 2004) y se han empleado diferentes genes tanto nucleares: 28S rDNA, EF-1 alpha, DDC, PEPck, ECP1, así como mitocondriales: 12S rDNA, 16S rDNA, ND2, ND4 y COI entre otros (Phayahasena *et al.*, 2010; Hernández-Triana, 2011). El uso de los códigos de barras de la vida (DNA *barcoding*) basado en el gen mitocondrial citocromo oxidasa c subunidad I (COI) es el que más se está utilizando aunque en algunas ocasiones no tiene utilidad para separar ciertas especies (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2018).

En los últimos años se están intensificando los trabajos sobre la taxonomía integrada de Simuliidae en Europa, como lo demuestran las investigaciones de Day (2008), Day *et al.* (2008, 2010), Ilmonen *et al.* (2009), Kúdela *et al.* (2014, 2018), Adler *et al.* (2016) y Ruiz-Arrondo *et al.* (2018). El desconocimiento de la fauna española implica la necesidad de realizar un enfoque taxonómico integrado usando la combinación de los rasgos morfológicos, estudios de cromosomas y marcadores moleculares.



1.1.2. Distribución de especies en España

El primer inventario de la familia Simuliidae en la Península Ibérica es realizado por Gloria González y Roger Crosskey (Carles-Tolra, 2002). En este catálogo se enumeran 51 especies de simúlidos para España: 47 especies presentes en la España peninsular, 4 especies en las Islas Baleares y 7 en las Islas Canarias. En el mismo catálogo se detalla la presencia de 33 especies de Simuliidae en Portugal y 19 especies en Andorra. Adler y Crosskey (2018) realizan un inventario actualizado anual de los simúlidos del mundo, que comenzó con la publicación de Crosskey (1988a) hace 30 años. Actualmente, esta publicación anual sirve de referencia para conocer las especies de simúlidos presentes en España.

En la última década se han publicado en España una serie de trabajos de revisión donde se describe la distribución de las especies en el país. El primer trabajo en publicarse fue la *checklist* de Belqat y Garrido (2008) basada en la presencia de las especies por provincia. Posteriormente Ruiz-Arrondo *et al.* (2014a) mostraron en una serie de mapas la ubicación exacta de las diversas especies en España. La última *checklist* data de 2017 (López-Peña y Jiménez-Peydró, 2017c), también basada en la distribución de las especies según la provincia, incorporando además datos propios. Todos estos trabajos resultan incompletos por al no incluir referencias publicadas en congresos científicos, informes u otros formatos.

Según Adler y Crosskey (2018) actualmente en España, hay citadas 55 especies: 51 especies presentes en la España peninsular (algunas de ellas presentes en las Islas Canarias y en las Islas Baleares), 3 especies endémicas de las Islas Canarias y una especie que tan sólo está presente en las Islas Baleares (Tabla 1.1). La distribución y/o presencia de especies de simúlidos en España suele variar periódicamente por el registro de alguna nueva especie y por los estudios taxonómicos rigurosos que muestran la ausencia o presencia de ciertas especies. Por ejemplo, en el año 2014, se identificó por primera vez la presencia de la especie *S. urbanum* en España (Adler y Seitz, 2014); en el 2017 la presencia de la especie *S. velutinum* en la Europa continental fue sustituida por *S. rubzovianum* quedando *S. velutinum* circunscrita a las Islas Canarias y norte de África (Adler *et al.*, 2015; Adler y Crosskey, 2017); en el año 2017 se incorpora la especie *Simulium (Eusimulium) 'K'* Leonhardt, 1985 (especie innominada formalmente) a la lista de especies españolas (Adler y Crosskey, 2017).

Tabla 1.1. Lista de las especies presentes en España y su distribución en España peninsular, Islas Baleares e Islas Canarias, según Adler y Crosskey (2018)

Género	Subgénero	Especie	Inventario 2017
<i>Prosimulium</i>	<i>Prosimulium</i>	<i>hirtipes</i> (Fries, 1824)	España peninsular
		<i>latimucro</i> complejo (Enderlein, 1925)	España peninsular
		<i>rufipes</i> complejo (Meigen, 1830)	España peninsular
		<i>tomosvaryi</i> (Enderlein, 1921)	España peninsular
<i>Urosimulium</i>	<i>Urosimulium</i>	<i>aculeatum</i> (Rivosecchi, 1963)	Islas Baleares
		<i>faurei</i> (Bernard, Grenier & Bailly-Choumara, 1972)	España peninsular
<i>Greniera</i>	<i>Greniera</i>	<i>fabri</i> Doby & David, 1959	España peninsular
<i>Metacnephia</i>	<i>Metacnephia</i>	<i>blanci</i> (Grenier & Theodorides, 1953)	España peninsular
		<i>nuragica</i> Rivosecchi, Raastad & Contini, 1975	España peninsular



Tabla 1.1. (cont.) Lista de las especies presentes en España y su distribución en España peninsular, Islas Baleares e Islas Canarias, según Adler y Crosskey (2018)

Género	Subgénero	Especie	Inventario 2017	
Simulium	Boophthora	<i>erythrocephalum</i> (De Geer, 1776)	España peninsular	
		<i>angustipes</i> Edwards, 1915	España peninsular	
	Eusimulium	<i>aureum</i> Fries, 1824 ¹	España peninsular	
		<i>guimari</i> Becker, 1908	Islas Canarias	
		<i>petricolum</i> (Rivosecchi, 1963)	España peninsular	
		<i>rubzovianum</i> (Sherban, 1961)	España peninsular, Islas Baleares	
		'K' Leonhardt, 1985 (<i>aureum cytoform</i>) ²	España peninsular	
		<i>velutinum</i> (Santos Abreu, 1922)	Islas Canarias	
	Hellichiella	<i>latipes</i> (Meigen, 1804)	España peninsular	
		<i>angustitarse</i> (Lundström, 1911)	España peninsular	
		<i>ibleum</i> (Rivosecchi, 1966) ³	España peninsular	
		<i>lundstromi</i> (Enderlein, 1921)	España peninsular	
		<i>ruficorne</i> Macquart, 1838	España peninsular, Islas Canarias	
		Nevermannia	<i>armoricanum</i> Doby & David, 1961 ⁴	España peninsular
			<i>bertrandi</i> Grenier & Drier, 1959	España peninsular
			<i>brevidens</i> (Rubtsov, 1956)	España peninsular
			<i>carthusiense</i> Grenier & Drier, 1959	España peninsular
			<i>costatum</i> Friederichs, 1920	España peninsular
	<i>cryophilum</i> complejo (Rubtsov, 1959)		España peninsular, Islas Baleares	
Simulium	<i>naturale</i> Davies, 1966	España peninsular		
	<i>quasidecolletum</i> Crosskey, 1988	España peninsular		
	<i>vernum</i> complejo Macquart, 1826	España peninsular		
	<i>urbanum</i> Davies, 1966	España peninsular		
Rubzovia	<i>lamachi</i> Doby & David, 1960	España peninsular		
	<i>paraloutetense</i> Crosskey, 1988	Islas Canarias		
Simulium	<i>argenteostriatum</i> Strobl, 1898	España peninsular		
	<i>hispaniola</i> Grenier & Bertrand, 1954	España peninsular		
	<i>bezzii</i> complejo (Corti, 1914)	España peninsular		
	<i>intermedium</i> Roubaud, 1906	España peninsular, Islas Baleares, Islas Canarias		
	<i>ornatum</i> complejo Meigen, 1818	España peninsular		
	<i>trifasciatum</i> Curtis, 1839	España peninsular		
	<i>reptans</i> (Linnaeus, 1758)	España peninsular		
	<i>tuberosum</i> (Lundström, 1911) ⁵	España peninsular		
	<i>argyreatum</i> Meigen, 1838	España peninsular		
	<i>maximum</i> (Knoz, 1961)	España peninsular		
<i>monticola</i> Friederichs, 1920	España peninsular			
<i>variegatum</i> Meigen, 1818	España peninsular			
<i>urbanum</i> Davies, 1966	España peninsular			
<i>xanthinum</i> Edwards, 1933	España peninsular			



Tabla 1.1. (cont.) Lista de las especies presentes en España y su distribución en España peninsular, Islas Baleares e Islas Canarias, según Adler y Crosskey (2018)

Género	Subgénero	Especie	Inventario 2017
		<i>auricoma</i> Meigen, 1818	España peninsular
	<i>Trichodagmia</i>	<i>galloprovinciale</i> Giudicelli, 1963	España peninsular
		<i>ibericum</i> Crosskey & Santos Grácio, 1985	España peninsular
<i>Simulium</i>		<i>equinum</i> (Linnaeus, 1758)	España peninsular
		<i>lineatum</i> (Meigen, 1804)	España peninsular
	<i>Whilhelmia</i>	<i>pseudequinum</i> Séguy, 1921	España peninsular, Islas Canarias
		<i>quadrifila</i> Grenier, Faure & Laurent, 1957	España peninsular
		<i>sergenti</i> Edwards, 1923	España peninsular

¹ *Simulium aureum* sensu stricto ha sido confirmado por citotaxonomía en España (Adler y Crosskey, 2018 y Adler, comunicación personal).

² Esta especie incluida en el grupo de *S. aureum* es una especie innominada formalmente (Adler y Crosskey, 2018 y Adler, comunicación personal).

³ Según Adler y Crosskey (2018) y Adler (comunicación personal) la presencia de esta especie en España debe confirmarse, podría haberse confundido previamente como *Simulium (Nevermannia) angustitarse* (Lundström, 1911).

⁴ Según Adler y Crosskey (2018) y Adler (comunicación personal) la presencia de esta especie en España debe confirmarse, porque podría ser la misma especie que *Simulium (Nevermannia) florum* (Djafarov, 1954).

⁵ Según Adler y Crosskey (2018) y Adler (comunicación personal) la presencia de esta especie en España está en duda y debe confirmarse.

La identificación morfológica de adultos de simúlidos no se ha realizado con mucha frecuencia en nuestro país, a excepción de los trabajos de González (1990) (en los que en algunos casos usaba la genitalia de pupas maduras), siendo más habitual hoy en día la identificación de las formas preimaginales (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2017a). En la actualidad hay cuencas hidrográficas poco estudiadas en nuestro país (González, 1990) y estos dos hechos, junto con la necesaria revisión de la taxonomía de varios de los complejos de especies utilizando técnicas moleculares y citotaxonomías seguramente deparen cambios en la distribución de este grupo en España (González, 1990; Ruiz-Arrondo *et al.*, 2018).

1.1.3. El estudio de los simúlidos en España

Los simúlidos o moscas negras se han estudiado históricamente en España desde un punto de vista limnológico, como integrantes de los ecosistemas lóticos (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2014b). La mayoría de estudios de este grupo en el país abordan la distribución de especies en diferentes cuencas y el estudio de parámetros ambientales y físico-químicos de los ambientes acuáticos de desarrollo de las formas preimaginales.

La primera cita de una especie de este grupo en España corresponde a Antiga (1888), que identifica por primera vez en 1888, la especie *S. latipes* en Cataluña (identificado como *S. vernum* según González (1990)). Strobl (1900, 1905) y Czerny y Strobl (1909) durante el primer cuarto del siglo XX, registran las siguientes especies: *S. fuscipes*, *S. hirtipes*, *S. maculatum*, *S. ornatum* y *S. reptans*. Posteriormente Seguy (1925) describe una nueva especie *S. ariasi*, que posteriormente se sinonimizará como *S. sergenti*, e igualmente identifica *S. pusillum* (sinonimizado con *S. cryophilum* (González, 1990)). En 1933, Edwards (1933) recoge ejemplares de una nueva especie, *S. xanthinum*, en Algeciras y registra también la especie *S. bezzii*.



Tras 20 años de falta de estudios sobre el grupo (González, 1990), los siguientes trabajos son realizados por Grenier y Bertrand (1954), incrementando el número de especies citadas hasta un total de 18, con 12 nuevos registros para España. Unos años después Grenier y Dorier (1958, 1959) citan por primera vez *S. bertrandi* y *S. carthusiense* y posteriormente Carlsson (1969) y sobre todo Beucaournu-Saguez, (1975a, b) aumentan hasta 11 el número de especies citadas.

En la década de los 80, son ya autores españoles quienes comienzan a estudiar la fauna macrobentónica de Cataluña y Andorra (González, 1980, 1981, 1985; Prat *et al.*, 1983, 1985; Palau y Palomes *et al.*, 1986; Puig *et al.*, 1987) y otras regiones (Puig *et al.*, 1984; González *et al.*, 1986, 1987). A su vez, Crosskey y Gracio (1985) describen una nueva especie, *S. ibericum*, para la Península Ibérica y citan por primera vez *S. galloprovinciale* en España.

En 1990, se publica la tesis doctoral de Gloria González (1990), siendo este documento, sin lugar a dudas, el principal trabajo sobre el grupo Simuliidae en España hasta la fecha. En él identifica 38 especies en diversas cuencas hidrográficas españolas con varios registros nacionales, y supuso el punto de partida para la posterior publicación de las únicas claves taxonómicas sobre este grupo que existen, hasta la fecha, en nuestro país (González, 1997).

En años posteriores, Casado *et al.* (1990) contribuyen al estudio de los simúlidos del río Lozoya en Madrid y Clergue-Gazeau y Vinçon (1990) y Vinçon y Clergue-Gazeau (1993) citan por primera vez *S. lamachi* y *S. costatum* y amplían el conocimiento de la simulidofauna en la Península Ibérica.

Los diferentes viajes de Crosskey por España (Davies, 2018) posibilitaron que este autor pudiera estudiar en profundidad la fauna de simúlidos de los dos archipiélagos españoles, describiendo dos nuevas especies endémicas de Canarias: *S. paraloutetense* y *S. tenerificum* (sinonimizado posteriormente como *Simulium guimari* (Adler y Crosskey, 2018)) (Crosskey, 1988b; Crosskey *et al.*, 1998; Crosskey y Baez, 2004) y citando como nuevo registro para España la especie *P. aculeatum* (ahora *Urosimulium aculeatum* (Adler y Crosskey, 2018)) en Mallorca (Crosskey, 1991) y *Greniera fabri* para la Península Ibérica (Crosskey y Howard, 1997). Además este autor amplió considerablemente el conocimiento de la fauna de simúlidos de Andalucía (Crosskey y Crosskey, 2000).

Otras importantes contribuciones al estudio de este grupo en el sur de España son la tesis de licenciatura realizada por Martínez Ruiz (1996) sobre los simúlidos de Extremadura y el posterior estudio faunístico del sureste de España (Martínez Ruiz y Portillo, 1999). Esta misma autora aporta nueva información en su estudio sobre la fauna del río Cidacos en La Rioja (Rubio y Martínez Ruiz, 1999).

En la misma época Bonada *et al.* (2000) realizan un estudio sobre los macroinvertebrados acuáticos en varias localidades de la cuenca de la Riera de Sant Cugat (Barcelona), en los que citan la presencia de varias especies de simúlidos. Por su parte Sanz *et al.* (2000) realizan la primera observación de *S. pseudequinum* en Los Monegros (Aragón). Mientras, Gallardo-Mayenco y Toja (2002) estudiaron las poblaciones de simúlidos en los ríos Guadaira y Guadalete de las provincias de Sevilla y Cádiz.

En los últimos años y en la actualidad se siguen publicando estudios faunísticos sobre la familia Simuliidae en varias regiones de España como Aragón (Villanúa, 2003; Ruiz-Arrondo *et al.*, 2009, 2016a, 2018; Villanúa *et al.*, 2013), Galicia (Lestón *et al.*, 2014a), Albacete (Rueda *et al.*, 2003),



Jaén (Ricoy-Llavero, 2015), Cádiz (Belqat y Mayenco-Gallardo, 2016), Madrid (Álvarez *et al.*, 2016; Soriano *et al.*, 2019) y sobre todo en la Comunidad Valenciana, donde hay que destacar la tesis de Lestón (2012) en el río Serpis de la que posteriormente se publicaron dos trabajos (Lestón *et al.*, 2013, 2014b). Otros cursos de agua donde se ha estudiado la familia Simuliidae en esta comunidad autónoma son los ríos Ebo y Xaló (Zamora *et al.*, 2004), el río Cabriel (Rueda *et al.*, 2005), el río Mijares (López-Peña y Jiménez-Peydró, 2016a), el río Turia (Bueno-Marí *et al.*, 2013b) y el río Júcar (Córdoba-Lloria *et al.*, 2017; López-Peña y Jiménez-Peydró, 2017a, b). Además se han publicado trabajos en el conjunto de varios ríos valencianos (López-Peña y Jiménez-Peydró, 2016b, c, d).

Dejando de lado estrictamente los estudios faunísticos sobre Simuliidae, el primer trabajo que incrimina a este grupo como causante de molestias en España son las observaciones realizadas por Gallego *et al.* (1994). A pesar de la aparición paulatina de problemas causados por alguna especie de este insecto plaga a partir del año 2000 (ver Apartado 4.1.4) y la consiguiente creación e instauración de diversos programas de control, no hay trabajos relacionados sobre el impacto sanitario de este grupo hasta años más tarde (Giménez *et al.*, 2007; Figueras *et al.*, 2011; Ruiz-Arrondo *et al.*, 2012, 2014b, 2015, 2016b, 2017a; Sánchez-López *et al.*, 2017a, b). Simultáneamente, comienzan a aparecer trabajos sobre el control de simúlidos en diversas regiones españolas (Rovira *et al.*, 2007; Ruiz-Arrondo *et al.* 2009, 2011, 2017b; Trujillo y Escosa, 2009; Soriano, 2009; Obregón *et al.*, 2016a, 2016b, 2017; Córdoba-Lloria *et al.*, 2017) (ver Apartado 1.6.5).

1.2. Morfología

Los simúlidos presentan metamorfosis completa, también denominada holometábola. Su ciclo biológico comprende las fases de huevo, larva, pupa (todas estrictamente ligadas al medio acuático) y adulto (aéreo). La estructura de los estadios preimaginales de los simúlidos está adaptada para vivir en ambientes lóticos (aguas corrientes). A lo largo de este apartado se va a describir la anatomía de los diferentes estadios que se suceden en el ciclo biológico de este insecto.

1.2.1. Huevo

Los huevos de los simúlidos son bastante homogéneos entre las familias no siendo muy útiles para distinguir las diferentes especies como ocurre con el resto de sus etapas vitales. Son ovalados si se observan desde una vista dorsal, pero con aspecto subtriangular desde una vista lateral (Adler *et al.*, 2004). El color de los huevos depende de la edad, cambiando del característico blanco de los huevos recién ovopositados al marrón tras la eclosión de la larva. El tamaño de los mismos puede variar según las especies. Los huevos más grandes son puestos por las especies autógenas en el norte, que llegan a alcanzar más de 0,5 mm de longitud: aunque el tamaño medio oscila entre 0,15 y 0,55 mm (Adler, 2005).

El huevo presenta un exocorion homólogo con el de los mosquitos (Williams, 1974). Esta matriz gelatinosa consiste en una membrana adhesiva y despigmentada de varias capas. La doble laminilla exterior del exocorion tiene filamentos espaciados regularmente que probablemente incrementan la adherencia al substrato por el aumento de superficie adhesiva (Williams, 1974; Goldie, 1982). El exocorion podría servir como alimento de la larva recién eclosionada ya que

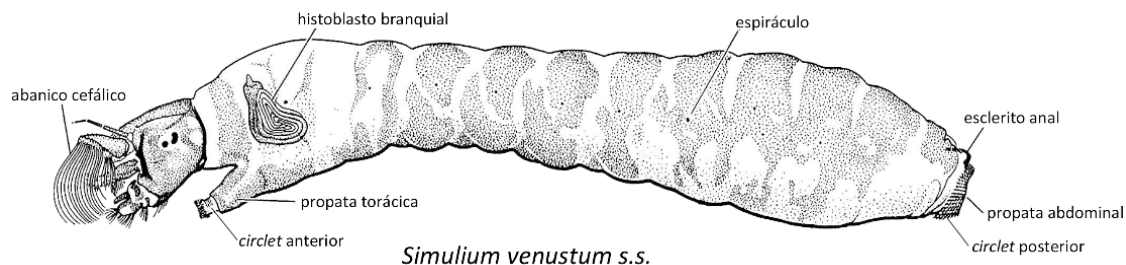


está constituido probablemente por ácido mucopolisacárido con bacterias y protozoos embebidos en éste. Debajo de la laminilla exterior del exocorion hay tres láminas uniformes y una posible capa cerosa separando el exocorion sin resaltes salvo una pequeña abolladura y el área micropilar en el extremo romo del huevo (Goldie, 1982; Adler y Kim, 1986). No todas las especies de simúlidos presentan esta área micropilar, lo que indica que posiblemente el esperma entre en el huevo a través de la actividad enzimática (Williams en Crosskey, 1990).

1.2.2. Larva

Las larvas poseen una forma cilíndrica con una cápsula cefálica (cabeza) esclerotizada muy definida y reconocible sobre el resto del cuerpo (tórax y abdomen), donde se observan dos engrosamientos a nivel del tórax y hacia el final del abdomen (Figura 1.1.). Esta forma podría permitir una eficiente alimentación por filtrado (Eymann, 1991a). Las larvas tienen una serie de rasgos que las hacen fácilmente reconocibles dentro del ecosistema lótico: un par de abanicos cefálicos o labrales en la cabeza, y un par de “propatas” (*proleg*), una en el tórax y la otra a modo de órgano de fijación en el extremo posterior del abdomen (Crosskey, 1990). El primero de los órganos tiene una función de captación del alimento mientras que las propatas participan en la locomoción y fijación de la larva a los substratos. Estas estructuras han permanecido invariables al menos en los últimos 120 millones de años, tal como indican los fósiles de larvas de simúlidos del Bajo Cretácico hallados en Australia (Jell y Duncan, 1986). Aquellos géneros (*Gymnopais* y *Twinnia*) que carecen de abanicos labrales, mantiene el mismo diseño corporal que las especies filtradoras, adaptando ciertas estructuras para permitir la flexibilidad necesaria para su alimentación a través del raspado de la materia orgánica de los substratos (Currie y Craig, 1988).

Figura 1.1. Vista lateral de una larva de simúlido (Adler *et al.*, 2004)



Las larvas poseen un tamaño variable según las especies y el estadio larvario en el que se encuentren, oscilando las larvas maduras de la mayoría de las especies entre 5,5 y 9,5 mm. Las larvas pueden presentar una amplia gama de pigmentaciones incluso dentro de una misma especie. El color puede variar desde el amarillo al crema, marrón, gris, rojizo e incluso negro.

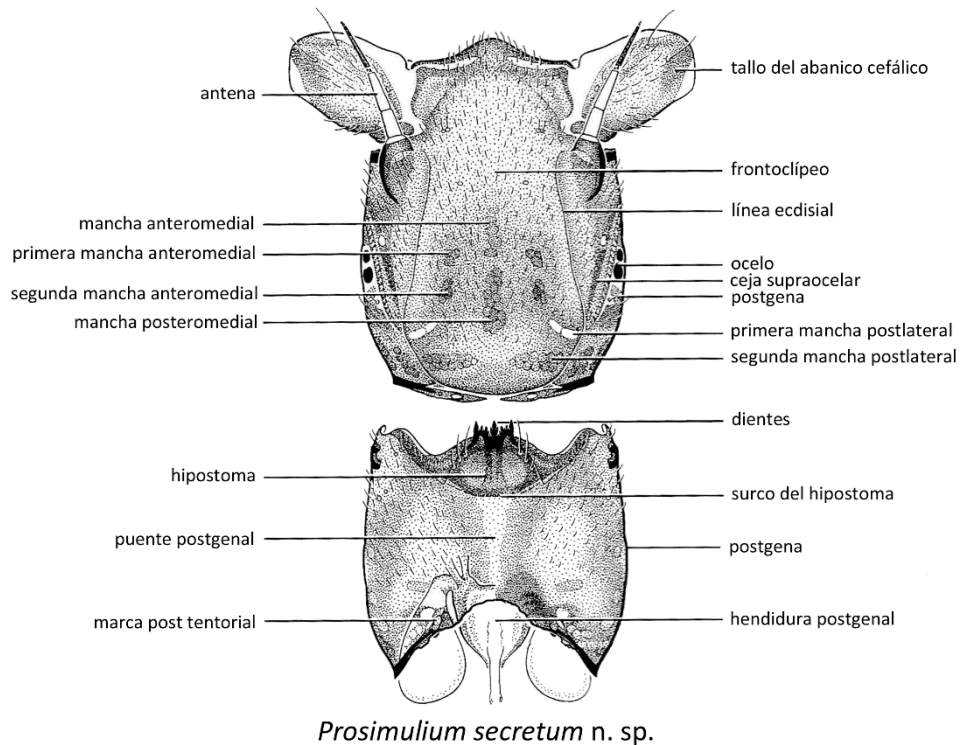
1.2.2.1. Cabeza

La cabeza o cápsula cefálica de la larva es una estructura que aporta una información importante a nivel taxonómico. La forma y proporciones de la cápsula cefálica y sus apéndices son notablemente diferentes entre las especies.

En el dorso de la cabeza encontramos el frontoclípeo apotoma, que posee un patrón de pigmentación que engloba varias manchas: el grupo anteromedial, el grupo posteromedial y un par de grupos anterolaterales y posterolaterales (Figura 1.2). El patrón de estas manchas varía

entre las distintas especies. El frontoclípeo ocupa la parte central dorsal de la cápsula cefálica, estando delimitado por la línea ecdisial, en forma de U.

Figura 1.2. Vista dorsal y ventral de la cápsula cefálica de una larva de simúlido (Adler *et al.*, 2004)



Las antenas, dispuestas lateralmente en el dorso de la cabeza, están formadas por tres artejos: proximal, medial y distal. Los artejos proximal y distal poseen varias sensilas con función quimiorreceptora (Craig y Batz, 1982). La longitud de las antenas está inversamente relacionada con la velocidad del agua donde habitan; las antenas más largas las encontramos en las especies que habitan aguas lentas y las más cortas en cursos de agua rápida (Adler *et al.*, 2004).

Las caras ventral y laterales, alcanzando la línea ecdisial del dorso de la cápsula cefálica, están ocupadas por la postgena. En la parte lateral encontramos los *ojos*, compuestos por tres ocelos cada uno, estando rodeados en su parte posterior por la ceja supraocelar. Estos ocelos son capaces de captar la variación de la intensidad lumínica además de ayudar en la orientación espacial de la larva (Adler *et al.*, 2004). En la cara ventral encontramos dos estructuras muy importantes desde el punto de vista taxonómico: el hipostoma y la hendidura postgenal.

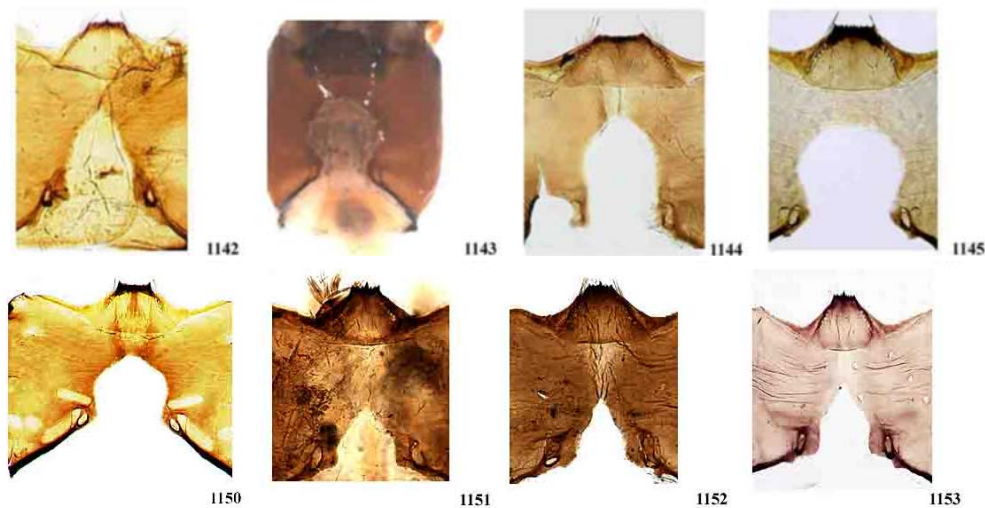
El hipostoma es una lámina con forma trapezoidal, dentada en su parte anterior. Ligeramente cóncava. Su base posterior, ancha, se funde rígidamente a la postgena (Crosskey, 1990). La variación en el tamaño y forma de los diferentes dientes (fuertemente esclerotizados) que conforman la parte anterior del hipostoma, proporcionan una gran ayuda en la identificación morfológica de las especies (Currie y Walker, 1992). La función del hipostoma sea probablemente la de cortar la seda cuando pasa entre los dientes (Craig, 1977).

La hendidura postgenal es un área despigmentada en el margen posterior ventral de la cabeza. Está delimitada por la marca post tentorial en su parte anterior. La variación en la profundidad y forma de la hendidura postgenal (Figura 1.3) es un carácter taxonómico utilizado en numerosas



claves taxonómicas. Esta estructura confiere flexibilidad a la cabeza además de aguantar la fuerza del paso del agua en la filtración de los abanicos labrales (Currie, 1988).

Figura 1.3. Distintos patrones de la hendidura postgenal en varias especies (Hernández-Triana, 2011)



1.2.2.2. Aparato bucal

El aparato bucal de la larva, a través del cual se alimenta, está constituido normalmente por ocho estructuras: el labro, el par de abanicos cefálicos, un par de mandíbulas y de maxilas y el *labiohypopharynx* (aunque esta última tenga la función de dirigir la seda que se forma en la glándula de la seda).

Cada abanico cefálico o labral, estructura encargada de la alimentación por filtración de la larva, está formado a su vez por tres conjuntos de radios primarios, secundarios y medianos. Además existe un cuarto tipo de radio, los *scale-fan* (Crosskey, 1990). En el margen interno de cada radio (primarios y secundarios) hay una fila de *microtrichia* (proceso cuticular que se asemeja a setas) que varía en tamaño y número entre las especies (Guttman, 1967). Los radios primarios son los responsables de la mayor parte de la filtración.

Las mandíbulas están situadas en la parte media lateral del margen anterior de la cabeza. Son órganos con una estructura compleja compuesta por numerosos dientes (dientes mandibulares), “cepillos” y “cerdas” que actúan de una forma muy polivalente. Su función principal es la de limpiar los abanicos cefálicos del material adquirido por éstos, trasladando el alimento al cibario (*cibarium*). Otras funciones son sujetar la línea de la seda, ayudar a cortar la seda extruida, y también sirven para raspar los sustratos, especialmente en las especies que carecen de abanicos cefálicos.

Las maxilas se encuentran lateralmente en una posición oblicua por debajo de las mandíbulas y por encima del hipostoma. Su estructura es igual en todas las larvas. Cada maxila está formada por cinco “cepillos” y un palpo maxilar con 12 sensilas apicales de seis clases diferentes (Alder *et al.*, 2004). Su función podría ser la de analizar el sustrato o las sustancias disueltas en el agua (Craig, 1977).

El *labiohypopharynx* es una estructura compleja que se suspende centralmente en la parte inferior de la cabeza por debajo y ligeramente entre los maxilares y encima del hipostoma. Está

formado por varios escleritos, sensilas y setas. Su función es ayudar a limpiar los cepillos mandibulares (Currie y Craig, 1988) y también permite la extrusión de la seda a partir de la apertura de las glándulas de la seda (Adler, *et al.*, 2004).

El labro o *labrum* es un hueco semicircular o subtriangular que sobresale en la entrada del cibario. Se encuentra debajo de los abanicos cefálicos, unidos débilmente al frontoclípeo apotoma. La larva utiliza esta estructura como un rascador para limpiar el sustrato (Crosskey, 1990).

1.2.2.3. Tórax y abdomen

El tórax y abdomen de la larva tienen forma cilíndrica y están divididos en tres segmentos torácicos y nueve abdominales (Figura 1.1). La forma del tórax se mantiene uniforme entre los diversos grupos. Mientras que los cinco últimos segmentos abdominales pueden presentar dos formas distintivas. La primera y más común presenta el abdomen expandido abruptamente a partir del quinto segmento y encogido en el octavo. Esta forma es común en las especies sin abanicos labrales pues les confiere más flexibilidad para raspar los sustratos (Currie y Craig, 1988). En la segunda opción, el abdomen se expande gradualmente hacia la parte terminal, y es más común en especies de cursos rápidos, permitiendo a la larva erguirse para realizar el filtrado (Eymann, 1991b).

La cutícula del tórax y abdomen es fina, despigmentada y presenta nueve pares de espiráculos no funcionales observables como anillos oscuros. Debajo de la cutícula hay cromatocitos que contienen gránulos pigmentarios que confieren patrones de diferentes colores de importancia taxonómica. Aunque esta variación también se produce en función del sexo, dieta, entorno y exposición a la radiación ultravioleta (Zettler *et al.*, 1998).

El tórax posee seis histoblastos en cada lateral. El más destacado es en el que se desarrollan los filamentos respiratorios de la pupa. Estos filamentos adquieren un color oscuro en el último estadio larvario, indicando la madurez de la larva. Los otros cinco histoblastos son los que darán lugar a las patas, alas y halterios del adulto. Otra estructura destacada en el tórax es la propata torácica que en su extremo posee un anillo de ganchos (*circlet* anterior) que la larva usa para tirar o sostener el hilo de seda o agarrar la almohadilla de seda situada sobre el sustrato.

En el abdomen encontramos también una propata (propata posterior o abdominal) que aparece como proyección terminal del abdomen (Figura 1.1). Su función es la de anclar la larva a su almohadilla de seda (Adler *et al.*, 2004). Está formada por un anillo de pequeños ganchos dispuestos en filas (*circlet* posterior). En posición anterior al anillo de ganchos se sitúa el esclerito anal, normalmente con forma de X. Su función es anclar la musculatura de la propata (Barr, 1984). El “ano” está situado dorsalmente, anterior al esclerito anal. Otra estructura a destacar en el último segmento abdominal es la papila rectal, despigmentada y eversible con función de osmorregulación (Komnick, 1977). La papila anal está formada por una base con tres lóbulos compuestos que a su vez se subdividen en otros más pequeños o bien en tres lóbulos simples.

1.2.3. Pupa

La pupa constituye el estadio más utilizado en la identificación taxonómica de los simúlidos. Los rasgos de la pupa que mayor valor taxonómico tienen son las branquias (conocidos más

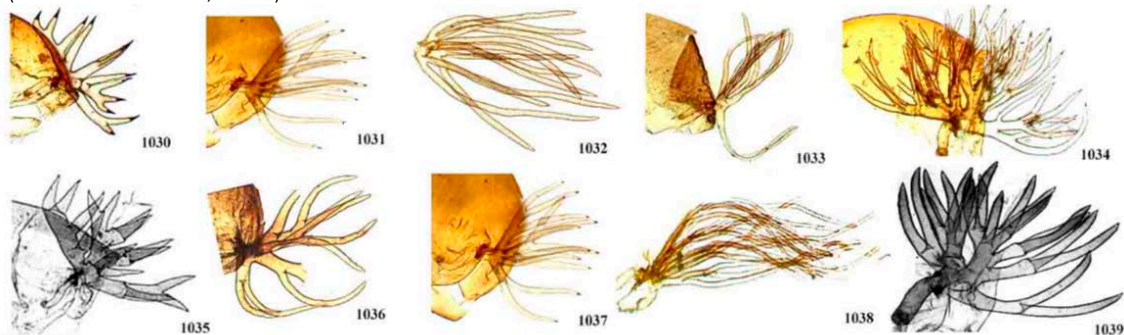


comúnmente como filamentos respiratorios en castellano), la superficie de la pupa, la cutícula de la pupa y la cubierta pupal o *cocoon*. La forma del cuerpo de la pupa es uniforme en todos los simúlidos. En la pupa se pueden distinguir las estructuras que posteriormente conformarán el cuerpo del adulto como las vainas de las patas, los ojos, el abdomen, etc.

Cuando se observa a simple vista una pupa, las estructuras más reconocibles son la cubierta pupal y las branquias o filamentos respiratorios.

El *cocoon* es la estructura que recubre a la pupa en su desarrollo hasta el adulto. Está formado por la seda que producen las larvas, y es variable en forma, complejidad, grosor, densidad y color (Adler *et al.*, 2004). La pupa está adherida firmemente al *cocoon* por varios juegos de ganchos dirigidos anteriormente. El *cocoon* se puede dividir en dos grandes grupos: el primero integra a todas las especies que poseen un *cocoon* a modo de saco sin una forma definida cubriendo toda o parte de la pupa y a veces las branquias (ej: *Greniera*, *Cnephia*, etc.); mientras que en el segundo grupo se integran las especies que desarrollan un *cocoon* con una estructura muy bien definida (forma de zapatilla), con un tejido fino que da una apariencia menos tosca que en el grupo anterior (ej: *Metacnephia*, *Simulium*, etc.). El *cocoon* varía entre las especies adoptando diversas formas con proyecciones y refuerzos, presencia de ventanas y diferentes densidades en la textura. Estas variaciones en su estructura junto los filamentos respiratorios permiten la identificación taxonómica de numerosas especies (Figura 1.4).

Figura 1.4. Diferencias en la morfología de los filamentos respiratorios de varias especies de simúlidos (Hernández-Triana, 2011)



Los filamentos respiratorios son la estructura más reconocible de la pupa y la más diversa dentro de la familia Simuliidae (Adler *et al.*, 2004). Surgen desde el tórax de la pupa hacia la apertura de la cubierta pupal. Estas estructuras varían en grosor, disposición y número de filamentos, desde 2 filamentos gruesos a más de 100 filamentos más delgados (Alder y McCreadie, 2002). Los filamentos respiratorios son capaces de extraer el oxígeno dentro y fuera del agua, en el caso de que la pupa se quede seca cuando baje el nivel del agua.

1.2.4. Adulto

Los imagos de los simúlidos se caracterizan por un cuerpo compacto y robusto que les da el aspecto de moscas de pequeño tamaño (entre 1,2 y 6 mm) (Crosskey, 1990). Poseen un tórax abombado, alas grandes (1,4-6 mm), con la vena costal engrosada, antenas cónicas cortas y patas cortas si las comparamos con otros dípteros nematóceros como los mosquitos y las típulas. La mayoría de las especies son de color oscuro, con tonalidades negras, grises y marrones; aunque también poseen áreas con tonos más vivos como el amarillo y naranja o un aspecto plateado o dorado, debido al color de las setas.

El tamaño puede oscilar entre individuos de la misma especie según la época del año en que se desarrollen. Los ejemplares que se desarrollan durante el invierno suelen tener un tamaño mayor que los ejemplares emergidos posteriormente durante el verano (Neveu, 1973).

Los ojos son redondeados y presentan un acusado dimorfismo sexual (González, 1990). Los machos presentan ojos holópticos, muy desarrollados entrando en contacto en la línea media; al contrario que las hembras (dicópticas) que poseen ojos más pequeños con espacio entre ambos a modo de frente. Los machos poseen ojos con dos tipos de facetas, dorsales y ventrales, mientras que las hembras sólo poseen facetas ventrales (Adler y McCreadie, 2002).

Las piezas bucales surgen ventralmente desde la cabeza. Los palpos maxilares, largos y destacados, se sitúan cerca de la base de la probóscide. El labio forma parte del segmento trasero de la probóscide y abraza otras piezas bucales, incluyendo las mandíbulas serradas y las maxilas dentadas, con un par de largos y carnosos lóbulos que integran el labro. La armadura bucal del macho y de las hembras autógenas es similar a la de las hembras anautógenas, pero las mandíbulas, maxilas y el labro están reducidos y carecen de dentículos ya que no están adaptados para ingerir sangre. Las antenas son cortas, con forma de finos conos invertidos, formadas por un número de artejos entre 9 y 12 (González, 1990).

El tórax tiene una forma dorsalmente convexa, especialmente en los machos debido al gran desarrollo del escudo o mesonoto, cuyo patrón de coloración tiene importancia taxonómica (Figura 1.5), sobre todo en el género *Simulium* (Adler *et al.*, 2004). Aunque en algunas ocasiones, su observación es difícil ya que depende de la posición del ejemplar respecto a la luz incidente (González, 1990).

Figura 1.5. Diferencias en el patrón de coloración del mesonoto de varias especies (Hernández-Triana, 2011)



El escutelo es normalmente subtriangular y presenta una gran abundancia de setas, mientras que el postescutelo o *postnotum* es típicamente bulboso y carente de pelo en las especies neárticas (Adler *et al.*, 2004). Lateralmente, el tórax está formado principalmente por el esclerotizado mesotórax. Además, en esta visión lateral también se encuentra el protórax con el *proepisternum* y el metatórax que proporciona un pequeño *metapleuron*. Dentro de estas estructuras se aprecian los espiráculos y una serie de escleritos entre los que destacan por su importancia en taxonomía, el sulco mesoepisternal y la membrana pleural (González, 1990).



El robusto tórax alberga un par de alas transparentes y grandes (6-10 mm) en comparación con el tamaño del resto del cuerpo. La venación está poco marcada salvo en las venas costal, subcostal y radial.

Las patas, especialmente la de las hembras, proporcionan una abundante, aunque débil fuente de información filogenética y taxonómica. El significado de las variaciones en las estructuras y patrón de coloración en las especies ha sido poco estudiado, aunque todo apunta a que está relacionado con el acicalamiento y la comunicación sexual (Adler *et al.*, 2004). Las patas constan de un par de artejos cortos en contacto con el tórax, la coxa (corto y subcónico) y el trocánter (pequeño) y dos artejos más desarrollados, el fémur y la tibia (alargada, cilíndrica o aplanada y engrosada distalmente, especialmente en las patas traseras). Le siguen cinco artejos tarsales, el primero denominado basitarso, de mayor longitud seguido de cuatro tarsómeros (numerados de I a IV). En la parte distal del basitarso y el tarsómero I se encuentran dos formaciones, el pedisulco y la calcipala respectivamente (González, 1990). En la parte más distal de la pata se encuentra el *acropod*, que posee un par de uñas y un ensamblaje donde se fijan las mismas. Las uñas de las hembras revelan gran información biológica y taxonómica (Adler *et al.*, 2004). Las uñas (*tarsal claws*) varían dependiendo de los hábitos de alimentación sanguínea. Las especies mamófilas pueden poseer uñas simples, estar carentes de ellas o bien tener un pequeño diente en la base de cada uña. Mientras que las especies ornitófilas tienen un lóbulo grande en la base de cada uña (Adler y McCreddie, 2002).

El abdomen está débilmente esclerotizado excepto la genitalia, que tiene una gran importancia en la identificación taxonómica de las especies. El abdomen consta de 11 segmentos, el primero de los cuales está reducido a un corto anillo del que emerge una franja de pelos finos largos. La genitalia de ambos sexos se encuentra en la parte final del abdomen (González, 1990).

En las hembras comienza en el octavo segmento. El esternito del octavo segmento está modificado posteriormente formando el par de lóbulos de ovoposición (gonapófisis) que constituyen el ovopositor funcional. En el noveno segmento del abdomen se encuentra la furca genital, estructura quitinizada en forma de Y, con gran valor taxonómico (Figura 1.6). El décimo segmento consiste en un par de lóbulos anales, generalmente separados en todos los géneros salvo en *Parasimulium* (Currie, 1988). Posterior a estos lóbulos, se encuentra los cercos. Dentro de la estructura interna de la genitalia, hay que destacar la espermateca, una estructura única que tiene la función de almacenar el esperma y que consiste en un saco ovalado esclerotizado y pigmentado al que está conectado el conducto espermático. La forma, el grado de esclerotización y su superficie interna y externa son caracteres morfológicos muy útiles en la taxonomía (Adler *et al.*, 2004).

La genitalia de los machos ocupa el décimo y undécimo segmentos. Los cercos están muy reducidos. La genitalia tiene una importancia vital en la taxonomía y filogenética de la familia (Adler *et al.*, 2004). Está compuesta por los gonópodos (gonocoxito + gonoestilo) y el edeago o *aedeagus* con sus parámetros asociados (Figura 1.7). El gonocoxito más basal y el gonoestilo distal constituyen el par de apéndices segmentados. Los primeros son estructuras subcónicas engrosadas, mientras que el gonostilo constituye la terminación del apéndice con una gran variabilidad en la forma y espinas apicales según las especies. El *aedeagus* es una estructura muscular tubular con dos o tres escleritos asociados a sus paredes. Las estructuras que forman



parte del *aedeagus* tienen un gran valor taxonómico, destacando la lámina ventral, el esclerito medio y los dos parámetros (Adler *et al.*, 2004).

Figura 1.6. Genitalia de la hembra (Adler *et al.*, 2004)

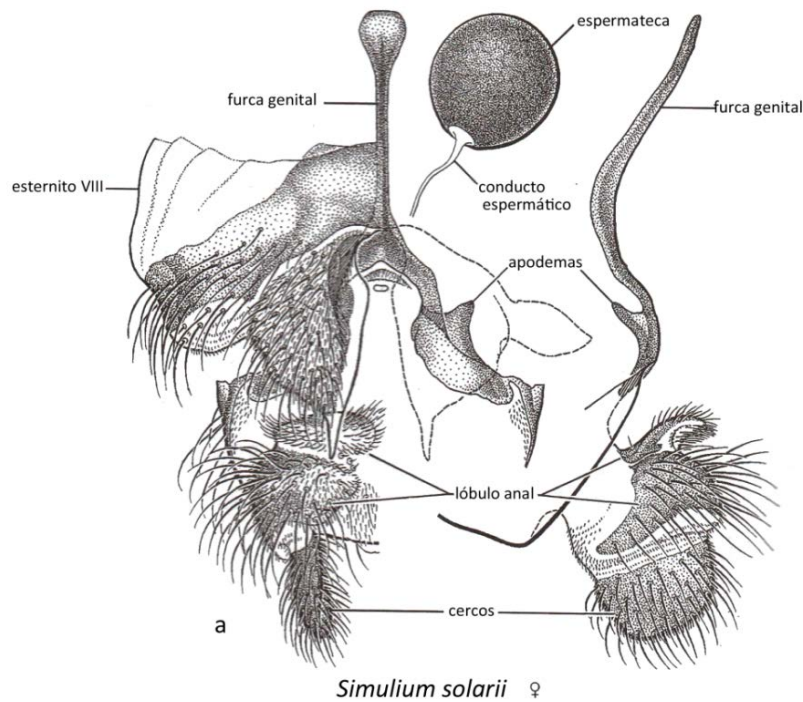
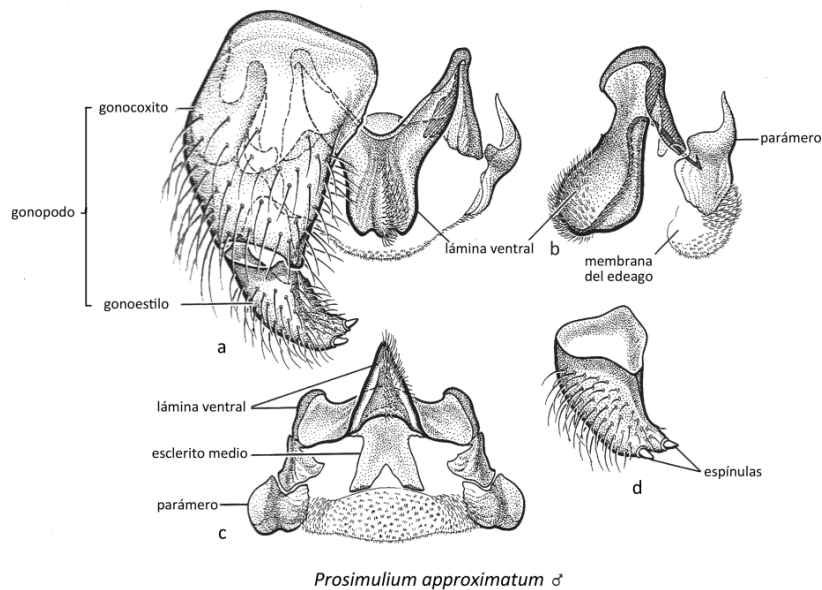


Figura 1.7. Genitalia del macho (Adler *et al.*, 2004)

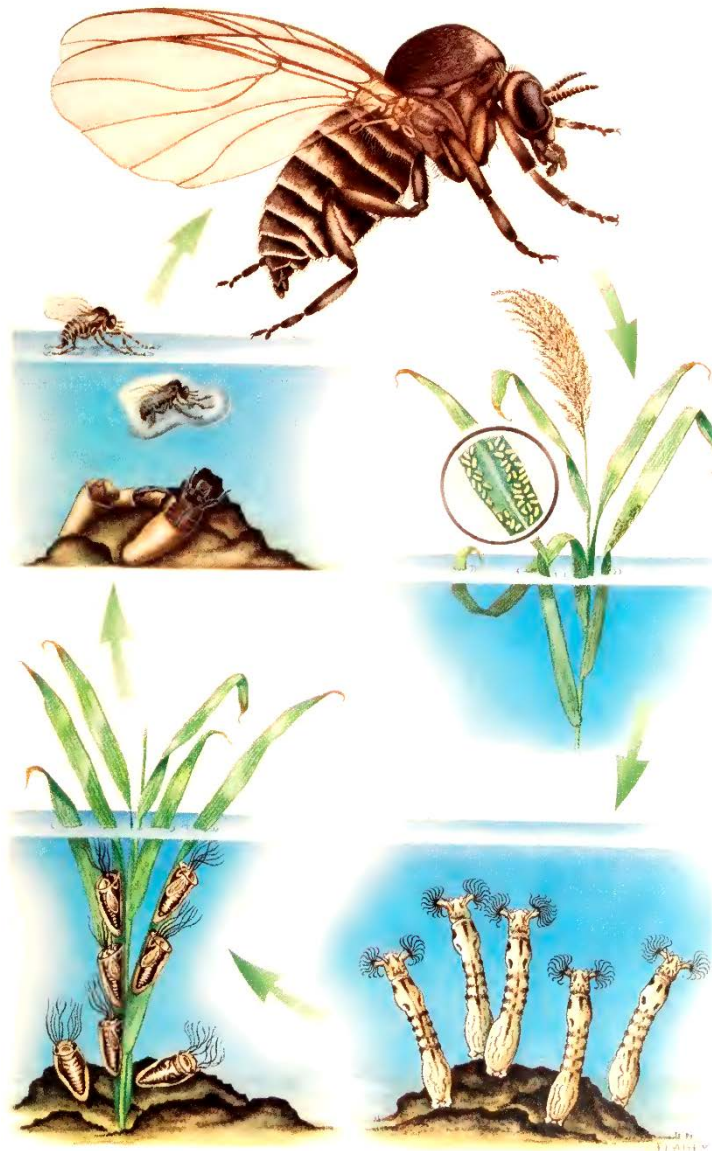


1.3. Biología

El ciclo de vida de los simúlidos presenta dos fases muy diferenciadas que transcurren en dos medios diferentes (Figura 1.8). Por un lado los huevos, las larvas y las pupas viven en el medio acuático, y por otro los adultos habitan en el medio terrestre (González, 1990). Crosskey (1990) explica con sumo detalle los diferentes aspectos que integran tanto la vida acuática como aérea de los simúlidos.



Figura 1.8. Ciclo biológico de los simúlidos (Wood, 1985)



1.3.1. Biología de formas preimaginales

Los estadios inmaduros de los simúlidos pueden encontrarse en prácticamente cualquier curso de agua corriente (hábitats lóticos), desde pequeños torrentes de agua a grandes ríos. En este apartado se detalla cada una de las fases que comprenden el ciclo biológico de las formas preimaginales, así como sus hábitats y la alimentación larvaria.

1.3.1.1. Movimiento y fijación a los sustratos

Las larvas de simúlido viven sometidas a una corriente continua en los ambientes lóticos y pasan la mayor parte de su tiempo adheridas a un sustrato, sobre el cual puedan filtrar la materia orgánica que arrastra la corriente del río para alimentarse.

La larva de simúlido posee dos tipos de estructuras que le posibilitan fijarse a los sustratos. La primera son las glándulas salivares o glándulas de la seda que producen una seda de alta resistencia que permite a la larva fijarse a través de una almohadilla creada por ella en el sustrato, pero también realizar ciertos movimientos. La segunda estructura son las propatas

(torácica y abdominal) con sus ganchos que les permiten fijarse a la seda que producen y extienden sobre el sustrato (almohadilla). La pupa también posee ganchos abdominales que le permiten fijarse a la membrana de la cubierta pupal que construye la larva; es decir, que la seda siempre hace de intermediario entre los ganchos y el sustrato (Crosskey, 1990).

Los simúlidos son de los pocos insectos capaces de producir seda para su uso subacuático. La seda se produce en dos pares de glándulas con forma de U que residen en el hemocele y alcanzan la última parte del abdomen (Crosskey, 1990). Tienen gran capacidad de producción de seda. La cabeza de la larva es la encargada, a través de los movimientos de la cabeza junto con las piezas bucales y la propata torácica, de manipular la seda una vez que sale al exterior a través del canal de la seda, situado en la “boca” de la larva. La seda que utiliza la larva para construir el *coccon* es de diferente naturaleza que la que utiliza con fines de sujeción.

La larva de simúlido es capaz de realizar varios movimientos con ayuda de las propatas y la seda: *looping*, *dangling* y *drifting*. El primero de ellos se produce cuando la larva quiere cambiar de posición en el sustrato y consiste en un movimiento de bucle similar al que realizan las orugas de la familia Geometridae. El movimiento de *dangling* consiste en liberarse de la almohadilla abdominal y suspenderse de la seda producida a modo de amarre; posteriormente puede recuperar su posición “trepando” de vuelta sobre la línea de seda. La larva realiza este movimiento por alguna perturbación, por algún contacto no deseado o bien para dispersarse a cortas distancias. El *drifting* radica en derivar río abajo, de tal forma que la larva puede fijarse a nuevos sustratos gracias a que la seda, que emite a través de “la boca”, se enreda en los sustratos. La deriva aguas abajo suele ser mayor al anochecer y durante la noche (Adler y McCreadie, 2002). Las razones de esta estrategia pueden ser bien por un mecanismo de dispersión, bien por un mecanismo defensivo al evadirse de una perturbación (Crosskey, 1990).

Las larvas de mosca negra se fijan prácticamente a cualquier superficie dentro de los cursos de agua, siempre que proporcione un adecuado lugar desde el que puedan alimentarse (Crosskey, 1990). Según Crosskey (1990) los requerimientos para un sustrato ideal son que sea firme, con una superficie limpia y no muy rugosa, con suficiente ancho para adherirse y que el sustrato esté fijo aunque se pueda balancear. El color no parece importante (Lewis y Bennett, 1975).

Las larvas pueden fijarse tanto a piedras como a plantas (Figura 1.9). En el caso del sustrato rocoso puede ser desde pequeños guijarros hasta grandes piedras o rocas y lechos de roca. Las plantas constituyen un gran abanico de posibilidades y los sustratos vegetales pueden variar desde plantas o árboles terrestres que contactan con el agua hasta vegetación arrastrada con la corriente como hojas o ramitas o plantas acuáticas fijadas al lecho del río. Las ramas de los árboles en contacto con el agua constituyen también un gran sustrato para la fijación de las larvas (Ignjatović-Ćupina *et al.*, 2006a), pero sin duda el sustrato más utilizado son los macrófitos (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2014b), ya que son plantas que tienen todas sus estructuras vegetativas sumergidas o flotantes (Cirujano *et al.*, 2017). Además de sustratos rocosos y vegetales, Adler y McCreadie (2002) señalan que las larvas de unas 30 especies, principalmente en África tropical, son obligatoriamente foréticas, fijándose a larvas de efímeras (Ephemeroptera) y cangrejos de agua dulce. Los simúlidos son muy oportunistas, de tal forma que las larvas pueden colonizar y adherirse a estructuras artificiales como desagües y cualquier elemento sumergido en el agua como ladrillos, plásticos, botellas, aluminio, etc. (Adler, 2005) (Figura 1.9).



Figura 1.9. Formas preimaginales adheridas a diferentes sustratos



1.3.1.2. Hábitats larvarios

Los simúlidos ocupan casi todos los tipos de hábitats de agua corriente, desde naturales a artificiales. En los primeros se incluyen cursos de agua de diferentes tamaños como riachuelos, arroyos, manantiales, torrentes, cascadas, salidas de embalses y lagos y grandes ríos (Figura 1.10). Dentro de éstos el origen puede ser muy variado, desde aguas sulfurosas, deshielo de glaciares, aguas termales, etc. (Crosskey, 1990), y pueden incluir cursos fluviales temporales, aguas intersticiales y también ciertas aguas subterráneas (Adler, 2005). Por su parte, el ser humano, con sus obras hidráulicas, ha creado multitud de hábitats larvarios que son rápidamente colonizados por los simúlidos, como acequias, canales, acueductos, tuberías, etc.

Cada especie está asociada a un hábitat particular y un área geográfica, teniendo una distribución generalmente predecible según el ancho del curso del agua y las características del paisaje (Corkum y Currie, 1987; Adler y McCreadie, 2002). Algunos de los factores, bióticos y abióticos, que influyen en la distribución de los simúlidos también afectan su dinámica poblacional (Ross y Merritt, 1988). La mayoría de los cursos de agua albergan simúlidos en algún momento a lo largo del año (Adler y McCreadie, 1997) y “la ocupación” de los diferentes tipos de hábitats varía en función de las especies; las hay muy especializadas, que tan sólo habitan en cursos de agua muy específicos y otras especies mucho más generalistas.

Los cursos de agua de tamaño modesto que contribuyen a un sistema de drenaje son los más comunes de todos los hábitats larvarios, aunque generalmente son menos estables que los grandes ríos o ciertos tipos de cabeceras de ríos permanentes. Especies incluidas en los géneros *Austrosimulium*, *Gigantodax* y *Prosimulium* son características de arroyos. Si bien muchas especies están asociadas a manantiales, salidas de lagos o ríos, en general son los tramos medios de los ríos los más ricos en diversidad de especies, ya que ofrecen una gran diversidad de nichos ecológicos (Crosskey, 1990).

Figura 1.10. Diferentes hábitats larvarios



Los simúlidos no son considerados un grupo de insectos confinado únicamente a vivir en aguas lóxicas, como convencionalmente se piensa. Las larvas pueden llegar a fijarse en sustratos donde el agua del río está remansada o en lagos donde las larvas han sido arrastradas por la corriente del río; el desarrollo de la pupa se puede dar en el fango de charcos que han sido formados al secarse un riachuelo (Rivosecchi, 1978a; Crosskey, 1985, 1990).

Los ríos son ecosistemas muy dinámicos, donde las fluctuaciones del caudal varían la geomorfología del río y la accesibilidad de los sustratos por parte de las larvas de simúlidos. El material de los ríos y arroyos está continuamente cambiando, erosionando y depositándose, especialmente cuando la corriente es fuerte y el fondo inestable, lo que produce hábitats adecuados para numerosos invertebrados. Las áreas erosionadas son lugares más favorables para los simúlidos que las áreas de depósito de material (Crosskey, 1990).

Muchas de las características físicas y químicas del agua de los ríos y riachuelos son reflejo de la geología. La estructura del suelo y de la roca afecta a las corrientes subterráneas y superficiales produciendo cursos de agua con diferente composición química y diferente configuración física (Crosskey, 1990).

Aunque las hembras determinan los hábitats donde se desarrollarán las larvas, éstas últimas tienen cierto control sobre su destino, ya que puede cambiar su posición en el hábitat gracias a los movimientos de *looping*, *dangling* y *drifting*. Así pues, las larvas pueden redistribuirse y fijarse en nuevos microhábitats relativamente alejados de sus lugares de ovoposición (Crosskey, 1990).

Todos los ecosistemas acuáticos tienen muchas propiedades físicas y químicas que podrían afectar la microdistribución (distribución en una pequeña sección de la corriente o en un sustrato específico) y macrodistribución (distribución desde una escala de varios metros a cientos de kilómetros) de las larvas. Estas propiedades, factores o parámetros incluyen tipo de sustrato, profundidad del agua, turbidez, temperatura, velocidad de la corriente, concentración de oxígeno, pH, composición iónica y conductividad (Crosskey, 1990; Adler y McCreadie, 2002).

Los factores biogeográficos son a menudo útiles para predecir las distribuciones de las especies en escalas mayores. Las características físicas, químicas y ribereñas de los ríos de una ecorregión (por ejemplo, montañas) tienden a ser más similares entre sí que los de otra ecorregión diferente (por ejemplo, llanura costera) (Adler y McCreadie, 2002).

La velocidad de la corriente y la disponibilidad de sustratos adecuados seguramente son los factores más importantes que afectan la microdistribución de las larvas (Décamps *et al.*, 1975). Las larvas de simúlidos pueden encontrarse en corrientes entre 0,05 m/s (ambiente léntico) y 3,5 m/s (torrentes y cascadas). Muchas especies desarrollan estructuras anatómicas adaptadas a estos ambientes concretos. Las especies adaptadas a cursos de agua rápida poseen excepcionalmente numerosos radios de abanicos cefálicos y ganchos en la propata abdominal. Mientras que las especies adaptadas a aguas lentas poseen antenas extremadamente largas e inusualmente largos y delicados radios de abanicos cefálicos. Las especies generalistas por su parte no poseen tantas modificaciones para estos ambientes extremos, ocupando el resto de rangos de corrientes.

La temperatura es uno de los factores ambientales más importantes en la vida de los organismos acuáticos. La temperatura de los ambientes loticos varía con la estación, altitud y hora del día. El rango de temperaturas en las que se pueden encontrar larvas de mosca negra en los cursos



fluviales es de 0 a 35°C (Crosskey, 1990). La influencia de la temperatura en la eclosión larvaria y el desarrollo de las formas preimaginales regula la dinámica poblacional de las especies. Ross y Merritt (1988) explican cómo cada especie tiene su óptimo régimen térmico, el cual tiende a promover una mayor fecundidad y tamaño del adulto. La temperatura parece tener un papel menor en la microdistribución de las larvas comparado con otros factores como la corriente.

La composición química del agua varía enormemente entre los diferentes cursos fluviales y es más estable en unos que en otros; la flora y fauna de cada hábitat contribuye al constante cambio del perfil químico del agua. La concentración de oxígeno ha sido tradicionalmente el factor químico que más interés ha suscitado entre los estudios de este grupo (Crosskey, 1990). Varios autores explican cómo el nivel de oxígeno en el agua no es un factor importante en la ecología de las diferentes especies y cómo la dependencia de las larvas de elevadas concentraciones de oxígeno no se puede verificar (Zahar, 1951; Carlsson, 1967; Grunewald, 1976). La saturación de oxígeno de la mayoría de ríos oscila en un rango del 70 al 120%, coincidiendo con el rango habitual de los hábitats larvarios de los simúlidos. Aunque diversos estudios han identificado especies en hábitats con un nivel de saturación inferior al 50% (Zahar, 1951; Carlsson, 1967; Merritt *et al.*, 1978)

El pH ha sido un factor difícil de evaluar en la ecología de los simúlidos, y mientras hay autores que apenas le conceden importancia otros explican que es un factor importante, especialmente en la distribución de las *sibling species* (Crosskey, 1990). Los valores de pH donde se han identificado larvas de esta familia oscilan entre 2,5 y 10. El pH es un factor constante en muchos ríos lo que supone que no es un factor que afecte a la microdistribución larvaria.

Los ríos contienen diversidad de sustancias químicas disueltas y en diferentes concentraciones. Lógicamente la concentración total aumenta aguas abajo debido a la suma de los afluentes. La mayoría de los trabajos que analizan la composición química del agua incluyen medidas de conductividad, calcio, magnesio, sodio, potasio, sulfatos, amonio, nitratos, fosfatos, etc. Cómo afectan los diferentes niveles de estos compuestos en la presencia larvaria es incierto (Crosskey, 1990). Según Adler (1987), el desafío está en conocer qué propiedades químicas son críticas en la separación ecológica de las *sibling species*.

La modificación del medio natural por parte del ser humano, como construcción de carreteras, urbanización, industrialización, obras hidráulicas, agricultura, ganadería y otras formas de alteración del hábitat afectan a la distribución de estos dípteros a diferente escalas, tanto en una sección de un arroyo como a nivel de una ecorregión (Adler *et al.*, 2004).

1.3.1.3. Desarrollo larvario, pupal y emergencia del adulto

Los huevos de simúlido son muy sensibles a la desecación, por lo que la supervivencia del embrión y el posterior desarrollo de la larva requieren que los huevos permanezcan húmedos y el embrión pueda respirar el oxígeno del agua que le rodea.

El tiempo necesario desde la ovoposición a la eclosión de un huevo puede oscilar desde un día a 9 o 10 meses (Crosskey, 1990). Este tiempo tan prologando se ha observado en especies que usan el estado de huevo como diapausa para esperar mejores condiciones en las que desarrollarse. Esta diapausa está relacionada con el voltinismo o número de generaciones de una especie anualmente. Estos patrones temporales son específicos según las especies de simúlido y dependen de la latitud y de la ecología de los hábitats larvarios (Adler y McCreadie, 2002). Por ejemplo especies multivoltinas (con varias generaciones al año) del



hemisferio norte hibernan durante 3-5 meses en estado de huevo hasta que en primavera eclosionan. En contraste, algunas especies univoltinas de latitudes elevadas (con una única generación anual) pasan tanto el invierno como parte del verano en estado de huevo (géneros *Gymnopsais*, *Cnephia* y algunas especies subárticas del género *Prosimulium*). También hay especies univoltinas que entran en diapausa durante el verano cuando se superan ciertos umbrales de temperatura (género *Prosimulium*) (Crosskey, 1990). En algunas zonas tropicales, donde no existe diapausa, miembros del complejo *S. damnosum* pueden tener más de 20 generaciones al año (Adler y McCreddie, 2002).

La celeridad del desarrollo embrionario depende del oxígeno disuelto y de la temperatura del agua. El desarrollo se retrasa cuándo los niveles de oxígeno son bajos. La temperatura óptima para el desarrollo embrionario oscila entre unos pocos y más de 30°C, dependiendo de las especies; aunque por lo general el incremento de temperaturas acelera el proceso. Por ejemplo, la duración en fase de huevo, de especies como *S. erythrocephalum* y *S. ornatum* s.l. es de 3 a 6 días entre 20 y 25°C y de 7 a 14 días entre 10 y 19°C (Crosskey, 1990).

Al eclosionar, las larvas se dispersan corriente abajo, en busca de un lugar óptimo para fijarse y completar su desarrollo. Éstas llevan en gran medida una vida sésil, fijadas sobre diferentes sustratos, desde los que se alimentan.

El desarrollo completo de una larva puede durar desde una semana hasta cerca de medio año, dependiendo de la especie, la temperatura del agua y de la disponibilidad de alimento (Adler y McCreddie, 2002). Existen especies de climas templado y subártico que pasan parte o todo el invierno en estado de larva (Crosskey, 1990).

Posteriormente y tras un número variable de estadios larvarios (tras sucesivas mudas), que oscilan entre 7 (o menos) y 11 (Colbo, 1989), la larva madura se desplaza a un sitio más resguardado de la corriente para tejer el estuche pupal o *cocoon* sobre un sustrato donde se desarrollará la pupa áfaga (no se alimenta) (Figura 1.11).

Figura 1.11. Imagen de una pupa (izquierda) y de un estuche pupal vacío (derecha)



El proceso completo desde que la larva selecciona el lugar adecuado en el sustrato hasta que teje el *cocoon* normalmente oscila entre 45-60 min (Crosskey, 1990). La duración del estadio de pupa depende también de la especie y de la temperatura, oscilando desde varios días a pocas semanas.

Cuando el adulto está listo para emerger, expulsa aire de su sistema respiratorio, dividiendo la cutícula pupal a lo largo de la línea (preformada con forma de T) de eclosión dorsal (Crosskey, 1990; Adler y McCreadie, 2002) (Figura 1.11); emergiendo a la superficie envuelto en una burbuja de aire con fuerza suficiente para romper la interfaz agua-aire. Finalmente, el adulto recién emergido busca algún sustrato donde permanece durante un tiempo para secarse y endurecer las estructuras cuticulares externas. En la mayoría de las especies, emergen antes los machos que las hembras (Adler, 2005).

1.3.1.4. Alimentación

Las larvas pasan su vida alimentándose salvo cuando están mudando o realizan los movimientos de *looping*, *dangling* y *drifting*. Normalmente se alimentan filtrando pasivamente la materia orgánica en suspensión arrastrada por la corriente del curso de agua, aunque también raspan la materia orgánica de los sustratos de forma activa; e incluso las larvas de algunas especies pueden preñar pequeños invertebrados como quironómidos (Crosskey, 1990; Adler y McCreadie, 2002).

La larva, al filtrar la materia orgánica, orienta su cuerpo con respecto a la corriente (inclinándose con la corriente y girando su cuerpo longitudinalmente 90-180°) para que los abanicos cefálicos adquieran la mejor posición posible para interceptar la materia orgánica en suspensión de la corriente (Crosskey, 1990).

Las larvas filtran partículas que tienen un diámetro de aproximadamente 0,09 a 350 μm , aunque la mayoría de las partículas ingeridas poseen menos de 100 μm de diámetro (Adler y McCreadie, 2002). Las larvas no son selectivas y el contenido intestinal refleja en gran medida el tamaño de las partículas y se corresponde siempre con el material disponible suspendido en el agua circundante (Kurtak, 1979). La dieta consiste en detritus, bacterias, diatomeas, pequeños invertebrados, material fecal de larvas y algas filamentosas (Crosskey, 1990; Adler y McCreadie, 2002).

La eficacia de alimentación es muy baja, normalmente inferior al 2%. La retención de material en el intestino varía de 20 min a más de 2 h, dependiendo principalmente de la edad de las larvas, las especies y la temperatura del agua (Adler y McCreadie, 2002).

Aquellas especies que no realizan la filtración (ej: géneros *Gymnopais* y *Twinia*) se debe a la pérdida o reducción de sus abanicos cefálicos y obligatoriamente obtienen su alimento, normalmente algas, a través del rascado de los sustratos donde se asientan (Crosskey, 1990).

1.3.2. Biología del adulto

Los adultos generalmente viven menos de 4 semanas, tiempo en el que se aparean, alimentan con sustancias azucaradas y en el caso de las hembras también localizan a sus hospedadores, realizan la ingesta sanguínea sobre ellos y posteriormente realizan la ovoposición.

A continuación se detallan aspectos de la biología de la etapa adulta de los simúlidos como su capacidad de vuelo, alimentación, reproducción, hábitos de picadura y ovoposición.



1.3.2.1. Capacidad de vuelo, alimentación y lugares de reposo

Los simúlidos adultos se desplazan volando para realizar varias de sus tareas vitales como los vuelos cortos de dispersión tras la emergencia, alimentarse de néctar, los machos formar enjambres de cópula, y las hembras localizar a sus hospedadores y posteriormente buscar sitios donde realizar la ovoposición. Salvo excepciones, los simúlidos son diurnos y generalmente vuelan por encima de 10°C. Las principales condiciones meteorológicas que influyen en la capacidad de vuelo son el viento, la luz y la temperatura (Adler y McCreadie, 2002).

Tanto las hembras como los machos se alimentan de sustancias azucaradas, que actúan como fuente energética indispensable para su actividad vital (Walsh, 1984). Además, las hembras de las especies anautógenas necesitan la ingestión de sangre para la maduración de los huevos. La clasificación de las especies según sus hábitos de alimentación sanguínea está incluida en el Apartado 2.1.2.1. El fenómeno de la autogenia (hembras autógenas son aquellas que realizan una puesta de huevos sin necesidad de realizar una ingesta sanguínea) también se ha observado en los simúlidos (Wu, 1931). Crosskey (1990) explica que el 2,4% de las especies (n=37) del mundo son autógenas obligadas, mientras que otras únicamente lo son en la primera puesta de huevos.

La función principal de esta alimentación a base de carbohidratos es la de posibilitar el vuelo de los simúlidos. Todas las especies de simúlidos poseen alas bien desarrolladas, lo que explica que aquellos géneros que no tienen tendencia al vuelo (ej: *Gymnopsis*, *Croetzia* y algunas especies de *Cnephia*) se debe más a su comportamiento o limitaciones fisiológicas que a la falta de estructuras morfológicas adecuadas (Crosskey, 1990). Los adultos son oportunistas en la elección de la fuente energética, alimentándose del néctar de flores y otras fuentes, savia y mieladas. El agua y las soluciones azucaradas al 10% incrementan la longevidad del adulto y su capacidad de vuelo (Crosskey, 1990; Adler y McCreadie, 2002).

Los machos utilizan su capacidad de vuelo para agruparse y formar enjambres durante el comportamiento de cópula. Se detalla información al respecto en el Apartado 2.1.1.1.

Otra de las funciones del vuelo, en este caso de las hembras, es la búsqueda de hospedadores y de lugares de ovoposición. Los vuelos distantes en busca de alimento son típicos de aquellas especies que se alimentan sobre mamíferos y que habitan áreas abiertas como sabanas o praderas (Adler y McCreadie, 2002). Se ha observado como las hembras de algunas especies pueden llegar a desplazarse grandes distancias (migraciones), incluso centenares de kilómetros, ayudadas por el viento (Garms y Walsh, 1987). Crosskey (1990) detalla las distancias de dispersión de varias especies de simúlidos registradas por varios autores.

Los lugares de reposo de las moscas negras son variados, en función de los lugares que tengan disponibles. El sexo, la edad y la condición física de las moscas pueden influenciar el lugar de elección, aunque la vegetación parece ser su lugar predilecto, entendiéndose que ésta varía sustancialmente según la ecorregión. No obstante también hay autores que han registrado moscas reposando dentro de refugios artificiales, grietas, madrigueras, etc. (Crosskey, 1990).

1.3.2.2. Reproducción

La reproducción de los simúlidos integra diferentes aspectos como el encuentro sexual, la formación de enjambres, los mecanismos que intervienen en el encuentro de ambos sexos y el comportamiento de copula propiamente dicho; todos ellos se abordan ampliamente en el Apartado 2.1.1.



1.3.2.3. Actividad de picadura

Los diferentes aspectos que intervienen en los hábitos de picadura de los simúlidos, como son el comportamiento de picadura, la estacionalidad e influencia de las condiciones climáticas en la picadura, los patrones diarios y la tasa de picadura, están detallados en el Apartado 2.1.2. A su vez, los diferentes mecanismos que intervienen en la búsqueda de los hospedadores están detallados en el Apartado 3.1.2.

1.3.2.4. Desarrollo de los huevos y ovoposición

La maduración de los huevos y otros elementos relacionados como la estimación de la edad, longevidad y duración del ciclo gonotrófico se describen en el Apartado 2.1.3.

A continuación se detallan brevemente otros aspectos como el tamaño de la puesta, los sustratos de puesta y las diferentes estrategias de ovoposición.

El número de huevos que integran una puesta puede variar considerablemente, incluso entre hembras de la misma especie. El tamaño de la puesta está influenciado por factores como la edad, el desarrollo larvario, la alimentación sanguínea o el parasitismo (Crosskey, 1990). Adler y McCreadie (2002) señalan que la mayoría de las hembras producen puestas con un número de huevos entre 100 y 600. Crosskey (1990) ahonda en el tema, recopilando los estudios de varios autores sobre el número de huevos de las puestas de numerosas especies.

Existe poco conocimiento sobre donde reposan las hembras de simúlido, una vez realizada la ingesta sanguínea, para la maduración de los huevos. Desde esos lugares, las hembras grávidas realizan vuelos para acercarse a los lugares de cría y realizar la puesta. Se ha observado, aunque es un fenómeno raro, enjambres de ovoposición formados por hembras grávidas (Davies, 1962). La mayoría de especies realizan la ovoposición en un momento concreto del día, normalmente al amanecer o al atardecer (Crosskey, 1990).

Los huevos generalmente son muy sensibles a la desecación aunque hay algunas excepciones como *A. pestilens* que puede sobrevivir en la tierra húmeda de los lechos de los ríos secos durante años, eclosionando cuando los riachuelos se inundan (Adler y McCreadie, 2002). Por este motivo, las hembras depositan los huevos normalmente sobre cursos de agua continua y habitualmente cerca de los hábitats larvarios, teniendo en cuenta las diferencias en la selección de los lugares según la especie (Crosskey, 1990). Cómo seleccionan las hembras los lugares exactos para realizar la puesta es un fenómeno poco estudiado pero nunca depositan los huevos sobre la superficie de aguas lénticas por lo que es probable que la atracción sea visual (Crosskey, 1990).

Los simúlidos depositan los huevos sobre una gran variedad de sustratos ya sean naturales (rocas, piedras, hojas, raíces, ramas, etc.) o artificiales (desagües, tuberías, etc). Estos sustratos tienen que estar bien sumergidos o permanecer húmedos en zonas de salpicadura. Nunca depositan los huevos sobre objetos móviles que se desplazan con la corriente. Diversos experimentos han demostrado que ciertas especies prefieren sustratos de colores verde, amarillo y blanco (Golini y Davies 1975a, b; Walsh, 1984). Una vez que las hembras han detectado el lugar de la puesta, depositan los huevos de diversas formas:

- a) Directamente sobre el agua, depositados a intervalos, mientras las hembras se mantienen en vuelo sobre la superficie del agua. Es una estrategia más común en especies relativamente primitivas como el género *Prosimulium* y *Cnephia* (Crosskey, 1990).



- b) Sobre una superficie sólida, de manera muy delicada (la hembra en vuelo posa la parte terminal del abdomen, normalmente sin *landing*), rápida y depositados a intervalos. Es muy común en las especies que realizan la puesta en cursos de agua rápida.
- c) Sobre una superficie sólida, en cadena y depositados de forma continua. Los huevos están adheridos unos con otros, formando una especie de cadena sobre el sustrato. Las cadenas se cruzan unas con otras dependiendo del movimiento de la hembra, dando a veces aspecto de pequeños montones.
- d) Sobre superficie sólida, en grupo, de forma compacta y continua. Es la estrategia más común, también quizás porque es la más fácil de reconocer. Los huevos de una misma puesta están dispuestos juntos formando una lámina. Las formas y tamaños de las masas de huevos varía según las especies (Crosskey, 1990).
- e) Dentro del agua. Es una estrategia, poco habitual que implica que las hembras grávidas tienen que atravesar la superficie del agua. Crosskey (1990) recopila las observaciones sobre 17 especies de todo el mundo, estimando la duración de la inmersión entre 2 y 5 min, con diferentes registros de profundidad, que no suelen superar los 20 cm.

1.4. Impacto en salud pública y sanidad animal

1.4.1. Daños directos: picaduras

Desde el punto de vista sanitario, el principal problema que producen los simúlidos en zonas templadas son las picaduras, que se aborda detalladamente en el Apartado 4.1.2.

1.4.2. Daños indirectos: transmisión de enfermedades

Desde el punto de vista del interés médico, numerosas especies de simúlidos son vectores de la filaria *Onchocerca volvulus* Bickel 1982, agente causal de la oncocercosis (o ceguera de los ríos) localizada fundamentalmente en África, pero también presente en América Central, América del Sur y la península arábiga (WHO, 2017). Esta enfermedad parasitaria crónica, que tiene al hombre como único huésped definitivo, está presente en 38 países (Moya Alonso y Alvar, 2010), y ocasiona lesiones cutáneas y oculares severas, llegando a ser la segunda causa más común de ceguera prevenible en el África subsahariana (Hoerauf y Buttner, 2003). La enfermedad muestra un espectro clínico amplio entre los infectados, dependiendo del grado de exposición al vector, de la inmunidad, del tipo bioclimático de la enfermedad y de enfermedades concomitantes. El periodo de incubación oscila de 8 meses a más de 2 años y su patogenia se debe a la acción alergénica de las microfilarias, especialmente de las muertas. Las manifestaciones cutáneas pueden dar lugar a despigmentación (piel de leopardo), atrofia cutánea o paquidermia (piel de elefante). Además puede producir nódulos u oncocercomas, afectación linfática y afectación ocular. Esta última es la complicación más seria de esta parasitosis y en áreas endémicas se asocia a una mayor tasa de mortalidad con una disminución media de 10 años en la esperanza de vida (Moya Alonso *et al.*, 2009).

Otra filariosis transmitida al ser humano por los simúlidos es la mansonellosis o filariosis de Ozzard, producida por *Mansonella ozzardi* Manson 1897. Ésta se presenta estrictamente en el continente americano donde afecta a personas principalmente autóctonas que habitan áreas



selváticas (Medeiros y Daniel, 2004). Esta nematodosis, aunque se considera poco patógena para el hombre, puede causar fiebre, dolores musculares, cefalea, linfadenitis, exantemas cutáneos eritematosos y síntomas pulmonares (Bartoloni, 1999; Klion y Nutman, 1999).

Los simúlidos también han sido implicados como vectores mecánicos de tularemia en EE.UU. y Rusia. Además, los virus de la encefalitis equina del Este en EE.UU. y de la encefalitis equina venezolana en Colombia han sido aislados en varias especies de simúlidos (Adler y McMcreadie, 2002).

Aunque hasta ahora el papel de los simúlidos como vector en humanos parece estar restringido a zonas tropicales, no puede descartarse el hecho de que sea posible un cambio epidemiológico, análogamente a lo que está ocurriendo con otras enfermedades vehiculadas por artrópodos debido al cambio climático, la globalización, y cambios sociales y demográficos (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2014b).

Al igual que el ser humano, los animales se ven afectados por patógenos transmitidos por simúlidos, entre ellos nematodos filariales, protozoos y varios virus. Las enfermedades más importantes son la oncocercosis bovina (Neumann, 1910), la leucocitoozoonosis y la tripanosomiasis aviar (Crosskey, 1993). Aunque existen otras afecciones citadas en la bibliografía como la encefalitis equina venezolana (Anderson y DeFoliart, 1961), la mixomatosis (Joubert y Monet, 1975) o el virus de la estomatitis vesicular (Bridges *et al.*, 1997; Mare, 1998).

1.5. Impacto económico

Además de la importancia sanitaria que poseen los simúlidos, son también significativas las pérdidas económicas que conlleva esta plaga. En los países endémicos de oncocercosis, a la indudable importancia de esta enfermedad desde el punto de la salud pública hay que añadir la inmediata repercusión económica y social, al dar lugar a una gran población invidente o con alteraciones visuales graves y, por tanto, incapacitada para el trabajo en zonas endémicas (Figura 1.12) (Evans, 1995). Se ha demostrado que existe estigmatización y otros efectos psicológicos negativos relacionados con las personas que muestran manifestaciones cutáneas de la enfermedad (Ovuga *et al.*, 1995).

En regiones templadas las personas que residen en áreas afectadas por esta plaga sufren una pérdida de la calidad de vida debido a sus dolorosas picaduras (Hansford y Ladle, 1979). Esto se traduce en una merma de ciertas actividades al aire libre con el consiguiente efecto que ello tiene sobre la hostelería y las actividades deportivas al aire libre (Crosskey, 1990; Gray *et al.*, 1996; Adler *et al.*, 2004). En consecuencia, las molestias producidas por estos insectos al ser humano pueden llegar a suponer un freno en el desarrollo turístico de zonas con abundantes poblaciones de insectos (Crosskey, 1990; Adler *et al.*, 2004; Ruiz-Arrondo *et al.*, 2014b).

La industria y otras actividades profesionales también se ven afectadas. En Quebec (Canadá) la especie *S. venustum* s.l. tiene un gran impacto en la industria papelera, reduciendo la eficiencia y productividad de la industria consecuencia de la baja moral de los trabajadores expuestos a las picaduras constantes (Crosskey, 1990). En España, la recogida de fruta y otras tareas agrícolas también se ven muy afectadas por esta problemática. Además, se incrementan y concentran las atenciones sanitarias en los centros de atención primaria y hospitales (Giménez



et al., 2007; Gobierno de Aragón, 2017), elevando el gasto público y sobrecargando el sistema de salud.

Figura 1.12. Estatua donde un niño guía a un hombre ciego debido a la oncocercosis en la sede de la WHO en Ginebra



Las especies que no pican pero que molestan también tienen impacto económico. Se estima que las pérdidas económicas por las molestias ocasionadas por miembros del subgénero *Wilhelmia* ascendieron a 5,45 millones de dólares en la región de Capadocia (Turquía) durante el brote de 2006-2007 (Sariözkan et al., 2013). En Norteamérica, *S. jenningsi* es una especie que ocasiona grandes molestias en las actividades al aire libre de las zonas afectadas, lo que conlleva una inversión de 5 millones de dólares al año en su control (Adler y McCreadie, 2002).

En relación con la ganadería, esta plaga puede llegar a tener un gran impacto económico debido a altas mortalidades en el ganado, principalmente por simuliotoxicosis (ver Apartado 4.1.2.) tal y como han cuantificado diversos autores en distintas regiones de Norteamérica y Europa (Crosskey, 1990; Adler et al., 2004). Por ejemplo, en Hungría se estima que la especie *S. colombaschense* causó pérdidas en animales por un valor de entre 16 y 25 mil dólares en el brote de 1970 (crosskey 1990).

Respecto a las enfermedades que afectan a los animales y en concreto al ganado, la oncocercosis bovina, que cursa con dermatitis e inflamación de la piel y del tejido conectivo, provoca pérdidas económicas relacionadas con la pérdida de calidad de la piel. La leucocitozoonosis afecta también a la producción avícola debido tanto a la pérdida de producción como al coste del control en las áreas afectadas (Noblet et al., 1975; Adler y McCreadie, 2002). Muchos estudios ponen de relieve las consecuencias del impacto negativo que genera la presencia de simúlidos en muchos animales de abasto, como pérdida de peso y alteraciones en la reproducción (Fredeen, 1977), impotencia en los toros, retraso gestacional o

posibles enfermedades relacionadas con el estrés como neumonía (Adler y McCreddie, 2002), disminución de la producción de huevos y leche (Jamnback, 1973; Steelman, 1976; Watts, 1976) y las dermatitis ya mencionadas (Gräfner y Merkbälter, 1981).

El efecto económico debido a estos procesos no está bien documentado, aunque podría ser importante (Adler y McCreddie, 2002). Como ejemplo, tan sólo en 1978 se produjeron pérdidas superiores a 3 millones de dólares en la industria cárnica y lechera de Saskatchewan (Canadá) (Fredeen, 1985). La mortalidad por leucocitoozoonosis en pavos domésticos supuso una pérdida anual de 750 mil dólares en EE.UU. desde 1942 a 1951 (Adler y McCreddie, 2002).

Aunque resulte sarcástico, las pérdidas económicas causadas por los simúlidos pueden ser retornadas en parte por el establecimiento de medidas de control, el gasto sanitario y la protección de las personas y el ganado (Adler *et al.*, 2004). Sin embargo, la calidad de vida y el bienestar tanto de personas como animales siempre deberían estar antepuestas al beneficio económico.

En el valle medio del Ebro, los simúlidos están causando problemas al ganado cercano a las riberas de los ríos. Las molestias descritas sobre los rebaños en esta zona están teniendo un impacto económico negativo sobre los ganaderos. En rebaños de ovejas se observa una pérdida del estado general y corporal de los animales como resultado de la anorexia e intranquilidad (Figueras *et al.*, 2011). En el caso de los animales que pastorean, debido a la ausencia de productos repelentes efectivos registrados, los ganaderos se ven obligados a incrementar el aporte alimenticio para tratar de compensar la pérdida de condición corporal de sus animales, con el gasto económico extra que ello supone. En otras ocasiones, los ganaderos han optado por cambiar los horarios de pastoreo, sacando los animales al campo por la noche, permaneciendo estabulados durante el día. Ambas opciones no mejoran las molestias que los animales sufren en las granjas ya que, a pesar de estar en un recinto cerrado, siguen sufriendo las picaduras de los simúlidos (Figura 1.13). Algunos propietarios de ovejas, cansados de esta situación, han trasladado sus rebaños a zonas libres de los insectos con el gasto adicional que supone tanto el traslado como el arrendamiento de nuevos pastos (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2014b).

Figura 1.13. Picaduras de simúlido en oveja



Los équidos también sufren agudamente la problemática de este insecto en el valle del Ebro. Fruto de las picaduras continuas en las orejas y en el bajo vientre, los animales están intranquilos y cabecean constantemente, lo que dificulta su manejo y desemboca finalmente en



que los propietarios trasladen sus caballos a otros picaderos no afectados por la plaga. Otro gasto económico derivado de sus picaduras es la atención veterinaria requerida en el tratamiento de otohemitomas en varios picaderos de La Rioja.

1.6. Control y prevención

La estrategia de control más adecuada es aquella que se basa en la realización de un control integrado; es decir, la combinación de todas las estrategias disponibles para la reducción del vector con una adecuada relación coste/beneficio y de forma ecológica y sostenible. Sobre esta base es importante remarcar que el control de los simúlidos está focalizado principalmente hacia las formas larvianas, pues durante esta fase del ciclo los insectos están concentrados en áreas muy restringidas (ríos y canales) a diferencia de los adultos que al ser aéreos habitan un área mucho más amplia (Kurtak, 1987). Las cuatro actuaciones que se incluyen en el control integrado son: la gestión ambiental, el control químico, el control biológico y la acción cultural.

1.6.1. Gestión ambiental

Basada sobre todo en la gestión del medio, la lucha mecánica se incluye como pilar principal. Consiste en la eliminación de los sustratos sobre los que se desarrollan las formas inmaduras de los simúlidos (Figura 1.14). Este control se restringe normalmente a tramos pequeños de los ríos o zonas concretas (Jamnback, 1977; Adler y McCreadie, 2002). La limpieza de la vegetación de acequias y canales constituye también una de las herramientas de control más eficaces. Otro elemento de la gestión ambiental es el manejo integrado de los caudales de los ríos, que consiste en la manipulación artificial de los niveles de los cauces para dificultar el desarrollo de las larvas y pupas y favorecer la predación de las mismas (Myburgh y Nevill, 2003).

Figura 1.14. Corte de macrófitos con máquina en el río Henares



1.6.2. Control químico

En este tipo de control se incluye el uso de insecticidas, tanto larvicidas como, en situaciones más extremas, adulticidas. En la década de los 40 y 50 del siglo pasado se utilizó ampliamente el organoclorado dicloro-difenil-tricloroetano (DDT) con gran eficacia en los ríos, hasta que fue prohibido en la mayoría de países por sus efectos adversos sobre otros organismos no dianas,

dañando el ecosistema acuático y por el desarrollo de resistencias (Adler y McCreadie, 2002). Fue entonces cuando se comenzó a utilizar productos como el temefos (*temephos*) y el metoxicloro (*methoxychlor*), usados ampliamente durante muchos años (Jamnback, 1981).

La aparición de resistencias (Guillet *et al.*, 1977; Guillet *et al.*, 1980; Kurtak *et al.*, 1982) y la acción no selectiva de biocidas han hecho que hoy en día los químicos de síntesis usados como larvicidas hayan sido sustituidos por otros de origen bacteriano. Así mismo, el uso de insecticidas contra los insectos adultos en tratamientos extensivos está desaconsejado por su limitada eficacia, por no ser selectivos y por el posible riesgo que implican para la salud pública y el medio ambiente. Igualmente, la dispersión de estos insectos conlleva realizar los tratamientos en grandes áreas para evitar las recolonizaciones de los hábitats de cría, lo que implica un elevado coste.

En situaciones de emergencia sanitaria muy concretas pueden llegar a usarse los adulticidas para reducir la población de adultos, como sucedió en Zaragoza con el primer brote en 2011 donde se aplicaron productos piretroides (deltametrinas) en las piscinas municipales. Este tipo de control, aunque desaconsejado, se sigue aplicando en algunas ocasiones en España, fruto del desconocimiento del insecto responsable de las molestias y de su correcta gestión (Ballester, 2012; Sánchez-López *et al.*, 2017b).

La problemática asociada a esta familia de dípteros es relativamente novedosa en España y continuamente aparecen molestias en zonas hasta ahora libres (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2015), lo que implica que las administraciones, sobre todo a nivel municipal, y también numerosas empresas de control de plagas no tengan experiencia en el manejo de la misma.

Actualmente, los productos químicos más utilizados para gestionar los adultos de simúlidos son los repelentes y los insecticidas de aplicación tópica (*pour-on*) (Adler y McCreadie, 2002).

Otro tipo de control, y que dadas sus características podría incluirse en este apartado, es el control de hembras de especies vectoras de oncocercosis usando la trampa Esperanza cebada con atrayentes químicos presentes en el sudor humano (Young *et al.*, 2015).

1.6.3. Control biológico

El sistema de control más recomendado y más utilizado en todo el mundo es el control biológico de las larvas mediante las esporas de la bacteria *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (*Bti*, serotipo H14) (De Barjac, 1978; Hougard y Back, 1992). Este bioinsecticida fue introducido comercialmente a comienzos de la década de los 80 (Gray *et al.*, 1999).

Su actividad biocida se debe a los cristales proteicos que se producen durante la esporulación de la bacteria. Estos cristales se clasifican como un delta-endotoxina que primero debe ser activada por las proteasas digestivas de la larva de simúlido para convertirse en una sustancia tóxica. Una vez ingerido, el pH alcalino del estómago disuelve el cristal liberándose la endotoxina (Myburgh y Nevill, 2003), que produce una parálisis seguida de la muerte de la larva (Lüthy y Studer, 1986). El *Bti* es altamente selectivo, teniendo una actividad específica contra las larvas de algunos dípteros (culícidos, simúlidos y algunos quironómidos), siendo totalmente inocuo sobre el resto de fauna.

El producto se vierte en el cauce del río a tratar, calculando la dosis en función del caudal y de las características del agua, de manera que la propia corriente se encarga de distribuirlo



homogéneamente aguas abajo. Las larvas de los simúlidos son filtradoras pasivas y se alimentan del *Bti* mezclado en el agua del río (Figura 1.15).

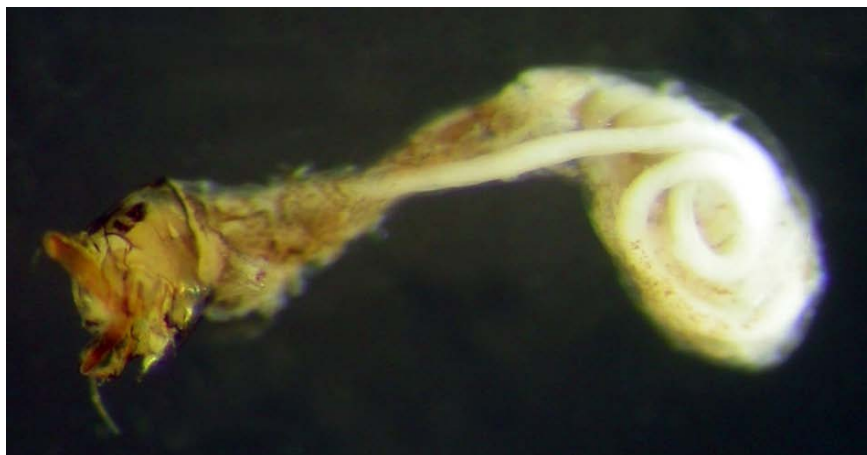
Actualmente el programa de control más importante del mundo en volumen de *Bti* es el que se realiza contra *S. jenningsi* en la cuenca del río Susquehanna en Pennsylvania (EE.UU.) (Adler y McCreddie, 2002). En Europa son varios los países que realizan control de simúlidos de forma rutinaria usando este biocida, entre los que destacan, entre otros, Alemania (Foroutan *et al.*, 2010), España (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2014b), Italia (Radeghieri *et al.*, 2013), Lituania (Bartninkaite *et al.*, 2006), Serbia (Ignjatović-Ćupina *et al.*, 2010), Turquía (Yilmaz *et al.*, 2010) y Polonia (Wegner, 2006).

Figura 1.15. Aplicación de *Bti* en el río Cinca (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2009)



Existen además infinidad de predadores vertebrados e invertebrados de larvas y adultos de simúlidos que pueden, en ciertas situaciones, reducir las poblaciones de éstos (Davies, 1981); aunque los entomopatógenos como virus, hongos, protozoos y nematodos son agentes más específicos que pueden llegar a actuar como insecticidas en términos de eficacia (Lacey y Undeen, 1987). El problema es que los últimos intentos registrados de producirlos en masa datan de los años 70 (Laird, 1981). Dentro de los enemigos naturales, los nematodos mermítidos (Nematoda: Mermithidae) son los que probablemente tengan más probabilidades de ser utilizados en control biológico (Figura 1.16).

Figura 1.16. Larva de simúlido parasitada por *Isomermis lairdi* (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2017b).



Sin embargo, hasta que no se profundice en el estudio de su taxonomía, ecología, especificidad de hospedadores y se puedan cultivar masivamente de una forma económica, es poco probable que sean útiles dentro de los programas de control de simúlidos (Adler y McCreadie, 2002). En este sentido, en España se han identificado recientemente y por primera vez simúlidos parasitados por un nematodo mermitido: *Isomermis lairdi* Mondet, Poinar y Bernadou, 1977 en La Rioja (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2017b).

1.6.4. Acción cultural

El último pilar del control integrado es la acción cultural que incluye conceptos como información, comunicación y educación. La sensibilización ciudadana, a través de folletos informativos sobre los problemas que puede ocasionar la picadura de este insecto así como recomendaciones para evitar sus afecciones, ha demostrado ser eficaz en Cataluña y Aragón (Anexo I).

Esta información puede incluir consejos para protegerse de la picadura de los simúlidos, entre los que destacamos algunos de ellos. Las piezas bucales de las moscas negras no son capaces de atravesar la ropa, por lo que la primera medida para protegerse de las picaduras es no dejar ninguna parte anatómica al descubierto por donde los simúlidos puedan acceder a la piel y picar. También es importante evitar estar cerca de los criaderos larvarios durante las horas de mayor actividad de las especies agresivas. En Zaragoza se ha observado como el amanecer y el atardecer son los momentos con mayor actividad por parte de *S. erythrocephalum* (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2017a). El uso de ropa de color claro en detrimento de los colores oscuros evita que la silueta de la persona sea detectada con mayor facilidad por las hembras de mosca negra. En casos donde las molestias son muy severas es imprescindible el uso de una tela mosquitera en la cabeza como usan los agricultores y recolectores de fruta en la zona del río Cinca (Huesca). Por último hay que tener en cuenta que los simúlidos son exófilos por lo que no entran en las viviendas para picar.

El uso de repelentes, tanto de origen natural como sintéticos, es recomendable en las zonas expuestas de la piel. Desde nuestro conocimiento en España no se realizan apenas ensayos para testar productos repelentes contra las especies de simúlidos antropófilas españolas. Desde que el fenómeno mediático de “la mosca negra” saltó a la palestra, muchos productos repelentes comerciales se aventuran a remarcar la protección contra la picadura de este díptero sin que se haya testado realmente. Por este motivo hay que prestar atención al principio activo, su concentración y su formato de aplicación.

La protección en los animales resulta más complicada porque en muchas ocasiones los animales están expuestos durante todo el día. En el mercado hay varios productos insecticidas y repelentes con diversas aplicaciones, aunque lo costoso de la aplicación en términos de manejo en grandes grupos de animales y la más que probable reducida duración de la protección en días hacen cuestionable su uso. En el caso de los caballos, animales muy sensibles a molestias y picaduras, son efectivas las fundas para cubrir las orejas, parte anatómica preferida por ciertas especies para picar (Figura 1.17). Otra importante medida de protección es proporcionar cobijo a los animales, ya que la mayoría de las especies no entran en los establos (Adler y McCreadie, 2002).



Figura 1.17. Protectores de orejas y cabeza contra artrópodos para caballos



1.6.5. Control en España

En España existen actualmente varios programas de control en aquellas zonas donde los simúlidos suponen un problema para la salud pública. La evolución de la problemática asociada a esta plaga en España se detalla en el Apartado 4.1.4. La creación de estos programas se ha ido sucediendo conforme han ido apareciendo molestias masivas. La mayoría de las actuaciones emprendidas se basan en el control larvicida usando *Bti*, siendo pocas las situaciones donde se utilizan adulticidas.

El primer programa de control de simúlidos en España se instauró en 2002 en el río Ter siendo desarrollado por el Servei de Control de Mosquits de la Badia de Roses i el Baix Ter (Marqués, 2012). La comarca de Los Monegros fue la siguiente en instaurar un servicio en ese mismo año, desarrollándolo en el río Flumen. Posteriormente como consecuencia del inicio de los primeros problemas en el río Ebro en 2005, en la comarca del Baix Ebre en Tarragona, se inició un programa de control en el 2006 (Valle Trujillo y Escosa, 2009) (Figura 1.18).

Figura 1.18. Control de simúlidos con *Bti* en Tarragona (Fuente: COPATE)



El responsable es el Consorci de Serveis Agroambientals de les Comarques del Baix Ebre i Montsià (CODE) en l'actualidad denominado Consorci de Polítiques Ambientals de les Terres de l'Ebre (COPATE); y actualmente es el programa de control de simúlidos más importante de España en cuanto a volumen de larvicida usado anualmente. Este mismo equipo realiza el control de simúlidos en el tramo final del río Segre desde 2006 (Rovira *et al.*, 2007). A raíz de los problemas acontecidos en los ríos Cinca, Alcanadre y Flumen en Aragón, se realizaron por parte de la comarca de Los Monegros y la Universidad de Zaragoza una serie de tratamientos pilotos en estos ríos durante el año 2009 (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2009, 2011) que sirvieron de base para la posterior instauración de un programa de control en 2015.

A pesar del gran número de molestias anuales que se producen en el entorno de la ciudad de Zaragoza desde el 2011, no se ha puesto en marcha una estrategia de control global que abarque el valle medio del Ebro. Únicamente se realiza control larvario y adulticida en los ríos Ebro y Gállego por parte del Ayuntamiento de Zaragoza dentro del término municipal. Pero esta iniciativa resulta insuficiente pues los focos de cría más importantes se encuentran fuera del término municipal de la ciudad de Zaragoza (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2014b).

Además de los programas señalados, a raíz de la aparición paulatina de molestias por esta plaga en otras regiones peninsulares (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2014b, 2015) se están instaurando pequeños programas de control, desarrollados en este caso por empresas de control de plagas, en Madrid (Soriano, 2009; Medina y Gómez, 2014), Andalucía (Obregón *et al.*, 2016a, b, 2017), Comunidad Valenciana (Córdoba-Lloria *et al.*, 2017) y Murcia (Sánchez-López *et al.*, 2017a, b).

Como ejemplo de gestión ambiental, durante el verano de 2012 se realizó una prueba piloto, eliminando mecánicamente los macrófitos en el río Ebro a su paso por la ciudad de Zaragoza, con un resultado muy cuestionable ya que el agua en ese tramo discurre muy lentamente debido a la presencia de un azud aguas abajo y por consiguiente no es el hábitat idóneo para el desarrollo masivo de las formas inmaduras de los simúlidos. Sin embargo, en Torrejón de Ardoz esta medida junto con la aplicación de *Bti* está resultando muy eficaz (Medina y Gómez, 2014). En la parte baja del río Ebro también se han realizado avenidas controladas para reducir la presencia de las algas que favorecen la presencia de estos dípteros (Duran *et al.*, 2010).

El control de los simúlidos requiere la elaboración de estudios previos para conocer la magnitud del problema e implementar estrategias óptimas de vigilancia y control acordes a cada una de las áreas afectadas. Las administraciones poseen en este aspecto un papel fundamental, ya que constituye un problema médico-veterinario que requiere de soluciones globales y tempranas (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2014b).





2

Bioecología de *Simulium erythrocephalum* en Zaragoza

2.1. Introducción

En este apartado describimos diferentes aspectos del ciclo biológico de los simúlidos y su relación con el comportamiento, comenzando por la actividad de cópula. A continuación analizamos los hábitos de picadura por parte de las hembras para ingerir la sangre necesaria para el desarrollo de los huevos, y finalizaremos con el desarrollo y puesta de los huevos para completar la definición de ciclo gonotrófico (CG).

2.1.1. Encuentro sexual y cópula

Si existe una faceta de la historia natural de las simúlidos sobre la cual se tiene menos información, sin duda es su vida sexual. Son unos insectos “muy tímidos en este sentido”, resultando raro observar un evento reproductivo. De las 250 especies de simúlidos que habitan Norteamérica en tan sólo 38 (15%) se ha descrito el comportamiento reproductivo (Adler *et al.*, 2004). Los problemas que plantea el apareamiento de los simúlidos son la principal razón por la que es tan difícil establecer y mantener una colonia de simúlidos en laboratorio (Crosskey, 1990).

Para la mayoría de las moscas negras no se puede simular el entorno natural donde se produce el comportamiento de cópula con la suficiente fidelidad. Este hecho tiene que ver con el espacio físico. Al igual que los mosquitos, los simúlidos se dividen en dos grupos según el lugar donde se desarrolle la cópula: especies eurígamas y estenógamas. Las primeras necesitan un gran espacio a su alrededor para reproducir los movimientos preliminares de apareamiento; mientras que el segundo grupo se reproduce en cuanto tienen la posibilidad, incluso en un tubo de ensayo (Crosskey, 1990).

La primera descripción de una cópula en la familia Simuliidae fue realizada por Friederich (1921), cuando observó varios individuos de distintas especies copular en cautividad. Desde entonces son varios los autores que han descrito en detalle observaciones sobre el comportamiento de apareamiento de los simúlidos (Smart, 1934; Davies y Peterson, 1956; Peterson, 1959; Downes, 1969; Wenk y Raybould, 1972; Crosskey, 1990). En relación con *S. erythrocephalum*, Wenk (1965) observó 14 apareamientos de un enjambre de esta especie mantenida en laboratorio. Más tarde describió la primera cópula de esta especie en la naturaleza en el Valle del Rin, cerca de Estrasburgo (Wenk, 1987).

La reproducción y la supervivencia dependen de la existencia de estrategias fiables a través de las cuales animales de ambos sexos sean capaces de encontrarse y asegurar que los machos puedan inseminar a las hembras (Crosskey, 1990). O bien, los machos deben buscar activamente a las hembras o viceversa, y gran parte del interés sobre el comportamiento de cópula en este grupo radica en cómo se encuentran. Aparentemente el encuentro entre ambos sexos se basa en los sentidos de la vista y el tacto, ya que no existen pistas que sugieran que los simúlidos puedan detectar sonidos como los mosquitos o emitir feromonas a modo de sustancias afrodisíacas para atraer al sexo opuesto (Wenk, 1987; Crosskey, 1990).



El enjambramiento (el hecho de formar enjambres) parece ser el comportamiento generalizado donde se produce el apareamiento de los simúlidos en condiciones naturales. Wenk (1987) explica que el hecho de que la formación de enjambres se produzca con presencia de viento sugiere que no existe comunicación sexual mediada por feromonas, aunque no debe descartarse ya que las utilizan otros géneros de dípteros como *Drosophila* (Bartelt *et al.*, 1986). Los ojos altamente especializados de los machos de simúlidos parece que tienen que ver con este comportamiento, ya que únicamente este género forma enjambres con fines reproductivos (Wenk, 1987).

La agregación de los machos formando enjambres es un hito muy importante dentro del comportamiento sexual de muchas especies de simúlidos; aunque el enjambramiento no es un prerrequisito del apareamiento de la familia Simuliidae. Aunque estos insectos son prácticamente ubicuitarios, en raras ocasiones se puede observar la formación de estos enjambres (Wenk, 1987). En general esta familia puede clasificarse desde un punto de vista sexual junto con otros Nematocera (Culicidae y Chironomidae), en los que la cópula va precedida de la formación de enjambres de machos que son atractivos para las hembras y de esta manera asegurar el contacto entre los dos sexos y evitar la dispersión de los mismos (Downes, 1958, 1969). En un primer momento se pensó que la cópula tenía lugar dentro de estos enjambres al igual que sucede con los mosquitos (Clements, 1992), pero lo cierto es que una vez que un macho “sujeta” a una hembra en el aire inevitablemente la pareja cae al suelo antes de que el acto sexual sea consumado. Así que es más correcto decir que estos enjambres son pre-apareamiento, ya que aunque el contacto se realiza en el aire, este hecho no implica una cópula aérea. Sin embargo no todas las especies de mosca negra requieren de este vuelo en enjambres para que se produzca la cópula (Apartado 2.1.1.1.1).

2.1.1.1. Comportamiento sexual pre-cópula

El comportamiento pre-cópula de estos dípteros se divide generalmente en dos grupos dependiendo de si los machos forman enjambres para atraer a las hembras o no. La formación de enjambres es una característica habitual en las especies del género *Simulium* en las regiones templadas del norte donde la existencia de inviernos duros limita la etapa de la vida adulta a la época más cálida. De este modo, la formación de enjambres previene la dispersión de los machos, aumentando las posibilidades de encuentro con las hembras de la misma especie y por consiguiente las posibilidades de cópula ante la imposibilidad de realizarse durante todo el año. Por el contrario, en las regiones cálidas ecuatoriales, donde existe una producción continua de moscas adultas y el apareamiento es posible en cualquier época del año, la formación de estos enjambres es difícilmente observable. Los mosquitos en estas latitudes muestran el mismo comportamiento, ya que los enjambres formados por machos son mucho más raros en la zona tropical que en regiones templadas (Crosskey, 1990).

El apareamiento de las moscas negras no es totalmente dependiente de la formación de estos enjambres. Por ejemplo *S. equinum* ha sido observado apareándose sin formar enjambres en los mismos lugares donde suele formarlos (Reid, 1981).

La formación de enjambres depende evidentemente de la combinación de una serie de condiciones, factores del medio físico además de la propia fisiología de las moscas. Este comportamiento no responde a una necesidad determinada genéticamente, ya que el enjambre



puede o no puede formarse, y si no lo hace, se producirá igualmente el apareamiento (Crosskey, 1990).

Realmente no existe una correlación entre la evolución de las especies de simúlidos y el tipo de estrategia de cópula. El comportamiento de cópula de las especies más modernas (género *Simulium*) no difiere cuando realizan el apareamiento en el suelo sin formar enjambres, de aquellas especies primitivas que siempre lo realizan en el suelo (nunca forman enjambres), como son los géneros de prosimúlidos *Cnephia*, *Crozetia* y *Gymnopais*.

Se asume que la cópula aérea es probablemente la predominante dentro de todos los tipos de cópula. Adler *et al.* (2004) suponen que más del 96% de las especies de Norteamérica poseen una cópula aérea en su comportamiento reproductivo; y sin embargo tan solo se ha observado el enjambre de machos, preludio de la cópula aérea, en 28 especies norteamericanas.

2.1.1.1.1. Cópula sin formación de enjambres

La cópula sin formación de enjambres se suele producir en el suelo. El mejor ejemplo de cópula terrestre es la especie norteamericana *C. dacotensis*, cuyos hábitos de apareamiento han sido observados y descritos por varios autores (Twinn, 1936; Nicholson y Mickel, 1950; Davies y Peterson, 1956). Los machos están continuamente rastreando en gran número sobre rocas, piedras, troncos musgosos y cualquier otra superficie húmeda a un metro o más sobre el nivel del agua. La cópula es la actividad más temprana en la vida de una mosca negra adulta y las hembras están receptivas para el contacto con los machos inmediatamente tras emerger. Éstos no tienen una atracción específica sobre las hembras, sino que intentan copular con otros machos e incluso con otros insectos. Downes (1958) usa el término “desorganizado” porque los machos únicamente reconocen a la hembra tras un encuentro aleatorio con ella. *Simulium erythrocephalum* también ha sido observado posado sobre la vegetación de la orilla de los ríos esperando probablemente a que pasen hembras recién eclosionadas a las que abordar (Crosskey, 1990).

Se han descrito a su vez otros comportamientos que no implican la formación de enjambres; por ejemplo, los machos que están esperando en las flores que son visitadas por las hembras para obtener su néctar, o los machos que están esperando cerca de un hospedador a que llegue la hembra para alimentarse de sangre. Este mismo comportamiento se ha observado en la familia Ceratopogonidae (Wirth, 1952) y en especies de mosquitos aedinos (Peyton, 1956; Downes, 1958; Hartberg, 1971). Los voluntarios que exponían sus piernas desnudas para capturar *S. damnosum* s.l. en el oeste africano observaban con frecuencia como algún macho se posaba sobre sus piernas persiguiendo alguna hembra. En los alrededores no se identificó ningún enjambre ni tampoco machos alrededor de los voluntarios por lo que los machos probablemente estarían esperando en la hierba o volando a baja altura cerca de la vegetación esperando a que pasara alguna hembra (Crosskey, 1990).

2.1.1.1.2. Encuentro sexual en enjambres

Existen diferentes tipos de enjambres; por ejemplo una agregación de moscas en el aire alrededor de un hospedador o en una zona de ovoposición es comúnmente llamado enjambre. Las hembras de *S. vittatum* s.l. por lo general no ingieren la sangre del ser humano, pero a menudo son atraídos por las personas y forman pequeñas nubes que se desplazan sobre la cabeza de una persona en movimiento. Estos enjambres no atraen a los



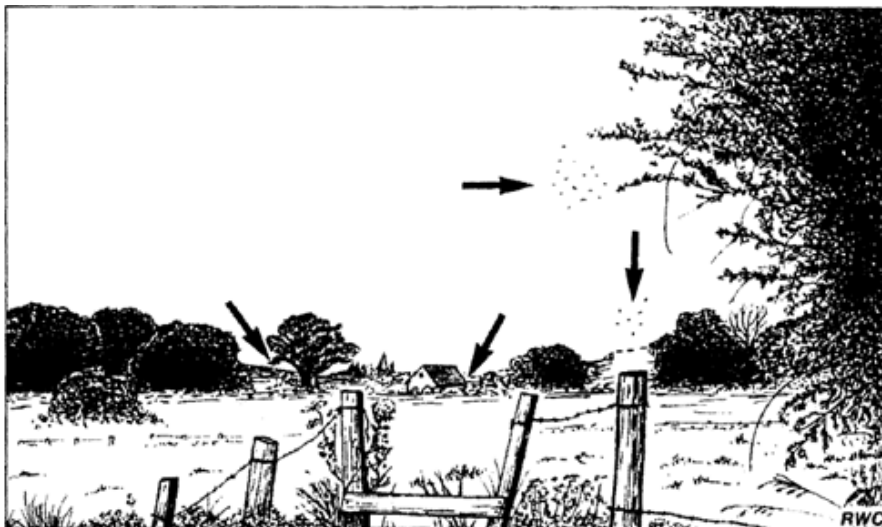
machos (Hocking y Pickering, 1954). *Simulium pseudequinum* y otras especies del subgénero *Wilhelmia* también se comportan de la misma manera (Crosskey, 1990). Sin embargo, en los enjambres con connotación sexual, una mosca negra tienen que cumplir al menos tres requisitos según Wenk (1987): 1) su posición relativa en relación a algún elemento característico del medio, por ejemplo un árbol, un poste de teléfono, un tanque de agua, etc... que es lo que se conoce como punto de referencia o marcador del enjambre; 2) su posición relativa a otros miembros del enjambre (intraenjambre o una orientación intrasexual); y 3) su posición respecto a un miembro ajeno al enjambre; por ejemplo una hembra en un enjambre de machos (orientación intersexual) (Zeil, 1983).

Complementariamente a la copula terrestre y a la formación de enjambres en el aire, los principales eruditos en la materia distinguen una tercera estrategia de cópula, aunque también implique la formación de enjambres. Es la que se produce sobre el agua. En este caso, los machos, que emergen antes que las hembras, forman enjambres sobre los lugares de cría esperando a que las hembras vayan emergiendo de sus estuches pupales para abordarlas en cuanto sobresalen de la superficie del agua y copular. Esta estrategia es diferente de la cópula estrictamente aérea, donde ambos sexos ya están volando tras haber emergido de los lugares de cría. *Simulium pictipes* s.l. en Norteamérica (Stone y Snoddy, 1969) y *Sulcicnephia tungus* en Siberia (Gornostaeva, 1976) son los principales ejemplos de esta inusual forma de cópula.

2.1.1.1.3. Marcadores de enjambres

Todas las especies de mosca negra que forman enjambres de cópula usan diversos elementos a modo de "marcadores de enjambre", cuya elección depende en gran medida de la disponibilidad dentro de la distancia de los sitios de emergencia de los adultos. Los marcadores son diferentes en hábitats abiertos que en los bosques, o cuando hay elementos antrópicos. Entre los objetos comúnmente utilizados como marcadores se encuentran los árboles aislados, arbustos, puntas de las ramas que sobresalen en las pistas forestales, claros, pequeñas colinas, esquinas de edificios, tanques de agua, postes telefónicos, vehículos que no se mueven, algo brillante en el suelo, etc. (Figura 2.1).

Figura 2.1. Diferentes marcadores de enjambres (Crooskey, 1990)



Las flechas señalan los elementos usados frecuentemente por los enjambres de machos como marcadores ópticos.



A veces un enjambre se forma sobre una carretera, donde no hay ningún marcador obvio distinto de la carretera en sí. Por ejemplo, los machos del complejo *S. ornatum* suelen formar los enjambres debajo de las ramas laterales extendidas de los árboles, orientados hacia la parte superior de las ramas. Sin embargo, otras especies orientan el enjambre sobre los objetos situados debajo de ellos, especialmente en las regiones más septentrionales en ausencia de árboles altos que sirvan como marcadores.

En otras ocasiones, los machos se orientan hacia el animal huésped como parte de su comportamiento normal de búsqueda de las hembras. Las moscas negras del grupo *Wilhelmia* se alimentan principalmente en las orejas de los caballos, burros, mulas y vacas; y los machos forman a veces pequeños enjambres sobre la cabeza de estos animales, al parecer utilizando las orejas como marcadores (Wenk y Schlorer, 1963). Los machos atraídos hacia las orejas, a veces penetran profundamente dentro de las mismas y copulan sin caer al suelo, incluso a veces con una hembra que sigue indiferente alimentándose sobre el hospedador (Reid, 1981).

Wenk (1987) comenta que los arbustos o árboles a lo largo de un pequeño río pueden dispersar los machos en numerosos enjambres más pequeños de tres a cinco individuos en las ramas más prominentes en la dirección del viento. Además, la competencia entre los simúlidos y otros dípteros que también forman enjambres, como *Phoridae*, *Bibionidae*, *Syrphidae* e insectos predadores como *Asilidae* y *Odonata*, limita el área a enjambres dispersos en ciertas secciones del bosque galería. Ante un posible predador, como una libélula, el enjambre se dispersa inmediatamente en todas las direcciones hasta que los machos vuelven a reaparecer uno tras otro tras 30 s. La determinación visual de estas reacciones alternativas es obvia, habiendo sido demostrada por Wenk (1987) en diversos experimentos. La orientación hacia el marcador óptico es una conducta sencilla de explicar. La hipótesis es que el marcador óptico debería cubrir más o menos el campo de visión frontal del ojo complejo dorsal cuando el macho está volando en contra del viento y la distancia no debería exceder de un metro (Wenk, 1965b).

Sin duda los arbustos y los árboles cerca de los criaderos proporcionan los marcadores más comunes, pero muchas especies forman los enjambres con marcadores que requieren de un vuelo de dispersión de largo alcance y los objetos que actúan como marcadores están alejados de la vegetación de los criaderos en los ríos. Por ejemplo, *S. equinum* forma los enjambres casi a 1 Km de distancia de los criaderos (Reid, 1981).

Cuando varias especies se desarrollan juntas en los mismos puntos de cría, a veces se observan diferencias en la forma o la altura de los marcadores de enjambres que utilizan. Por ejemplo en Queensland (Australia) los enjambres del complejo *S. ornatipes* forman los enjambres alrededor de los árboles en lo alto de las colinas, mientras que *A. pestilens* lo hace en los árboles cercanos a los ríos (Hunter, 1979). Un marcador diferente asegura que los enjambres estén formados únicamente por individuos de la misma especie. Sin embargo los enjambres de cópula mixtos son bastante comunes, especialmente en las cercanías de ríos donde machos de diferentes especies se orientan por los mismos marcadores de enjambres y se entremezclan en los mismos (Bobrova, 1977; Reid, 1981).



2.1.1.1.4. Formación de los enjambres

Los factores intrínsecos y extrínsecos que gobiernan si los enjambres se forman, dónde y por cuánto tiempo están todavía muy poco estudiados. Una especie propensa a formar enjambres puede variar su conducta de un año a otro. Por ejemplo, Williams (1970) no encontró un patrón claro en la formación de enjambres de *S. reptans* tras estudiar esta especie durante 7 años en Escocia; algunos años no observó los enjambres mientras que en otros años eran muy comunes. En latitudes elevadas, como en el norte de Siberia, la formación de enjambres de cópula se concentra únicamente en junio (Bobrova, 1977).

La mayoría de enjambres se forman a una altura entre 0,5 y 4,5 m sobre el nivel del suelo, dependiendo del tamaño que el enjambre alcance, la posición y el tamaño del marcador, y las condiciones meteorológicas. Son varios los autores que describen cómo en presencia de viento los enjambres se desplazan hacia el lado del marcador que esté más protegido (Lacey y Mulla, 1980; Reid, 1981).

Los enjambres se forman principalmente durante las horas de luz, aunque alcanzan su máximo tamaño al final de la tarde. La mayoría de enjambres desaparecen cuando la intensidad de la luz disminuye al atardecer, aunque es complicado comprobar si permanecen durante la noche. Es muy difícil predecir cuándo se van a formar los enjambres aunque parece que existe una pequeña relación con las condiciones climáticas (Crosskey, 1990); se han observado con el cielo nublado o despejado y en presencia de humedad y con el aire seco. El frío no siempre inhibe la formación de estos enjambres ya que se ha observado a *S. reptans* realizando este hábito por debajo de 13°C tras un día lluvioso (Williams, 1970). Posiblemente existe una diferencia en las condiciones que propician la formación de enjambres en el trópico con respecto a las zonas templadas. Por ejemplo, *S. alcocki* en el África tropical forma los enjambres con el fresco de la mañana entre las 06:00 y 08:00 (Disney, 1971), mientras que las especies de las regiones templadas normalmente lo hacen al medio día o por la tarde.

2.1.1.1.5. Posición y movimiento dentro del enjambre

En un enjambre de machos de simúlidos existe un orden jerárquico en la posición con respecto al marcador del enjambre, ya que los machos mantienen más o menos una distancia constante entre el resto de los individuos y compiten por la mejor posición dentro del enjambre. Los enjambres pueden estar formados por muchos individuos o también por unos pocos. Incluso un individuo que vuela constante a una altura respecto a un marcador óptico puede ser considerado como un enjambre reducido a su mínima expresión. De hecho, la densidad de población y la distribución de los marcadores más idóneos (sitios de enjambramiento) en un área determina el tamaño de los enjambres de machos (Wenk, 1987).

Los machos que integran el enjambre normalmente adoptan una postura horizontal o subhorizontal con el abdomen ligeramente girado hacia arriba y las patas traseras mantenidas en posición de arrastre (Bradley, 1935; Wenk, 1965b).

El movimiento dentro del enjambre es característico y es generalmente similar en las distintas especies. Los individuos adoptan un patrón regular de movimiento, subiendo y bajando (como si estuvieran rebotando), por el cual descienden varios centímetros y luego



ascienden rápidamente para reanudar su posición original. La distancia de oscilación se ha medido en varias especies, alcanzando los 10-15 cm en *S. venustum* (Peterson, 1962) y 30 cm en *Austrosimulium pestilens* (Moorhouse y Colbo, 1973). En los enjambres más cohesionados, los machos vuelan con una separación de pocos centímetros entre ellos, mientras que en enjambres más difusos la distancia entre individuos se mantiene entre 15-30 cm o más, sobre todo en presencia de viento. Aun así, cada mosca parece ocupar su propia parte del espacio aéreo, dentro del cual se lanzará para interceptar y agarrar a cualquier intruso, ya sea macho o hembra. Después de tales “placajes”, las moscas caen fuera del enjambre y aterrizan en cualquier sitio (Crosskey, 1990). Además del movimiento dentro del enjambre, se ha observado a veces al mismo tiempo un patrón de movimiento de todo el enjambre cohesionado. Peterson (1962) explica cómo los enjambres del complejo *S. venustum* describen un movimiento a lo largo de la carretera o de un jardín sin que los individuos que lo forman se desorienten.

2.1.1.1.6. El rol de la visión en la copula

Los insectos poseen ojos compuestos, formados por muchas facetas simples llamadas omatidios que dan una imagen en mosaico. Cada omatidio consiste en una lente y un rabdoma, el cual está compuesto de grupos de células visuales receptoras (rabdomeros) dispuestas en paralelo o ligeramente giradas (Figura 2.2).

Figura 2.2. Ojo de un macho de simúlido (Fuente: <http://www.alamy.com>)



El hecho de que los machos detecten visualmente a las hembras se ha demostrado mediante experimentos con señuelos colocados entre el enjambre y el marcador óptico (Wenk, 1987). Los machos persiguen estos señuelos cuando aparecen en el campo visual del ojo compuesto dorsal. Los ojos dorsales de los machos está bien adaptados para esta tarea: las facetas son mucho más grandes (25-40 μm de diámetro) comparadas con las facetas del ojo ventral (10-15 μm), y los rabdómeros son muy alargados (200-300 μm comparados con los 50 μm en el ojo ventral) al pasar a través de la membrana basal y la lámina. Estas características incrementan la cantidad de luz absorbida en el rabdómero de acuerdo con la ley de absorción de Lambert-Beers y la consiguiente reducción en la luz del ruido cuántico permite una mejor detectabilidad de las hembras (Kirschfeld y Wenk, 1976). Cuando la intensidad de luz a cielo abierto disminuye por debajo de los 2.000 lux, la mayoría de los machos dejan el enjambre y por debajo de los 800 lux no se producen reacciones de persecución del señuelo (Wenk, 1987).

Otro hecho que remarca la importancia de la vista en la cópula de los simúlidos es la teoría de que los machos de algunas de las especies primitivas que realizan la cópula en el suelo (trepano los sustratos cerca de los sitios de emergencia) no poseen unos ojos tan especializados. En algunas especies las facetas superiores del ojo del macho son menos alargadas (Davies y Peterson, 1956; Usova, 1961). En otras como el género *Crozetia*, los ojos de los machos poseen unas facetas inusualmente pequeñas en la parte dorsal (Crosskey, 1990). Presumiblemente estas modificaciones están correlacionadas con la ausencia de la formación de enjambres precópula ya que no necesitan localizar a las hembras mientras vuelan. Sin embargo, todavía no está claro como los machos de la especie *A. pestilens*, la cual tiene unos ojos no especializados pero forma enjambres en la cópula, puede orientarse visualmente con respecto al marcador (Crosskey, 1990). Seguramente la visión de ambos sexos en los simúlidos está capacitada para una agudeza visual más precisa que la que está implicada en los marcadores de enjambres, la orientación visual respecto al hospedador o la identificación de un enjambre. Numerosas especies poseen rasgos morfológicos y colores que seguramente deben estar presentes para ser detectados visualmente y tener por consiguiente cierto papel en el encuentro sexual (Crosskey, 1990).

Además los simúlidos poseen un sistema de pigmentos alcanzando una sensibilidad máxima a los 340 nm de luz ultravioleta. Otras moscas (*Calliphora*, *Musca* y *Drosophila*) la alcanzan a 350 nm. Esta mínima diferencia mejora considerablemente la visión del simúlido, ya que a una longitud de onda menor su resolución es más alta; incrementándose un 10% la posibilidad de detectar una hembra (Kirschfeld y Vogt, 1986).

2.1.1.1.7. Comunicación intersexual

Es obvio que no existe una comunicación entre el macho y la hembra antes del acoplamiento, porque los machos son incapaces de distinguir las especies e incluso el género de la hembra en ausencia de coloraciones en el ala u otras señales visuales. La implicación de feromonas parece improbable, ya que la formación de enjambres ocurre incluso con fuertes rachas de viento. Igualmente las señales acústicas no parecen jugar un papel importante, considerando la forma de la antena y la falta de dimorfismo sexual en este aspecto. Así que únicamente nos queda la discriminación táctil tras el contacto mediado por los órganos genitales externos masculinos altamente diferenciados (Wenk, 1987). Se ha observado con



frecuencia a los machos tantear con la parte frontal de sus patas antes de la cópula, aparentemente para ayudar en el reconocimiento táctil de la compañera de apareamiento correcta. Los tarsos presentan unas sensilias que se cree son quimiorreceptores de contacto (Sutcliffe y McIver, 1976). Su posible función es alertar al macho cuando ha cometido un error al intentar emparejarse con otro macho o con una hembra de la especie equivocada.

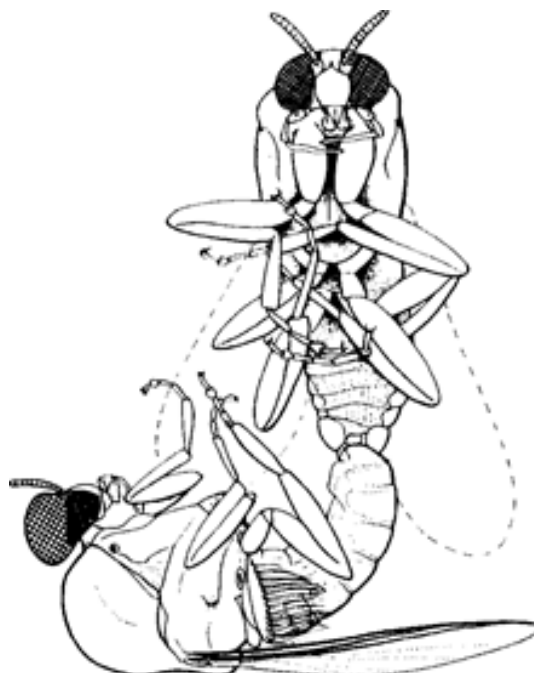
Por consiguiente, el apareamiento no siempre va seguido de la inseminación de la hembra. Cupp *et al.* (1981) citan que la tasa de inseminaciones en una colonia de *S. damnosum* s.l. es menor del 1% a pesar de los continuos apareamientos observados. Un estudio de laboratorio elaborado por Wenk (1965a) ilustró como la discriminación de las especies por parte de los machos es muy eficiente: en una caja con un 2% de *S. lineatum* (entre ambos sexos) y el resto hembras de *S. equinum* y *S. erythrocephalum*, los escasos machos de *S. lineatum* eran capaces de inseminar sólo hembras de su especie. Este mismo comportamiento se ha observado también en mosquitos (Hartberg y Craig, 1968).

2.1.1.2. Comportamiento de cópula

Generalmente la cópula sucede relativamente pronto tras la emergencia de los adultos. Se cree que las hembras únicamente copulan una vez durante su vida, fertilizando todos sus huevos. La mayoría de las hembras parecen estar satisfactoriamente inseminadas, como lo confirma la presencia de esperma en sus espermatecas. Wenk (1987) describe que el 85-95% de las hembras de *S. equinum*, *S. erythrocephalum* y *S. lineatum* capturadas estaban inseminadas.

La cópula tiene lugar sobre una superficie sólida, bien sea el suelo, vegetación, la piel o plumas de un hospedador. Durante la cópula la hembra suele estar en posición vertical con todos los tarsos apoyados sobre el sustrato. Mientras, el macho se sube a horcajadas sobre la hembra (a veces manteniéndola con sus patas) y enrolla el abdomen hacia abajo y hacia adelante para desplazar su genitalia a la posición de enganche necesaria con el extremo del abdomen de la hembra (Crosskey, 1990) (Figura 2.3).

Figura 2.3. Postura común de cópula (Crosskey, 1990)



Los genitales del macho no pueden rotar en el eje largo del abdomen y durante la cópula el abdomen mismo tiene que ser retorcido para aproximar la parte inferior del hipopigio (*hypopygium*) en una posición orientada hacia arriba. Mientras se adopta esta fuerte torsión, se puede ver a los machos copulando en una variedad de posturas que darán lugar a un giro de los órganos de cópula de aproximadamente 180°.

La competencia para aparearse puede ser feroz, y dos o tres machos pueden intentar copular con la misma hembra simultáneamente. La hembra receptiva usualmente permanece quiescente durante todo el proceso, aunque a veces pueden caminar arrastrando al macho con ella. Las hembras que no quieren copular, a veces hacen vibrar las alas o patean con las patas traseras para disuadir o defenderse de un macho. Los machos tienen un alto potencial para inseminar repetidamente (Wenk, 1965b).

El tiempo necesario para completar una cópula normal oscila entre algunos segundos hasta 30 min. Los apareamientos en laboratorio de *S. erythrocephalum* se han estimado entre 1 y 5 s de duración, mientras que para el complejo *S. decorum* son 20 s (Davies y Peterson, 1956). Los tiempos medios más prolongados parecen producirse en las especies eurígamas: 2-4 min en *S. equinum* y *S. ornatum* (Reid, 1981), 3-7 min en el complejo *A. pestilens* y *S. omatipes* (Moorhouse y Colbo, 1973; Hunter, 1979), y 4-6 min, con un máximo de 15 min, en *S. tungus* (Gornostaeva, 1976). *Simulium takahasii* requiere un promedio de 11 min, pero su cópula puede tardar hasta 30 min (Takaoka, 1985).

Un aspecto fascinante del comportamiento de cópula, del cual sabemos muy poco, es el uso preciso al que se someten las estructuras de los genitales masculinos durante el apareamiento y la formación del espermatóforo. Los órganos sexuales masculinos forman una unidad compacta o hipopigio con una estructura similar en todas las especies, pero que muestra una gran variación en la forma y complejidad de algunas de sus partes. La placa ventral es una estructura rígida que soporta la parte inferior del pene (*aedeagus*). Este órgano no está adaptado para ser un verdadero órgano intromitente, y la transferencia del esperma del macho a la hembra se efectúa (en la mayoría de los simúlidos) a través del espermatóforo sin que el órgano masculino contacte directamente con la apertura genital de la hembra.

Durante la cópula, el macho asegura su agarre a ella abrazando la punta de su abdomen (décimo segmento) con los coxitos de sus genitales (Davies, 1965). Éstos y las espinas paramétricas, aparentemente actúan conjuntamente, el primero empujando hacia atrás el paraproctor femenino, y el último presionando hacia abajo sobre las válvulas del ovopositor. De este modo, juntos agrandan el receso genital lo suficiente para admitir el *aedeagus* y el *sclerite* que contiene el espermatóforo. El papel de los estilos no está del todo claro, pero sus diferentes formas y tamaños según la especie implican que no todos los machos los utilizan de la misma manera durante la cópula. Los largos y masivos estilos de *Simulium* spp. se orientan de manera diferente a los pequeños estilos de *Eusimulium* spp. y *Wilhelmia* spp.

2.1.2. Hábitos de picadura

La mayoría de especies de simúlidos tienen las piezas bucales adaptadas para cortar la piel e ingerir la sangre de sus hospedadores a los que parasita (telmófagos). Recordemos que los hospedadores son siempre vertebrados de sangre caliente (Adler *et al.*, 2004).



2.1.2.1. Clasificación de los hábitos de picadura

En función de los hábitos de alimentación de los simúlidos sobre los hospedadores, Crosskey (1990) realizó la siguiente clasificación:

- *Especies no hematófagas*: No se alimentan de sangre.
- *Especies hematófagas*: Se alimentan de sangre, y pueden ser:
 - Ornitófilas: Los hospedadores son las aves.
 - Mamófilas: Los hospedadores son los mamíferos (exceptuando al ser humano).
 - Antropófilas: El hospedador es el ser humano.

Las especies no hematófagas desarrollan sus huevos sin la necesidad de las proteínas de la sangre. Por ese motivo, normalmente sus piezas bucales son incapaces de incidir la piel de un vertebrado.

En relación a las especies hematófagas se suelen incluir las dos primeras categorías como *zoófilas* cuando pican a los animales para distinguirlas de la tercera categoría, *antropófilas*, que lo hacen sobre las personas. Algunas especies se alimentan únicamente sobre aves y otras estrictamente sobre mamíferos, aunque algunas de ellas poseen un amplio rango de hospedadores alimentándose indistintamente sobre ambos grupos.

El estudio de los hospedadores por las diferentes especies de simúlidos es incompleto, ya que la mayoría de trabajos están basados en capturas de hembras alimentándose sobre los diferentes hospedadores. Actualmente se está recurriendo al análisis de las ingestas sanguíneas de las hembras, aunque la obtención de las mismas es muy complicada porque se desconocen sus lugares de reposo. Al principio este análisis se realizaba a través de la técnica ELISA (Sasaki *et al.*, 1986, 1987a, b) y del test de precipitación (Davies *et al.*, 1962). Y actualmente se recurre a técnicas moleculares identificando el DNA de los hospedadores en las ingestas sanguíneas (Malmqvist *et al.*, 2004; Hellgren *et al.*, 2008).

2.1.2.2. Comportamiento de picadura

Los simúlidos pican durante el día y al aire libre pues son insectos exófilos; es decir en presencia de luz natural, y no entran dentro de las construcciones para picar como otros artrópodos vectores; aunque se han citado excepciones (Crosskey, 1990).

Los simúlidos pican principalmente al nivel del suelo, puesto que es donde los hospedadores pasan la mayoría del tiempo. Sin embargo, las especies ornitófilas pican sobre todo en el follaje de los árboles a cierta altura, como es el caso del grupo *S. aureum* que se alimenta sobre aves passeriformes. Se supone que los mamíferos arbóreos serán picados también a cierta altura en su hábitat natural, aunque la información que se tiene sobre las especies mamófilas está basada principalmente en hospedadores que habitan al nivel del suelo (Crosskey, 1990).

En general la altitud únicamente supone un freno para las picaduras cuando hablamos de elevaciones superiores a los 3.000-3.500 msnm. A esta altitud normalmente las especies o bien son no hematófagas o bien son hematófagas, pero con poblaciones autógenas en las montañas (Crosskey, 1990). Otras especies crían en los valles, y sin embargo ascienden a los pastos de altura para alimentarse sobre sus hospedadores, como hace *S. reptans* en los Alpes. En los Pirineos se ha identificado la especie *Prosimulium latimucro* a 2.900 msnm (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2018).



2.1.2.3. Estacionalidad de la picadura

Los simúlidos presentan una estacionalidad muy marcada en la picadura, evidentemente influenciada por la presencia o no de formas adultas. Este fenómeno se hace más notable en las zonas tropicales, donde las estaciones seca y húmeda están muy definidas, y en las zonas templadas, con presencia de cuatro estaciones. En el hemisferio norte, las picaduras se concentran normalmente durante la primavera y a principios del verano, cuando se produce la emergencia de los adultos (Crosskey, 1990). A grandes altitudes los ciclos estacionales de picaduras son muy cortos, comenzando generalmente tarde y acabando pronto.

El número de generaciones afecta considerablemente el patrón estacional de picadura. Las especies multivoltinas pican durante varios meses del año de forma continuada, mientras que las especies univoltinas normalmente lo hacen durante un periodo mucho más reducido. En Inglaterra por ejemplo, la especie univoltina *S. posticum* pica únicamente durante mayo y principios de junio, y sin embargo *S. ornatum* s.l. lo hace desde abril a septiembre (Crosskey, 1990). En Zaragoza, especies del subgénero *Wilhelmia* han sido observadas picando a animales en días soleados de febrero (Ruiz-Arrondo, no publicado).

En regiones tropicales, a pesar de que las temperaturas son benignas para que los simúlidos adultos puedan volar y picar durante todo el año, su presencia se ve afectada por la reducción o eliminación de los lugares de cría debido a una estación seca prolongada. Es el caso del complejo *S. damnosum*, que en el oeste africano cesa su actividad agresiva durante varios meses porque los ríos de la sabana están secos (Crosskey, 1990). Por el contrario en otras regiones tropicales de Sudamérica las picaduras no cesan por la presencia constante de focos de cría activos.

2.1.2.4. Influencia de las condiciones climáticas en la picadura

Evidentemente, para que las moscas negras piquen, tienen que volar y este fenómeno está determinado notablemente por las condiciones climáticas. La búsqueda de hospedadores y la picadura se producen en rangos óptimos de temperatura, viento, luz solar y humedad. Los fuertes vientos o la lluvia intensa impiden el vuelo de los simúlidos, aunque una ligera lluvia o ráfagas de viento suave no impiden el comportamiento agresivo (Crosskey, 1990). Se ha observado que cambios repentinos en la presión atmosférica previos a una tormenta provocan un incremento de la actividad de picadura. Por ejemplo, Crosskey (1955) observó que *S. damnosum* s.l. picaba más activamente en días nublados y húmedos que en días soleados. En general, los momentos del día con mayor actividad son al amanecer y al atardecer, coincidiendo con los momentos de transición de la luz solar.

La temperatura atmosférica es también un factor limitante en la actividad de picadura, inhibida normalmente por debajo de 10°C. Las especies de regiones templadas y tropicales tienen actividad de picadura en un rango de temperaturas similar (15-30°C); no obstante, las especies tropicales al estar expuestas a un clima más cálido poseen la temperatura del rango superior más elevada. Por ejemplo, en Guatemala *S. callidum* pica en un rango entre 13-34°C y *S. ochraceum* s.l. entre 15-40°C (Dalmat, 1955).

Según Crosskey (1990), la humedad relativa (HR) no es generalmente un factor determinante que influya en la picadura. Por ejemplo, *S. jenningsi* s.l. y *S. vensutum* s.l. pican en un intervalo de HR de 42-94% (Underhill, 1940, 1944) y 25-95% (Wolfe y Peterson, 1960), respectivamente.



Sin embargo, los momentos de máxima actividad siempre coinciden con una HR elevada. En este aspecto, vuelven a diferir las especies templadas y tropicales, puesto que estas últimas alcanzan el pico de actividad con una HR del 95% o superior, mientras que las primeras se mueven en valores entre 65 y 85%.

2.1.2.5. Patrones diarios de picadura

Como ya se ha comentado, los simúlidos pican en presencia de luz solar, pero no lo hacen de una manera continuada a lo largo de todo el día (Crosskey, 1990). Las picaduras se concentran en unas horas determinadas, existiendo picos de actividad alternados con momentos de calma. Estos patrones diarios de picadura se mantienen constantes en individuos de la misma especie a lo largo de todos los días, aunque cada especie presenta patrones diferentes. Existen numerosos patrones diarios, siendo muy común el patrón bimodal, caracterizado por un pico por la mañana y otro por la tarde separados por una nula actividad al medio día. Otras especies poseen un patrón unimodal caracterizado por un incremento progresivo de la actividad hasta alcanzar un pico al mediodía seguido de un declive constante hasta el atardecer. Otro patrón habitual consiste en un incremento temprano de la actividad por la mañana seguido de un mantenimiento de esta actividad con una disminución progresiva durante el resto del día (Crosskey, 1990).

Este comportamiento diario se puede ver interrumpido por eventos ambientales. Por ejemplo, un periodo de calma se puede convertir en un momento de gran actividad de picaduras tras una tormenta. Y una especie que posea un patrón de picadura bimodal, puede estar picando durante todo el día en un día nublado y húmedo.

No se conocen las causas que rigen los diferentes patrones de actividad diaria, pero se sugiere que existe algún tipo de “reloj innato” que rige este comportamiento, que a su vez es fácilmente modificable por las condiciones ambientales (Crosskey, 1990). La intensidad de la luz es probablemente el factor externo que más influye en el patrón de actividad de picadura. Por ejemplo, las especies árticas están activas mientras hay luz diurna, que en los días de verano pueden llegar a 24 h diarias. No obstante, las especies de latitudes templadas van variando los periodos de actividad conforme disminuye o aumenta la presencia de luz solar. Otros factores que afectan el patrón de picadura diario son la disponibilidad de los hospedadores y la edad fisiológica de las hembras. Los simúlidos parece que pican en diferentes momentos del día según sean nulíparas (hembras que todavía no han ingerido sangre por primera vez) y paras (hembras que previamente han realizado al menos una puesta de huevos). Normalmente durante la mañana hay mayor número de hembras nulíparas recién emergidas y durante el pico de la tarde predominan las hembras paras que previamente han ovopositado en horas previas (Garms, 1975; Crosskey, 1990).

2.1.2.6. Tasa de picadura

La tasa de picadura (número de moscas que atacan a un hospedador en un periodo de tiempo determinado) es muy variable y está condicionada por numerosos factores como la estación de emergencia de los adultos, la proporción de hembras hambrientas en una población, la presencia de hospedadores en la proximidad de los lugares de cría o la capacidad de vuelo para buscar los hospedadores (Crosskey, 1990).



La tasa de picadura se puede estimar de diversas formas según la unidad de tiempo que se utilice: moscas/individuo/hora, moscas/individuo/día, moscas/individuo/mes, etc. En algunas regiones se pueden alcanzar tasas de picadura muy elevadas como en la cuenca del Amazonas donde *S. oyapockense* alcanza una tasa de 1.000 hembras/persona/hora o *A. unguatum* que supera esa tasa en Nueva Zelanda (Crosskey, 1990).

Se distinguen tres fases diferentes en la picadura de una mosca negra: el aterrizaje (*landing*), el tanteo (*probing*) y la picadura (*biting*). A lo largo de este trabajo emplearemos los términos ingleses ya que son los que se utilizan habitualmente en entomología. El *landing* se define como el hecho de que una mosca se pose sobre el hospedador. El *probing* es una fase muy corta en los simúlidos, que se define como el periodo de tiempo desde que la probóscide de la mosca penetra por primera vez en la piel hasta el comienzo de la ingesta sanguínea (Clements, 1992). Durante este proceso, la mosca puede probar varios lugares de la piel hasta que encuentra el lugar adecuado para comenzar con la última fase, el *feeding* (Figura 2.4), durante el que las moscas ingieren la sangre. Los simúlidos están considerados como *pool-feeders*, ya que la sangre no es directamente absorbida de los capilares sino del acúmulo de sangre que se forma tras el corte de la dermis, dando lugar a la laceración característica de su picadura con un punto central sangrante (Figura 2.4).

Figura 2.4. *Feeding* de varios simúlidos (Dima, 2006)



En los estudios que se realizan sobre la tasa de picadura humana de mosca negra, normalmente se contabiliza el número de moscas que realizan el *landing* y no el *biting*, por motivos éticos y para prevenir la transmisión de oncocercosis en zonas endémicas. En el caso del complejo *S. damnosum*, Crosskey (1990) señala que las tasas de *landing* y *biting* pueden considerarse más o menos iguales debido a la agresividad de esta especie. Sin embargo otros autores indican una proporción 1:4 *biting:landing* para *S. yahense* alimentadas sobre personas (Barbiero y Trpis, 1986) o un porcentaje inferior (8-25%) para el complejo *S. ornatum* en ganado vacuno (Davies, 1957). En definitiva, el número de *landings* puede ser muy superior al de *bitings*, de ahí la dificultad en la estimación de la tasa real de picadura.

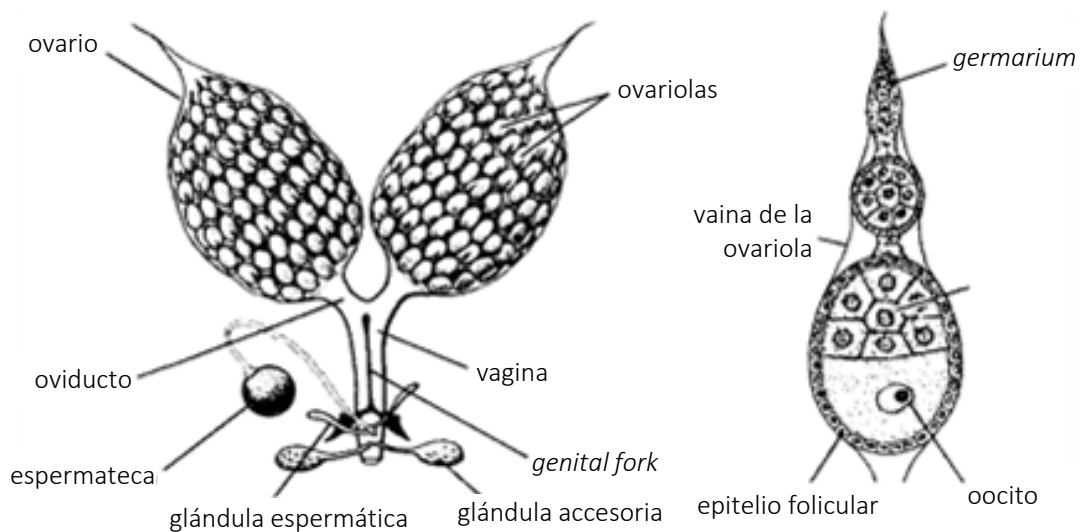


2.1.3. Los ovarios y la maduración de los huevos

Los dos ovarios residen en la cavidad abdominal de la hembra ocupando únicamente la parte posterior del abdomen cuando no están desarrollados, mientras que lo ocupan completamente durante la ovogénesis. Cada ovario, de forma más o menos ovalada, está formado por varios cientos de ovariolas. Éstas son tubos acortados que están sujetos al axis central del ovario y que desembocan independientemente en el extremo del oviducto. La función de las ovariolas es albergar la formación y maduración de los huevos.

La estructura de las ovariolas se puede observar en la Figura 2.5. Las principales estructuras son el *germarium*, un grupo de células germinales, y los folículos, compartimentos donde se almacena el huevo. Al inicio de la ovogénesis una única célula se diferencia formando el oocito que dará lugar al futuro huevo, mientras que el resto se comportan como células nodrizas. El folículo va creciendo conforme se va desarrollando el oocito al recibir grandes cantidades de vitelo de las células nodrizas. Cuando el huevo está cercano a la madurez, el folículo segrega su membrana externa incluyendo el *endochorion* o cáscara. La ovogénesis es un proceso consecutivo en el que los huevos maduran uno detrás de otro en cada ovariola. Generalmente todos los huevos que se desarrollan durante una ovogénesis maduran al mismo tiempo.

Figura 2.5. Anatomía de los órganos reproductivos femeninos y desarrollo de un huevo dentro de la ovariola (Crosskey, 1990)



El número de huevos madurados podría depender de factores como el tamaño de la ingesta sanguínea y la especie hospedadora (Anderson, 1987). Los estímulos hormonales asociados con la ovogénesis en los simúlidos están poco estudiados. Los cambios morfológicos acontecidos en las ovariolas de las moscas negras durante la ovogénesis son similares a los descritos en los mosquitos y otros dípteros nematóceros, donde están controlados por una serie de eventos endocrinos (Clements, 1963; Anderson, 1987).

2.1.3.1. Estadios de maduración de los huevos

La ovogénesis de los simúlidos es similar a la de otros dípteros hematófagos y las distintas fases que comprenden el desarrollo del huevo se clasifican de la misma manera.



Christophers (1911) describió cinco estadios principales en la ovogénesis de la familia *Culicidae*:

- Estadio I: El óvulo apenas se diferencia de las células nodrizas, y no hay depósito de vitelo.
- Estadio II: Comienza el depósito de vitelo, ocupando un tercio del folículo.
- Estadio III: Continúa el depósito de vitelo, ocupando la mitad o dos tercios del folículo.
- Estadio IV: Continúa el depósito de vitelo en el espacio folicular, ocupando tres cuartas partes del folículo.
- Estadio V: El depósito de vitelo se ha completado, el huevo está maduro dentro del folículo y las membranas se han desarrollado.

Posteriormente otros autores han descrito variaciones a este sistema (Mer, 1936; Rühm, 1970a). Por su parte, Cupp y Collins (1979) describieron el desarrollo folicular de los ovarios para la especie *S. ochraceum* basándose en los estadios de Christophers descritos anteriormente.

2.1.3.2. Estimación de la edad

Determinar la edad de las hembras de los dípteros hematófagos tiene una importancia primordial ya que la longevidad afecta a las tasas de reproducción y las distancias de dispersión de los adultos. Un análisis crítico de la composición de la edad de una población es también crucial en los estudios epidemiológicos (Macdonald, 1952, 1957; Nájera, 1974; Dye, 1984a).

Tyndale-Biscoe (1984) divide los métodos para datar la edad de los insectos en tres categorías:

1. Aquellos basados en las marcas externas debido al desgaste con la edad como el deshilachado de las alas o el desprendimiento de las escamas del cuerpo.
2. Aquellos basados en los cambios somáticos que se producen con la edad como los anillos de crecimiento en la cutícula o la presencia o ausencia del meconio (*meconium*).
3. Y por último los cambios en el sistema reproductivo como la disposición de las traqueolas de los ovarios.

Los métodos para datar la edad han sido ampliamente estudiados en los culícidos sirviendo de referencia las revisiones de Charlwood *et al.* (1980) y WHO (1975a, b). Además otros autores han realizado revisiones sobre la datación de la edad en insectos no vectores (Neville, 1983; Tyndale-Biscoe, 1984; Lehane, 1985). Sin embargo, la datación de la edad en simúlidos se ha realizado para pocas especies (Anderson, 1987). De todos los métodos para datar la edad fisiológica, los dos con más reconocimiento son los englobados en el tercer grupo descrito por Tyndale-Biscoe (1984): la disposición de las traqueolas de los ovarios basado en la observación de Detinova (1945) y el método de Polovodova (Detinova, 1949; Polovodova, 1949) basado en la observación de las dilataciones de las ovariolas. En los simúlidos el método utilizado se enmarca dentro de esta segunda opción.

Estrechamente relacionado con la edad de la hembra está su estado reproductivo, clasificándolas como hembras paras o nulíparas. Los cambios que se producen en los ovarios una vez que una hembra de un insecto ha puesto los huevos son ampliamente utilizados para datar fisiológicamente la edad de las hembras (Tyndale-Biscoe, 1984). Tras la puesta de los huevos los ovarios no recuperan su estructura inicial. Sus paredes, inicialmente resistentes para mantener una forma compacta, pasan a ser menos elásticas tras el “aflojamiento” de las ovariolas. Las ovariolas tras la ovoposición contienen los restos arrugados de los folículos vacíos,



conocidos como reliquias foliculares. Éstos, justo después de la puesta, pueden ser grandes y obvios, pero siempre degeneran completamente antes de la siguiente puesta de huevos. En algunas ocasiones, algunos huevos se mantienen en las ovariolas (huevos retenidos). Para apreciar estos cambios es necesario realizar la disección de las hembras de mosca negra. Entonces se observa si una hembra ya ha puesto huevos al menos una vez (hembra para) o no ha realizado ninguna puesta (hembra nulípara). La presencia de reliquias foliculares o algún huevo retenido en los ovarios es la constatación que estamos ante una hembra para.

Además, existen otros órganos abdominales relacionados con la condición del ovario que ayudan a la determinación fisiológica de las hembras. Este es el caso del cuerpo graso, que se encuentra más reducido en las hembras paras y bien desarrollado en las nulíparas. Algo similar ocurre con los túbulos de Malpighi, que son claros en las paras mientras que adquieren opacidad y oscuridad en las nulíparas (Rühm, 1970). También hay otros órganos sobre los que los autores se han apoyado para distinguir la condición fisiológica de las hembras como el color del intestino y la papila rectal o la presencia del espermátforo (Anderson, 1987).

En el caso de los mosquitos, las reliquias foliculares normalmente persisten a lo largo de toda la vida de los mosquitos; y como cada una de las reliquias foliculares corresponde a un CG es posible conocer el número exacto de CG que ha desarrollado una hembra de culicido (Detinova, 1949; Lehane y Laurence, 1978; Lehane, 1985). Aunque este método no está exento de problemas y son numerosos los autores que han descrito excepciones (Nelson, 1964; Detinova, 1968; Bellamy y Corbet, 1974; Tyndale-Biscoe, 1984; Rusell, 1986).

2.1.3.3. Estimación de la tasa de supervivencia

Además de la edad, el conocimiento de las tasas de supervivencia en una población puede ayudar en la evaluación del impacto de las medidas de control (Molineaux *et al.*, 1976, 1979). Los métodos que se usan para estimar la tasa de supervivencia en simúlidos fueron inicialmente descritos para mosquitos. A continuación se describen los dos más importantes:

- Método de la tasa de hembras paras de Davidson

Davidson y Draper (1953) y Davidson (1954) mostraron que la tasa de supervivencia diaria podía ser calculada a partir de la proporción de hembras paras en una población. Si el CG tiene una duración de 2 días, entonces la tasa de supervivencia diaria (*daily survival rate*, DSR) se estima como la raíz cuadrada de la tasa de hembras paras; si dura 3 días entonces se usa la raíz cúbica, etc. Davidson (1954) señaló que este método únicamente funcionaba siempre y cuando se conociera con precisión el intervalo entre CG sucesivos en campo.

Esto no es siempre fácil de conseguir y no se puede extrapolar de las observaciones realizadas en laboratorio. Si las hembras requieren dos ingestas sanguíneas en el primer CG o poseen ritmos de alimentación irregulares, entonces la aplicación de este método no es tan sencilla. Garret-Jones y Grab (1964) calcularon las DSR para diferentes patrones de alimentación. Gracias a esta observación, el método de Davidson (1954) es el más ampliamente utilizado para determinar la DSR en investigaciones de campo (Chandra *et al.*, 1996; Walker *et al.*, 1998; Vythilingham *et al.*, 2003).

- Método de Vercruyse

Vercruyse (1985) expuso que estimar de manera precisa la supervivencia diaria dependía de un muestreo justo que no infraestimara la presencia de ciertos grupos de edad, como



por ejemplo las hembras nulíparas. Para ello clasificó las hembras de *An. arabiensis* en Senegal en tres grupos de edad: hembras con ovarios en estado de Cristophers I y II temprano las denominó como pregrávidas, y las no pregrávidas las dividió en nulíparas y paras. Calculó entonces la tasa de supervivencia para cada grupo de edad y luego estimó la tasa de supervivencia global.

2.1.3.4. Estimación de la duración del CG

Las hembras de numerosos insectos hematófagos desarrollan y realizan una puesta de huevos cada vez que ingieren la suficiente cantidad de sangre de un hospedador. Este fenómeno es conocido como concordancia gonotrófica (Swellengrebel, 1929). Según Beklemishev (1940) el CG está constituido por varias fases: a) la búsqueda de un hospedador sobre el cual realizar la ingesta sanguínea, b) la digestión de la sangre y maduración de los huevos, y c) la búsqueda de un lugar para realizar la ovoposición y la realización de la misma. Por consiguiente, la duración del CG puede definirse como el intervalo de tiempo entre dos ingestas sanguíneas consecutivas o bien entre dos ovoposiciones consecutivas. Aunque a lo largo del tiempo los autores que han estudiado el CG de los simúlidos han utilizado definiciones diferentes sobre este concepto incluyendo lapsos de tiempo distintos (Crosskey, 1990).

Los métodos más fiables para determinar la duración del CG son los que se basan en datos obtenidos en estudios de campo y no los que únicamente están basados en laboratorio. Éstos últimos ignoran el comportamiento de las hembras grávidas en la naturaleza; la dificultad para encontrar un lugar adecuado para criar también forma parte del CG, matiz que no se puede estudiar en laboratorio (Service, 1990).

Una de las formas de calcular el CG es usar una regresión lineal múltiple de los datos de la edad fisiológica (hembras paras y nulíparas) de los dípteros hematófagos capturados durante 20 o más días (Birley y Boorman, 1982; Charlwood *et al.*, 1985). La alternativa es utilizar el método de marcaje-suelta-recaptura, que ha sido utilizado por numerosos autores en estudios de mosquitos (Gillies y Wilkes, 1965; McClelland y Conway, 1971; Charlwood *et al.*, 1986) y simúlidos (Porter y Collins, 1985; Rodríguez-Pérez *et al.*, 2001). Esta técnica consiste básicamente en soltar mosquitos marcados criados en laboratorio o bien capturados en el campo y posteriormente intentar recapturarlos en los siguientes días. De esta forma se correlacionan el número de dilataciones en los ovarios de las hembras recapturadas para estimar la duración del CG. Son varios los autores que han descrito ecuaciones para este tipo de metodología (Gillies, 1961; Charlwood *et al.*, 1986; Saul, 1987; Hii *et al.*, 1990).

Dentro de la primera opción, Birley y Rajagopalan (1981) y Birley y Boorman (1982) desarrollaron un método que posteriormente fue perfeccionado por Birley (1984) para calcular la duración del CG basándose en los datos de las capturas de varios días consecutivos tanto de hembras sin alimentar como hembras ingurgitadas con sangre, las cuales se clasificaban como nulíparas y paras. En esencia es un análisis de series temporales. La fórmula propuesta para estimar la tasa de supervivencia y de picadura está basada en las siguientes asunciones: 1) las hembras capturadas en intervalos diarios son clasificadas como nulíparas y paras; 2) las hembras nulíparas y paras son muestreadas con igual eficiencia; 3) la mayoría de las hembras requieren únicamente una ingesta sanguínea por CG o por ciclo de ovoposición; 4) todas las hembras completan cada ciclo en el mismo número de días; y 5) todas las hembras repiten el ciclo con la misma probabilidad de pérdida ya sea por muerte o migración. Sin embargo, estas



condiciones son difíciles de medir en condiciones de campo, ya que la verdadera tasa de supervivencia es desconocida, el reclutamiento de hembras puede variar y el sesgo de captura puede no ser evidente. El concepto del modelo es que el número de moscas paras que pican en un tiempo t es igual al total de picaduras en un CG temprano multiplicado por la proporción de la supervivencia por ciclo.

$$M_t = P_u - T_{t-u}$$

$$T_t = N_t + M_t$$

donde: t = tiempo medido en días; N = número de hembras nulíparas en una muestra; M = número de hembras paras en una muestra; T = número de hembras totales en una muestra; u = duración del ciclo de ovoposición; y P = tasa de supervivencia por ciclo de ovoposición.

Entonces, P_u se estima como:

$$P_u = \sum M_t / \sum T_{t-u}$$

Como no se conoce el ciclo de ovoposición, el cálculo se repite para $u = 0, 1, 2, 3, 4, 5$ y 6 días. Para cada valor de u , el residual de la suma de los cuadrados (R) es calculado como el grado de bondad de ajuste o índice de correlación expresado en %. La siguiente fórmula puede ser usada para calcular el valor aproximado del índice:

$$R_u = (2 \times E - D \times P) \times \frac{P}{B}$$

donde: E = suma de los productos cruzados de $M_t \times T_{t-u}$; D = suma de los cuadrados $T_{t-u} \times T_{t-u}$; B = suma de los cuadrados $M_t \times M_t$; P = estimado P_u .

Un examen de los valores calculados de R_u para todos los valores de u muestra si la población es consistente día a día (coherente) o si es dominada por fluctuaciones (incoherente), y también si el reclutamiento es relativamente viable. El valor de R_u oscilará entre 0 y 1. Valores cercanos a 1 indican un alto grado de correlación y consistencia día a día. R_u alcanza un máximo cuando $u = 0$, y entonces disminuye a medida que se incrementa u . Puede observarse un segundo pico cuando $u = 3, 4$ o 5 y ésta es la mejor estimación de la media de ciclo de ovoposición. Si todos los valores de R_u son elevados y el pico poco pronunciado entonces indican que el reclutamiento es relativamente constante. Sin embargo, si todos los valores de R_u son inferiores (excepto $u = 0$), esto indica que la población es incoherente o que el protocolo de muestreo es inadecuado y que no se puede estimar la supervivencia por este método.

Birley y Boorman (1982) sugirieron que la estimación de la tasa de supervivencia y periodo de ovoposición por análisis de series de tiempo está basada en adultos que son capturados con cebo por un mínimo de 20-25 días consecutivos.

Holmes y Birley (1987) reexaminaron el método de Birley y Rajagopalan (1981) y decidieron que era mejor incorporar un filtro generalizado dentro de las correlaciones cruzadas entre las series temporales y así evitar los picos debidos a falsas correlaciones cruzadas. También mejoraron el modelo incorporando regresiones lineales de peso que estabilizaron la varianza.

Los métodos de Birley y Rajagopalan (1981) y Birley y Boorman (1982) asumen que las hembras de mosquitos requieren tan solo una ingesta sanguínea para completar el ciclo de ovoposición, pero algunas especies necesitan una ingesta sanguínea adicional cuando son nulíparas. Por esta razón Mutero y Birley (1987) modificaron la ecuación para tener este aspecto en cuenta.



Briët (2002), por su parte, simplificó el método de estimar la tasa de supervivencia de las poblaciones de mosquitos adultos que son objeto de variaciones estacionales en el reclutamiento de las hembras, el cual no requiere de un muestreo diario tan intenso para el análisis de las series temporales. El modelo utiliza intervalos de muestreo de una o dos semanas en lugar del muestreo diario.

La duración del CG depende de la temperatura y normalmente tiene una duración menor en regiones tropicales que en templadas (Crosskey, 1990). El CG en simúlidos ha sido estudiado ampliamente en regiones endémicas de oncocercosis donde aporta un valioso conocimiento en el estudio de la epidemiología de la enfermedad, y sin embargo está poco estudiado para las especies que habitan zonas templadas. Numerosos estudios realizados en África muestran que la duración del CG del complejo *S. damnosum* oscila entre 3 y 5 días (Wanson y Lebed, 1948; Lewis, 1953; Le Berre, 1966). En cuanto a las especies americanas, el complejo *S. ochraceum* coincide también con su homólogo africano en la duración del CG (Cupp y Collins, 1979; Garms y Ochoa, 1979; Porter y Collins, 1985; Rodríguez-Pérez *et al.*, 1995). Hay especies que poseen CG más cortos por ejemplo, dos días para el complejo *S. metallicum* en Venezuela (Ramírez-Pérez *et al.*, 1976) y México (Rodríguez-Pérez *et al.*, 2001) y apenas 24 h para *A. pestilens* en Queensland (Hunter y Moorhouse, 1976). A pesar de que el estudio del CG en especies que habitan las regiones templadas está muy atrasado existen algunos trabajos como el de Ham y Bianco (1984) que muestran como el intervalo de tiempo desde la ingesta sanguínea hasta la gravidez de los huevos es de 3 a 5 días para el complejo *S. ornatum* y *S. lineatum*.

2.2. Objetivos

El **objetivo general** de este capítulo es estudiar la bioecología de *S. erythrocephalum* en la ciudad de Zaragoza y su relación con la salud pública.

Y como **objetivos específicos** se plantean los siguientes:

1. Estudiar el patrón diario de *landing* sobre el ser humano de *S. erythrocephalum* y su relación con los parámetros ambientales en las orillas del río Ebro en la ciudad de Zaragoza.
2. Estudiar la longitud del CG de *S. erythrocephalum* y su tasa de supervivencia diaria en las orillas del río Ebro en la ciudad de Zaragoza.
3. Demostrar y discutir cómo afecta la bioecología de *S. erythrocephalum* en relación a su papel como problema emergente de salud pública en España.
4. Estudiar el comportamiento de cópula en enjambres de *S. erythrocephalum*.

2.3. Metodología

2.3.1. Área de estudio

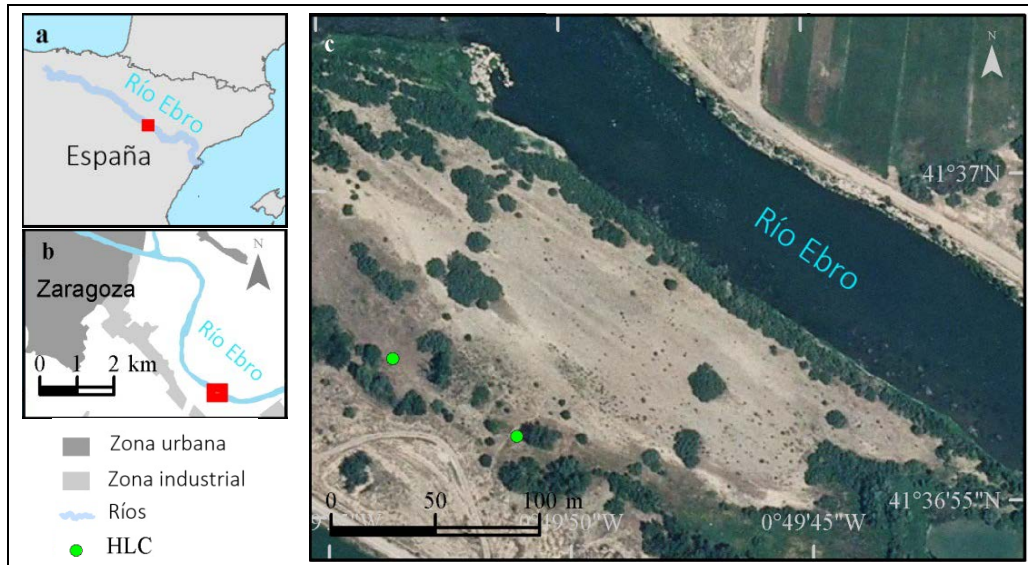
Con el fin de seleccionar el punto más idóneo para realizar el trabajo se realizó un muestreo previo al inicio del estudio, a final de mayo y principio de junio de 2015. El lugar del estudio debía cumplir determinados requisitos. En primer lugar que fuera un lugar en la ribera del Ebro que asegurará la presencia de formas preimaginales y adultos de *S. erythrocephalum*. Además



debía de tratarse de una zona algo resguardada y no concurrida por la gente, con un fácil acceso con vehículo. Y como última condición, que el lugar estuviera integrado en las zonas de cría donde se desarrollan los ejemplares adultos que posteriormente puedan causar molestias en la ciudad de Zaragoza.

Finalmente, tras evaluar varias zonas en la ribera del río Ebro, se decidió realizar el estudio en el barrio rural de La Cartuja, perteneciente a la ciudad de Zaragoza (Figura 2.6a). Es un área seminaturalizada, a 5,4 Km aguas abajo del azud del Ebro que marca el final de la zona urbanizada de Zaragoza (Figura 2.6b).

Figura 2.6. Área de estudio (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2017a)



a) Ubicación de Zaragoza en España; b) Lugar de muestreo (rectángulo rojo) en el barrio rural de La Cartuja, donde se capturaron las hembras de *S. erythrocephalum*; c) Posición de las dos personas que capturaron las hembras de simúlidos (círculos verdes).

En este tramo, las orillas del río están parcialmente cubiertas de vegetación con las típicas especies ribereñas del Valle medio del Ebro como son chopos (*Populus* spp.), sauces (*Salix* spp.) y otras especies arbustivas como zarzas (*Rubus* spp.) y tamarices (*Tamarix* spp.) (Figura 2.7). Además, un poco más distantes del cauce, existen terrenos de cultivo de maíz y alfalfa principalmente. El punto seleccionado se situó en la margen derecha del río Ebro, a 115 m de la orilla ($41^{\circ}36'55.97''N$, $00^{\circ}49'52.57''W$, 185 msnm; Figura 2.6c) y distante 1 Km en línea recta del barrio de La Cartuja. Teniendo en cuenta la gran capacidad de vuelo de estos insectos (Crosskey, 1990), desde esta ubicación podrían desplazarse al casco urbano de la ciudad.

Figura 2.7. Entorno del punto de muestreo



En los años anteriores ya se había detectado una presencia abundante de formas preimaginales de esta especie en la zona, aguas abajo de la ciudad de Zaragoza (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2014b). Este tramo ya había sido objeto de control larvario con *Bti* tras el primer brote de simúlidos acontecido en Zaragoza capital en 2011 (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2012b). Aunque, tras hablar con el responsable del control de plagas del Instituto Municipal de Salud Pública del Ayuntamiento de Zaragoza no estaba previsto realizar ninguna actuación de control larvario de simúlidos en la zona, que pudiera afectar el desarrollo del presente estudio.

Para la realización de la toma de muestras se obtuvo la autorización del Instituto Aragonés de Gestión Ambiental (INAGA ref. 500201/24/2015/4464) (Anexo II).

2.3.2. Patrón diario de aterrizaje sobre el ser humano (*daily human-landing pattern*)

Para el estudio del patrón diario de aterrizaje sobre el ser humano (*daily human-landing pattern*, DHLP), las moscas fueron capturadas usando la técnica de cebo humano. Esta técnica consiste en la exposición de una persona a las picaduras de los dípteros hematófagos que sienten atracción por alimentarse de ella (Service, 1993). Esta metodología es excelente para estimar las poblaciones de numerosas especies de dípteros hematófagos. Es la técnica estándar y más extendida en la captura de las especies de simúlidos antropófilas (especies que se alimentan sobre las personas) (Service, 1977; Rodríguez-Pérez *et al.*, 2013) a pesar del debate ético que suscita en zonas endémicas de oncocercosis (Young *et al.*, 2015).

Para la realización de esta técnica se obtuvo la aprobación por parte del Comité Ético de Investigación Clínica de Aragón (CEICA) (Referencia nº PI15/0147) (Anexo III). No se tuvo que recurrir a firmar ningún documento de consentimiento informado puesto que las personas voluntarias fueron las mismas que diseñaron el protocolo de este estudio.

Dos personas sirvieron como voluntarios (el doctorando de la presente tesis y un compañero con experiencia en este tipo de estudios, JAGH) para exponerse a las picaduras de los simúlidos a la vez que capturaban las moscas que se posaban sobre cada uno de ellos. Ambos estaban situados bajo la sombra de un árbol, separados por una distancia de 75 m entre ambos (Figura 2.6c). Dentro del mismo punto, los dos voluntarios fueron variando su posición con respecto al árbol a lo largo del día de tal forma que no estuvieran expuestos directamente a los rayos del sol.

Los voluntarios no eran fumadores ni usaron ningún tipo de loción, crema o perfume que pudiera interferir en el comportamiento de atracción de los simúlidos sobre el hospedador. Los voluntarios llevaban pantalones cortos oscuros, o en su defecto pantalones largos pero remangados, y una camiseta de manga corta de color claro, de tal forma que tanto parte de los brazos como de las piernas quedaban expuestos a las picaduras de la mosca negra (Figura 2.8). La cabeza y el cuello también se dejaron al descubierto sin usar ningún tipo de prenda que los cubriera. La mosca negra no es capaz de atravesar la ropa con sus piezas bucales durante el proceso de la picadura, ya que esta familia de dípteros hematófagos pertenece al grupo de los telmófagos caracterizada con unas piezas cortas y robustas que sólo le posibilitan incidir la piel.

El voluntario, sentado en una silla a la sombra, fue capturando los individuos de mosca negra que se fueron posando sobre su piel expuesta (Figura 2.8). Se intentó en la medida de lo posible no dejar a ninguna mosca negra realizar el *probing* o el *biting*. Una vez que una mosca se



posaba sobre la piel del voluntario, ésta era capturada individualmente en un tubo de poliestireno de 75 x 12 mm (Thermo Scientific, EE.UU.) (Figuroa *et al.*, 1977) (Figura 2.8).

Figura 2.8. Técnica de cebo humano (*human landing collection*, HLC)



Todas las capturas realizadas durante un periodo de tiempo se introdujeron en una bolsa de plástico con cierre hermético debidamente rotulada y posteriormente introducida en una nevera portátil con placas de gel heladas en su interior para su conservación en vivo hasta la llegada al laboratorio. Las moscas fueron identificadas individualmente y posteriormente diseccionadas para determinar el estado gonotrófico y el total de hembras nulíparas y paras. En los primeros días del estudio, esta disección fue realizada durante la noche en el laboratorio entomológico instalado para la ocasión en la vivienda del doctorando.

Al cabo de 4 días de estudio se observó que durante las horas centrales del día, con las temperaturas tan altas no había actividad por parte de los simúlidos adultos. De esta forma, a partir del quinto día, se aprovecharon las horas centrales del día para realizar las disecciones en el campo (Figura 2.9), en el mismo lugar donde se realizaban las capturas. Este cambio en el protocolo supuso que la anestesia de las moscas negras se realizara en campo introduciendo los tubos de poliestireno directamente en hielo. De esta forma se ralentizaba su metabolismo y se aprovechaba su inmovilidad para identificar la especie y posteriormente diseccionar la genitalia de las hembras. La identificación taxonómica y disección se realizó a 30 aumentos (30x) bajo una lupa estereoscópica Motic SMZ-168 Series (Hong Kong).

Figura 2.9. Disección en campo de una hembra de *S. erythrocephalum*



La captura de las moscas se llevó a cabo durante los primeros 40 min de cada hora, comenzando a las 6:30 y terminando a las 20:30 durante 12 días consecutivos desde el 29 de mayo al 9 de junio de 2015. El periodo de muestreo se seleccionó para coincidir con el amanecer (06:29) y el atardecer (21:38) en esa latitud durante el primer día de estudio en mayo. El muestreo terminaba a las 20:30 por la ausencia de luz solar. Los voluntarios que realizaban el cebo humano rotaron de sitio entre ellos diariamente para evitar el posible sesgo debido a la ubicación de los voluntarios (Kettle y Linley, 1967).

La tasa diaria de *landing* humano por hora fue calculada como el número total de hembras de *S. erythrocephalum* capturadas durante cada periodo de muestreo dividido por el número de cebos humanos y fue expresado como número de *landing*/persona/hora. Existe una proporción de moscas negras que realizan el *landing* sobre la piel pero que en realidad no pican siempre. Así pues la tasa de *landing* representa el máximo de picaduras (*biting*) posible.

Se usó un modelo mixto lineal generalizado en SAS (SAS software versión 9.4 13w18 Media) para adecuar la tasa de *landing* sobre el ser humano durante los 12 días a un modelo de distribución binomial negativo y comparar las medias de los mínimos cuadrados de los periodos de muestreo.

2.3.3. Variables meteorológicas

Se registró la temperatura (°C) y HR (%) durante cada periodo de muestreo usando una estación meteorológica portátil (EasyWeather™ PCE-FWS20, España), que fue situada debajo de la sombra de un árbol en el lugar de captura de los simúlidos adultos.

Los registros sobre la velocidad del viento (km/h), la precipitación (mm³) y la radiación solar (W/m²) fueron obtenidos de la estación meteorológica más cercana del Gobierno de Aragón, en Pastriz (Zaragoza; 41°35'39.40''N, 00°43'49.48''W, 192 msnm) a 8,6 Km del punto de captura de los simúlidos. Todos los datos meteorológicos fueron registrados cada hora, diariamente, desde las 06:00 hasta las 22:00. Los patrones diarios de *landing* dependen de las variables meteorológicas, y por consiguiente los datos fueron transformados con la función Ln(X+1), usando un modelo de regresión lineal múltiple para identificar cuáles de estas variables estaban correlacionadas con el patrón diario de *landing*.

Se realizó un análisis de correlación y un modelo de regresión lineal múltiple para analizar la asociación de las variables climáticas con los periodos de muestreo durante los 12 días de estudio.

2.3.4. Duración del CG y de la tasa de supervivencia

La técnica de análisis de series temporales (Birley y Boorman, 1982) ha sido satisfactoriamente aplicada para determinar la supervivencia y la longitud del CG en simúlidos (Birley *et al.*, 1983; Rodríguez-Pérez *et al.*, 1995). Los resultados han sido similares a los obtenidos con las técnicas de marcaje-suelta-recaptura (Milby y Reisen, 1989; Collins *et al.*, 1992; Rodríguez-Pérez *et al.*, 2001). En nuestro caso, se seleccionó la técnica del análisis de la correlación cruzada de las series de tiempo porque en nuestro medio no se tiene conocimiento sobre la ecología de los adultos de simúlidos y también debido a la gran variación observada en las poblaciones de adultos en el Valle del Ebro en los años previos; hechos que impedían realizar un estudio de marcaje-suelta-recaptura.



La duración del CG y de la tasa de supervivencia de *S. erythrocephalum* fue calculada usando un periodo de muestreo adicional de 10 días consecutivos además de los 12 días correspondientes al estudio del patrón de *landing* humano de *S. erythrocephalum* (10-19 de junio de 2015), contabilizando un total de 22 días de captura para el análisis de los datos. Sin embargo en esta ocasión la captura de los adultos de simúlidos se realizó en el periodo comprendido entre las 18:30 y 20:30, el cual corresponde con el principal pico de actividad diario de *landing* sobre el ser humano. Se utilizó la misma técnica de captura sobre cebo humano descrita en el apartado anterior.

Todas las hembras de *S. erythrocephalum* fueron diseccionadas individualmente en solución salina al 0,85% y clasificadas como nulíparas o paras según la presencia de dilataciones saculares y reliquias foliculares en la túnica del ovario (Cupp y Collins, 1979).

Para realizar el análisis estadístico se crearon series temporales de 22 días. Cada serie temporal fue elaborada definiendo el número de hembras paras (P_t) como variable dependiente (eje Y) y el número de hembras totales (T_f) como variable independiente (eje X). Posteriormente, los datos fueron analizados aplicando el método de Mutero y Birley (1987), usando el "Auto Regressive Integrated Moving Average procedure" (ARIMA, en SAS) para predecir la longitud del CG en días.

El coeficiente r para el día 0 representa la correlación entre P_t y T_f para las moscas capturadas el mismo día. El coeficiente r para un día se obtiene pareando el valor de P_t diario con su correspondiente valor de T_f para todos los días previos. Se asume que el coeficiente significativo de correlación cruzada entre las series temporales expresadas como retraso de temporal (u) equivale a la duración del CG. El valor más alto significativo del coeficiente de correlación cruzada obtenido tras el día cero ($u = 0$), indica el número de días de duración del CG de las poblaciones de *S. erythrocephalum*.

Para evitar falsos picos en los coeficientes de correlación debido a factores no controlados como la inconsistencia en las capturas diarias o capturas dominantes debido a perturbaciones, los datos originales fueron transformados usando una ecuación auto regresiva con un retraso en el tiempo de un día para $Z_t = X_t - \beta (X_{t-1})$, donde Z_t es el dato transformado, X_t son las series de tiempo a filtrar (número de hembras paras capturadas en t días), X_{t-1} es el total de hembras capturadas antes del día t , y β es el parámetro estimado de auto regresión (valor de la pendiente de la regresión lineal aplicada a los datos) (Holmes y Birley, 1987). El patrón diario de paridad (*daily parity rate*, DPR) fue estimado como la proporción entre ΣP_f y ΣT_f .

La DSR fue calculada siguiendo el método de Davidson (1954), usando la proporción de hembras paras en una población y calculando la siguiente ecuación:

$$DSR = \sqrt[x]{DPR},$$

donde: x = duración del CG en días.

La tasa de supervivencia diaria por CG se calculó usando el método de correlación cruzada de (Mutero y Birley, 1987), empleando la siguiente ecuación:

$$\sigma(x, y) = \frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \frac{\sum x}{N})(y - \frac{\sum y}{N})}{N-1} / \sigma_x = \frac{\sum (x - \frac{\sum x}{N})^2}{N},$$

donde: x = número total de hembras; y = número de hembras paras.



2.3.5. Confirmación de la duración del CG a través del estudio de la oogénesis

Para confirmar la duración del CG, se registraron los estados de Christophers de los ovarios (Christophers, 1911; Clements, 1992) de varias hembras de *S. erythrocephalum*. Para ello se alimentaron 32 hembras de *S. erythrocephalum* con sangre de los mismos voluntarios que en los experimentos previos. Se utilizó la técnica del cebo humano, pero en este caso además del *landing* se dejó que las hembras realizaran el *probing* (incidir la piel con sus piezas bucales) y el *feeding* (alimentarse de sangre). Se dejaba a cada hembra ingerir la sangre necesaria hasta que por sí misma se soltará una vez que estuviera repleta de sangre. Transcurrido 1 min, cuando se observaba el abdomen de la hembra hinchado y rojo, se procedía a cubrir a la hembra de simúlido por un tubo de poliestireno de 75 x 12 mm (Thermo Scientific, EE.UU.) de tal forma que cuando acabará de alimentarse ya estuviera introducida en el mismo. Las hembras eran almacenadas de forma individual y mantenidas en oscuridad a 28°C en los mismos tubos de captura, tal como describen Figueroa *et al.* (1977).

Posteriormente se fueron diseccionando tres de las hembras capturadas a intervalos de 6 h a partir del momento de la alimentación, durante 2 días consecutivos. La disección se realizó sobre portas de vidrio que contenían una gota de PBS (*phosphate buffer solution*). Los ovarios se observaron bajo lupa binocular Nikon SMZ1000 (Japón). Cada una de las hembras se clasificó en función del desarrollo folicular de sus ovarios siguiendo los estadios de Christophers descritos por Cupp y Collins (1979).

2.3.6. Observaciones en el comportamiento de cópula

Durante la realización del estudio del patrón diario de aterrizaje (*landing*) sobre el ser humano usando la técnica de HCL se utilizó la observación directa para realizar la descripción del comportamiento de cópula de *S. erythrocephalum* en la naturaleza. Esta descripción incluye aspectos como la formación de los enjambres de machos, el reconocimiento y el abordaje de las hembras por parte de los machos y el desarrollo y duración de la cópula propiamente dicha.

En la observación del comportamiento de cópula se registró la iluminancia (Lux) usando la aplicación App Light Lux Meter v.2.2 para la Tablet Samsung Galaxy Tab 2. GT-P5100ZWMTTT situada junto a los voluntarios que realizaban el HLC.

2.4. Resultados y discusión

En los lugares muestreados del río Ebro se identificaron principalmente larvas y pupas de *S. erythrocephalum*, aunque también se hallaron otras tres especies pertenecientes todas ellas al subgénero *Wilhelmia*: *S. sergenti*, *S. lineatum*, y *S. equinum*. Esta asociación entre *S. erythrocephalum* y especies del grupo *Wilhelmia* es frecuente en otros ríos españoles y europeos (Werner, 2012; Ignjatović-Ćupina *et al.*, 2013; Villanúa *et al.*, 2013). Las especies de este subgénero pueden llegar a producir molestias a las personas por volar insistentemente alrededor de las cabezas de las mismas, pero el ser humano no se encuentra entre sus hospedadores naturales.

En el presente estudio tan sólo la especie *S. erythrocephalum* fue capturada usando la técnica de HLC. No se contabilizaron el número de picaduras en las distintas zonas corporales, pero la mayoría de *landings* se produjeron sobre las zonas descubiertas de las piernas y también



algunos sobre los brazos. Anteriormente ya se han descrito patrones similares en el hábito de picadura, incluyendo también picaduras en la zona del cuello (Živković y Burány, 1972; Ignjatović-Ćupina *et al.*, 2006a). A la vista de los resultados de este estudio se sospecha que *S. erythrocephalum* es posiblemente la especie de mosca negra responsable de las picaduras sobre personas en Zaragoza.

2.4.1. Patrón diario de aterrizaje sobre el ser humano (*daily human-landing pattern*)

Se capturaron un total de 806 hembras de *S. erythrocephalum*, con un DLR de 33,58 *landings*/persona/día para esta especie en la ciudad de Zaragoza. El mayor DLR se observó el 29 de mayo (1^{er} día de estudio) con 105,5 *landings*/persona, mientras que el DLR más bajo se produjo el 2 de junio (5^o día de estudio) con 4,5 *landings*/persona. Esta variación diaria tan grande se ha observado previamente en otros estudios (Rodríguez-Pérez *et al.*, 1995), y podría ser debida a la existencia de olas de emergencia de adultos procedentes de los lugares de cría. Es decir, que la cantidad de adultos que emergen diariamente varía considerablemente, y por consiguiente también varía la cantidad de adultos en búsqueda de hospedadores de los que alimentarse.

El DLR observado en este estudio prueba que *S. erythrocephalum* es una especie altamente antropofílica en España. Živković y Burány (1972) citan a esta especie picando a todas las especies de animales domésticos; sin embargo, la preferencia de hospedador parece diferir dependiendo de la región europea. Ignjatović-Ćupina *et al.* (2006a, 2013) señalan la tendencia de esta especie a alimentarse sobre el ser humano antes que sobre el ganado; sin embargo, Jedlička y Halgoš (1982) sugieren la preferencia por los caballos antes que por las personas, y por su parte, Crosskey (1990) la describe como una plaga que principalmente afecta al ganado vacuno y algunas veces al ser humano. En nuestro caso no se han capturado hembras de *S. erythrocephalum* alimentándose sobre caballos y ovejas en la misma zona de estudio (datos no incluidos), y sobre especies animales únicamente se han capturado individuos pertenecientes a las especies incluidas en el subgénero *Wilhelmia*. Para dilucidar el rango y la preferencia de hospedadores de la especie que nos ocupa sería necesario realizar un estudio más detallado y específico.

El DLR promedio de 33,58 *landings*/persona/día es mucho más elevado que el señalado en Serbia por Ignjatović-Ćupina *et al.* (2006b) para clasificar el riesgo de picadura de esta especie como extremo (>11 picaduras/persona/tarde). Durante los tres primeros días de nuestro estudio, el DLR fue de 106, 77 y 51 *landings*/persona/día, superando ampliamente la media. Sin embargo, nuestro DLR es inferior al señalado por Jedlička y Halgoš (1982) para *S. erythrocephalum* en caballos en Eslovaquia; y probablemente inferior al que acontece en otros países europeos como Suiza donde se produjeron ataques masivos de *S. erythrocephalum* sobre el ganado vacuno que conllevaron incluso la muerte de algún individuo (Eckert *et al.*, 1969).

No tenemos constancia de estudios sobre el DLR de otras especies europeas altamente antropofílicas, como *S. colambaschense* (Adler *et al.*, 2016), *S. ornatum* (Ignjatović-Ćupina *et al.*, 2006b), *S. reptans* (Rivosechi, 1986), *S. posticum* o *S. truncatum* (Crosskey, 1990), por lo que no se pueden comparar con los hallazgos de este estudio. Sin embargo, si comparamos el DLR de *S. erythrocephalum* en Zaragoza con otras especies antropofílicas a nivel mundial, ésta es probablemente mucho menor que la señalada para otras especies antropofílicas importantes de Norteamérica, norte de Rusia y Siberia (Crosskey, 1990); e inferior al DLR de las bien estudiadas



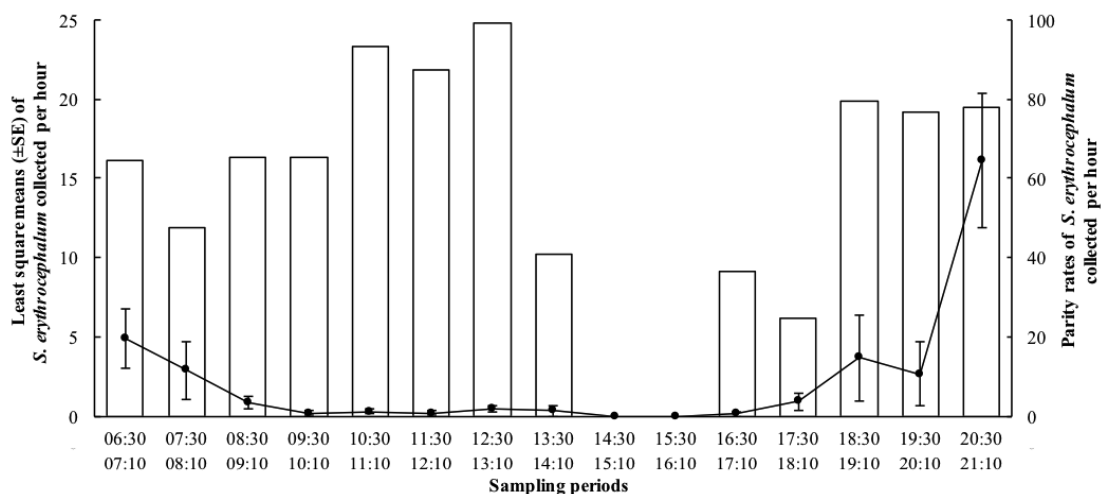
especies africanas y sudamericanas que han estado y están involucradas en las transmisión de la oncocercosis como *S. damnosum* s.l. (Lamberton *et al.*, 2014), *S. oyapockense* s.l. (Grillet *et al.*, 2001) o *S. ochraceum* s.l. (Rodríguez-Pérez *et al.*, 1994). El número de simúlidos que atacan a sus hospedadores puede variar enormemente y está influenciado por numerosos factores (Crosskey, 1990). En nuestro caso, el DLR podría incrementarse en años en que no se produzcan avenidas del río Ebro durante el invierno y primavera que arrastren los macrófitos que sirven como sustrato para el desarrollo de las formas preimaginales de los simúlidos, como sucedió en el año 2015 en Zaragoza.

La actividad de *landing* sobre el ser humano por parte de *S. erythrocephalum* muestra un patrón diario bimodal, con un primer pico de actividad al amanecer, entre las 06:30 y 08:10 (23,1% de los *landings*) y un segundo pico por la tarde entre las 18:30 y las 21:10 (66,9% de los *landings*); el resto de los registros están comprendidos entre las 08:30 y 18:10 (10,0%) (Figura 2.10).

Simulium erythrocephalum posee un patrón de *landing* bimodal, con un pequeño pico al amanecer y otro pico mayor al atardecer. Otros estudios europeos también señalan el atardecer como el periodo de mayor número de picaduras para esta especie (Jedlicka y Halgoš, 1982; Ignjatović-Ćupina *et al.*, 2006b). En España este patrón de *landing* diario bimodal está influenciado por la temperatura y la radiación solar.

Varias especies de simúlidos presentes en Latinoamérica muestran un patrón bimodal variable, con un primer pico durante las primeras horas de la mañana y un segundo pico a primera hora de la tarde (Collins *et al.*, 1981; Grillet *et al.*, 2005). Algunas especies africanas tienen diferentes patrones según la región; típicamente muestran patrones bimodales con picos durante la mañana y al principio del ocaso en regiones de sabana, y una actividad de picadura constante sin picos marcados durante todo el día en regiones forestadas (Lamberton *et al.*, 2014).

Figura 2.10. Patrón diario de landing (línea) y tasa de paras (barras) de las hembras de *S. erythrocephalum* (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2017a)



En el eje de las Y, los valores son expresados como las medias de los mínimos cuadrados \pm error standard del número de moscas atraídas por los cebos humanos. En el eje de las X, los valores representan las tasas de hembras paras expresadas en porcentaje.

Los datos del número de moscas negras capturadas por los dos voluntarios se ajustaron a un modelo de distribución binomial negativo que se utilizó posteriormente para realizar un modelo lineal mixto generalizado (GLMM). El modelo usó el número de moscas negras capturadas como



variable dependiente y el día de captura, el voluntario y el periodo de captura como variables independientes. El modelo se ajustó bien con un valor de $-2 \log$ de verosimilitud igual a 693,58 y con un ratio entre χ^2 de Pearson y los grados de libertad próximo a 1, lo que indica que no hay evidencia de sobredispersión en los datos. Se observó una asociación significativa entre el número de capturas con el día de captura ($p < 0,001$) y el periodo de captura ($p < 0,001$). Mientras que no se observó asociación significativa entre el número de capturas y el voluntario ($p = 0,815$).

La proporción de hembras paras durante el primer y segundo periodo de actividad principal fue de 55,9% y 78,1% respectivamente (Figura 2.10). Una gran proporción de las hembras paras capturadas entre 18:30 y 21:10 presentaron grandes dilataciones en los sacos foliculares (datos no registrados), indicando que la ovoposición había ocurrido entre las 2-4 h previas (Cupp y Collins, 1979).

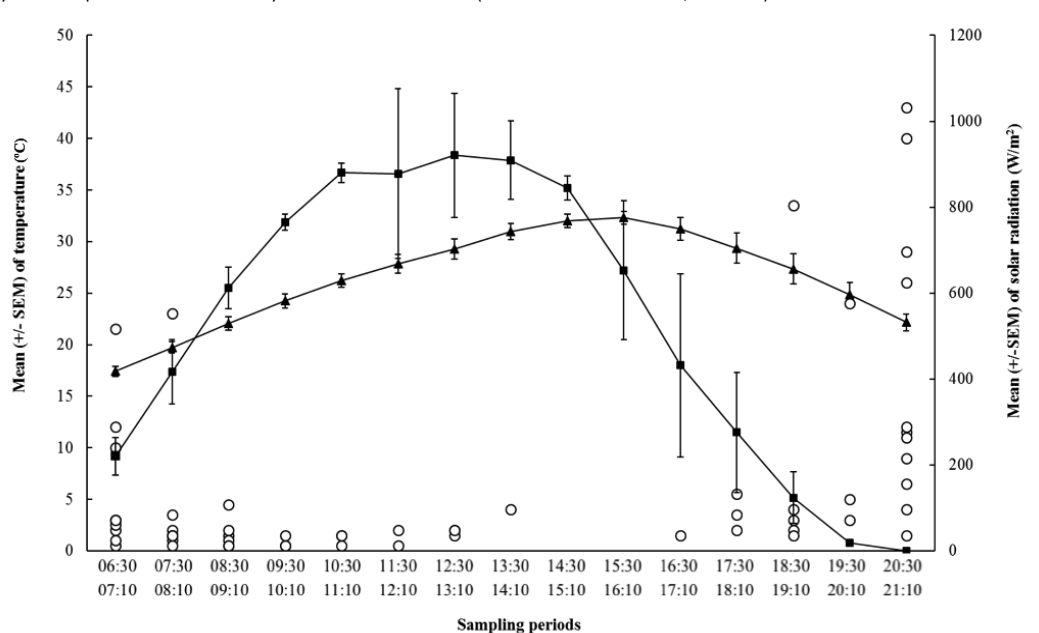
2.4.2. Efecto de las variables meteorológicas en el patrón diario de aterrizaje sobre el ser humano (*daily human-landing pattern*)

De todas las variables medidas (día de captura, periodo de captura, temperatura, HR, velocidad del viento, precipitación y radiación solar) tan sólo la temperatura (T, en $^{\circ}\text{C}$) ($p = 0,003$) y la radiación solar (RS, en W/m^2) ($p < 0,001$) presentaron diferencias significativas para incluirlas en el modelo que estima el DHLP. El modelo de regresión lineal múltiple fue significativo y moderadamente predictivo ($R^2 = 0.474$, $p < 0,001$).

$$\ln(\text{DHLP} + 1) = 6,904 - 1,567 \ln(T + 1) - 0,224 \ln(\text{RS} + 1)$$

La actividad de *landing* de *S. erythrocephalum* estuvo negativamente asociada con el incremento de la temperatura y de la radiación solar (Figura 2.11).

Figura 2.11. Relación entre el número de hembras de *S. erythrocephalum* capturadas por hora y la temperatura del aire y la radiación solar (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2017a)



Los círculos blancos indican la media del número de moscas capturadas en los 12 días de experimento. La línea negra con triángulos indica la media de la temperatura del aire ($^{\circ}\text{C}$) y la línea negra con cuadrados indica la radiación solar (W/m^2).



Tras realizar los experimentos de campo de este capítulo sobre la tasa de *landing*, supervivencia y CG, una ola de calor asoló España durante la primera semana del mes de julio de 2015, incrementando las temperaturas medias diarias. Durante este periodo, se registró una media de 32,15°C durante el segundo pico de actividad (18:30-20:30), 7,35°C mayor que la temperatura media registrada para el mismo periodo del día (24,8°C) durante el estudio. Durante la ola de calor no se capturó ninguna mosca negra usando el cebo humano durante el pico de máxima actividad diaria.

En relación a la radiación solar, las moscas mostraron una actividad agresiva entre 220,43 y 612,48 W/m² durante la mañana, mientras que durante la tarde se concentró por debajo de 123,51 W/m². El máximo de moscas negras capturadas se alcanzó cuando la radiación solar era 0 W/m² a las 20:30, con presencia de una débil luz solar. La iluminación es considerada probablemente el factor externo más importante que influye en el patrón de picadura en simúlidos (Crosskey, 1990). Constatamos que las moscas mostraron un comportamiento agresivo entre los dos picos de actividad cuando el cielo estaba nublado tras la lluvia, estando los valores de la temperatura y la radiación solar entre los rangos mencionados anteriormente para los picos de actividad. El mismo comportamiento ha sido descrito para *S. damnosum* s.l., especie que pica normalmente durante la mañana y antes del crepúsculo, pero que sin embargo continúa picando cuando el cielo está cubierto (Van Den Berghe, 1941; Fallis, 1964).

El rango de temperatura óptimo de *S. erythrocephalum* para la actividad de búsqueda de hospedadores osciló entre 17,4 y 22°C durante la mañana y entre 22,17 y 27,35°C durante la tarde. Nuestras observaciones son similares a las descritas por Berzina (1953) para esta misma especie, con un rango de temperaturas entre 15 y 27°C en el Delta del río Volga y entre 12 y 27°C en el Ártico. Además se observó que la temperatura es un factor limitante, ya que las hembras de *S. erythrocephalum* mostraron inactividad cuando la temperatura superaba los 29°C, incluso con los valores de radiación solar dentro del rango óptimo del segundo pico de actividad.

No se observó asociación significativa entre la actividad de *landing* de *S. erythrocephalum* y el viento; probablemente porque los valores oscilaron entre 1,20 y 2,37 Km/h con rachas de 5,5 Km/h. A su vez el comportamiento de búsqueda del hospedador de esta especie tampoco estuvo asociado significativamente con la HR, lo que coincide con lo observado por Berzina (1953). En el zona media del Valle del Ebro, donde se sitúa la ciudad de Zaragoza, las temperaturas estivales son muy altas durante las horas centrales del día con una HR muy baja incluso dentro del bosque de ribera. Crosskey (1990) reportó como la HR normalmente no es un factor crítico para determinar la actividad de picadura de estos insectos, aunque también lo contrario ha sido observado para algunas especies de Sudamérica y Centroamérica (Collins, 1979; Grillet *et al.*, 2005).

Considerando todo lo anterior, se puede concluir que el amanecer y el atardecer fueron los periodos del día de mayor riesgo para sufrir una picadura de *S. erythrocephalum*. Por lo tanto, el momento óptimo para muestrear *S. erythrocephalum* sería durante las horas previas a la puesta del sol cuando la radiación solar es inferior a 123,51 W/m² y la temperatura está dentro del rango 22,0-27,0°C. Estos resultados deberían tenerse en consideración a la hora de emitir recomendaciones para reducir el número de picaduras en la ciudad de Zaragoza. Por otra parte, que el periodo de actividad principal de *S. erythrocephalum* sea durante las horas previas al



ocaso, hace que éste sea el mejor periodo para monitorizar esta especie. De esta forma, concentrar los esfuerzos de muestreo de adultos durante este periodo puede significar un ahorro de tiempo y dinero dentro de una campaña de control.

A la vista de nuestros resultados, el HLC podría ser usado de forma rutinaria en futuros estudios entomológicos en el país complementando los métodos de captura con trampas y la monitorización de los lugares de cría.

2.4.3. Duración del CG y de la tasa de supervivencia

Se capturaron un total de 875 hembras con un DPR de 0,72 (635 hembras paras). La mayor captura se produjo el día 2, con 128 hembras (86 hembras paras) y la menor el día 17, con 5 hembras (4 hembras paras). El primer pico de correlación significativo ($p < 0,050$) fue el día 2, usando los datos filtrados. Los coeficientes de correlación cruzada para los datos brutos y filtrados fueron $r = 0,45$ y $r = 0,39$ para un tiempo de retraso ($u = 2$), respectivamente. Usando la fórmula de Davidson (1954), estimamos que la tasa de supervivencia diaria era de 0,85, usando la tasa de hembras paras diaria de 0,72 (Tabla 2.1).

No se observó un patrón diario de hembras paras claro. Ambos picos mostraron una tasa elevada de hembras paras, aunque el segundo pico (al atardecer) fue mayor alcanzando el 78% mientras que al amanecer fue del 56%. Las capturas de hembras recién paras usando el método de HLC, indica que *S. erythrocephalum* comienza a buscar un hospedador sobre el que alimentarse casi inmediatamente tras realizar la ovoposición, hecho señalado para *S. ochraceum* s.l. (Porter y Collins, 1985).

La duración estimada del CG de 2 días para *S. erythrocephalum* es inferior a la calculada para las principales especies vectores de oncocercosis: 3 días para *S. metallicum* s.l. (Rodríguez-Pérez *et al.*, 2001) y 4 días para *S. ochraceum* s.l. en Centroamérica (Porter y Collins, 1985; Rodríguez-Pérez *et al.*, 1995); y sobre 2,5 días para *S. damnosum* s.l. en África occidental (Holmes y Birley, 1987; Cheke, 1995). El CG de 2 días fue confirmado a través de los estudios de la oogénesis. Sin embargo, Rubtsov (1958) indica que el intervalo entre la ingesta sanguínea y la gravidez de los huevos era de 5-7 días para *S. erythrocephalum*. Mientras que Ham y Bianco (1984) señalaron un periodo 3-5 días a temperatura ambiente para esta misma especie. La elevada tasa de hembras paras evidencia a su vez una elevada tasa de supervivencia para esta especie antropofílica. La supervivencia fue estimada en 85%, con una tasa de paridad diaria del 72%, la cual es superior a la reportada para otras especies como *S. ochraceum* s.l. (80%) en México (Rodríguez-Pérez *et al.*, 1995).

Una alta tasa de supervivencia junto con un reducido CG conlleva que *S. erythrocephalum* tenga importantes implicaciones para la salud pública en España. Las hembras de esta especie están potencialmente preparadas para buscar seres humanos sobre los que alimentarse 2 días después de realizar la última ingesta sanguínea y la consiguiente puesta de huevos. En consecuencia, aumenta la posibilidad de que puedan producirse un gran número de picaduras y que las puestas de huevos sean muy abundantes en un corto periodo de tiempo. *Simulium erythrocephalum* tiene un CG de menor duración en comparación con otras especies agresivas europeas como *S. ornatum* complejo o *S. lineatum*, las cuales poseen unos intervalos de ingesta sanguínea-gravidez de huevos de 3-4 días (Davies, 1957; Ham y Bianco, 1984). En el mismo periodo de tiempo, *S. erythrocephalum* podría alimentarse dos veces sobre personas, si



se compara con la única vez de las especies anteriormente citadas que poseen un CG más largo. Este hecho, junto con la fuerte naturaleza antropófila y su eficiencia en la localización de los hospedadores podrían ser factores que expliquen la capacidad de *S. erythrocephalum* para desarrollar brotes en España.

Tabla 2.1. Número de hembras de *S. erythrocephalum* capturadas

Día de captura	Hembras totales	Hembras paras	Σ hembras totales	Σ Hembras paras	Tasa de paridad diaria
1	98	67	98	67	0,55
2	128	86	226	153	0,67
3	90	66	316	219	0,69
4	31	25	347	244	0,70
5	9	6	356	250	0,70
6	42	37	398	287	0,72
7	28	18	426	305	0,71
8	18	17	444	322	0,72
9	52	43	496	365	0,73
10	58	43	554	408	0,73
11	22	18	576	426	0,74
12	11	6	587	432	0,73
13	13	8	600	440	0,73
14	47	31	647	471	0,72
15	13	9	660	480	0,72
16	16	10	676	490	0,72
17	5	4	681	494	0,72
18	31	21	712	515	0,72
19	47	32	756	547	0,72
20	39	27	798	574	0,71
21	27	23	825	597	0,72
22	50	38	875	635	0,72

2.4.4. Confirmación de la duración del CG a través del estudio de la oogénesis

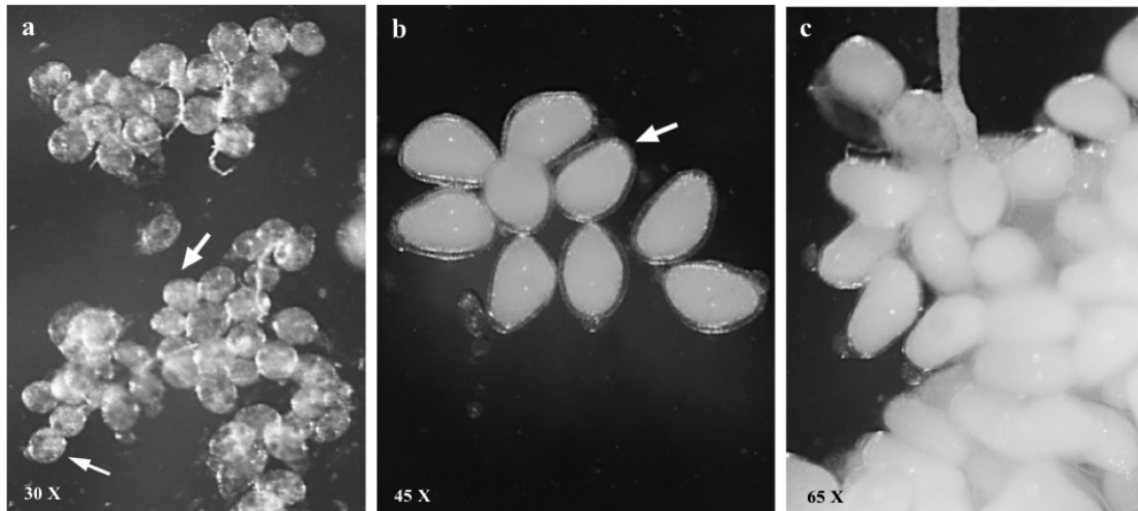
Tras la ingesta sanguínea por parte de las hembras, se observaron una serie de cambios en los ovarios, que describimos en la siguiente cronología:

1. 0 h: Se produce la ingesta de sangre de la hembra de *S. erythrocephalum* sobre el voluntario.
2. 6 h tras la ingesta sanguínea: Los ovarios están en estadio III, con el núcleo no visible y el vitelo ocupando el 30-40% del espacio folicular; las células nodrizas o células de Sertoli están aglomeradas en la porción distal del folículo (Figura 2.12a).
3. 12-36 h tras la ingesta sanguínea: Los ovarios están en estadio IV, concretamente, con el vitelo ocupando la práctica totalidad del espacio folicular y las células de Sertoli compactadas principalmente en la parte distal (Figura 2.12b).
4. 42-48 h tras la ingesta sanguínea: Los ovarios están en estadio V, con la existencia de un verdadero corión y con el micropilo visible (Figura 2.12c), lo que indica el final de la oogénesis (Rubtsov, 1958; Cupp y Collins, 1979).



Esta parte del estudio fue realizada en laboratorio y por lo tanto no se puede contabilizar el periodo de tiempo que una mosca negra puede invertir en localizar los lugares de cría para realizar la puesta de huevos. Sin embargo, se sobreentiende que, en nuestro caso, ese tiempo es mínimo ya que el estudio se estaba realizando a escasos 200 m de la orilla del río Ebro. Este periodo de tiempo también forma parte del CG aunque no se pueda contabilizar en el estudio de la oogénesis en laboratorio. A pesar de esta dificultad, gracias al estudio de la oogénesis se confirmó la duración de 2 días para el CG obtenido en el estudio de las series de tiempo.

Figura 2.12. Oogénesis de *S. erythrocephalum* (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2017a)



a) 6 h tras la ingesta sanguínea: ovarios en estadio III (las flechas señalan que el vitelo ocupa el 30-40% del espacio folicular). b) 12-36 h tras la ingesta sanguínea: Ovarios en estadio IV. c) 42-48 h tras la ingesta sanguínea: Ovarios en estadio V.

2.4.5. Observaciones en el comportamiento de cópula

Hasta el momento poco se sabe sobre el comportamiento de cópula de los simúlidos en la naturaleza (Adler *et al.*, 2004), especialmente en nuestro entorno, por ello las observaciones realizadas durante el estudio suponen unas aportaciones interesantes al ser la primera descripción de la cópula de una especie de simúlido en España.

Se capturaron varios machos de los enjambres y también un par de parejas en cópula, identificando todos los ejemplares como *S. erythrocephalum*. A pesar de la presencia de otras especies en la zona (*S. sergenti*, *S. lineatum* y *S. equinum*), tan sólo se identificó esta especie en comportamiento de cópula.

Las observaciones *in situ* sobre el comportamiento de apareamiento de *S. erythrocephalum* se produjeron durante los primeros 5 días del estudio del patrón de picadura; en los cuales siempre se observó la formación de enjambres de machos como prerequisite antes de la cópula. Los enjambres se iban formando junto a los voluntarios que realizaban el método de HLC. Los enjambres, además de orientarse respecto al hospedador usaban también como marcador visual el árbol aislado debajo del cual se cobijaba el hospedador. El hecho que los hospedadores actúen como marcadores visuales ha sido descrito previamente en varias especies por como *S. equinum* y *S. erythrocephalum* (Wenk, 1987). Ignjatović-Ćupina (2011) observó cómo los machos de *S. erythrocephalum* volaban alrededor de la cabeza de los hospedadores (vacas y personas) formando enjambres, muchas veces al comienzo de la eclosión de una nueva generación.



Aunque esta especie presente un patrón diario de *landing* bimodal, con un pico al amanecer y otro al atardecer, nosotros sólo hemos observado la formación de enjambres por la tarde, entre las 18:00 y las 21:00 (con medias de $26,78 \pm 0,81^{\circ}\text{C}$, $37,40 \pm 2,81\% \text{ HR}$). Este comportamiento no coincide con la descripción de Yuval (2006), que explica que la cópula se produce principalmente a plena luz del día. Peterson (1959) también describió cómo los machos de *S. arcticum* formaban enjambres a las 14:30 en el río Provo en Utah (EE.UU.). En las especies que usan los hospedadores como marcadores visuales, el periodo de copula podría estar supeditado únicamente al periodo de actividad de *host-seeking behavior* de las hembras. Esta observación coincide con lo publicado por Wenk (1965a), el cual explica como la actividad de los machos de *S. erythrocephalum* corresponde con los picos de actividad de las hembras cuando éstas vuelan en búsqueda de hospedadores sobre los que alimentarse.

Según lo anteriormente descrito, el patrón bimodal diario de *landing* de *S. erythrocephalum* estaba influenciado por la temperatura y la radiación solar. La temperatura óptima durante el *landing* se encontraba entre $22,17$ y $27,35^{\circ}\text{C}$ durante la tarde. Y con respecto a la radiación solar, las hembras se posaban sobre los voluntarios por debajo de $123,51 \text{ W/m}^2$ al atardecer. En este contexto, el primer enjambre se observó con una iluminancia de 300 lux y el último con 45 lux. En ausencia de hembras en comportamiento agresivo los enjambres de machos desaparecían.

Se observó la formación de dos o tres enjambres por hospedador, cada uno compuesto desde 10 a 15 machos (Figura 2.13a). El enjambre se comportaba como una unidad con movimientos oscilantes en forma de remolino (Figura 2.13b). Éste se situaba a una distancia de 2-3 m sobre las cabezas de los hospedadores. Wenk (1987) explicaba como los enjambres de machos de *S. erythrocephalum* y *S. equinum* podían estar formados desde muy pocos individuos hasta cientos incluso miles en ciertos días de julio y agosto en el Valle del Rin. El mismo autor también explica que existe un orden jerárquico respecto al marcador óptico dentro de los enjambres, ya que los machos mantenían una distancia más o menos constante con respecto al resto de machos compitiendo por la mejor posición dentro del enjambre. Los voluntarios al estar sentados realizando el método de HLC, no pudieron comprobar si los enjambres se movían respecto al movimiento del hospedador.

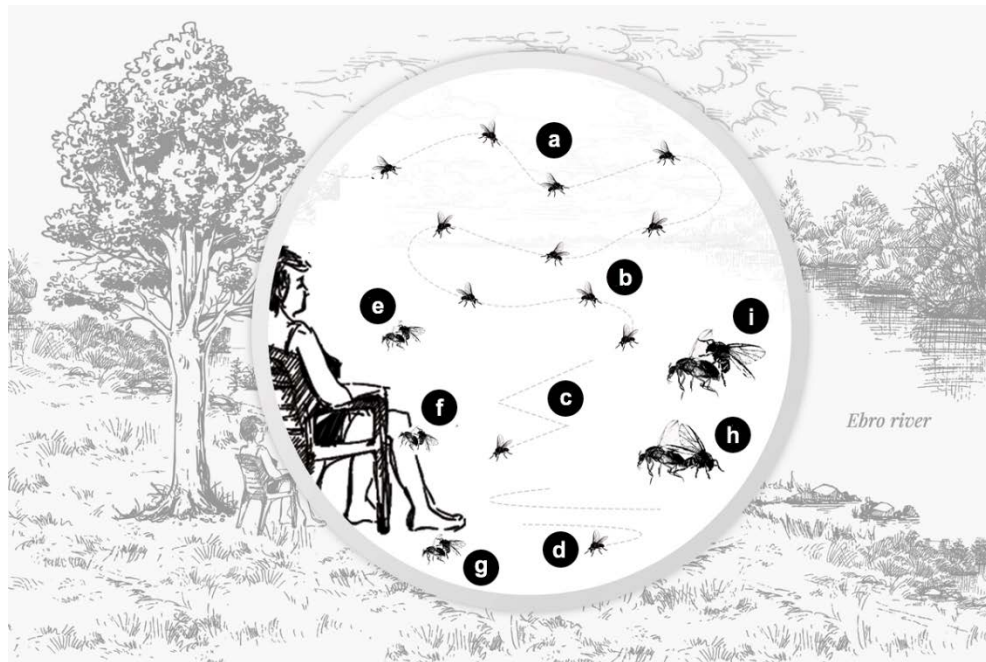
El mecanismo usado por los machos para identificar a la hembra y realizar la cópula es aún desconocido. Los simúlidos, al contrario que otras familias del taxón Culicomorpha, no poseen “órganos auditivos” en las antenas desarrollados para reconocer a las hembras, por lo que este proceso no está basado en un estímulo auditivo. Yuval (2006) y Wenk (1987) explican que los machos tienen una alta agudeza visual debido a sus ojos holópticos y son capaces de responder en vuelo ante movimientos rápidos de objetos como las hembras de la misma especie o predadores que se aproximan al enjambre.

Respecto a lo observado en nuestro estudio, un macho detecta a la hembra y abandona el enjambre volando dando vueltas (Figura 2.13d) o en zig-zag (Figura 2.13c) para perseguir a una hembra. Inmediatamente, el macho la derriba en vuelo (Figura 2.13e) y ambos caen sobre el suelo (Figura 2.13g) o sobre el hospedador humano (Figura 2.13f) (lo que podemos denominar como “placaje sexual”). Nosotros registramos solamente una copula cuando la hembra se estaba alimentando sobre las piernas de la persona. Estas observaciones son similares a las realizadas por Ignjatović-Ćupina (2011) que explicó cómo los machos de *S. erythrocephalum*



placaban a las hembras, cayendo bien en el suelo bien sobre el hospedador (vacas y humanos) para realizar el apareamiento.

Figura 2.13. Comportamiento de cópula observado en *S. erythrocephalum* (Garza-Hernández y Ruiz-Arrondo, 2018).



Es entonces cuando adoptaban la posición *end-to-end* (Figura 2.13h) para completar el coito, como detalla Jones y Piliitt (1973) para el culícido *Ae. aegypti*. También observamos como las parejas de simúlidos adoptaban la postura *male-above-female* (Figura 2.13i). Registramos en tres ocasiones la duración del apareamiento, variando de 3 a 5 s (3,5; 4,5 y 5,0 s). Crosskey (1990) observó una duración de 1 a 5 s para *S. erythrocephalum* criado en laboratorio. Finalizada la copula, el macho vuela de nuevo de vuelta al enjambre.

El sistema de apareamiento de cada especie es un fenómeno único, con interacciones dinámicas entre los sexos y moldeado por la selección sexual actuando sobre el éxito de cópula de los individuos en la población. Se caracteriza por patrones de receptividad femenina, inversión gamética y parental, y la distribución de ambos sexos en el tiempo y en el espacio, (Yuval, 2006).

2.4.6. Limitaciones del estudio

No se evaluó la variación en la tasa de *landing* sobre el ser humano en otras estaciones del año, por lo que no se pudo estudiar la variación en la tasa de *landing* entre una estación y otra. La variación en la tasa de picadura a lo largo del año ha sido descrita en varias regiones del planeta (Crosskey, 1990), pero sobre todo en especies africanas (Lamberton *et al.*, 2014) y sudamericanas (Grillet *et al.*, 2005; Vieira, 2005) debido a las diferencias entre la estación seca y húmeda. España pertenece a la región biogeográfica paleártica, con un clima templado y cuatro estaciones del año bien diferenciadas, con presencia de una diapausa en los adultos de simúlidos muy marcada durante el invierno según la latitud y la altitud. Por lo tanto, podría ser esperable observar variaciones en el comportamiento agresivo de las especies tal y como



Crosskey (1990) describió en regiones de latitudes más altas con inviernos fríos y veranos cálidos.

El estudio se llevó a cabo a finales de primavera (mayo y junio de 2015), ya que no se capturaron hembras de *S. erythrocephalum* en el cebo humano durante los meses previos. El estudio se comenzó cuando se observó una presencia suficiente de hembras de esta especie en la ribera del río Ebro. Por consiguiente los meses de mayo y junio fueron los más adecuados para el muestreo de esta especie en esta área. Hecho que coincide con el máximo de consultas médicas por picadura de insecto registrado en la ciudad de Zaragoza desde 2011 a 2015 (Capítulo 4). Bardin (2001) señala que en el sur de Francia las molestias debido a *S. erythrocephalum* comienzan en mayo decreciendo durante junio y julio.

El presente estudio se intentó realizar también a principios de primavera (marzo y abril), pero no se identificó ningún individuo de esta especie capturado sobre cebo humano. El caudal elevado del río Ebro imposibilitó la prospección del cauce en búsqueda de estadios preimaginales de simúlidos durante la primavera. En septiembre de 2015 se intentó repetir el estudio pero tan sólo se capturaron unas pocas hembras de *S. erythrocephalum* usando la técnica de cebo humano (1-2 hembras al atardecer cada día), lo que suponía un número insuficiente para obtener resultados significativos. A su vez el número de larvas y pupas de esta especie también fue reducido en los lugares de cría del río Ebro cercanos al lugar del estudio. Este descenso en la población de esta especie durante julio, agosto y septiembre ha sido citado previamente en otros países del centro y norte de Europa (Rühm, 1969; Post, 1983; Ignjatović-Ćupina *et al.*, 2006a; Werner, 2007; Bernotiene y Bartkeviciene, 2012). Sin embargo, Bardin (2001) señala que esta especie produce molestias en Francia desde la primavera hasta octubre. Por esta razón es necesario ahondar en el estudio de esta especie para definir la dinámica espacial y temporal de las poblaciones de *S. erythrocephalum* en el valle del Ebro.



3

Componentes volátiles del sudor humano como semioquímicos de los simúlidos

3.1. Introducción

En este apartado describimos los diferentes hábitos de alimentación sanguínea de los simúlidos en función de sus hospedadores. Posteriormente analizamos los diferentes mecanismos que usan estos dípteros para buscar activamente a sus hospedadores, tanto los relacionados con estímulos visuales como con diferentes estímulos químicos.

3.1.1. Preferencias de hospedador

En el Apartado 2.1.2.1 (*Clasificación de los hábitos de picadura*) se expuso la clasificación de los simúlidos en función de las preferencias de alimentación sobre sus hospedadores.

Como se ha comentado anteriormente las especies hematófagas están convencionalmente divididas en dos grupos: ornitófilas y mamófilas (que incluye las antropófilas), en términos de preferencia de hospedador (Crosskey, 1990); aunque hay excepciones y algunas especies se alimentan de ambos grupos (Crosskey, 1990; Adler *et al.*, 2004). A los simúlidos se les considera generalmente bastante específicos de hospedador dentro de estos dos grupos. El caso más claro de alta especificidad entre hospedador y simúlido lo encontramos en la especie *S. annulus* (anteriormente *S. euryadminiculum*) que se alimenta únicamente sobre el colimbo grande (*Gavia immer*) (Fallis y Smith, 1964; Lowther y Wood, 1964). Las especies que se alimentan sobre mamíferos en algunas ocasiones también establecen distinciones claras entre sus hospedadores potenciales (Sutcliffe, 2010). Por ejemplo, en Alberta *S. arcticum* forma enormes enjambres alrededor del ganado a través de los cuales los humanos pueden trabajar y raramente, o nunca, ser mordidos (Shemanchuk, 1987). Muchas otras especies mamófilas parecen tener preferencias de huésped más amplias (Crosskey, 1990). Por ejemplo en Zaragoza (España) se ha observado como *S. erythrocephalum* es altamente antropófila (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2017a), y sin embargo la preferencia de hospedador de esta especie parece diferir dependiendo de la región europea. Mientras que Ignjatović-Ćupina *et al.* (2006a) e Ignjatović-Ćupina (2013) señalan que prefiere alimentarse sobre el ser humano antes que sobre animales domésticos, Halgoš y Jedlička (1971) exponen una clara preferencia de *S. erythrocephalum* para picar antes a caballos que a humanos, y Crosskey (1990) describe que las picaduras sobre personas son puntuales, teniendo como principal hospedador al ganado vacuno. Seguramente la presencia y abundancia de las diferentes especies de hospedadores en las cercanías de los focos de cría de los simúlidos marca la predilección por alimentarse sobre uno u otro hospedador.

Esta especificidad entre el hospedador y la especie de simúlido, así como las diferentes preferencias de hospedador de una misma especie, podrían estar mediadas por semioquímicos desprendidos por los hospedadores que atraerían en mayor o menor medida según la especie de simúlido.



3.1.2. Mecanismos que modulan la búsqueda activa de un hospedador

Los simúlidos localizan y eligen a sus hospedadores orientados por estímulos químicos, visuales y térmicos que origina el hospedador (Sutcliffe, 2010). El hecho que los simúlidos únicamente busquen a sus hospedadores durante las horas de luz (Crooskey, 1990) sugiere que la visión puede ser una modalidad sensorial importante en el comportamiento de búsqueda del hospedador (Sutcliffe, 2010). El desarrollo de la trampa Esperanza en México y Burkina Faso para la captura de *S. ochraceum* s.l. y *S. damnosum* s.l. respectivamente demostraron como los estímulos visuales y químicos son clave para la captura de ambas especies (Rodríguez-Pérez *et al.*, 2013; Toé *et al.*, 2014; Young *et al.*, 2015).

Diversos autores han estudiado la importancia de los diferentes estímulos que intervienen en la búsqueda del hospedador llegando a la conclusión general que la dominancia de un tipo de estímulo u otro (químico o visual) depende de la distancia entre la hembra de simúlido y el hospedador (Crosskey, 1990).

Sutcliffe (1986) revisó en profundidad el proceso de tres pasos de la localización de un hospedador, establecido por Bradbury y Bennett (1974b), resumiendo lo siguiente: el primer estímulo, que sirve para que la hembra detecte la presencia del hospedador, es probable que sea olfatorio (químico) ya que la hembra reconoce en el aire el olor del hospedador o el CO₂ que éste emite; aunque también podría intervenir la visión en campo abierto. El segundo paso, la localización a larga y media distancia es olfatoria (olor y/o CO₂) y quizás visual en campo abierto. Y por último la localización a corta distancia es visual, donde la hembra responde al perfil del hospedador, color y reflectancia; aunque los estímulos químicos podrían jugar también su papel como la temperatura del hospedador.

La existencia de especies con preferencias tróficas distintas (ornitófilas y mamófilas), con las diferencias obvias en tamaño y ecología de los hospedadores, hace pensar que los procesos de detección de hospedador varían y no son siempre iguales. Asimismo el tipo de detección varía en las mismas especies de moca negra según el hábitat en que se encuentre el hospedador. No es lo mismo detectar a una gacela pastando en una pradera que localizar a un pájaro dentro de un bosque; lo que induce a pensar que la vista juega un papel mayor en la detección del mamífero que la del ave. Crosskey (1990) detalla cuatro tipos de respuesta: ante el olor del hospedador, ante el olor con presencia simultánea de CO₂, ante el CO₂ únicamente y por último la respuesta visual con o sin presencia de CO₂. También se han descrito como diferentes biotipos de un complejo de especies presentan diferencias en la detección del mismo hospedador en hábitats diferentes; es el caso de *S. damnosum* s.l. en Camerún, donde la respuesta olfativa era menor al CO₂ en la sabana que en el bosque, implicando un mayor uso del estímulo visual en el primer caso (Thompson, 1976). Además, la importancia relativa del tipo de estímulo podría variar incluso con la estación del año. Por ejemplo, una mosca negra usa más la vista para detectar un antílope en la época seca donde la hierba es muy corta y sin embargo usaría más los estímulos químicos en época lluviosa cuando la hierba es muy alta y oculta al hospedador (Crosskey, 1990).

3.1.2.1. Estímulos físicos

La visión, al igual que lo hacía en la cópula (Apartado 2.1.1.1.6), interviene directamente en la atracción de los simúlidos en la búsqueda de sus hospedadores. El tamaño, la silueta, el color y



el movimiento de un hospedador proporcionan señales visuales que alertan a las moscas de la presencia de sus hospedadores o de sus partes anatómicas preferidas sobre las que alimentarse (Crosskey, 1990).

Varios autores han demostrado que los simúlidos son capaces de discriminar entre los colores y que se sienten atraídos por ciertas tonalidades antes que por otras (Davies, 1951, 1972; Bradbury y Bennett, 1974b). Parece que la tendencia es que colores oscuros (negro, azul y rojo) son más atractivos para estos dípteros que los colores claros (Davies, 1951; Bradbury y Bennett, 1974b; Crosskey, 1990). Esta predilección por los colores oscuros podría estar relacionada por la preferencia de ciertas especies por picar sobre partes anatómicas sombreadas como el vientre de los animales o el interior de las orejas (Crosskey, 1990). Walsh (1980) descubrió que las trampas recubiertas con color azul atraían más moscas del complejo *S. damnosum* que los otros cinco colores evaluados. Rodríguez-Pérez *et al.* (2013) observaron en México cómo las trampas Esperanza de color azul capturaban más hembras de *S. ochraceum* s.l. que las de color rojo, amarillo o negro. Mientras que la misma trampa con versión a rayas azules y negras resultó la más atractiva para *S. damnosum* s.l. en Burkina Faso (Toé *et al.*, 2014). Estos resultados parecen indicar que cada especie de simúlido responde mejor ante unos colores que otros, aunque seguramente haya otros parámetros a tener en cuenta como la visibilidad del hospedador en contraste con el entorno que le rodea en diferentes biotopos y en diferentes estaciones del año (Bradbury y Bennett, 1974a).

La forma y movimiento del hospedador también parecen atraer a los simúlidos. Diversos autores han realizado experimentos usando siluetas y figuras geométricas simulando la presencia de un hospedador, demostrando que los simúlidos se sienten más atraídos por las partes que destacan de forma prominente, en especial si toda la silueta se mueve (Wenk y Schlörer, 1963; Bradbury y Bennett, 1974a). Un ejemplo muy evidente lo encontramos en las especies *S. equinum*, *S. erythrocephalum* y *S. lineatum* que se sienten muy atraídas por picar en las orejas de los caballos y vacas; al funcionar éstas como proyecciones móviles (Crosskey, 1990).

La luz podría tener también una influencia importante en la atracción de los simúlidos. Las superficies mate y las que reflejan la menor luz incidente son generalmente más atractivas que las superficies brillantes y reflectantes (Crosskey, 1990). Se ha comprobado que la reflectancia espectral y la polarización de la luz reflejada son aspectos clave en cómo los insectos responden a los estímulos visuales (Kriska *et al.*, 2009). Un ejemplo muy conocido es la atracción de los tábanos por las cebras y cómo la disminución en el ancho de su patrón de rayas blancas y negras resulta en una menor atracción debido a patrones disruptivos de despolarización de la luz reflejada (Egri *et al.*, 2012). La reflectancia espectral de los estímulos visuales de los hospedadores se cree que está inversamente relacionada con la atracción de “moscas diurnas” (simúlidos y tábanos incluidos) en busca de hospedadores sobre los que alimentarse (Bradbury y Bennett, 1974a; Hribar y Foil, 1991).

3.1.2.2. Estímulos químicos

Hasta la fecha poco se sabe sobre la naturaleza de los estímulos involucrados como mediadores químicos en los simúlidos a diferencia de otros dípteros hematófagos bien estudiados como son la mosca tse-tse (*Glossina* spp.) (Torr y Solano, 2010) o los culícidos (Takken y Verhulst, 2013). El CO₂ es el mediador químico que más ampliamente se ha estudiado en los simúlidos ya que es



considerado el principal activador del comportamiento de búsqueda del hospedador en varias familias de artrópodos hematófagos (Crosskey, 1990). La mayoría de especies responden positivamente ante la presencia de CO₂, volando en contra del viento, como demostraron experimentalmente Golini y Davies (1971) con *S. venustum* s.l. El uso de atrayentes químicos junto con las diferentes trampas de captura de simúlidos permite capturar un mayor número de individuos que sobre las trampas que no usan estas señales químicas (Rodríguez-Pérez *et al.*, 2013). De hecho, hoy en día es una práctica habitual capturar hembras de simúlidos usando el CO₂ como atrayente en los diferentes modelos de trampas utilizadas. Sin embargo, hay claras excepciones en las que se han capturado simúlidos sin usar el CO₂ como cebo. Un ejemplo es el caso de la especie *S. annulus* en el Parque de Algonquin en Ontario (Canadá) donde se atrajeron grandes enjambres de esta especie usando extractos de la glándula uropigial del somormujo como único atrayente (Fallis y Smith, 1964; Bennett *et al.*, 1972). Experimentos de campo llevados a cabo por Thompson (1976) en Camerún demostraron que trampas cebadas con compuestos procedentes del sudor humano eran capaces de capturar un gran número de ejemplares de la especie *S. damnosum* s.l. incluso en ausencia de CO₂. Esto demuestra que los mediadores químicos también tienen su implicación como activadores del comportamiento de búsqueda de hospedador (*host-seeking behaviour*).

La fuerte tendencia de los simúlidos a ser ornitófilos o mamófilos probablemente se determina en gran medida por la respuesta al olor del huésped (Crosskey, 1990). Seguramente pueda existir una adaptación funcional de ciertas especies para detectar olores específicos de sus hospedadores. Esto explicaría el caso de la especificidad de hospedador de ciertas especies, como por ejemplo aquellas que se alimentan de los gaviiformes como el caso ya comentado de *S. annulus* con el colimbo grande. Sin embargo, esta adaptación para responder al olor específico de un hospedador no sería una característica propia de las especies con un amplio rango de hospedadores donde seguramente la respuesta química estaría principalmente mediada por una fuerte respuesta al CO₂ (Crosskey, 1990).

3.1.2.2.1. Estructuras anatómicas que intervienen en la detección química de un hospedador

El mecanismo por el cual los simúlidos detectan las señales químicas que median la *host-seeking activity* no está claro del todo. La antena parece ser la estructura anatómica que tiene un rol principal en esta actividad sensorial y los palpos maxilares y las sensilias de las patas desarrollan un papel menor.

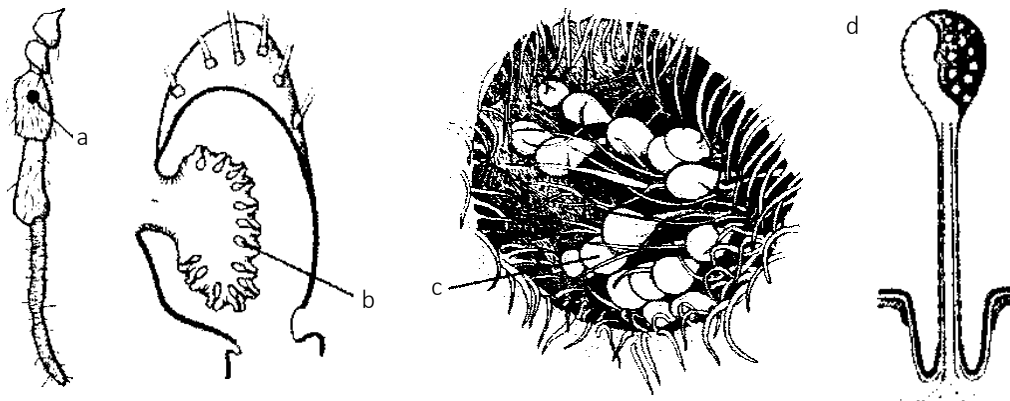
- **Antenas:** El segundo segmento o pedicelo de las antenas posee el órgano de Johnston, estructura sensorial presente en las antenas de los insectos. En los mosquitos posee una función auditiva, y permite que los machos detecten la presencia de las hembras, pero en los simúlidos este órgano está menos desarrollado y no posee esta función (Crosskey, 1990). Seguramente sirva para detectar cambios físicos en el entorno como el movimiento del aire y cambios de presión (Boo y Davies, 1980). Además de responder a estímulos mecánicos, los diferentes segmentos de las antenas tienen siete tipos de sensilias que funcionan a modo de quimiorreceptores en otros insectos (Mercer y McIver, 1973; McIver y Sutcliffe, 1987). Las hembras hematófagas tienen un número muy superior de estos receptores que las hembras de las especies no hematófagas, lo cual evidenciaría el papel de estas sensilias en la localización de los hospedadores sobre los que alimentarse (Crosskey, 1990). Un probable quimiorreceptor de contacto (tipo B) se encuentra principalmente en las superficies externas



y cerca de los extremos de las antenas y sirve para detectar las secreciones de los hospedadores. Otra probable función de la antena es la percepción de la temperatura y la humedad del entorno (Crosskey, 1990).

- **Palpos maxilares:** Los palpos maxilares poseen en su tercer segmento los órganos de Lutz, que consisten en una concavidad profunda que se abre al exterior por un agujero circular visible en la superficie del palpo, y en su interior alberga una hilera de sensilias con forma de bulbo (Hechler y Ruhm, 1983; Sutcliffe *et al.*, 1987). Se desconoce si estas sensilias tienen un papel olfativo diferente al de la detección del CO₂. De todas formas, lo que se ha demostrado es que el número de estas sensilias es menor, así como el tamaño del órgano de Lutz, en los machos y en las hembras de especies no hematófagas comparado con las especies que se alimentan sobre hospedadores (Crosskey, 1990) (Figura 3.1).

Figura 3.1. Órgano de Lutz del palpo maxilar (Crosskey, 1990)



a) Palpo y posición del quimiorreceptor; b) Órgano de Lutz en sección longitudinal; c) Cabezas de las sensilias bulbosas; d) Detalle de una sensilia bulbosa.

- **Sensilias de las patas:** De los once tipos de sensilias descritos en las patas de los simúlidos, existen tres que están confinadas en los tarsos y que parecen tener una función en la detección mecánica y química de los hospedadores: *peg*, *trichodea Tipo 2* y *bifurcada* (Sutcliffe y McIver, 1976; McIver y Sutcliffe, 1987). Las primeras (sensilias *peg*), que aparentemente perciben los estímulos mecánicos por contacto, están situadas en los primeros cuatro tarsómeros de todas las patas, aunque se concentran en los tarsos delanteros. Según Crosskey (1990), esta disposición podría explicar por qué las hembras en algunas ocasiones palmean la piel del hospedador humano con sus patas delanteras antes de comenzar a alimentarse. Las sensilias *trichodea Tipo 2* también se encuentran en los primeros cuatro tarsómeros de todas las patas y parece que son sensibles a la textura sobre la que camina la mosca. Las sensilias *bifurcadas* están situadas en el basitarso del segundo par de patas de ambos sexos aunque son menos abundantes en los machos (tanto de especies autógenas como anautógenas). Su función no está muy clara pero parece que actúan como quimiorreceptores especializados a modo de “fosas nasales de las patas” (Crosskey, 1990).

3.1.2.2.2. Semioquímicos

Los semioquímicos son sustancias involucradas en las interacciones químicas entre los organismos vivos (Howse *et al.*, 1998). La clasificación clásica divide esta comunicación como intra o interespecífica y en base a ello y al efecto negativo/beneficioso, los semioquímicos se



subdividen en feromonas (que son sustancias secretadas por un animal y que provocan reacciones específicas dentro de la misma especie) y los aleloquímicos (cuya emisión es significativa para un organismo de una especie diferente a la emisora). Dentro de este segundo grupo hay que distinguir alomonas, kariomonas y sinomonas.

Una alomona es una sustancia química producida o adquirida por un individuo que cuando entra en contacto con individuos de otra especie provoca en su receptor un comportamiento o una reacción fisiológica adoptiva favorable al organismo emisor; por ejemplo, las emisiones repelentes de ciertos organismos (Lawrence, 2003).

Las kairomonas son una clase de compuestos que son ventajosos para el receptor; por ejemplo, el CO₂ y el ácido láctico, compuestos generados por productos de las reacciones metabólicas de los hospedadores, que son utilizados por los insectos hematófagos para localizar a su presa (Gibson y Torr, 1999).

El término sinomona comprende a semioquímicos que benefician tanto al receptor como al emisor; por ejemplo, el néctar que atrae a los polinizadores en las flores (Sbarbati y Osculati, 2006). Pero en realidad, la concepción global de comunicación mediante semioquímicos no es tan nítida ya que un mismo compuesto puede actuar consecutivamente como alomona y kairomona (Dicke y Sabelis, 1988).

El mecanismo bioquímico de la quimiorrecepción (Vogt, 2003, 2005) implica al menos a tres tipos de proteínas: las proteínas enlazantes del olor (*Odorant Binding Proteins, OBP*), las receptoras del olor (*Olfactory Receptor Proteins, OR*) y las enzimas degradadoras del olor (*Odor Degrading Enzymes, ODE*). El proceso se inicia con la entrada del odorante a través de los poros de las sensilias olfativas y canales cuticulares. Una vez en el lumen acuoso del interior de la sensilia, el odorante se enlaza a las OBP que lo transportan hasta las proteínas OR ubicadas en la membrana de las dendritas, encargándose las ODE de la interacción odorante-OR. Resultante de esta interacción se activan los canales de Na⁺/K⁺ vía inositol trifosfato (IP3) y el posterior bombeo de iones genera una despolarización local y por tanto un cambio en el potencial de la célula neuronal que genera una señal eléctrica que se transmite al sistema nervioso central por medio de potenciales de acción, induciendo respuestas fisiológicas y/o comportamentales.

El perfil volátil del sudor humano ha sido estudiado en numerosas ocasiones (Zeng *et al.*, 1991; Bernier *et al.*, 2000; Curran *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2005) por su implicación en muchos campos tales como el diagnóstico médico, la química forense o la ecología de artrópodos hematófagos (Natsch *et al.*, 2006; Prugnolle *et al.*, 2009; Syed y Leal, 2009). Se han identificado más de 300 compuestos en el sudor y en la piel (Bernier *et al.*, 2000), dependiendo del método de recolección y de la parte del cuerpo analizada: manos, axilas, brazos, tronco o pies (Zeng *et al.*, 1991; Curran *et al.*, 2005, 2010; Zhang *et al.*, 2005; Gallagher *et al.*, 2008; Mebazaa *et al.*, 2010).

Existen varias técnicas de extracción en química analítica para extraer compuestos químicos para su posterior identificación. Una técnica innovadora, rápida y versátil y relativamente económica es la microextracción en fase sólida (MEFS en castellano o SPME en inglés), que fue desarrollada a principios de los años noventa por el equipo del Dr. Pawliszyn en la Universidad de Waterloo (Canadá). Esta técnica se desarrolló no sólo para abordar la necesidad de reducir el tamaño de la instrumentación de extracción y el uso de disolventes,



sino también para explorar la capacidad de este enfoque para facilitar la preparación rápida y conveniente de muestras tanto en laboratorio como *in situ*. Hay muchas ventajas de la SPME, que se pueden realizar en mayor o menor grado dependiendo de la configuración geométrica del instrumento. El empleo de esta tecnología está ampliamente extendido y es considerada como la técnica de preferencia en miles de aplicaciones en diversos campos como los sabores y fragancias, la ciencia forense y toxicología, las matrices ambientales y biológicas, la evaluación de productos, etc.

La SPME utiliza una fibra recubierta con un líquido (polímero), un sólido (sorbente), o una combinación de ambos. El recubrimiento de la fibra permite extraer diferentes tipos de moléculas, volátiles o no volátiles, de diferentes tipos de medios en fase líquida o gaseosa. Tras la extracción, la fibra de SPME se inserta al puerto de inyección del instrumento de separación, que generalmente es un aparato de cromatografía de gases para su desorción y análisis.

Durante los últimos años, la técnica de SPME se ha utilizado mayoritariamente en la recolección de compuestos orgánicos volátiles (VOC en inglés) presentes en el sudor debido a que es selectiva con los volátiles y no extrae otros que no los son como ocurre cuando se utilizan otras técnicas con adsorbentes no selectivos tales como los textiles (gamuzas o algodón) impregnados de un disolvente orgánico (DeGreeff y Furton, 2011; Prada *et al.*, 2011).

Muchos de estos estudios focalizan la posible implicación de estos volátiles en el comportamiento de insectos hematófagos, con especial interés en insectos antropófilos transmisores de patógenos (Meijerink *et al.*, 2001; Logan *et al.*, 2008; Syed y Leal, 2009). Dentro de nuestro conocimiento hasta la fecha tan solo existe un estudio que utilice los semioquímicos del sudor humano como atrayentes de los simúlidos (Young *et al.*, 2015). En este trabajo se capturaron dos especies vectoras de *O. volvulus*: *S. damnosum* s.l. en África y *S. ochraceum* s.l. en Latinoamérica usando las kairomonas humanas que resultaron activas frente a estas especies previamente.

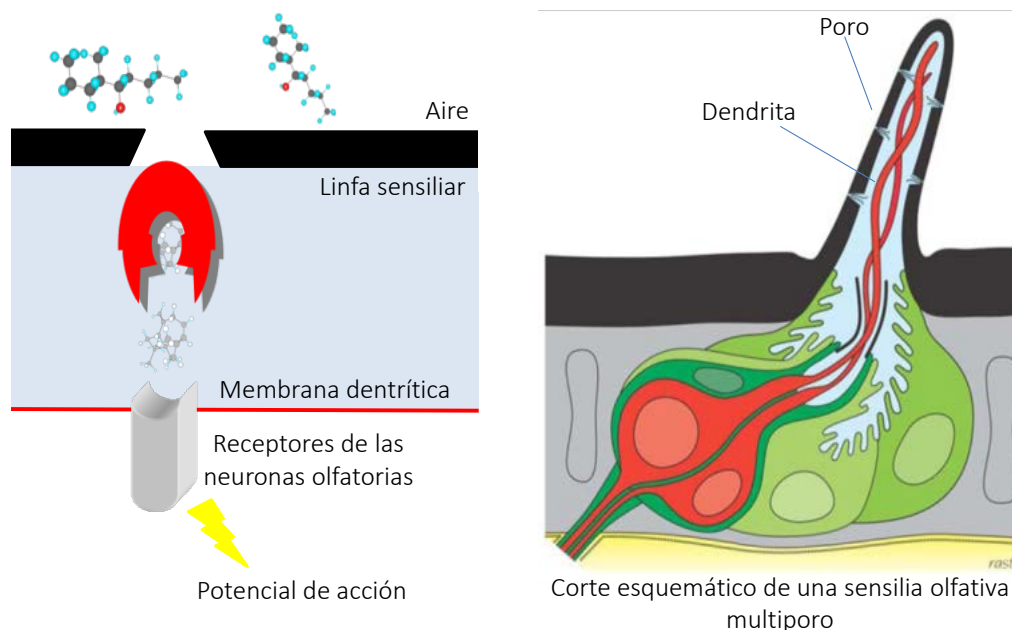
El estudio de las kairomonas humanas que intervienen en la atracción de los simúlidos por las personas ofrece una oportunidad de mejorar los sistemas de vigilancia y monitorización de las especies antropófilas de simúlidos; incluso podría llegar a ser usado en el control integrado de esta plaga (Young *et al.*, 2015).

3.1.2. Electroantenografía

En el contexto de la identificación de semioquímicos, la electroantenografía (EAG) es considerada como una herramienta fundamental para el estudio de éstos. La EAG es una técnica electrofisiológica que mide la despolarización eléctrica generada por la interacción de los receptores olfativos de los insectos con una sustancia química volátil (Hallem *et al.*, 2006; Nichols *et al.*, 2011). El sistema quimiosensorial de los insectos detecta y discrimina entre una diversidad de moléculas químicas. En la mayoría de los insectos, los receptores a las diversas sustancias volátiles se encuentran en órganos como las antenas y los palpos maxilares; estos órganos cuentan con una cubierta externa de sensilias conectadas a dendritas neuronales (Clyne *et al.*, 2000) (Figura 3.2). Al introducirse las moléculas por las sensilias se desencadena un proceso de intercambio iónico que termina en un potencial de acción, el mismo que transmite una señal olfativa a los diferentes glomérulos de los lóbulos olfativos del deutocerebro del insecto (Lánský y Getz, 2001; Hallem *et al.*, 2006).



Figura 3.2. Mecanismo de la detección de un semioquímico en los insectos (O'Connell, 1975)



Bajo este principio se desarrolló el bioensayo de la EAG. Esta técnica permite estudiar la respuesta general olfativa de los insectos a los compuestos semioquímicos (Park *et al.*, 2002). El método registra las fluctuaciones de voltaje que se generan al exponer la antena del insecto a un conjunto de moléculas químicas olorosas (Van der Pers *et al.*, 1997).

La EAG puede estar acoplada a un cromatógrafo de gases, de modo que los olores sean registrados simultáneamente por la antena y un detector electrónico. Esta técnica recibe el nombre de cromatografía de gases con detección electroantenográfica (CG-DEA en castellano y GC-EAD en inglés). Por ejemplo, Altuzar *et al.* (2007) y Ruiz-Montiel *et al.* (2008) identificaron y comprobaron por medio de EAG y GC-EAD la respuesta electrofisiológica del picudo del agave *Scyphophorus acupunctatus* a volátiles recogidos de la planta hospedador (plantas de *Agave tequilana* Weber variedad azul) y a compuestos de su feromona de agregación. Sin embargo, individualmente el método de la EAG es ampliamente usado para identificar los compuestos con probable actividad atrayente como feromonas y volátiles liberados por las plantas (Jacquin-Joly y Merlin, 2004; Ruiz-Montiel *et al.*, 2008).

3.2. Objetivos

El **objetivo general** de este capítulo es determinar los VOC emitidos por el ser humano que están implicados en la localización y elección de los hospedadores de *S. erythrocephalum*.

Y como **objetivos específicos** se plantean los siguientes:

1. Conocer los VOC emitidos en el sudor del ser humano.
2. Poner a punto la técnica de la EAG en el estudio de los simúlidos.
3. Evaluar la respuesta electroantenográfica de *S. erythrocephalum* a los VOC del sudor humano.

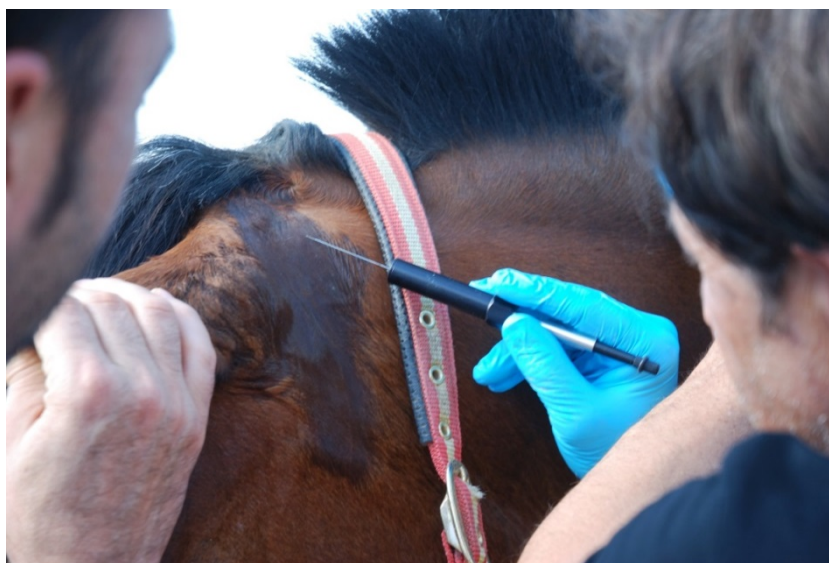
3.3. Metodología

3.3.1. Procedimiento de extracción de compuestos del sudor humano

Para la extracción de los VOC decidimos utilizar la técnica de SPME, usando una jeringa SPME (Supelco Corp., EE.UU.) Se extrajeron los VOC de 12 voluntarios (8 hombres y 4 mujeres) con edades entre 25 y 50 años. Los voluntarios evitaron la ingesta de alcohol durante las 24 h previas así como el uso de sustancias olorosas como cosméticos o perfumes.

El día de la extracción del sudor, los voluntarios hicieron 10 min de ejercicio físico moderado y una vez transcurrido este tiempo, se inició la recolección de los VOC. Las fibras utilizadas tenían una longitud de 2 cm de largo y 50/30 μm de diámetro compuestas por divinilbenzeno/carboxen/polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS) (Supelco Corp., EE.UU.). Para ello, a cada voluntario se le pidió que se quitara la camiseta y una vez extraída la fibra de la aguja de la jeringa SPME, se frotó con suavidad sobre la piel de la persona durante 3 min. Este procedimiento se realiza de forma similar en otras especies animales (Figura 3.3). Únicamente se tomaron muestras de la parte superior del tronco, cara y axilas. Una vez transcurrido este tiempo, se desbloqueó el émbolo retráctil, quedando la fibra dentro de la aguja y a continuación, se desenroscó la aguja y se introdujo dentro de un vial de 10 ml (Thermo Scientific, EE.UU.) con tapón de rosca y se mantuvo en un congelador a -10°C hasta su análisis posterior en el laboratorio. Este procedimiento se repitió para cada uno de los voluntarios.

Figura 3.3. Recolección de los VOC sobre un caballo usando una jeringa SPME



3.3.1.1. Desorción de los compuestos adsorbidos durante la microextracción en fase sólida de los VOC presentes en la piel

La desorción se aplica para la liberación de compuestos orgánicos que sean volátiles adsorbidos en un material (es el proceso inverso a la adsorción), donde se produce la extracción de la fracción volátil de una disolución mediante el contacto del líquido con un gas; es decir, las moléculas disueltas en un líquido se transfieren del agua a un flujo gaseoso o corriente de vapor (Jiménez Cisneros, 2001).



Después de la recolección, cada aguja SPME se insertó en el bloque de inyección de un cromatógrafo de gases acoplado con un espectrómetro de masas (GC-MS) (Thermo Scientific, EE.UU.), y a continuación se presionó el émbolo para que la fibra quedara alojada dentro del *liner* del inyector. El inyector se mantuvo a una temperatura de 250°C, con la válvula del *relay* cerrada durante 3 min para una desorción total de los VOC adsorbidos en la fibra. A partir de ese tiempo se abrió la válvula del *relay* para la expulsión de todos los compuestos no volátiles.

3.3.1.2. Espectrometría de masas de los extractos obtenidos

La determinación de los productos obtenidos se hizo mediante cromatografía de gases acoplada con espectrometría de masas (GC-MS). El equipo utilizado fue un Focus GC-DSQ II GC-MS (Thermo Scientific, EE.UU.). El equipo consta de un cromatógrafo Focus II (Thermo Scientific, EE.UU.) acoplado a un espectrómetro de masas DSQ II de cuádruplo simple (Thermo Scientific, EE.UU.). El cromatógrafo está equipado con un inyector *split-splitless* y una columna capilar DB-5 (30 m x 0,25 mm; 0,25 µm film).

El programa de temperaturas utilizado en la determinación de los VOC fue de 100°C durante 1 min incrementándose hasta 250°C a 5°C/min. El inyector se utilizó a una temperatura de 250°C, y la línea de transferencia a 280°C. Las condiciones del espectrómetro de masas fueron: impacto electrónico con una energía de ionización de 70 eV, temperatura de 200°C, un barrido de *scan* de 0,6 s (tiempo de ciclo 0,2 s) y con un rango de masas de 40 a 450 amu (unidad de masa atómica). La identificación se realizó mediante su coincidencia con las bases de datos NIST y Wiley 275L, y en algunos casos además de la coinyección con patrones.

De los compuestos identificados, tan sólo se seleccionaron los que estaban presentes en una proporción <0,5% sobre el total de VOC.

3.3.2. Captura de hembras de *S. erythrocephalum*

Las moscas negras para este estudio fueron capturadas usando la técnica de cebo humano (Service, 1990). En nuestro caso fue realizada por una única persona (el doctorando, que sirvió como voluntario). Para la realización de esta técnica se obtuvo la aprobación por parte del Comité Ético de Investigación Clínica de Aragón (CEICA) (Referencia no. PI15/0147) (Anexo II). No fue necesaria la firma de ningún documento de consentimiento informado puesto que la persona voluntaria es la misma que diseñó el protocolo de este estudio.

La captura de los simúlidos se realizó en la ribera del río Ebro en su margen derecha en el barrio rural de La Cartuja (Zaragoza) (41°36'55.97"N, 00°49'52.57"W, 185 msnm) durante el 4 y 5 de junio de 2016. Se eligió este lugar porque previamente, en 2015, se había desarrollado el estudio sobre la tasa de cebo humano, ciclo gonotrófico y sobrevivencia de *S. erythrocephalum* (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2017a) previamente descrito en el Capítulo 2 de esta memoria.

Para realizar la captura de insectos en medio natural se obtuvo la autorización del Instituto Aragonés de Gestión Ambiental (INAGA ref. 500201/24/2016/5803) (Anexo IV). Se siguió el mismo protocolo de captura descrito en Ruiz-Arrondo *et al.* (2017a). Las capturas se realizaron durante el mayor pico diario de actividad de *S. erythrocephalum* en Zaragoza, de 19:30 a 21:30. El voluntario, sentado en una silla a la sombra, fue capturando los individuos de mosca negra que se fueron posando en la piel expuesta de sus piernas (*landing*). Una vez que una mosca se posaba sobre la piel del voluntario, ésta era capturada individualmente en un tubo de



poliestireno de 75 mm x 12 mm (Thermo Scientific, EE.UU.) (Figuroa *et al.*, 1977) (Figura 3.4). Y posteriormente fue introducida en una nevera portátil con placas de hielo en su interior para su conservación con vida hasta la llegada al laboratorio.

Figura 3.4. Tubo de poliestireno con una hembra de simúlido



En el laboratorio se procedió a la identificación morfológica de cada una de las moscas negras capturadas. Previamente a la identificación, se fueron anestesiando por frío cada una de las moscas negras en lotes de dos. Cada individuo era introducido durante 1 min en un congelador a -20°C con el fin de disminuir su metabolismo y aprovechar su inmovilidad para identificar la especie. Esta identificación taxonómica se realizó bajo una lupa estereoscópica Motic SMZ-168 Series (Hong Kong). La destreza para la identificación de hembras de *S. erythrocephalum* se adquirió durante la realización del estudio desarrollado en 2015 sobre la tasa de cebo humano, el ciclo gonotrófico y la sobrevivencia.

Tras la identificación, la mosca fue introducida nuevamente en el tubo de poliestireno y conservada viva en la nevera portátil a temperatura de refrigeración y en completa oscuridad. A las 21 h de la captura se preparó un paquete con las moscas negras para enviarlo al laboratorio de Química Inorgánica y Orgánica de la Universidad de Jaén en Linares y realizar la EAG de cada una de las moscas. En cada uno de los tubos de poliestireno se introdujo una tira de papel de filtro de 2 x 0,5 cm embebida en una solución de agua saturada con azúcar refinado. La tira se dejó escurrir unos segundos de tal manera que no se crearan gotas dentro del tubo de poliestireno. De esta forma las moscas negras mantenían cierto grado de humedad además de alimento azucarado. Finalmente los tubos se introdujeron en una bolsa *zip* dentro de una caja de poliespan aislante con placas de hielo y se envió el paquete por transporte urgente. A las 8:00 del día siguiente el paquete, una vez en el destino, fue puesto en refrigeración de nuevo a la espera de realizar la EAG.

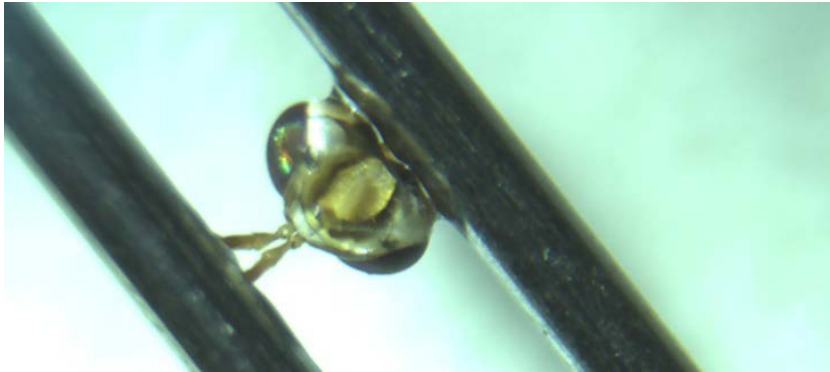
3.3.3. Preparación de muestras para la electroantenografía

La EAG es una técnica que mide el potencial de acción que se genera cuando un quimiorreceptor de membrana es estimulado por un compuesto químico. Las señales de la EAG se registraron con un sistema EAG (Syntech, Alemania) consistente en una sonda conectada a un amplificador de alta impedancia DC (Tipo PRG ± 2), un controlador de estímulo (CS ± 55) y una tarjeta de interfaz de adquisición de datos Tipo IDAC ± 02 .



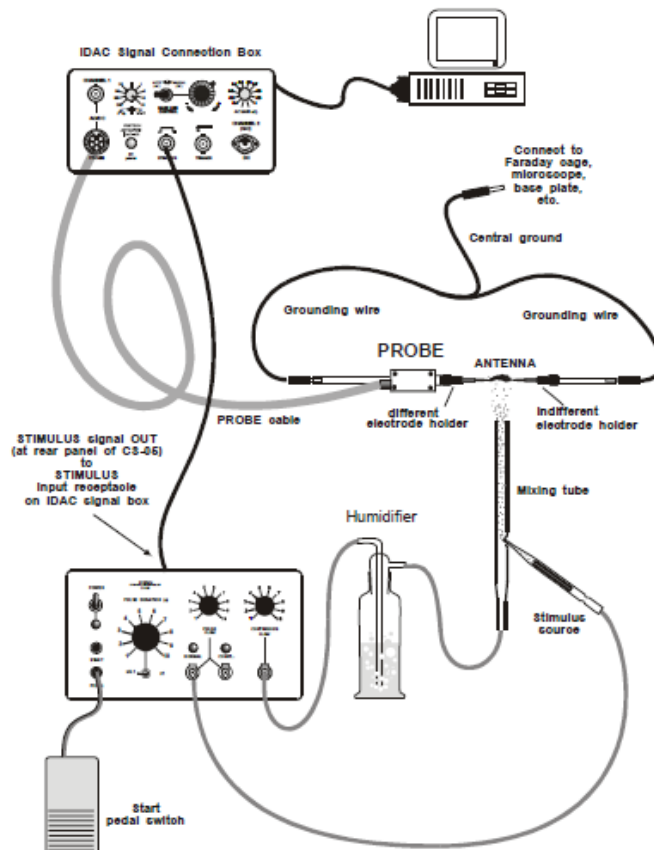
Los compuestos químicos (reactivos y disolventes) utilizados en la EAG fueron comerciales con pureza para síntesis, adquiridos en Sigma-Aldrich (EE.UU.), Acros Organics (EE.UU.) y Fluka (Suiza). Se utilizaron en el bioensayo un total de 20 hembras de *S. erythrocephalum*, realizando el mismo de forma individual con cada ejemplar. En primer lugar se separó la cabeza del ejemplar usando unas micro-tijeras; y a continuación se montaron los extremos de cada antena de la cabeza entre dos electrodos metálicos en un soporte de antena adheridas mediante dos gotas de electrogel (Spectra 360, Parker Lab, EE.UU.) (Figura 3.5).

Figura 3.5. Cabeza de una hembra de *S. erythrocephalum* entre los dos electrodos de la EAG



Todo este sistema se sometió a un flujo de aire purificado (500 ml/min). Se utilizó un sistema de procesamiento de señales basado en PC Syntech para amplificar y procesar las señales EAG (Figura 3.6). Finalmente, las señales fueron analizadas con el software EAG 2010 (Syntech, Holanda).

Figura 3.6. Sistema EAG (Syntech, Holanda)

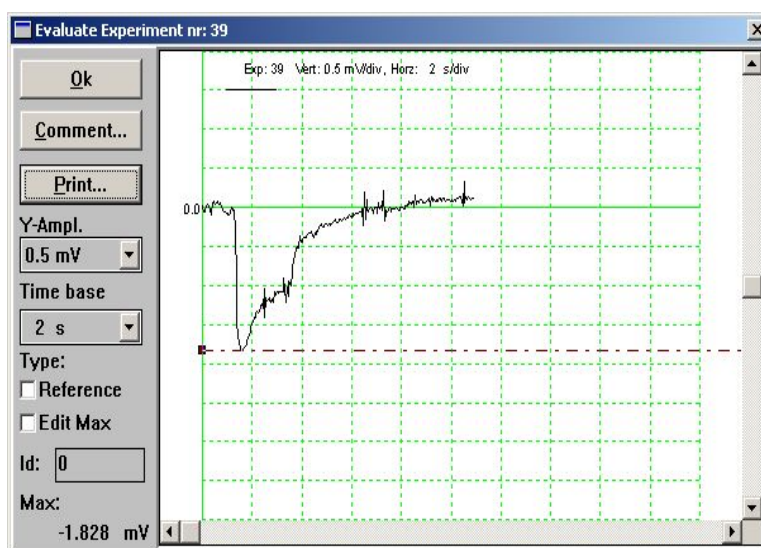


Las pruebas de estimulación se llevaron a cabo aplicando una corriente de aire puro humidificado (2 s de duración por estímulo) utilizando un controlador de estímulo, a través de una pipeta Pasteur que contenía un compuesto de ensayo dado y dirigida sobre la antena a través de la rama principal de un tubo de vidrio (7 cm de largo x 5 mm de diámetro). Los ensayos comenzaron una vez que se había establecido una línea de base relativamente estable.

Los estímulos de control se realizaron con hexano, aplicándose al comienzo del experimento y después de cada grupo de 10 estímulos de prueba. La secuencia del uso de los compuestos fue totalmente al azar, dejando intervalos de 30 s entre los estímulos.

La solución de ensayo de cada compuesto puro se probó en cinco antenas de diferentes hembras. Las respuestas del EAG se midieron inicialmente como la amplitud máxima de despolarización en mV. La amplitud de EAG se evaluó entonces durante la estimulación (Figura 3.7).

Figura 3.7. Señales de la EAG registradas al dirigir un compuesto sobre la antena



3.3.4. Análisis estadístico

En primer lugar se evaluó si los datos seguían una distribución normal con la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Posteriormente se usó la prueba t de Student para muestras pareadas para determinar si existían diferencias significativas entre la respuesta del EAG de cada compuesto volátil del sudor con respecto al hexano usado como control. Finalmente se realizó la prueba ANOVA y la prueba *post hoc* de Duncan para determinar si existían diferencias significativas entre los diferentes productos. Se estableció un error alfa del 5% ($\alpha = 0,05$). Para realizar los cálculos estadísticos se utilizaron el programa IBM SPSS 19.0 para Windows y la hoja de cálculo Microsoft Excel 2013.

3.3. Resultados y discusión

Entre las opciones posibles, utilizamos la técnica SPME de contacto (Dormont *et al.*, 2013) para la adsorción de VOC presentes en el sudor humano procedente de las partes superiores del tronco y de las axilas de los voluntarios.



En la Tabla 3.1 se observan únicamente los compuestos extraídos con picos de intensidad mayor al 0,5%, mientras que los compuestos a nivel de trazas no se incluyen. También están excluidos los compuestos industriales (ej. 2-etil-hexanol) que se consideran contaminantes y exógenos a la muestra.

Los resultados obtenidos con esta técnica de extracción muestran que la SPME de contacto es un método eficiente, sencillo de usar y sensible para la recolección de VOC presentes en el sudor humano.

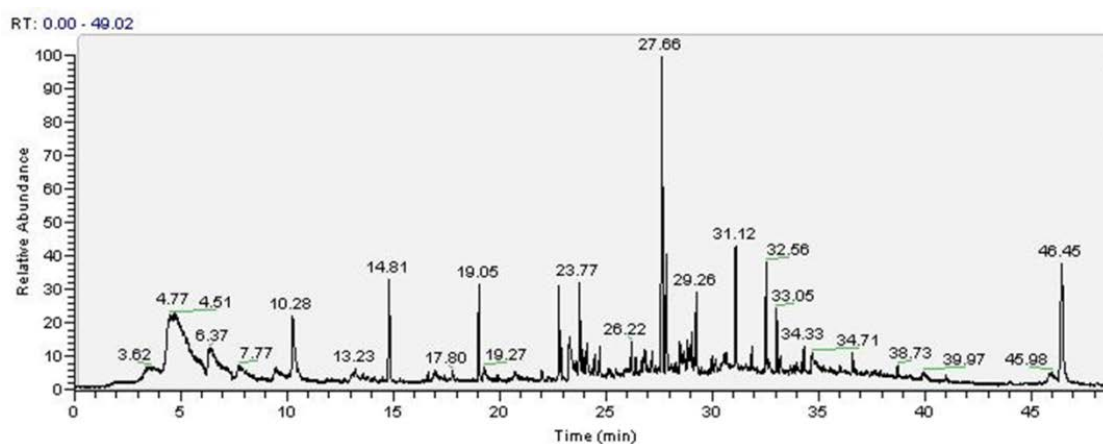
Tabla 3.1. Media (>0,5%) de cada VOC del sudor humano y extraído mediante SPME de contacto

VOC	R.I.	% ±SD	VOC	R.I.	% ±SD
3-metil-butanal	582	0,79±0,41	Undecano	1098	0,74±0,39
Ácido acético	606	1,26±1,57	Nonanal	1100	11,13±8,51
Hexanal	803	2,13±1,57	E2-nonenal	1149	5,08±3,49
Nonanol	900	1,07±0,89	Decanal	1205	4,11±2,82
Ácido 3-metil-butanoico	940	1,13±2,41	E2-decenal	1250	2,10±1,04
E2-heptenal	852	0,85±0,47	Ácido octanoico	1276	0,58±0,65
3-octanol	958	3,10±0,88	Tridecano	1297	1,93±0,98
Benzaldehído	961	1,24±0,65	3,7-dimetil-6-octanol	1304	1,53±0,79
1-octen-3-ol	976	4,85±1,61	Undecanal	1306	3,11±1,72
6-metil-5-hepten-2-ona	987	3,39±4,14	E2-undecenal	1362	1,61±1,01
Ácido hexanoico	978	7,82±6,01	Tetradeceno	1400	2,10±0,88
Octanal	1006	1,26±1,45	Geranilacetona	1448	3,06±2,30
Limoneno	1027	0,84±0,27	Pentadeceno	1498	2,81±1,22
Alcohol bencílico	1029	3,07±1,49	Tridecanal	1506	1,10±0,64
E2-octenal	1052	2,93±1,85	Ácido esteárico	1600	1,07±1,35
Octanol	1070	1,12±0,77			

Los compuestos se ordenan por orden de elución en una columna HP-5. R.I.: *Retention index*. El contenido relativo de cada componente está expresado con respecto al contenido total de VOC.

El análisis GG-MS (Figura 3.8) mostró un perfil de composición del sudor humano similar al descrito previamente por distintos autores (Logan *et al.*, 2008; Dormont *et al.*, 2013; Young *et al.*, 2015). Se han identificado un total de 31 VOC presentes en el sudor humano (Tabla 3.1) recogido del tronco y axilas mediante SPME de contacto.

Figura 3.8. Cromatograma de iones (GC/MS/EI) del sudor extraído mediante SPME de contacto



Por grupos funcionales los componentes mayoritarios fueron aldehídos (36%), seguidos de ácidos carboxílicos (15,86%), alcoholes (12,14%) e hidrocarburos (7,49%), además de dos cetonas como son 6-metil-5-hepten-2-ona (3,39%) y geranil acetona (3,06%). El perfil obtenido es consistente con los resultados obtenidos en otros estudios anteriores en los que se utiliza la misma técnica de SPME (Zeng *et al.*, 1991; Zhang *et al.*, 2005). No obstante, el utilizar el 0,5% de abundancia de cada VOC con respecto al total como umbral de identificación posiblemente sea la causa del menor número de compuestos identificados en nuestro estudio en comparación con la bibliografía existente (Musteata y Pawliszyn, 2007). No se observaron diferencias significativas en las cantidades relativas del perfil del sudor entre ambos sexos.

Los aldehídos C8-C12 fueron mayoritarios, destacando nonanal (11,13%), E2-nonenal (5,08%) y decanal (4,11%). Cuantitativamente, estos tres compuestos junto a las dos cetonas son mayoritarios en gran número de trabajos similares (Logan *et al.*, 2008; Prada y Furton, 2008; DeGreeff y Furton, 2011). Nuestro estudio se centró en dos partes de la anatomía humana, como son el tronco superior y las axilas, de ahí que posiblemente el contenido en ácidos grasos de cadena corta presentes en el perfil sea inferior al de otros estudios (Qiu *et al.*, 2004; Ara *et al.*, 2006; Caroprese *et al.*, 2009) que incluyen los volátiles presentes en el sudor de los pies. El elevado contenido en E2-nonenal (5,08%) es consistente con la edad de los voluntarios, ya que el incremento de este compuesto ha sido asociado con la edad del individuo (Haze *et al.*, 2001). Los monoterpenos no son producidos por los seres humanos (Charpentier *et al.*, 2012), de modo que la presencia del monoterpeno limoneno posiblemente sea debida a que su carácter liposoluble hace que sea fácilmente absorbido por las glándulas cutáneas. La especie *S. erythrocephalum* tiene tendencia a picar en las piernas y en menor medida en los brazos en nuestras latitudes (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2017a), lo que implica que al no haberse extraído sudor de esta parte del cuerpo, el perfil de VOC podría cambiar; y finalmente no detectarse algún compuesto importante en la respuesta electroantenográfica de esta especie. Thompson (1976, 1977a) expuso que el compuesto presente en el sudor de las glándulas ecricas de la parte inferior del cuerpo del ser humano parece estar relacionado con la atracción de *S. damnosum* s.l. por picar en las piernas de las personas.

Gran número de los compuestos identificados han sido descritos como activos frente a insectos hematófagos tales como *Anopheles* spp. Así, hexanal, nonanal, decanal, octanal y geranil acetona y linalool han sido descritos con actividad electroantenográfica en diferentes especies de culícidos (Cork y Park, 1996; Meijerink y Van Loon, 1999; Qiu *et al.*, 2004; Logan *et al.*, 2008; Syed y Leal, 2009). Algunos de los compuestos identificados en la EAG de los VOC del sudor humano con adultos de *S. damnosum* s.l. también han sido identificados en nuestro estudio, como son hexanal, decanal y ácido octanoico (Young, *et al.*, 2105).

Entre los compuestos identificados como componentes del sudor humano, se determinaron cuáles de ellos son neuroestimuladores, cuyos receptores se ubican en la antena de *S. erythrocephalum* utilizando la técnica de la EAG. Se ensayaron 15 de los componentes presentes en el sudor excluyendo los hidrocarburos lineales y compuestos no disponibles comercialmente. Además se incluyeron el ácido láctico y amoniaco que han demostrado previamente actividad frente a otros hematófagos (Geier *et al.*, 1999; Smallegange *et al.*, 2010). En nuestro estudio (Tabla 3.2), todos los componentes ensayados presentaron diferencias significativas ($p < 0,050$) en la actividad electroantenográfica con respecto al hexano. Además, de acuerdo con la prueba *post hoc* de Duncan, amoniaco, nonanal y decanal son los únicos



componentes que presentaron diferencias significativas con respecto al resto de productos que generaron señal en el EAG.

Tabla 3.2. Respuesta EAG de hembras de *S. erythrocephalum* frente a los VOC presentes en sudor humano

Producto	Media \pm SD	p (t-Student) comparado con hexano	p (ANOVA)
Ácido acético	47,15 \pm 61,44 ^a	<0,001	
Ácido hexanoico	47,84 \pm 78,60 ^a	0,001	
Ácido pentanoico	58,51 \pm 72,73 ^a	<0,001	
Ácido láctico	60,20 \pm 68,36 ^a	<0,001	
1-octen-3-ol	63,11 \pm 82,39 ^a	<0,001	
Ácido isovalérico	67,15 \pm 81,53 ^a	<0,001	
Undecanal	74,69 \pm 55,10 ^a	<0,001	
6-metil-5-hepten-2-ona	75,63 \pm 71,48 ^a	<0,001	
Hexanal	76,8 \pm 78,32 ^a	<0,001	<0,001
Ácido nonanoico	89,64 \pm 64,68 ^{ab}	<0,001	
Ácido octanoico	96,33 \pm 65,27 ^{ab}	<0,001	
Ácido butanoico	98,01 \pm 75,45 ^{ab}	<0,001	
E2-nonenal	17,99 \pm 92,00 ^{ab}	<0,001	
Pentanal	118,55 \pm 85,96 ^{ab}	<0,001	
Nonanal	159,58 \pm 70,98 ^b	<0,001	
Decanal	163,14 \pm 108,74 ^b	<0,001	
Amoniaco	1403,00 \pm 513,59 ^c	<0,001	

Respuesta relativa (%) respecto el control (hexano) EAG (\pm SD). Superíndices diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,050$) según la prueba *post hoc* de Duncan. Sólo se presentan los compuestos que presentan valores de EAG significativamente diferentes.

Los dos aldehídos de cadena corta, hexanal y E2-nonenal, además de los ácidos carboxílicos C6-C9, presentaron diferencias significativas en la EAG con respecto al disolvente hexano, coincidiendo con los resultados previamente descritos para *S. damnosum* s.l. y *S. ochraceum* (Young *et al.*, 2015). En nuestro caso, los ácidos grasos de cadena corta butanoico, isovalérico y pentanoico, que no han sido identificados previamente con actividad frente a otras especies de *Simulium*, sí lo son en el caso de *S. erythrocephalum*. El alcohol insaturado 1-octen-3-ol también presentó diferencias significativas en la EAG al igual que lo descrito para *S. ochraceum* (Young *et al.*, 2015) u otros dípteros tales como culícidos (Smallegange *et al.*, 2010). La cetona hemiterpénica 6-metil-5-hepten-2-ona (sulcatona) es un compuesto que ha sido identificado en estudios previos como un odorante humano (Gallagher *et al.*, 2008), pero también está presente en el perfil volátil procedente de hongos (Li *et al.*, 2012). Su actividad electroantenográfica frente a *S. erythrocephalum* (Tabla 3.2) es indicativa de la participación de este compuesto en la comunicación hematófago-hospedador, acorde con otros dípteros hematófagos como es el caso de *An. gambiae* (Meijerink *et al.*, 2001).

De acuerdo con los resultados obtenidos con otros artrópodos hematófagos (Syed y Leal, 2009), el nonanal es uno de los dos componentes que presentan una mayor respuesta electroantenográfica frente a *S. erythrocephalum*. El homólogo decanal también es un compuesto común entre los candidatos a participar en la comunicación química de hematófagos (Syed y Leal, 2009; Young *et al.*, 2015).



Hay que destacar que el amoniaco es la sustancia que mayor actividad electroantegráfica presentó en el estudio. Su abundancia en el sudor humano y actividad en otros insectos hematófagos (*Triatoma infestans*, *Ae. aegypti* o *An. gambiae*) está contrastada por numerosos autores (Haggart y Davies, 1980; Taneja y Guerin, 1997; Braks, 1999; Meijerink *et al.*, 2001). Además se han identificado receptores de membrana neuronal sensibles al amoniaco en distintas especies de artrópodos (Taneja y Guerin, 1997; Meijerink *et al.*, 2001). Es importante indicar que la ausencia de amoniaco en la Tabla 3.1 se debe a que el registro estándar del espectrómetro de masas se realizó a partir de $m/z=40$ amu de modo que no podemos detectar amoniaco ($m/z=17$ amu); en cualquier caso, se incluyó en los compuestos a ensayar en electroantegráfica.

Simulium erythrocephalum, a pesar de haberse identificado picando únicamente a personas en Zaragoza, presenta un amplio rango de hospedadores según otros autores europeos. En este sentido sería interesante analizar el sudor de estos otros hospedadores como vacas o caballos, a fin de encontrar VOC comunes a los del sudor del ser humano que pudieran explicar que la diversidad en las preferencias tróficas de esta especie está mediada por VOC y no únicamente por el CO₂.

Los resultados obtenidos en el presente estudio abren la posibilidad de formular un cebo químico con los VOC que han presentado actividad en la EAG de *S. erythrocephalum*. El siguiente paso es realizar ensayos de campo integrando los mediadores químicos identificados como atrayentes en las trampas de aspiración; comparando las capturas de *S. erythrocephalum* en las mismas trampas cebadas únicamente con CO₂ a modo de control.

Este trabajo sirve también de base para el estudio de los VOC como mediadores químicos en la atracción de otras especies plaga de simúlidos como las que integran el subgénero *Wilhemia*, que son muy agresivas sobre el ganado ovino y equino (Ortiz *et al.*, 2016).





4

Análisis de las consultas por picadura de insecto atendidas en los centros sanitarios públicos de Aragón en el periodo 2009-2015

4.1. Introducción

En este apartado enumeramos las diferentes familias de artrópodos que tienen interés sanitario, provocando picaduras en seres humanos y que por ende pueden ser motivo de consulta médica en los centros de atención sanitaria. A continuación describimos la picadura de una mosca negra y sus posibles consecuencias sobre la salud de las personas y posteriormente los brotes de simúlidos acontecidos en Europa, detallando la evolución de esta plaga en España. Finalizaremos describiendo los sistemas de información sanitaria de Aragón.

4.1.1. Artrópodos de interés en salud pública y sanidad animal

Los artrópodos, son animales que pertenecen al grupo de los invertebrados (carentes de columna vertebral o notocorda, y de esqueleto interno articulado). Los artrópodos (Arthropoda, del griego ἄρθρον (*árthron*: articulación) y ποῦς, (*pous*: pies)) constituyen el filo más numeroso y diverso del reino animal, con cuatro órdenes principales (arácnidos, crustáceos, insectos y miriápodos) que constituyen el 78% del total de especies descritas. Están presentes en todos los ecosistemas (medio terrestre, medio acuático de agua dulce y marino). Las características comunes de los artrópodos son la presencia de un exoesqueleto y patas articuladas. El primero es una estructura formada principalmente por quitina que recubre el cuerpo del artrópodo dotándole de protección física y resistencia a la desecación.

Los principales grupos de interés sanitario dentro de los artrópodos son los insectos y los arácnidos (Mullen y Durden, 2002), aunque los miriápodos y los crustáceos también ocasionan algunos problemas (Fernández-Rubio *et al.*, 2014). Históricamente los artrópodos han tenido un papel destacado, ya que han sido responsables de la transmisión de varias de las pandemias que han diezmando la población humana; teniendo un papel destacado en el desarrollo de la civilización. Enfermedades como la fiebre amarilla, el tifus, la malaria, la enfermedad de Chagas, la tripanosomiasis africana o la filariasis linfática han influenciado la historia humana (Mullen y Durden, 2002). La peste negra (peste bubónica o muerte negra), transmitida por las pulgas, es posiblemente la enfermedad responsable de la pandemia más letal de toda la historia de la humanidad que afectó a Europa en el siglo XIV matando a un tercio de la población continental (Aberth, 2011). Otro ejemplo de enfermedad transmitida por vectores que ocupa un lugar en la historia es el tifus exantemático epidémico. Hans Zinsser autor de "*Rats, Lice and History*" (1935) describe como las epidemias de tifus, transmitidas por el piojo humano, devastaron varios imperios y cómo Napoleón tuvo más bajas en sus filas por esta enfermedad que por el ejército ruso durante el asedio de Moscú.

En la actualidad existe un llamativo incremento a nivel mundial de las enfermedades transmitidas por artrópodos vectores y específicamente en las transmitidas por mosquitos y garrapatas. Entre los artrópodos de importancia sanitaria, los mosquitos (Diptera: Culicidae) son el grupo de mayor relevancia a nivel mundial por la transmisión de enfermedades de gran



trascendencia médica y veterinaria como son el dengue, la fiebre amarilla, la malaria y los virus Chikungunya y Zika, que en los últimos años están ocasionando importantes epidemias (Wilder-Smith *et al.*, 2017). El segundo grupo en importancia son las garrapatas que transmiten un gran número de patógenos entre los que destacan la enfermedad de Lyme (Portillo *et al.*, 2014) y la fiebre hemorrágica de Crimea-Congo, que recientemente está teniendo una expansión considerable en Europa (Palomar *et al.*, 2013). Existen otros muchos grupos con gran incidencia en la transmisión de agentes patógenos como son los flebotomos, culicoides, pulgas, chinches, etc. (Marquardt, 2005).

La ciencia que se encarga del estudio de los artrópodos de interés sanitario es la entomología médico-veterinaria, disciplina que combina el estudio de los artrópodos, enfermedades que transmiten y otros problemas asociados que afectan tanto a los seres humanos como a los animales y por consiguiente a la salud pública y sanidad animal (Mullen y Durden, 2002).

Los artrópodos pueden incidir sobre la salud humana y animal de varias formas (Mullen y Durden, 2002; Fernández-Rubio *et al.*, 2014):

1. Artrópodos como etiología de enfermedad
2. Causantes de problemas sanitarios:
 - a. Molestias
 - b. Inoculación de venenos y toxinas
 - c. Reacciones alérgicas
 - d. Parásitos y contaminantes de alimentos
3. Transmisión de patógenos:
 - a. Transmisores mecánicos de patógenos
 - b. Transmisores biológicos de patógenos
4. Fobias y parasitosis engañosas

En primer lugar, los artrópodos pueden afectar a la salud como etiología de enfermedad, como consecuencia de su conducta parasitaria como las miasis producidas por oéstridos o las sarnas producidas por ácaros.

En segundo lugar pueden producir diversos problemas sanitarios. Además de los artrópodos hematófagos existen otros artrópodos que pueden causar molestias tanto a las personas como a los animales por su abundancia y su hábito de sobrevolar alrededor de la cara. Algunos ejemplos son las moscas comunes, los quironómidos y las moscas de la fruta. Normalmente la falta de una correcta limpieza e higiene va asociada a grandes poblaciones de moscas comunes, moscas de la humedad o cucarachas.

Algunos miembros de varios de los grupos mencionados en la Tabla 4.1 pueden inyectar veneno en la picadura. Los grupos más conocidos y frecuentes son abejas, arañas, avispas, escorpiones y hormigas. Otros grupos como algunos escarabajos (ej: familia Meloidae) y algunas orugas (ej: *Thaumetopoea pityocampa* o procesionaria del pino) producen toxinas que causan problemas por contacto o ingestión. Estos “envenenamientos” son fruto de mecanismos defensivos que muchas veces se producen de forma accidental.



En numerosas ocasiones la exposición de los animales ante los artrópodos desencadena reacciones alérgicas de diversa índole. Muchas de las especies ya comentadas que inoculan toxinas venenosas (abejas, avispas, chinches de la cama, pulgas, trombicúlidos, etc...), también producen reacciones alérgicas a través de su picadura o por contacto. La consecuencia más común de esta reacción es una dermatitis (Alexander, 1984; Stingeni *et al.*, 2017). Ante una exposición repetida a la picadura de un mismo artrópodo, el hospedador puede reaccionar de dos formas diferentes según la naturaleza del antígeno y la sensibilidad del hospedador. Por un lado, se puede llegar a desensibilizar con el tiempo, y por otro lado producirse reacciones alérgicas que en algunos casos pueden desembocar en shock anafiláctico (Mullen y Durden, 2002).

Tabla 4.1. Lista de los órdenes de artrópodos con interés sanitario

Orden	Nombre común
Clase Insecta	
Orden Blattaria	Cucarachas
Orden Phthiraptera	Piojos ^{1,2}
Orden Hemiptera	Chinches ^{1,2}
Orden Siphonaptera	Pulgas ^{1,2}
Orden Coleoptera	Escarabajos
Orden Diptera	Mosquitos ^{1,2} , moscas negras ^{1,2} , flebótomos ^{1,2} , ceratopogónidos ^{1,2} , tábanos ^{1,2} , mosca tsetse ^{1,2} , moscas domésticas, moscas de los cuernos ¹ , moscas de los establos ¹ , éstridos, califóridos, sarcófágidos, hipobóscidos, etc.
Orden Lepidoptera	Mariposas y polillas
Orden Hymenoptera	Abejas ¹ , avispas ¹ y hormigas ¹
Clase Myriapoda	
Clase Chilopoda	Ciempíes ¹
Clase Quilopoda	Milpiés
Clase Arachnida	
Orden Scorpionida	Alacranes o escorpiones ¹
Orden Solifugae	Arañas sol ¹
Orden Acari	Ácaros ^{1,2} y garrapatas ^{1,2}
Orden Araneae	Arañas ¹
Orden Uropygi	Escorpiones látigo o vinagrillos
Clase Crustacea	
Subclase Copepoda	Copépodos ²
Subclase Branchiura	Piojos de peces de agua dulce (<i>Argulus</i>) ²
Subclase Eumalacostraca	Piojos de peces marinos (anfípodos, isópodos) ²

¹ Artrópodos que ocasionan picaduras. ² Principales grupos que son transmisores de enfermedades transmitidas por artrópodos vectores. Basado en Mullen y Durden (2002) y Fernández-Rubio *et al.* (2014).

Otros artrópodos pueden contaminar o estropear la comida. Además de dañar el alimento, alguna de sus partes puede ser ingerida accidentalmente dando lugar a reacciones alérgicas, miasis gastrointestinales y otros desórdenes. Las moscas o cucarachas son ejemplos de artrópodos contaminantes de alimentos, al transferir mediante contacto diversos patógenos a los alimentos. Algunas especies de coleópteros y de lepidópteros son ejemplos de artrópodos que se alimentan sobre los productos almacenados.



De forma indirecta varios grupos de insectos y arácnidos son capaces de transmitir enfermedades transmitidas por artrópodos vectores (ETAV). Virus y bacterias (incluidas las rickettsias) son los patógenos más importantes transmitidos por los artrópodos seguidos de los protozoos y los nematodos (Mullen y Durden, 2002). Los patógenos son transmitidos por dos vías principalmente: la más común y más eficiente es la transmisión biológica, que implica el desarrollo de una parte del patógeno dentro del artrópodo (marcados con ² en la Tabla 4.1). La segunda vía es la transmisión mecánica, donde los patógenos no se desarrollan ni se reproducen dentro del artrópodo sino que son transmitidos por contacto con alguna parte de su cuerpo o por regurgitación de una ingesta sanguínea infectada (Mullen y Durden, 2002).

Los artrópodos pueden inducir una gran variedad de reacciones negativas sobre las personas como asco o miedo. De hecho es una de las fobias más comunes y quizás la más extendida dentro del reino animal; dando lugar al término entomofobia. Las personas que lo sufren reaccionan desmesuradamente, incluso de una manera obsesiva, ante la presencia de un artrópodo. Los artrópodos también pueden inducir parasitosis ilusorias, que es un estado psicológico bastante común en el cual el individuo cree erróneamente que está siendo picado o convive con la presencia de parásitos. Esta condición representa un problema psicológico mayor que la fobia anteriormente mencionada (Mullen y Durden, 2002).

Además de los grupos detallados en la Tabla 4.1 existen otros artrópodos que plantean problemas sanitarios de menor importancia (Mullen y Durden, 2002) como son: los colémbolos (Orden Collembola), las efémeras (Orden Ephemeroptera), los insectos palo (Orden Ephemeroptera), los psocódeos (Orden Psocoptera), las tijeretas (Orden Dermaptera), los tricópteros (Orden Trichoptera) y los trips (Orden Thysanoptera).

De todos los órdenes de artrópodos que influyen negativamente la salud humana o animal en la Tabla 4.1 se muestran los que producen picaduras al ser humano en España que podrían desencadenar una reacción alérgica que requiriera de atención médica.

En España, varios autores han detallado la patología humana causada por los diferentes grupos de artrópodos de una forma global (González y Boada, 1981; González, 1982; Monzón-Muñoz y Blasco-Gil, 1997; Pastrana *et al.*, 2003). A su vez, existen trabajos nacionales sobre la incidencia en la salud humana de ciertos grupos como trombicúlidos (Santibáñez-Sáenz *et al.*, 2014), mosquitos (Giménez *et al.*, 2007), simúlidos (Gallego *et al.*, 1994), garrapatas (Oteo *et al.*, 1990; Fernández-Soto, 2001), abejas y avispas (Navarro y Peláez, 1998), escorpiones (González, 1980; Casal y Luque, 1985; Blasco *et al.*, 1989) y betílidos (Palomar *et al.*, 2017) entre otros.

4.1.2. Picaduras y molestias ocasionadas por los simúlidos

Los simúlidos son telmófagos, por lo que rasgan la piel ayudándose de unas mandíbulas serradas, produciendo una pequeña herida en ocasiones fácilmente observable. De hecho, a este grupo de artrópodos hematófagos se les conoce como *poolfeeders* ya que no ingieren directamente la sangre de los capilares, sino de un acúmulo de sangre que se forma tras cortar la dermis del hospedador (Crosskey, 1990). En el transcurso de la picadura inoculan una saliva que posee sustancias anestésicas, vasodilatadoras, anticoagulantes y antitrombónicas que provocan que el hospedador no sienta dolor en el momento de la picadura, a la vez que evitan la coagulación de la sangre y coadyuvan al aumento del flujo sanguíneo en la zona (Cupp y Cupp, 1997; Ribeiro y Francischetti, 2003; Cattopadhyay *et al.*, 2014). Esta saliva introducida



durante la picadura es la responsable de las graves reacciones alérgicas que posteriormente sufren muchos de los individuos afectados. Ciertos componentes de la misma pueden afectar la respuesta inmune, incluyendo la supresión del estímulo de ciertas citoquinas asociadas a células (Cupp y Cupp, 1997).

Una vez pasado el efecto anestésico, estas picaduras, que se producen durante el día aunque con mayor frecuencia en las horas crepusculares, se tornan dolorosas. Se identifican por presentar un punto central rojo, en ocasiones sangrante con inflamación local, aumento de la temperatura y tumefacción (Figura 4.1). Estas manifestaciones pueden tardar varios días e incluso semanas en remitir. Mucha gente experimenta picazón durante varios días tras de la picadura, pudiéndose agravar por el rascado de la herida (Crosskey, 1990). En algunas ocasiones las lesiones se presentan en forma de pápulas (Hansford y Ladle, 1979; De Villiers, 1987). Algunas veces (dependiendo del número de picaduras y del grado de sensibilidad de las personas y animales) la picadura puede presentar complicaciones (Krstić, 1966; Burány *et al.*, 1972), derivada de la reacción alérgica conocida como simuliotoxicosis (Crosskey, 1990) y producir una dermatitis (Krstić, 1966; De Villiers, 1987; Ignjatović-Ćupina *et al.*, 2006a; Borah *et al.*, 2012). El término simuliotoxicosis fue acuñado por primera vez por Wilhem *et al.* (1982) para describir los efectos tóxicos de las picaduras de simúlidos sobre el reno. Este síndrome se caracteriza por inflamación, picazón, hemorragia y edema (De Villiers, 1987) y requieren de obligada atención médica y hospitalización en los casos más graves (Gudgel y Grauer, 1954; Živković y Burány, 1972; Ignjatović-Ćupina *et al.*, 2006a). A veces los síntomas van acompañados de un cuadro febril y agotamiento y otra sintomatología como dolor de cabeza, eritema, náuseas, temblores, letargia e inflamación de los linfonodos del cuello (Krstić, 1966; Hansford y Ladle, 1979; Crosskey, 1990; Adler y McCreddie, 2002; Ignjatović-Ćupina *et al.*, 2006a). Este cuadro sintomático también recibe el nombre en EE.UU. de síndrome de *blackfly fever* (Jamnback, 1969). También se han descrito casos clínicos del síndrome de Kounis o infarto de miocardio alérgico ocasionado por picaduras de mosca negra (Davidovic *et al.*, 2014).

Figura 4.1. Picadura de *S. erythrocephalum*



El rascado de las picaduras, debido al picor, puede conllevar en primera instancia pústulas supurantes y otras desagradables lesiones secundarias (Crosskey, 1990). En países de clima cálido como España, estas picaduras pueden complicarse con miasis cutáneas derivadas de la acción de otros dípteros braquíceros (Adler y McCreddie, 2002; Figueras *et al.*, 2011).



De forma ocasional, se han descrito ataques masivos de enjambres al ganado que causan la muerte de muchos animales probablemente por una toxemia aguda o shock anafiláctico por las toxinas introducidas con la saliva en la picadura (simuliotoxicosis) o incluso directamente por shock hipovolémico (Dinulescu, 1966; Boiteux y Noirtin, 1979; Rivosecchi, 1986; Leclercq, 1987; Adler y McCreadie, 2002). Rempel y Arnason (1947) observaron como en las necropsias del ganado muerto por simuliotoxicosis los síntomas y lesiones sugerían varios factores pero la muerte de los animales era normalmente atribuida al shock y a una actividad anticoagulante sostenida. La mayoría de las especies responsables de los fenómenos de simuliotoxicosis crían en ríos grandes donde los adultos emergen en gran número. Destacan especies como *A. pestilens* en Australia, *C. pecuarum* en EE.UU., *S. colombachense* en el río Danubio, *S. erythrocephalum*, *S. ornatum* s.l. y *S. reptans* en Europa Central y *S. articum* s.l. en Canadá. Actualmente los casos de simuliotoxicosis que originen muertes de animales a gran escala son infrecuentes porque los lugares de cría de estas especies están alterados por la contaminación y la modificación de los cauces (Adler y McCreadie, 2002). En nuestro país no hay registrados casos de muerte de animales domésticos por ataques masivos de simúlidos. En el valle medio del Ebro en el 2017 se observaron por primera vez casos de ovejas muertas por *Pasteurella* sp. con un gran número de picaduras de simúlidos (Figura 1.13), lo que podría suponer que el estrés repentino causado por las picaduras masivas habría obligado a la oveja a dejar de comer y posteriormente desencadenar el cuadro clínico de una pasteurelisis fulminante (Luis Figueras Ara y David Martínez Durán, comunicación personal).

Numerosas especies de simúlidos son atraídas por el ser humano pero no le pican o lo hacen de una manera anecdótica. Estas especies pueden llegar a ser muy molestas para la población. En Norteamérica, *S. jenningsi* es una especie que ocasiona grandes molestias en las actividades al aire de las zonas afectadas (Adler y McCreadie, 2002) al igual que miembros del subgénero *Wilhelmia* en la región de Capadocia (Turquía) (Sariözkan *et al.*, 2013). En España las especies que más molestias de este tipo producen son las que pertenecen al subgénero *Wilhelmia*: *S. equinum*, *S. lineatum*, *S. pseudequinum* y *S. sergenti* (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2014). Sin duda, ésta última es la responsable de los mayores problemas en España debido a su revoloteo constante alrededor de las cabezas de las personas, introduciéndose en la boca, orejas y nariz (Sánchez-López *et al.*, 2017b).

4.1.3. Plagas por especies de simúlidos

Existen numerosos casos documentados de brotes de simúlidos en varios países del mundo, donde la repentina aparición de poblaciones masivas de estos insectos ha producido y producen graves problemas tanto a la población como al ganado (Hansford y Ladle, 1979; Amrine, 1982; Rivosecchi, 1986; Palmer, 1997; Ignjatović-Ćupina *et al.*, 2006a). Berryman (1987) define un brote, desde el punto de vista ecológico, como un aumento explosivo en la abundancia de una especie en particular en un período relativamente corto de tiempo. Esta definición se ajusta perfectamente al tipo de brotes originados por los simúlidos que afectan a la salud tanto de personas como animales. Según Adler *et al.* (2016), el aspecto esencial que eleva la consideración de un brote al estado de plaga en cada caso en particular es la producción de poblaciones de adultos de simúlidos que superan un umbral económico. El estado de plaga en los simúlidos se alcanza normalmente por cualquiera de estas dos vías: la especialización donde las especies colonizan grandes ríos continentales con más de 100 m de



ancho; o la generalización, donde las especies colonizan gran variedad de arroyos y ríos más pequeños (Adler *et al.*, 2016). En cualquiera de las vías, el ser humano puede ayudar a instaurar problemas de simúlidos con la construcción de embalses que incrementan el nivel de alimento para los insectos filtradores (Richardson y Mackay, 1991).

Las especies de simúlidos antropófilas constituyen el 10% de toda la fauna en cualquier región zoogeográfica (Adler y McCreddie, 2002). No se conoce ninguna especie que se alimente exclusivamente sobre los seres humanos. En Norteamérica se han registrado al menos 54 especies picando a las personas y de éstas alrededor de 33 se les puede considerar con el estatus de especie plaga debido a sus picaduras y molestias sobre el ser humano (Adler *et al.*, 2004). A nivel mundial, de las aproximadamente 40 especies plaga de simúlidos más significativas de las personas y el ganado a nivel mundial, un tercio siguen la vía de la especialización para alcanzar el estado de plaga (Adler *et al.*, 2016). Entre estas especies destacan algunas responsables de importantes cuadros de simuliotoxicosis en varios países del mundo como *S. colombaschense* y *S. reptans* en Europa (Crosskey, 1990) y *S. jenningsi* y *S. vampirum* en Norteamérica (Amrine, 1982; Fredeen, 1977). Otro tercio de las especies con mayor impacto siguen la vía generalista incluyendo especies como *S. erythrocephalum* y *S. ornatum* s.l. en Europa, *S. pertinax* en Brasil y *S. venustum* y *S. vittatum* en Norteamérica. Algunas especies generalistas esporádicamente colonizan grandes ríos llegando a ocasionar problemas a través de la vía de la especialización antes comentada (Adler *et al.*, 2016).

Las principales regiones del planeta donde los simúlidos tienen gran importancia para la salud y para la economía son ciertas regiones de Norteamérica, América Central, la región tropical de Sudamérica, Europa, Rusia y Nueva Zelanda (Tabla 4.2).

En Europa existen varias especies de interés por sus molestas picaduras sobre las personas y animales. Sin duda, la especie europea que más problemas ha ocasionado en la historia es *S. colombaschense*. Sus recurrentes brotes en la cuenca media del río Danubio conllevaron la muerte de miles de animales sobre todo en la antigua Yugoslavia, Hungría y Rumania hasta la mitad del siglo pasado. Actualmente, la especie sigue presente pero ya no plantea ningún peligro pues sus antiguos y productivos lugares de cría en el Danubio fueron inundados con la construcción de una presa en 1969, dando lugar a un lago de 175 Km de largo (Crosskey, 1990).

Simulium erythrocephalum, que está ampliamente distribuido en 36 países de la región Paleártica (Adler y Crosskey, 2018), es responsable de importantes molestias en Europa, dado que es una especie altamente antropófila (Krstić, 1966; Živković, 1970; Rivošecchi, 1978a, 1986; Ignjatović-Ćupina *et al.*, 2006a). Bajo óptimas condiciones climáticas, esta especie puede desarrollar poblaciones masivas de adultos como ha ocurrido en diversos países europeos, los cuales han registrado picaduras por esta especie; principalmente en Alemania (Rühm, 1970), Serbia (Živković 1967b; Živković y Burany, 1972), Hungría (Szabó, 1964), Italia (Rivošecchi y Coluzzi, 1962) y Francia (Beaucournu-Saguez *et al.*, 1993; Bardin *et al.*, 2001). Incluso se pueden producir casos de simuliotoxicosis con muerte de animales cuando el brote es muy grave (Crosskey, 1990), como el descrito en abril de 1969 en Suiza (Eckert *et al.*, 1969). Dos de los países más afectados son Hungría (Szabó, 1964; Pápay *et al.*, 1971) y Serbia. En este último se han descrito brotes que han requerido la asistencia médica de un gran número de personas (Krstić, 1966; Živković y Burány, 1972; Ignjatović-Ćupina *et al.*, 2006a).



Tabla 4.2. Especies plaga de simúlidos por sus picaduras y molestias sobre humano y animales

Especie	Región donde es plaga	Picaduras			Molestias humanos
		Aves	Ganado	Humanos	
<i>A. australense</i>	Nueva Zelanda (Isla Norte)			+	
<i>A. pestilens</i>	Australia (Queensland)		++		
<i>A. ungulatum</i>	Nueva Zelanda (Isla Sur)			++	
<i>C. pecuarum</i>	EE.UU. (valle del río Misisipi)		++	++	
<i>C. ornithophilia</i>	Norteamérica (noreste)	++			
<i>P. mixtum</i> s.l.	Norteamérica (noreste)			++	
<i>S. amazonicum</i>	Brasil (Amazonia)			++	
<i>S. arakawae</i>	Japón		+	+	
<i>S. vampirum</i>	Canadá (Alberta)		++		
<i>S. bonaerense</i>	Argentina			+	
<i>S. buissoni</i>	Islas Marquesas			++	
<i>S. cholodkovskii</i>	Rusia (Siberia)		++	++	
<i>S. colombaschense</i>	Europa (cuenca del Danubio)		++ ¹		
<i>S. chutteri</i>	Sudáfrica		+		
<i>S. decimatum</i>	Rusia y Norteamérica (norte)		++	++	
<i>S. equinum</i>	Europa y Rusia		+		+
<i>S. erythrocephalum</i>	Europa Central		+	+	
<i>S. incrustatum</i>	Paraguay		+		
<i>S. jenningsi</i>	Norteamérica (este)	+	+	+	
<i>S. limbatum</i>	Brasil y Guayana (frontera)			++	
<i>S. lineatum</i>	Europa y Rusia		+		+
<i>S. luggeri</i>	Canadá (noroeste)		++		
<i>S. maculatum</i>	Rusia		+	+	
<i>S. meridionale</i>	Norteamérica	++	+		
<i>S. ornatum</i> s.l.	Europa y Rusia		+	+	
<i>S. parnassum</i>	Norteamérica (este)		+ ²	+	
<i>S. penobscotense</i>	Norteamérica (noroeste)		+	+	
<i>S. posticatum</i>	Inglaterra			+	
<i>S. pusillum</i>	Rusia (norte)		++	++	
<i>S. quadrivittatum</i>	Belice y Panamá			++	
<i>S. reptans</i>	Europa y Rusia		+	+	
<i>S. rugglesi</i>	Norteamérica	+	+	+	
<i>S. sanguineum</i>	Sudamérica (noroeste)		++	++	
<i>S. slossonae</i>	EE.UU. (suroeste)	++		++ ²	
<i>S. tescorum</i>	EE.UU. (suroeste)			+	
<i>S. transiens</i>	Rusia			++	
<i>S. truncatum</i>	Norteamérica, Escandinavia y Rusia (norte y Siberia)		++	++	
<i>S. venustum</i> s.l.	Norteamérica		++	++	
<i>S. vittatum</i> s.l.	Norteamérica		+		+

+: Picaduras; ++: Picaduras masivas. ¹ Actualmente ya no es una especie plaga. ² Especie plaga ocasional. Basado en Crosskey (1990), Adler y McCreddie (2002) y Adler *et al.* (2004).

Según Crosskey (1990), las molestias por esta especie no alcanzan en el resto de países europeos la misma severidad que en la cuenca del Danubio. Esta situación ha cambiado, pues la problemática actual en España está alcanzando niveles nunca antes registrados en el país con un gran impacto en



salud pública (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2014b, 2017a). *Simulium erythrocephalum* se ha descrito como una especie típica de tramos de río medio-bajos con lechos de arena, con baja concentración de oxígeno y cuya velocidad del agua sea baja o moderada (Živković, 1971; Rivosecchi, 1978), características que se dan en numerosos ríos de la Península Ibérica. Las hembras de *S. erythrocephalum* atacan en enjambres masivos con la misma violencia sobre el ser humano que sobre otras especies de mamíferos y aves (Živkovic, 1971; Ignjatović-Ćupina *et al.*, 2006a).

Otra especie europea con incidencia en la salud humana es *S. posticatum* (anteriormente *S. austeni*) en Inglaterra (Hansford y Ladle, 1979). Las molestias de esta especie son únicas, ya que hasta los años 60 nunca se habían registrado molestias por esta especie en la isla y desde entonces ha sido una plaga recurrente anualmente en ciertos periodos (Crosskey, 1990). *Simulium posticatum* causaba problemas durante unas pocas semanas a finales de mayo y principios de junio en el área de Blandford en el sur de Inglaterra.

En el norte de Europa también hay grandes problemas ocasionados por simúlidos en ciertos años o regularmente en cada primavera y verano. En Escandinavia, los lapones y sus renos sufren severamente las picaduras de *S. truncatum*. En Ucrania está afectado el río Dnieper y en la parte europea de Rusia, los ríos Don y Volga (Crosskey, 1990). Otras especies con eminente carácter zoófilo, aunque también pican al ser humano, con importancia en el continente europeo son *S. ornatum* s.l. y *S. reptans* (Crosskey, 1990; Ignjatović-Ćupina *et al.*, 2006b). Ambas son especies muy comunes que producen serias molestias sobre los animales, y de forma ocasional han sido responsables de muertes masivas de ganado (Rivosecchi, 1986; Rühm, 1986).

Ya se ha comentado que de las 55 especies de simúlidos citadas en España (Adler y Crosskey, 2018), al menos 13 especies se han descrito con hábitos de picadura sobre seres humanos: *P. hirtipes*, *P. rufipes* s.l., *S. latipes*, *S. angustitarse*, *S. costatum*, *S. monticola*, *S. variegatum*, *S. tuberosum* (Carlson, 1962); *S. intermedium* (Rivosecchi, 1997); *S. reptans* (Rubtsov, 1956; Rivosecchi, 1986); *S. argyreatum* (Rivosecchi, 1986); *S. bezzii* s.l. (Beaucournu *et al.*, 1992); *S. ornatum* s.l. (Gallego *et al.*, 1994) y *S. erythrocephalum* (Rühm, 1970; Bardin, 2001). De todas estas especies, tan sólo dos especies, *S. erythrocephalum* y *S. ornatum* s.l. han sido incriminadas en España como causantes de picaduras en el ser humano (Gallego *et al.*, 1994; Giménez *et al.*, 2007; Ruiz-Arrondo *et al.*, 2017a). *Simulium erythrocephalum*, presente en varios ríos de Aragón, Cataluña, Madrid y Valencia, es la especie que sin duda está ocasionando los mayores problemas (Valle Trujillo y Escosa, 2009; Ballester, 2012; Marqués, 2012; Ruiz-Arrondo *et al.*, 2012a, 2015, 2017a; Villanúa *et al.*, 2013). En cualquier caso, los trabajos realizados hasta ahora en España se han centrado en la presencia y abundancia de las especies estudiando sus formas preimaginales y no los adultos, por lo que es probable que haya más especies de simúlidos con impacto en salud pública debido a sus picaduras en España (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2014b, 2017a).

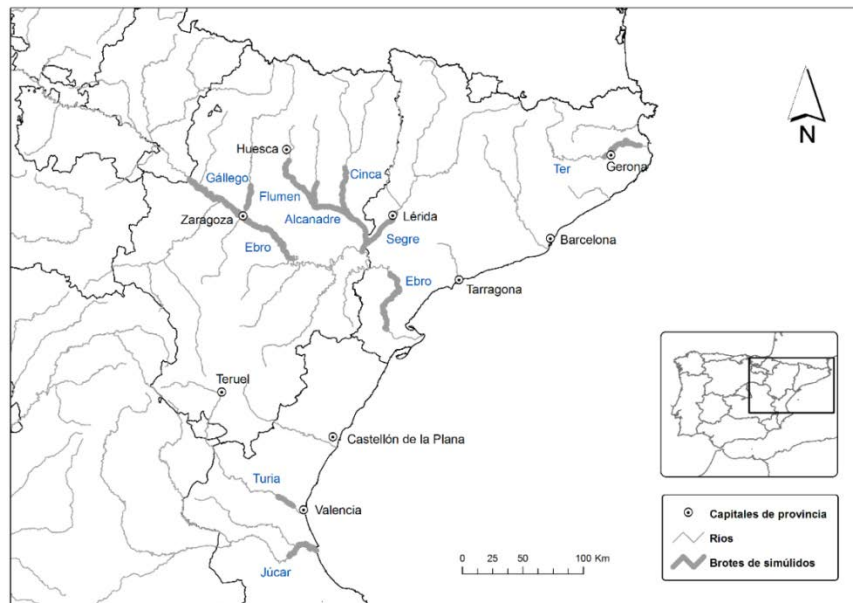
4.1.4. Evolución de la problemática de los simúlidos en España

La primera constancia de problemas por molestias a la población por un desarrollo masivo de simúlidos en España se produjo a finales de la década de los noventa en el río Ter, en la provincia de Gerona (Marqués, 2012). En Aragón los primeras molestias comenzaron también a finales de esta década en la comarca de Los Monegros en Huesca, en el río Flumen y en canales de riego próximos, lo cual generó muchas afecciones en varias poblaciones de la comarca (Villanúa *et al.*, 2013). Al mismo tiempo, también hubo constancia de problemas por simúlidos



en el río Albaida y río Serpis en la Comunidad Valenciana (Anecpla, 2018). Posteriormente, en el año 2005, aparecieron las primeras quejas por picaduras en el río Ebro en la comarca del Baix Ebre en Tarragona, con un incremento de las atenciones médicas por picaduras en varias poblaciones de la ribera (Valle Trujillo y Escosa, 2009). Mientras, las quejas por esta plaga se fueron extendiendo a otras comarcas de Aragón por donde discurren los ríos Cinca y Alcanadre (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2009) (Figura 4.2).

Figura 4.2. Tramos de ríos donde se producen los brotes de simúlidos más importantes en el noreste de España (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2014b)



En los últimos 10 años se han detectado importantes perjuicios en otras cuencas españolas (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2014b). Actualmente los ríos que plantean importantes problemas además de los anteriormente mencionados son: el río Segre en la provincia de Lérida (Rovira *et al.*, 2007); el río Gállego, el río Jalón y diversos tramos del río Ebro en la provincia de Zaragoza; y los ríos Júcar, Turia-Gudalaviar y Serpis en la Comunidad Valenciana (Ballester, 2012; Bravo, 2017; Córdoba-Lloria *et al.*, 2017). También se tiene constancia de molestias en ciertos años en pequeños afluentes del río Guadalquivir en Jaén (Ortiz, 2014) y en Córdoba (Obregón *et al.*, 2016a, b). El municipio de Torrejón de Ardoz fue el primero en Madrid en detectar problemas en el año 2008 en el río Henares (Soriano, 2012; Medina y Gómez, 2014), y posteriormente y de forma paulatina son varios los municipios en las inmediaciones de los ríos Henares y Jarama a los que se va extendiendo el problema (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2014b; Serrato y Sánchez, 2017); incluso la ciudad de Madrid ha notificado recientemente molestias por *S. sergenti* (Oscar Soriano, comunicación personal). Las últimas comunidades autónomas en sumarse a la problemática por esta plaga son Murcia (Sánchez-López *et al.*, 2017a, b), Extremadura (José Marín Sánchez, comunicación personal) y La Rioja (Lastra, 2017), donde está produciendo gran alarma social (Figura 4.3).

Especial atención merece la situación del tramo medio del río Ebro a su paso por la ciudad de Zaragoza y su área metropolitana. Sólo en esta capital se produjo en los veranos de 2011 y 2012 un incremento superior al 200% en el número de consultas por picaduras de insectos registradas en los centros de atención primaria respecto al mismo periodo del 2010 (Gobierno de Aragón, 2012; Ruiz-Arrondo *et al.*, 2014b), debidas a la gran abundancia de simúlidos



(Figura 4.4). El año 2011 fue la primera vez que se detectaron molestias masivas dentro de la ciudad; sin embargo, desde hace años se tenía constancia de molestias en otras áreas de la ribera del río Ebro aguas abajo de la ciudad de Zaragoza y en el río Gállego afectando tanto al ganado (ovino, bovino y equino) como a la población (Figueras *et al.*, 2011).

Figura 4.3. Portada del periódico La Rioja del 21 de julio de 2017



Figura 4.4. Trampa CDC cebada con CO₂ con numerosos simúlidos adultos capturados durante el brote de 2012 en Zaragoza



Durante los años posteriores hasta 2016, el número de atenciones por picadura de insecto no ha alcanzado los valores de esos dos años aunque siguieron siendo superiores a los niveles pre brote del 2010 (Gobierno de Aragón, 2016). Sin embargo, la situación ha cambiado durante la época estival del año 2017 donde de nuevo se han incrementado las atenciones médicas por picadura de insecto (Gobierno de Aragón, 2017a).

Los ciudadanos consideran las molestias derivadas de las picaduras frecuentes como un problema que afecta directamente a su calidad de vida en época estival. El ocio y las actividades al aire libre se ven fuertemente mermadas. Seguramente muchos ciudadanos ven a la mosca negra como una de las plagas más serias que afectan a la ciudad de Zaragoza. Por este motivo la Dirección General de Salud Pública consideró necesario desarrollar un sistema de vigilancia de las picaduras de insectos en Atención Primaria (AP) con el fin de intentar conocer el impacto que este problema supone en nuestro medio. Desde 2011, la Dirección General de Salud Pública incorpora la vigilancia de picaduras de insectos a través de la Historia Clínica Electrónica de AP con el objetivo de monitorizar la demanda de asistencia sanitaria por este proceso (Gobierno de Aragón, 2016).

Las causas que están favoreciendo la emergencia de brotes de ciertas especies de simúlidos en España están relacionadas con la actividad humana. Los factores que posibilitan el estatus de los simúlidos como plaga no están estudiados en nuestro país (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2014b). Sin embargo, se puede apuntar a la mejora de la calidad del agua y a la regulación de los ríos como dos elementos que permiten en muchas ocasiones el desarrollo de macrófitos en el lecho de los mismos (Figura 4.5). Estos macrófitos sirven como sustratos para los estadios preimaginales de las moscas negras (Figura 4.6). La proliferación de los simúlidos se ve favorecida por la moderada contaminación orgánica de los cauces fluviales, producida por vertidos de granjas o labores agrícolas (González, 1990). La eutrofización del agua conlleva una serie de factores que permiten la explosión poblacional de simúlidos como son un incremento del alimento en suspensión, la limitación de la presencia de hospedadores y el favorecimiento del crecimiento de macrófitos (Noirtin *et al.*, 1981; Ruiz-Arrondo *et al.*, 2014b).

Estas razones, ligadas a la adaptación de varias especies desde ríos pequeños a grandes cauces y la colonización de nuevos ecosistemas agrícolas y fluviales, desencadenan explosiones poblacionales (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2014b). Crosskey (1990) explica como los cambios ambientales que se producen en los ríos son un factor muy importante para el desarrollo masivo de brotes de simúlidos; y como éstos podrían explicar como una especie sin importancia previa como plaga haya alcanzado este estatus. Un ejemplo en España de esta última afirmación podría ser las primeras molestias detectadas por *S. sergenti* en Murcia (Sánchez-López *et al.*, 2017b). Las condiciones climáticas e hidrológicas también se postulan como elementos clave en el desarrollo masivo de estos insectos.

En la inmensa mayoría de los ríos afectados mencionados anteriormente, la presencia masiva de los simúlidos está relacionada directamente con la proliferación de macrófitos en los ríos. En las últimas décadas están proliferando los macrófitos en sistemas fluviales y lacustres alterados por el ser humano (Goes, 2002). Estas plantas acuáticas han experimentado un gran desarrollo en la cuenca del Ebro desde los años 90. Probablemente no hay una única causa directa y específica que explique esta proliferación, sino que es un efecto acumulado y sinérgico de varios factores: hidrológicos, morfológico-hidráulicos, calidad del agua y biológicos (Duran *et al.*, 2010).



Figura 4.5. Macrófitos en el río Ebro a su paso por Zaragoza



Este tipo de plantas constituye un hábitat idóneo para el desarrollo de las formas preimaginales de los simúlidos. Desde que los macrófitos ocupan parte del cauce de los ríos mencionados, en sus tramos medios y bajos, se han visto incrementadas las poblaciones de mosca negra en numerosas áreas (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2012b). La presencia masiva de formas inmaduras en estas plantas acuáticas desencadena explosiones poblacionales de adultos, es decir la aparición repentina de una gran cantidad de simúlidos en una zona determinada. Estos macrófitos no son los únicos responsables de la expansión de estos dípteros en España, pues hay que sumar otras causas como se ha mencionado previamente. Existen ríos donde los macrófitos no son el sustrato predominante o incluso están ausentes, y sin embargo se ha observado la presencia de especies plaga. Las principales especies de macrófitos asociadas con la presencia de simúlidos en las cuencas de los ríos Ebro y Ter son *Potamogeton pectinatus*, *Myriophyllum spicatum* y *Ceratophyllum demersum*. Córdoba-Lloria *et al.* (2017) señalan como la mayoría de las pupas en la cuenca del río Júcar en Valencia están fijadas sobre macrófitos, especialmente *P. pectinatus* (Figura 4.6).

Figura 4.6. Hojas de *Potamogeton pectinatus* con larvas y pupas de simúlidos



Por lo observado hasta ahora en diferentes ríos de la cuenca del Ebro, la aparición de la plaga de simúlidos acontece tras la colonización de los cursos fluviales por parte de los macrófitos (Figura 4.5). Dichos macrófitos se encuentran en un ambiente óptimo a causa de los limitados aportes de materia orgánica procedentes de los vertidos urbanos de las poblaciones ribereñas.



Al hablar de “limitados” nos referimos a que los ríos se encuentran en mejores condiciones que en los años 60-90 pero, sin llegar a un estado óptimo anterior al periodo de degradación desmedida de los ríos (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2014b). En esos años los niveles de contaminación producían fuertes anoxias que conllevaron la desaparición de los invertebrados más sensibles, entre ellos los simúlidos. Sin embargo, la actual regulación de los ríos ha propiciado un caudal más moderado del flujo, permitiendo el asentamiento de macrófitos sumergidos en sus cauces al iniciarse una mejora en la calidad de sus aguas. Además, el aporte moderado de materia orgánica en los ríos permite un sustento nutricional importante para la población de simúlidos ya que son filtradores insaciables (Juan Rueda Sevilla, comunicación personal). Un claro ejemplo de esto lo observamos en el río Ebro a su paso por Aragón, donde la progresiva colonización de esta comunidad vegetal río arriba conlleva la aparición de molestias por simúlidos poco después (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2014b).

4.1.5. Sistemas de información sanitaria

Las administraciones públicas sanitarias implementan sistemas de información para identificar los problemas de salud de una población y generar información fiable a partir de fuentes de datos tanto sanitarias como no sanitarias que les permitan diseñar programas sanitarios. El nivel de desarrollo de una organización de salud pública se refleja en la existencia de sistemas de información sanitaria eficaces.

Estos sistemas de información en salud pública deben recopilar datos sobre los parámetros de salud de la población, el funcionamiento del sistema de salud y la infraestructura sanitaria; pero también información sobre los factores determinantes de dicha salud. La monitorización de los parámetros sanitarios y sus variaciones son elementos claves para conocer las diferencias del estado de salud de una población, con el fin de planificar nuevas intervenciones y evaluar posteriormente el impacto de las políticas públicas en materia de salud (Gobierno de Aragón, 2017b).

La Dirección General de Salud Pública del Gobierno de Aragón utiliza varios sistemas de información en el ámbito sanitario (Gobierno de Aragón, 2017c):

- Enfermedades de Declaración Obligatoria (EDO) y otros procesos
- Sistema de Información Microbiológica
- CMBD: Morbilidad Hospitalaria. Enfermedades de Declaración Obligatoria
- Red Centinela de Aragón
- Sistema OMI-AP
- Sistema PCH Urgencias

4.1.5.1. Enfermedades de Declaración Obligatoria y otros procesos

Las enfermedades de declaración obligatoria (EDO) están listadas en el Anexo I del Decreto 222/96, de 23 de diciembre de 1996, del Gobierno de Aragón, por el que se regula la vigilancia epidemiológica en Aragón. La declaración de estas enfermedades se realiza semanalmente ante el diagnóstico de sospecha, una vez finalizada la semana, que a efectos epidemiológicos comienza el domingo y finaliza el sábado a las 24:00 (Gobierno de Aragón, 2003).



Los médicos con ejercicio profesional, tanto del sector público como privado, están obligados a notificar las EDO diagnosticadas por ellos. Esta obligación incluye a centros hospitalarios y centros de especialidades jerarquizados del Servicio Aragonés de Salud (SALUD), hospitales privados, centros asistenciales de AP, centros sociosanitarios y consultorios privados (Gobierno de Aragón, 2003).

4.1.5.2. Sistema de Información Microbiológica de Aragón

El Sistema de Información Microbiológica (SIM) es uno de los sistemas básicos de vigilancia epidemiológica en España junto con la notificación de EDO y la notificación de situaciones epidémicas y brotes. A nivel nacional se recoge en el Real Decreto 2210/1995, de 28 de diciembre, por el que se crea la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica, y a nivel autonómico en Aragón se desarrolla en el Decreto 222/96 de 23 de diciembre del Gobierno de Aragón, por el que se regula la vigilancia epidemiológica en Aragón (Dirección General de Salud Pública de Aragón, 2017c).

El SIM de Aragón complementa los sistemas de vigilancia epidemiológica que existen en la actualidad y cuyo objetivo principal es recoger información detallada sobre enfermedades infecciosas confirmadas laboratorialmente para aportar información específica para la vigilancia epidemiológica de las enfermedades transmisibles (Gobierno de Aragón, 2017c).

4.1.5.3. Conjunto Mínimo Básico de Datos

El CMBD (Conjunto Mínimo Básico de Datos) es una base de datos con fines clínicos y de gestión administrativa que recoge información homogénea al alta de los episodios de hospitalización de todos los centros sanitarios, tanto públicos como privados. El CMBD se creó a finales de los años 80 como una fuente de datos homologada para analizar la actividad hospitalaria y conocer el proceso asistencial. En Aragón su funcionamiento está regulado por la Orden del 16 de enero de 2001 del Departamento de Sanidad, Consumo y Bienestar Social.

La Dirección General de Salud Pública de Aragón incorpora desde 2012 el análisis de las altas hospitalarias de los aragoneses en hospitales de Aragón en relación a las enfermedades de Declaración Obligatoria, con el objetivo de medir la morbilidad hospitalaria por estos procesos (Gobierno de Aragón, 2017d).

4.1.5.4. La Red Centinela de Aragón

La Red Centinela de Aragón es un sistema de vigilancia más especializado para la vigilancia de la gripe, que refuerza la vigilancia que se realiza mediante el sistema tradicional de declaración EDO (Gobierno de Aragón, 2017d).

Los componentes para la vigilancia de la gripe mediante un sistema centinela son:

- Notificación de casos por parte de los médicos centinela.
- Detección de virus gripales por parte del Laboratorio de Microbiología del Hospital Universitario Miguel Servet.
- Resúmenes de actividad de otras redes colindantes notificadas a través de sus notificaciones semanales y centralizadas a escala estatal por el Centro Nacional de Epidemiología.

De esta manera se consigue estimar la incidencia de gripe en nuestra comunidad, describir sus características y tipificar los virus circulantes durante la temporada, aportando información para determinar la composición de la vacuna para la próxima temporada gripal.



4.1.5.5. Sistema OMI-AP

En Aragón, en los últimos 10 años se han informatizado las historias clínicas de los pacientes. En el año 2011 se completó el proceso de implantación de la historia clínica electrónica en todos los centros de salud. Esta historia clínica electrónica se recoge y gestiona mediante la aplicación OMI-AP, donde los procesos de salud son codificados según la Clasificación Internacional de Enfermedades de Atención Primaria (CIAP-1). De esta forma el sistema OMI-AP se convierte en una herramienta sumamente útil para obtener de datos de las EDO y de otros procesos objeto de vigilancia. Paulatinamente la explotación estadística de estos datos se está incorporando en la toma de decisiones en Salud Pública (Gobierno de Aragón, 2017b).

El Departamento de Sanidad, Bienestar Social y Familia, desde la Dirección General de Salud Pública del Gobierno de Aragón, a través de las secciones de Información e Investigación Sanitaria y de Vigilancia Epidemiológica, analiza la información obtenida de OMI-AP con el objetivo de valorar de forma sistemática el estado de salud en Aragón (Gobierno de Aragón, 2017b), aunque la actual arquitectura del sistema dificulta la implementación de sistemas de análisis automatizado.

4.1.5.6. Sistema PCH Urgencias

El término PCH (Puesto Clínico Hospitalario) es la denominación de la historia clínica electrónica en los Servicios de Urgencias Hospitalarios de Aragón. Se trata de una aplicación informática que permite el seguimiento del paciente durante su estancia en las urgencias hospitalarias.

El sistema PCH es una herramienta muy útil para evaluar de calidad asistencial y los recursos utilizados. Esta informatización llevada a cabo con este sistema permite una gestión más eficiente de los recursos y de la información sanitaria (Gobierno de Aragón, 2010).

Las atenciones recogidas en el sistema PCH Urgencias se codifican según el sistema CIE9MC (Clasificación Internacional de Enfermedades, 9ª Revisión, Modificación Clínica) (Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad, 2014). El CIE9MC es el sistema de clasificación de referencia utilizado para la codificación de datos clínicos en distintos sistemas de información sanitaria, entre los que se incluirían el CMBD y el PCH Urgencias.

4.2. Objetivos

El **objetivo general** de este capítulo es evaluar el sistema OMI-AP usado en la gestión sanitaria por el Gobierno de Aragón para describir el aumento de la demanda de asistencia sanitaria en AP por picaduras de insectos en el área metropolitana de Zaragoza tras el incremento poblacional de simúlidos acontecido en 2011, comparándolo con años anteriores y su posterior evolución hasta el 2015.

Y como **objetivos específicos** se plantean los siguientes:

1. Determinar si el incremento de las consultas por picadura de insecto en urgencias hospitalarias y en AP en Aragón a partir de 2011 está relacionado con las poblaciones de simúlidos.



2. Analizar las consultas por picadura de insecto durante el periodo 2009-2015 en urgencias hospitalarias en Aragón y en AP en el área metropolitana de Zaragoza.
3. Predecir la evolución temporal de las poblaciones de *S. erythrocephalum* a través de la evolución anual de consultas por picadura en AP en el área metropolitana de Zaragoza.

4.3. Metodología

Se realizó un estudio observacional, ecológico y transversal seriado de las consultas atendidas por picadura de insecto en el servicio sanitario público de Aragón en el periodo 2009 a 2015. Se analizaron tanto las consultas de urgencias hospitalarias como las consultas en AP.

4.3.1. Obtención de datos

Tal y como se comentó al inicio del capítulo, la Dirección General de Salud Pública del Gobierno de Aragón comenzó en 2011 a evaluar el impacto de las picadura de insectos atendidas en AP, emitiendo informes periódicos sobre la evolución del número de picaduras de insectos registradas en la Comunidad Autónoma de Aragón (Gobierno de Aragón, 2011).

Al tener constancia de la existencia de diferentes registros sanitarios, se solicitaron a la Dirección General de Salud Pública del Gobierno de Aragón, a través de un modelo de compromiso de adecuación a la Ley Orgánica de Protección de Datos Personales (LODP), la cesión de los siguientes datos correspondientes al periodo 2009-2015:

- Censo poblacional por Zonas Básicas de Salud (ZBS).
- Datos del sistema PCH Urgencias sobre urgencias hospitalarias por cualquier motivo desagregados por hospitales.
- Datos del sistema PCH Urgencias sobre urgencias hospitalarias por picadura de insecto en Aragón desagregados por hospitales.
- Datos del sistema OMI-AP sobre consultas de AP por cualquier motivo desagregados por ZBS.
- Datos del sistema OMI-AP sobre consultas de picadura de insecto en AP desagregados por ZBS.

4.3.2 Variables

En este apartado se detalla cómo se ha ordenado la base de datos así como la recodificación, categorización y creación de nuevas variables. Para ello se han realizado consultas SQL con el sistema de gestión de datos Microsoft Access 2013.

Complementariamente se utilizaron la hoja de cálculo Microsoft Excel 2013 y el software de análisis estadístico IBM SPSS 19.0 para Windows. De cada uno de los registrados facilitados se obtuvo la siguiente información:

4.3.2.1. Censos anuales de población por ZBS desglosados en quinquenios de edad y sexo

Para el análisis estadístico se utilizó la población con tarjeta individual sanitaria a fecha 1 de enero de cada año. Se realizó la categorización de la edad ya que el censo proporcionado estaba distribuido en intervalos de 5 años, y para ello se generaron las siguientes categorías de edad: 0-14 años, 15-29 años, 30-44 años, 45-64 años y >65 años.



A partir de estos datos también se calcularon los censos de los sectores sanitarios.

4.3.2.2. Datos de urgencias hospitalarias por cualquier motivo desagregados por hospital

Los datos se obtuvieron del sistema de información PCH Urgencias facilitado por la Dirección General de Asistencia Sanitaria. Se obtuvo el número de urgencias hospitalarias atendidas por cualquier causa en los 12 hospitales públicos, agrupadas por mes entre los años 2009 y 2015. Las medidas temporales utilizadas fueron el mes (enero-diciembre) y el año (2009-2015).

Los datos de los hospitales públicos con servicio de urgencias se agruparon en función de los 8 sectores sanitarios que atienden para todo Aragón (Tabla 4.3).

Tabla 4.3. Hospitales públicos de Aragón con servicio de urgencias y su correspondiente sector sanitario que atienden

Provincia	Sector sanitario	Hospital
Huesca	Huesca	Hospital San Jorge Consorcio Hospitalario de Jaca
	Barbastro	Hospital de Barbastro Consorcio Hospitalario de Fraga
Zaragoza	Zaragoza I	Hospital Royo Villanova Hospital Provincial Nuestra Señora de Gracia
	Zaragoza II	Hospital Universitario Miguel Servet
	Zaragoza III	Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa Consorcio Hospitalario de Ejea
	Calatayud	Hospital Ernest Lluch Martín
Teruel	Teruel	Hospital Obispo Polanco
	Alcañiz	Hospital de Alcañiz

4.3.2.3. Datos de urgencias hospitalarias por picadura de insecto en Aragón desagregados por hospital

Los datos se obtuvieron del sistema de información PCH Urgencias. Se facilitó el número de urgencias hospitalarias por códigos relacionados por picaduras de insecto en función de la fecha, año, mes y hospital público entre los años 2009 y 2015. Las medidas temporales utilizadas fueron el mes (enero-diciembre) y el año (2009-2015). Para los datos correspondientes a urgencias hospitalarias, se agruparon los hospitales públicos con servicio de urgencias en función de los sectores sanitarios que atienden (Figura 4.1 y Tabla 4.3) para todo Aragón.

Para obtener las urgencias hospitalarias por picadura de insecto, se seleccionaron las atenciones codificadas según el sistema CIE9MC correspondientes a los códigos en la Tabla 4.4.

Posteriormente se crearon nuevas variables a partir del sumatorio de los datos de las variables originales del CIE9MC, según zona anatómica (cabeza, tronco, brazos, piernas y varios) y según presencia de infección en la zona afectada.



Figura 4.7. Sectores sanitarios de Aragón (Gobierno de Aragón, 2004)

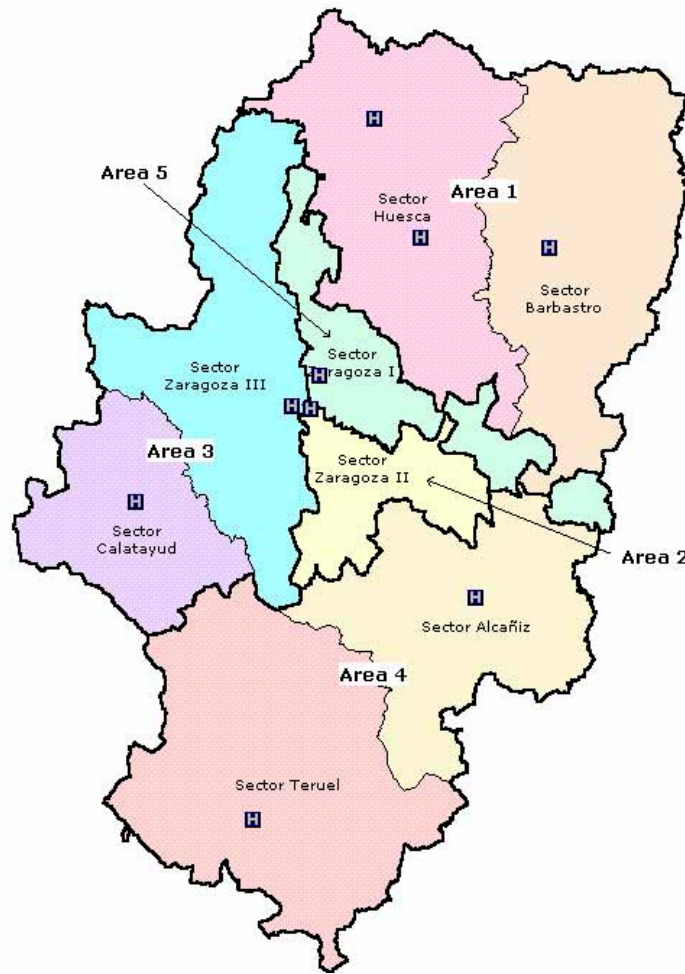


Tabla 4.4. Códigos CIE9MC utilizados para la selección de casos

Código	Picadura de insecto...
910.4	... en cara, cuello, y cuero cabelludo salvo ojo, no venenoso, sin mención de infección
910.5	... en cara, cuello, y cuero cabelludo salvo ojo, no venenoso, infectada
911.4	... en tronco, no venenoso, sin mención de infección
913.4	... en codo, antebrazo y muñeca, no venenoso, sin mención de infección
913.5	... en codo, antebrazo y muñeca, no venenoso, infectada
914.4	... en la mano, no venenoso, sin mención de infección
914.5	... en la mano, no venenoso, infectada
915.4	... en el dedo(s), no venenoso, sin mención de infección
915.5	... en el dedo(s), no venenoso, infectada
916.4	... en la cadera, muslo pierna y tobillo, no venenoso, sin mención de infección
916.5	... en la cadera, muslo pierna y tobillo, no venenoso, infectada
917.4	... en el pie y dedo(s) del pie, no venenoso, sin mención de infección
917.5	... no venenoso, infectada
918.0	... en párpados y zona periocular
919.4	... en otros sitios, múltiples sitios y sitios no especificados, no venenoso, sin mención de infección
919.5	... en otros sitios, múltiples sitios y sitios no especificados, no venenoso, infectada



4.3.2.4. Datos del sistema OMI-AP sobre las consultas en AP por cualquier motivo desagregados por ZBS

Al igual que ocurre con los datos procedentes del sistema PCH Urgencias, se obtuvieron el total de consultas en AP por cualquier motivo con carácter mensual agrupadas por ZBS, aunque en este caso el estudio de los datos se restringió al área metropolitana de la ciudad de Zaragoza. Para ello se seleccionaron ZBS englobadas en los tres sectores correspondientes a dicha zona metropolitana (Zaragoza I, II y III), considerando tan sólo aquellas incluidas en un radio de 30 Km alrededor de la capital. Adicionalmente se categorizaron según su carácter urbano (pertenecientes al núcleo urbano de la capital) o rural (barrios rurales y pueblos circundantes).

En la Tabla 4.5 se muestran las ZBS correspondientes al área de influencia metropolitana de Zaragoza, de donde se han excluido algunas ZBS al encontrarse fuera de esa área.

Tabla 4.5. ZBS de los sectores sanitarios del área metropolitana de Zaragoza

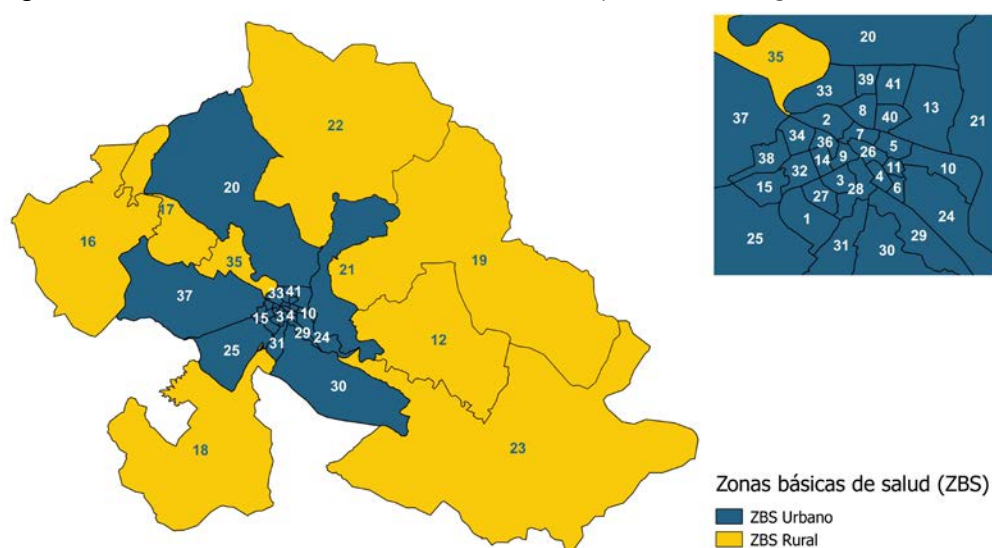
Sector	Zona	ZBS	ID
Zaragoza I	Rural	Alfajarín	12
		Villamayor	19
		Zuera	22
	Urbana	Actur Norte	39
		Actur Oeste	33
		Actur Sur	8
		Arrabal	40
		Avenida Cataluña	13
		Parque Goya	20
		Santa Isabel	21
Zalfonada	41		
Zaragoza II	Rural	Fuentes de Ebro	23
	Urbana	Almozara	2
		Casablanca	1
		Fernando el Católico	3
		Hernán Cortés	9
		Independencia-Puerta del Carmen	26
		Las Fuentes Norte	10
		Madre Vedruna-Miraflores	4
		Rebolería	5
		Romareda-Seminario	27
		Sagasta-Ruiseñores	28
		San José Centro	6
		San José Norte	11
		San José Sur	29
		San Pablo	7
		Torre Ramona	24
Torrero-La Paz	30		
Valdespartera	25		
Venecia	31		



Tabla 4.5 (cont.). ZBS de los sectores sanitarios del área metropolitana de Zaragoza

Sector	Zona	ZBS	ID
Zaragoza III	Rural	Alagón	16
		Casetas	17
		María de Huerva	18
		Utebo	35
	Urbana	Bombarda	34
		Delicias Norte	36
		Delicias Sur	14
		Miralbueno-Garrapinillos	37
		Oliver	38
		Universitas	32
		Valdefierro	15

Figura 4.8. ZBS de los sectores sanitarios del área metropolitana de Zaragoza



En el sector Zaragoza I se han excluido las ZBS de Bujaraloz y Luna; en el sector Zaragoza II no se han seleccionado las ZBS de Campo de Belchite y Sástago; y finalmente en el sector Zaragoza III se han descartado las ZBS de Borja, Cariñena, Ejea de los Caballeros, Épila, Gallur, Herrera de los Navarros, La Almunia de Doña Godina, Sádaba, Sos del Rey Católico, Tarazona y Tauste.

En este caso se consideraron las consultas en atención ordinaria y continuada de AP tanto atendidas en el centro como en el domicilio.

4.3.2.5. Datos del sistema OMI-AP sobre las consultas de picadura de insecto en AP desagregados por ZBS

Los datos de picaduras en AP se obtuvieron de la historia clínica electrónica de AP a través de la herramienta informática OMI-AP referidos al ámbito geográfico de Aragón entre los años 2009 y 2015. El código de búsqueda de la Clasificación Internacional de Atención Primaria (CIAP) fue S12 "picadura de insecto". Se depuraron los datos eliminando aquellos descriptores que correspondían a episodios concretos no relacionados con el objetivo de nuestro estudio (ej: picadura por garrapatas). En este caso los datos correspondían a la consulta por cada



episodio lo que nos permitió disponer de las variables edad, sexo, fecha de consulta, ZBS y sector sanitario.

Para evitar errores de introducción de datos, se recalculó la edad en función de la fecha de nacimiento y la fecha del episodio; y posteriormente se comparó con la edad introducida originalmente. También se crearon las mismas categorías de edad descritas con anterioridad en el Apartado 4.3.2.1.

A partir de las fechas del episodio se extrajo el día de la semana (lunes-domingo), la semana (como periodos de 7 días comenzando la semana 1 el 1 de enero de cada año), el mes (enero-diciembre) y el año (2009-2015).

4.3.3. Análisis estadístico

En este apartado se detallan las variables calculadas así como las pruebas estadísticas realizadas durante el análisis de los resultados.

En primer lugar se calcularon las urgencias totales atendidas en hospitales por cada 100 habitantes (hab) en función del censo del sector sanitario o la ZBS a principio de cada año. En el caso de urgencias por picadura de insecto atendidas en hospitales se tomaron dos referencias: el censo poblacional para calcular las urgencias por picadura cada 10.000 hab y el total de urgencias para calcular el porcentaje de urgencias (%) que se debieron a picaduras de insectos; considerando los meses y los años como agrupaciones temporales y los sectores sanitarios como agrupaciones espaciales.

En segundo lugar se organizaron los datos correspondientes a AP, para lo que se calcularon tanto las consultas por picaduras referidas a 1.000 hab como las picaduras por cada 100 AP. En estas variables se agruparon con distintos criterios tanto temporales (año, mes semana y día de la semana), espaciales (ZBS, sector sanitario y tipo de zona) y demográficos (sexo e intervalos de edad).

Para describir las variables cuantitativas se utilizaron la media, la desviación estándar (s) y el rango de valores (mínimo y máximo), evaluando la normalidad de los datos con la prueba de Kolmogorov-Smirnov.

Para evaluar la variación espacio-temporal de las tasas de picadura se realizó un análisis multivariante mediante modelos lineales generalizados (GLM) usando como efectos fijos año, mes, día de la semana, sector sanitario y zona (rural o urbana) y ponderando por población (nº de hab), número de urgencias o número de AP. Complementariamente para evaluar diferencias entre categorías de una variable se utilizó la prueba *post hoc* de Duncan.

Para comparar la asociación del sexo con las tasas de picadura se utilizó la prueba paramétrica de t de Student para muestras dependientes, o la prueba de Wilcoxon como alternativa no paramétrica. En el caso de edad y día de la semana se utilizó la prueba de Friedman. En todos los casos se ponderó por el denominador de la tasa de picadura analizada.

Los análisis estadísticos se realizaron con el programa IBM SPSS 19.0 para Windows, estableciendo el error alfa en 0,050. Complementariamente algunas gráficas se generaron con Microsoft Excel 2013. Los mapas han sido generados con el programa QGIS versión 3.0.1. Los rangos para hacer los mapas se eligieron usando los valores mínimos y máximos de forma global



en el periodo 2009-2015 para cada ajuste (1.000 hab y 100 AP) y posteriormente calculando los rangos en función de los cuartiles del año 2011 por tener el valor máximo de toda la serie.

4.4. Resultados y discusión

4.4.1. Atenciones por picadura de insecto en servicios de urgencias hospitalarias

4.4.1.1. Descripción espacio-temporal del censo de población y las urgencias hospitalarias

Para el análisis de los datos de urgencias hospitalarias se tuvo en cuenta tanto la población anual de cada sector (Tabla 4.6) como el total de urgencias atendidas por cualquier motivo en cada sector (Tabla 4.7).

En la Tabla 4.7 se observa como el sistema de información PCH de urgencias hospitalarias terminó de implantarse en los hospitales en 2010, ya que en 2011 todos los sectores (salvo Zaragoza I) poseen un número de urgencias consistente con el de los años posteriores. Se observa una tendencia creciente en el número de urgencias hospitalarias a lo largo del tiempo en todos los sectores.

En ambas tablas se observan diferencias entre los sectores y dentro de cada sector a lo largo del tiempo; por este motivo, en este apartado se va a trabajar en primer lugar con frecuencias relativas (ajustadas por 1.000 hab para urgencias totales y por 10.000 hab para urgencias por picadura de insecto) y ponderando por la población; y en segundo lugar las frecuencias de las urgencias por picadura por insecto se ajustaron y ponderaron por urgencias totales.

Tabla 4.6. Censo de población (hab) estratificado por año y sector sanitario

Sector	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
Zaragoza I	196.996	199.500	199.491	200.301	196.752	196.432	196.383
Zaragoza II	405.134	405.085	401.625	399.876	386.869	386.709	387.465
Zaragoza III	304.770	305.861	305.030	306.064	299.819	299.786	300.082
Calatayud	52.706	51.718	50.630	50.063	48.373	47.670	47.255
Huesca	111.264	112.100	110.754	109.951	107.752	107.551	107.534
Barbastro	111.445	112.233	108.631	108.775	107.079	107.428	107.480
Alcañiz	81.739	76.450	73.941	73.491	71.885	71.779	71.117
Teruel	77.503	79.251	77.725	77.379	75.800	75.529	74.931
Aragón	1.343.566	1.344.208	1.329.838	1.327.912	1.296.342	1.294.898	1.294.262

Tabla 4.7. Urgencias hospitalarias por cualquier motivo estratificadas por año y sector sanitario

Sector	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	Total
Zaragoza I	0	0	42.139	79.986	82.682	89.607	98.370	392.784
Zaragoza II	115.025	163.279	169.321	168.481	185.605	189.846	193.909	1.185.466
Zaragoza III	1.237	106.947	124.023	120.878	122.936	126.224	130.207	732.452
Calatayud	11	14.129	23.336	22.315	21.738	22.471	23.358	127.358
Huesca	0	19.230	33.291	38.889	44.617	43.615	44.990	224.632
Barbastro	0	21.082	32.193	31.601	31.585	31.925	32.960	181.346
Alcañiz	0	2.327	18.844	20.682	21.092	21.817	22.019	106.781
Teruel	8.898	30.063	30.582	29.951	31.373	31.668	32.867	195.402
Aragón	127.180	359.067	475.740	514.795	543.641	559.187	580.695	3.146.221



4.4.1.2. Urgencias atendidas en hospitales por 100 hab

Antes de iniciar el estudio de las tasas de picadura, analizamos el efecto de las variables año, mes y sector sanitario sobre las urgencias mensuales atendidas por cada 1.000 hab usando un análisis GLM que resultó significativo ($R^2=0,805$; $p<0,001$). Todos los factores incluidos en el modelo estuvieron asociados significativamente ($p<0,001$) y los resultados se muestran en las Tablas 4.8a, 4.8b y 4.8c.

En primer lugar, el número de urgencias correspondiente a 2009 y 2010 muestran que durante esos años todavía no estaba implantado el sistema de información PCH de urgencias hospitalarias en todos los hospitales, sin embargo los promedios de urgencias atendidas son similares a los de los 2 años posteriores. Además se observa como a partir de 2013 se incrementó el registro de atenciones en urgencias hospitalarias (Tabla 4.8a).

Tabla 4.8a. Urgencias totales atendidas por 100 hab estratificadas por año

Año	N (hab·mes)	Media	s	Mínimo	Máximo
2009	232.509	31,68 ^a	1,06	30,67	33,15
2010	10.939.964	31,95 ^a	4,35	18,78	46,75
2011	13.540.032	31,88 ^a	5,32	17,85	49,56
2012	15.510.198	32,27 ^a	4,61	19,89	47,58
2013	15.531.948	34,87 ^b	5,33	21,01	48,93
2014	15.514.608	35,91 ^b	5,73	21,65	49,55
2015	15.506.964	37,32 ^b	5,91	22,58	51,08
Total	86.776.223	34,19	5,68	17,85	51,08

Significación en el análisis GLM para la variable año, $p<0,001$

Superíndices distintos indican diferencias significativas ($p<0,05$) según prueba *post hoc* de Duncan

En la Tabla 4.8b se observa que se atienden más urgencias en determinados meses que en otros. Esta variabilidad podría estar asociada en los meses fríos (diciembre y enero) con las atenciones por gripe y otros procesos catarrales, y los meses correspondientes a la época estival podrían estar asociados por ser periodo vacacional.

Tabla 4.8b. Urgencias totales atendidas por 100 hab estratificadas por mes

Mes	N (hab·mes)	Media	s	Mínimo	Máximo
enero	6.617.731	35,99 ^e	5,86	18,92	43,81
febrero	6.617.731	32,08 ^a	4,79	17,85	39,26
marzo	7.123.893	35,50 ^e	5,51	20,95	43,90
abril	7.123.893	33,94 ^{cd}	5,13	18,34	41,92
mayo	7.236.126	35,15 ^e	5,89	19,06	45,38
junio	7.348.226	33,51 ^{bc}	5,34	20,88	41,32
julio	7.399.944	33,77 ^{bcd}	4,57	22,90	44,52
agosto	7.399.944	33,48 ^{bc}	5,26	26,44	51,08
septiembre	7.399.944	32,64 ^{ab}	5,02	21,82	41,07
octubre	7.477.447	34,79 ^{de}	6,13	21,99	43,72
noviembre	7.477.447	33,65 ^{bcd}	6,17	19,89	44,29
diciembre	7.553.897	35,74 ^e	6,60	18,78	45,66
Total	86.776.223	34,19	5,68	17,85	51,08

Significación en el análisis GLM para la variable mes, $p<0,001$

Superíndices distintos indican diferencias significativas ($p<0,05$) según prueba *post hoc* de Duncan



También hay diferencias entre los registros en urgencias por sector sanitario (Tabla 4.8c). Los sectores que menos urgencias registran son Alcañiz y Barbastro y el que más Calatayud.

Tabla 4.8c. Urgencias totales atendidas por 100 hab estratificadas por sector sanitario

Sector	N (hab·mes)	Media	s	Mínimo	Máximo
Zaragoza I	9.077.814	37,28 ^d	4,21	29,05	45,66
Zaragoza II	28.411.548	37,68 ^{de}	4,01	29,68	45,21
Zaragoza III	21.187.982	34,32 ^c	1,88	30,67	38,50
Calatayud	3.238.200	38,65 ^e	4,23	31,22	51,08
Huesca	7.307.204	30,74 ^b	5,10	22,75	42,24
Barbastro	7.370.580	24,55 ^a	1,82	21,79	29,48
Alcañiz	4.423.006	23,94 ^a	2,62	17,85	29,09
Teruel	5.759.889	33,66 ^c	3,55	26,75	45,24
Aragón	86.776.223	34,19	5,68	17,85	51,08

Significación en el análisis GLM para la variable sector sanitario, $p < 0,001$

Superíndices distintos indican diferencias significativas ($p < 0,05$) según prueba *post hoc* de Duncan

4.4.1.3. Urgencias atendidas en hospitales por 1.000 hab segmentando por sector sanitario

En este apartado se realizó el mismo análisis que en el apartado anterior, pero esta vez se realizó un GLM segmentando por sector sanitario para estudiar la distribución temporal de las urgencias hospitalarias por 1.000 hab. Los GLM resultaron significativos para cada sector (Zaragoza I, $R^2=0,917$; Zaragoza II, $R^2=0,945$; Zaragoza III, $R^2=0,849$; Calatayud, $R^2=0,897$; Huesca, $R^2=0,903$; Barbastro, $R^2=0,887$; Alcañiz, $R^2=0,848$ y Teruel, $R^2=0,932$; con $p < 0,001$ para todos ellos), donde cada uno de los factores (año y mes) presentaron diferencias muy significativas con cada sector ($p < 0,001$) (Tablas 4.9a y 4.9b). Se realizaron los análisis con los registros correspondientes al sector donde se atendió la urgencia y no con respecto al sector de donde procedía el paciente.

En el análisis se confirmó con más detalle el crecimiento de las urgencias a lo largo del tiempo. De forma general se observa una dicotomía con respecto a los meses con mayor y menor número de urgencias entre los tres sectores que integran la ciudad de Zaragoza y el resto de sectores. En Zaragoza los meses con mayor frecuencia de urgencias son diciembre y enero, mientras que agosto es el mes con menor frecuencia de urgencias. Sin embargo este patrón se invierte en el resto de sectores sanitarios de Aragón donde los meses con mayor frecuencia de urgencias son los estivales julio y agosto y el que menor, febrero. Esto se podría explicar por los desplazamientos vacacionales al medio rural durante el verano.

Tabla 4.9a. Urgencias totales atendidas por 100 hab en cada sector sanitario estratificadas por año

Año	Zgz. I	Zgz. II	Zgz. III	Calat.	Huesca	Barb.	Alcañiz	Teruel	Aragón
2009	-	-	-	-	-	-	-	31,68 ^a	31,68^a
2010	-	33,59 ^a	33,67 ^b	38,43 ^{ab}	24,51 ^a	23,03 ^a	18,78	31,61 ^a	31,95^a
2011	-	35,13 ^b	33,88 ^b	38,41 ^{ab}	25,05 ^a	24,70 ^b	21,24 ^a	32,79 ^b	31,88^a
2012	33,82 ^a	35,11 ^b	32,91 ^a	37,14 ^a	29,47 ^b	24,21 ^b	23,45 ^b	32,26 ^{ab}	32,27^a
2013	35,02 ^a	39,98 ^c	34,17 ^b	37,45 ^a	34,51 ^c	24,58 ^b	24,45 ^c	34,49 ^c	34,87^b
2014	38,01 ^b	40,91 ^d	35,09 ^c	39,28 ^c	33,79 ^c	24,76 ^b	25,33 ^d	34,94 ^c	35,91^b
2015	41,74 ^c	41,70 ^d	36,16 ^d	41,19 ^d	34,86 ^c	25,56 ^c	25,80 ^e	36,55 ^d	37,32^b
p*	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

* Significación en el análisis GLM para la variable año

Superíndices distintos una columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$) según prueba *post hoc* de Duncan



Tabla 4.9b. Urgencias totales atendidas por 100 hab en cada sector sanitario estratificadas por mes

Mes	Zgz. I	Zgz. II	Zgz. III	Calat.	Huesca	Barb.	Alcañiz	Teruel	Aragón
enero	41,54 ^g	39,4 ^e	36,59 ^e	39,27 ^{bc}	32,26 ^{cd}	25,47 ^{ef}	23,53 ^{bc}	34,13 ^d	32,08 ^a
febrero	35,24 ^{bc}	35,16 ^b	32,77 ^b	34,12 ^a	29,24 ^{ab}	23,44 ^{ab}	21,53 ^a	30,59 ^a	32,64 ^{ab}
marzo	38,98 ^{def}	39,54 ^e	35,33 ^d	38,92 ^b	31,57 ^{bc}	25,3 ^{def}	23,83 ^{bc}	33,37 ^{cd}	33,48 ^{bc}
abril	36,67 ^{bcd}	37,51 ^d	34,16 ^c	37,21 ^b	29,71 ^{ab}	24,45 ^{cd}	23,63 ^{bc}	32,58 ^{bc}	33,51 ^{bc}
mayo	38,43 ^{de}	39,61 ^e	35,55 ^{de}	37,84 ^b	29,86 ^{abc}	24,59 ^{cd}	23,88 ^{bc}	33,59 ^{cd}	33,65 ^{bcd}
junio	37,04 ^{cde}	37,21 ^{cd}	34,08 ^c	37,99 ^b	29,28 ^{ab}	23,46 ^{ab}	23,97 ^{bc}	31,52 ^{ab}	33,77 ^{bcd}
julio	34,53 ^b	35,8 ^b	33,39 ^{bc}	41,14 ^c	32,60 ^d	26,19 ^f	26,15 ^d	37,15 ^e	33,94 ^{cd}
agosto	31,93 ^a	33,08 ^a	31,67 ^a	48,87 ^d	36,61 ^e	28,42 ^g	28,22 ^e	42,28 ^f	34,79 ^{de}
septiem.	35,08 ^{ab}	36,01 ^{bc}	32,96 ^b	38,34 ^b	28,3 ^a	23,04 ^a	24,50 ^c	32,30 ^{bc}	35,15 ^e
octubre	39,19 ^{ef}	39,21 ^e	35,53 ^{de}	37,29 ^b	29,56 ^{ab}	23,39 ^{ab}	23,77 ^{bc}	32,69 ^{bc}	35,50 ^e
noviem.	38,04 ^{de}	38,43 ^{de}	34,23 ^c	34,24 ^a	28,27 ^a	22,84 ^a	21,92 ^a	31,44 ^{ab}	35,74 ^e
diciem.	41,23 ^{fg}	41,16 ^f	35,75 ^{de}	37,37 ^b	31,45 ^{bc}	24,08 ^{bc}	22,65 ^{ab}	32,92 ^{cd}	35,99 ^e
p*	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

* Significación en el análisis GLM para la variable mes

Superíndices distintos una columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$) según prueba *post hoc* de Duncan

4.4.1.4. Urgencias por picaduras de insecto atendidas en hospitales por 10.000 hab

En primer lugar calculamos el total de urgencias por picaduras de insecto atendidas en cada sector sanitario en el periodo 2009-2015, y diferenciamos aquellas urgencias que correspondían a pacientes censados en otro sector sanitario, y que fueron clasificadas en los datos proporcionados como “de origen indeterminado” (Tabla 4.10).

Durante el periodo 2009-2015 se han registrado en Aragón 13.716 consultas en urgencias de los hospitales debido a picaduras de insectos. En el 37,53% de las urgencias hospitalarias por picadura atendidas durante el periodo de estudio, el paciente no tiene un origen determinado, y podrían ser pacientes aragoneses de otro sector sanitario o proceder de fuera de Aragón (Tabla 4.10).

Tabla 4.10. Total de urgencias hospitalarias por picadura atendidas en el periodo 2009-2015 estratificadas por sector sanitario

Sector	Atenciones totales	Atenciones de origen indeterminado	
		N	%
Zaragoza I	3.951	2.938	25,64%
Zaragoza II	4.457	2.639	40,79%
Zaragoza III	3.072	1.894	38,35%
Calatayud	458	174	62,01%
Huesca	669	328	50,97%
Barbastro	308	145	52,92%
Alcañiz	216	123	43,06%
Teruel	585	327	44,10%
Total	13.716	5.148	37,53%

Las Tablas 4.11a, 4.11b y 4.11c muestran las urgencias hospitalarias por picaduras de insecto atendidas por cada 10.000 hab por año, mes y sector, correspondientes a un GLM ponderado por población que fue significativo ($R^2=0,537$; $p < 0,001$).



De forma global en el periodo estudiado en Aragón se atendieron 1,49 urgencias por picadura por cada 10.000 hab, con meses donde no hubo ninguna atención por ese motivo y alcanzándose valores máximos de 25,51 urgencias por picadura por cada 10.000 hab.

En la Tabla 4.11a se observa un incremento progresivo en el número de atenciones por picaduras de insecto en urgencias de hospitales por 10.000 hab desde el 2009 hasta el 2012. El año 2012 registra la mayor frecuencia de atenciones por picadura en urgencias de hospital, aunque únicamente se observan diferencias significativas respecto a 2009. Mientras que en años posteriores, las cifras son inferiores al año 2012, pero se mantienen por encima del año 2011. Esto podría explicarse por el brote de simúlidos que afectó a la ciudad de Zaragoza por primera vez en 2011 y con más incidencia posteriormente en 2012. Los datos de urgencias engloban los hospitales de todo Aragón, y sin embargo se observa como el número de atenciones por picadura en urgencias de hospitales se incrementan debido al peso que tienen los sectores que engloban la ciudad de Zaragoza y alrededores.

Los meses con frecuencias significativamente mayores de atenciones por picadura en urgencias son junio y julio, con la media más elevada durante el primer mes (Tabla 4.11b). Estos resultados son aparentemente lógicos puesto que los insectos tienen una mayor actividad durante la época primaveral y estival. Sin embargo, la incidencia durante junio y julio es notablemente superior a la acontecida durante agosto y septiembre, meses también muy calurosos.

Este patrón temporal contrasta con el observado para las urgencias totales (Tabla 4.9b) donde el mayor número de atenciones en urgencias hospitalarias se registraba durante los meses de diciembre y enero, y sin embargo los meses con menos atenciones en urgencias era los meses veraniegos.

Los sectores correspondientes a Zaragoza y Calatayud presentaron una frecuencia mayor de atenciones por picadura en urgencias respecto al resto de sectores. Destaca significativamente el sector de Zaragoza I respecto al resto, con una media de 3,70 urgencias hospitalarias por picadura/10.000 hab, significativamente mayor que el resto de sectores. Este resultado vuelve a poner de manifiesto la relevancia que tienen las picaduras de simúlidos acontecidas en el área metropolitana de la ciudad de Zaragoza a partir del año 2011.

Tabla 4.11a. Atenciones en urgencias por picadura por 10.000 hab estratificadas por año

Año	N (hab-mes)	Media	s	Mínimo	Máximo
2009	232.509	0,21 ^a	0,12	0,13	0,39
2010	10.939.964	0,85 ^{ab}	0,80	0,00	5,55
2011	13.540.032	1,26 ^{ab}	1,60	0,00	7,47
2012	15.510.198	2,22 ^b	3,93	0,00	25,51
2013	15.531.948	1,33 ^{ab}	1,53	0,00	9,91
2014	15.514.608	1,49 ^{ab}	1,51	0,00	7,13
2015	15.506.964	1,60 ^{ab}	1,97	0,00	12,58
Total	86.776.223	1,49	2,22	0,00	25,51

Significación en el análisis GLM para la variable año, $p < 0,001$

Superíndices distintos indican diferencias significativas ($p < 0,05$) según prueba *post hoc* de Duncan



Tabla 4.11b. Atenciones en urgencias por picadura por 10.000 hab estratificadas por mes

Mes	N (hab·mes)	Media	s	Mínimo	Máximo
enero	6.617.731	0,25 ^a	0,17	0,00	0,63
febrero	6.617.731	0,20 ^a	0,17	0,00	0,63
marzo	7.123.893	0,41 ^a	0,28	0,00	1,69
abril	7.123.893	0,75 ^{ab}	0,44	0,00	2,09
mayo	7.236.126	1,52 ^c	1,19	0,09	5,74
junio	7.348.226	4,17 ^e	4,79	0,18	25,51
julio	7.399.944	3,94 ^e	2,87	0,54	15,88
agosto	7.399.944	2,43 ^d	1,20	0,65	6,16
septiembre	7.399.944	1,88 ^{cd}	1,30	0,09	7,13
octubre	7.477.447	1,21 ^{bc}	0,77	0,00	3,61
noviembre	7.477.447	0,58 ^{ab}	0,31	0,00	1,48
diciembre	7.553.897	0,27 ^a	0,17	0,00	0,71
Total	86.776.223	1,49	2,22	0,00	25,51

Significación en el análisis GLM para la variable mes, p<0,001

Superíndices distintos indican diferencias significativas (p<0,05) según prueba *post hoc* de Duncan

Tabla 4.11c. Atenciones en urgencias por picadura por 10.000 hab estratificadas por sector sanitario

Sector	N (hab·mes)	Media	s	Mínimo	Máximo
Zaragoza I	9.077.814	3,70 ^d	4,73	0,15	25,51
Zaragoza II	28.411.548	1,50 ^c	1,85	0,05	10,78
Zaragoza III	21.187.982	1,45 ^c	1,44	0,07	8,53
Calatayud	3.238.200	1,39 ^c	1,31	0,00	5,37
Huesca	7.307.204	0,92 ^{bc}	0,91	0,00	3,44
Barbastro	7.370.580	0,42 ^a	0,42	0,00	1,77
Alcañiz	4.423.006	0,49 ^a	0,55	0,00	2,36
Teruel	5.759.889	1,01 ^{bc}	1,18	0,00	5,55
Aragón	86.776.223	1,49	2,22	0,00	25,51

Significación en el análisis GLM para la variable sector sanitario, p<0,001

Superíndices distintos indican diferencias significativas (p<0,05) según prueba *post hoc* de Duncan

4.4.1.5. Urgencias por picaduras de insecto atendidas en hospitales por 10.000 hab segmentando por sector

En este apartado se repitió para las urgencias hospitalarias por picadura de insecto por 10.000 hab el mismo GLM pero estratificando por sector. Los GLM resultaron significativos para todos los sectores (p<0,001): Zaragoza I ($R^2=0,686$), Zaragoza II ($R^2=0,663$), Zaragoza III ($R^2=0,726$), Calatayud ($R^2=0,794$), Huesca ($R^2=0,858$), Barbastro ($R^2=0,796$), Alcañiz ($R^2=0,616$) y Teruel ($R^2=0,838$).

En la Tabla 4.12a se observa el mismo comportamiento en la evolución de las atenciones por picaduras en los tres sectores de Zaragoza: un aumento progresivo de las atenciones hasta alcanzar el máximo en 2012 y posteriormente un descenso en 2013, con un pequeño nuevo ascenso progresivo en 2014 y 2015. Sin embargo, en el resto de sectores el comportamiento es totalmente diferente con tendencias ascendentes y descendentes y el máximo de atenciones según el año. Hay que indicar que en este análisis del factor año sólo se presentaron diferencias significativas en los sectores Zaragoza III (p=0,014) y Barbastro (p=0,009).



Tabla 4.12a. Atenciones en urgencias por picadura por 10.000 hab en cada sector sanitario estratificadas por año

Año	Zgz. I	Zgz. II	Zgz. III	Calat.	Huesca	Barb.	Alcañiz	Teruel	Aragón
2009	-	-	-	-	-	-	-	0,22 ^a	0,21^a
2010	-	0,81 ^a	0,91 ^a	1,64 ^a	0,94 ^a	0,36 ^a	0,00	1,08 ^b	0,85^{ab}
2011	-	1,74 ^{ab}	1,38 ^{ab}	1,20 ^a	0,78 ^a	0,33 ^a	0,39 ^b	1,17 ^b	1,26^{ab}
2012	6,01 ^b	2,32 ^b	2,14 ^b	1,13 ^a	0,89 ^a	0,32 ^a	0,36 ^a	0,93 ^b	2,22^b
2013	2,47 ^a	1,25 ^{ab}	1,33 ^a	1,58 ^a	0,97 ^a	0,47 ^{ab}	0,60 ^e	1,06 ^b	1,33^{ab}
2014	3,09 ^a	1,41 ^{ab}	1,38 ^{ab}	1,56 ^a	0,96 ^a	0,56 ^b	0,55 ^c	1,05 ^b	1,49^{ab}
2015	3,61 ^{ab}	1,48 ^{ab}	1,47 ^{ab}	1,38 ^a	0,97 ^a	0,45 ^{ab}	0,59 ^d	0,98 ^b	1,60^{ab}
p*	0,197	0,082	0,014	0,521	0,220	0,009	0,561	0,947	<0,001

* Significación en el análisis GLM para la variable año

Superíndices distintos una columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$) según prueba *post hoc* de Duncan

En la Tabla 4.12b correspondiente a la evolución mensual de picaduras se vuelve a observar una clara diferencia entre los tres sectores que integran Zaragoza y el resto de sectores, encontrándose asociación significativa con el mes en todos los sectores sanitarios ($p < 0,001$). El patrón en los tres sectores zaragozanos comienza con un ascenso progresivo mensual de las picaduras desde febrero hasta incrementarse considerablemente en el mes de junio y alcanzar el máximo en junio; a partir de ahí se produce un descenso progresivo en las atenciones hasta diciembre.

En el sector Calatayud se produce un patrón muy curioso con una progresión ascendente en el número de picaduras desde enero hasta diciembre. En los sectores Huesca y Alcañiz el máximo de atenciones se produce en agosto, mientras que en los sectores Barbastro y Teruel es en julio. En cualquier caso en ninguno de los sectores diferentes a los tres que integran Zaragoza se observa un incremento tan llamativo del número de atenciones de un mes a otro como sucede de mayo a junio. En nuestro conocimiento, achacamos este hecho con la emergencia masiva de simúlidos en los ríos que integran el área metropolitana de Zaragoza durante este periodo.

Tabla 4.12b. Atenciones en urgencias por picadura por 10.000 hab en cada sector sanitario estratificadas por mes

Mes	Zgz. I	Zgz. II	Zgz. III	Calat.	Huesca	Barb.	Alcañiz	Teruel	Aragón
enero	0,39 ^a	0,23 ^{ab}	0,40 ^a	0,33 ^a	0,09 ^a	0,07 ^a	0,06 ^a	0,15 ^a	0,25^a
febrero	0,24 ^a	0,15 ^a	0,35 ^a	0,16 ^a	0,18 ^a	0,11 ^{ab}	0,06 ^a	0,15 ^a	0,20^a
marzo	0,56 ^a	0,35 ^{ab}	0,62 ^a	0,78 ^{ab}	0,17 ^a	0,13 ^{ab}	0,14 ^a	0,24 ^a	0,41^a
abril	1,49 ^a	0,75 ^{abc}	0,85 ^{ab}	0,66 ^{ab}	0,40 ^{abc}	0,19 ^{abc}	0,25 ^a	0,56 ^a	0,75^{ab}
mayo	3,71 ^a	1,66 ^{abc}	1,28 ^{abc}	1,43 ^b	0,88 ^{cd}	0,45 ^{cd}	0,33 ^a	1,24 ^{bc}	1,52^c
junio	12,01 ^b	4,62 ^d	4,00 ^d	2,75 ^c	1,40 ^e	0,57 ^d	0,97 ^b	1,43 ^c	4,17^e
julio	10,14 ^b	4,06 ^d	3,32 ^d	3,28 ^c	2,36 ^f	1,27 ^f	1,10 ^b	3,89 ^e	3,94^e
agosto	5,08 ^a	2,19 ^c	2,19 ^c	3,48 ^c	2,53 ^f	0,92 ^e	1,24 ^b	2,37 ^d	2,43^d
septiem.	4,75 ^a	1,84 ^{bc}	1,81 ^{bc}	1,56 ^b	1,25 ^{ab}	0,38 ^{bcd}	0,94 ^b	1,39 ^c	1,88^{cd}
octubre	2,81 ^a	1,30 ^{abc}	1,19 ^{abc}	1,12 ^{ab}	0,76 ^d	0,35 ^{abcd}	0,41 ^a	0,72 ^{ab}	1,21^{bc}
noviem.	1,01 ^a	0,67 ^{abc}	0,67 ^a	0,47 ^a	0,32 ^{bcd}	0,25 ^{abc}	0,28 ^a	0,20 ^a	0,58^{ab}
diciem.	0,54 ^a	0,24 ^{ab}	0,35 ^a	0,30 ^a	0,14 ^{ab}	0,12 ^{ab}	0,16 ^a	0,11 ^a	0,27^a
p*	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

* Significación en el análisis GLM para la variable mes

Superíndices distintos una columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$) según prueba *post hoc* de Duncan



4.4.1.6. Proporción de urgencias hospitalarias debidas a picaduras de insecto

En las Tablas 4.13a, 4.13b y 4.13c se muestran la proporción de las urgencias atendidas en los hospitales de Aragón que son debidas a picadura de insecto. En este caso el análisis GLM realizado se ponderó por el total de urgencias hospitalarias, resultando un modelo significativo ($R^2=0,548$; $p<0,001$).

En la Tabla 4.13a se observa como en Aragón el año 2012 es el único que muestra un valor significativamente mayor (0,41%) con respecto al mínimo registrado en el año 2009 (0,07%). Se observa el mismo patrón anual que cuando se analizaba el número de urgencias por picadura con respecto a la población (Tabla 4.11a).

Tabla 4.13a. Proporción (%) de atenciones en urgencias debidas a picadura estratificada por año

Año	N (urg·mes)	Media	s	Mínimo	Máximo
2009	7.365	0,07 ^a	0,04	0,04	0,12
2010	349.579	0,27 ^{ab}	0,25	0,00	1,56
2011	431.590	0,40 ^{ab}	0,48	0,00	2,15
2012	500.539	0,69 ^b	1,17	0,00	7,04
2013	541.628	0,38 ^{ab}	0,44	0,00	3,03
2014	557.173	0,41 ^{ab}	0,41	0,00	1,91
2015	578.680	0,43 ^{ab}	0,50	0,00	3,05
Total	2.966.554	0,44	0,63	0,00	7,04

Significación en el análisis GLM para la variable año, $p<0,001$

Superíndices distintos indican diferencias significativas ($p<0,05$) según prueba *post hoc* de Duncan

La Tabla 4.13b muestra la misma tendencia mensual de atenciones por picadura en urgencias que cuando se analizaba con respecto a la población (Tabla 4.11b). Destaca que en los meses de junio y julio más del 1% de las urgencias hospitalarias fueron por picadura de insecto.

Tabla 4.13b. Proporción (%) de atenciones en urgencias debidas a picadura estratificada por mes

Mes	N (urg·mes)	Media	s	Mínimo	Máximo
enero	238.140	0,07 ^a	0,04	0,00	0,16
febrero	212.265	0,06 ^a	0,05	0,00	0,22
marzo	252.901	0,11 ^a	0,07	0,00	0,41
abril	241.814	0,22 ^{ab}	0,11	0,00	0,50
mayo	254.319	0,43 ^{cd}	0,31	0,04	1,60
junio	246.220	1,25 ^f	1,34	0,08	7,04
julio	249.889	1,17 ^f	0,85	0,24	4,94
agosto	247.752	0,73 ^e	0,35	0,22	1,86
septiembre	241.503	0,58 ^{de}	0,35	0,04	1,91
octubre	260.176	0,35 ^{bc}	0,19	0,00	0,86
noviembre	251.606	0,17 ^{ab}	0,07	0,00	0,37
diciembre	269.969	0,08 ^a	0,04	0,00	0,18
Total	2.966.554	0,44	0,63	0,00	7,04

Significación en el análisis GLM para la variable mes, $p<0,001$

Superíndices distintos indican diferencias significativas ($p<0,05$) según prueba *post hoc* de Duncan



En cuanto al análisis por sectores sanitarios, la Tabla 4.13c vuelve a mostrar el sector Zaragoza I como el único sector que presenta diferencias significativas en la frecuencia de atenciones por picadura con respecto al resto de sectores, representando casi el 1% de las urgencias totales a lo largo de todo el periodo de estudio. Las frecuencias del resto de sectores mantienen la misma tendencia que en la Tabla 4.11c, aunque con ligeras variaciones en las diferencias significativas entre sectores.

Tabla 4.13c. Proporción (%) de atenciones en urgencias debidas a picadura estratificada por sector sanitario

Sector	N (urg-mes)	Media	s	Mínimo	Máximo
Zaragoza I	338.401	0,99 ^c	1,31	0,04	7,04
Zaragoza II	1.070.441	0,40 ^b	0,52	0,01	3,10
Zaragoza III	727.239	0,42 ^b	0,43	0,02	2,60
Calatayud	125.142	0,36 ^{ab}	0,31	0,00	1,16
Huesca	224.632	0,30 ^{ab}	0,27	0,00	0,90
Barbastro	180.940	0,17 ^a	0,16	0,00	0,63
Alcañiz	105.890	0,20 ^{ab}	0,21	0,00	0,88
Teruel	193.869	0,30 ^{ab}	0,33	0,00	1,56
Aragón	2.966.554	0,44	0,63	0,00	7,04

Significación en el análisis GLM para la variable sector sanitario, $p < 0,001$

Superíndices distintos indican diferencias significativas ($p < 0,05$) según prueba *post hoc* de Duncan

4.4.1.7. Proporción de urgencias hospitalarias debidas a picaduras de insecto segmentando por sector

En este apartado se vuelve a repetir el análisis GLM del apartado previo, pero en este caso segmentando por sector sanitario. Como en los análisis anteriores, los modelos fueron muy significativos ($p < 0,001$) para todos los sectores sanitarios analizados: Zaragoza I ($R^2=0,704$), Zaragoza II ($R^2=0,653$), Zaragoza III ($R^2=0,723$), Calatayud ($R^2=0,780$), Huesca ($R^2=0,877$), Barbastro ($R^2=0,775$), Alcañiz ($R^2=0,593$) y Teruel ($R^2=0,819$).

En la Tabla 4.14a se vuelven a repetir los mismos patrones de picadura a lo largo de los años para cada sector observados previamente en la Tabla 4.12a. El año 2012 es el único año que presenta diferencias significativas en la frecuencia de picaduras respecto al resto de años en los sectores Zaragoza I y Zaragoza III. En el sector Zaragoza II son los años 2011 y 2012 los que difieren significativamente con respecto al resto de años. En el resto de sectores el comportamiento es totalmente diferente con tendencias ascendentes y descendentes y el máximo de atenciones según el año. Vuelve a quedar de manifiesto el peso de los sectores de Zaragoza sobre el resto de sectores, ya que los resultados son semejantes a los que se obtenían cuando se analizaba sin estratificar por sector (Tabla 4.13a). Este análisis ajustando respecto a urgencias totales parece ofrecer unos resultados con mayor poder discriminante que al ajustar por población.

La Tabla 4.14b muestra la misma tendencia mensual de atenciones por picadura en urgencias que cuando se analiza de forma global sin estratificar (Tabla 4.13b). Lo que remarca el peso estadístico que poseen los sectores de Zaragoza sobre el resto de sectores. Los sectores Barbastro, Alcañiz y Teruel mantienen el mismo patrón que el observado en el análisis sin estratificar (Tabla 4.13b). Sin embargo, el sector sanitario de Huesca en esta ocasión presenta el máximo en julio en vez de en agosto.



Tabla 4.14a. Proporción (%) de atenciones en urgencias debidas a picadura en cada sector sanitario estratificada por año

Año	Zgz. I	Zgz. II	Zgz. III	Calat.	Huesca	Barb.	Alcañiz	Teruel	Aragón
2009	-	-	-	-	-	-	-	0,07 ^a	0,07 ^a
2010	-	0,24 ^a	0,27 ^a	0,43 ^a	0,38 ^a	0,15 ^{ab}	0,00	0,34 ^b	0,27 ^{ab}
2011	-	0,50 ^b	0,41 ^a	0,31 ^a	0,31 ^a	0,13 ^a	0,19 ^b	0,36 ^b	0,40 ^{ab}
2012	1,78 ^b	0,66 ^b	0,65 ^b	0,30 ^a	0,30 ^a	0,13 ^a	0,15 ^a	0,29 ^b	0,69 ^b
2013	0,70 ^a	0,31 ^a	0,39 ^a	0,42 ^a	0,28 ^a	0,19 ^{ab}	0,25 ^e	0,31 ^b	0,38 ^{ab}
2014	0,81 ^a	0,34 ^a	0,39 ^a	0,40 ^a	0,28 ^a	0,23 ^b	0,22 ^c	0,30 ^b	0,41 ^{ab}
2015	0,86 ^a	0,36 ^a	0,41 ^a	0,33 ^a	0,28 ^a	0,18 ^{ab}	0,23 ^d	0,27 ^b	0,43 ^{ab}
p*	0,121	0,060	0,013	0,519	0,953	0,019	0,754	0,858	<0,001

* Significación en el análisis GLM para la variable año

Superíndices distintos una columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$) según prueba *post hoc* de Duncan

Tabla 4.14b. Proporción (%) de atenciones en urgencias debidas a picadura en cada sector sanitario estratificada por mes

Mes	Zgz. I	Zgz. II	Zgz. III	Calat.	Huesca	Barb.	Alcañiz	Teruel	Aragón
enero	0,09 ^{ab}	0,06 ^a	0,11 ^a	0,08 ^{ab}	0,03 ^a	0,03 ^a	0,02 ^a	0,04 ^a	0,07 ^a
febrero	0,07 ^a	0,04 ^a	0,11 ^a	0,05 ^a	0,06 ^a	0,05 ^{ab}	0,03 ^a	0,05 ^a	0,06 ^a
marzo	0,14 ^{ab}	0,09 ^a	0,18 ^a	0,20 ^{abcd}	0,05 ^a	0,05 ^{ab}	0,06 ^a	0,07 ^a	0,11 ^a
abril	0,41 ^{ab}	0,20 ^a	0,25 ^{ab}	0,18 ^{abc}	0,14 ^{ab}	0,08 ^{abc}	0,11 ^a	0,17 ^a	0,22 ^{ab}
mayo	0,97 ^{ab}	0,42 ^{ab}	0,36 ^{ab}	0,38 ^{cd}	0,30 ^c	0,18 ^{cd}	0,14 ^a	0,37 ^{bc}	0,43 ^{cd}
junio	3,24 ^c	1,24 ^c	1,17 ^e	0,72 ^e	0,48 ^d	0,24 ^{de}	0,40 ^b	0,45 ^c	1,25 ^f
julio	2,94 ^c	1,13 ^c	0,99 ^{de}	0,80 ^e	0,73 ^e	0,49 ^f	0,42 ^b	1,05 ^d	1,17 ^f
agosto	1,59 ^b	0,66 ^b	0,69 ^{cd}	0,71 ^e	0,69 ^e	0,32 ^e	0,44 ^b	0,56 ^c	0,73 ^e
septiem.	1,35 ^{ab}	0,51 ^{ab}	0,55 ^{bc}	0,41 ^d	0,44 ^d	0,17 ^{bcd}	0,38 ^b	0,43 ^c	0,58 ^{de}
octubre	0,72 ^{ab}	0,33 ^{ab}	0,33 ^{ab}	0,30 ^{bcd}	0,26 ^{bc}	0,15 ^{bcd}	0,17 ^a	0,22 ^{ab}	0,35 ^{bc}
noviem.	0,27 ^{ab}	0,17 ^a	0,20 ^a	0,14 ^{ab}	0,11 ^a	0,11 ^{abc}	0,13 ^a	0,07 ^a	0,17 ^{ab}
diciem.	0,13 ^{ab}	0,06 ^a	0,10 ^a	0,08 ^{ab}	0,04 ^a	0,05 ^{ab}	0,07 ^a	0,03 ^a	0,08 ^a
p*	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

* Significación en el análisis GLM para la variable mes

Superíndices distintos una columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$) según prueba *post hoc* de Duncan

4.4.1.8. Urgencias por picaduras de insecto según la localización de la picadura e infección

En este apartado se analizan las atenciones por picadura en urgencias hospitalarias en función de su localización y la presencia de infección. En la Tabla 4.15 se observa como el mayor porcentaje de picaduras está registrado afectando a varias localizaciones (94,63%), lo que suponen picaduras en varias regiones del cuerpo.

Tabla 4.15. Localización de las picaduras atendidas en urgencias hospitalarias y proporción de picaduras infectadas

Localización de las picaduras atendidas en urgencias	Media (%)	s
Afectando a la cabeza	4,70	10,78
Afectando a los brazos	0,21	1,53
Afectando al tronco	0,05	0,94
Afectando a las piernas	0,42	2,08
Afectando a varias localizaciones	94,63	11,15
Picaduras infectadas	4,07	4,88



No obstante, según lo explicado en el Capítulo 2, en el estudio del patrón de picadura, la mayoría de *landings* de *S. erythrocephalum* se produjo sobre las zonas descubiertas de las piernas y también en menor medida, algunos sobre los brazos. La explicación más factible es que los médicos al asignar un código PCH seleccionaran el correspondiente a “picaduras que afectan a varias localizaciones” evidenciando que los pacientes atendidos presentaban varias picaduras simultáneamente. Desafortunadamente el sistema PCH no recoge las localizaciones de cada una de ellas de forma individualizada, lo que impide conocer con exactitud las zonas anatómicas más afectadas. Lo esperable sería que estas zonas fueran las que están desprovistas de ropa como piernas y brazos, que es donde habitualmente pica *S. erythrocephalum*.

Otro aspecto a destacar es que en promedio el 4,07% de las picaduras estaban infectadas cuando los pacientes eran atendidos en urgencias hospitalarias.

4.4.2. Atenciones por picadura de insecto en Atención Primaria

4.4.2.1. Descripción espacio-temporal de consultas en AP en el área metropolitana de Zaragoza

Para el análisis de los datos de AP se trabajó seleccionando únicamente las ZBS que integran el área metropolitana de Zaragoza (Tabla 4.5). Se tomó como referencia tanto la población anual de cada sector (Tabla 4.6) como el total de consultas atendidas en AP por cualquier motivo cada año en cada sector (Tabla 4.16).

Tabla 4.16. Atenciones primarias por cualquier motivo por año y sector sanitario

Sector	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	Total
Zaragoza I	704.890	896.857	936.866	923.470	873.158	862.195	875.621	6.073.057
Zaragoza II	939.476	1.722.589	1.817.230	1.759.387	1.705.550	1.697.804	1.694.826	11.336.862
Zaragoza III	73.658	986.139	1.012.369	988.908	948.068	962.957	976.290	5.948.389
Total	1.720.033	3.607.595	3.768.476	3.673.777	3.528.789	3.524.970	3.548.752	23.372.392

4.4.2.2. Análisis de consultas por picaduras atendidas en AP acumuladas anualmente

En primer lugar, se analizó el número de consultas por picadura atendidas en AP de forma anual y posteriormente observando el efecto del sexo y de la edad. En los tres apartados se realizó un análisis estratificado anualmente y posteriormente considerando la distribución espacial según sector y según zona rural/urbana.

4.4.2.2.1. De forma global

A lo largo de los años se observa una evolución creciente en el número de picaduras/1.000 hab respecto al año 2009 hasta alcanzar el máximo en 2012. Posteriormente, desde 2013 hasta 2015 se muestra una disminución en el número de atenciones por picadura. La misma tendencia se observa en el número de picaduras/100 AP por cualquier motivo en AP. El valor elevado de la media en 2009 se explica porque el registro de consultas por AP por cualquier motivo es menor que en años posteriores debido a que el sistema todavía se estaba implementando (Tabla 4.17a).

También se observan diferencias significativas entre los tres sectores sanitarios de Zaragoza al usar como referencia tanto la población total como el número de AP, destacando el sector Zaragoza I con mayor frecuencia relativa de consultas por picaduras que el resto. Con



respecto al tipo de zona, también se observan diferencias significativas entre las zonas rural y urbana, siendo mayor el número de atenciones en la primera (Tabla 4.17b).

Tabla 4.17a. Consultas por picaduras atendidas según censo y nº de atenciones primarias en el área metropolitana de Zaragoza estratificadas por año

Año	Población	Picaduras/1.000 hab		AP	Picaduras/100 AP	
		Media	s		Media	s
2009	798.163	8,20 ^a	4,45	1.718.024	0,31 ^c	0,24
2010	801.764	8,29 ^a	5,08	3.605.585	0,19 ^a	0,14
2011	798.372	19,59 ^c	9,25	3.766.465	0,42 ^d	0,19
2012	798.884	24,60 ^d	9,23	3.671.765	0,54 ^e	0,18
2013	778.586	11,18 ^b	5,62	3.526.776	0,25 ^{ab}	0,12
2014	778.405	12,49 ^b	6,08	3.522.956	0,28 ^{bc}	0,12
2015	780.156	12,00 ^b	5,58	3.546.737	0,26 ^{bc}	0,11
Total	5.534.330	13,78	8,80	23.358.308	0,32	0,19
p*		<0,001			<0,001	

* Significación en el análisis GLM para la variable año
Superíndices distintos indican diferencias significativas (p<0,05) según prueba *post hoc* de Duncan

Tabla 4.17b. Consultas por picaduras atendidas según censo y nº de atenciones primarias en el área metropolitana de Zaragoza estratificadas por sector sanitario y zona

	Población	Picaduras/1.000 hab		AP	Picaduras/100 AP	
		Media	s		Media	s
Zaragoza I	1.353.350	18,04 ^c	9,06	6.073.057	0,40 ^c	0,18
Zaragoza II	2.725.620	10,90 ^a	8,51	11.336.862	0,26 ^a	0,19
Zaragoza III	1.455.360	15,22 ^b	6,95	5.948.389	0,35 ^b	0,18
p*		<0,001			<0,001	
Rural	747.214	22,15	8,33	3.338.245	0,48	0,16
Urbana	4.787.116	12,47	8,13	20.020.063	0,30	0,18
p**		<0,001			<0,001	
Total	5.534.330	13,78	8,80	23.358.308	0,32	0,19

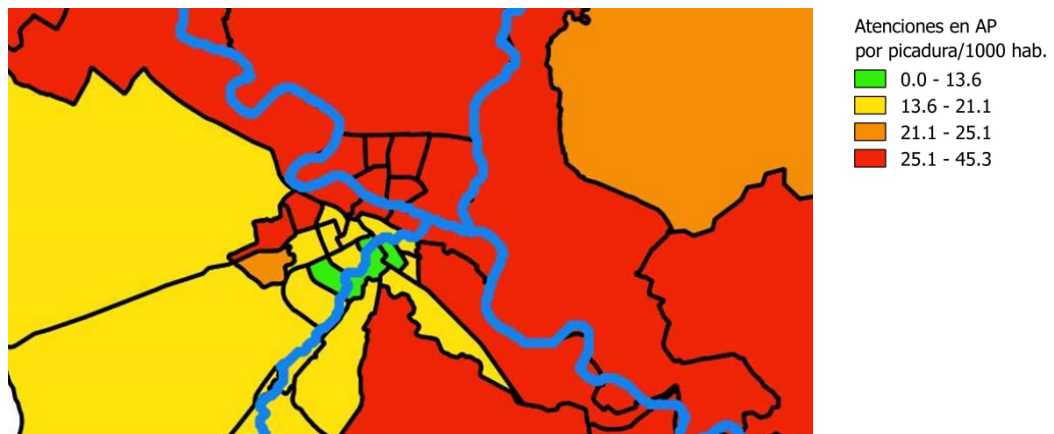
* Significación en el análisis GLM para la variable sector sanitario; ** Significación en el análisis GLM para la variable zona
Superíndices distintos indican diferencias significativas (p<0,05) según prueba *post hoc* de Duncan

En el año 2011 se observó un incremento del 237% en el número de consultas médicas por picadura en AP con respecto a los años anteriores 2009 y 2010. Este incremento fue todavía mayor durante el 2012, alcanzando el 300%. Posteriormente desde 2013 a 2015 se observó un descenso en el número de consultas con respecto a los años 2011 y 2012 pero manteniéndose por encima de los años 2009 y 2010. Este incremento en el número de consultas por picadura de insecto en AP en el área metropolitana de Zaragoza durante el periodo 2011-2015 puede atribuirse al incremento poblacional de los simúlidos (Diptera: Simuliidae) en la ribera del río Ebro en el Valle medio del Ebro. Existen dos resultados que refuerzan esta hipótesis. Por una parte el sector con mayor registro de consultas por picadura fue el sector Zaragoza I, porque integra ZBS urbanas (Tabla 4.5 y Figura 4.8) cercanas al margen izquierdo del río Ebro y por lo tanto con mayor probabilidad de sufrir picaduras de simúlido (Figura 4.9). Y por otra parte, la zona rural (Tabla 4.5) fue la más



afectada reflejando que hay poblaciones en el entorno de Zaragoza capital que sufren gran cantidad de picaduras de simúlidos.

Figura 4.9. Consultas por picadura de insecto en AP/1.000 hab en Zaragoza urbana durante 2012



Los análisis ajustando tanto por población como por el número de AP por cualquier motivo en AP han mostrado resultados semejantes, lo que indica que ambos ajustes son adecuados, ofreciendo dos alternativas complementarias para valorar el número de atenciones por picadura de forma anual. Es interesante realizar ambos ajustes ya que cada uno ofrece una ponderación diferente en el análisis de los datos, obteniendo finalmente una visión global de las consultas médicas por picadura distribuidas anualmente. En base a los resultados anteriormente mencionados, se puede establecer que el brote de simúlidos en el área metropolitana de Zaragoza comenzó en el año 2011 alcanzando su máxima intensidad en el año 2012.

Desde nuestro conocimiento, no se ha realizado un análisis pormenorizado de las consultas por picadura de insecto en AP en otras comunidades autónomas españolas para evaluar el impacto de las picaduras de simúlidos. En Cataluña, en las comarcas que integran el Bajo Ebro (Baix Ebre, Montsià, Ribera d'Ebre y Terra Alta), se contabilizaron 1.484 atenciones médicas por picadura de mosca negra desde finales de mayo hasta finales de octubre de 2005, primer año en que se detectaron picaduras masivas por este insecto. El área básica de salud (ABS) más afectada fue la de Móra La Nova-Móra d'Ebre con 623 afectados (Escosa, 2007). Desde entonces el Gobierno de Cataluña realiza informes anuales sobre las comarcas afectadas por la mosca negra en el Bajo Ebro donde se integran las atenciones médicas por picadura de insecto por ABS. El número de atenciones es mucho menor que el registrado en Aragón (Montse Masià Pons, comunicación personal).

Otro insecto que también ha incrementado las consultas en AP en nuestro país debido a sus picaduras es el mosquito tigre. La detección en 2004 (Aranda *et al.*, 2006) y el establecimiento posterior del mosquito tigre (*Aedes albopictus*) en diferentes regiones españolas (Roiz *et al.*, 2007; Delacour-Estrella *et al.*, 2009, 2010, 2014, 2015, 2016; Collantes *et al.*, 2011, 2014, 2015, 2016; Bueno-Marí *et al.*, 2012, 2013a, 2014; Bueno-Marí y García-Mújica, 2015; Miquel *et al.*, 2013; Alarcón-Elbal *et al.*, 2013, 2014; Barceló *et al.*, 2015; Bengoa *et al.*, 2016) supuso un nuevo reto en salud pública para los municipios y comunidades autónomas afectadas, entre la que no se encuentra la ciudad de Zaragoza (detectado por primera vez de manera puntual en 2016). Esta especie exótica de mosquito,



muy agresiva con el ser humano, ha incrementado las consultas médicas en AP en la costa mediterránea (Giménez *et al.*, 2006; Lokimica, 2017). En cualquier caso, de forma general, tras 3-4 años del establecimiento de esta especie de mosquito en una población, el número de consultas médicas por este motivo se reduce llegando a tasas similares al previo establecimiento de esta especie invasora en localidad (Ruiz-Arrondo, no publicado). Este hecho podría explicarse en parte por la implementación de medidas de control, la existencia de campañas informativas y educativas para el mejor conocimiento de esta especie plaga y su gestión (Abramides *et al.*, 2011, 2013) y la habituación de los ciudadanos a la presencia de esta especie de culícido, produciendo menor número de reacciones individuales debido a su picadura o al hecho de que los ciudadanos ya saben cómo proceder en caso de una reacción alérgica lo que conlleva en último término la reducción del número de atenciones médicas por picadura de insecto en AP.

El caso de la mosca negra es distinto, debido en parte a las diferencias en la biología de ambos grupos, mosquitos y simúlidos. La densidad poblacional de los simúlidos en Zaragoza está supeditada a las condiciones ecológicas del río Ebro, lugar donde principalmente desarrolla sus ciclos preimaginales. En los años con condiciones favorables (estiaje durante el invierno y primavera, y ausencia de avenidas durante la primavera) se produce la eclosión masiva de adultos de simúlidos durante el final de la primavera y el verano en el valle medio del Ebro (Ruiz-Arrondo, observación personal). Por lo tanto, existe una variación en la población de adultos de mosca negra según el año. En el caso del mosquito tigre, la densidad poblacional está más relacionada con la gestión adecuada del agua dentro de las propiedades privadas y la vía pública (Abramides *et al.*, 2011; Comissió Interinstitucional per a la Prevenció i Control del Mosquit Tigre a Catalunya, 2011; Collantes *et al.*, 2014).

En el caso de la mosca negra, los ciudadanos no pueden participar en la gestión de la plaga que es responsabilidad única de la administración, así que las medidas educativas que son tan eficaces en la gestión del mosquito tigre (Winch *et al.*, 2002; Abramides *et al.*, 2011, 2013; Diéguez-Fernández *et al.*, 2013; Fonseca *et al.*, 2013), en nuestro caso no lo son, más que para informar sobre la biología del insecto y evitar sus picaduras. A pesar de la campaña de control de simúlidos iniciada en 2011 por el Ayuntamiento de Zaragoza en el tramo del río Ebro a su paso por Zaragoza, no se redujo suficientemente la población de este insecto, y por tanto no se logró la reducción esperable en el número de atenciones médicas en 2012. Una de las razones que podría explicar la disminución del número de atenciones por picadura en AP en años posteriores, podría ser la habituación de la población a la picadura de los simúlidos. Aunque si bien es cierto la picadura de una mosca negra produce comparativamente más reacción y complicación que las ocasionadas por un *Ae. albopictus* ya que la primera es un insecto telmófago que rasga la piel (Giménez *et al.*, 2007). Un ejemplo de lo discutido anteriormente lo observamos en el rebrote producido durante la primavera y verano de 2017 en Zaragoza, donde las atenciones médicas por picadura de insecto superaron incluso los niveles observados en 2011 y 2012. Los seis primeros meses de 2017 se han registrado 11.512 consultas por picaduras de insectos en Aragón, cifra superior a las registradas en el mismo periodo en los últimos 6 años: 2011 (8.434), 2012 (9.422), 2013 (3.723), 2014 (5.955), 2015 (5.876) y 2016 (5.081) (Gobierno de Aragón, 2017a). Esta circunstancia ilustra muy bien las diferencias en la evolución de las consultas médicas por picadura producidas entre el mosquito tigre y el simúlido en una serie temporal, además de



dar una idea de la dificultad de la gestión integral de una plaga de simúlidos en un río de una magnitud como el Ebro a su paso por la ciudad de Zaragoza.

En Europa existen varios países que han sufrido o sufren brotes de simúlidos que han afectado y/o afectan a los seres humanos periódicamente: Inglaterra (Hansford y Ladle, 1979), Serbia (Krstić, 1966; Burány *et al.*, 1972; Živković y Burány, 1972; Ignjatović-Ćupina *et al.*, 2006a), Francia (Beaucournu-Saguez *et al.*, 1993; Bardin, 2001), Hungría (Szabó, 1964), Italia (Rivosecchi y Coluzzi, 1962), Alemania (Rühm, 1970), países escandinavos (Crosskey, 1990), Turquía (Sarıözkan *et al.*, 2013) y España (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2017a; Sánchez-López *et al.*, 2017b) entre otros.

Aunque desconocemos que se hayan realizado estudios en otros países europeos sobre el análisis temporal de las consultas médicas por picadura de insectos en los centros sanitarios, son varios los trabajos donde se han cuantificado el número de personas que requirieron asistencia sanitaria durante un brote de mosca negra. Hansford y Ladle (1979) describieron como 600 personas fueron atendidas durante 4 semanas en la primavera de 1972 en los alrededores de Blandford (sur de Inglaterra) por la picadura de la especie *S. posticum*. En Serbia, *S. erythrocephalum* ha producido varios brotes en la provincia de Vojvodina que han requerido de asistencia sanitaria. En 1965, durante el primer brote por esta especie registrado en el país, 37 personas requirieron de asistencia médica (Krstić, 1966). Mientras que en 1970, fueron más de 2.000 atenciones médicas (Živković y Burány, 1972; Burány *et al.*, 1972). Y más recientemente, en 2006, 30 personas requirieron de hospitalización (Ignjatović-Ćupina *et al.*, 2006a). En este último brote el número de pacientes atendidos por picaduras de simúlidos fue mayor pero tan sólo se tuvo registro de los pacientes más graves que requirieron de hospitalización.

El análisis espacial con QGIS de las consultas por picadura de insecto confirma lo observado previamente en el análisis estadístico. En las Figuras 4.10 y 4.11 se reflejan las atenciones por picadura de insecto en AP según ZBS ajustando por población (1.000 hab). Mientras que en las Figuras 4.12 y 4.13 se ha ajustado por el número de consultas por picadura de insecto en AP por cualquier motivo en AP (100 AP).

Los análisis ajustando tanto por población como por AP han mostrado resultados semejantes aunque se observa una tendencia de valores más elevados en el ajuste por población; no obstante esto puede deberse a los rangos seleccionados en cada uno de los ajustes. En definitiva al igual que en el análisis estadístico, el análisis espacial indica que ambos ajustes son adecuados, ofreciendo dos alternativas complementarias para valorar el número de atenciones por picadura de forma anual. Sin embargo, en los años 2009 y 2010 al ajustar por AP se observan varias ZBS en gris fuera del rango establecido (escala verde-rojo) porque el registro de consultas por AP por cualquier motivo es menor en esos años que en años posteriores debido a que el sistema todavía se estaba implementando (Tabla 4.17a). La ZBS de Valdespartera figura en rojo durante 2010 en este tipo de ajuste precisamente por este motivo y no por presentar realmente mayor número de atenciones por picadura de insecto. En el análisis espacial se observa más claramente este tipo de errores que en el análisis estadístico. De todas formas, se confirma el interés de realizar ambos ajustes ya que cada uno ofrece una ponderación diferente al analizar los datos, obteniendo finalmente una visión global de las consultas médicas por picadura distribuidas anualmente.



Figura 4.10. Atenciones en AP por picadura/1.000 hab según ZBS en el periodo 2009-2015

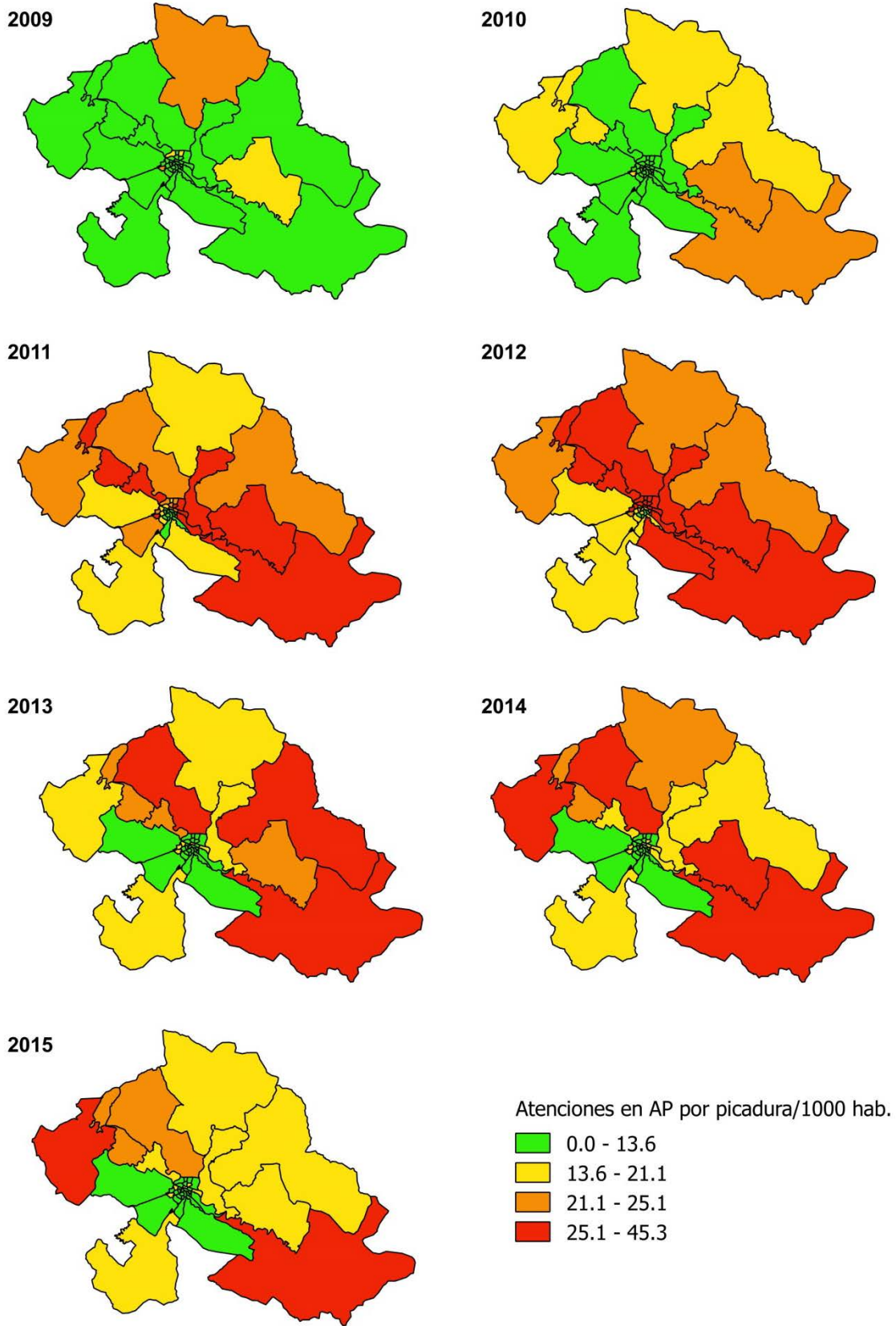


Figura 4.11. Atenciones en AP por picadura/1.000 hab según ZBS en zona urbana en el periodo 2009-2015

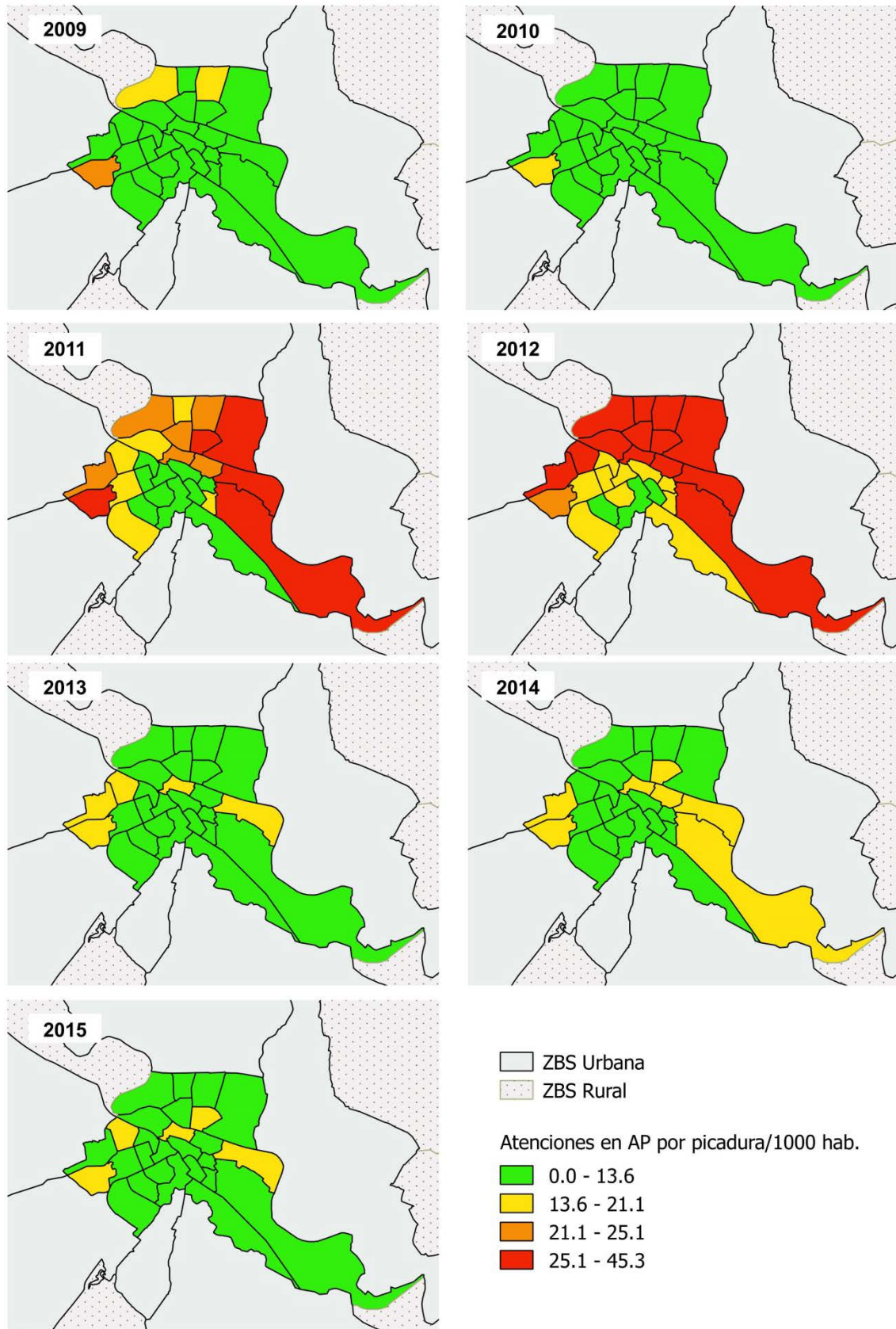


Figura 4.12. Atenciones en AP por picadura/100 AP según ZBS en el periodo 2009-2015

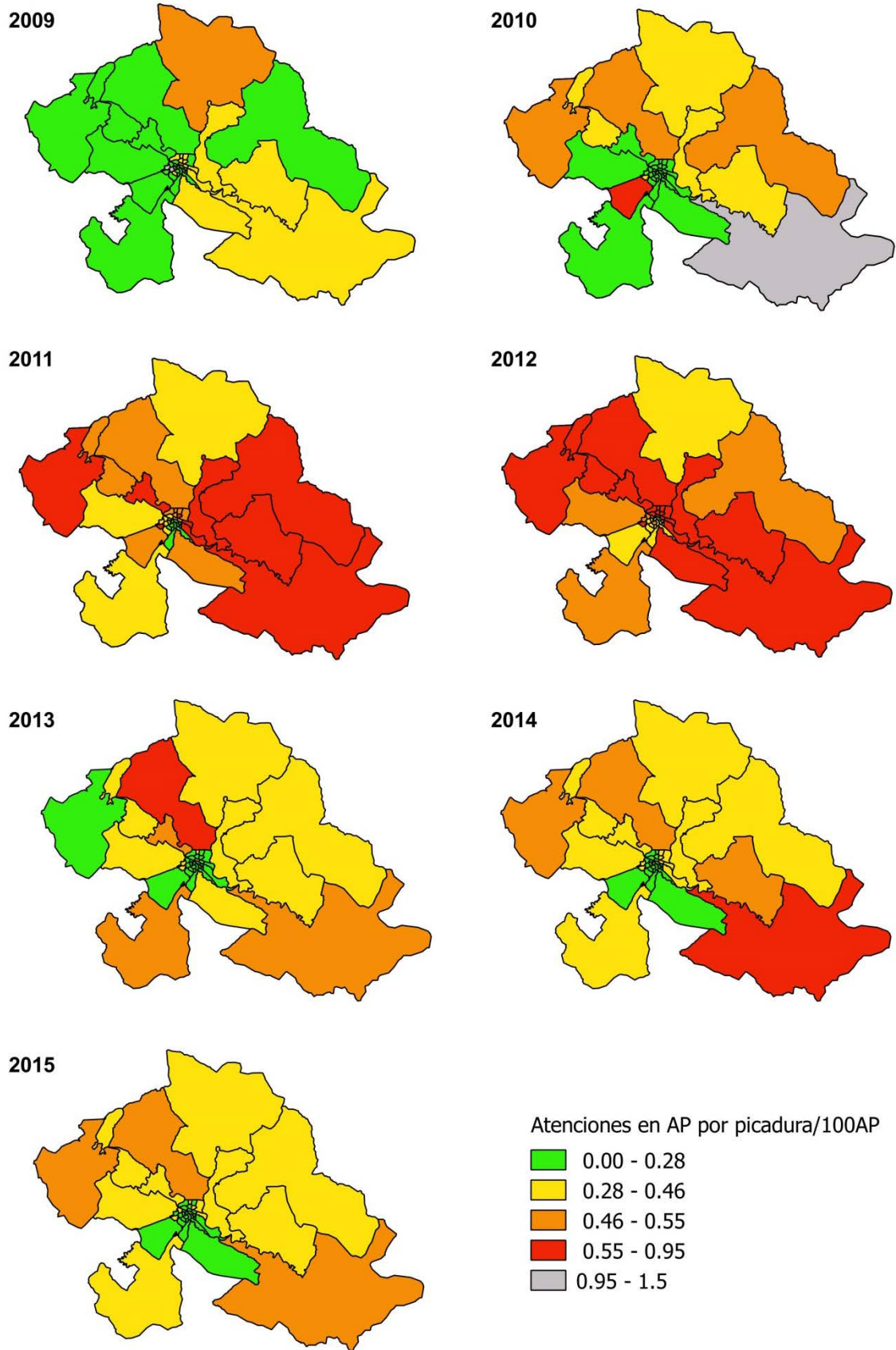
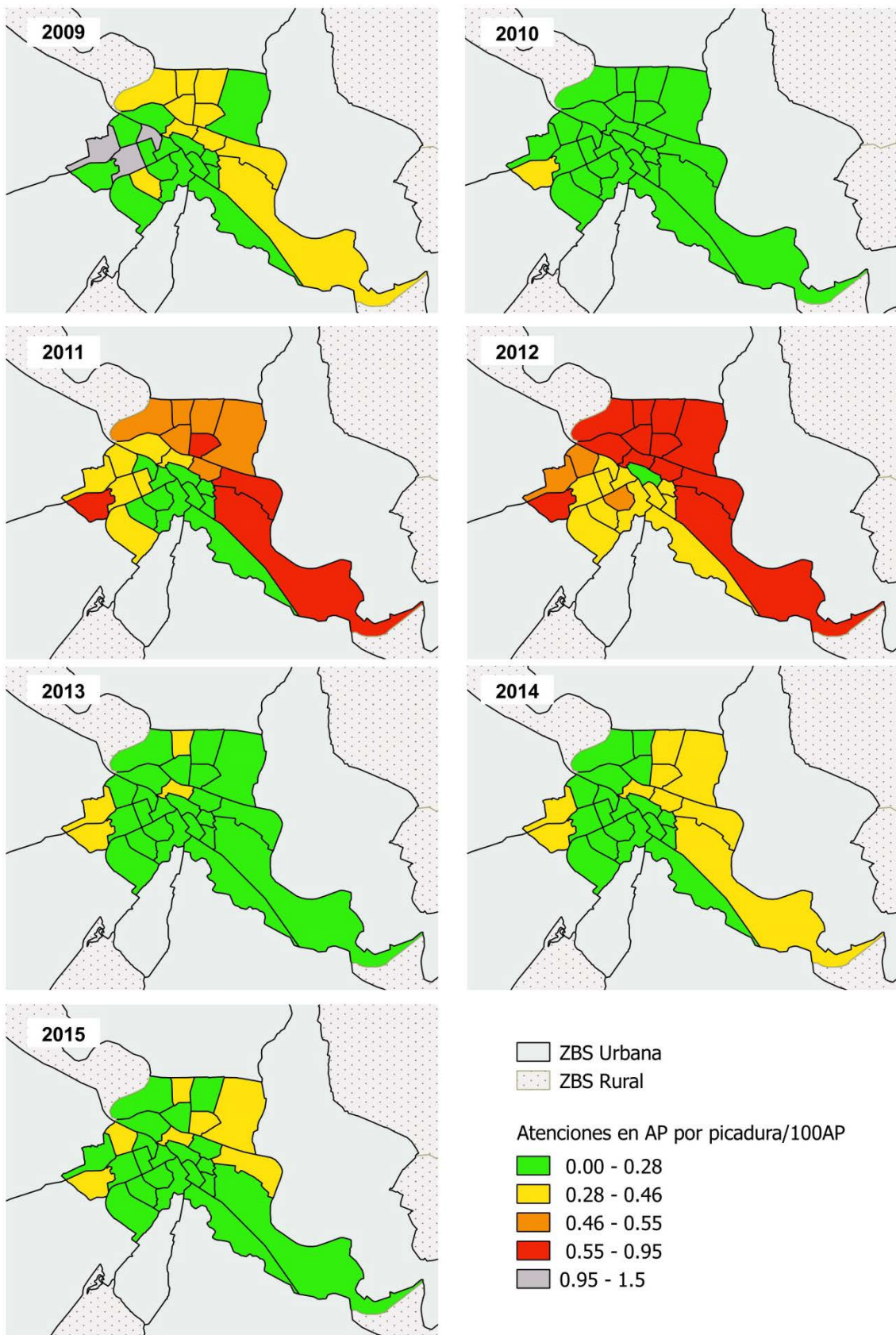


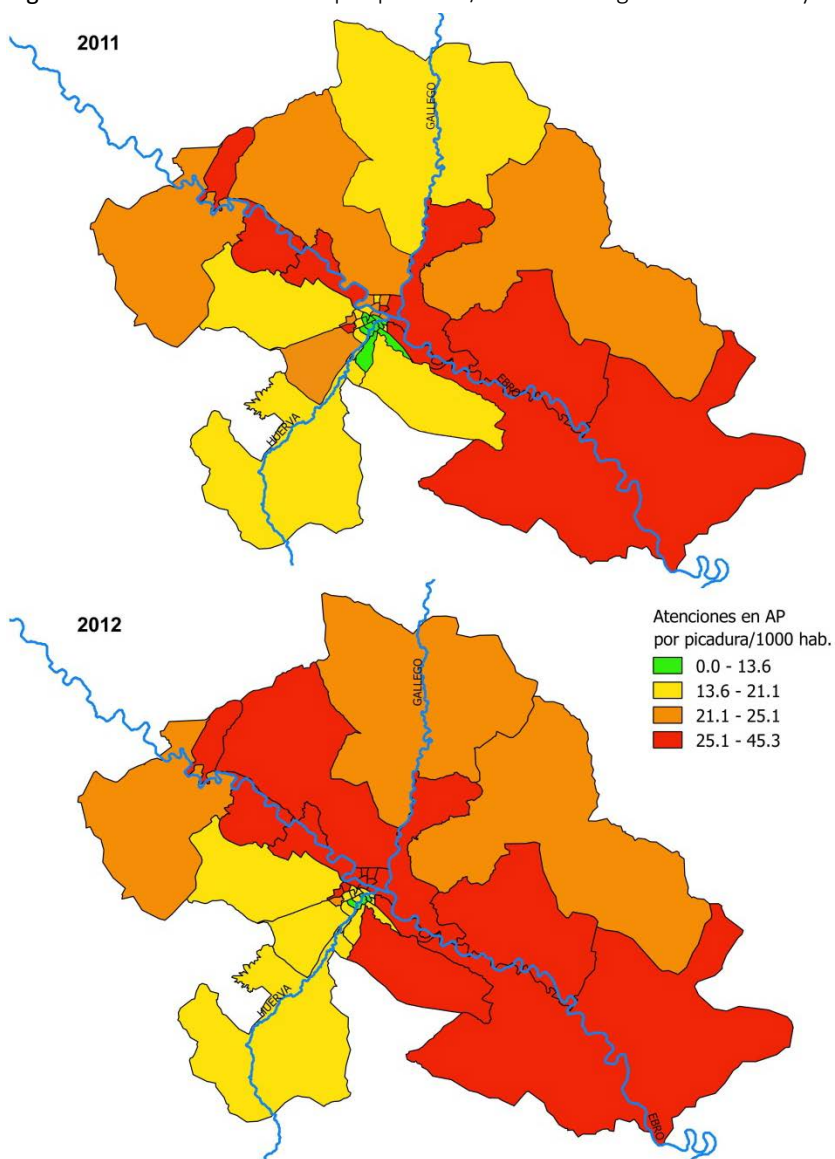
Figura 4.13. Atenciones en AP por picadura/100 AP según ZBS en zona urbana en el periodo 2009-2015



En base a las imágenes del análisis espacial se vuelve a observar la misma tendencia en la evolución de las atenciones médicas por picadura que en el análisis estadístico. Además, la observación espacial de las diferentes ZBS con respecto a los ríos nos permite observar con mayor claridad aspectos que de otra manera podrían pasar desapercibidos.

En la Figura 4.14 se puede observar como las ZBS de salud cercanas a los cauces de los ríos presentan las medias más elevadas de atenciones por picadura de insecto. Entre ellas destacan ZBS urbanas tanto de la margen derecha: Almozara, Rebojería, San Pablo, Las Fuentes Norte o Torreramona; como de la margen izquierda: Actur Sur, Actur Norte, Av. Cataluña, Zalfonada, Arrabal, Parque Goya y Santa Isabel entre otras (Figuras 4.11 y 4.13). También hay zonas rurales muy afectadas como Fuentes de Ebro, Alfajarín, Alagón, Casetas o Utebo entre otras (Figura 4.10).

Figura 4.14. Atenciones en AP por picadura/1.000 hab según ZBS en 2011 y 2012



Además se observa como ya en 2010 se produce un incremento en el número de atenciones por picadura de insecto en Fuentes de Ebro y Alfajarín indicando que la problemática por simúlidos es un proceso ascendente corriente arriba; hecho evidenciado también por



Figueras *et al.* (2011) que observaron las primeras picaduras masivas sobre ovejas en Pina de Ebro (con anterioridad al brote de Zaragoza de 2011) a más de 30 Km aguas abajo (del río Ebro) de la ciudad de Zaragoza. Mientras que las ZBS urbanas tienen menor número de atenciones por picadura de insecto en el periodo post brote (2013-2015) (Figuras 4.11 y 4.13), varias ZBS rurales se mantienen con niveles altos como son Fuentes de Ebro, Alfajarín, Villamayor, Alagón, Casetas y Utebo y también la ZBS urbana de Parque Goya. Todas estas ZBS de salud se encuentran en el eje del río Ebro, en tramos donde se han identificado focos larvarios de *S. erythrocephalum*. Esto podría indicar que en años de poca producción larvaria, como por ejemplo el periodo 2013-2015 las zonas no metropolitanas de Zaragoza siguen siendo afectadas por las picaduras mientras que las zonas estrictamente urbanas no lo son tanto. Esto vendría a confirmar que los principales focos de cría se encuentran aguas abajo y arriba de la ciudad de Zaragoza (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2017a).

Entre las ZBS de zona urbana menos afectadas por las picaduras ninguna limita con el eje del río Ebro, como son San José Norte, San José Sur, Madre Vedruna-Miraflores, Independencia-Puerta del Carmen y Sagasta-Ruiseñores. Es muy interesante destacar como otras ZBS de salud distantes del río Ebro atendieron un gran número de consultas por picadura, tal es el caso de María de Huerva y Zuera (Figura 4.10). La explicación más asumible es que por estas poblaciones discurren los ríos Huerva y Gállego respectivamente (Figura 4.14). En ambas poblaciones se ha constatado la presencia de *S. erythrocephalum* y de otras especies pertenecientes al subgénero *Wilhelmia* (Ruiz-Arrondo, observación personal). Además se observa como estas dos ZBS presentan un patrón anual de atenciones médicas diferente a la tendencia general observada para el global de ZBS estudiadas: María de Huerva sigue manteniendo un nivel similar de atenciones médicas tras el 2011; y Zuera presenta los niveles más altos durante los años 2009, 2012 y 2014 (Figura 4.10). De hecho esta última ZBS presenta los niveles más altos de atenciones médicas entre todas las ZBS estudiadas (para ambos ajustes) durante 2009. Otra observación a destacar es que las ZBS por donde discurre el cauce del río Huerva a su paso por la ciudad de Zaragoza (Figura 4.9) no están tan afectadas por la picadura de insectos (Figuras 4.11). Esto se debe a que en este tramo del río Huerva no se cumplen las características hidrológicas adecuadas para la cría de simúlidos (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2012b).

Los problemas detectados en las ZBS de Parque Goya y Santa Isabel, por donde discurren tanto el río Ebro como el río Gállego, están únicamente afectadas por las poblaciones de simúlidos del río principal ya que el afluente no alberga población de simúlidos a su paso por estas ZBS. La razón es que los sustratos acuáticos están recubiertos por una especie de capa de celulosa procedente del vertido de la empresa papelera ubicada en Montañana (7 Km aguas arriba de la desembocadura del río Gállego con el Ebro) que impiden la colonización de los mismos por parte de las larvas de simúlidos (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2012b).

4.4.2.2.2. Según el sexo

Se observaron diferencias significativas entre hombres y mujeres durante todos los años del estudio. El número de mujeres atendidas fue siempre superior al de los hombres a lo largo del tiempo (Tabla 4.18). También se observaron diferencias significativas entre hombres y mujeres en cada uno de los sectores y también dentro de cada una de las zonas (Tabla 4.19).



Tabla 4.18. Consultas por picaduras/1.000 hab, según el sexo de los pacientes, atendidas en AP en el área metropolitana de Zaragoza en el periodo 2009-2015 estratificadas por año

Año	Hombre		Mujeres		p
	Media	s	Media	s	
2009	7,54	4,61	10,13	5,61	<0,001 ^t
2010	8,04	5,39	10,49	6,63	<0,001 ^w
2011	17,44	8,62	23,77	11,32	<0,001 ^t
2012	18,43	6,89	31,64	12,46	<0,001 ^t
2013	10,23	5,62	14,28	7,72	<0,001 ^w
2014	10,81	5,51	15,98	8,29	<0,001 ^w
2015	10,24	5,03	15,11	7,26	<0,001 ^t
Total	11,88	7,26	17,44	11,31	<0,001^w

t: Significación según la prueba t de Student para muestras independientes
w: Significación según la prueba de Wilcoxon

Tabla 4.19. Consultas por picaduras/1.000 hab, según el sexo de los pacientes, atendidas en AP en el área metropolitana de Zaragoza en el periodo 2009-2015 estratificadas espacialmente (según sector y zona rural/urbana)

Sectores	Hombre		Mujeres		p
	Media	s	Media	s	
Zaragoza I	15,04	7,07	23,15	11,62	<0,001 ^w
Zaragoza II	8,84	6,64	13,58	11,34	<0,001 ^w
Zaragoza III	13,95	6,45	18,45	7,99	<0,001 ^w
Rural	19,17	7,19	25,88	10,80	<0,001 ^w
Urbana	10,08	6,07	15,36	10,45	<0,001 ^w
Total	11,88	7,26	17,44	11,31	<0,001^w

w: Significación según la prueba de Wilcoxon

El número de mujeres atendidas fue siempre superior con respecto al de hombre en ambos análisis, tanto temporal como espacialmente. Este hecho también ha sido observado en otros brotes de insectos hematófagos; por ejemplo para *S. posticatum* en Inglaterra (Hansford y Ladle, 1979); y para *Ae. albopictus*, en España (Giménez *et al.*, 2007). Se desconoce la desagregación por sexo de los atendidos por picadura de mosca negra en las comarcas catalanas del Bajo Ebro afectadas por esta plaga.

En nuestro conocimiento, no existen trabajos sobre la atracción de los simúlidos por picar más a un sexo u otro, por lo que desconocemos las razones exactas de la mayor incidencia de consultas en AP por picadura de insecto en el sexo femenino. Una posible explicación de que las mujeres sean el sexo con más atenciones por picadura de insecto podría ser por sus hábitos de vestimenta, ya que a diferencia de los hombres, usan más frecuentemente ropa que deja al descubierto parte de las piernas. Esta misma explicación es la que apuntan Hansford y Ladle (1979) para explicar el mayor número de atenciones médicas en mujeres que en hombres en los brotes acontecidos en Blandford en los años 70 en el sur de Inglaterra. Al igual que *S. posticatum*, *S. erythrocephalum*, responsable de las molestias en la ciudad de Zaragoza, pica con más asiduidad en las piernas que en los brazos (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2017a). Otra posible explicación podría ser la variabilidad de las reacciones individuales, y que las mujeres sean más sensibles a la picadura de este insecto que los hombres, requiriendo con más frecuencia de atención médica debido a la inflamación local de la zona



de picadura. En cualquier caso, el estudio está basado en los pacientes atendidos en AP, y no en todos los ciudadanos, de la zona metropolitana de Zaragoza, que han recibido alguna picadura por simúlido, de tal forma que no es posible saber la desagregación real de las picaduras por sexo.

4.4.2.2.3. Según la edad

Se apreciaron diferencias significativas entre los diferentes rangos de edad durante todos los años del estudio (Tabla 4.20). El rango de edad que más atenciones por picadura de insecto registra en todo el periodo de estudio es 0-14 años, mientras que el resto de rangos de edades presentan diferencias menos acusadas en cada uno de los años estudiados. Observando los resultados para cada uno de los rangos de edad, se vuelve a constatar un incremento en el número de atenciones médicas a partir del 2011, con respecto a 2009 y 2010, alcanzando el máximo en el año 2012 y como posteriormente vuelve a disminuir en el periodo 2012-2015. Este patrón se cumple para cada uno de los rangos de edad, evidenciando que todas las edades fueron afectadas de la misma manera por las picaduras de los simúlidos.

Tabla 4.20. Consultas por picaduras/1.000 hab, según la edad de los pacientes, atendidas en AP en el área metropolitana de Zaragoza en el periodo 2009-2015 estratificadas por año

Año	0-14 años		15-29 años		30-44 años		45-64 años		>65 años		p
	Media	s	Media	s	Media	s	Media	s	Media	s	
2009	26,29 ^c	15,60	6,60 ^b	3,75	5,52 ^a	3,57	6,46 ^b	3,79	4,71 ^a	2,43	<0,001 ^F
2010	25,65 ^c	16,04	7,12 ^b	4,72	6,17 ^a	4,67	7,01 ^b	4,85	5,61 ^a	3,84	<0,001 ^F
2011	42,04 ^d	19,06	16,20 ^a	7,17	16,89 ^{ab}	8,68	18,33 ^c	10,22	16,44 ^{ab}	9,72	<0,001 ^F
2012	38,54 ^d	15,42	20,38 ^a	8,02	22,19 ^{ab}	9,17	24,19 ^c	9,53	23,71 ^{bc}	10,29	<0,001 ^F
2013	32,97 ^d	16,10	9,67 ^c	5,11	8,26 ^{ab}	4,90	9,23 ^{bc}	5,72	7,61 ^a	4,45	<0,001 ^F
2014	35,26 ^c	15,70	10,98 ^b	6,37	9,46 ^a	5,84	10,21 ^b	5,99	8,48 ^a	4,78	<0,001 ^F
2015	32,49 ^d	14,05	10,51 ^c	4,77	9,15 ^b	5,41	9,45 ^b	5,21	8,27 ^a	4,82	<0,001 ^F
Total	33,42^d	16,82	11,70^c	7,43	11,16^b	8,50	12,20^c	9,16	10,77^a	9,03	<0,001^F

F: Significación según la prueba de Friedman

Superíndices distintos en un fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$) según prueba *post hoc* de Duncan

También se observan similares diferencias significativas entre los diferentes grupos de edad en cada uno de los sectores y también dentro de las zonas (Tabla 4.21). Al igual que en el análisis por años, el rango de edad que más consultaba era 0-14 años, siendo muy superior al resto de rangos de edad. Las diferencias entre el resto de rangos no son tan acusadas como en el de 0-14 años con respecto al resto. Las personas mayores (>65 años) suelen presentar los menores valores dentro de cada sector.

El hecho de que los niños presenten la mayor incidencia de atenciones médicas por picadura de insecto, tanto en el enfoque temporal como espacial, demuestra que es el rango de edad más afectado por la picadura de insectos en Zaragoza. Aunque no podemos saber con certeza si la abundancia de consultas en los niños es debido a la mayor frecuencia de picotazos en ese grupo de edad o a una mayor sensibilidad, o quizás a ambos factores conjuntamente; todo parece apuntar que los niños son el grupo de edad más sensible a la picadura de simúlido. Kar *et al.* (2013) no encontraron diferencias en la aparición de dermatitis por picadura de insecto entre los diferentes grupos de edad en India.



Por el contrario, para *Ae. albopictus* se ha descrito la variabilidad de las reacciones individuales (Rebora *et al.*, 1993). Las personas mayores fue el grupo de edad que más incremento de consultas por picadura de insecto sufrió en el centro sanitario de San Cugat del Vallés (Barcelona) una vez se estableció el mosquito tigre en la zona (Giménez *et al.*, 2007).

Tabla 4.21. Consultas por picaduras/1.000 hab, según la edad de los pacientes, atendidas en AP en el área metropolitana de Zaragoza en el periodo 2009-2015 estratificadas espacialmente (según sector y zona rural/urbana)

	0-14 años		15-29 años		30-44 años		45-64 años		>65 años		p
	Media	s	Media	s	Media	s	Media	s	Media	s	
Zaragoza I	38,64 ^d	13,18	14,69 ^{ab}	7,66	14,57 ^{ab}	9,22	16,70 ^c	10,46	14,48 ^a	10,32	<0,001 ^F
Zaragoza II	26,73 ^c	17,46	9,29 ^b	7,28	8,91 ^a	8,25	9,23 ^{ab}	8,50	9,03 ^a	9,21	<0,001 ^F
Zaragoza III	39,72 ^d	14,69	12,90 ^c	6,07	11,69 ^b	6,93	12,87 ^c	6,77	10,11 ^a	5,86	<0,001 ^F
Rural	49,26 ^c	15,32	18,37 ^b	7,59	18,15 ^b	9,08	18,75 ^b	9,21	13,44 ^a	8,24	<0,001 ^F
Urbana	29,52 ^c	14,79	10,06 ^b	6,42	9,44 ^a	7,41	10,58 ^b	8,42	10,11 ^a	9,10	<0,001 ^F
Total	33,42^d	16,82	11,70^c	7,43	11,16^b	8,50	12,20^c	9,16	10,77^a	9,03	<0,001^F

F: Significación según la prueba de Friedman

Superíndices distintos en un fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$) según prueba *post hoc* de Duncan

Como se detalló previamente en la introducción del presente capítulo, Mckiel y West (1961) clasificaron la reacción de la picadura de un mosquito sobre el ser humano en las siguientes cinco etapas: 1) ninguna reacción; 2) reacción retardada solamente; 3) reacción inmediata y tardía; 4) reacción inmediata solamente; y 5) ninguna reacción. Mellanby (1946) asumió que la secuencia de cambio se debe a un proceso de sensibilización y desensibilización subsiguiente, aunque no se realizaron experimentos para probar esta hipótesis. Esta serie de reacciones asociadas con la picadura también se ha observado en otros insectos hematófagos como pulgas (Lunsford, 1949) y flebotomos (Theodor, 1935). Experimentos realizados por Oka y Ohtaki (1989) propusieron que la relación entre la edad y la reacción a una picadura indicaba que las etapas antes detalladas avanzaban conforme aumentaba la edad.

4.4.2.3. Análisis de picaduras atendidas en AP acumuladas mensualmente

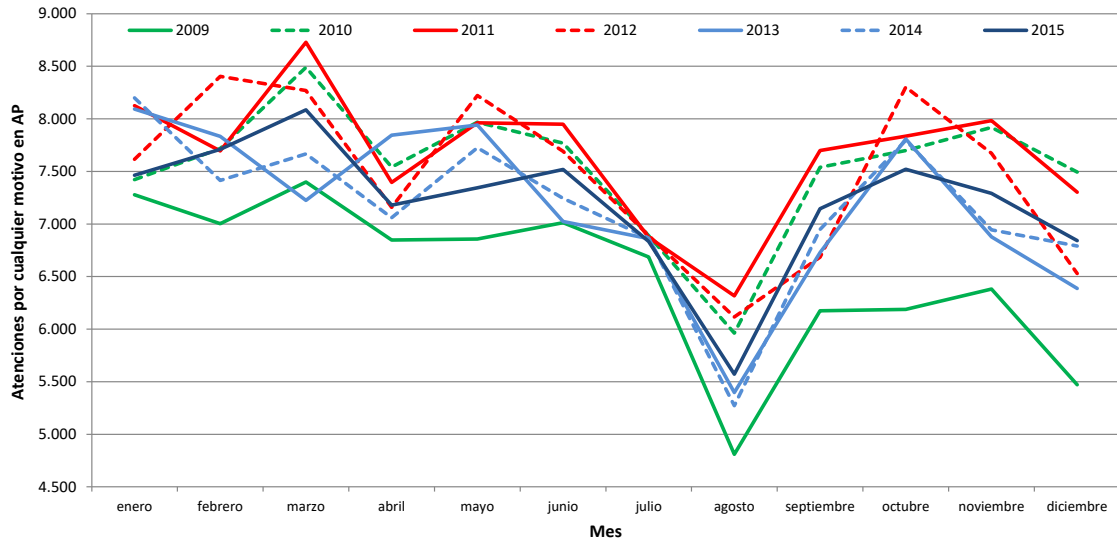
A continuación se analiza el número de consultas por picadura atendidas en AP de forma mensual durante el periodo 2009-2015. En este apartado los datos están ajustados en función de las atenciones totales en AP (picaduras/10.000 AP).

En la Figura 4.15 se observa una marcada influencia estacional en el número de AP totales. Se aprecian una serie de máximos y mínimos en el número de atenciones coincidiendo en los mismos meses a lo largo de todo el periodo de estudio. De forma generalizada, se observa el primer máximo del año en el mes de marzo y posteriormente otro pico durante el mes de octubre. El primero de ellos puede deberse a la temporada de gripe que suele producirse entre los meses de enero a marzo, meses de invierno, como suele ser habitual en el hemisferio norte; mientras que el segundo se produce de forma generalizada en todos los años durante el periodo de octubre a noviembre, coincidiendo con la llegada del frío en otoño y el aumento de los procesos catarrales (Gobierno de Aragón, 2016). Por otra parte, destaca la disminución muy acusada de atenciones durante el mes de agosto. Este hecho implica que los siguientes análisis deben ser ajustados con respecto al número de AP por cualquier motivo. Otra observación es que se ve una diferencia bastante acusada en el número de atenciones en agosto en función del



año. El año 2009 fue en el que menos consultas se produjeron durante el mes de agosto y sin embargo en el 2010, 2011 y 2012 el número es superior, esto podría ser debido a un efecto derivado de la crisis económica que comenzó en el año 2008; los ciudadanos de Zaragoza se habrían desplazado menos por vacaciones en agosto durante los años siguientes de tal forma que el número de consultas por cualquier motivo en AP se incrementa con respecto a 2009.

Figura 4.15. Comparación de la evolución mensual de las atenciones por cualquier motivo en AP en el área metropolitana de Zaragoza en el periodo 2009-2015



Se realizaron varios análisis multivariantes para evaluar la influencia tanto espacial (sector, ZBS y zona rural/urbana) como temporal (año y mes) en el número de picaduras atendidas en AP acumuladas mensualmente. En los mismos se observó como todos los factores y todas las interacciones influían en la distribución de las atenciones por picadura/10.000 AP por mes.

En la Tabla 4.22 se pone de manifiesto como el área más afectada es la zona rural del sector Zaragoza II; mientras que la zona urbana de este mismo sector es la menos afectada. Se observa también que las zonas rurales de los tres sectores que integran el área metropolitana de Zaragoza poseen mayor número de consultas por picadura que las zonas rurales.

Tabla 4.22. Consultas por picaduras atendidas en AP/10.000 AP en el área metropolitana de Zaragoza en el periodo 2009-2015 según zona rural/urbana

Zona	Sector	N	Media	s
Rural	Zaragoza I	1.070.418	43,36 ^b	55,79
	Zaragoza II	378.452	65,82 ^c	91,16
	Zaragoza III	1.889.375	46,04 ^b	52,15
Urbana	Zaragoza I	5.002.639	39,62 ^b	60,98
	Zaragoza II	10.958.410	24,13 ^a	42,31
	Zaragoza III	4.059.014	28,05 ^a	38,05

Significación según análisis GLM, $p < 0,001$ tanto para el sector, zona rural/urbano y su interacción. Superíndices distintos en una fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$) según los intervalos de confianza de las medias estimadas marginales.

En la Tabla 4.23 se observa como los valores más elevados de consultas por picadura de insecto se producen durante el periodo de julio-septiembre en 2009 y julio y agosto en 2010, alcanzando el máximo en agosto y en julio respectivamente. Sin embargo, durante los años siguientes (2011 y



2012) este periodo de mayor número de consultas por picadura de insecto se inicia en el mes de mayo, prolongándose hasta el mes de agosto. En ambos casos, el máximo se alcanza durante el mes de junio, superando el umbral de las 150 y 250 atenciones por picadura/10.000 AP en 2011 y 2012 respectivamente. Posteriormente, en el año 2013 se observa un patrón similar al del año 2010, con el inicio y máximo de las consultas en julio. Los años restantes 2014 y 2015 se vuelve a modificar el patrón temporal de consultas por picadura, superándose el umbral de las 50 atenciones por picadura/10.000 AP en el mes de junio, coincidiendo en ambos años el máximo durante ese mismo mes al igual que sucedía en 2011 y 2012.

Tabla 4.23. Comparación de la evolución mensual de las atenciones por picadura de insecto en AP/10.000 AP en el área metropolitana de Zaragoza en el periodo 2009-2015

Mes	2009		2010		2011		2012	
	Media	s	Media	s	Media	s	Media	s
enero	2,15 ^a	1,76	2,48 ^a	2,92	2,37 ^a	1,86	3,23 ^a	2,57
febrero	3,21 ^{ab}	2,33	3,10 ^a	3,05	3,65 ^a	3,34	3,02 ^a	2,81
marzo	4,64 ^{ab}	4,30	4,95 ^{ab}	4,50	5,53 ^{ab}	4,34	7,08 ^{ab}	4,37
abril	6,99 ^{ab}	7,46	9,08 ^{abc}	11,96	16,19 ^{ab}	12,36	11,41 ^{ab}	9,71
mayo	18,20 ^c	12,73	14,68 ^{bc}	11,91	50,51 ^c	26,81	63,33 ^d	27,83
junio	43,34 ^d	30,66	34,72 ^d	36,62	165,74 ^f	78,27	257,05 ^f	96,36
julio	52,18 ^d	35,85	60,47 ^e	52,62	120,73 ^e	58,75	177,1 ^e	55,01
agosto	86,09 ^e	34,74	54,74 ^e	33,93	72,35 ^d	37,46	68,52 ^d	29,28
septiem.	53,94 ^d	18,62	27,69 ^d	16,57	40,01 ^c	19,99	32,62 ^c	15,83
octubre	24,60 ^c	6,90	15,9 ^c	10,33	18,77 ^b	10,38	19,16 ^b	10,03
noviem.	13,95 ^{bc}	7,08	8,44 ^{abc}	6,41	13,32 ^{ab}	7,53	8,52 ^{ab}	5,14
diciem.	4,87 ^{ab}	3,56	2,60 ^a	2,54	4,27 ^a	2,97	3,47 ^a	2,65
Total	20,49	28,31	19,10	28,76	41,52	59,51	53,52	85,16

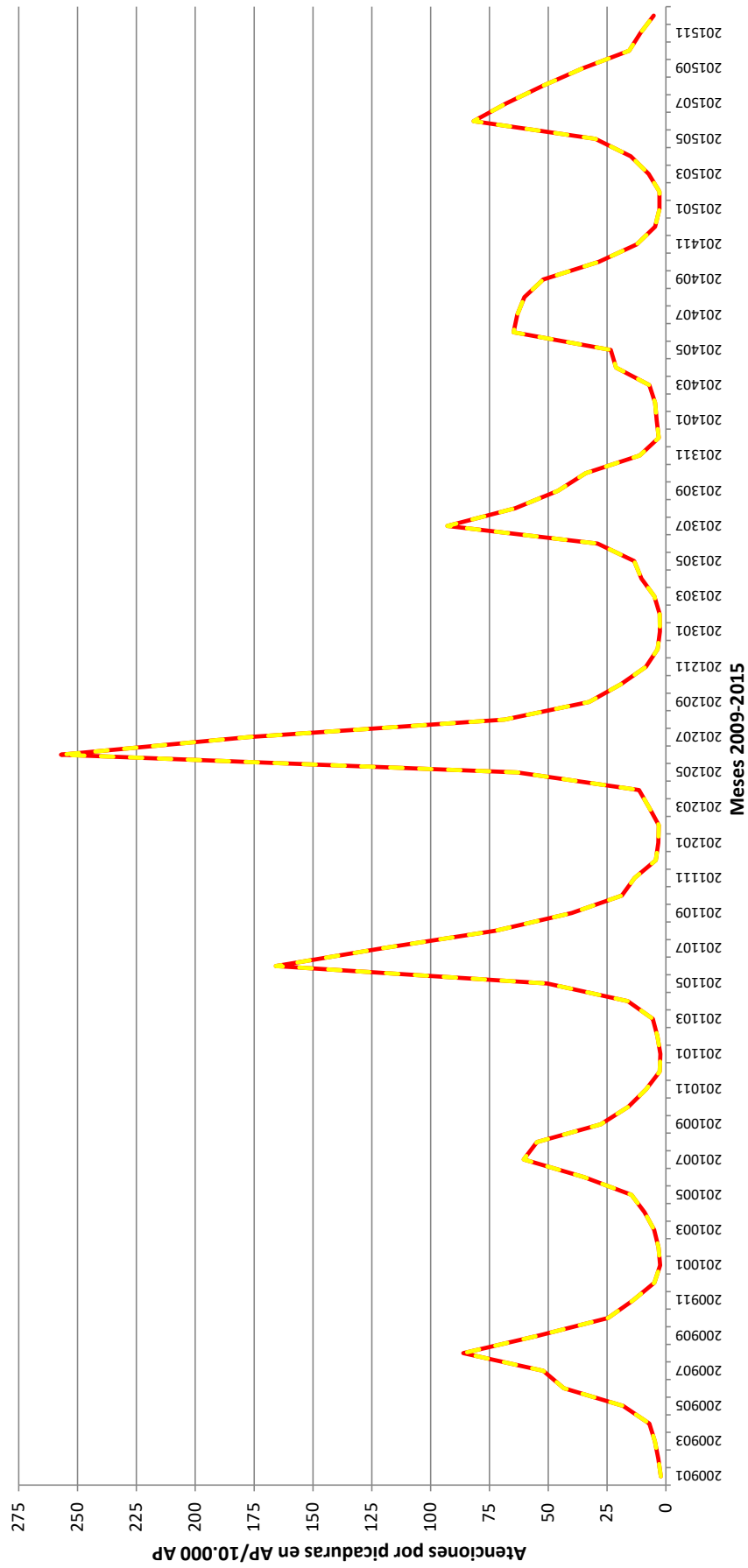
Mes	2013		2014		2015	
	Media	s	Media	s	Media	s
enero	2,56 ^a	1,93	3,90 ^a	2,97	2,78 ^a	2,32
febrero	2,58 ^a	2,26	4,57 ^{ab}	3,42	2,69 ^a	2,01
marzo	4,90 ^{ab}	3,70	7,00 ^{ab}	5,13	7,30 ^{ab}	4,80
abril	10,32 ^{abc}	7,89	21,18 ^c	11,13	14,91 ^c	7,96
mayo	13,51 ^c	8,81	23,46 ^c	10,94	29,99 ^d	14,86
junio	29,03 ^d	18,51	64,72 ^e	32,46	81,69 ^B	40,25
julio	92,85 ^B	41,65	63,16 ^e	31,65	67,98 ^f	31,04
agosto	64,08 ^f	30,38	60,10 ^e	34,56	52,32 ^e	24,41
septiem.	45,86 ^e	26,47	52,13 ^d	20,89	35,47 ^d	14,97
octubre	34,11 ^d	17,48	28,54 ^c	10,57	15,63 ^c	6,50
noviem.	11,17 ^{bc}	5,67	12,36 ^b	7,26	10,84 ^{bc}	6,38
diciem.	3,02 ^a	2,52	4,63 ^{ab}	2,85	5,13 ^{ab}	3,40
Total	24,67	32,26	27,60	29,17	26,39	31,17

Superíndices distintos indican diferencias significativas ($p < 0,05$) según prueba *post hoc* de Duncan

Rosa claro: 50-100 atenciones por picadura/10.000 AP; Marrón claro: 100-150 atenciones por picadura/10.000 AP; Marrón oscuro: 150-200 atenciones por picadura/10.000 AP; Rojo: >200 atenciones por picadura/10.000 AP.



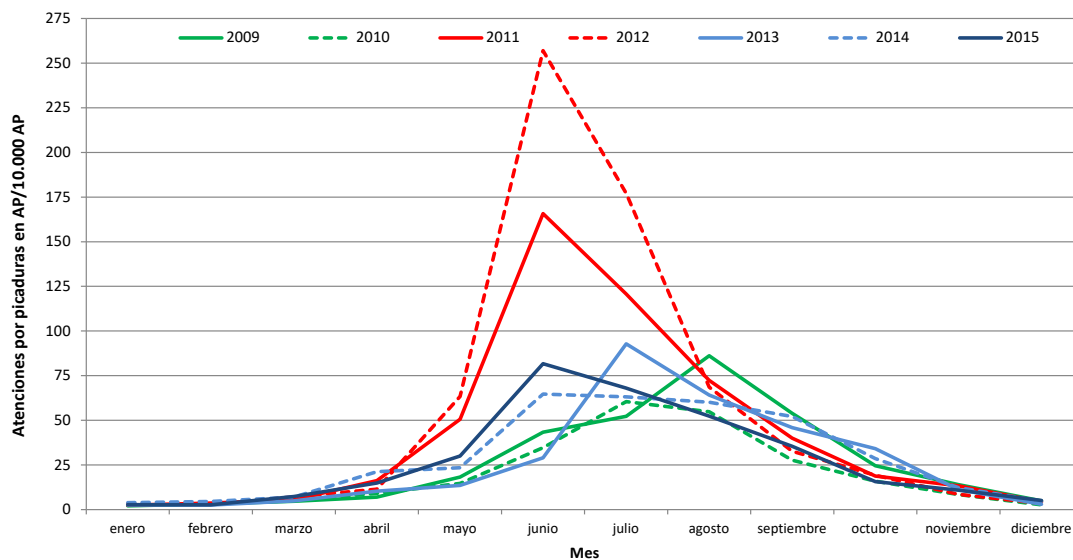
Figura 4.16. Evolución mensual de las atenciones por picadura en AP/10.000 AP en el área metropolitana de Zaragoza en el periodo 2009-2015



Se pueden observar los mismos resultados de una forma más gráfica en la Figura 4.16. Destacan especialmente los máximos de 2011 y 2012 sobre el resto de años. A pesar de que se ha realizado un ajuste por atenciones por cualquier motivo en AP, el máximo de atenciones por picadura se presenta lógicamente en la época estival, que es cuando el total de atenciones en AP sufre un notable descenso (Figura 4.15).

Con el fin de facilitar la comparación de patrones temporales de los distintos años, se ha elaborado la Figura 4.17, que muestra un incremento en el número de atenciones por picadura de insecto en el periodo 2011-2015 con respecto al periodo 2009-2010. Muy posiblemente, este incremento en el número de atenciones se deba al aumento poblacional de simúlidos en el área metropolitana de Zaragoza. Además, recordemos que los picos de atenciones por picadura de insecto correspondientes a mayo y junio de 2011 y 2012 coinciden con el periodo de mayor actividad de *S. erythrocephalum*, que ha sido la única especie de simúlido detectada picando a personas en la ciudad de Zaragoza (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2017a).

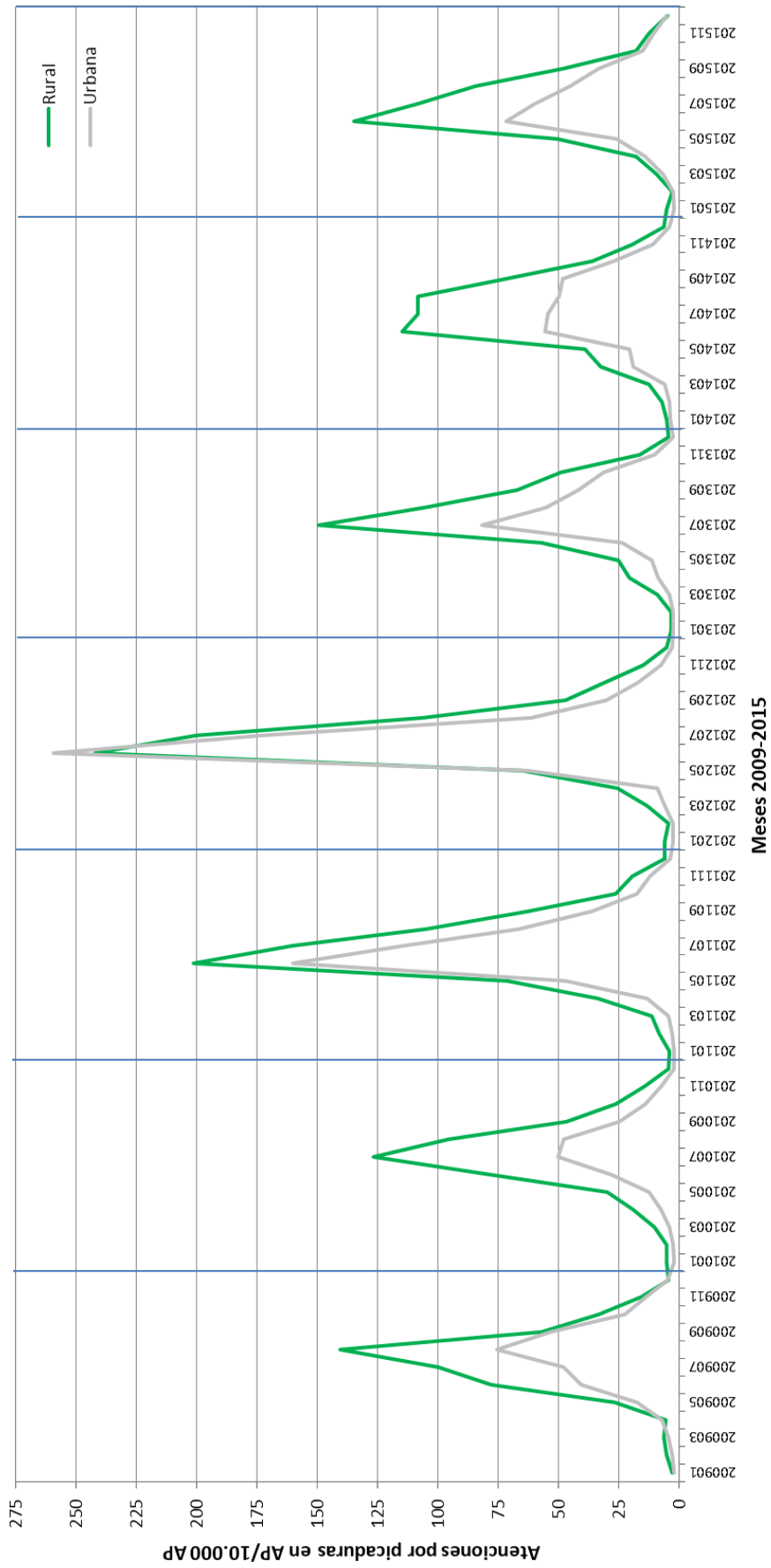
Figura 4.17. Comparación de la evolución mensual de las atenciones por picadura de insecto en AP en el área metropolitana de Zaragoza en el periodo 2009-2015



Otro aspecto importante a destacar es que la evolución mensual de atenciones por picadura fue diferente entre las zonas rural y urbana (Figura 4.18). En general se observa como durante todos los años de estudio, en la zona rural es superior el número de atenciones por picadura comparado con la zona urbana; a excepción del año 2012, donde ambas zonas mostraron un patrón similar. Este patrón se hace patente incluso en los años pre brote 2009 y 2010. Además, también se observa como las atenciones por picadura en zona rural siempre permanecieron por encima de la zona urbana durante toda la serie temporal, a excepción de dos momentos al comienzo de los brotes en mayo y junio de 2011 y 2012 donde la evolución de atenciones médicas por picadura sigue el mismo patrón en ambas zonas (Figura 4.18). Este hecho remarca la incidencia tan importante que tuvieron los simúlidos en zona urbana durante ambos años.



Figura 4.18. Evolución mensual de las atenciones por picadura en AP/10.000 AP en el área metropolitana de Zaragoza en el periodo 2009-2015 según la zona



Hay que tener en cuenta que las personas pueden haber sido picadas en cualquier parte de la ciudad, independientemente de la ZBS donde haya sido atendida. Aun así, las diferencias en el número de atenciones médicas por picadura entre ZBS en función de su distancia con respecto a los ríos Ebro, Gállego y Huerva, vuelve a reafirmar la hipótesis de que este incremento en el número de atenciones por picadura de insecto en el periodo 2010-2015 con respecto al 2009-2010 se deba al aumento poblacional de los simúlidos en los ríos presentes en el área metropolitana de Zaragoza.

Otra característica a destacar es la gran capacidad de vuelo de *S. erythrocephalum*, ya que se notificaron picaduras en ZBS distantes de los criaderos larvarios en los ríos; por ejemplo las ZBS de Torrero-La Paz, Valdespartera y Fernádo el Catolico presentaron una incidencia importante de atenciones sanitarias por picadura (Tabla 4.24) y se encuentran a cierta distancia del río Ebro. Ignjatović-Ćupina *et al.* (2006a) discutieron como la distribución espacial de los adultos fue irregular en las localizaciones distantes de los principales focos larvarios. Živković (1971) describió la gran capacidad de vuelo de *S. erythrocephalum*, cubriendo distancias de 20-30 Km desde sus lugares de cría en busca de sus hospedadores. Ignjatović-Ćupina *et al.* (2006a) demostraron cómo las hembras de esta especie podían invadir localidades distantes más de 5 Km respecto a sus criaderos en el río Danubio. En nuestro caso, se confirma también la gran capacidad de vuelo de esta especie al haber sido identificados individuos de *S. erythrocephalum* picando en zonas verdes del centro de Zaragoza, como por ejemplo el parque Labordeta o el Centro Deportivo Municipal Gran Vía (Ruiz-Arrondo, observación personal), distantes 3 Km en línea recta al punto más cercano del río Ebro. Esto demuestra que la capacidad de vuelo es mayor que esta cifra ya que los adultos tienen que desplazarse por las calles de Zaragoza en un vuelo irregular a través de las calles desde sus lugares de cría, ubicados principalmente aguas abajo de la ciudad de Zaragoza. En cualquier caso, se desconoce el patrón de vuelo exacto de esta especie desde sus lugares de cría en búsqueda de hospedadores sobre los que alimentarse y su distribución espacial dentro de la ciudad de Zaragoza.

De forma global se observan dos años bien diferenciados, 2011 y 2012, con una gran incidencia de atenciones por picadura de insecto con respecto al resto de años del estudio. Además se observan tres patrones temporales diferentes en el número de atenciones médicas por picadura de insecto en AP. Por un lado podemos englobar en el primer patrón los años 2009, 2010 y 2013 en el que el máximo de atenciones registradas se centran en los meses de julio para los años 2010 y 2013 y en agosto para 2009. Los años 2009 y 2010 son los años pre brote en los que todavía no se había detectado una presencia masiva de simúlidos en la ciudad de Zaragoza. Mientras que 2013 fue un año con poca incidencia de picaduras comparado con los años 2011 y 2012. El segundo patrón temporal es el que se desarrolla en los años 2011 y 2012, coincidiendo con la presencia masiva de simúlidos en la ciudad de Zaragoza. Durante estos dos años el máximo de picaduras es mucho mayor que el resto de años del estudio y se adelanta al mes de junio con respecto a los años pre brote. Y por último, encontramos el patrón acontecido en 2014 y 2015, que muestra una tendencia similar a los años del brote, pero con un número inferior de atenciones médicas.

Esta variación temporal en el número de atenciones médicas por picadura en AP en el área metropolitana de la ciudad de Zaragoza a lo largo de los años creemos que es debida principalmente a la fluctuación de la población de simúlidos presente en el río Ebro. La



proliferación masiva de simúlidos ha hecho que el patrón temporal de atenciones por picadura de insecto varíe en la ciudad de Zaragoza antes y después del brote.

Tabla 4.24. Atenciones mensuales por picadura de insecto en AP/10.000 AP según la ZBS en el área metropolitana de Zaragoza en el periodo 2009-2015

Sector	Zona	ZBS	N	Media	s	
Zaragoza I	Rural	Alfajarín	363.661	49,36 ^{no}	69,43	
		Villamayor	151.793	42,56 ^{klm}	48,98	
		Zuera	554.964	39,64 ^{ijkl}	46,38	
	Urbana	Actur Norte	588.804	38,81 ^{ijkl}	57,39	
		Actur Oeste	448.319	36,05 ^{ghijk}	55,20	
		Actur Sur	481.979	34,17 ^{ghi}	51,27	
		Arrabal	621.101	39,4 ^{ijkl}	61,96	
		Avenida Cataluña	1.102.308	35,08 ^{ghij}	59,13	
		Parque Goya	230.245	59,37 ^p	68,26	
		Santa Isabel	685.181	48,94 ^{no}	75,86	
		Zalfonada	844.702	38,34 ^{ijkl}	55,25	
	Rural	Fuentes de Ebro	378.452	65,82 ^q	91,16	
	Zaragoza II	Urbana	Almozara	741.068	30,32 ^{fg}	47,57
			Casablanca	315.204	18,56 ^{bcd}	33,02
Fernando el Católico			516.357	20,01 ^{cde}	35,27	
Hernán Cortes			720.508	16,04 ^{abcd}	23,34	
Independencia-Puerta del Carmen			484.790	12,09 ^a	23,30	
Las Fuentes norte			864.236	37,4 ^{hijk}	58,49	
Madre Vedruna-Miraflores			473.284	12,76 ^{ab}	22,72	
Rebolería			568.127	33,06 ^{ghi}	49,06	
Romareda-Seminario			387.764	20,35 ^{cde}	26,55	
Sagasta-Ruiseñores			967.274	15,54 ^{abc}	24,43	
San José Centro			568.774	17,49 ^{abcd}	34,65	
San José Norte			601.561	11,85 ^a	21,85	
San José Sur			867.940	13,53 ^{ab}	22,46	
San pablo			707.588	39,2 ^{ijkl}	46,20	
Torre Ramona			687.049	38,48 ^{ijkl}	69,68	
Torrero-La Paz			662.479	33,77 ^{ghi}	55,65	
Valdespartera	380.901	36,26 ^{ghijk}	48,68			
Puerto Venecia	443.506	20,59 ^{cde}	34,57			
Zaragoza III	Rural	Alagón	435.099	48,31 ^{mno}	50,12	
		Casetas	543.361	43,99 ^{lmn}	48,91	
		María de Huerva	421.793	41,16 ^{ijkl}	45,53	
		Utebo	489.122	50,52 ^o	61,43	
	Urbana	Bombarda	531.459	31,46 ^{gh}	43,17	
		Delicias Norte	787.590	21,53 ^{cde}	29,86	
		Delicias Sur	738.253	25,33 ^{ef}	34,03	
		Miralbueno-Garrapinillos	318.274	34,88 ^{ghij}	41,63	
		Oliver	504.969	33,23 ^{ghi}	41,89	
		Universitas	908.318	22,18 ^{de}	30,24	
		Valdefierro	270.151	49,79 ^{no}	55,34	

Superíndices distintos en una fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$) según prueba *post hoc* de Duncan



Durante el mes de mayo de 2011, el Instituto Municipal de Salud Pública de Zaragoza (IMSPZ) registró un inusual incremento de quejas por la picadura de un insecto por parte de la ciudadanía zaragozana. A su vez el Departamento de Salud Pública del Gobierno de Aragón detectó un incremento en el número de atenciones por picadura de insecto en AP (Gobierno de Aragón, 2011). Ante estos acontecimientos, la Universidad de Zaragoza realizó un estudio junto con el IMSPZ para identificar el insecto responsable. En el mismo se identificó una gran presencia de larvas y pupas de las especies *S. sergenti*, *S. equinum* y *S. erythrocephalum* en los ríos Ebro y Gállego en el término municipal de Zaragoza. Además se capturaron hembras de simúlidos picando a personas en diversas zonas verdes de Zaragoza (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2012b). Se constató además, cómo los estadios inmaduros de las especies identificadas utilizaban los macrófitos, principalmente la especie *P. pectinatus*, la más abundante en este tramo del Ebro (URS, 2012), a modo de sustratos para desarrollar su ciclo biológico. Ese mismo año se detectó por primera vez una gran presencia de macrófitos en el río Ebro a su paso por Zaragoza (URS, 2012). Se concluyó que el aumento poblacional de simúlidos estaba estrechamente relacionado con la presencia tan abundante de macrófitos (Ruiz-Arrondo *et al.*, 2012a). Durante el 2012, se volvieron a repetir los acontecimientos del 2011, detectando una gran presencia de algas y de simúlidos, desafortunadamente no se realizó un estudio detallado sobre la presencia de simúlidos en los ríos Ebro y Gállego.

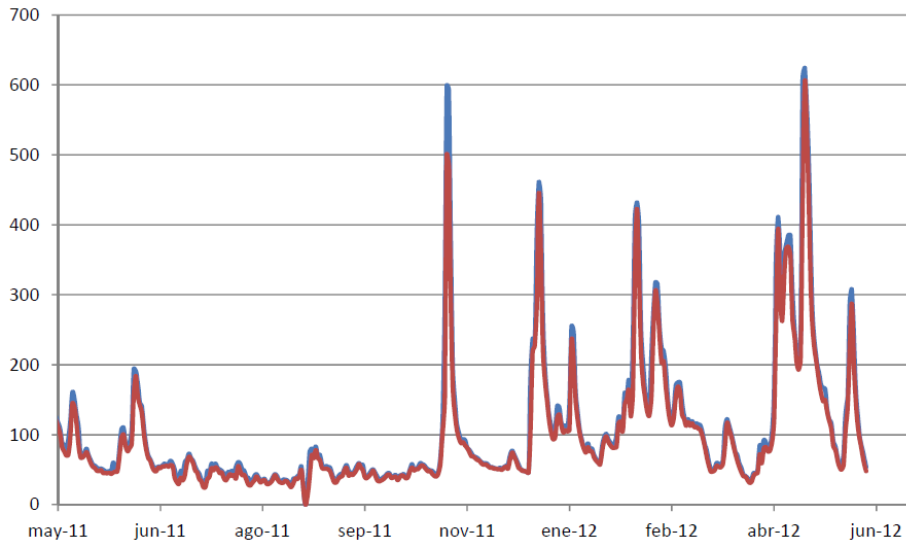
A partir del año 2013 hasta el 2015, la incidencia de picaduras fue mucho menor porque la situación en el río Ebro cambió. No se detectó tanta presencia de macrófitos y por consiguiente la población de mosca negra fue inferior a la de años precedentes (Ruiz-Arrondo, observación personal). Una posible explicación a este hecho la encontramos en el caudal del río Ebro a su paso por Zaragoza. La hipótesis es que caudales elevados prolongados del río Ebro afectan negativamente los lugares de cría de los simúlidos. Cuando el caudal del río es muy elevado durante el invierno y el comienzo de la primavera, las atenciones por picadura de insecto en AP se reducen. Ignjatović-Ćupina *et al.* (2006a) también mencionan como la fluctuación del río Danubio influye de manera importante en la densidad de población de *S. erythrocephalum*. De manera similar Marqués (2012) expone que los caudales por debajo del caudal ecológico en el río Ter favorecen la presencia de formas preimaginales de simúlidos.

La población de adultos de *S. erythrocephalum* durante el periodo 2013-2015 fue menor que durante el brote de simúlidos de 2011-2012 (Ruiz-Arrondo, observación personal). Durante esos tres años el río Ebro mantuvo un caudal elevado durante el invierno y el comienzo de la primavera, además se registraron importantes avenidas del río durante el comienzo de la primavera que modificaron los lugares de cría de los simúlidos. Por una parte el mantenimiento tan elevado del caudal del río durante el invierno y la primavera podrían afectar negativamente al desarrollo de los macrófitos y también a las larvas de los simúlidos invernantes. Y por otro lado, las grandes crecidas primaverales del río Ebro arrastran los macrófitos del lecho del río impidiendo que éstos sirvan de sustrato para que las larvas se fijen y se desarrollen. Cuando la corriente del río elimina los macrófitos, también arrastra las larvas y pupas de simúlidos que están adheridas a ellos. Finalmente, el mantenimiento elevado del nivel del río dificulta la ovoposición y la fijación de las larvas al macrófito *P. pectinatus* (en fase de crecimiento durante mayo y junio, sin alcanzar su máxima longitud (Duran *et al.*, 2010)) situado a varios metros de profundidad.



Durante el año 2013, el mantenimiento de caudales elevados hasta mediados de junio posiblemente explicaría que el máximo de picaduras de insecto en AP se retrasara hasta julio. Durante la primavera del 2012, se produjeron aumentos del caudal significativos pero puntuales, especialmente la crecida de principios de mayo (Figura 4.19). Aun así en 2012 se registraron mayor número de atenciones por picadura de insecto durante el periodo de estudio y la población de simúlidos fue muy alta (Ruiz-Arrondo, observación personal).

Figura 4.19. Caudales medio y máximo diarios del río Ebro a su paso por Zaragoza, del 1 de septiembre de 2011 al 31 de mayo de 2012



Caudales medios (rojo) y máximos (azul) diarios en m³/s. Datos de la estación A011 (río Ebro en Zaragoza, SAIH Ebro) (URS, 2012)

Durante el año 2016, que no está incluido en el estudio, se observó un caudal elevado del río Ebro a su paso por Zaragoza semejante al acontecido durante el periodo 2013-2015; y las atenciones por picadura de insecto en AP mostraron una incidencia similar a ese periodo (Gobierno de Aragón, 2016). Sin embargo el año 2017, el estiaje del río Ebro y la ausencia de avenidas favoreció la proliferación de los macrófitos y la creación de lugares de cría adecuados para las formas preimaginales de *S. erythrocephalum* generando de nuevo un gran brote de simúlidos en la ciudad de Zaragoza con el consiguiente aumento de la incidencia de consultas por picadura de insecto en AP (Gobierno de Aragón, 2017a). Todas estas observaciones refuerzan la necesidad de realizar un estudio para conocer con precisión cómo la hidrología del río Ebro afecta la dinámica población de macrófitos y simúlidos en el entorno de Zaragoza.

En resumen, el estiaje del río Ebro durante el invierno y la primavera y la ausencia de avenidas importantes favorecen el desarrollo de los macrófitos que a su vez son utilizados por *S. erythrocephalum* para criar masivamente y desencadenar brotes de simúlidos de esta especie en la ciudad de Zaragoza. Todo lo contrario ha sido descrito en Serbia, donde un elevado caudal del Danubio durante la primavera favorece la aparición de brotes de simúlidos durante la primavera y el verano (Zivkovic y Burány 1972; Ignjatović-Ćupina *et al.*, 2006a). Este hecho se debe a que los árboles situados en las orillas del cauce contactan con el agua debido al elevado caudal del río; y las ramas y hojas sirven entonces de sustratos para los estadios preimaginales de las diferentes especies plaga (Ignjatović-Ćupina *et al.*, 2006a). Sin embargo, cuando el nivel del río es reducido, los estadios inmaduros de los simúlidos son identificados únicamente en



pequeños riachuelos, afluentes del Danubio en unas condiciones hidrológicas muy diferentes a las del cauce principal (Aleksandra Ignjatović-Ćupina, comunicación personal).

Los macrófitos sumergidos son plantas fanerógamas que viven enraizadas o no en el cauce del río y mantienen toda su estructura bajo el agua, siendo capaces de crecer hasta ocupar grandes extensiones del lecho del río (Duran *et al.*, 2010). En el tramo catalán del río Ebro, río abajo desde la presa de Riba-roja, llevan conviviendo con la problemática de los macrófitos desde hace más de 20 años. En este periodo de tiempo la cobertura de macrófitos ha ido evolucionando de tal forma que hay tramos donde su desarrollo es masivo y conlleva asociado una serie de inconvenientes. El más importante es que modifican el comportamiento hidráulico del río, con lo que se incrementa el riesgo de inundaciones. Además del coste económico que supone para los usuarios del río (tomas de agua, navegación), hay que considerar los problemas sanitarios derivados por la mosca negra ya comentados y las incertidumbres respecto a su impacto en el estado ecológico de la masa de agua en cuestión (Duran *et al.*, 2010). En Cataluña los problemas por simúlidos también se han asociado con la proliferación masiva de macrófitos en los cauces de los ríos Ebro, Segre y Ter (Rovira *et al.*, 2007; Escosa, 2007; Marqués, 2012). A pesar de que los macrófitos están presentes de manera importante en el cauce catalán del río Ebro, hasta el año 2005 no aconteció el primer brote por *S. erythrocephalum* en la región (Valle Trujillo y Escosa, 2009). Desde entonces se realiza un control de simúlidos en el tramo afectado (Rovira *et al.*, 2007).

Los resultados de las consultas por picaduras muestran que el periodo con mayor riesgo de sufrir una picadura de *S. erythrocephalum* en Zaragoza es desde mediados de mayo a finales de agosto. Según lo discutido en el Capítulo 2, el estudio sobre el patrón de picadura de *S. erythrocephalum* se llevó a cabo durante los meses de mayo y junio del año 2015. El estudio no se pudo realizar a principios de primavera (marzo y abril) porque no se capturó sobre cebo humano ningún individuo de esta especie. Tampoco se pudo repetir en septiembre por la escasa presencia de hembras de *S. erythrocephalum* en el entorno de Zaragoza (1-2 hembras al atardecer cada día durante el mes de septiembre). Tanto los resultados de las atenciones por picadura de insecto como el estudio del patrón de picadura de *S. erythrocephalum* coinciden en señalar que el mayor riesgo de sufrir una picadura por simúlido en Zaragoza es a principios de junio y que a partir de ese periodo el riesgo va disminuyendo progresivamente.

Varios estudios europeos señalan también este mismo patrón. Ignjatović-Ćupina *et al.* (2006a) capturaron hembras de esta especie en trampas CDC cebadas con CO₂ desde principios de abril a mediados de julio y posteriormente algún ejemplar a finales de septiembre de 2006 en la región de Novi Sad (Serbia). Además, las atenciones por picaduras de simúlido durante ese mismo brote también fueron registradas durante ese periodo de tiempo (Ignjatović-Ćupina, 2006a). Bardin (2001) señala que en el sur de Francia las molestias debido a *S. erythrocephalum* comienzan en mayo disminuyendo durante junio y julio pero continúan hasta octubre. Otros autores han señalado previamente la disminución poblacional de esta especie durante los meses de julio, agosto y septiembre (Rühm, 1969; Post, 1983; Ignjatović-Ćupina, 2006a; Werner, 2007; Bernotiene y Bartkeviciene, 2012).

4.4.2.4. Análisis de picaduras atendidas en AP acumuladas semanalmente

A continuación se analizó el número de consultas por picadura atendidas en AP cada semana durante el periodo 2009-2015. En primer lugar se calcularon los porcentajes de picaduras



atendidos cada día de la semana (% picaduras registrados el lunes, el martes, etc.), ponderando por la suma de las atenciones por picadura atendidas semanalmente.

Inicialmente se realizaron varios GLM multivariantes para conocer la influencia del día de la semana con respecto al año, sector y zona rural/urbana, y se detectó que el único factor relacionado con la distribución de las atenciones de picadura por día de semana era la zona rural/urbana (Tabla 4.25), no encontrando asociación significativa ni con el año ni con el sector.

Tabla 4.25. Distribución de las atenciones por picadura a lo largo de la semana

Día de la semana	Rural (N=16.553)		Urbana (N=64.296)	
	Media (%)	s	Media (%)	s
lunes	18,00 ^b	10,76	23,17 ^b	8,56
martes	16,31 ^f	9,98	18,48 ^f	6,79
miércoles	14,97 ^e	9,76	16,43 ^e	6,64
jueves	14,67 ^c	10,09	15,65 ^c	6,60
viernes	14,86 ^d	9,97	15,73 ^d	6,98
sábado	10,26 ^a	8,05	7,53 ^b	4,74
domingo	10,93 ^b	8,25	2,98 ^a	2,71
p	<0,001 ^F		<0,001 ^F	

F: Significación según la prueba de Friedman

Superíndices distintos indican diferencias significativas ($p < 0,05$) según prueba *post hoc* de Duncan

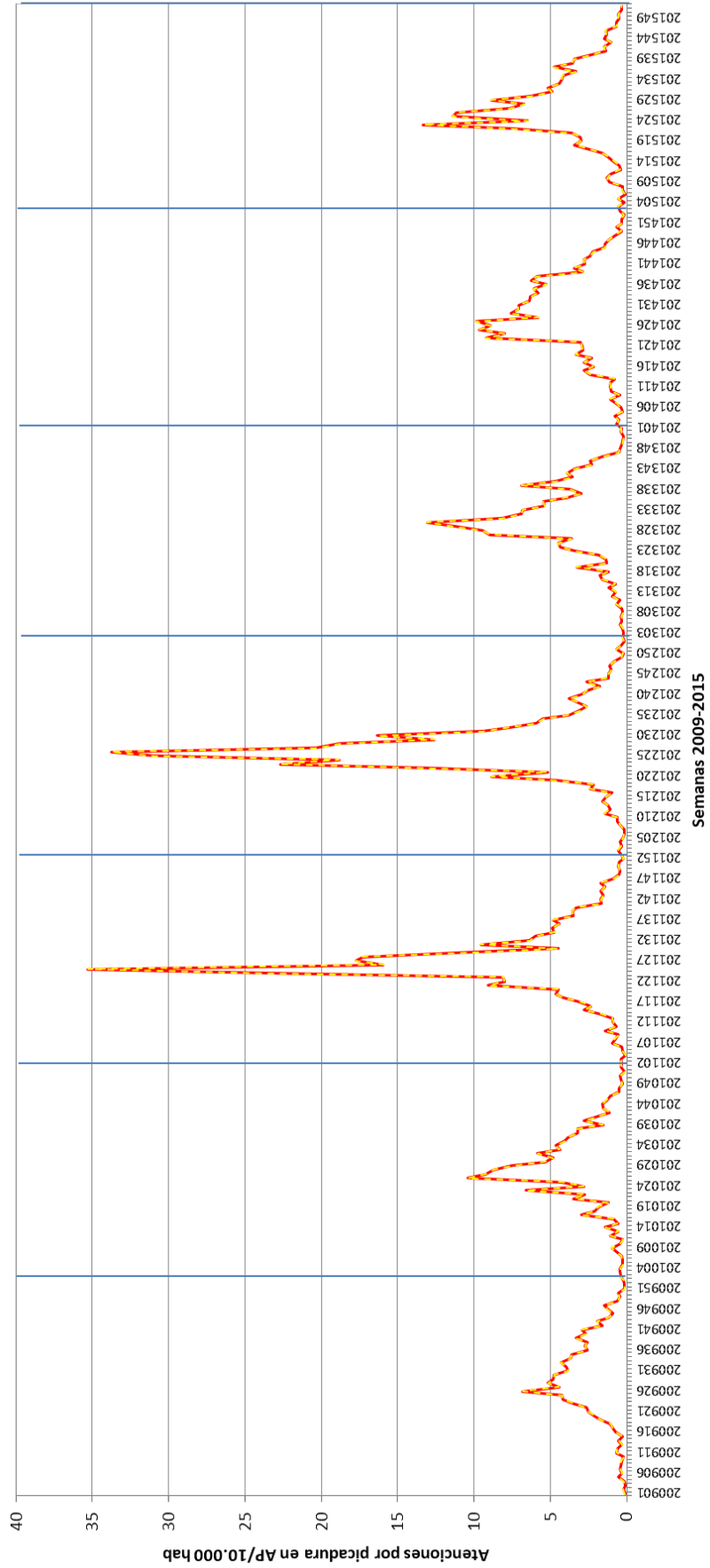
Se observa como el lunes es el día de la semana que registra mayor número de atenciones por picadura. En ambas zonas, a partir del lunes se observa una disminución progresiva en el número de atenciones a lo largo de la semana, con un pequeño repunte el viernes. El fin de semana registra el menor número de atenciones por picadura especialmente en zona urbana. Este hecho podría explicarse porque los habitantes de las zonas rurales preferirían acudir a las urgencias de sus respectivos centros de salud antes que desplazarse al hospital de referencia en Zaragoza capital. Mientras que los habitantes de zona urbana optarían por ir directamente al hospital antes que a las urgencias de los centros de salud, quizás por desconocimiento de la existencia de este último servicio. Lamentablemente no se dispone de las atenciones por picadura de insecto en urgencias hospitalarias desagregadas por día, por lo que no se puede contrastar con los datos diarios de atenciones en AP.

Agregando semanalmente los datos, se analizó mediante un GLM la evolución temporal de las atenciones por picaduras por cada 10.000 hab considerando como factores el año, sector, zona y semana. En este caso no se pudo ajustar el número de atenciones por cualquier motivo en AP, al no tener este dato desagregado semanalmente y se ponderó por el total de la población. Todos los factores resultaron significativos ($p < 0,001$) con una R^2 corregida=0,855 ($p < 0,001$).

En las Figuras 4.20 a 4.26 se muestra la evolución semanal de las atenciones por picadura en el área metropolitana de Zaragoza en el periodo 2009-2015. En la Figura 4.20 se muestra la evolución semanal completa. En esta presentación de resultados es complicado comparar las variaciones en los distintos años del estudio. Al igual que hicimos en el apartado anterior, hemos solapado las curvas de cada uno de los años (Figura 4.21). En las Figuras 4.22, 4.23, 4.24 y 4.25 los datos semanales están agrupados en función de las fases del brote de simúlidos: fase pre brote: años 2009 y 2010; fase brote: años 2011 y 2012 y fase post brote: años 2013-2015.



Figura 4.20. Evolución semanal de las atenciones por picadura en AP/10.000 hab en el área metropolitana de Zaragoza en el periodo 2009-2015



En la Figura 4.21 se observa la evolución semanal de las atenciones por picadura de insecto en AP/10.000 hab durante el periodo de estudio. En la misma se perciben ciertas tendencias que se repiten según los años. Durante los años 2009 y 2010 no se observó un patrón claro de atenciones por picadura de insecto, seguramente debido a que todavía no había casuística suficiente por picaduras de simúlidos que definieran un patrón del número de atenciones globales por picadura de insecto, como así ocurre en el resto de los años.

Los años 2011 y 2012 muestran un patrón similar en el número de atenciones médicas, con seis picos de atenciones bien definidos. Los cinco primeros picos están agrupados, comenzando el primero en la semana 19 para el año 2011 y finalizando el quinto en la semana 31 para el año 2011. El sexto pico está aislado apareciendo en torno a la semana 37. El año 2012 presenta un retraso semanal en los tres primeros picos con respecto al 2011. Sin embargo el cuarto pico de abundancia se produce en la misma semana (semana 28). De nuevo, en el quinto pico se observa una divergencia entre ambos años, adelantándose en esta ocasión, una semana el pico en el año 2012 con respecto al 2011. El sexto pico, el más débil también presenta una diferencia temporal en ambos años, siendo dos semanas más temprano durante el año 2011 (semana 37) respecto al 2012 (semana 39). También se observa como todos los picos del año 2012 poseen un valor más elevado que los acontecidos en el 2011, salvo el último que es mayor en 2011. Sobre todo destacan las diferencias entre picos de ambos años en el segundo y quinto picos. Los tres primeros picos poseen una distancia entre ambos de 3 semanas, mientras que entre el tercero y el cuarto y éste y el quinto son 2 semanas.

En los años siguientes 2013-2015, los picos no son tan destacados como durante la fase brote. Se observan también una serie de tendencias en los mismos. En el año 2013 se observa un pico muy débil en la semana 19 que podría corresponderse con el primer pico de la fase brote. Posteriormente se observa el segundo pico en la semana 24 que podría corresponderse con el segundo máximo del brote. Se observa un posible tercer pico en la semana 27 que no tiene descenso y se enlaza con el cuarto pico en la semana 30. Este cuarto pico, el de mayor magnitud para el año 2013, podría corresponder en el tiempo con el cuarto y quinto pico de la fase brote. Finalmente se observan dos picos en las semanas 39 y 43. Ambos son los de mayor magnitud para ese periodo concreto a lo largo de todos los años de estudio. De hecho el último pico no se ha considerado como tal en los años anteriores, aunque sí que se observa ligeramente para el año 2014.

En el año 2014 se observa varios picos muy débiles durante las semanas 15, 17 y 19. Este último podría corresponderse en el tiempo con el primer pico de la fase brote. El segundo pico ya más evidente se produce durante la semana 23 y se corresponde en el tiempo con el segundo pico de la fase brote. Posteriormente se observa un pico muy débil en la semana 25 que podría corresponder con el tercer pico del año 2011. Se observa un cuarto y quinto picos durante las semanas 27 y 29 que podrían corresponderse con el cuarto y quinto picos de la fase brote. Finalmente se observa otro pico en las semanas 37-38 que coincide en el tiempo con el año 2011.

El último año, 2015, presenta un patrón similar al año 2014. El primer pico se presenta muy débil en la semana 18 y posteriormente el segundo y tercero coinciden, ambos de igual magnitud, coinciden en el tiempo con el año 2012. En este caso, el último pico de esta serie, en



la semana 29 podría corresponderse con el cuarto y quinto pico de la fase brote al producirse entre los picos de ambos años. Finalmente, se observa un último pico evidente en la semana 37.

En resumen, de nuevo se observa una dominancia de las picaduras por simúlido en las atenciones por picadura de insecto en AP. Los resultados muestran un patrón similar en la evolución semanal del número de atenciones por picadura de insecto en los años brote y post brote. La evolución temporal de los picos cada año podría variar en función de la dinámica poblacional de los simúlidos, que a su vez viene determinada por las condiciones de los criaderos larvarios en los ríos. Nuestras observaciones (basadas en las atenciones por picadura) sobre la actividad de *S. erythrocephalum* desde la primavera al otoño coinciden con lo observado para otras regiones europeas (Rühm, 1970; Post, 1983; Ignjatović-Ćupina *et al.*, 2006a; Bernotiene y Bartkeviciene, 2012; Ignjatović-Ćupina, 2013).

Figura 4.21. Comparación de la evolución semanal de las atenciones por picadura en AP/10.000 hab en el área metropolitana de Zaragoza en el periodo 2009-2015

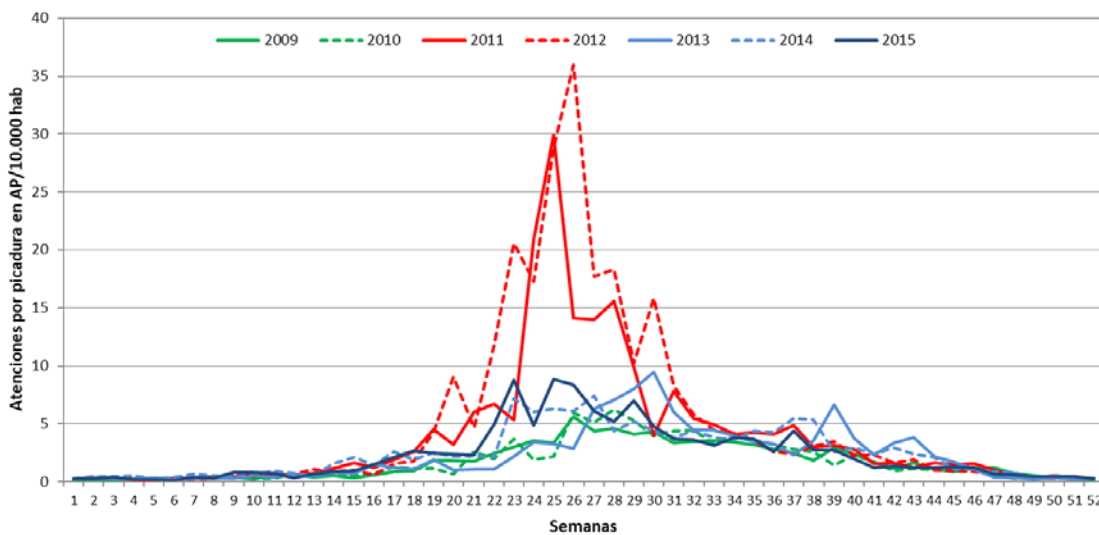
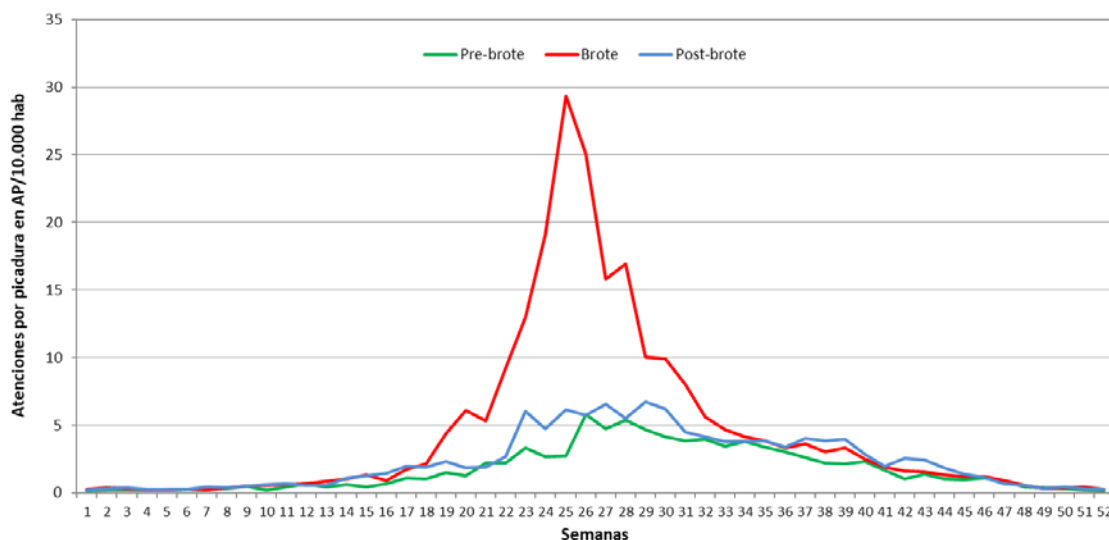


Figura 4.22. Comparación de la evolución semanal de las atenciones por picadura en AP/10.000 hab en el área metropolitana de Zaragoza en el periodo 2009-2015 agrupada por fases del brote de simúlidos



En la Figura 4.22 se observa con más claridad la diferencia en la evolución semanal de las atenciones según las fases del estudio. En este enfoque se observan sólo cuatro picos seguidos en la fase brote, porque el segundo y tercer pico que observábamos en la Figura 4.20 están fusionados. En esta figura, el último pico de la temporada no se observa con tanta claridad para la fase brote. En la fase post brote se observan cuatro picos seguidos de una magnitud similar que se corresponden en el tiempo con los picos 2, 3, 4 y 5 de la fase de brote. En la fase post brote se observa con más claridad un repunte de atenciones entre la semana 37 y 39 del año. El patrón mostrado por la fase pre brote muestra una evolución diferente a las otras dos fases.

Con el fin de poner de manifiesto el impacto de las poblaciones de simúlido en las atenciones por picadura de insecto en AP se realizaron dos ajustes. El primero consistió en calcular las diferencias en términos absolutos de las atenciones en las fases brote y post brote con respecto a la fase pre brote; para ello se restaron las atenciones de la fase pre brote de cada semana a las atenciones de las otras dos fases en la misma semana (Figura 4.23). Para el segundo ajuste se calculó la variación relativa de las atenciones en las fases brote y post brote con respecto a la primera fase; en este caso la diferencia calculada en el ajuste anterior se dividió por las atenciones de la fase pre brote en la misma semana (Figura 4.24 y 4.25).

En la Figura 4.23 se observan mismos patrones comentados en las Figuras 4.21 y 4.22 y además se destaca con mayor claridad el pico en torno a la semana 38 y se aprecia un nuevo pico no discutido anteriormente sobre la semana 42.

En la Figura 4.24 se manifiestan nuevos patrones temporales tanto en la fase brote como post brote que en las anteriores representaciones gráficas no se apreciaban. Estos patrones ocurren al principio y final del año sugiriendo que existe una actividad por parte de los simúlidos durante estos periodos, fuera de la época habitual de su actividad (primavera y verano). Esta sucesión de picos tiene un intervalo mayor que el observado en la época habitual (3 semanas en Figura 4.16) sugiriendo que se necesita más tiempo para cerrar un ciclo biológico (desarrollo de huevo hasta adulto) ya que la temperatura del agua del río es menor, entre otros posibles factores. Los estadios preimaginales de *S. erythrocephalum* se siguen desarrollando durante el invierno y en condiciones favorables una pequeña población de adultos puede seguir emergiendo durante los meses de invierno, coincidiendo con lo observado por Post (1983) para *S. erythrocephalum* en Inglaterra. La hipótesis es que este hecho justificaría que los simúlidos fueran los responsables de estos leves repuntes de atenciones por picadura de insecto fuera de la época habitual.

En la Figura 4.25 se desglosa el ajuste relativo para cada uno de los dos años del brote. En la misma se vuelve a observar una evolución cíclica compleja similar para ambos años, con ciertas variaciones en el tiempo según el año. Todos estos resultados confirman la necesidad de realizar un estudio que abarque la dinámica poblacional anual de los simúlidos en la ciudad de Zaragoza, recogiendo datos entomológicos semanales sobre la abundancia de especies y las correspondientes variables climáticas e hidrológicas.

En la Figura 4.26 se vuelve a constatar las diferencias entre las atenciones por picadura de insecto en AP registradas entre las zonas rural y urbana del área metropolitana de Zaragoza que ya observábamos en la Figura 4.18.



Figura 4.23. Comparación de la evolución semanal de las atenciones por picadura en AP/10.000 hab en el área metropolitana de Zaragoza en el periodo 2011-2015 ajustada de forma absoluta según los datos de la fase pre brote

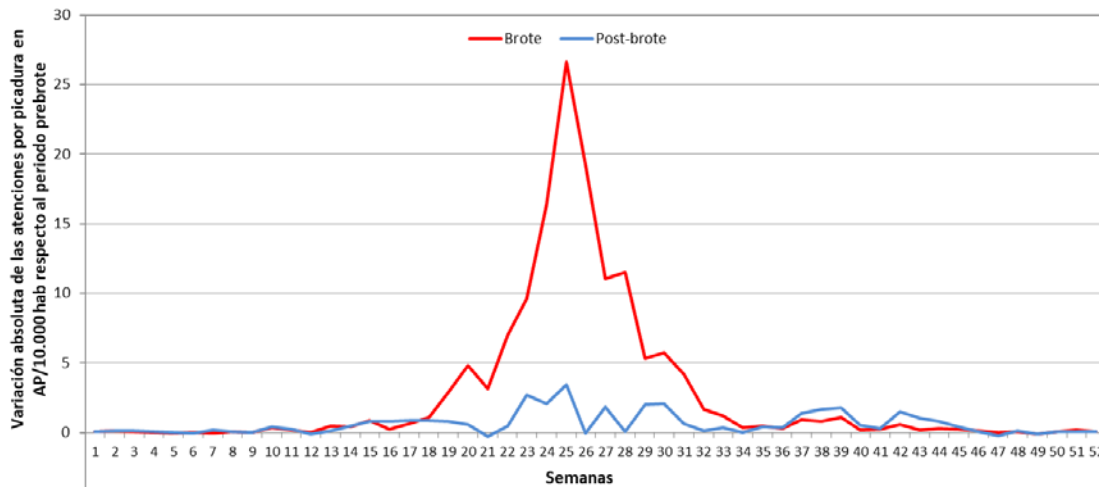


Figura 4.24. Comparación de la evolución semanal de las atenciones por picadura en AP/10.000 hab en el área metropolitana de Zaragoza en el periodo 2011-2015 ajustada de forma relativa según los datos de la fase pre brote

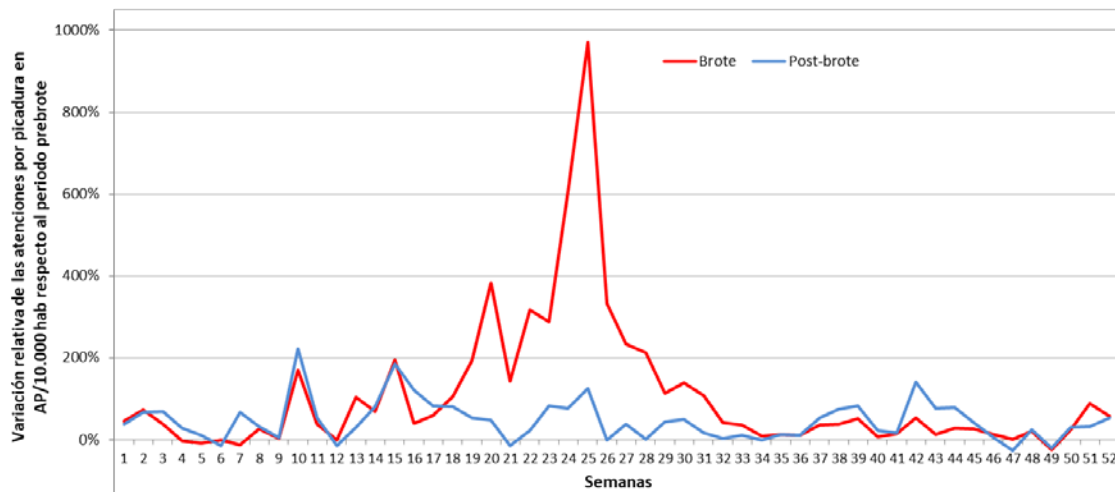


Figura 4.25. Comparación de la evolución semanal de las atenciones por picadura en AP/10.000 hab en el área metropolitana de Zaragoza en el periodo 2011-2012 ajustada de forma relativa según los datos de la fase pre brote

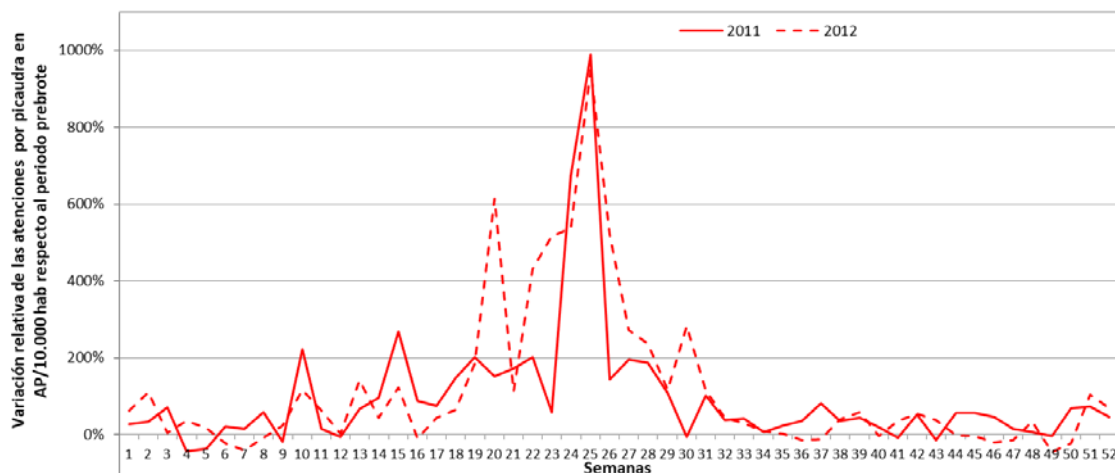
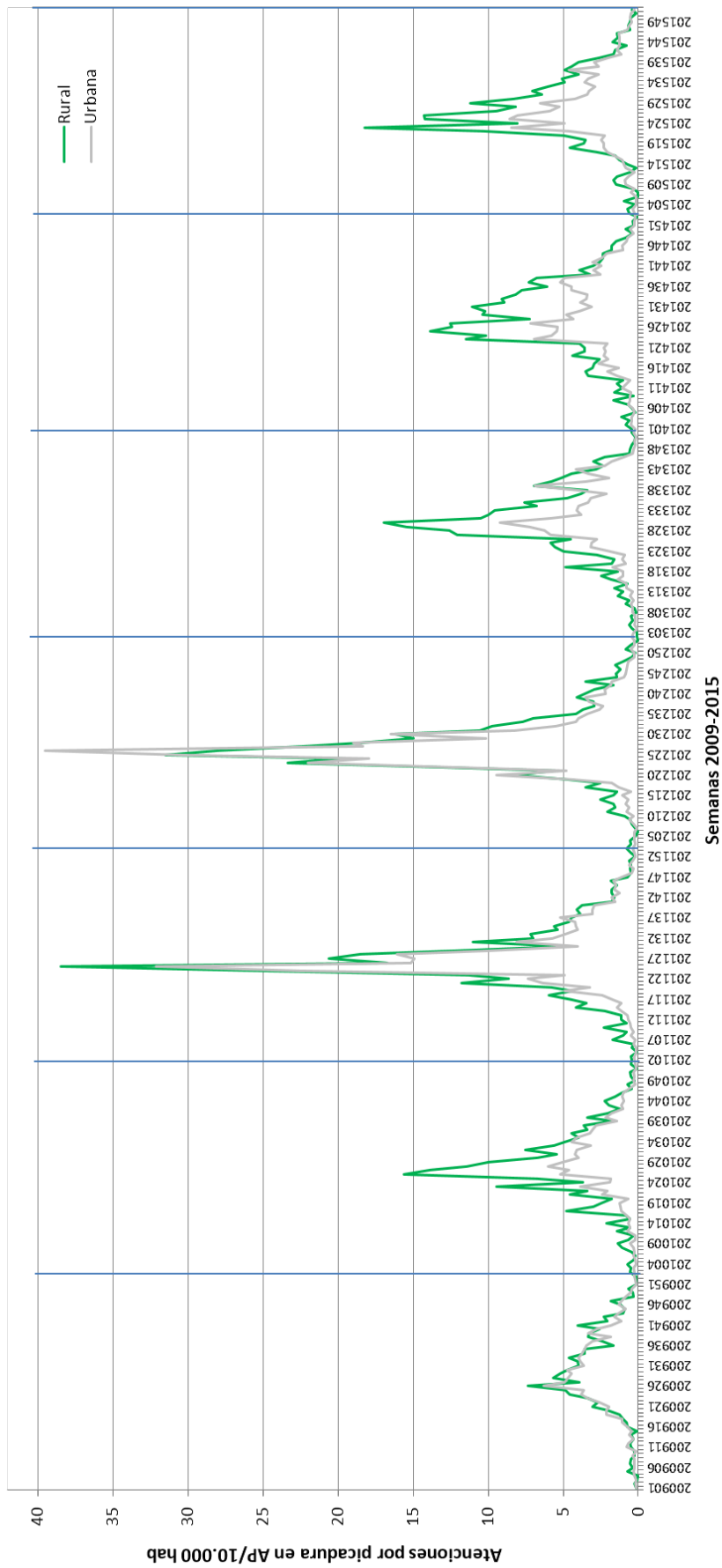


Figura 4-26. Evolución semanal de la evolución semanal de las atenciones por picadura en AP/10.000 hab en el área metropolitana de Zaragoza en el período 2009-2015 según la zona



Una de las principales características para alcanzar el estatus de plaga es la capacidad para producir más de un ciclo por año (especie multivoltina) (Crosskey, 1990). En nuestro caso, *S. erythrocephalum* es una especie multivoltina que desarrolla normalmente cinco generaciones anuales en Alemania, Eslovaquia, Reino Unido y Lituania (Rühm, 1970; Jedlička y Halgoš, 1982; Post, 1983; Bernotiene y Bartkeviciene, 2012), mientras que Hansdsford (1978) señala tan solo tres generaciones en el sur de Inglaterra. La variación geográfica en el número de generaciones anual es bastante común en insectos de agua dulce, incluidos los simúlidos (Hynes, 1970) y generalmente se atribuye a las diferentes condiciones ambientales (Post, 1983). Según nuestros resultados *S. erythrocephalum* sería capaz de desarrollar al menos cinco generaciones en Zaragoza, que corresponderían con los cinco picos de atenciones por picadura de insecto observados entre la semana 19 (principios de mayo) y la semana 31 (finales de julio) (Figuras 4.23 y 4.24). Sin embargo, es posible que esta especie desarrolle hasta cuatro generaciones más en nuestra latitud (dos con anterioridad y dos con posterioridad a la época habitual), que corresponderían con los otros picos de atenciones menos evidentes observados en la semana 10 (principios de marzo), semana 15 (mediados de abril), semana 38 (mediados de septiembre) y semana 42 (mediados de octubre) (Figura 4.24). Otros estudios europeos acerca de la fenología de *S. erythrocephalum* muestran también una actividad durante estos meses fuera de la época estival, cuando se registra la mayor abundancia de la especie. Ignjatović-Ćupina *et al.* (2006a) señalan tres generaciones para esta especie de mosca negra durante la primavera en Serbia; la primera a comienzos de abril, la segunda a finales de mayo y la tercera a mediados de junio. Post (1983) encontró la primera pupa del año a finales del mes de febrero y Bernotiene y Bartkeviciene (2012) en marzo-abril. La segunda generación en Lituania se produce en los meses de mayo y junio (Bernotiene y Bartkeviciene, 2012). Post (1983) detalla en su estudio del río Tiffey en Norfolk (Reino Unido) la cadencia de emergencia de las cinco generaciones de *S. erythrocephalum* descritas: 1ª generación en abril, 2ª en la primera mitad de junio, 3ª al principio de julio, 4ª al principio de agosto y la 5ª la primera mitad de septiembre. Rühm (1970) a su vez señala una periodicidad para las cinco generaciones de *S. erythrocephalum* en Hannover (Alemania) similar a la descrita por Post (1983). En cualquier caso estos estudios están basados en datos entomológicos, midiendo las poblaciones de los diferentes estadios a lo largo del año. En nuestro caso, no podemos confirmar nuestras hipótesis hasta que se realice un estudio de la dinámica poblacional de *S. erythrocephalum* a lo largo de varios años.

La capacidad de *S. erythrocephalum* para hibernar en estado de larva le confiere ventaja sobre las especies que lo hacen en estado de huevo (Post, 1983; Ignjatović-Ćupina, 2013). Ignjatović-Ćupina *et al.* (2006a) señalan la importancia de la alta supervivencia de la generación invernal de *S. erythrocephalum*, junto con unas óptimas condiciones ambientales, para desarrollar un posterior brote durante la primavera. Entre las variables ambientales, la temperatura es la más determinante en la dinámica poblacional de los simúlidos. En España no hay estudios sobre cómo afecta la temperatura al desarrollo del ciclo vital de *S. erythrocephalum*. La duración del estadio de huevo es similar en varios estudios realizados en Alemania e Inglaterra. Rühm (1969) identificó una media de 8 días a 15°C para el periodo de incubación y Wenk (1967) señaló 9,7 días a 12,5°C. Mientras que Post (1982) observó 6,32 días de incubación a 20°C y 8,28 días a 15°C. En términos de temperatura acumulada, los valores oscilarían entre 120 y 124,2°C-día.



En cuanto al desarrollo larvario Bernotiene y Bartkeviciene (2012) observaron que éste se producía en un rango de 10,6-20,4°C. Post (1982) señaló un periodo de 4,79 días a 20°C y 5,46 días a 17°C en el desarrollo de las pupas en laboratorio. Esto equivaldría a 95,8 y 92,8°C-día respectivamente.

Post (1983) observó el desarrollo de la primera pupa entre 2,8 y 5,6°C a finales de febrero y Bernotiene y Bartkeviciene (2012) entre 2,5 y 10,0°C. Mientras que Rühm (1970) señala que la pupación se produce entre los 5 y los 13°C. Con todo lo comentado es evidente que la duración del desarrollo en los diferentes estados preimaginales de *S. erythrocephalum* es dependiente de la temperatura y que ésta podría variar según la región. En lo que coinciden todos los autores es que el incremento de la temperatura del agua acorta el ciclo de vida (Post, 1982; Bernotiene y Bartkeviciene, 2012). Por otra parte, Ignjatović-Ćupina *et al.* (2006a) explicaron que, durante el brote de esa especie en 2006 en Serbia, la temperatura no difirió significativamente respecto a los años previos con ausencia de brotes. Este hecho viene a remarcar que la temperatura no es el único factor que desencadena la multiplicación masiva de individuos de *S. erythrocephalum* sino que es un conjunto de variables ambientales, hidrológicas e intrínsecas de la propia especie como la duración del fotoperiodo, la calidad del agua, la cantidad de materia orgánica en suspensión, la abundancia de sustratos, la duración del CG, la abundancia de hospedadores y la capacidad de vuelo, entre otros.

Según nuestros resultados (tiempo entre los picos de picaduras), el tiempo necesario para que esta especie cierre un ciclo serían 3 semanas en mayo y principios de junio y posteriormente reducirse a las 2 semanas a finales de junio y julio. Mientras que en marzo y abril el ciclo podría alargarse hasta las 5 semanas. Esta hipótesis se asemeja a lo que explica Post (1983) que señala 25-30 días para que *S. erythrocephalum* complete un ciclo desde junio a agosto, incrementándose a los 30-40 días durante septiembre. Las condiciones ambientales de España son más benignas que las descritas para el centro y norte de Europa por lo que la duración del ciclo biológico de *S. erythrocephalum* en Zaragoza podría ser menor e incluso desarrollar mayor número de ciclos vitales.

4.3.3. Limitaciones

Sin duda la principal limitación de este estudio es la dificultad por parte de los médicos para determinar el insecto responsable de la atención médica. No todos los pacientes que acudieron a consulta habían sufrido picaduras por *Simulium* sp. Las picaduras también podrían atribuirse a otros artrópodos, aunque es cierto que cuando se determinó el responsable de la picadura y se trataba de otro insecto diferente a mosca negra, el registro fue eliminado de la base de datos. Algunos ejemplos fueron picaduras por abeja y avispa, y también por garrapata (a pesar de que no es un insecto, se incluye en el sistema OMI-AP como picadura de insecto). En teoría hay ciertos aspectos que permiten la identificación de la picadura por mosca negra, ya que suelen dejar un punto central sangrante en el centro de la picadura, sus piezas bucales no son capaces de atravesar la ropa, su actividad es diurna y no entran en las casas para picar (exófilos). Sin embargo, en la práctica médica influyen muchos factores, como la variabilidad de las reacciones individuales, el tiempo transcurrido entre picadura y consulta, el conocimiento sobre estas especies por parte de los pacientes y los profesionales sanitarios, así como otros aspectos que dificultan la identificación del insecto agresor (Giménez *et al.*, 2007).



La segunda limitación del estudio es que no todas las picaduras/mordeduras de insectos requieren asistencia sanitaria, y de las que lo hacen, no todas son atendidas en el sistema público de AP. Este estudio no debe considerarse como un análisis exhaustivo de las picaduras de insectos en una región, sino como la evaluación del sistema OMI-AP como una buena herramienta para evaluar el impacto de estas dolencias respecto a años anteriores, y para delimitar el periodo de mayor riesgo de picadura por insectos. Además es posible que se pueda producir una habituación de la población a la picadura de los simúlidos; sería el caso de las personas que por primera vez sufrieron una reacción alérgica por picadura de simúlido y acudieron a un centro sanitario para ser tratadas, y con posterioridad, ante otras picaduras de mosca negra o bien no reaccionaron de manera tan desmesurada o bien fueron directamente a la farmacia para adquirir el tratamiento prescrito en ocasiones anteriores.

Por último indicar que la historia clínica electrónica de AP terminó de implantarse en los centros de AP de Aragón a finales del año 2010, por lo que el número de consultas de picaduras de insectos atendidas en los años 2009 y 2010 podría haber sido superior al registrado.



5

Conclusiones

En las condiciones de nuestro estudio y en base a los resultados obtenidos, se han podido establecer las siguientes conclusiones:

PRIMERA: Se constata que la única especie de simúlido con comportamiento antropófilo en la ciudad de Zaragoza ha sido *Simulium erythrocephalum*, al ser identificado por primera vez mediante la técnica de captura sobre cebo humano (*human landing collection*).

SEGUNDA: El *landing* de las hembras de *Simulium erythrocephalum* sobre el ser humano está influenciado en gran medida por la temperatura del aire y por la radiación solar; de manera que en la ciudad de Zaragoza el mayor riesgo de picadura se produce durante el atardecer, y en menor medida al amanecer.

TERCERA: El ciclo gonotrófico corto y la elevada supervivencia de *Simulium erythrocephalum* son factores clave para el exitoso desarrollo de esta especie en España con el consiguiente impacto sobre la salud pública.

CUARTA: El ser humano ejerce de marcador óptico para la formación de enjambres de cópula de *Simulium erythrocephalum*, cuya creación está supeditada a la presencia de hembras en actividad de búsqueda de hospedadores al atardecer.

QUINTA: La electroantenografía ha permitido identificar varios compuestos volátiles presentes en el sudor humano que intervienen en el mecanismo de localización de hospedadores por parte de *Simulium erythrocephalum*.

SEXTA: El incremento de atenciones por picaduras de insecto en Atención Primaria y en los Servicios de Urgencias Hospitalarias en la ciudad de Zaragoza a partir del año 2011 es debido a las picaduras de simúlidos, especialmente *Simulium erythrocephalum*.

SÉPTIMA: El análisis sistemático de los registros del sistema OMI-AP ha demostrado que puede ser una herramienta de gran utilidad para evaluar la dinámica poblacional de los simúlidos y detectar precozmente el inicio de un problema de salud pública a nivel regional.



Conclusions

Based on the research conducted and the findings presented in this Doctoral Thesis, we have been able to establish the following major conclusions:

FIRST: *Simulium erythrocephalum* is confirmed as the only species of *Simulium* with anthropophilic behavior in the city of Zaragoza, since it was first identified by the technique of capture on human bait (human landing collection).

SECOND: Human landing activity of *Simulium erythrocephalum* is greatly influenced by air temperature and solar radiation; and consequently the highest risk of bites is during dusk and, to a lesser extent, at dawn.

THIRD: A short gonotrophic cycle and a high survival rate of *Simulium erythrocephalum* are the key factors for the successful development of this species in Spain with the consequent impact on public health.

FOURTH: Human beings act as an optical marker for the formation of copulation swarms in *Simulium erythrocephalum*, whose creation depends on the presence of females in host-seeking activity at dusk.

FIFTH: Electroantennography has allowed for the identification of several volatile compounds present in human perspiration that take part in the mechanism used by *Simulium erythrocephalum* to locate the hosts.

SIXTH: The increase of medical consultations due to insect bites in Primary Care and Hospital Emergency Services in the city of Zaragoza since 2011 is because of the bites of simuliids, primarily *Simulium erythrocephalum*.

SEVENTH: It has been demonstrated that the systematic analysis of the records from the OMI-AP system can be a very useful tool for evaluating the population dynamics of the simuliids and early detection of the onset of a public health problem at regional level.



Bibliografía

- Aberth J. 2011. *Plagues in world history*. Rowman & Littlefield Publishers. 256 pp.
- Abramides GC, Roiz D, Guitart R, Quintana S, Guerrero I, Giménez N. 2011. Effectiveness of a multiple intervention strategy for the control of the tiger mosquito (*Aedes albopictus*) in Spain. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 105: 281-288.
- Abramides GC, Roiz D, Guitart R, Quintana S, Giménez N. 2013. Control of the Asian tiger mosquito (*Aedes albopictus*) in a firmly established area in Spain: risk factors and people's involvement. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 107: 1-9.
- Adler PH. 1987. Ecology of black fly sibling species. En: Kim KC, Merritt RW (Eds), *Blackflies: ecology, population management, and annotated world list*. Pennsylvania State University, University Park & London. 63-76.
- Adler PH, Kim KC. 1986. The black flies of Pennsylvania (Simuliidae, Diptera). *Bionomics, taxonomy and distribution. Pennsylvania State University College of Agriculture Bulletin*. 856: 1-88.
- Adler PH, McCreadie JW. 1997. The hidden ecology of black flies: sibling species and ecological scale. *American Entomologist*. 43: 153-161.
- Adler PH, McCreadie JW. 2002. Black flies (Simuliidae). En: Mullen G, Durde L (Eds), *Medical and veterinary entomology*. Academic Press, San Diego. 185-202.
- Adler PH, Currie DC, Wood DM. 2004. *The black flies (Simuliidae) of North America*. Ithaca, New York. 941 pp.
- Adler PH. 2005. Black flies, the Simuliidae. En: Marquardt WC (Ed), *Biology of Disease Vectors*. 2nd edition. Elsevier Academic Press, San Diego. 127-140.
- Adler PH, Seitz G. 2014. Chromosomal characteristics and evolutionary relationships of the Palearctic black fly *Simulium carthusiense* (Diptera: Simuliidae). *European Journal of Entomology*. 111(4): 469-474.
- Adler PH, Cherairia M, Arigue SF, Samraou BI, Belqat B. 2015. Cryptic biodiversity in the cytogenome of bird-biting blackflies in North Africa. *Medical and Veterinary Entomology*. 29: 276-289.
- Adler PH, Crosskey RW. 2015. Cytotaxonomy of the Simuliidae (Diptera): a systematic and bibliographic conspectus. *Zootaxa*. 3975: 1-139.
- Adler PH, Crosskey RW. 2016. *World blackflies (Diptera: Simuliidae): a comprehensive revision of the taxonomic and geographical inventory*. Disponible el 15/09/2016 en URL: <http://www.clemson.edu/cafls/departments/sps/biomia/pdfs/blackflyinventory.pdf>
- Adler PH, Kúdlová T, Kúdela M, Seitz G, Ignjatović-Ćupina A. 2016. Cryptic biodiversity and the origins of pest status revealed in the Macrogenome of *Simulium colombaschense* (Diptera: Simuliidae), history's most destructive black fly. *PLoS ONE*. 11(1): e0147673.
- Adler PH, Crosskey RW. 2017. *World blackflies (Diptera: Simuliidae): a comprehensive revision of the taxonomic and geographical inventory*. Disponible el 10/05/2017 en URL: <http://www.clemson.edu/cafls/departments/esps/biomia/pdfs/blackflyinventory.pdf>
- Adler PH, Crosskey RW. 2018. *World blackflies (Diptera: Simuliidae): a comprehensive revision of the taxonomic and geographical inventory*. Disponible el 22/03/2018 en URL: <http://www.clemson.edu/cafls/departments/esps/biomia/pdfs/blackflyinventory.pdf>
- Alarcón-Elbal PM, Delacour-Estrella S, Collantes F, Delgado JA, Ruiz-Arrondo I, Pinal-Prieto R, Melero-Alcibar R, Molina R, Sierra MJ, Amela C. 2013. Primeros hallazgos de *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse 1894) en la provincia de Valencia, España. *Anales de Biología*. 35: 95-99.
- Alarcón-Elbal PM, Delacour-Estrella S, Ruiz-Arrondo I, Collantes F, Iniesta JAD, Morales-Bueno J, Sánchez-López PF, Amela C, Sierra-Moros MJ, Molina R, Lucientes J. 2014. Updated distribution of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in Spain: new findings in the mainland Spanish Levante, 2013. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 109: 782-786.
- Alexander JO'D. 1984. *Arthropods and Human Skin*. Springer-Verlag, Berlin. 422 pp.



- Altuzar A, Malo EA, González-Hernández H, Rojas JC. 2007. Electrophysiological and behavioural responses of *Scyphophorus acupunctatus* (Col., Curculionidae) to agave tequilana volatiles. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 131: 121-127.
- Álvarez Cobelas M, Rubio Olmo A, Soriano Hernando O, Velasco Díaz JL, Cirujano Bracamonte S, Segura Martínez M. 2016. *El agua en las Rozas de Madrid-2. Medio natural, superficial y subterráneo, zonas de ocio y fuentes ornamentales*. Serie Limnoiberia Nº 11. Grupo de Investigación del Agua. Madrid. 183 pp.
- Amrine JW. 1982. The New River connection to the black fly problem in southern West Virginia. *Bulletin of the West Virginia Agricultural Station*. 678: 1-30.
- Anderson JR. 1987. Reproductive strategies and gonothrohic cycle of black flies. En: Kim KC, Merritt RW (Eds), *Blackflies: ecology, population management, and annotated world list*. Pennsylvania State University, University Park & London. 276-293.
- Anderson JR, Defoliart GR. 1961. Feeding behaviour and host preferences of some blackflies (Diptera: Simuliidae) in Wisconsin. *Annals of the Entomological Society of America*. 54: 716-729.
- Aneclpa (Asociación Nacional de Empresas de Sanidad Ambiental). 2018. *Guía para la gestión de mosquitos y simúlidos*. 168 pp.
- Antiga P. 1912. Contribución a la fauna de Cataluña. Catálogo de los dípteros observados en diferentes sitios del principado de Barcelona. 1888. En: *Datos para el conocimiento de la distribución geográfica de los dípteros de España*. Memorias de la Real Sociedad Española de Historia Natural. 247 pp.
- Ara K, Hama M, Akiba S, Koike K, Okisaka K, Hagura T, Kamiya T, Tomita F. 2006. Foot odor due to microbial metabolism and its control. *Canadian Journal of Microbiology*. 52: 357-364.
- Aranda C, Eritja R, Roiz D. 2006. First record and establishment of the mosquito *Aedes albopictus* in Spain. *Medical and Veterinary Entomology*. 20: 150-152.
- Ballester L. 2012. *La amenaza de la mosca negra*. Levante, 28 octubre 2012. Disponible el 30/11/2012 en URL: <http://www.levante-emv.com/comunitat-valenciana/2012/11/04/amenaza-mosca-negra/949019.html>
- Barbiero VK, Trpis M. 1986. The engorgement ratio of *Simulium yahense* (Diptera: Simuliidae) at the Firestone Rubber Plantation, Harbel, Liberia. *Journal of Medical Entomology*. 23: 309-312.
- Barceló C, Bengoa M, Monerris M, Molina R, Delacour-Estrella S, Lucientes J, Miranda MA. 2015. First record of *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera; Culicidae) from Ibiza (Balearic Islands; Spain). *Journal of the European Mosquito Control Association*. 33: 1-4.
- Bardin O. 2001. Nuisance due to *Simulium (Boophthora) erythrocephalum* (De Geer, 1776) (Diptera, Simuliidae) in France. *Parasite*. 8: 161-162.
- Barr WB. 1984. Prolegs and attachment of *Simulium vittatum* (sibling IS-7) (Diptera: Simuliidae) larvae. *Canadian Journal of Zoology*. 62: 1355-1362.
- Bartelt RJ, Schaner AM, Jackson LL. 1986. Aggregation pheromones in live taxa of the *Drosophila virilis* species group. *Physiological Entomology*. 11: 367-376.
- Bartninkaite I, Bernotiene R, Pakalniskis S, Zygutiene M. 2006. Control of bloodsucking black fly (Simuliidae) population in Lithuania. *Ekologija*. 4: 70-75.
- Bartoloni A, Cancrini G, Bartalesi F, Marcolin D, Roselli M, Arce CC, Hall J. 1999. *Mansonella ozzardi* infection in Bolivia: prevalence and clinical associations in the Chaco region. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 61: 830-833.
- Bass JAB. 1998. *Last-instar larvae and pupae of the Simuliidae of Britain and Ireland. A key with brief ecological notes*. Freshwater Biological Association, Scientific Publication, No 55. 102 pp.
- Beaucournu-Saguez F. 1975a. Récoltes de Simulies (Diptera Simuliidae) dans le Sud-Est de l'Espagne. *Annales de la Société Entomologique France*. 11(1): 73-89.
- Beaucournu-Saguez F. 1975b. Sur quelques Simulies (Diptera, Simuliidae) du Nord-Ouest de l'Espagne. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*. 50(1): 105-122.
- Beaucournu JC, Beaucournu-Saguez F, Chevrier S. 1992. La simuliidose humaine en France: son ancienneté, sa répartition, les espèces anthropophiles. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*. 67: 202-208.



- Beaucournu-Saguez F, Gilot B, Chevrier S, Branquet F, Haltefort B, Beaucournu JC. 1993. Observation en France de *Simulium erythrocephalum* De Geer, 1776 comme agent de simuliidose humaine. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*. 68: 109-110.
- Beklemishev WN. 1940. Gonotrophic rhythm as a basic principle of the biology of *Anopheles*. *Voprosy Fiziologii i Ekologii Malyariinogo Konara*. 1: 3-22.
- Bellamy RE, Corbet PS. 1974. Occurrence of ovariole dilatations in nulliparous mosquitoes. *Mosquito news*. 34: 334.
- Belqat B, Dakki M. 2004. Clés Analytiques des Simulies (Diptera) du Maroc. Identification keys of the black-flies (Diptera: Simuliidae) of Morocco. *Zoologica baetica*. 15: 77-137.
- Belqat B, Garrido J. 2008. Inventaire faunistique et bibliographique des Simulies d'Espagne (Diptera, Simuliidae). *Nouvelle Revue d'Entomologie*. 24(3): 201-219.
- Belqat B, Mayenco-Gallardo A. 2016. Biodiversity of the black flies (Diptera: Simuliidae) of some watercourses of Gibraltar countryside (Cádiz, Spain). En: Ruiz Arrondo I, de Blas Giral I (Eds), *Book of abstracts of VII International Simuliidae Symposium*. 5-8 septembre 2016, Zaragoza. Universidad de Zaragoza-CIBIR. 44 pp.
- Bengoa M, Delacour-Estrella S, Barceló C, Paredes-Esquivel C, Leza M, Lucientes J, Molina R, Miranda MÁ. 2016. First record of *Aedes albopictus* (Skuse 1894) (Diptera; Culicidae) from Minorca (Balearic Islands, Spain). *Journal of the European Mosquito Control Association*. 34: 5-9.
- Bennett GF, Fallis AM, Campbell AG. 1972. The response of *Simulium (Eusimulium) euryadminiculum* Davies (Diptera: Simuliidae) to some olfactory and visual stimuli. *Canadian Journal of zoology*. 50: 793-800.
- Bernier UR, Booth MM, Yost RA. 1999. Analysis of human skin emanations by gas chromatography/mass spectrometry. 1. Thermal desorption of attractants for the yellow fever mosquito (*Aedes aegypti*) from handled glass beads. *Analytical Chemistry*. 71: 1-7.
- Bernier UR, Kline DL, Barnard DR, Schreck CE, Yost RA. 2000. Analysis of human skin emanations by gas chromatography/mass spectrometry. 2. Identification of volatile compounds that are candidate attractants for the yellow fever mosquito (*Aedes aegypti*). *Analytical Chemistry*. 72: 747-756.
- Berotiene R, Bartkeviciene G. 2012. The relationship between water temperature and the development cycle beginning and duration in three black fly species. *Journal of Insect Science*. 13(1): 1-15.
- Berzina AN. 1953. Attack by blackflies on man in nature. *Parazitologicheskij Sbornik*. 15: 353-385.
- Berryman AA. 1987. The theory and classification of outbreak. En: Barbosa P, Schultz JC (Eds), *Insect Outbreaks*. Academic Press, San Diego. 3-30.
- Birley MH. 1984. Estimation, tactics and disease transmission. En: Conway CR (Ed), *Pest and Pathogen Control: Strategic, Tactical and Policy Models*. No. 13, International Series on Applied Systems Analysis, Wiley Interscience, Wiley & Sons, Chichester. 272-289.
- Birley MH, Rajagopalan PK. 1981. Estimation of the survival and biting rates of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*. 18: 181-186.
- Birley MH, Boorman JPT. 1982. Estimating the survival and biting rates of haematophagous Insects, with particular reference to the *Culicoides obsoletus* Group (Diptera, Ceratopogonidae) in Southern England. *Journal of Animal Ecology*. 51: 135-148.
- Birley MH, Walsh JF, Davies JB. 1983. Development of a model for *Simulium damnosum* s.l. recolonization dynamics at a breeding site in the Onchocerciasis Control Programme area when control is interrupted. *Journal of Applied Ecology*. 20: 507-519.
- Blasco RM, Monzón FJ, Gómez LI. 1989. Epidemiología del escorpionismo en Aragón. Teruel. *Revista del Instituto de Estudios Turolenses*. 80-81(1): 244-267.
- Blasco Gil RM, Monzón Muñoz FJ. 1998. Aspectos clinicopatológicos del emponzoñamiento por artrópodos venenosos en la Península Ibérica. *Formación Médica Continuada en Atención Primaria*. 5: 422-439.
- Bobrova SI. 1977. Swarming of bloodsucking blackflies (Simuliidae) in Siberia. *Parazitologiya*. 11: 442-445.



- Boiteux P, Noirtin C. 1979. La Mort de 25 animaux de ferme par piqures de simulies dans les Vosges. *Bulletin de l'Academie Lorraine des Sciences* (Nancy). 18: 75.
- Bonada N, Rieradevall M, Prat, N. 2000. Temporalidad y contaminación como claves para interpretar la biodiversidad de macroinvertebrados en un arroyo mediterráneo (Riera de Sant Cugat, Barcelona). *Limnetica*. 18: 81-90.
- Boo KS, Davies DM. 1980. Johnston's organ of the black fly *Simulium vittatum* Zett. *Canadian Journal of Zoology*. 58: 1969-1979.
- Borah S, Goswami S, Agarwal M, Rahman I, Deka M, Chattopadhyay P, Singh L. 2012. Clinical and histopathological study of Simulium (blackfly) dermatitis from North-Eastern India - a report. *International Journal of dermatology*. 51(1): 63-6.
- Bradbury WC, Bennett GF. 1974a Behavior of adult Simuliidae (Diptera). I. Response to color and shape. *Canadian Journal of Zoology*. 52: 251-259.
- Bradbury WC, Bennett GF. 1974b. Behavior of adult Simuliidae (Diptera). II. Vision and olfaction in near-orientation and landing. *Canadian journal of Zoology*. 52: 1355-1364.
- Bradley GH. 1935. Notes on the southern buffalo gnat, *Eusimulium pecuarum* (Riley) (Diptera: Simuliidae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*. 37: 60-64.
- Braks MAH. 1999. *Human skin emanations in the host-seeking behaviour of the malaria mosquito Anopheles gambiae*. Tesis Doctoral. Wageningen Universiteit, Wageningen, Holanda. 112 pp.
- Bravo D. 2017. Los simúlidos. Problemática de control. *XIV Congreso Español y IV Congreso Iberoamericano de Salud Ambiental y I Jornada de la Asociación Española de Aerobiología*. Gobierno de Aragón. 21-23 junio 2017. Zaragoza.
- Bridges VE, McCluskey BJ, Salman MD, Hurd HS, Dick J. 1997. Review of the 1995 vesicular stomatitis outbreak in the western United States. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 211: 556-560.
- Briét OJT. 2002. A simple method for calculating mosquito mortality rates, correcting for seasonal variations in recruitment. *Medical and Veterinary Entomology*. 16: 22-27.
- Bueno-Marí R, García-Mújica P, Rico-Miralles J, Agulló-Ronco A. 2012. Nuevos datos sobre el proceso de expansión de *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera, Culicidae) por el sureste de la Península Ibérica: hallazgo de la especie en Mazarrón (Murcia, España). *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*. 51: 307-309.
- Bueno-Marí R, Bernués-Bañeres A, Muñoz-Rodríguez M, Jiménez-Peydró R. 2013a. Primera cita de *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) en la provincia de Valencia (Diptera, Culicidae). *Boletín de la Asociación Española de Entomología*. 37: 375-378.
- Bueno-Marí R, López-Peña D, Jiménez-Peydró R. 2013b. Análisis faunístico e interés sanitario de los simúlidos del tramo bajo del río Túrria (Valencia). *Libro de ponencias del XXX Jornadas de la Asociación Española de Entomología*. Área de Zoología de la Universidad de Salamanca. 4-6 septiembre 2013. Salamanca.
- Bueno-Marí R, Lluch-Escribano JA, Gambín-Molina B. 2014. Primer registro de *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) en la Mancomunidad de l'Alacantí. Acciones para evitar su dispersión. *Cuadernos de Biodiversidad*. 44: 12-16.
- Bueno-Marí R, García-Mújica P. 2015. Establecimiento de una nueva especie invasora para la provincia de Almería: el mosquito tigre, *Aedes albopictus* (Skuse, 1894). *Revista de la Sociedad Gaditana de Historia Natural*. 9: 31-33.
- Burány B, Živković V, Milakov J. 1972. Epidemiološka i klinička slika uboda od jedne vrste simulide (*Boophthora erythrocephala*) u 1970. Godini u Potisju. *Medicinski Pregled*. 25: 447-454.
- Carles-Tolra M. 2002. Catálogo de los Diptera de España, Portugal y Andorra (Insecta). *Monografías Sociedad Entomológica Aragonesa*. 8: 75-77.
- Carlsson G. 1962. Studies on Scandinavian black flies (Fam. Simuliidae Latr.). *Opuscula Entomologica*. 21(Suppl.): 1-279.
- Carlsson G. 1967. Environmental factors influencing blackfly populations. *Bulletin of the World Health Organization*. 37: 139-150.



- Carlsson G. 1969. Some Simuliidae (Diptera) from Southern Spain. *Entomologiske Meddelelser*. 37: 202-206.
- Casado C, Montes C, García de Jalón D, Soriano O. 1990. Contribución al estudio faunístico del bentos fluvial del río Lozoya (Sierra de Guadarrama, España). *Limnetica*. 6: 87-100.
- Casal M, Luque E. 1985. Estudio del problema de la picadura al hombre por escorpión (*Buthus occitanus*) en la provincia de Córdoba. *Medicina Clínica*. 85: 49-52.
- Car M. 1983. Dermatitis or allergy caused by blackflies. *South African Medical Journal*. 63: 393.
- Caroprese A, Gabbanini S, Beltramini C, Lucchi E, Valgimigli L. 2009. HS-SPME-GC-MS analysis of body odor to test the efficacy of foot deodorant formulations. *Skin Research and Technology*. 15: 503-510.
- Chandra G, Seal B, Hati AK. 1996. Age composition of the filarial vector *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) in Calcutta, India. *Bulletin of Entomological Research*. 86: 223-226.
- Charlwood JD, Rafael JA, Wilkes TJ. 1980. Métodos de determinar a idade fisiologica em Diptera de importancia médica. Uma revisão com especial referência aos vectores de doenças na América do sul. *Acta Amazonica*. 10: 311-333.
- Charlwood JD, Birley MH, Dagoro H, Paru R, Holmes PR. 1985. Assessing survival rates of *Anopheles farauti* (Diptera: Culicidae) from Papua New Guinea. *Journal of Animal Ecology*. 54: 1003-1016.
- Charlwood JD, Graves PM, Birley MH. 1986. Capture-recapture studies with mosquitoes of the group of *Anopheles punctulatus* Dönitz (Diptera: Culicidae) from Papua New Guinea. *Bulletin of Entomological Research*. 76: 211-227.
- Charpentier MJE, Barthes N, Proffit M, Bessière J-M, Grison C. 2012. Critical thinking in the chemical ecology of mammalian communication: roadmap for future studies. *Functional Ecology*. 26: 769-774.
- Chattopadhyay P, Goyary D, Dhiman S, Rabha B, Hazarika S, Veer V. 2014. Immunomodulating effects and hypersensitivity reactions caused by Northeast Indian black fly salivary gland extract. *Journal of Immunotoxicology*. 11(2): 126-132.
- Cheke RA. 1995. Cycles in daily catches of members of the *Simulium damnosum* species complex. *Tropical Medicine and Parasitology*. 46(4): 247-252.
- Christophers SR. 1911. The development of the egg follicle in anophelines. *Paludism*. 2: 73-88.
- Cirujano S, Meco Molina A, Cezón K. 2017. *Flora acuática: macrófitos*. Disponible el 4/12/2017 en URL: http://www.mapama.gob.es/es/agua/formacion/06-Macrofitos-Santos_Cirujano_tcm7-174291.pdf
- Clements AN. 1963. *The physiology of mosquitoes*. 1st edition. International Series of Monographs on Pure and Applied Biology: Zoology. Vol 17. Pergamon Press, Oxford. 404 pp.
- Clements AN. 1992. *The biology of mosquitoes. Volume 1. Development, nutrition and reproduction*. Chapman & Hall, London. Viii + 509 pp.
- Clergue-Gazeau M, Vinçon G. 1990. Importance of the discovery of *Simulium* (Rubzovia) *lamachi* Doby and David in the Iberian Peninsula (Diptera, Simuliidae). *Nouvelle Revue d'Entomologie*. 7(3): 303-306.
- Clergue-Gazeau M. 1991: Clés de détermination de Simulies (Diptera: Simuliidae) de Pyrénées. *Annals de Limnologie*. 27: 267-286.
- Clyne PJ, Warr CG, Carlson JR. 2000. Candidate taste receptors in *Drosophila*. *Science*. 287(5459): 1830-1834.
- Colbo MH. 1989. *Simulium vittatum* (Simuliidae: Diptera), a black fly with a variable instar number. *Canadian Journal of Zoology*. 67: 1730-1732.
- Collantes F, Delgado JA. 2011. Primera cita de *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Skuse, 1894) en la Región de Murcia. *Anales de Biología*. 33: 99-101.
- Collantes F, Delgado JA, Alarcón-Elbal PM, Delacour S, Lucientes J. 2014. First confirmed outdoor winter reproductive activity of Asian tiger mosquito (*Aedes albopictus*) in Europe. *Anales de Biología*. 36: 71-76.
- Collantes F, Delacour S, Alarcón-Elbal PM, Ruiz-Arrondo I, Delgado JA, Torrel-Sorio A, Bengoa M, Eritja R, Miranda MA, Molina R, Lucientes J. 2015. Review of ten-years presence of *Aedes albopictus* in Spain 2004-2014: known distribution and public health concerns. *Parasite & Vectors*. 8: 655.



- Collantes F, Delacour S, Delgado JA, Bengoa M, Torrel-Sorio A, Guinea H, Ruiz S, Lucientes J, Mosquito Alert. 2016. Updating the known distribution of *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) in Spain 2015. *Acta Tropica*. 164: 64-68.
- Collins RC. 1979. Onchocerciasis transmission potentials of four species of Guatemalan Simuliidae. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 28: 72-75.
- Collins RC, Merino ME, Cupp EW. 1981. Seasonal trends and diurnal patterns of man-biting activity of four species of Guatemalan blackflies (Simuliidae). *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 30: 728-733.
- Collins RC, Ochoa JO, Cupp EW, Gonzalez-Peralta C, Porter C. 1992. Microepidemiology of onchocerciasis in Guatemala: dispersal and survival of *Simulium ochraceum*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 47: 147-155.
- Comissió Interinstitucional per a la Prevenció i Control del Mosquit Tigre a Catalunya. 2011. *Estratègia per a la prevenció i el control del mosquit tigre a Catalunya*. Barcelona: Departament de Salut, Generalitat de Catalunya. 40 pp. Disponible el 22/01/2018 en URL: http://www.aspb.cat/quefem/docs/Estrategia_mosquit_tigre_2011.pdf
- Córdoba-Lloria S, Serna-Mompeán JP, Giménez-Gras O, Acosta-Aleixandre R, Bueno-Marí R. 2017. Notes on black flies of the Júcar River and tributaries in Eastern España. *The Simuliid Bulletin*. 48: 8-13.
- Cork A, Park KC. 1996. Identification of electrophysiologically-active compounds for the malaria mosquito, *Anopheles gambiae*, in human sweat extracts. *Medical and Veterinary Entomology*. 10: 269-276.
- Corkum LD, Currie DC. 1987. Distribution patterns of immature Simuliidae (Diptera) in northwestern North America. *Freshwater Biology*. 17: 201-221.
- Craig DA. 1977. Mouthparts and feeding behaviour of Tahitian larval Simuliidae (Diptera: Nematocera). *Quaestiones Entomologicae*. 13: 195-218.
- Craig DA, Batz H. 1982. Innervation and fine structure of antennal sensilla of Simuliidae larvae (Diptera: Culicomorpha). *Canadian Journal of Zoology*. 60: 696-711.
- Crosskey RW. 1955. Observations on the bionomics of adult *Simulium damnosum* Theobald (Diptera: Simuliidae) in Northern Nigeria. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*. 49: 142-153.
- Crosskey RW. 1985. The rediscovery of *Simulium yerburyi* Edwards in Britain and its part in a taxonomic reassessment of variability in *Simulium (Hellichiella) latipes* (Meigen) (Diptera: Simuliidae). *Entomologist's Gazette*. 36: 209-226.
- Crosskey RW. 1993. Blackflies (Simuliidae). En: Lane RP, Crosskey RW (Eds), *Medical insects and arachnids*. Chichester & New York. 241-287.
- Crosskey RW. 1988a. An annotated checklist of the world blackflies (Diptera: Simuliidae). En: Kim KC, Merritt RW (Eds), *Black Flies: ecology, population management, and annotated world list*. Pennsylvania State University, University Park & London. 425-520.
- Crosskey RW. 1988b. Taxonomy and geography of the blackflies of the Canary Islands (Diptera: Simuliidae). *Journal of Natural History*. 22(2): 321-355.
- Crosskey RW. 1990. *The Natural History of Black Flies*. John Wiley & Sons, Chichester. 722 pp.
- Crosskey RW. 1991. The blackfly fauna of Majorca and other Balearic Islands (Diptera: Simuliidae). *Journal of Natural History*. 25: 671-690.
- Crosskey RW, Santos-Gracio AJ. 1985. New species and new records of the blackfly subgenus *Simulium (Obuchovia)* from Spain and Portugal (Diptera: Simuliidae). *Aquatic Insects*. 7(3): 149-160.
- Crosskey RW, Howard, TM. 1997. *A new Taxonomic and Geographical Inventory of World Blackflies (Diptera: Simuliidae)*. The Natural History Museum, London. 144 pp.
- Crosskey RW, Malmqvist B, Nilsson AN. 1998. A review of the Palaearctic blackfly subgenus *Simulium (Rubzovia)* with the emphasis on *S.(R.) paraloutetense*, a species confined to Gran Canaria Island (Diptera: Simuliidae). *Insect Systematics and Evolution*. 29(4): 383-393.
- Crosskey RW, Crosskey M. 2000. An investigation of the blackfly fauna of Andalusia, southern Spain (Diptera: Simuliidae). *Journal of Natural History*. 34: 895-951.



- Crosskey RW, Baez M. 2004. A synopsis of present knowledge of the Simuliidae (Diptera) of the Canary Islands, including keys to the larval and pupal stages. *Journal of Natural History*. 38(16): 2085-2117.
- Cupp EW, Collins RC. 1979. The gonotrophic cycle in *Simulium ochraceum*. *The American Journal of Tropical and Hygiene*. 28: 422-426.
- Cupp EW, Lok JB, Bernardo MJ, Brenner RJ, Pollack RJ, Scoles GA. 1981. Complete generation rearing of *Simulium damnosum* (Diptera: simuliidae) in the laboratory. *Tropenmedizin Und Parasitologie*. 32: 119-122.
- Cupp EW, Cupp MS. 1997. Black Fly (Diptera: Simuliidae) salivary secretions: importance in vector competence and disease. *Journal of Medical Entomology*. 34(Suppl 2): 87-94.
- Curran AM, Rabin SI, Prada PA, Furton KG. 2005. Comparison of the volatile organic compounds present in human odor using SPME-GC/MS. *Journal of Chemical Ecology*. 31(7): 1607-1619.
- Curran AM, Prada PA, Furton KG. 2010. The Differentiation of the Volatile Organic Signatures of Individuals Through SPME-GC/MS of Characteristic Human Scent Compounds. *Journal of Forensic Sciences*. 55(1): 50-57.
- Currie DC. 1988. *Morphology and systematics of primitive Simuliidae (Diptera: Culicomorpha)*. Tesis Doctoral. University of Alberta, Edmonton, Canadá. 331 pp.
- Currie DC, Craig DA. 1988. Feeding strategies of larval black flies. En: Kim KC, Merritt RW (Eds), *Black Flies: ecology, population management, and annotated world list*. Pennsylvania State University, University Park & London. 155-170.
- Currie DC, Walker IR. 1992. Recognition and palaeohydrologic significance of fossil black fly larvae, with a key to the Nearctic genera (Diptera: Simuliidae). *Journal of Paleolimnology*. 7: 37-54.
- Czerny I, Strobl G. 1909. Spanische Diptera III. *Verhandlungen der kaiserlich-königlichen zoologisch-botanischen Gesellschaft in Wien*. 59: 121-301.
- Dalmat HT. 1955. *The black flies (Diptera, Simuliidae) of Guatemala and their role as vectors of onchocerciasis*. Smithsonian Miscellaneous Publications. 125(1): vii + 425 pp.
- Davidovic G, Iric-Cupic V, Zdravkovic V, Milanov S, Dimitrijevic A. 2014. Kounis syndrome, two case reports from Kragujevac, Serbia. *American Journal of Cardiovascular Disease*. 4(1): 20-25.
- Davidson G. 1954. Estimation of the survival rate of anopheline mosquitoes in nature. *Nature*. 174: 792-793.
- Davidson G, Draper C. 1953. Field studies of some of the basic factors concerned in the transmission of malaria. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 47: 522-535.
- Davies DM. 1951. Some observations of the number of black flies (Diptera, Simuliidae) landing on colored cloths. *Canadian Journal of Zoology*. 29: 65-70.
- Davies DM. 1972. The landing of blood-seeking female black-flies (Simuliidae: Diptera) on coloured materials. *Proceedings of the Entomological Society of Ontario*. 102: 124-155.
- Davies DM. 1981. Predators upon blackflies. En: Laird M (Ed), *Blackflies: the future for biological methods in integrated control*. Academic Press, New York & London. 139-158.
- Davies DM, Peterson BV. 1956. Observations on the mating, feeding, ovarian development, and oviposition of adult black flies (Simuliidae, Diptera). *Canadian Journal of Zoology*. 34: 615-655.
- Davies JB. 1962. Egg-laying habits of *Simulium damnosum* Theobald and *Simulium medusaeforme* form *hargrevesi* [sic] Gibbins in northern Nigeria. *Nature*. 196: 149-150.
- Davies JB. 2018. Obituary Dr. RW Crosskey 1930-2017. *The Simuliid Bulletin*. 49: 4-9.
- Davies L. 1957. A study of the blackfly, *Simulium ornatum* Mg. (Diptera), with particular reference to its activity on grazing cattle. *Bulletin of Entomological Research*. 48: 407-424.
- Davies L. 1965. On spermatophores in Simuliidae (Diptera). *Proceedings of the Royal Entomological Society of London (A)*. 40: 30-34.
- Davies L. 1968. A key to the British species of Simuliidae (Diptera) in the larval, pupal and adult stages. *Freshwater Biological Association Scientific Publications*. 24: 1-126.



- Davies L, Downe AER, Weitz B, Williams CB. 1962. Studies on black flies (Diptera: Simuliidae) taken in a light trap in Scotland. II. Blood-meal identification by precipitin tests. *Transactions of the Royal Entomological Society of London*. 114: 21-27.
- Day JC. 2008. *Using molecular tools to differentiate closely related blackfly species of the genus Simulium*. Environment Agency, Bristol, UK. 33 pp.
- Day JC, Goodall TI, Post RJ. 2008. Confirmation of the species status of the blackfly *Simulium galeratum* in Britain using molecular taxonomy. *Medical and Veterinary Entomology*. 22: 55-61.
- Day C, Mustapha M, Post RJ. 2010. The subgenus *Eusimulium* (Diptera: Simuliidae: Simulium) in Britain. *Aquatic Insects*. 34: 281-291.
- De Barjac H. 1978. Une nouvelle variété de *Bacillus thuringiensis* très toxique pour les moustiques: *B. thuringiensis* var *israelensis* sérotype H14. *Comptes Rendus De l' Academie Des Sciences*. 286: 797-800.
- De Villiers PC. 1987. Simulium dermatitis in man- clinical and biological features in South Africa. A case report. *South African Medical Journal*. 71: 523-525.
- Decamps H, Larrouy G, Trivellato D. 1975. Approche hydrodynamique de la microdistribution d'invertébrés benthiques en eau courante. *Annales de Limnologie*. 11: 79-100.
- DeGreeff LE, Furton KG. 2011. Collection and identification of human remains volatiles by non-contact, dynamic airflow sampling and SPME-GC-MS using various sorbent materials. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 401: 1295-1307.
- Delacour S, Alarcón-Elbal P, Bengoa M, Melero-Alcibar R, Pinal R, Ruiz-Arrondo I, Molina R, Lucientes J. 2009. *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1894), primera cita en Torrevieja (Alicante). *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*. 45: 518.
- Delacour-Estrella S, Bravo-Minguet D, Alarcón-Elbal PM, Bengoa M, Casanova A, Melero-Alcibar R, Pinal R, Ruiz-Arrondo I, Molina R, Lucientes J. 2010. Detección de *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera: culicidae) en Benicàssim. Primera cita para la provincia de Castellón (España). *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*. 47: 440.
- Delacour-Estrella S, Collantes F, Ruiz-Arrondo I, María Alarcón-Elbal P, Delgado JA, Eritja R, Bartumeus F, Oltra A, Palmer JR, Lucientes J. 2014. Primera cita de mosquito tigre, *Aedes albopictus* (Diptera, Culicidae), para Andalucía y primera corroboración de los datos de la aplicación Tigatrapp. *Anales de Biología*. 36: 93-96.
- Delacour S, Collantes F, Ruiz-Arrondo I, Bengoa M, Delgado JA, Molina R, Lucientes J. 2015. Detección temprana de mosquito tigre, *Aedes albopictus* (Skuse, 1894), en el País Vasco (España). *Anales de Biología*. 37: 25-30.
- Delacour-Estrella S, Ruiz-Arrondo I, Alarcón-Elbal PM, Bengoa M, Collantes F, Eritja R, Ventura M, Martínez-Gavín A, Lucientes J, AtrapaelTigre. 2016. Primera cita del mosquito invasor *Aedes albopictus* (Diptera, Culicidae) en Aragón: confirmación de su presencia en Huesca capital. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*. 58: 157-158.
- Detinova TS. 1945. The determination of the physiological age of females of *Anopheles* by changes in the tracheal system of the ovaries. *Medskaya Parazitology*. 14: 45-49.
- Detinova TS. 1949. Physiological changes in the ovaries of female *Anopheles maculipennis*. *Medskaya Parazitology*. 18: 410-420.
- Detinova TS. 1968. Age structure of insect populations of medical importance. *Annual Review of Entomology*. 13: 427-450.
- Dicke M, Sabelis MW. 1988. Infochemical terminology: based on cost-benefit analysis rather than origin of compounds? *Functional Ecology*. 2: 131-139.
- Diéguez L, Sosa I, Pérez AE. 2013. La impostergable participación comunitaria en la lucha contra el dengue. *Revista Cubana de Medicina Tropical*. 65(2): 272-276.
- Dima DD. 2006. Imagen de feeding de simúlidos. Disponible el 28/12/2017 en URL: https://diptera.info/forum/viewthread.php?thread_id=2387&pid=14448
- Dinulescu G. 1966. Fauna Republici Soc. Romania. Insecta, Diptera, Fam. Simuliidae. *Fauna Republicii Socialiste România*. 11: 1-600.



- Disney RHL. 1971. *Simulium bernerii* Freeman (Diptera: Simuliidae) and its mayfly host (Ephemeroptera: Oligoneuridae). *Journal of Entomology (A)*. 46: 39-51.
- Dormont D, Bessière J-M, McKey D, Cohuet A. 2013. New methods for field collection of human skin volatiles and perspectives for their application in the chemical ecology of human-pathogen-vector interactions. *Journal of Experimental Biology*. 216: 2783-2788.
- Downes JA. 1958. Assembly and mating in the biting Nematocera. *Proceedings of the Xth International Congress of Entomology*. 17-25 agosto 1956, Montreal, Canadá. 2: 425-434.
- Downes JA. 1969. The swarming and mating flight of Diptera. *Annual Review of Entomology*. 14: 271-298.
- Duran C, Alonso M, Palau A, Sabater S, Batalla RJ, Vericat D, Esparza JL. 2010. *Asistencia técnica para el control de macrófitos: Mejora de la gestión de los embalses del Bajo Ebro*. URS España (United Research Services España, S.L.) & CHE (Confederación Hidrográfica del Ebro). Informe técnico Nº: 215/09-SNS. Zaragoza. 145 pp.
- Dye C. 1984. Models for the population dynamics of the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. *Journal of Animal Ecology*. 53: 247-268.
- Eckert J, Gloor H, Karbe E, Rühm W. 1969. Todesfälle durch Kriebelmücken (Simuliidae, Diptera) bei Rindern in der Schweiz. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*. 111: 447-455.
- Edwards FW. 1933. On three European species of *Simulium*. *Annalen des naturhistorischen Museums in Wien*. 46: 255-256.
- Egri A, Blahó M, Kriska G, Farkas R, Gyurkovszky M, Akesson S, Horváth G. 2012. Polarotactic tabanids find striped patterns with brightness and/or polarization modulation least attractive: an advantage of zebra stripes. *Journal Experimental Biology*. 215: 736-745.
- Escosa R. 2007. Métodos de lucha frente a los simúlidos (mosca negra). *Jornada de divulgación técnica: Los mosquitos y sus repercusiones sociales, sanitarias y medioambientales*. Gobierno de Aragón. 19 junio 2007. Zaragoza.
- Evans TG. 1995. Socioeconomic consequences of blinding onchocerciasis in West Africa. *Bulletin of the World Health Organization*. 73: 495-506.
- Eymann M. 1991a. Flow patterns around cocoons and pupae of black flies of the genus *Simulium* (Diptera: Simuliidae). *Hydrobiologia*. 215: 223-229.
- Eymann M. 1991b. *Fluid flow and the behaviour, ecology, and morphology of subimaginal black flies (Diptera: Simuliidae)*. Tesis Doctoral. University of Alberta, Edmonton, Canadá. 169 pp.
- Fallis AM. 1964. Feeding and related behavior of female Simuliidae (Diptera). *Experimental Parasitology*. 15: 439-70.
- Fallis AM, Smith SM. 1964. Ether extracts from birds and CO₂ as attractants for some ornithophilic simuliids. *Canadian Journal of Zoology*. 42: 723-730.
- Fernández-Rubio F, Moreno Fernández-Caparrós L, Soriano Hernando O. 2014. *Artrópodos en medicina y veterinaria*. 3ª edición, Ministerio de Defensa. 644 pp.
- Fernández-Soto P, Dávila I, Laffond E, Lorente F, Encinas-Grandes A, Pérez-Sánchez R. 2001. Tick-bite-induced anaphylaxis in Spain. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*. 95: 97-103.
- Figueras L, Lucientes J, Ruiz I, Ramos JJ, Ferrer LJ. 2011. Caso clínico. Ataque de simúlidos en rumiantes. *Albéitar*. 147: 22-23.
- Figuroa MH, Collins RC, Kozek WH. 1977. Postprandial transportation and maintenance of *Simulium ochraceum* infected with *Onchocerca volvulus*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 26: 75-79.
- Fonseca DM, Unlu I, Crepeau T, Farajollahi A, Healy SP, Bartlett-Healy K, Strickman D, Gaugler R, Hamilton G, Kline D, Clark GG. 2013. Area-wide management of *Aedes albopictus*. Part 2: gauging the efficacy of traditional integrated pest control measures against urban container mosquitoes. *Pest Management Science*. 69(12): 1351-1361.
- Foroutan Saravi R, Ignjatović-Ćupina A, Marinkovic D, Becker N. 2010. The phenology of Simuliidae in Southwest Germany and their control. En: Sualp Caglar S, Ipekdal K (Eds), *Abstract book of 4th International Simuliidae Symposium including the 31st British Simuliid Group Meeting and the*



- 8th European Simuliidae Symposium EMCA Blackfly Working Group. 12-15 octubre 2010. Hacettepe University Biodiversity Research and Application Center, Antalya, Turquía. 39 pp.
- Fredeen FJH. 1977. A review of economic importance of blackflies (Simuliidae) in Canada. *Quaestiones Entomologicae*. 13: 219-229.
- Fredeen FJH. 1985. Some economic effects of outbreaks of black flies (*Simulium luggeri* Nicholson & Mickel) in Saskatchewan. *Quaestiones Entomologicae*. 21: 175-208.
- Friederichs K. 1921. Untersuchungen über Simuliiden (Teil II). *Bulletin of Entomological Research*. 8: 23-42.
- Gallagher M, Wysocki CJ, Leyden JJ, Spielman AI, Sun X, Preti G. 2008. Analyses of volatile organic compounds from human skin. *British Journal of Dermatology*. 159: 780-791.
- Gallardo-Mayenco A, Toja J. 2002. Spatio-temporal distribution of Simuliids (Diptera) and associated environmental factors in two mediterranean basins of Southern Spain. *Limnetica*. 21(1-2): 47-57.
- Gallego J, Beaucournu-Saguez F, Portus M. 1994. Aggressiveness of *Simulium ornatum* complex (Diptera: Simuliidae) in Catalonia (Spain), First observation. *Parasite*. 1: 288.
- Garms R. 1975. Observations on filarial infections and parous rates of anthropophilic blackflies in Guatemala, with reference to the transmission of *Onchocerca volvulus*. *Tropenmedizin und Parasitologie*. 26: 169-182.
- Garms R, Ochoa JO. 1979. Further studies on the relative importance of Guatemalan blackfly species as vectors of *Onchocerca volvulus*. *Tropenmedizin und Parasitologie* 30: 120-128.
- Garms R, Walsh JF. 1987. The migration and dispersal of black flies: *Simulium damnosum* s.l., the main vector of human onchocerciasis. En: Kim KC, Merritt RW (Eds), *Blackflies: ecology, population management, and annotated world list*. Pennsylvania State University, University Park & London. 201-214.
- Garrett-Jones C. 1964. The human blood index of malaria vectors in relation to epidemiological assessment. *Bulletin of the World Health Organization*. 30: 241-261.
- Garret-Jones C, Grab B. 1964. The assessment of insecticidal impact on the malaria mosquito's vectorial capacity, from the data on the proportion of parous females. *Bulletin of the World Health Organization*. 31: 71-86.
- Garza-Hernández JA, Ruiz-Arrondo I. 2018. Field observations of the mating behaviour of *Simulium erythrocephalum* in Zaragoza, northeastern Spain. *Journal of Insect Behavior* (en revisión).
- Geier M, Bosch OJ, Boeckh J. 1999. Ammonia as an attractive component of host odour for the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. *Chemical Senses*. 24(6): 647-653.
- Gibson G, Torr SJ. 1999. Visual and olfactory responses of haematophagous Diptera to host stimuli. *Medical and Veterinary Entomology*. 13: 2-23.
- Gillies MT. 1961. Studies on the dispersion and survival of *Anopheles gambiae* Giles in East Africa, by means of marking and release experiments. *Bulletin of Entomological Research*. 52: 99-127.
- Gillies MT, Wilkes TJ. 1965. A study of the age-composition of populations of *Anopheles gambiae* Giles and *A. funestus* Giles in north-eastern Tanzania. *Bulletin of Entomological Research*. 56: 237-262.
- Giménez N, Barahona M, Casasa A, Domingo A, Gavagnach M, Martí C. 2007. Llegada de *Aedes albopictus* a España, un nuevo reto para la salud pública. *Gaceta Sanitaria*. 21: 25-28.
- Gobierno de Aragón. 2003. *Protocolos de Notificación y Control de la Red Aragonesa de Vigilancia Epidemiológica*. 3 pp. Disponible el 28/12/2017 en URL: https://www.google.es/search?q=Protocolos+de+Notificaci%C3%B3n+y+Control+de+la+Red+Aragonesa+de+Vigilancia+Epidemiol%C3%B3gica.&ie=utf-8&oe=utf-8&gws_rd=cr&dcr=0&ei=Q-WfWsb4L4OoUenQnvAO
- Gobierno de Aragón. 2004. *Mapa sanitario de Aragón*. 80 pp. Disponible el 28/12/2017 en URL: https://www.aragon.es/estaticos/ImportFiles/09/docs/Ciudadano/GuiaCentrosServiciosSanitarios/OrdenacionSanitaria/MapaSanitario/MAPA_SANITARIO_ARAGON.pdf
- Gobierno de Aragón. 2010. *Mejora del uso de la herramienta informática en urgencias de pediatría en el servicio aragonés de salud*. Disponible el 28/12/2017 en URL: http://www.aragon.es/estaticos/GobiernoAragon/Organismos/ServicioAragonesSalud/Documentos/docs2/500_zaragoza_2_mejora_del_uso_de_la_herramienta_informat.pdf



- Gobierno de Aragón. 2011. *Picaduras de insectos. Consultas atendidas en Atención Primaria. Aragón. Primera quincena de junio. Años 2009-2010-2011*. Version 1. 10 pp.
- Servicio de Drogodependencia y Vigilancia en Salud Pública. Dirección General de Salud Pública. 2012. *Informe sobre consultas atendidas en AP por picaduras de insectos hasta la semana 34 de 2012 (26 de agosto de 2012)*. 10 pp.
- Gobierno de Aragón. 2016. *Consultas atendidas por picadura de insectos en atención primaria, Informe semana 41/2016*. 3 pp. Disponible el 28/12/2017 en URL: http://www.aragon.es/estaticos/GobiernoAragon/Departamentos/SanidadBienestarSocialFamilia/Sanidad/Profesionales/13_SaludPublica/21_Zoonosis/201641_informe_Picaduras.pdf
- Gobierno de Aragón. 2017a. *Boletín Epidemiológico Semanal de Aragón. Semana 24/2017*. 2 pp. Disponible el 28/12/2017 en URL: http://www.aragon.es/estaticos/GobiernoAragon/Departamentos/SanidadBienestarSocialFamilia/Sanidad/Profesionales/13_SaludPublica/18_Vigilancia_Epidemiologica/BOLETIN_ARAGON_201724.pdf
- Gobierno de Aragón. 2017b. *Información e investigación sanitaria*. Disponible el 30/8/2017 en URL: http://www.aragon.es/DepartamentosOrganismosPublicos/Departamentos/Sanidad/AreasTematicas/SanidadProfesionales/SaludPublica/Informacion_e_Investigacion?channelSelected=7ce514d66d9cb210VgnVCM100000450a15acRCRD
- Gobierno de Aragón. 2017c. *Sistemas de información sanitaria*. Disponible el 30/08/2017 en URL: <http://www.aragon.es/DepartamentosOrganismosPublicos/Departamentos/Sanidad/AreasTematicas/SanidadProfesionales/SaludPublica/VigilanciaEpidemiologica/SistemasInformacion?channelSelected=7ce514d66d9cb210VgnVCM100000450a15acRCRD>
- Gobierno de Aragón. 2017d. *Sistema de información microbiológica de Aragón*. 17 pp. Disponible el 28/12/2017 en URL: http://www.aragon.es/estaticos/GobiernoAragon/Departamentos/SanidadBienestarSocialFamilia/Sanidad/Profesionales/13_SaludPublica/18_Vigilancia_Epidemiologica/01_SIM_ARAGON_Caracteristicas.pdf
- Goes BJM. 2002. Effects of river regulation on aquatic macrophyte growth and floods in the Hadejia-Nguru Wetlands and flow in the Yobe River, northern Nigeria; implications for future water management. *River Research and Applications*. 18: 81-95.
- Goldie P. 1982. *Progress toward cryopreservation of black fly eggs: in vitro experiments and ultrastructure observations*. Tesis de Máster. Cornell University, Ithaca, NY, EE.UU. 198 pp.
- Golini VI, Davies DM. 1971. Upwind orientation of female *Simulium venustum* Say (Diptera) in Algonquin Park, Ontario. *Proceedings of the Entomological Society of Ontario*. 101: 49-54.
- Golini VI, Davies DM. 1975a. Relative response to colored substrates by ovipositing blackflies (Diptera: Simuliidae). I. Oviposition by *Simulium (Simulium) verecundum* Stone and Jamnback. *Canadian Journal of Zoology*. 53: 521-535.
- Golini VI, Davies DM. 1975b. Relative response to coloured substrates by ovipositing black-flies (Diptera, Simuliidae). II. Oviposition by *Simulium (Odagmia) ornatum* Meigen. *Norwegian Journal of Entomology*. 22: 89-94.
- González D. 1980. Escorpionisme en Espagne. En: Vène CR. *Colloque D'Arachnologie D'expression Française IX, 1979*. Barcelona. 83-86.
- González D. 1980. Primeres dades sobre la distribució dels Simuliidae (Diptera, Nematocera) d' Andorra. *Bulletí de la Institució Catalana d'Història Natural*. 45: 97-106.
- González D. 1981. *Ecología y sistemática de los Simúlidos y Quironómidos (Diptera) de la red hidrográfica andorrana*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Biología. Universidad de Barcelona. 224 pp.
- González D. 1982. Epidemiological and clinical aspects of certain venomous animals of Spain. *Toxicom*. 20: 985-928.
- González D, Boada M. 1981. Emponzoñamiento por mordedura y picadura de artrópodos en España. *Medicina Integral*. 2: 413-416.
- González G. 1985. Distribución de los Simuliidae (Diptera) en dos ríos de régimen mediterráneo afectados por la contaminación: Besós y Foix. *Boletín da Sociedade Portuguesa de Entomología*. 4(1): 187-196.



- González G. 1990. *Sistemática y ecología de los Simuliidae (Diptera) de los ríos de Catalunya y de otras cuencas hidrográficas españolas*. Tesis de Licenciatura. Departamento de Ecología. Facultad de Biología. Universidad de Barcelona. 451 pp.
- González G. 1997. *Claves para la identificación de las larvas y pupas de los simúlidos (Diptera) de la Península Ibérica*. Asociación Española de Limnología, Barcelona. 77 pp.
- González G, Ferreras M, García A. 1986. Introducción al estudio de los simúlidos (Diptera) de Sierra Morena (Sur de España): Río Yeguas. *Actas de las VIII Jornadas Asociación Española de Entomología*. 29-30 septiembre y 1-3 octubre 1986. Sevilla. 1279 pp.
- González G, González Tanago M, García de Jalón D. 1987. Los Simúlidos (Diptera) de los ríos Guadalhorce y Guadiaro (Málaga, SE España). *Actas IV Congreso Español Limnología*. Sevilla. 233-242.
- Gornostaeva RM. 1976. Phenology, seasonal prevalence, swarming and copulation of *Sulcicnephia tungus* Rubz. (Diptera, Simuliidae) in the southern Krasnoyarsk region. *Meditsinskaya Parazitologiya i Parazitarnye Bolezni*. 45: 31-35.
- Gräfner G, Merkbälter NR. 1981. 26 über angewandte parasiten kunde und Schädlingsbekämpfung Kriebelmücken (Simuliidae). *Angewandte Parasitologie*. 22: 1-16.
- Gray EW, Adler PH, Noblet R. 1996. Economic impact of black flies (Diptera: Simuliidae) in South Carolina and development of a localized suppression program. *Journal of the American Mosquito Control Association*. 12 (4): 676-678.
- Grenier P. 1953. Simuliidae de France et d'Afrique du Nord. *Encyclopedia of Entomology*. 29: 1-170.
- Grenier P, Bertrand H. 1954. Simuliidae d'Espagne. *Annales de Parasitologie*. XXIV(4): 447-459.
- Grenier P, Dorier A. 1959. Deux Simulies nouvelles (*S. bertrandi* n. sp. et *S. carthusiense* n. sp.) du groupe *latipes*, récoltées en France et en Espagne. *Travaux de Laboratoire d'Hydrobiologie et de Pisciculture de l'Université de Grenoble*. 49(50): 205-223.
- Grillet ME, Basáñez MG, Vivas-Martinez S, Villamizar N, Frontado H, Cortez J, Coronel P, Botto C. 2001. Human onchocerciasis in the Amazonian area of southern Venezuela: spatial and temporal variations in biting and parity rates of black fly (Diptera: Simuliidae) vectors. *Journal Medical Entomology*. 38(4): 520-530.
- Grillet ME, Villamizar NJ, Cortez J, Frontado HL, Escalona M, Vivas-Martinez S, Basáñez MG. 2005. Diurnal biting periodicity of parous *Simulium* (Diptera: Simuliidae) vectors in the onchocerciasis Amazonian focus. *Acta Tropica*. 94(2): 139-158.
- Gudgel EF, Grauer FH. 1954. Acute and chronic reactions to blackfly bites (*Simulium* fly). *A.M.A. Archives of Dermatology and Syphilology*. 70: 609-615.
- Grunewald J. 1976. The hydro-chemical and physical conditions of the environment of the immature stages of some species of the *Simulium (Edwardsellum) damnosum* complex (Diptera). *Tropenmedizin und Parasitologie* 27: 438-454.
- Guillet P, Escaffre M, Ouedraogo M, Quillévéré D. 1980. Mise en évidence d'une résistance au téméphos dans le complexe *Simulium damnosum* [*S. sanctipauli* et *S. soubrense*] en Côte d'Ivoire. (Zone du programme de lutte contre l'onchocercose dans la région du bassin de la Volta). *Cahier ORSTOM, serie entomologie medicale et parasitologie*. 18: 291-299.
- Guillet P, Mouchet J, Grebaut S. 1977. DDT resistance in *Simulium damnosum* s.l. (Diptera, Simuliidae) in West Africa. *Bulletin of the World Health Organization*. 77.678. 7 pp.
- Guttman D. 1967. *Cephalic fan structure as an aid in the identification of black fly larvae (Diptera: Simuliidae)*. Tesis de Máster. Cornell University, Ithaca, NY, EE.UU. 107 pp.
- Haggart DA, Davis EE. 1980. Ammonia-sensitive neurons on the first tarsi of the tick *Rhipicephalus sanguineus*. *Journal of Insect Physiology*. 26: 517-523.
- Halgoš J, Jedlička L. 1971. The black flies (Diptera, Simuliidae) attacking horses in the environs of Bratislava. *Biologia*. 26(5): 431-433.
- Hallem EA, Dahanukar A, Carlson JR. 2006. Insect odor and taste receptors. *Annual Review of Entomology*. 51: 113-135.



- Ham PJ, Bianco AE. 1983. Development of *Onchocerca volvulus* from cryopreserved microfilariae in three temperate species of laboratory-reared blackflies. *Tropenmed Parasitology*. 34(2): 137-139.
- Ham PJ, Bianco AE. 1984. Maintenance of *Simulium Wilhelmsia lineatum* Meigen and *Simulium erythrocephalum* de Geer through successive generations in the laboratory. *Canadian Journal of Zoology*. 62: 870-877.
- Hansford RG, Ladle M. 1979. The medical importance and behaviour of *Simulium austeni* Edwards (Diptera: Simuliidae) in England. *Bulletin of Entomological Research*. 69: 33-41.
- Hartberg WK. 1971. Observations on the mating behaviour of *Aedes aegypti* L nature. *Bulletin of the World Health Organization*. 45: 847-850.
- Hartberg WK, Craig GB. 1968. Reproductive isolation in *Stegomyia* mosquitoes. I. Sexual isolation between *Aedes aegypti* and *A. mascarensis*. *Annals of the Entomological Society of America*. 61: 865-870.
- Haze S, Gozu Y, Nakamura S, Kohno Y, Sawano K, Ohta H, Yamazaki K. 2001. 2-Nonenal newly found in human body odor tends to increase with aging. *Journal Investigate Dermatology*. 116(4): 520-524.
- Hechler J, Rühm W. 1983. Licht und elektronmikroskopische Untersuchungen über das "Lutz'sche Organ" der Simuliiden (Diptera, Simuliidae). *Mitteilungen aus den hamburgischen zoologischen Museum und Institut*. 80: 231-249.
- Hellgren O, Bensch S, Malmqvist B. 2008. Bird hosts, blood parasites and their vectors - associations uncovered by molecular analyses of blackfly blood meals. *Molecular Ecology*. 17(6): 1605-1613.
- Hernández-Triana LM. 2011. *Systematics of the blackfly subgenus Trichodagmia Enderlein (Diptera: Simuliidae: Simulium) in the New World*. Tesis Doctoral. Wageningen University, Holanda. ix + 536 pp.
- Hii JLK, Birley MH, Sang VY. 1990. Estimation of survival rate and oviposition interval of *Aedes balabacensis* mosquitoes from mark-recapture experiments in Sabah, Malaysia. *Medical and Veterinary Entomology*. 4: 135-140.
- Hocking B, Pickering LR. 1954. Observations on the bionomics of some northern species of Simuliidae (Diptera). *Canadian journal of Zoology*. 32: 99-119.
- Hoerauf A, Buttner DW. 2003. Onchocerciasis. *British Medical Journal*. 326: 207-210.
- Holmes PR, Birley MH. 1987. An improved method for survival rate analysis from time series of haematophagous dipteran populations. *Journal of Animal Ecology*. 56: 427-440.
- Hougard JM, Back C. 1992. Perspectives on the bacteriological control of vectors in the tropics. *Parasitology Today*. 8: 364-366.
- Howse P, Stevens DR, Jones OT. 1998. Insect semiochemicals and communication. Springer, Países Bajos. xi + 369 pp.
- Hribar LJ, Foil LD. 1991. Increasing horse fly (Diptera: Tabanidae) catch in canopy traps by reducing ultraviolet light. *Journal of Medical Entomology*. 28: 874-877.
- Hunter DM. 1979. Swarming, mating and resting behaviour of three species of black fly (Diptera: Simuliidae). *Journal of the Australian Entomological Society*. 18: 1-6.
- Hunter DM, Moorhouse DE. 1976. Sexual mosaics and mermithid parasitism in *Austrosimulium bancrofti* (Tayl.) (Diptera, Simuliidae). *Bulletin of Entomological Research*. 65: 549-553.
- Hynes HBN. 1970. The ecology of stream insects. *Annual Review of Entomology*. 15: 25-42.
- Ilmonen J, Adler H, Malmqvist B, Cywinska A. 2009. The *Simulium venum* group (Diptera: Simuliidae) in Europe: multiple character sets for assessing species status. *Transactions of the Linnean Society of London*. 156: 847-853.
- Ignjatović-Ćupina A. 2011. *Fauna simulida (Diptera: Simuliidae) pribrežja Fruške gore. (Black fly fauna (Diptera: Simuliidae) of the Fruška gora foothills)*. Tesis Doctoral. University of Novi Sad, Serbia. lxxiii + 372 pp.
- Ignjatović-Ćupina A, Zgomba M, Vujanović LJ, Konjević A, Marinković D, Petrić D. 2006a. An outbreak of *Simulium erythrocephalum* (De Geer, 1776) in the region of Novi Sad (Serbia) in 2006. *Acta Entomologica Serbica*. Suppl: 97-114.
- Ignjatović-Ćupina A, Petrić D, Zgomba M, Konjević A, Grabovac S, Marinković D. 2006b. Estimating the biting risk to humans by the black fly species that are most abundant in the region of Novi Sad



- (Vojvodina Province, Serbia and Montenegro). En: Werner D. (Ed), *Papers on the taxonomy, ecology and biology of black flies (Diptera: Simuliidae)*. *Studia Dipterologica*. Suppl 14: 31-44.
- Ignjatović Ćupina A, Zgomba M, Marinković D, Petrić D. 2010. Bioecology of *S. erythrocephalum* (De Geer, 1776) and control strategy in the region of Novi Sad (Vojvodina, Serbia). En: Sualp Caglar S, Ipekdal K (Eds). *Book of abstracts of 4th International Simuliidae Symposium including the 31st British Simuliid Group Meeting and the 8th European Simuliidae Symposium EMCA Blackfly Working Group*. 12-15 octubre 2010. Hacettepe University Biodiversity Research and Application Center, Antalya, Turquía. 39 pp.
- Ignjatović-Ćupina A, Petrić D, Zgomba M, Marinković D, Konjević A. 2013. Black flies (Diptera: Simuliidae) of the Fruška Gora Mountain. En: Šimić S (Ed), *Invertebrates (Invertebrata) of the Fruška Gora Mountain*. Matica Srpska, Novi Sad. 125-163.
- Jacquin-Joly E, Merlin C. 2004. Insect olfactory receptors: contributions of molecular biology to chemical ecology. *Journal of Chemical Ecology*. 30: 2359-2397.
- Jamnback H. 1969. Bloodsucking flies and other outdoor nuisance arthropods of New York State. *New York State Museum and Science Service Memoir*. 19: 1-90.
- Jamnback H. 1973. Recent developments in control of Blackflies. *Annual Review of Entomology*. 18: 281-304.
- Jamnback H. 1976. *Simuliidae (blackflies) and their control*. World Health Organization, WHO/VBC/76.653. iv + 68 pp.
- Jamnback H. 1981. The origins of blackfly control programmes. En: Laird M (Ed), *Blackflies: the future for biological methods in integrated control*. Academic Press, New York and London. 71-73.
- Jedlička L. 1996: A synopsis of blackfly fauna of Slovakia (Diptera, Simuliidae). *Acta Zoologica Universitatis Comenianae*. 40: 49-67.
- Jedlička L, Halgoš J. 1971. The black flies (Diptera, Simuliidae) attacking horses in the environs of Bratislava. *Biologia*. 26(5): 431-433.
- Jedlička L, Halgoš J. 1982. Daily biting rate of black flies on horses in the Danubian lowlands (Diptera, Simuliidae). *Wiadomości Parazytologiczne*. 28: 1-2.
- Jedlička L, Kúdela M, Stloukalova V. 2004. Key to the identification of blackfly pupae (Diptera: Simuliidae) of Central Europe. *Biologia*. 59 (Suppl. 15): 157-178.
- Jell PA, Duncan PM. 1986. Invertebrates, mainly insects, from the freshwater, Lower Cretaceous, Koonwarra Fossil Bed (Korumburra Group), South Gippsland, Victoria. *Memoirs of the Association of Australasian Palaeontologists*. 3: 111-205.
- Jensen F. 1984. A revision of the taxonomy and distribution of the Danish black-flies (Diptera: Simuliidae), with keys to the larval and pupal stages. *Natura Jutlandica Natural History Museum Aarhus*. 21: 69-116.
- Jensen F. 1997. Diptera Simuliidae, Blackflies. En: Nilsson A (Ed), *Aquatic insects of North Europe. A Taxonomic Handbook. Volume 2*. Apollo Books, Stenstrup. 209-241.
- Jiménez Cisneros BE. 2001. *La contaminación ambiental en México: causas, efectos y tecnología apropiada*. Limusa, México. 926 pp.
- Jones JC, Pilitt DR. 1973. Observations on the sexual behavior of free-flying *Aedes aegypti* mosquitoes. *The Biological Bulletin*. 144: 480-488.
- Joubert L, Monet P. 1975. Vérification expérimentale du rôle des simulides *Testisimulium bezzii* y *Odagmia* groupe *ornatum* dans la transmission du virus Mysomateux en Haute-Provence. *Revista de Medicina Veterinaria*. 126: 617-634.
- Kar S, Dongre A, Krishman A, Godse S, Singh N. 2013. Epidemiological study of insect bite reactions from Central India. *Indian Journal of Dermatology*. 58: 337-341.
- Kettle DS, Linley JR. 1967. The biting habits of *Leptoconops bequaerti*. I. Methods; standardization of technique; preferences for individuals, limbs and positions. *Journal of Applied Ecology*. 4: 379-395.
- Kirschfeld K, Wenk P. 1976. The dorsal compound eye of Simuliid flies: an eye specialized for the detection of small, rapidly moving objects. *Zeitschrift für Naturforschung*. 31.c: 764-765.
- Kirschfeld K, Vogt K. 1986. Does retinol serve a sensitizing function in insect photoreceptors? *Vision Research*. 26: 1771-1777.



- Klion AD, Nutman TB. 1999. Loiasis and *Mansonella* infections. En: Guerrant RL, Walker DH, Weller PF (Eds), *Tropical Infectious Diseases: Principles, Pathogens, and Practice*. Churchill Livingstone, Philadelphia. 861-872.
- Knoz J. 1965. To identification of Czechoslovakian black-flies (Diptera, Simuliidae). *Folia Facultatis Scientiarum Naturalium Universitatis Purkynianae Brunensis*. 6: 1-54.
- Komnick H. 1977. Chloride cells and chloride epithelia of aquatic insects. *International Review of Cytology*. 49: 285-329.
- Kriska G, Bernáth B, Farkas R, Horváth G. 2009. Degrees of polarization of reflected light eliciting polarotaxis in dragonflies (Odonata), mayflies (Ephemeroptera) and tabanid flies (Tabanidae). *Journal of Insect Physiology*. 55: 1167-1173.
- Krstić A. 1966. Dermatitis ex insectis (*Simulium erythrocephalum*). *Medicinski Pregled*. 19: 17-19.
- Kúdela M, Brúderová T, Jedlička L, Bernotienė R, Celec P, Szemes T. 2014. The identity and genetic characterization of *Simulium reptans* (Diptera: Simuliidae) from central and northern Europe. *Zootaxa*. 3802: 301-317.
- Kúdela M, Adler PH, Tatiana Kúdelová T. 2018. Taxonomic status of the black fly *Prosimulium italicum* Rivosecchi (Diptera: Simuliidae) based on genetic evidence. *Zootaxa*. 4377(2): 280-290.
- Kurtak DC. 1979. Food of black fly larvae (Diptera: Simuliidae): seasonal changes in gut contents and suspended material at several sites in a single watershed. *Quaestiones Entomologicae*. 15: 357-374.
- Kurtak D, Ouedraogo M, Ocran M, Télé B, Guillet P. 1982. Preliminary note on the appearance in Ivory Coast of resistance to chlorphoxim in *Simulium soubrense/sanctipauli* larvae already resistant to temephos (Abate®). *Bulletin of the World Health Organization*. 82.850, 12 pp.
- Kurtak DC, Grunewald J, Baldry DAT. 1987. Control of black fly vectors of onchocerciasis in Africa. En: Kim KCH, Merrit RW (Eds), *Black flies ecology, population management, and annotated world list*. Pennsylvania State University, University Park & London. 341-362.
- Lacey LA, Mulla MS. 1980. Observations on the biology and distribution of *Simulium tescorum* (Diptera: Simuliidae) in California and adjacent areas. *Pan-Pacific Entomologist*. 56: 323-331.
- Lacey LA, Undeen AH. 1987. The biological control potential of pathogens and parasites of black flies. En: Kim KCH, Merrit RW (Eds), *Black flies: ecology, population management, and annotated world list*. Pennsylvania State University, University Park & London. 327-340.
- Lánský P, Getz WM. 2001. Receptor heterogeneity and its effect on sensitivity and coding range in olfactory sensory neurons. *Bulletin of Mathematical Biology*. 63(5): 885-908.
- Laird M (Ed). 1981. *Blackflies: The Future for Biological Methods in Integrated Control*. Academic Press, New York. 399 pp.
- Lastra, 2017. Alarma por la mosca negra en La Rioja. *La Rioja*, 21 julio 2017. Disponible el 21/7/2017 en URL: <http://www.larioja.com/la-rioja/ejercito-oscurо-crece-20170721000610-ntvo.html>
- Lawrence E. 2003. *Diccionario Akal de términos biológicos*. Ediciones Akal S. A. Tres Cantos, Madrid. 688 pp.
- Le Berre R. 1966. Contribution a l'étude biologique et écologique de *Simulium damnosum* Theobald, 1903 (Diptera: Simuliidae). *Memoire de l'ORSTOM*. 17: xv + 1-204.
- Lechthaler W, Car M. 2004. Digital keys for biological indicators, part I, Simuliidae: presentation of a key to larvae and pupae from Central and Western Europe. *Acta Zoologica Universitatis Comenianae*. 46(1): 39-44.
- Leclercq M. 1987. Attaques massives des animaux et de l'homme par les simulies (Diptères). *Revue Médicale de Liège*. 42: 327-334.
- Lehane MJ, Laurence BR. 1978. Development of the calyx and lateral oviduct during oogenesis in *Aedes aegypti*. *Cell and Tissue Research*. 193: 125-137.
- Lehane MJ. 1985. Determining the age of an insect. *Parasitology Today*. 1: 81-85.
- Lehane MJ, Mail TS. 1985. Determining the age of adult male and female *Glossina morsitans morsitans* using a new technique. *Ecological Entomology*. 10: 219-224.
- Lestón V. 2012. *Biología y ecología de los simúlidos (Diptera: Simuliidae) del río Serpis (Alicante)*. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela. 301 pp.



- Lestón V, Díaz J, Quierce C, Cobo F. 2013. Los Simuliidae (Diptera) de la cuenca del río Serpis (SE, España). Estudio faunístico. *Boletín de la Asociación Española de Entomología*. 37 (3-4): 285-299.
- Lestón V, Díaz J, Cobo F. 2014a. Contribución al conocimiento faunístico de los Simuliidae (Insecta, Diptera) de Galicia (NO España). *Boletín de la Asociación Española de Entomología*. 38 (1-2): 157-172.
- Lestón V, Díaz J, Quierce Vázquez C, Cobo F. 2014b. Distribución y selección de sustrato de los Simuliidae (Diptera) en el tramo medio del río Serpis (sureste de España). *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*. 55: 153-158.
- Lewis DJ. 1953. *Simulium damnosum* and its relation to onchocerciasis in the Anglo-Egyptian Sudan. *Bulletin of Entomological Research*. 43: 597-644.
- Lewis DJ, Bennett GF. 1975. The blackflies (Diptera: Simuliidae) of insular Newfoundland. III. Factors affecting the distribution and migration of larval simuliids in small streams on the Avalon Peninsula. *Canadian Journal of Zoology*. 53: 114-123
- Li YY, Wang G, Li HM, Zhong JJ, Tang YJ. 2012. Volatile organic compounds from a *Tuber melanosporum* fermentation system. *Food Chemical*. 135(4): 2628-2637.
- Lokimica. 2017. El mosquito tigre es, por primera vez, el principal insecto picador a gran escala en el mediterráneo peninsular. Disponible el 17/11/2017 en URL: <https://www.lokimica.com/el-mosquito-tigre-se-posiciona-por-primera-vez-como-el-principal-insecto-picador-gran-escala-en-el-mediterraneo-peninsular/>
- Logan JG, Birkett MA, Clark SJ, Powers S, Seal NJ, Wadhams LJ, Mordue AJ, Pickett JA. 2008. Identification of human-derived volatile chemicals that interfere with attraction of *Aedes aegypti* mosquitoes. *Journal of Chemical Ecology*. 34: 308-322.
- López-Peña D, Jiménez-Peydró R. 2016a. Water mites (Acari: Hydrachnidia) parasites and predators of Simuliidae in the Mijares river (Castellón-España). En: Ruiz Arrondo I, de Blas Giral I (Eds), *Book of abstracts of VII International Simuliidae Symposium*. 5-8 septiembre 2016, Zaragoza. Universidad de Zaragoza-CIBIR. 44 pp.
- López-Peña D, Jiménez-Peydró R. 2016b. Study of several species of black fly (Diptera, Simuliidae) in the *equinum* group in three rivers of Valencian community, España. En: Ruiz Arrondo I, de Blas Giral I (Eds), *Book of abstracts of VII International Simuliidae Symposium*. 5-8 septiembre 2016, Zaragoza. Universidad de Zaragoza-CIBIR. 44 pp.
- López-Peña D, Jiménez-Peydró R. 2016c. Effect of altitude on Simuliidae species richness in rivers of Valencian autonomous region. *Book of abstracts of 20th European Society for Vector Ecology Conference 2016*. 3-7 octubre 2016. Lisboa, Portugal. 216 pp.
- López-Peña D, Jiménez-Peydró R. 2016d. Substrate preference by inmatures phases of blackflies (Diptera: Simuliidae) in rivers of valencian autonomous region. *Book of abstracts of 20th European Society for Vector Ecology Conference 2016*. 3-7 octubre 2016. Lisboa, Portugal. 216 pp.
- López-Peña D, Jiménez-Peydró R. 2017a. Contribución al conocimiento de las moscas negras (Diptera, Simuliidae) en la cuenca hidrográfica del Júcar. *Boletín de la Asociación Española de Entomología*. 41(1-2): 167-196.
- López-Peña D, Jiménez-Peydró R. 2017b. New data of the black flies (Diptera, Simuliidae) in the Júcar river basin (Valencia autonomous region, East of España). *Book of abstracts of VIIIth EMCA Conference*. 12-16 marzo 2017. Bečići, Budva, Montenegro. 125 pp
- López-Peña D, Jiménez-Peydró R. 2017c. Updated checklist and distribution maps of blackflies (Diptera: Simuliidae) of Spain. *The Simuliid Bulletin*. 48: 1-45.
- Lowther JK, Wood DM. 1964. Specificity of a black fly, *Simulium euryadminiculum* Davies, towards its host, the common loon. *The Canadian Entomologist*. 96: 911-913.
- Lunsford CJ. 1949. Flea problem in California. *Archives of Dermatology and Syphilology*. 60: 1184-1202.
- Lüthy P, Studer D. 1986. Control of simuliid blackflies and mosquitoes with *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*. *Journal of Applied Microbiology and Biotechnology*. 2: 91-99.
- Macdonald G. 1952. The analysis of the sporozoite rate. *Tropical Diseases Bulletin*. 49: 569-586.
- Macdonald G. 1957. *The Epidemiology and Control of Malaria*. Oxford University Press, London. 201 pp.



- Malmqvist B, Strasevicius D, Hellgren O, Adler PH, Bensch S. 2004. Vertebrate host specificity of wild-caught blackflies revealed by mitochondrial DNA in blood. *Proceedings of the Royal Society of London B*. 271(Suppl): S152-S155.
- Marcondes CB. 2017. Arthropod-Borne Diseases and History. En: Marcondes CB (Ed), *Arthropod Borne Diseases*. Springer, Cham. 35-46.
- Marquardt WC (Ed). 2005. *Biology of Disease Vectors*. 2nd edition. Elsevier Academic Press, San Diego. 816 pp.
- Mare C.J. 1998. Vesicular stomatitis: ecology of the disease in the USA. What do we know? What do we believe? *Conference Handbook Abstracts-Eighth International Conference on Equine Infectious Diseases*. 23- 26 marzo 1998. Dubai, Emiratos Arabes Unidos.
- Marqués E. 2012. Causas de la expansión de los simúlidos. El ejemplo de los simúlidos del río Ter. *Jornada Técnica: Los simúlidos, situación actual: problemas y soluciones*. 8 marzo 2012. Zaragoza. Disponible el 17/12/2017 en URL: http://www.zaragoza.es/contenidos/IMSP/Eduard_Marques.pdf
- Martínez Ruiz RE. 1996. *Estudio faunístico y ecológico de los simúlidos (Diptera, Simuliidae) de Extremadura*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Biología. Universidad de Salamanca. 264 pp.
- Martínez Ruiz RE, Portillo M. 1999. Faunistic and Ecological study of Simuliid (Blackflies) (Diptera: Simuliidae) in a zone in Southeast España. In Contributions to the knowledge of Diptera. *Memories on Entomology International*. 14: 605-623.
- McClelland GAH, Conway GR. 1971. Frequency of blood feeding in the mosquito *Aedes aegypti*. *Nature*. 232: 485-486.
- Mckiel JA, West AC. 1961. Insect bite reaction. *Pediatric Clinics of North America*. 8: 795.
- Mciver SB, Sutcliffe JF. 1987. Sensory basis of behavior and structural adaptations for feeding in black flies. En: Kim KCH, Merritt RW (Eds), *Black flies: ecology, population management, and annotated world list*. Pennsylvania State University, University Park & London. 228-249.
- Mebazaa R, Mahmoudi A, Rega B, Ben Cheikh R, Camel V. 2010. Analysis of human male armpit sweat after fenugreek ingestion: instrumental and sensory optimization of the extraction method. *Food Chemistry*. 120: 771-782.
- Medeiros JF, Daniel V. 2004. Seasonality, parity rates and transmission indices of *Mansonella ozzardi* (Manson) (Nematoda: Onchocercidae) by *Cerqueirellum argentiscutum* (Shelley & Luna Dias) (Diptera: Simuliidae) in a lower Solimões River community, Amazonas, Brazil. *Acta Amazonica*. 34: 201-207.
- Medina MJ, Gómez P. 2014. *Informe sobre el problema de los simúlidos en el río Henares a su paso por Torrejón de Ardoz*. 7 pp.
- Meijerink J, Van Loon JJA. 1999. Sensitivities of antennal olfactory neurons of the malaria mosquito, *Anopheles gambiae*, to carboxylic acids. *Journal of Insect Physiology*. 45: 365-373.
- Meijerink J, Braks MAH, Van Loon JJA. 2001. Olfactory receptors on the antennae of the malaria mosquito *Anopheles gambiae* are sensitive to ammonia and other sweat-borne components. *Journal of Insect Physiology*. 47: 455-464.
- Mellanby K. 1946. Man's reaction to mosquito bites. *Nature*. 158: 554.
- Mer GG. 1936. Experimental study on the development of the ovary in *Anopheles elutus*, Edw. (Dipt. Culic.). *Bulletin of Entomological Research*. 27: 351-359.
- Mercer KL, Mciver SB. 1973. Studies on the antennal sensilla of selected blackflies (Diptera: Simuliidae). *Canadian Journal of Zoology*. 51: 729-734.
- Merritt RW, Ross DH, Peterson BV. 1978. Larval ecology of some Lower Michigan black flies (Diptera: Simuliidae) with keys to the immature stages. *Great Lakes Entomologist*. 11: 177-208.
- Mikhailyuk AP. 1967. Study of the biology of the causative agent of cattle onchocerciasis in forest-steppe zone conditions of the Ukrainian SSR. *Veterinariya*. 11: 62-67.
- Milby MM, Reisen WK. 1989. Estimation of vectorial capacity: vector survivorship. *Bulletin of the Society of Vector Ecologists*. 14: 47-54.
- Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. 2014. *Clasificación Internacional de Enfermedades. 9ª Revisión Modificación Clínica*. 1602 pp. Disponible el 28/12/2017 en URL: https://www.msssi.gob.es/estadEstudios/estadisticas/docs/CIE9MC_2014_def_accesible.pdf



- Miquel M, del Río R, Borrás D, Barceló C, Paredes-Esquivel C, Lucientes J, Miranda MA. 2013. First detection of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in the Balearic Islands (Spain) and assessment of its establishment according to the ECDC guidelines. *Journal of the European Mosquito Control Association*. 31: 8-11.
- Molineaux L, Shidrawi GR, Clarke JL, Boulzaguet R, Ashkar T, Dietz K. 1976. The impact of propoxur on *Anopheles gambiae* s.l. and some other anopheline populations, and its relationship with some pre-spraying variables. *Bulletin of World Health Organization*. 54: 379-389.
- Molineaux L, Shidrawi GR, Clarke JL, Boulzaguet R, Ashkar T. 1979. Assessment of insecticidal impact of the malaria mosquito's vectorial capacity, from data on the man-biting rate and age-composition. *Bulletin of World Health Organization*. 57: 265-274.
- Moorhouse DE, Colbo MH. 1973. On the swarming of *Austrosimulium pestilens* Mackerras and Mackerras (Diptera: Simuliidae). *Journal of the Australian Entomological Society*. 12: 127-130.
- Monzón-Muñoz FJ, Blasco-Gil RM. 1997. Patología causada por artrópodos de interés toxinológico y alergológico. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*. 20: 193-215.
- Moya Alonso L, Murdoch ME, Jofre-Bonet M. 2009. Evaluación psico-social y económica de la oncocercosis. Una revisión bibliográfica. *Medicina Social*. 4 (Supl. 5): 9-34.
- Moya Alonso L, Alvar J. 2010. Stigmatizing neglected tropical diseases: a systematic review. *Social Medicine*. 5(4): 218-227.
- Mullen G, Durden L. 2002. *Medical and Veterinary Entomology*. Academic Press, Boston. 597 pp.
- Musteata FM, Pawliszyn J. 2007. *In vivo* sampling with solid phase microextraction. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*. 70: 181-193.
- Mutero C, Birley M. 1987. Estimation of the survival rate and oviposition cycle of field populations of malaria vectors in Kenya. *Journal of Applied Ecology*. 24: 853-863.
- Myburgh E, Nevill EM. 2003. Review of blackfly (Diptera: Simuliidae) control in South Africa. *The Onderstepoort Journal of Veterinary Research*. 70: 307-317.
- Najera JA. 1974. A critical review of the field application of a mathematical. Model of malaria transmission. *Bulletin of the World Health Organization*. 50: 449-457.
- Natsch A, Derrer S, Flachsmann F, Schmid J. 2006. A broad diversity of volatile carboxylic acids, released by a bacterial aminoacylase from axilla secretions, as candidate molecules for the determination of human-body odor type. *Chemistry & Biodiversity*. 3: 1-20.
- Navarro LA, Peláez A. 1998. Epidemiología de las muertes por picaduras de insectos himenópteros en España. *Revista Española de Alergología e Inmunología Clínica*. 5: 294-295.
- Nelson RL. 1964. Parity in winter populations of *Culex tarsalis* Coquillett in Kern County, California. *American Journal of Hygiene*. 80: 242-253.
- Neveu A. 1973. Le cycle de développement des Simuliidae (Diptera) d' un ruisseau des Pyrénées-Atlantiques, Le Lissuraga. *Annales d' hydrobiologie*. 4(1): 51-75.
- Neville AC. 1963. Daily growth layers for determining the age of grasshopper populatons. *Oikos*. 14: 1-8.
- Newman E. 1834. Attempted division of British insects into natural orders. *Entomological Magazine*. 2: 379-431.
- Nichols AS, Chen SS, Luetje CW. 2011. Subunit contributions to insect olfactory receptor function: channel block and odorant recognition. *Chemical Senses*. 36: 781-790.
- Nicholson HP, Mickel CE. 1950. The black flies of Minnesota (Simuliidae). *University of Minnesota Agricultural Experiment Station Technical Bulletin*. 192: 1-64.
- Noblet R, Kissam JB, Adkins TR Jr. 1975. *Leucocytozoon smithi*: incidence of transmission by black flies in South Carolina (Diptera: Simuliidae). *Journal of Medical Entomology*. 12: 111-114.
- Noirtin C, Boiteux P, Guillet P, Dejoux C, Beaucorurnu-Saguez F, Mouchet J. 1981. Les simulies, nuisance pour le bétail dans les Vosges: les origines de leur pullulation et les méthodes de lutte. *Cahier ORSTOM, serie entomologie medicale et parasitologie*. 19(2): 101-112.
- Obregón R, Jordano D, Villar R, Kúdelová T, Kúdela M, Jedlička L, Flores E. 2016a. Monitoring of simuliidae populations and evaluation of treatment effectiveness in the Guadalquivir River Valley (southern



- Spain). En: Ruiz Arrondo I, de Blas Giral I (Eds), *Book of abstracts of VII International Simuliidae Symposium*. 5-8 septiembre 2016, Zaragoza. Universidad de Zaragoza-CIBIR. 44 pp.
- Obregón R, Jordano D, Villar R, Flores E. 2016b. Implementation of a Simuliidae (Diptera, Nematocera) monitoring and control program in Córdoba (southern Spain). En: Ruiz Arrondo I, de Blas Giral I (Eds), *Book of abstracts of VII International Simuliidae Symposium*. 5-8 septiembre 2016, Zaragoza. Universidad de Zaragoza-CIBIR. 44 pp.
- Obregón R, Jordano D, Villar R, Kúdelová T, Kúdela M, Jedlička L, Flores E. 2017. Ecological factors influencing Simuliidae species distribution and *Bti* control in a network of peripheral streams in the Guadalquivir river valley (southern Spain). *Book of abstracts of VIIIth EMCA Conference*. 12-16 marzo 2017. Bečići, Budva, Montenegro. 125 pp.
- O'Connell RJ. 1975. Olfactory receptor responses to sex pheromone components in the redbanded leafroller moth. *The Journal of General Physiology*. 65(2): 179-205.
- Oka K, Ohtaki N. 1989. Clinical observations of mosquito bite reactions in man: a survey of the relationship between age and bite reaction. *The Journal of Dermatology*. 16: 212-219.
- Ortiz A. 2014. Electrophysiological (EAG) responses of *Simulium* spp to human skin volatiles. En: Simone C (Ed), *Book of abstracts of VI international Simuliidae Symposium*. 16-19 septiembre 2014. Torino, Italia.
- Ortiz A, Ruiz-Arrondo I, Martínez Durán D. 2016. Electroantennogram responses of two simuliid species (Diptera, Simuliidae) to host-specific sweat components. En: Ruiz Arrondo I, de Blas Giral I (Eds), *Book of abstracts of VII International Simuliidae Symposium*. 5-8 septiembre 2016, Zaragoza. Universidad de Zaragoza-CIBIR. 44 pp.
- Oteo JA, Mariví E, Martínez de Artola V, Antuñano P. 1990. Parálisis por mordedura de garrapata. *Medicina Clínica*. 94: 275-276.
- Ovuga EBL, Okello DO, Ogwal-Okeng JW. 1995. Psychological aspects of onchocercal skin disease in Nebbi District, Uganda. *East African Medical Journal*. 72: 295-298.
- Palau A, Palomes A. 1986. Los macroinvertebrados bentónicos como elementos de juicio para la evaluación de la calidad biológica del río Segre (Lérida, N.E. España). *Limnetica*. 2: 205-215.
- Palmer RW. 1997. *Principles of integrated control of black flies (Diptera: Simuliidae) in South Africa*. South Africa: Water Research Commission. Report Nº. 65 (J/J/97). 31 pp.
- Palomar AM, Portillo A, Santibáñez P, Mazuelas D, Arizaga J, Crespo A, Gutiérrez O, Cuadrado JF, Oteo JA. 2013. Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus in Ticks from Migratory Birds, Morocco. *Emerging Infectious Diseases*. 19(2): 260-263.
- Palomar AM, Eraso S, Martínez-Quintana C, Portillo A, Oteo JA. 2017. Dermatitis pruriginosa por ectoparasitación por betílidos. Descripción de dos brotes familiares y aproximación al agente causal. *Libro de ponencias del XXI Congreso de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y de Microbiología Clínica (SEIMC)*. 11-13 mayo 2017. Málaga.
- Papay D, Szabo JB, Tarjanyi I. 1971. A *Boopthora erythrocephala* de Geer, 1776 (Diptera, Simuliidae) tömeges egézségkárosító rajzása az 1970 évi tiszai árvíz alkalmával Szolnok megyében. *Parazitologia Hungarica*. 4: 181-188.
- Park KC, Ochieng SA, Zhu J, Baker TC. 2002. Odor discrimination using insect electroantennogram responses from an insect antennal array. *Chemical Senses*. 27: 343-352.
- Pastrana J, Blasco R, Erce R, Pinillos MA. 2003. Picaduras y mordeduras de animales. Animal sting and bites. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*. 26(Supl. 1): 225-242.
- Peterson BV. 1959. Observations on mating, feeding, and oviposition of some Utah species of black flies (Diptera: Simuliidae) 1. *The Canadian Entomologist*. 91: 147-155.
- Peterson BV. 1962. Observations on mating swarms of *Simulium venustum* Say and *Simulium vittatum* Zetterstedt (Diptera: Simuliidae). *Proceedings of the Entomological Society of Ontario*. 92: 188-190.
- Peyton EL. 1956. Biology of the Pacific Coast tree hole mosquito, *Aedes varipalpus* Coq. *Mosquito News*. 16: 220-224.



- Phayahasena S, Colgan DJ, Kuvangkadilok C, Pramual P, Baimai V. 2010. Phylogenetic relationships among the black fly species (Diptera: Simuliidae) of Thailand based on multiple gene sequences. *Genetica*. 138(6): 633-648.
- Polovodova VP. 1949. The determination of the physiological age of female *Anopheles* by the number of gonotrophic cycles completed. *Medskaya Parazitology*. 18:352-355.
- Porter CH, Collins RC. 1985. The gonotrophic cycle of wild *Simulium ochraceum* and the associated development of *Onchocerca volvulus*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 34: 302-309.
- Portillo A, Santibáñez S, Oteo JA. 2014. Lyme disease. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 32(Suppl 1): 37-42.
- Post RJ. 1982. Notes on the natural history of *Simulium (Boophthora) erythrocephalum* De Geer (Diptera: Simuliidae). *Entomologist's Monthly Magazine*. 118: 31-35.
- Post RJ. 1983. The annual cycle of *Simulium erythrocephalum* (Diptera: Simuliidae) at a site in Norfolk. *Freshwater Biology*. 13: 379-388.
- Prada PA, Furton KG. 2008. Human scent detection: a review of its developments and forensic applications. *Revista de Ciencias Forenses*. 1: 81-87.
- Prada PA, Curran AM, Furton KG. 2011. The evaluation of human hand odor volatiles on various textiles: a comparison between contact and noncontact sampling methods. *The Journal of Forensic Sciences*. 56(4): 866-881.
- Prat N, González G, Puig MA. 1983. *Predicció i control de la qualitat de les aigües dels rius Besòs i Llobregat. II: El poblament faunístic i la seva relació amb la qualitat de les aigües*. Monografies 9. Servei del medi ambient de la Diputació de Barcelona. 164 pp.
- Prat N, González G, Millet X, Puig MA. 1985. *El Foix, entre l'eixutesa i la contaminació*. Estudis i Monografies 11. Servei del medi ambient de la Diputació de Barcelona. 92 pp.
- Prugnolle F, Lefèvre T, Renaud F, Møller AP, Missé D, Thomas F. 2009. Infection and body odours: evolutionary and medical perspectives. *Infection, Genetics and Evolution*. 9(5): 1006-1009.
- Puig MA, González G, Soriano O. 1984. Introducción al estudio de las comunidades macrobentónicas de los ríos asturianos: Efemerópteros, Plecópteros, Tricópteros, Simúlidos y Quironómidos. *Limnetica*. 1: 187-196.
- Puig MA, González G, Recasens L. 1987. Modelos de distribución de Plecópteros, Efemerópteros, Tricópteros y Simúlidos en el río Ter. *Limnetica*. 3: 125-132.
- Qiu YT, Smallegange RC, Hoppe S, van Loon JJ, Bakker EJ, Takken W. 2004. Behavioural and electrophysiological responses of the malaria mosquito *Anopheles gambiae* Giles sensu stricto (Diptera: Culicidae) to human skin emanations. *Medical and Veterinary Entomology*. 18: 429-443.
- Raastad JE, Ussova ZV, Kuusela K. 2010. *Blackflies of Northern Europe (Diptera: Simuliidae)*. Version 1.0. CD-ROM. ETI Bioinformatics, Amsterdam.
- Radeghieri P, Santi F, Maini S. 2013. Assessment of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* Strain AM65-52 aqueous suspension for the control of black fly populations, (*Simulium* spp.) in northern Italy. *Journal of Entomological and Acarological*. 45:e18
- Rebora A, Rongioletti F, Raineri V. 1993. *Aedes albopictus* in Europe: a new challenge for dermatologists. *Dermatology*. 187:6-8.
- Reid GDF. 1981. *Studies on British species of Simulium in relation to the transmission of onchocerciasis in the laboratory*. Tesis Doctoral. University of London, Reino Unido. vi + 276 pp.
- Rempel JG, Arnason AP. 1947. An account of three successive outbreaks of the black fly, *Simulium arcticum*, a serious livestock pest in Saskatchewan. *Scientia Agricola*. 27: 428-445.
- Rovira A, Jornet LL, Ibañez C, Escosa R, Masià M, Pla J. 2007. *Informe sobre els treballs realitzats al riu Ebre i Segre pel control de la mosca negra*. IRTA (Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries) & CODE (Consorci de Serveis Agroambientals de les Comarques del Baix Ebre i Montsià). Tarragona. 35 pp.
- Ribeiro JM, Francischetti IM. 2003. Role of arthropod saliva in blood feeding: sialome and post-sialome perspectives. *Annual Review of Entomology*. 48: 73-88.



- Richardson JS, Mackay RJ. 1991. Lake outlets and the distribution of filter feeders: an assessment of hypotheses. *Oikos*. 62: 370-380.
- Rivosecchi L. 1978a. *Simuliidae (Diptera Nematocera)*. Fauna d'Italia. Vol 13. Edizioni Calderini, Bologna, Italia. 533 pp.
- Rivosecchi L. 1978b. *Simuliidi (Diptera Simuliidae)*. *Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane*. CNR Edizioni, Roma. Vol 3. 88 pp.
- Rivosecchi L. 1986. Contributo alla conoscenza dei simulidi italiani XXVII Le specie che attaccano in massa l'uomo e gli animali domestici nell'Italia nord-orientale. *Rivista di Parassitologia*. 1: 5-15.
- Rivosecchi L, Coluzzi M. 1962. Tre simulidi (*Simulium aureum* Fries (s.l.), *Simulium erythrocephalum* de Geer, *Simulium reptans* L.) che in Italia pungono l'uomo. *Parassitologia*. IV: 181-190.
- Rivosecchi L, Mancini L, Di Girolamo I. 1996. I ditteri Simulidi di Roma (Diptera, Simuliidae). *Atti 1° Convegno Nazionale sulla fauna urbana*. 12 abril 1996. Roma. 115-117.
- Rivosecchi L, Addonizio M, Maiolini B. 2007. *I Ditteri Simulidi. Nuove chiavi dicotomiche per l'identificazione delle specie italiane con brevi note bio-tassonomiche*. Quaderni del museo Tridentino di Scienze naturali, Trento. 149 pp.
- Rodríguez-Pérez MA, Reyes-Villanueva F, Rodríguez MH. 1995. Estimating the gonotrophic cycle and survivorship of *Simulium ochraceum* (Diptera: Simuliidae) during routine vector surveillance in southern Mexico. *Journal of American Mosquito Control Association*. 11: 360-362.
- Rodríguez-Pérez MA, Vázquez-Sánchez R, Reyes-Villanueva F. 2001. Estimation of survival and gonotrophic cycle length of *Simulium metallicum* sensu lato (Diptera: Simuliidae) in Southern Mexico. *Journal of American Mosquito Control Association*. 17(4): 254-259.
- Rodríguez-Pérez MA, Adeleke MA, Burkett-Cadena ND, Garza-Hernández JA, Reyes-Villanueva F, Cupp EW, Toé L, Salinas-Carmona MC, Rodríguez-Ramírez AD, Katholi CR, Unnasch TR. 2013. Development of a Novel Trap for the Collection of Black Flies of the *Simulium ochraceum* Complex. *PLoS ONE* 8(10): e76814.
- Roiz D, Eritja R, Melero-Alcibar R, Molina R, Marqués E, Ruiz S, Escosa R, Aranda C, Lucientes J. 2007. Distribución de *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera, Culicidae) en España. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*. 40: 523-526.
- Ross DH, Merritt RW. 1987. Factors affecting larval black fly distributions anti population dynamics. En: Kim KCH, Merritt RW (Eds), *Black flies: ecology, population management, and annotated world list*. Pennsylvania State University, University Park & London. 90-108.
- Ricoy-Llavero E. 2015. *Estudio de la dinámica poblacional de la comunidad de simúlidos en la Sierra de Segura*. Trabajo Fin de Grado. Grado en Biología, Facultad de Ciencias Experimentales, Universidad de Jaén. 54 pp.
- Rubio MP, Martínez Ruiz RE. 1999. Estudio faunístico y ecológico de los simúlidos (Diptera, Simuliidae) del río Cidacos a su paso por La Rioja. *Zubía*. (11): 61-80.
- Rubtsov IA. 1956. Blackflies (Fam. Simuliidae). *Fauna of the USSR*. 2nd edition. No. 64, Insects, Diptera 6 (6). Akadernii Nauk SSSR, Moscow & Leningrad. 859 [+ 1] pp.
- Rubtsov IA. 1958. The gonotrophic cycle in bloodsucking black flies (simuliids). *Parazitologicheskii sbornik Zoologicheskogo instituta Akademii Nauk SSSR*. 18: 255-282.
- Rueda J, Hernández R, López-Martínez C. 2003. Biodiversidad, caracterización de los invertebrados y calidad biológica de los ríos, arroyos y ramblas, todos ellos tributarios del río Júcar, en la provincia de Albacete (parte segunda). *Sabuco*. 4: 133-171.
- Rueda J, Mezquita F, López C, Zamora L, Hernández R. 2005. El río Cabriel y sus tributarios (Albacete): Evaluación de la calidad biológica, mediante el estudio de sus invertebrados y su bosque de ribera, entre los embalses de contreras (Cuenca) y embarcaderos (Valencia). *Sabuco*. 5: 23-87.
- Rühm W. 1969. Zur Populationsdynamik der Kriebelmücken, insbesondere von *Boopthora erythrocephala* de Geer und des *Odagmia ornata* - komplexes. *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*. 63: 212-227.
- Rühm W. 1970. Untersuchungen über das physiologische Alter der Imagines von *Boopthora erythrocephala* de Geer und einiger anderer Simuliidenarten. *Zeitschrift für Parasitenkunde*. 34: 207-225.



- Rühm W. 1986. Schadfälle durch Kriebelmücken (Simuliidae, Diptera) bei Weidetieren in Hessen. *Anzeiger für Schädlingskunde Pflanzenschutz Umweltschutz*. 59: 105-111.
- Ruiz-Arrondo I, Martínez A, Lucientes J. 2009. *Informe sobre el estudio de los simúlidos en la cuenca del Cinca*. Gobierno de Aragón. 97 pp.
- Ruiz-Arrondo I, Kotter H, Delacour-Estrella S, Alarcón Elbal PM, Pinal R, Martínez Gavín A, Lucientes J. 2011. Bio-ecological study and control of blackfly in the river Cinca, Aragón (Spain). En: Hohol R (Ed), *Book of abstracts of VI encuentro de EMCA (European Mosquito Control Association)*. 12-15 septiembre 2011. Budapest, Hungría. 140 pp.
- Ruiz-Arrondo I, Alarcon-Elbal PM, Muñoz A, Delacour-Estrella S, Pinal R, Lucientes J. 2012a. Creciente expansión de simúlidos (Diptera: Simuliidae) en la Península Ibérica producida por la proliferación de macrófitos en los ríos. Experiencia en Aragón. *Jornadas sobre especies invasoras de ríos y zonas húmedas*. 31 enero 2012. Valencia.
- Ruiz-Arrondo I, Martínez E, Kotter H, Figueras L, Muñoz A, Delacour-Estrella S, Alarcon PM, Pinal R, Lucientes J. 2012b. Blackfly outbreak in Zaragoza in 2011. Spread of blackflies in the Middle Ebro Valley in northeast Spain. En: Kúdela M, Stloukalová V (Eds), *Book of abstracts of 5th International Simuliid Symposium including the 32th meeting of the British Simuliid Group*. 3-7 septiembre 2012. Faculty of Natural Sciences, Bratislava, Eslovaquia. 40 pp.
- Ruiz-Arrondo I, Delacour-Estrella S, Kotter H, Muñoz A, Marqués E, Alarcón-Elbal PM, Pinal R, Martínez A, Escosa R, Masía M, Melero-Alcíbar R, Lucientes J, Adler PH. 2014a. Detailed maps of the geographical distribution of the blackflies of Spain based on a literature review. En: Simone C (Ed), *Book of abstracts of VI international Simuliidae Symposium*. 16-19 septiembre 2014. Torino, Italia.
- Ruiz-Arrondo I, Alarcón-Elbal PM, Figueras L, Delacour-Estrella S, Muñoz A, Kotter H, Pinal R, Lucientes J. 2014b. Expansión de los Simúlidos (Diptera: Simuliidae) en España: Un nuevo reto para la Salud Pública y la Sanidad Animal. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*. 54: 193-200.
- Ruiz Arrondo I, Kotter H, Rueda J, Ortiz A, Gómez P, Marqués E, Escosa R, Masía M, Soriano O, Delacour-Estrella S, Alarcón-Elbal PM, Muñoz A, Pinal R, Martínez A, Melero Alcíbar R, Figueras L, Lucientes J. 2015. Expansion of simuliids (Diptera: Simuliidae) in Spain. En: Bueno R (Ed), *Final Programme and Abstract Book. 7th Conference European Mosquito Control Association*. 23-26 febrero 2015. Valencia. 136 pp.
- Ruiz-Arrondo I, Ignjatović-Ćupina A, Garza-Hernández JA, Rodríguez-Pérez MA, Ortega Morales A, Lucientes Curdi J, Hernández-Triana LM. 2016a. DNA barcoding of Spanish black flies (Diptera: Simuliidae). En: Ruiz Arrondo I, de Blas Giral I (Eds), *Book of abstracts of VII International Simuliidae Symposium*. 5-8 septiembre 2016, Zaragoza. Universidad de Zaragoza-CIBIR. 44 pp.
- Ruiz-Arrondo I, Garza-Hernández JA, Reyes-Villanueva F, Lucientes Curdi J, Rodríguez-Pérez MA. 2016b. Bionomics of *Simulium (Boophthora) erythrocephalum* in Zaragoza (Spain). En: Ruiz Arrondo I, de Blas Giral I (Eds), *Book of abstracts of VII International Simuliidae Symposium*. 5-8 septiembre 2016, Zaragoza. Universidad de Zaragoza-CIBIR. 44 pp.
- Ruiz-Arrondo I, Garza-Hernández JA, Reyes-Villanueva F, Lucientes-Curdi J, Rodríguez-Pérez MA. 2017a. Human-landing rate, gonotrophic cycle length, survivorship, and public health importance of *Simulium erythrocephalum* in Zaragoza, northeastern Spain. *Parasites & Vectors*. 10(1): 175.
- Ruiz-Arrondo I, Arcos SC, Soriano O, Oteo JA, Navas A. 2017b. Primer registro de *Isomermis lairdi* Mondet, Poinar & Bernadou, 1977 en España. ¿Posible herramienta en el control de simúlidos (Diptera, Simuliidae)? *Libro de ponencias del X Congreso Nacional de Entomología Aplicada*. Universidad de La Rioja y Sociedad Española de Entomología Aplicada. 16-20 octubre 2017. Logroño. 254 pp.
- Ruiz-Arrondo I, Hernández-Triana LM, Ignjatović-Ćupina A, Nikilova N, Garza JA, Rodríguez-Pérez MA, Oteo JA, Fooks AR, Lucientes Curdi J. 2018. DNA barcoding an aid for species identification in black flies (Diptera: Simuliidae) in Spain. *Parasites & Vectors* (en revisión).
- Ruiz-Montiel C, García-Coapio G, Rojas JC, Malo EA, Cruz-López L, Del Real I, González-Hernández H. 2008. Aggregation pheromone of the agave weevil, *Scyphophorus acupunctatus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 127: 207-217.



- Rusell RC. 1986. Population age composition and female longevity of the arbovirus vector *Culex annulirostris* Skuse near Echuca, Victoria, in the Murray Valley of southeastern Australia 1979-1985. *Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science*. 64: 595-608.
- Ryan M, Young RM, Burkett-Cadena ND, McGaha Jr TW, Rodriguez-Perez MA, Toé LD, Adeleke MA, Sanfo M, Soungalo T, Katholi CR, Noblet R, Fadamiro H, Torres-Estrada JL, Salinas-Carmona MC, Baker B, Unnasch TR, Cup EW. 2015. Identification of Human Semiochemicals Attractive to the Major Vectors of Onchocerciasis. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 9(1): e3450.
- Sbarbati A, Osculati F. 2006. Allelochemical communication in vertebrates: kairomones, allomones and synomones. *Cells Tissues Organs*. 183(4): 206-219.
- Sánchez-López PF, Ruiz-Arrondo I, Andreu Sánchez MT, Pacheco Martínez F, Segovia Hernández M, Gómez Campoy ME. 2017a. Primeras molestias causadas por la mosca negra (Diptera: simuliidae) en la Región de Murcia. *XIV Congreso Español y IV Congreso Iberoamericano de Salud Ambiental y I Jornada de la Asociación Española de Aerobiología*. Gobierno de Aragón. 21-23 junio 2017. Zaragoza.
- Sánchez-López PF, Ruiz-Arrondo I, Kotter H, Pacheco Martínez F, Segovia Hernández M, Gómez Campoy ME. 2017b. Nuevos retos en gestión de vectores en salud pública: la mosca negra en Murcia (España). *Gaceta Sanitaria*. 32: 181-183.
- Santibañez-Sáenz P, Palomar-Urbina AM, Imaña-Rodríguez E, Oteo-Revuelta JA. 2014. Pruritic dermatitis after hiking in the mountains. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 32: 610-611.
- Sanz G, Escudero M, Zapater MJ, Polite JIA, Zarate JJ, Lucientes, J. 2000. *Simulium (Wilhelmia) pseudequinum* Séguy, 1921: Una nueva especie de simúlido (Diptera: Simuliidae) para Los Monegros. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*. 27: 78.
- Sariözkan S, Inci A, Yildirim A, Düzlü Ö, Gray EW, Adler PH. 2013. Economic losses during an outbreak of *Simulium (Wilhelmia)* species (Diptera: Simuliidae) in the Cappadocia Region of Turkey. *Turkiye Parazitoloji Dergisi*. 38: 116-119.
- Sasaki H, Nishijima Y, Ono H. 1986. Note on the blood source of black flies (Diptera: Simuliidae) collected at the Onnebetsu-dake area. *Japanese Journal of Sanitary Zoology*. 37: 41-45.
- Sasaki H, Nishijima Y, Ono H. 1987a. Note on the blood sources of major two *Prosimulium* species in Hokkaido, Japan (Diptera: Simuliidae). *Journal of the College of Dairying*. 12: 161-167.
- Sasaki H, Nishijima Y, Ono H, Kusui Y. 1987b. Notes on the black flies investigated in Okushiri Island, Hokkaido, Japan and their blood sources (Diptera: Simuliidae). *Journal of the College of Dairying*. 12: 169-174.
- Saul A. 1987. Estimation of survival rates and population size from mark-recapture experiments of bait-caught haematophagous insects. *Bulletin of Entomological Research*. 77: 589-602.
- Smart J. 1934. Notes on the Biology of *Simulium pictipes* Hagen. *The Canadian Entomologist*. 66: 62-66.
- Séguy E. 1925. *Faune de France: Diptères (Nématocères piqueurs)*. Office central de faunistique, Paris. 109 pp.
- Seitz G. 1998. Bestimmungsschlüssel für die Präimaginalstadien der Kriebelmücken Deutschlands. En: Schmedtje U, Schlöber J, Strauch D (Eds), *Dienstbesprechung Biologisch-ökologische Gewässeruntersuchung 1998*. Materialien Nr. 77. Bayerisches Landesamt für Wasserwirtschaft, München. 140-154.
- Serrato F, Sánchez E. 2017. Los pueblos del sureste piden ayuda para acabar con la mosca negra. *El País*, 2 junio 2017. Disponible el 2/6/2017 en URL: https://elpais.com/ccaa/2017/05/31/madrid/1496256511_393651.html
- Service MW. 1977. *Methods for sampling adult Simuliidae, with special reference to the Simulium damnosum complex*. Tropical Pest Bulletin (5). Centre for Overseas Pest Research, London, Reino Unido. 48 pp.
- Service MW. 1987. Monitoring adult simuliid populations. En: Kim KCH, Merritt RW (Eds), *Black flies: ecology, population management, and annotated world list*. Pennsylvania State University, University Park & London. 187-200.
- Service MW. 1993. *Mosquito ecology, Field sampling methods*. Springer Netherlands. xxvi + 987 pp.



- Shemanchuk JA. 1987. Host-seeking behavior and host preference of *Simulium arcticum*. En: Kim KCH, Merritt RW (Eds), *Black flies: ecology, population management, and annotated world list*. Pennsylvania State University, University Park & London. 250-260.
- Smallegange RC, Knols BG, Takken W. 2010. Effectiveness of synthetic versus natural human volatiles as attractants for *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) sensu stricto. *Journal of Medical Entomology*. 47(3): 338-344.
- Soriano O. 2009. *Informe técnico sobre el estado de desarrollo de las poblaciones de mosquitos en el término municipal de Torrejón*. 14 pp.
- Soriano O. 2012. *Informe técnico sobre el estado de desarrollo de las poblaciones de mosquitos en el término municipal de Torrejón de Ardoz en junio de 2012*. 9 pp.
- Soriano O, Ruiz Arrondo I, Bueno R, Cobo F. 2019. Dípteros acuáticos. En: Alvarez Cobelas M, Sánchez Carrillo S (Eds), *La Ecología Acuática en Madrid*. Biblioteca de Ciencias. CSIC. Madrid (en prensa).
- Spielman A. 1964. Studies on autogeny in *Culex pipiens* populations in nature. I. Reproductive isolation between autogenous and anautogenous populations. *American Journal of Hygiene*. 80: 175-183.
- Steelman CD. 1976. Effects of external arthropod parasites on domestic livestock productions. *Annual Review of Entomology*. 21: 155-178.
- Stingeni L, Bianchi L, Hansel K, Neve D, Foti C, Corazza M, Bini V, Moretta I, Principato M. 2017. Dermatitis caused by arthropods in domestic environment: an Italian multicentre study. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 31(9): 1526-1533.
- Stone A, Snoddy EL. 1969. The black flies of Alabama (Diptera: Simuliidae). *Auburn University Agricultural Experiment Station Bulletin*. 390: 1-93.
- Strobl G. 1900. Spanische Dipteren. X. Theil. *Wiener Entomologische Zeitung*. 19: 94, 169-174.
- Strobl G. 1905. Spanischen Dipteren II Beitrag. *Memorias de la Real Sociedad Española de Historia Natural* 3 (Memoria 5ª): 271-422.
- Sutcliffe JF. 1986. Black fly host location: a review. *Canadian Journal of Zoology*. 64: 1041-1053.
- Sutcliffe JF. 2010. Black fly interactions with their hosts. En: Takken W, Knols BGJ (Eds), *Olfaction in vector-host interactions. Ecology and control of vector-borne diseases, Volumen 2*. Wageningen Academic Publishers, Holanda. 247-264.
- Sutcliffe JF, McIver SB. 1976. External morphology of sensilla on the legs of selected black fly species (Diptera: Simuliidae). *Canadian Journal of Zoology*. 54: 1779-1787.
- Sutcliffe JF, Shipp JL, Kokko EG. 1987. Ultrastructure of the palpal bulb sensilla of the black fly *Simulium arcticum* (Diptera: Simuliidae). *Journal of Medical Entomology*. 24: 324-331.
- Swellengrebel NH. 1929. La dissociation des fonctions sexuelles et nutritives (dissociations gonotrophiques) d' *Anopheles maculipennis* comme cause du paludisme dans les Pays-Bas et ses rapports avec "l' infection domiciliaire". *Annales de l' Institut Pasteur*. 43: 1370-1389.
- Syed Z, Leal WS. 2009. Acute olfactory response of *Culex* mosquitoes to a human- and bird-derived attractant. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 106: 18803-18808.
- Szabo JB. 1964. Mass impairment of health caused by an invasion of black flies (Diptera: Simuliidae) in Tata, Hungary. *Opuscula Zoologica Instituti Zoosystematici et Oecologici Universitatis Budapestinensis*. 5: 113-117.
- Takaoka H. 1985. Observations on the mating, blood feeding and oviposition of *Simulium takahasii* (Rubtsov) (Simuliidae, Diptera) in the laboratory. *Japanese Journal of Sanitary Zoology*. 36: 211-217.
- Takken W, Verhulst NO. 2013. Host Preferences of Blood-Feeding Mosquitoes. *Annual Review of Entomology*. 58: 433-453.
- Taneja J, Guerin PM. 1997. Ammonia attracts the haematophagous bug *Triatoma infestans*: behavioural and neurophysiological data on nymphs. *Journal of Comparative Physiology A*. 181: 21-34.
- Theodor O. 1935. A study of the reaction to *Phlebotomus* bites with some remarks on "Harara". *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 29: 273-284.



- Thompson BH. 1976. Studies on the attraction of *Simulium damnosum* s.l. (Diptera: Simuliidae) to its hosts. II. The nature of substances of the human skin responsible for attractant olfactory stimuli. *Tropenmed Parasitology*. 27: 83-90.
- Toé LD, Koala L, Burkett-Cadena ND, Traoré BM, Sanfo M, Kambiréb SR, Cupp EW, Traoréb S, Yameogo L, Boakyea D, Rodríguez-Pérez MA, Unnasch TR. 2014. Optimization of the Esperanza Window Trap for the collection of the African onchocerciasis vector *Simulium damnosum* sensu lato. *Acta Tropica*. 137: 39-43.
- Torr SJ, Solano P. 2010. Olfaction in Glossina-host interactions: a tale of two tsetse. En: Takken W, Knols BGJ (Eds), *Olfaction in vector-host interactions. Ecology and control of vector-borne diseases, Volumen 2*. Wageningen Academic Publishers, Holanda. 265-290.
- Twinn CR. 1936. The blackflies of eastern Canada (Simuliidae, Diptera). Part I. *Canadian Journal of Research (D)*. 14: 97-130.
- Tyndale-Biscoe M. 1984. Age-grading methods in adult insects: a review. *Bulletin of Entomological Research*. 74: 341-377.
- Valle Trujillo P, Escosa R. 2009. Blackfly control in Spain. Ebro river. En: Talbalaghi A et al. (Eds), *Book of abstracts of V EMCA workshop*. 9-13 marzo 2009. Torino, Italia. 115-116.
- Van Den Berghe L. 1941. Recherches sur l'Onchocercose au Congo Belge, la transmission d'*Onchocerca volvulus* par les Simulies. *Annales de la Societe Belge de Medecine Tropicale*. 21: 63-76.
- Van der Pers JNC, Minks AK. 1997. Measuring pheromone dispersion in the field with the single sensillum recording technique. En: Cardé RT, Minks AK (Eds), *Insect pheromone research: New directions*. Chapman and Hall, New York. 359-371.
- Villaúa D. 2003. *Dinámica poblacional y biotopo de los simúlidos en lacuena monegrina del Flumen*. Tesina de Licenciatura. Departamento de Patología Animal de la Universidad de Zaragoza. Zaragoza. 94 pp.
- Villanúa-Inglada D, Alarcón-Elbal PM, Ruiz-Arrondo I, Delacour-Estrella S, Pinal R, Castillo JA, Lucientes J. 2013. Estudio faunístico de los simúlidos (Diptera, Simuliidae) del río Flumen, Huesca (España). *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*. 52: 212-218.
- Vinçon V, Clergue-Gazeau M. 1993: Les Simulies (Diptera Simuliidae) du Sud-Ouest de l'Europe: le crénal et l'épirhithral. *Annales de Limnologie*. 29: 157-169.
- Vogt RG. 2003. Biochemical Diversity of Odor Detection: OBPs, ODEs and SNMPs. En: Blomquist GJ, Vogt RG (Eds), *Insect pheromone biochemistry and molecular biology, the biosynthesis and detection of pheromones and plant volatiles*. Elsevier, California. 391-446.
- Vogt RG. 2005. Molecular basis of pheromone detection in insects. En: Gilbert LI, Iatrou K, Gill S (Eds), *Comprehensive insect physiology. Biochemistry, Pharmacology and Molecular Biology. Volume 3. Endocrinology*. Elsevier, Londres. 753-804.
- Underhill GW. 1940. Some factors influencing feeding activity of simuliids in the field. *Journal of Economic Entomology*. 33: 915-917.
- Underhill GW. 1944. Blackflies found feeding on turkeys in Virginia (*Simulium nigroparvum* Twinn and *Simulium slossonae* Dyar and Shannon). *Virginia Agricultural Experiment Station Technical Bulletin*. 94: 1-32.
- URS España (United Research Services España, S.L.U.). 2012. *Estudio de los macrófitos sumergidos en el río Ebro alrededor de Zaragoza*. Confederación Hidrográfica del Ebro, Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. 46 pp.
- Usova ZV. 1961. *The blackfly fauna of the Karelia and Murmansk region (Diptera, Simuliidae)*. Izdatel' stvo Akademy Nauk SSSR, Moscow-Leningrad. 286 pp.
- Vercruyse J. 1985. Estimation of the survival rate of *Anopheles arabiensis* in an urban area (Pikine-Senegal). *Journal Animal Ecology*. 54: 343-350.
- Vieira JC, Brackenboro L, Porter CH, Basáñez MG, Collins RC. 2005. Spatial and temporal variation in biting rates and parasite transmission potentials of onchocerciasis vectors in Ecuador. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 99(3): 178-195.



- Vinçon G, Clergue-Gazeau M. 1993. Les Simulies (Diptera: Simuliidae) du Sud Ouest de l'Europe: le crénal et l'épirhithral. *Annales de Limnologie*. 29: 157-169.
- Vythilingam I, Phetsouvanh R, Keokenchanh K, Yengmala V, Vanisaveth V, Phompida S, Hakim SL. 2003. The prevalence of *Anopheles* (Diptera: Culicidae) mosquitoes in Sekong Province, Lao PDR in relation to malaria transmission. *Tropical Medicine and International Health*. 8: 525-535.
- Walker ED, Torres EP, Villanueva RT. 1998. Components of the vectorial capacity of *Aedes poicilius* for *Wuchereria bancrofti* in Sorsogon province Philippines. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*. 92: 603-614.
- Walsh JF. 1984. *Aspects of the biology and control of Simulium damnosum s.l. (Diptera: Simuliidae) in West Africa*. Tesis Doctoral. University of Salford. xxvi + 432 pp.
- Wanson M, Lebie B. 1948. Note sur le cycle gonotrophique de *Simulium dmnnosum*. *Revue de Zoologie et de Botanique Africaines* 41: 66-82.
- Watts SB. 1976. Blackflies (Diptera: Simuliidae): a problem review and evaluation. *Pest Management*. 5: 1-117.
- Wegner E. 2006. Mass occurrences of blackflies (Diptera: Simuliidae) and control actions against them in Poland. *Acta Entomologica Serbica*. Supplement: 155-159.
- Wenk P. 1965a. Über die Biologie blutsaugender Simuliiden (Diptera) I. Besamungsrate der ♀♀ beim Blütenbesuch und Anflug auf den Blutwirt. *Zeitschrift für Morphologie und Ökologie der Tiere*. 55: 656-670.
- Wenk P. 1965b. Über die Biologie blutsaugender Simuliiden (Diptera) II. Schwarmverhalten, Geschlechterfindung und Kopulation. *Zeitschrift für Morphologie und Ökologie der Tiere*. 55: 671-673.
- Wenk P. 1966. Über die biologie blutsaugender Simuliiden (Diptera) III. Kopulation, Blutsaugen und Eiablage von *Boopthora erythrocephala* de Geer im Laboratorium. *Zeitschrift für Tropenmedizin und Parasitologie*. 16: 207-226.
- Wenk P, Schlörer G. 1963. Wirtsorientierung und Kopulation bei blutsaugenden Simuliiden (Diptera). *Zeitschrift für Tropenmedizin und Parasitologie*. 14: 177-191.
- Wenk P. 1987. Swarming and mating behavior of black flies. En: Kim KCH, Merritt RW (Eds), *Black flies: ecology, population management and annotated world list*. Pennsylvania State University, University Park & London. 215-227.
- Wenk P, Raybould JN. 1972. Mating, blood feeding, and oviposition of *Simulium damnosum* Theobald in the laboratory. *Bulletin World Health Organization*. 47: 626-627.
- Werner D. 2007. Kriebelmücken (Simuliidae) - Informationsbroschüre zur Morphologie, Lebensweise und Verbreitung der Kriebelmücken unter Berücksichtigung der Schadregionen in Deutschland sowie des Krankheitsbildes Simuliose und des Schadbildes Simuliotoxikose. *Studia Dipterologica*. 3: 337-358.
- Werner D, Kampen H. 2012. *Simulium (Boopthora) erythrocephalum* (De Geer, 1776), subgenus and species new to Armenia. *Zoology in the Middle East*. 56: 85-90.
- WHO (World Health Organization). 1975a. *Manual on practical entomology in malaria. Part I. Vector bionomics and organization of anti-malaria activities*. WHO offset Publication. No 13.
- WHO (World Health Organization). 1975b. *Manual on practical entomology in malaria. Part II. Methods and techniques*. WHO offset Publication. No 13.
- WHO (World Health Organization). 2017. *Oncocercosis. Nota descriptiva*. Disponible el 1/2/2018 en URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs374/es/>
- Wilder-Smith A, Gubler DJ, Weaver SC, Monath TP, Heymann DL, Scott TW. 2017. Epidemic arboviral diseases: priorities for research and public health. *The Lancet Infectious Diseases*. 17(3): e101-e106.
- Wilhelm A, Betke P, Jacob K. 1982. Simuliotoxikose beim Ren (*Rangifer tarandus*). En: Ippen R, Schröder HD (Eds), *Erkrankungen der Zootiere. Verhandlungbericht des XXIV Internationalen Symposium über die Erkrankungender Zootiere*. Akademie-Verlag, Berlin. 357-360.
- Williams CB. 1970. Notes on swarms of male black flies (Diptera: Simuliidae) in southeast Scotland. *Entomologist*. 103: 135-138.
- Williams TR. 1974. Egg membranes of Simuliidae. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 68: 15-16.



- Winch PJ, Leontsini E, Rigau-Pérez JG, Ruiz-Pérez M, Clark GG, Gubler DJ. 2002. Community-based dengue prevention programs in Puerto Rico: impact on knowledge, behaviour, and residential mosquito infestation. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 67: 363-370.
- Wirth WW. 1952. The Heleidae of California. *University of California Publications in Entomology*. 9: 95-266.
- Wood DM. 1985. *Biting flies attacking man and livestock in Canada*. Agriculture Canada, Ottawa. 40 pp.
- Wolfe LS, Peterson DG. 1959. Black flies (Diptera: Simuliidae) of the forests of Quebec. *Canadian Journal of Zoology*. 37: 137-159.
- Wu YF. 1931. A contribution to the biology of *Simulium*. *Papers of the Michigan Academy of Science Arts and Letters*. 13: 543-599.
- Young RM, Burkett-Cadena ND, McGaha TW, Rodriguez-Perez MA, Toé LD, Adeleke MA, Sango M, Soungalo T, Katholi CR, Noblet R, Fadamiro H, Torres-Estrada JL, Salinas-Carmona MC, Baker B, Unnasch TR, Cupp EW. 2015. Identification of Human Semiochemicals Attractive to the Major Vectors of Onchocerciasis. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 9(1): e3450.
- Yilmaz A, Yesiloz H, Demircioglu A. 2010. Black fly (Diptera: Simuliidae) control with the biological larvicide *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* in the middle kizilirmak river of Cappadocia, Turkey. En: Sualp Caglar S, Ipekdal K (Eds), *Book of abstracts of 4th International Simuliidae Symposium including the 31st British Simuliid Group Meeting and the 8th European Simuliidae Symposium EMCA Blackfly Working Group*. 12-15 octubre 2010. Hacettepe University Biodiversity Research and Application Center, Antalya, Turquía. 39pp.
- Yuval B. 2006. Mating systems of blood-feeding flies. *Annual Review of Entomology*. 51: 413-40.
- Zahar AR. 1951. The ecology and distribution of black-flies (Simuliidae) in south-east Scotland. *Journal of Animal Ecology*. 20: 33-62.
- Zamora L, Mezquita F, Rueda J. 2004. *Biodiversitat i ecologia dels invertebrats aquàtics continentals de la Marina Alta li el seu valor com a indicadors de la qualitat de les aigües de la comarca*. Informe presentat a l'ajuntament de Benissa. 89 pp.
- Zeil J. 1983. Sexual dimorphism in the visual system of flies: the free flight behaviour of male Bibionidae (Diptera). *Journal of Comparative Physiology A*. 150: 395-412.
- Zeng XN, Leyden JJ, Lawley HJ, Sawano K, Nohara I, Preti G. 1991. Analysis of characteristic odors from human male axillae. *Journal of Chemical Ecology*. 17: 1469-1492.
- Zettler JA, Adler PH, McCreddie JW. 1998. Factors influencing larval color in the *Simulium vittatum* complex (Diptera: Simuliidae). *Invertebrate Biology*. 117: 245-252.
- Zhang ZM, Cai JJ, Ruan GH, Li GK. 2005. The study of fingerprint characteristics of the emanations from human arm skin using original sampling system by 441 SPME-GC/MS. *Journal of Chromatography B*. 822: 244-252.
- Zinsser H. 1935. *Rats, lice and history*. Little, Brown & Co, Boston. 332 pp.
- Živković V. 1967a. Les simulies (Diptera, Simuliidae) du Danube dans la région de la Vojvodina (Yougoslavie). *Acta Veterinaria*. 17: 433-438.
- Živković V. 1967b. Invasion de *Simulium erythrocephalum* De Geer 1776 (Diptera, Simuliidae) en Vojvodina (Serbie). *Glas Srpske Akademije Nauka (Odeljenje medicinskih nauka)* 20: 163-170.
- Živković V. 1970. Les simulies (Diptera, Simuliidae) qui attaquent l'homme et les animaux domestiques. *Acta Veterinaria*. 20: 209-219.
- Živković V. 1971. Blackflies (Diptera, Simuliidae) of the Danube in Yugoslavia. *Acta Veterinaria*. 21: 225-236.
- Živković V, Burány B. 1972. An outbreak of *Boopthora erythrocephala* (Diptera, Simuliidae) in Yugoslavia in 1970. *Acta Veterinaria*. 22: 133-142.





Anexos

Anexo I. Díptico informativo del Gobierno de Aragón

Tratamiento de las picaduras de mosquitos y de mosca negra

En ambos casos deben tratarse las picaduras de igual forma:

- Limpiar y desinfectar la zona de la picadura.
- Aplicar alguna crema o líquido para picaduras que contenga amoníaco.
- No rascarse para evitar infecciones.

En caso de persistencia de las molestias o reacciones más graves, consultar con el médico.

Recomendaciones de uso de sustancias repelentes frente a mosquitos y mosca negra

- Utilizar un producto repelente adecuado (pedir consejo en el centro de salud o en la farmacia).
- Aplicar en zonas descubiertas del cuerpo en cantidad suficiente pero sin exceso.
- En la cara es conveniente aplicar con la mano (no aplicar con spray) evitando el contacto con los ojos y la boca.
- No aplicar en las manos de los niños.
- No aplicar nunca encima de cortes, heridas o zonas irritadas de la piel.
- Lavarse con agua y jabón después del tiempo necesario de exposición al producto.
- Si produce reacción en la piel, lavarse con agua y jabón y consultar con el médico.
- El uso de estos productos no es aconsejable en menores de 2 años .



La mosca negra

Información
para evitar molestias



Los mosquitos



La mosca negra



Mosca negra
(aprox. tamaño real)



Mosca común
(aprox. tamaño real)

Es un insecto díptero con un tamaño pequeño, entre 3-6 mm, mucho menor que la mosca doméstica, es de color negro y tiene las alas blancas.

Se cría en

- Zonas de vegetación de las riberas de ríos y riachuelos donde ponen los huevos.
- Necesita agua corriente para su desarrollo y las altas temperaturas acortan la duración de su vida.
- La mosca hembra pica a las personas y los animales porque necesita la sangre para el desarrollo de los huevos.



Sus picaduras producen

- Una zona inflamada con un punto central rojo y una zona de inflamación alrededor, la lesión persiste una semana.
- En España no transmiten enfermedades a las personas.

Hay más riesgo de picaduras

- Durante todo el día, aunque las hembras tienen más actividad durante el amanecer y el atardecer.
- Al aire libre, en el campo (raramente entran en las casas).
- En un radio de hasta 20 km de distancia del lugar donde se crían.

Para evitar sus picaduras:

- No realizar actividades cerca de los lugares donde crían, como son las orillas de los ríos con vegetación abundante.
- Llevar ropa que cubra todo el cuerpo: pantalones largos, mangas largas, calcetines.
- También se pueden usar sobre la piel sustancias repelentes consultando en la farmacia o centro de salud y siguiendo las instrucciones de uso.

Los mosquitos



Mosquito
(aprox. tamaño real)



Mosca común
(aprox. tamaño real)

Son insectos dípteros, de tamaño pequeño, con una trompa alargada para perforar y chupar. Existen muchas especies con distinto tamaño y color y no todas pican a las personas, las más comunes tienen las alas largas y el cuerpo delgado con patas muy finas.

Se crían en

- Agua estancada o con poca corriente donde ponen los huevos, allí se desarrollan hasta convertirse en insectos adultos voladores.
- El mosquito hembra pica a las personas y a los animales porque necesita la sangre para el desarrollo de los huevos.



Sus picaduras

- Producen una zona inflamada, enrojecida con picor y en algunos casos pueden causar reacciones alérgicas.
- En España no transmiten malaria ni otras enfermedades tropicales.

Hay más riesgo de picaduras

- Al amanecer, al atardecer y durante la noche.
- En lugares cercanos a aguas estancadas ya que la mayoría de las especies de mosquitos de Aragón sólo se desplazan para picar unos cientos de metros del lugar donde se crían.

Se puede impedir su proliferación

- Impidiendo el acúmulo de agua estancada en charcos y recipientes que están al aire libre y que puedan contener agua: ceniceros, platos de macetas, cubos.

Para evitar sus picaduras:

- Es conveniente poner telas mosquiteras en ventanas, puertas y otras aberturas para evitar la entrada en las casas.
- En el interior de las viviendas se pueden aplicar insecticidas de uso doméstico, siguiendo las recomendaciones de utilización.
- Es mejor llevar ropa de colores claros, con manga larga y pantalones largos, calcetines.
- También se pueden usar sobre la piel sustancias repelentes consultando en la farmacia o centro de salud y siguiendo las instrucciones de uso.



Anexo II. Autorización para la toma de muestras del Instituto Aragonés de Gestión Ambiental. INAGA 500201/24/2015/4464



Resolución del Instituto Aragonés de Gestión Ambiental de fecha 19 de Agosto de 2015.
AUTORIZACIÓN PARA LA TOMA DE MUESTRAS EN MASAS DE AGUA DE ARAGÓN CON FINES DE INVESTIGACIÓN. EXPEDIENTE INAGA 500201/24/2015/4464.

TITULARES:	Ignacio Ruiz Arrondo	NIF: 72.986.159-Y
	Ana Muñoz Otero	NIF: 76.918.899-E
	Mario Alberto Rodríguez Pérez	NIF: 54.400.452-R
	Sarah Delacour Estrella	NIF: 48.313.705-C
	Javier Lucientes Curdi	NIF: 17.129.534-P

LEGISLACIÓN APLICABLE:

- Ley 42/2007, de 13 de diciembre, del Patrimonio Natural y de la Biodiversidad.
- Ley 6/1998, de 19 de mayo, de Espacios Naturales Protegidos de Aragón, modificada por la Ley 6/2014.
- Ley 2/1999, de 24 de febrero, de pesca en Aragón, modificada por Ley 14/2014, de 30 de diciembre, de Medidas Fiscales y Administrativas de la Comunidad Autónoma de Aragón.
- Decreto 181/2005, de 6 de septiembre, del Gobierno de Aragón, por el que se modifica parcialmente el Decreto 49/1995, de 28 de marzo, de la Diputación General de Aragón, por el que se regula el Catálogo de Especies Amenazadas de Aragón.
- Real Decreto 139/2011, de 4 de febrero, para el desarrollo del Listado de Especies Silvestres en Régimen de Protección Especial y del Catálogo Español de Especies Amenazadas.
- Real Decreto 630/2013, de 2 de agosto, por el que se regula el Catálogo español de especies exóticas invasoras.
- Ley 6/2011 de 10 de marzo, de Declaración de la Reserva Natural Dirigida de los Sotos y Galachos del Ebro.
- Decreto 89/2007, de 8 de mayo, del Gobierno de Aragón, por el que se aprueba definitivamente el Plan de Ordenación de los Recursos Naturales de los Sotos y Galachos del río Ebro (tramo Zaragoza-Escatrón)
- Decreto 187/2005, de 26 de septiembre, del Gobierno de Aragón, por el que se establece un Régimen de Protección para la *Margaritifera Auricularia* y se aprueba el Plan de Recuperación.

ACTIVIDAD AUTORIZADA: Toma de muestras en masas de agua para analizar la presencia de estadios preimaginales de culícidos mediante dipper entomológico y de formas preimaginales de simúlidos mediante observación y extracción de muestras de macrófitos. Complementariamente, captura de formas adultas de culícidos y simúlidos mediante trampas específicas de captura de dípteros CDC y BG-Sentinel, manga entomológica y aspirador entomológico.

Según se indica en la solicitud, en el proceso de muestreo no se realizar vertido alguno al río, ni se utilizan productos o acciones que constituyan amenaza al entorno de estudio.

ÁMBITO DE APLICACIÓN: Diversas masas de agua de Aragón, particularmente, río Ebro y afluentes, así como humedales y galachos.

VALIDEZ: Año 2015.

Documento firmado electrónicamente verificable en:
www.aragon.es/inaga/verificadorordocumentos



Código de verificación: CSVPH-3RIHY-18GA2-JGREG

INSTITUTO ARAGONÉS DE GESTIÓN AMBIENTAL. Avda. Ranillas, nº 3 C, pta 3ª 50018 Zaragoza
Teléfono: 976716633 - Fax: 976716630 - Correo Electrónico: inaga@aragon.es

1 / 3



FINALIDAD Y ENTIDAD QUE AVALA: Estudio de dinámica poblacional de culícidos y simúlidos y su incidencia en la salud, promovido por el Departamento de Patología Animal de la Universidad de Zaragoza.

CONDICIONES GENERALES:

1. La finalidad de los ejemplares recolectados será exclusivamente para la actividad solicitada, quedando prohibido el intercambio, comercio o exposición de las muestras.
2. No se dará muerte o causará daño a ejemplares de fauna de otras especies que puedan ser capturados accidentalmente; éstos serán devueltos al medio a la mayor brevedad posible o, en su caso, se gestionarán conforme a lo previsto en el Real Decreto 630/2013.
3. No se transitará con vehículos privados por caminos o pistas prohibidas. El acceso a las orillas de las masas de agua se efectuará por caminos o sendas existentes o a través de zonas sin vegetación.
4. Los muestreos se realizarán desde las márgenes de las masas de agua, evitando afección y deterioro sobre los sistemas naturales del entorno, así como molestias a las especies de fauna presentes. Particularmente, se extremarán las precauciones en las labores de toma de muestras y posible remoción del suelo para evitar afectar a ejemplares de especies de flora o fauna catalogada. Para ello, se seleccionarán los lugares de recogida de muestras tras la realización de una prospección visual por los propios investigadores que descarte la presencia de especies incluidas en el Catálogo de Especies Amenazadas de Aragón o en el Listado de Especies Silvestres en Régimen de Protección Especial.
5. Los equipos, maquinaria y todos los elementos que pudieran entrar en contacto con aguas con presencia de mejillón cebra o elementos contaminantes de cualquier índole deberán someterse a protocolos de desinfección, secado y limpieza tras finalizar el muestreo en dichas aguas.
6. Siempre que sea posible se seguirán los diversos protocolos de muestreo biológico de las masas de agua elaborados por el MAGRAMA (Noviembre 2013).
7. Al finalizar el período de vigencia de esta autorización, se enviará informe-resumen al INAGA (Área Técnica II-Biodiversidad y Medio Natural) de los resultados de la actividad, siendo condición indispensable para tramitar futuras solicitudes o renovar la presente autorización.
8. Con carácter previo a la realización de los correspondientes muestreos, se pondrá en conocimiento de la actuación a los correspondientes Servicios Provinciales del Departamento de Desarrollo Rural y Sostenibilidad, con el detalle suficiente relativo a la extensión del muestreo (cuantificación, selección, delimitación de los puntos de muestreo, etc.) a efectos de garantizar su conocimiento en las OCAs, por los agentes de protección de la naturaleza destacados en las distintas zonas.
9. Cuando la actividad vaya a desarrollarse en Espacios Naturales Protegidos, Refugios de Fauna Silvestre o Humedales Ramsar deberá tener en consideración y desarrollarse de acuerdo a los instrumentos de planificación ambiental vigentes para dichos espacios. En todo caso, deberá ser comunicada con suficiente antelación al personal técnico responsable de la gestión de cada espacio, a cuya supervisión estará sujeta la actuación en todo momento. En este caso el informe referido en el punto séptimo, deberá hacer mención expresa a la actividad realizada en cada espacio.
10. Esta autorización se presentará ante cualquier autoridad o agente de la misma que lo requiera, acatando en todo momento las instrucciones de los Agentes de Protección de la Naturaleza que actúen en el ejercicio de sus funciones.
11. El incumplimiento de lo dispuesto en esta autorización supondrá, además de la instrucción del expediente sancionador, la caducidad inmediata de la autorización.

Documento firmado electrónicamente verificable en:
www.aragon.es/inaga/verificadorordocumentos



Código de verificación: CSVPH-3RIHY-18GA2-JGREG

INSTITUTO ARAGONÉS DE GESTIÓN AMBIENTAL. Avda. Ranillas, nº 3 C, planta 3ª 50018 Zaragoza
Teléfono: 976716633 - Fax: 976716630 - Correo Electrónico: inaga@aragon.es

2/ 3



12. Esta autorización tiene su sustento legal en la legislación citada y se concede sin perjuicio de otras que en su caso sean necesarias.

Según lo dispuesto en el artículo 39 bis de la Ley 30/1992, de 26 de noviembre, en su nueva redacción dada por la Ley 25/2009, de 22 de diciembre, debe precisarse que las medidas y el condicionado ambiental que incorpora la presente Resolución quedan justificadas y motivada su necesidad para la protección del medio ambiente, ya que dicha protección constituye una razón imperiosa de interés general.

Contra la presente Resolución, que no agota la vía administrativa, cabe recurso de alzada ante el Excmo. Sr. Presidente del Instituto Aragonés de Gestión Ambiental en el plazo de UN MES, a contar desde el día siguiente al de su notificación, sin perjuicio de cualquier otro que pudiera interponerse.

Documento firmado electrónicamente verificable en:
www.aragon.es/inaga/verificadorordocumentos

Código de verificación: CSVPH-3RIHY-18GA2-JGREG



En Zaragoza, a 19 de Agosto de 2015

LA DIRECTORA DEL INSTITUTO ARAGONÉS DE GESTIÓN AMBIENTAL
P.A. LA JEFA DE ÁREA III CALIDAD AMBIENTAL
RESOLUCIÓN DE 7 DE AGOSTO DE 2015 DE LA DIRECTORA DEL INAGA

Fdo: SUSANA OLAVIDE SÁNCHEZ.



Anexo III. Informe Comité Ético de Investigación Clínica de Aragón (CEICA) PI15/0147



Informe Dictamen Favorable
Proyecto Investigación Biomédica

C.P. - C.I. PI15/0147

24 de junio de 2015

Dña. María González Hinjos, Secretaria del CEIC Aragón (CEICA)

CERTIFICA

1º. Que el CEIC Aragón (CEICA) en su reunión del día 24/06/2015, Acta Nº 12/2015 ha evaluado la propuesta del investigador referida al estudio:

Título: Estudio de la mosca negra en la ciudad de Zaragoza: Biología de las especies molestas en ambiente urbano aplicado al diseño y desarrollo de una trampa adhesiva para su control.

Investigador Principal: Ignacio Ruiz Arrondo. Universidad de Zaragoza

Versión protocolo: junio/2015

2º. Considera que

- El proyecto se plantea siguiendo los requisitos de la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica y su realización es pertinente.
- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- Son adecuados tanto el procedimiento para obtener el consentimiento informado como la compensación prevista para los sujetos por daños que pudieran derivarse de su participación en el estudio.
- El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos.
- La capacidad de los Investigadores y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

3º. Por lo que este CEIC emite **DICTAMEN FAVORABLE** a la realización del proyecto.

Lo que firmo en Zaragoza, a 24 de junio de 2015

Fdo:

Dña. María González Hinjos
Secretaria del CEIC Aragón (CEICA)

Página 1 de 1

Tel. 976 71 43 57 Fax. 976 71 55 54 Correo electrónico mgonzalezh.ceic@aragon.es



Anexo IV. Autorización para la toma de muestras del Instituto Aragonés de Gestión Ambiental. INAGA 500201/24/2016/5803



Resolución del Instituto Aragonés de Gestión Ambiental de fecha 15 de julio de 2016.
AUTORIZACIÓN PARA TOMA DE MUESTRAS EN MASAS DE AGUA CON FINES DE INVESTIGACIÓN. EXPEDIENTE INAGA 500201/24/2016/5803.

TITULARES:	Ignacio Ruiz Arrondo	NIF: 72986159-Y
	Ana Muñoz Otero	NIF: 76918899-E
	David Martínez Duran	NIF: 25180851-Z
	Sarah Delacour Estrella	NIF: 48313705-C
	Ignacio Mercadal Barrachina	NIF: 18055761-W
	Javier Lucientes Curdi	NIF: 17129534-P

LEGISLACIÓN APLICABLE:

- Ley 42/2007, de 13 de diciembre, del Patrimonio Natural y de la Biodiversidad, modificada por la Ley 33/2015, de 21 de septiembre.
- Ley 6/1998, de 19 de mayo, de Espacios Naturales Protegidos de Aragón, modificada por la Ley 6/2014.
- Ley 2/1999, de 24 de febrero, de pesca en Aragón.
- Decreto 181/2005, de 6 de septiembre, del Gobierno de Aragón, por el que se modifica parcialmente el Decreto 49/1995, de 28 de marzo, de la Diputación General de Aragón, por el que se regula el Catálogo de Especies Amenazadas de Aragón.
- Real Decreto 139/2011, de 4 de febrero, para el desarrollo del Listado de Especies Silvestres en Régimen de Protección Especial y del Catálogo Español de Especies Amenazadas.
- Ley 6/2011 de 10 de marzo, de Declaración de la Reserva Natural Dirigida de los Sotos y Galachos del Ebro.
- Real Decreto 630/2013, de 2 de agosto, por el que se regula el Catálogo español de especies exóticas invasoras.
- Decreto 89/2007, de 8 de mayo, del Gobierno de Aragón, por el que se aprueba definitivamente el Plan de Ordenación de los Recursos Naturales de los Sotos y Galachos del río Ebro (tramo Zaragoza-Escatrón)
- Decreto 187/2005, de 26 de septiembre, del Gobierno de Aragón, por el que se establece un Régimen de Protección para la *Margaritifera Auricularia* y se aprueba el Plan de Recuperación.

ACTIVIDAD AUTORIZADA: Toma de muestras en masas de agua para analizar la presencia de estadios preimaginales de culícidos mediante dipper entomológico y de formas preimaginales de simúlidos mediante observación y extracción de muestras de macrófitos. Complementariamente, captura de formas adultas de culícidos y simúlidos mediante trampas específicas de captura de dípteros CDC y BG-Sentinel, manga entomológica y aspirador entomológico.

ÁMBITO DE APLICACIÓN: Diversas masas de agua de Aragón, particularmente río Ebro y afluentes, así como humedales y galachos.

VALIDEZ: Año 2016.

FINALIDAD Y ENTIDAD QUE AVALA: Estudio de dinámica poblacional de culícidos y simúlidos y su incidencia en la salud, promovido por el Departamento de Patología Animal de la Universidad de Zaragoza.

CONDICIONES GENERALES:

Documento firmado electrónicamente verificable en:
www.aragon.es/inaga/verificadorordocumentos



Código de verificación: CSVNA-3NERD-281AX-JOREG

INSTITUTO ARAGONÉS DE GESTIÓN AMBIENTAL. Avda. Ranillas, nº 3 C, plta 3ª 50018 Zaragoza
Teléfono: 976716633 - Fax: 976716630 - Correo Electrónico: inaga@aragon.es

1/3



1. No se dará muerte o causará daño a ejemplares de fauna de otras especies que puedan ser capturados accidentalmente; éstos serán devueltos al medio a la mayor brevedad posible o, en su caso, se gestionarán conforme a lo previsto en el Real Decreto 630/2013.
2. No se transitará con vehículos privados por caminos o pistas prohibidas. El acceso a las orillas de las masas de agua se efectuará por caminos o sendas existentes o a través de zonas sin vegetación.
3. Los muestreos se realizarán desde las márgenes de las masas de agua, evitando afección y deterioro sobre los sistemas naturales del entorno, así como molestias a las especies de fauna presentes. Particularmente, se extremarán las precauciones en las labores de toma de muestras y posible remoción del suelo para evitar afectar a ejemplares de especies de flora o fauna catalogada. Para ello, se seleccionarán los lugares de recogida de muestras tras la realización de una prospección visual por los propios investigadores que descarte la presencia de especies incluidas en el Catálogo de Especies Amenazadas de Aragón o en el Listado de Especies Silvestres en Régimen de Protección Especial.
4. Los equipos, maquinaria y todos los elementos que pudieran entrar en contacto con aguas con presencia de mejillón cebra o elementos contaminantes de cualquier índole deberán someterse a protocolos de desinfección, secado y limpieza tras finalizar el muestreo en dichas aguas.
5. Siempre que sea posible se seguirán los diversos protocolos de muestreo biológico de las masas de agua elaborados por el MAGRAMA (Noviembre 2013).
6. Se enviará informe-resumen al INAGA (Área Técnica II-Biodiversidad y Medio Natural) de los resultados de la actividad, siendo condición indispensable para tramitar futuras solicitudes o renovar la presente autorización.
7. Con carácter previo a los muestreos, se pondrá en conocimiento de los correspondientes Servicios Provinciales del Dpto. de Desarrollo Rural y Sostenibilidad, la extensión del muestreo (cuantificación, selección, delimitación de los puntos de muestreo, etc.) a efectos de garantizar su conocimiento en las OCAs por los agentes de protección de la naturaleza destacados en las zonas.
8. Cuando la actividad vaya a desarrollarse en Espacios Naturales Protegidos, Refugios de Fauna Silvestre o Humedales Ramsar deberá tener en consideración y desarrollarse de acuerdo a los instrumentos de planificación ambiental vigentes para dichos espacios. En todo caso, deberá ser comunicada con suficiente antelación al personal técnico responsable de la gestión de cada espacio, a cuya supervisión estará sujeta la actuación en todo momento. En este caso el informe referido en el punto 8, deberá hacer mención expresa a la actividad realizada en cada espacio.
9. Esta autorización se presentará ante cualquier autoridad o agente de la misma que lo requiera, acatando en todo momento las instrucciones de los Agentes de Protección de la Naturaleza que actúen en el ejercicio de sus funciones.
10. El incumplimiento de lo dispuesto en esta autorización supondrá, además de la instrucción del expediente sancionador, la caducidad inmediata de la autorización.
11. Esta autorización tiene su sustento legal en la legislación citada y se concede sin perjuicio de otras que en su caso sean necesarias.

Según lo dispuesto en el artículo 39 bis de la Ley 30/1992, de 26 de noviembre, en su nueva redacción dada por la Ley 25/2009, de 22 de diciembre, debe precisarse que las medidas y el condicionado ambiental que incorpora la presente Resolución quedan justificadas y motivada su necesidad para la protección del medio ambiente, ya que dicha protección constituye una razón imperiosa de interés general.

Contra la presente Resolución, que no agota la vía administrativa, cabe recurso de alzada ante el Excmo. Sr. Presidente del Instituto Aragonés de Gestión Ambiental en el plazo de UN MES, a

Documento firmado electrónicamente verificable en:

www.aragon.es/inaga/verificadorordocumentos



Código de verificación: CSVNA-3NERD-281AX-JOREG

INSTITUTO ARAGONÉS DE GESTIÓN AMBIENTAL. Avda. Ranillas, nº 3 C, plta 3ª 50018 Zaragoza
Teléfono: 976716633 - Fax: 976716630 - Correo Electrónico: inaga@aragon.es

2/3



contar desde el día siguiente al de su notificación, sin perjuicio de cualquier otro que pudiera interponerse.

Documento firmado electrónicamente verificable en:
www.aragon.es/inaga/verificadorordocumentos

Código de verificación: CSVNA-3NERD-281AX-JOREG



En Zaragoza, a 15 de Julio de 2016

EL DIRECTOR DEL INSTITUTO ARAGONÉS DE GESTIÓN AMBIENTAL
P.S. EL SECRETARIO GENERAL TÉCNICO
(Orden del Presidente del Instituto Aragonés de Gestión Ambiental y Consejero de Desarrollo Rural y Sostenibilidad, de 1 de junio de 2016)

Fdo: JOSE LUIS CASTELLANO PRATS.



