

FAUNA DE MOSQUITOS (DIPTERA, CULICIDAE) PRESENTES EN EL HUMEDAL DE LA GRAJERA (LOGROÑO) Y SUS IMPLICACIONES EN SALUD PÚBLICA

IGNACIO RUIZ-ARRONDO^{1*}

LUIS HERNÁNDEZ TRIANA²

JOSÉ ANTONIO OTEO REVUELTA¹

RESUMEN

La vigilancia entomológica constituye una herramienta muy útil para conocer el riesgo de las enfermedades transmitidas por artrópodos vectores, además de ser un pilar básico en la visión “One Health”. El presente trabajo supone el primer estudio de vigilancia de mosquitos (Diptera, Culicidae) usando trampas cebadas con dióxido de carbono en un humedal en La Rioja. Los muestreos realizados con trampas BG-Sentinel y con la técnica de cebo humano entre los meses de julio y septiembre de 2016 en el humedal de La Gajera han permitido la captura de 1.932 mosquitos correspondientes a 16 especies diferentes. Entre las especies identificadas, ocho constituyen nuevos registros para La Rioja: *Anopheles algeriensis*, *Aedes vexans*, *Aedes detritus*, *Coquillettidia richiardii*, *Culex theileri*, *Culex perexiguus*, *Culiseta subochrea* y *Culiseta morsitans*. Se han detectado varias especies de naturaleza antropológica y con capacidad para transmitir diferentes patógenos. Además de discutir las posibles implicaciones sanitarias de las especies registradas, se analiza el patrón temporal de la composición de especies de culícidos durante el periodo de estudio.

Palabras clave: *Mosquito, culícido, vector, enfermedades de transmisión vectorial, La Rioja, España.*

Entomological surveillance is a very useful tool to know the transmission risk of arthropod vector-borne diseases as well as being a basic pillar in the vision “One Health”. In this paper, the first mosquito (Diptera, Culicidae) surveillance study with carbon dioxide-baited traps in a wetland from La Rioja is reported. The sampling performed with BG-Sentinel traps and

1. Centro de Rickettsiosis y Enfermedades Transmitidas por Artrópodos Vectores. Área de Enfermedades Infecciosas. Hospital San Pedro-CIBIRC/ Piqueras 98, 3ª planta. 26006 Logroño (La Rioja), España.

* Autor de referencia (*corresponding author*): irarrondo@riojasalud.es.

2. Wildlife Zoonoses and Vector-borne Diseases Research Group, Virology Department, Animal and Plant Health Agency, Addlestone (Surrey), United Kingdom.

human bait technique between July and September 2016 in the wetland of La Grajera allowed the capture of 1,932 mosquitoes belonging to 16 different species. Among the identified species, eight represent new records for La Rioja: *Anopheles algeriensis*, *Aedes vexans*, *Aedes detritus*, *Coquillettidia richiardii*, *Culex theileri*, *Culex perexiguus*, *Culiseta subochrea* and *Culiseta morsitans*. Several species with anthropophilic nature and competent to transmit several pathogens have been detected. In addition to discussing the possible health implications of the recorded species, the temporal pattern of the mosquito species composition during the study period is discussed.

Key words: *Mosquito*, *culicids*, *vector*, *vector-borne diseases*, *La Rioja*, *Spain*.

1. INTRODUCCIÓN

Los culícidos (Diptera, Culicidae), vulgarmente conocidos como mosquitos, son dípteros nematóceros de capacidad vectorial muy relevante, de gran importancia a nivel mundial debido a sus graves implicaciones en la transmisión de enfermedades de gran trascendencia médica y veterinaria (Alarcón-Elbal *et al.*, 2012). De hecho, los mosquitos están implicados de forma creciente en la transmisión de arbovirus y otros patógenos a nivel mundial y como tal en la Europa mediterránea (Kampen *et al.*, 2003; Angelini *et al.*, 2007; Gjenaro-Margan *et al.*, 2010; La Ruche *et al.*, 2010). Existen fenómenos como la globalización, movimientos migratorios y el cambio climático, que están permitiendo la introducción de especies exóticas en zonas en las que no se habían detectado con anterioridad (Alarcón-Elbal *et al.*, 2012). Este hecho incrementa el riesgo de extensión de las infecciones que son capaces de vehicular. A pesar de que los focos de atención recaen principalmente sobre las especies invasoras del género *Aedes*, por ser los vectores responsables de las últimas pandemias de dengue, chikungunya y zika (Medlock *et al.*, 2012; Jupille *et al.*, 2016), no hay que obviar el potencial papel que pueden desempeñar las especies autóctonas en la transmisión de otros patógenos de importancia en salud pública y sanidad animal en Europa (ECDC, 2014). Un requisito previo para realizar un buen control y afrontar de manera preventiva la posible emergencia de estas enfermedades, es conocer las especies de mosquitos con capacidad vectorial que están presentes en una determinada área por sus implicaciones epidemiológicas (Alarcón-Elbal *et al.*, 2012; ECDC, 2014; Török *et al.*, 2016).

En La Rioja, existen escasos datos sobre las especies de culícidos circulantes, y como tal del riesgo existente para la población. Las especies de mosquitos identificadas hasta la fecha en esta comunidad autónoma comprenden 14 especies repartidas en cuatro géneros: *Aedes*, *Anopheles*, *Culex* y *Culiseta* (Alarcón-Elbal *et al.*, 2011; Bueno, 2012).

El objetivo de este trabajo es dar a conocer la fauna de mosquitos presentes en el humedal de La Grajera en la ciudad de Logroño (La Rioja), así como discutir sus posibles implicaciones en la salud pública.

2. METODOLOGÍA

2.1. Área de estudio

La Grajera es un parque urbano de 427 ha, distante 5 km del centro de la ciudad de Logroño (Figura 1). Dentro de este espacio se encuentra el humedal de La Grajera, que se construyó hace más de un siglo aprovechando la existencia de una pequeña laguna, con el fin de servir de reserva de agua para regar las huertas de la ciudad. En las últimas décadas se ha acondicionado todo el entorno, y se ha convertido en un parque urbano semi naturalizado con diversas alternativas de ocio. El humedal, actualmente protegido, posee una zona húmeda de 50,56 ha (Figura 1) con una lámina de agua permanente abastecida por una única entrada. El parque es un espacio urbano ampliamente visitado por ciudadanos, y es además paso del Camino de Santiago. La biodiversidad biológica de este humedal es muy amplia, incluyendo numerosas especies de aves, muchas de ellas migratorias que siguen las rutas procedentes de África. Estas circunstancias convierten a este humedal en un punto de especial interés en la vigilancia de la presencia de arbovirus como el virus del Oeste del Nilo, entre otros.



Figura 1. Localización de las trampas BG-Sentinel en el humedal de La Grajera, Logroño.

2.2. Captura de mosquitos

Se realizó un muestreo de 6 noches de captura con un total de 30 trampas (5 trampas/noche) entre los meses de julio y septiembre de 2016 con una periodicidad quincenal (Tabla 2). Se utilizaron dos técnicas diferentes para capturar los adultos de culícidos. La primera consistió en la colocación de cinco trampas BG-Sentinel (Biogents), cada una de ellas cebada con dióxido de carbono en forma de hielo seco y el atrayente BG-Lure (Figura 2).

Las trampas se colocaron en cinco puntos a lo largo de todo el perímetro de la zona húmeda del humedal, al atardecer, retirándolas tras el amanecer de la mañana siguiente (Figura 1). Las estaciones de muestreo se seleccionaron en función de varios criterios: abarcar diferentes localizaciones del humedal, presencia de cierta cobertura vegetal en las inmediaciones, una fácil accesibilidad y la cercanía a la lámina de agua del embalse.



Figura 2. Trampa BG Sentinel.

El segundo método consistió en la técnica de cebo humano, que supone atrapar con ayuda de un aspirador entomológico los individuos que se posan (*landing*) sobre la piel de una persona. Esta metodología es excelente para estimar las poblaciones de numerosas especies de dípteros hematófagos y conocer el grado de antropofilia de las especies (Service, 1993). La persona encargada de montar las trampas fue la responsable de realizar esta técnica, con ayuda de un aspirador de boca entomológico, durante todo el proceso que conlleva la puesta y retirada de cada una de las trampas de adultos. Este procedimiento se realizó de la misma manera en cada una de las trampas, exponiendo parte de los brazos y piernas con la piel desnuda durante cinco minutos tras la colocación y retirada de cada una de las mismas, al que hay que sumar otros cinco minutos en el trayecto de ida y vuelta desde el vehículo. Esta técnica también se realizó el día 24 de mayo en una de las visitas al humedal para preparar el presente estudio.

2.3. Identificación morfológica y molecular de los ejemplares

Los mosquitos fueron conservados en hielo seco y transportados hasta el laboratorio para su posterior identificación morfológica. La identificación taxonómica de las hembras se realizó tras el estudio de la morfología bajo lupa binocular; mientras que los machos se identificaron tras el estudio morfológico de las genitalias bajo microscopio, para lo cual éstas se disecaron y se montaron en sistema porta-cubre con medio de Hoyer. La determinación se realizó mediante la utilización de las claves de Schaffner *et al.* (2001) y Becker *et al.* (2010). Algunos individuos resultaron dañados de tal forma que no se pudieron identificar hasta nivel de especie, llegando solamente hasta género. La identificación morfológica se confirmó por el análisis del gen mitocondrial citocromo c oxidasa subunidad I (COI) y del espacio transcrito interno 2 (ITS2) del gen ribosómico, siguiendo el protocolo detallado en Hernández-Triana *et al.* (2017). Los productos de la PCR se secuenciaron en ambas direcciones siguiendo la tecnología Sanger. Por último, se compararon las secuencias obtenidas con las secuencias depositadas en GenBank mediante un BLAST (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank).

3. RESULTADOS

En total, se capturaron 1.932 ejemplares adultos de culícidos (1.800 hembras y 132 machos) pertenecientes a cinco géneros y 16 especies (Tabla 1). De las especies detalladas, ocho son primeros registros para La Rioja: *Anopheles algeriensis*, *Aedes vexans*, *Aedes detritus*, *Coquillettidia richiardii*, *Culex theileri*, *Culex perexiguus*, *Culiseta subochrea* y *Culiseta morsitans*.

Las especies más abundantes durante la época de muestreo, con más de 100 individuos cada una, fueron *Cq. richiardii* (37,2%), seguida por *Cx. pipiens* (23,4%), *An. algeriensis* (23,3%) y *Anopheles claviger* s.l. (6,2%). Entre las especies menos comunes, que representan el 9,9 % de todos los individuos capturados, se registraron *Anopheles atroparvus*, *Aedes caspius*, *Ae. detritus*, *Ae. vexans*, *Culex mimeticus*, *Culex modestus*, *Cx. theileri*, *Cx. perexiguus*, *Culiseta annulata*, *Culiseta longiareolata*, *Cs. morsitans* y *Cs. subochrea*.

Los tres únicos individuos del complejo *An. maculipennis* capturados fueron identificados molecularmente como *An. atroparvus* (100% de identidad con la secuencia correspondiente a *An. atroparvus* con número de acceso AY365007 en GenBank). Mientras que varios individuos seleccionados del complejo *An. claviger* fueron identificados molecularmente como especie más cercana a *An. claviger* s.s. (94,65% de identidad con la secuencia correspondiente a *An. claviger* s.s. con número de acceso KP749460 en GenBank). Se determinó genéticamente por proximidad a la especie más cercana la presencia de *Ae. detritus*, imposible de diferenciar morfológicamente de *Ae. coluzzii* (98,93% de identidad con la secuencia correspon-

diente a *Ae. detritus* con número de acceso KM258324 en GenBank). Las secuencias de varios individuos de *Cx. pipiens* confirmaron la presencia de la forma *Cx. pipiens pipiens* (100% de identidad con la secuencia correspondiente a *Cx. pipiens pipiens* con número de acceso FN395183 en GenBank). Finalmente, se confirmó genéticamente, como más probable, la presencia de la especie *Cs. morsitans* (98,93% de identidad con la secuencia correspondiente a *Cs. morsitans* con número de acceso KU748500 en GenBank).

Se han identificado machos de seis especies diferentes, dos de ellas corresponden con dos de las especies más frecuentes en el humedal, *An. algeriensis* y *Cx. pipiens* (Tabla 1). Esta última es la especie que cuenta con mayor número de identificaciones de machos. *Culiseta longiareolata*, por su parte, es la única especie del género *Culiseta* que ha sido identificada en forma de macho y además en un número importante si lo comparamos con el de las hembras.

TABLA 1. ESPECIES DE CULÍCIDOS REGISTRADAS EN EL HUMEDAL DE LA GRAJERA EN LOGROÑO DURANTE 2016, SEGÚN LA METODOLOGÍA DE MUESTREO, CON EL NÚMERO DE INDIVIDUOS CAPTURADOS POR ESPECIE, SU PROPORCIÓN CON RESPECTO AL TOTAL Y EL SEXO

Especie	Individuos (porcentaje)	Trampas		Cebo humano
		Hembras	Machos	Hembras
<i>Anopheles algeriensis</i> Theobald, 1903	450 (23,3%)	446	4	
<i>Anopheles atroparvus</i> Van Thiel, 1927	3 (0,2%)	1	2	
<i>Anopheles claviger</i> s.s. (Meigen, 1804)	120 (6,4%)	120		
<i>Anopheles</i> sp.	26 (1,3%)	26		
<i>Aedes caspius</i> (Pallas, 1771)	44 (2,3%)	43		1
<i>Aedes detritus</i> (Haliday, 1833)	19 (1%)			19
<i>Aedes vexans</i> (Meigen, 1830)	5 (0,3%)	5		
<i>Culex mimeticus</i> Noë, 1899	1 (0,1%)		1	
<i>Culex modestus</i> Ficalbi, 1889	9 (0,5%)	9		
<i>Culex perexiguus</i> Theobald, 1903	1 (0,1%)	1		
<i>Culex pipiens</i> Linnaeus, 1758	451 (23,4%)	366	85	
<i>Culex theileri</i> Theobald, 1903	1 (0,1%)	1		
<i>Culex</i> sp.	31 (1,6%)	31		
<i>Culiseta annulata</i> (Schrank, 1776)	4 (0,2%)	4		
<i>Culiseta longiareolata</i> (Macquart, 1838)	16 (0,8%)	10	6	
<i>Culiseta morsitans</i> (Theobald, 1901)	6 (0,3%)	6		
<i>Culiseta subochrea</i> (Edwards, 1921)	12 (0,6%)	12		
<i>Coquillettidia richiardii</i> (Ficalbi, 1889)	717 (37,2%)	681	34	2

4. DISCUSIÓN

En el presente trabajo se aportan datos sobre la abundancia, fenología y comportamiento trófico de las especies de mosquitos identificadas en La Grajera. El conocimiento de la bioecología de las diferentes especies nos aporta valiosa información para posteriormente discutir el posible papel de cada una de ellas en la transmisión de enfermedades. Para facilitar el seguimiento de la discusión, se ha optado por realizar la misma en función de diferentes apartados.

4.1. Abundancia de especies

Coquillettidia richiardii es una de las dos especies del género *Coquillettidia* propias de la región Paleártica y común a lo largo de toda Europa. Las larvas y pupas de esta especie poseen estructuras especializadas para fijarse a las raíces sumergidas y tomar el oxígeno de las plantas (Sérandour *et al.*, 2010). El desarrollo larvario es muy lento, lo que conlleva que los lugares de cría deban permanecer permanentemente inundados (Ramsdale y Snow, 2001). Entre las características ecológicas de La Grajera, que permiten la abundancia de esta especie, encontramos el mantenimiento constante de la lámina de agua y la importante cubierta vegetal de gran parte de sus orillas, con presencia de plantas hospedadoras del género *Typha* (L.), *Phragmites* Adans., y *Juncus* L. (Rueda *et al.*, 2015).

En nuestro estudio, los anofelinos están representados por tres especies: *An. algeriensis*, *An. claviger* s.s. y *An. atroparvus*. Las dos primeras fueron capturadas en abundancia, mientras que *An. atroparvus* posee un papel secundario dentro del humedal, a pesar de que éste ofrece *a priori* todas las características ecológicas requeridas de esta especie. Aunque los individuos secuenciados del complejo *An. claviger* mostraron un porcentaje de identidad elevado con *An. claviger* s.s., no se puede descartar del todo la presencia del otro representante del complejo *claviger* (*An. petragani*) en La Grajera, puesto que es una especie que ha sido identificada en numerosas poblaciones de La Rioja (Bueno, 2012). Las tres especies de aedinos identificados, *Ae. caspius*, *Ae. detritus* y *Ae. vexans*, están poco representadas en el presente estudio, probablemente porque el periodo de estudio no incluyó la primavera y porque La Grajera no cumple con los factores ecológicos para el desarrollo masivo de estas especies. Este humedal presenta una lámina de agua estable, que impide el desarrollo de sus lugares de cría debido a la fluctuación del nivel del agua. Probablemente la población de *Ae. caspius* y *Ae. vexans* sería mayor tras la eclosión de los huevos invernantes con las primeras lluvias durante la primavera. Mientras que *Ae. detritus*, está presente exclusivamente durante la época primaveral (Tabla 2), seguramente por la desecación temprana de los lugares de cría donde se han desarrollado los inmaduros durante el invierno. Esta especie precisa de lugares de cría halófilos y quizás por esta razón no desarrolla una gran densidad poblacional en La Grajera.

Culex pipiens, la especie más común de mosquito en nuestro país, ha sido identificada en gran número en La Grajera. Su plasticidad ecológica le permite adaptarse a diferentes biotipos acuáticos para criar (Schaffner *et al.*, 2001). La identificación molecular de varios individuos determinó la existencia de la forma *Cx. pipiens pipiens*, propia de aguas limpias y no contaminadas (Eritja y Goula, 1999). El resto de especies del género *Culex* identificadas, *Cx. modestus*, *Cx. mimeticus*, *Cx. perexiguus* y *Cx. theileri* han sido capturadas de manera anecdótica evidenciando su escasa presencia en el área de estudio. En cuanto al género *Culiseta*, las cuatro especies identificadas, *Cs. annulata*, *Cs. longiareolata*, *Cs. morsitans* y *Cs. subochrea*, tienen una presencia puntual en La Grajera. La falta de secuencias del gen COI y de otros genes de la especie *Cs. litorea* (especie muy próxima a *Cs. morsitans* y presente en España (González *et al.*, 2015)) en las bases de datos, hace que la identificación molecular de esta especie deba ser interpretada con precaución.

4.2. Fenología de las especies

El periodo de muestreo estuvo muy limitado a la época estival; no obstante, se observan diferentes patrones en la fenología de las diferentes especies. Las cuatro especies más abundantes (*Cq. richiardii*, *Cx. pipiens*, *An. algeriensis* y *An. claviger* s.l.) han estado presentes a lo largo de todo el periodo de estudio (Tabla 2). Este hecho remarca la dominancia de las especies que realizan la puesta de huevos sobre la superficie del agua en detrimento de las especies que la realizan sobre el suelo (aedinos) que están presentes únicamente o de una manera más marcada en primavera o principios de verano. Por ejemplo, *Ae. detritus* únicamente fue capturado sobre cebo humano durante la visita previa de este trabajo realizada en mayo. Posteriormente, durante la época de estudio no fue identificado ni en las trampas ni picando al ser humano a pesar de ser una especie que puede desarrollar hasta tres generaciones por año (Becker *et al.*, 2010). Otro ejemplo de aedino que concentra su población en primavera y principios de verano es *Ae. caspius*, pasando de 37 individuos capturados en julio a dos individuos en cada una de las fechas de captura posteriores (Tabla 2). Pese a que *Ae. vexans* cuenta con muy pocos individuos capturados, esta especie está presente tanto al principio como al final del verano, lo que remarca su carácter multivoltino (Encinas Grandes, 1982; Becker *et al.*, 2010).

Coquillettidia richiardii presenta varias generaciones al año en La Grajera, comportamiento descrito en las poblaciones del sur de Europa (Becker *et al.*, 2010). Esta especie presenta un pico a mediados de agosto, si bien se observa una reducción en el número de individuos capturados en las dos últimas fechas, coincidiendo con el final del verano (Schaffner *et al.*, 2001).

Los dos anofelinos más abundantes, *An. algeriensis* y *An. claviger* s.s., presentan una fenología diferente. Mientras que el primero tiene dos picos de abundancia bien diferenciados a mediados de agosto y finales de septiembre el segundo es más abundante a principios de la época estival.

Schaffner *et al.* (2001) describe normalmente dos generaciones para *An. claviger* s.s., una al comienzo de la primavera y otra a finales del verano. Según nuestros hallazgos esta especie tendría una generación más entre ambos periodos. El mismo hecho se observa para *An. algeriensis*, donde la bibliografía señala los periodos de máxima población durante la primavera y otoño (Schaffner *et al.*, 2001) y sin embargo nuestras observaciones remarcan otro pico de abundancia en agosto.

Culex pipiens, especie multivoltina (presenta varias generaciones al año), presenta un pico de población a principios de agosto disminuyendo progresivamente el número de individuos en cada fecha de captura. Aunque *Cx. modestus* no está muy representado en el humedal, se observa como el mayor número de individuos está presente a mediados de agosto coincidiendo con las observaciones de otros autores (Schaffner *et al.*, 2001). En el resto de especies del género *Culex* no se observa ningún patrón temporal debido al escaso número de capturas.

TABLA 2. NÚMERO DE INDIVIDUOS CAPTURADOS DE CADA ESPECIE DE CULÍCIDO SEGÚN EL SEXO POR FECHA DE CAPTURA DURANTE 2016 EN EL HUMEDAL DE LA GRAJERA EN LOGROÑO

Especie	Fecha de captura						
	24/05	21/7	3/8	18/8	31/8	14/9	29/9
<i>Anopheles algeriensis</i> Theobald, 1903		63/3	60/1	121	62	31	109
<i>Anopheles atroparvus</i> Van Thiel, 1927			/2			1	
<i>Anopheles claviger</i> s.s. (Meigen, 1804)		28	30	31	6	12	13
<i>Anopheles</i> sp.		13	1	6	6		
<i>Ochlerotatus caspius</i> (Pallas, 1771)		37	1	2		2	1
<i>Ochlerotatus detritus</i> (Haliday, 1833)	19						
<i>Aedes vexans</i> (Meigen, 1830)		2	1			1	1
<i>Culex mimeticus</i> Noè, 1899					/1		
<i>Culex modestus</i> Ficalbi, 1889		1		7			1
<i>Culex perexiguus</i> Theobald, 1903							1
<i>Culex pipiens</i> Linnaeus, 1758		39/3	149/34	91/13	50/21	25/8	12/6
<i>Culex theileri</i> Theobald, 1903					1		
<i>Culex</i> sp.		1	3	17	8	2	
<i>Culiseta annulata</i> (Schrank, 1776)		1		3			
<i>Culiseta longiareolata</i> (Macquart, 1838)			2/1	1/2	1	4/3	2
<i>Culiseta morsitans</i> (Theobald, 1901)				1	2	3	
<i>Culiseta subochrea</i> (Edwards, 1921)				5	2	4	1
<i>Coquillettidia richiardii</i> (Ficalbi, 1889)	2	105/19	123/2	288/6	108/5	53	4/2

♀/♂: El numerador indica el número de hembras y el denominador el número de machos.

El escaso número de individuos capturado de las diferentes especies de *Culiseta* no permite discutir su fenología en profundidad, pero aun así se observan ciertos patrones temporales. Por ejemplo, *Cs. annulata* tan sólo ha sido identificada hasta mediados de agosto, aunque su presencia es habitual a finales de verano (Schaffner *et al.*, 2001). El resto de especies del género sin embargo fueron capturadas durante agosto y septiembre. *Culiseta morsitans*, es la única de las especies del género identificada que es univoltina en estas latitudes, originando la única generación anual durante la primavera tras la eclosión de las larvas invernantes (Schaffner *et al.*, 2001). Sin embargo, los hallazgos de esta especie durante el mes de agosto y septiembre, demuestran que esta especie desarrolla más de un ciclo biótico durante la época estival.

4.3. Comportamiento y otros aspectos epidemiológicos

Se han capturado tres especies picando al ser humano: *Ae. caspius*, *Ae. detritus* y *Cq. richiardii*, concentrando las capturas de todos los individuos en primavera y durante la primera fecha de puesta de trampas en julio. *Aedes detritus* es sin duda la especie más antropofílica de las detectadas en este estudio. Esta especie tiene tropismo por alimentarse sobre todos los animales de sangre caliente llegando a ocasionar molestias a varios km de sus lugares de cría, gracias a una gran capacidad de vuelo (Becker *et al.*, 2010). Aunque se trata de una especie muy agresiva, no tiene una gran capacidad vectorial (Tabla 3). La segunda especie más agresiva detectada es *Ae. caspius*. Esta especie es una ávida picadora del ser humano, pudiendo llegarse a desplazar largas distancias en busca de sus hospedadores (Meleiro-Alcíbar, 2004). A pesar de la poca presencia de individuos de esta especie en La Grajera, la habilidad de *Ae. caspius* para criar en gran variedad de biotopos posibilita que en un momento dado este aedino pueda llegar a dar lugar a grandes densidades poblacionales desde la primavera hasta el otoño. En cuanto a su capacidad vectorial, es capaz de transmitir los virus Tahyna, virus del Oeste del Nilo y la mixomatosis (Tabla 3). *Coquillettidia richiardii* es la tercera especie detectada con la técnica de cebo humano. Las hembras prefieren alimentarse sobre mamíferos, pero también pueden picar a pájaros y anfibios al atardecer y durante la noche (Becker *et al.*, 2010). Cabe mencionar que no se han detectado demasiadas hembras picando en relación a su gran abundancia en el humedal. Debido a su limitada capacidad de vuelo no suponen un grave problema fuera de La Grajera. Esta especie es vector del virus del Oeste del Nilo (Tabla 3).

Aedes vexans es una especie mamófila, muy molesta para el ser humano, aunque no ha sido capturada picando a personas en el presente estudio. Su gran capacidad de vuelo hace que en algunos países sea la especie de mosquito que más molestias causa durante el verano (Becker *et al.*, 2010). Posiblemente *Ae. vexans* es una de las especies con mayor capacidad vectorial, de las detectadas en el estudio (Tabla 3).

El presente trabajo ha identificado tres especies de anofelinos potenciales vectores de malaria. Sin lugar a dudas, la principal especie es *An. atroparvus*, vector responsable de la malaria o paludismo en Europa. No ha sido registrado picando al ser humano, posiblemente por su preferencia zoófila y su limitada presencia en la Grajera. Aspectos que apuntan un riesgo bajo de transmisión palúdica al ser humano en este humedal. No obstante, acontecimientos recientes involucran a esta especie como posible responsable de los casos de malaria autóctona acontecidos en la Cartuja de Monegros (Huesca) en 2010 (Santa-Olalla *et al.*, 2010) y en Viana (Navarra), a escasos km de Logroño, en 2014 (Gobierno de La Rioja, 2014). Su presencia en La Rioja es más habitual en otros humedales como la Laguna de la Degollada (datos no publicados) y en ambientes fluviales de la mitad oriental de la Comunidad (Bueno, 2012). El potencial vectorial de esta especie se complementa por ser transmisor del virus del Oeste del Nilo y la mixomatosis (Tabla 3). La segunda especie que podría jugar un papel importante en la transmisión de *Plasmodium* spp. es *An. claviger* s.s. Este anofelino se ha descrito como un vector importante de paludismo en la región mediterránea oriental, Oriente Próximo y Asia Central aunque tiene un carácter eminentemente zoofílico y exófilo (Horsfall, 1972; Schaffner *et al.*, 2001; Becker *et al.*, 2010). En el presente trabajo, esta especie no ha sido registrada alimentándose sobre el ser humano a pesar de su abundancia relativa en el humedal, lo que implica un bajo riesgo de transmisión palúdica para las personas. Por último, *An. algeriensis* tendría también un papel menor en la potencial transmisión de este protozoo en la Grajera por su nula querencia observada por alimentarse sobre las personas, a pesar de su gran capacidad para transmitir *Plasmodium* spp. (Becker *et al.*, 2010).

No se ha capturado ninguna especie del género *Culex* alimentándose sobre personas a pesar de haber registrado especies muy agresiva como *Cx. modestus* y otras como *Cx. pipiens* y *Cx. theileri* que también pueden sentirse atraídas por el ser humano (Muñoz *et al.*, 2012). Exceptuando a *Cx. pipiens*, especie abundante en el humedal, el resto tienen una presencia anecdótica que podría explicar esta ausencia de molestias. Así pues, *Cx. pipiens* presenta un comportamiento ornitófilo correlacionado con las aguas no contaminadas del humedal (Ertitja y Goula, 1999; Shaffner *et al.*, 2001). Es una especie con gran potencial vectorial, capaz de transmitir varios arbovirus (Tabla 3). *Culex pipiens* se postula como una de las especies que podría mantener el ciclo enzoótico del virus del Oeste del Nilo entre las aves; aunque no se debe descartar su posible protagonismo en la vehiculación del virus a los seres humanos (Muñoz *et al.*, 2012). Además, junto a *Cx. perexiguus*, también encontrado en el presente trabajo, son las únicas especies donde ha sido aislado el virus en España (Vázquez *et al.*, 2010; 2011). La naturaleza antropófila de *Cx. modestus* y su gran capacidad vectorial (Tabla 3) lo erigen como otra de las especies a prestar especial atención en la transmisión del virus del Oeste del Nilo a pesar de que en el sur de España haya sido descrito como un potencial vector únicamente en ciclos enzoóticos entre aves (Muñoz *et al.*, 2012). Respecto a *Cx. theileri*, es

capaz de transmitir el virus Sindbis, el virus de la Fiebre del Valle del Rift y el virus del Oeste del Nilo. En relación a las otras dos especies restantes del género, *Cx. mimeticus* y *Cx. perexiguus*, ambas han sido encontradas infectadas naturalmente por el virus del Oeste del Nilo y la segunda con el virus Usutu, y podrían jugar un papel importante en los ciclos enzooticos de estas enfermedades (Schaffner *et al.*, 2001; Becker *et al.*, 2010; Vázquez *et al.*, 2011; Muñoz *et al.*, 2012).

Por último, dentro del género *Culiseta* la especie con mayor implicación sanitaria es *Cs. annulata* ya que posee un amplio rango de hospedadores incluyendo al ser humano (Encinas Grandes, 1982; Alten *et al.*, 2000) y es vectora de varios patógenos (Tabla 3). En cuanto a la especie *Cs. subochrea*, especie zoofílica, incluyendo a las personas, se desconoce su rol vectorial. Finalmente *Cs. longiareolata* y *Cs. morsitans* son ornitófilas y su rol como vector es muy limitado (Tabla 3).

En el sur de Europa se producen esporádicamente brotes del virus del Oeste del Nilo, atribuidos por la importación del virus a través de aves migratorias infectadas de África y la implicación de especies de mosquitos locales (Murgue *et al.*, 2002). En concreto en España se registran casos de este arbovirus en équidos y seres humanos desde 1999 (García-Bocanegra *et al.* 2011; De la Calle *et al.*, 2012). Al respecto, La Grajera en Logroño se postula como un humedal de bajo riesgo para contraer el virus del Oeste del Nilo a pesar de la gran afluencia de personas que disfrutan el entorno y la gran diversidad de aves migratorias procedentes de África. No obstante, se han capturado 11 especies de mosquitos capaces de actuar como posibles vectoras del virus a lo largo de todo el periodo de estudio. Estas especies representan el 64,5 % del total de individuos capturados. Entre los potenciales vectores, destaca *Cq. richiardii*, especie implicada en la transmisión del virus del Oeste del Nilo a nivel mundial (Medlock *et al.*, 2005). Su abundancia a lo largo de toda la época estival unido a su tropismo por alimentarse tanto de aves como de seres humanos postulan a esta especie como un potencial vector-puente del virus del Oeste del Nilo de aves a humanos. Otra especie que por su abundancia en el humedal podría actuar como vector-puente podría ser *Cx. pipiens* aunque todo indica a que tiene un marcado carácter ornitófilo en nuestro estudio. Tampoco se pueden descartar cuatro especies muy antropófilas (*Ae. caspius*, *Ae. detritus*, *Ae. vexans* y *Cx. modestus*) que pese a su poca densidad poblacional en La Grajera, han sido descritas como vectoras del virus del Oeste del Nilo en Europa (Schaffner *et al.*, 2001; Medlock *et al.*, 2005; Chapman *et al.*, 2017). Finalmente se han identificado varias especies con comportamiento zoofílico que pueden alimentarse esporádicamente sobre seres humanos y que a su vez han sido identificadas como transmisoras del virus del Oeste del Nilo: *An. atroparvus*, *Cx. theileri* y *Cs. annulata* e infectadas naturalmente como *Cx. mimeticus* y *Cx. perexiguus* (Schaffner *et al.*, 2001; Becker *et al.*, 2010; Chapman *et al.*, 2017).

TABLA 3. COMPETENCIA VECTORIAL DE LAS ESPECIES DE CULÍCIDOS IDENTIFICADAS DURANTE 2016 EN EL HUMEDAL DE LA GRAJERA EN LOGROÑO

Especie	Competencia vectorial	Hospedador donde produce enfermedad	Presencia de la enfermedad en España
<i>Anopheles algeriensis</i> Theobald, 1903	Malaria [1]	H	No
<i>Anopheles atroparvus</i> Van Thiel, 1927	Malaria [2]	H	No
	Mixomatosis [3]	C	Endémica
	Virus del Oeste del Nilo [2]	A, E y H	Esporádica
<i>Anopheles claviger</i> s.s. (Meigen, 1804)	Malaria [1]	H	No
<i>Aedes caspius</i> (Pallas, 1771)	Mixomatosis [1]	C	Endémica
	Virus del Oeste del Nilo [5]	A, E y H	Esporádica
	Virus Tahyna [4]	C, H y Ro	No
<i>Aedes detritus</i> (Haliday, 1833)	Mixomatosis [2]	C	Endémica
	Virus de la Encefalitis Japonesa [5]	A, Ce, E y H	No
	Virus del Oeste del Nilo [5]	A, E y H	Esporádica
<i>Aedes vexans</i> (Meigen, 1830)	Virus de la Encefalitis Equina del Este [5]	A, E y H	No
	Virus de la Fiebre del Valle del Rift [6]	H y R	No
	Virus del Oeste del Nilo [5,7]	A, E y H	Esporádica
	Virus Tahyna [4]	C, H y Ro	No
<i>Culex mimeticus</i> Noè, 1899	Virus del Oeste del Nilo* ¹ [2]	A, E y H	Esporádica
<i>Culex modestus</i> Ficalbi, 1889	Mixomatosis [2]	C	Endémica
	Virus Lednice [2]	A	No
	Virus del Oeste del Nilo [5]	A, E y H	Esporádica
	Virus Tahyna [1, 2]	C, H y Ro	No
<i>Culex perexiguus</i> Theobald, 1903	Virus del Oeste del Nilo* ² [1]	A, E y H	Esporádica [8]
	Virus Usutu* ² [2]	A, E y H	Esporádica [8]
<i>Culex pipiens</i> Linnaeus, 1758	Malaria [2]	A	No
	Virus Sindbis [2]	A y H	No
	Virus Usutu [2]	A, E y H	Esporádica [9]
	Virus de la Encefalitis Japonesa [5]	A, Ce, E y H	No
	Virus de la Encefalitis de San Luis [2]	A, E y H	No
	Virus de la Fiebre del Valle del Rift [2]	H	No
	Virus del Oeste del Nilo [5]	A, E y H	Esporádica [10]

<i>Culex theileri</i> Theobald, 1903	Virus Sindbis [1]	A y H	No
	Virus de la Fiebre del Valle del Rift [1]	H y R	No
	Virus del Oeste del Nilo [1]	A, E y H	Esporádica
<i>Culiseta annulata</i> (Schrunk, 1776)	Malaria [2]	A	No
	Mixomatosis [2]	C	Endémica
	Virus del Oeste del Nilo [5]	A, E y H	Esporádica
<i>Culiseta longiareolata</i> (Macquart, 1838)	Malaria [2]	A	No
<i>Culiseta morsitans</i> (Theobald, 1901)	Virus de la Encefalitis Equina del Este [5]	A, E y H	No
<i>Culiseta subochrea</i> (Edwards, 1921)	Desconocido		
<i>Coquillettidia richiardii</i> (Ficalbi, 1889)	Virus del Oeste del Nilo [5,7]	A, E y H	Esporádica

*1 No se ha demostrado su competencia vectorial

*2 Patógenos que han sido encontrados naturalmente en especies de mosquitos de España a pesar de que no se ha demostrado su competencia vectorial.

[1] Becker *et al.* (2010)

[2] Schaffner *et al.* (2001)

[3] Brugman *et al.* (2015)

[4] Lundstrom (1994)

[5] Chapman *et al.* (2017)

[6] Fontenille *et al.* (1998)

[7] Medlock *et al.* (2005)

[8] Vázquez *et al.* (2011)

[9] Busquets *et al.* (2008)

[10] Vázquez *et al.* (2010)

A: Aves

C: Conejos

Ce: Cerdos

E: Équidos

H: Seres humanos

R: Rumiantes

Ro: Roedores

5. CONCLUSIONES

En el humedal de La Grajera se han detectado 16 especies de culícidos, 8 de ellas constituyen nuevos registros para La Rioja. Este trabajo es el primero que aborda el estudio de la fauna de culícidos en La Rioja estudiando su fenología. Este tipo de estudios son pertinentes y necesarios para evaluar los riesgos de transmisión de patógenos en una región y como tal poder establecer las medidas preventivas oportunas. El presente trabajo sirve de punto de partida para un futuro programa de vigilancia de arbovirus y otros microorganismos en la culicidofauna de este espacio semiurbano. Se ha comprobado además el potencial de la identificación molecular de las

especies como confirmación de la morfología de las especies complejo. En relación al potencial vectorial de las especies detectadas, son varias las que por sus características ecológicas y su abundancia son buenos candidatos para ejercer de transmisores de patógenos como el virus del Oeste del Nilo o *Plasmodium* spp. Respecto a las molestias humanas se han detectado distintas especies agresivas sobre el ser humano que podrían llegar a ocasionar molestias importantes tanto dentro como fuera del parque.

6. AGRADECIMIENTOS

Queremos mostrar nuestro agradecimiento al Ayuntamiento de Logroño por concedernos permiso para realizar el estudio en La Grajera, y la ayuda prestada por los guardas de La Grajera, Joaquín y Antonio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Angelini, R., Finarelli, A.C., Angelini, P., Po, C., Petropulacos, K., Macini, P., Fiorentini, C., Fortuna, C., Venturi, G., Romi, R., Majori G., Nicoletti, L., Rezza, G. y Cassone, A. (2007). An outbreak of chikungunya fever in the province of Ravenna, Italy. *Euro Surveillance*, 12(36): pii=3260. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=3260>.
- Alarcón-Elbal, P.M., Delacour-Estrella, S., Ruiz-Arrondo, I., Pinal, R., Muñoz, A., Oropeza, V., Carmona-Salido, V.J., Estrada, R. y Lucientes, J. (2012). Los culícidos (Diptera Culicidae) del valle medio del Ebro I: La Rioja (Norte de España). *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*, 50, 359-365.
- Alten, B., Bellini, R., Caglar, S.S., Simsek, F.M. y Kaynas, S. (2000). Species composition and seasonal dynamics of mosquitoes in the Belek region of Turkey. *Journal of Vector Ecology*, 25(2), 146-54.
- Aranda, C., Panyella, O., Eritja, E. y Castellà, J. (1998) Canine filariasis. Importance and transmission in the Baix Llobregat area, Barcelona (Spain). *Veterinary Parasitology*, 77, 267-275.
- Becker, N., Petric, D., Zgomba, M., Boase, C., Madon, M., Dahl, C. y Kaiser, A., (2010). *Mosquitoes and their control*. 2nd ed. Heidelberg. Springer, Germany, 577p.
- Bueno Marí, R. (2012). Estudio faunístico y eco-epidemiológico de los mosquitos (Diptera, Culicidae) de La Rioja. *Zubía*, 30, 141-161.
- Busquets, N., Alba, A., Allepuz, A., Aranda, C. y Núñez, J.I. (2008). Usutu virus sequences in *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae), Spain. *Emerging Infectious Diseases*, 14, 861-862.

- Chapman, G.E., Archer, D., Torr, S., Solomon, T. y Baylis, M. (2017). Potential vectors of equine arboviruses in the UK. *Veterinary Record*, 180 (1), 19. Doi: 10.1136/vr.103825.
- De La Calle, I., Espinosa-García, M.J., Pérez-Ramos, S. y Cruz-Rosales, E. (2012). First confirmed cases of human meningoencephalitis due to West Nile virus in Andalusia, Spain. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 30, 426-427.
- Detinova, T.S. y Smelova, V.A. (1973). K voprosu o medicinskom znachenii komarov (Culicidae, Diptera) fauni Sovyetskogo Soyuz. *Meditinskaya parazitologiya i parazitarnye bolezni*, 42 (4), 455-471.
- Encinas Grandes, A. (1982). *Taxonomía y biología de los mosquitos del área salmantina (Diptera, Culicidae)*. (Universidad de Salamanca), Salamanca, 437 p.
- Eritja, R. y Goula, M. (1999). Anàlisi sobre dos ecotipus de Culex (Culex) pipiens Linnaeus, 1758 (Diptera: Culicidae) al Baix Llobregat. *Butlletí de la Institució Catalana d'Història Natural*, 67, 21-38.
- European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). (2014). *Guidelines for the surveillance of native mosquitoes in Europe*. Stockholm, 119 p.
- Fontenille, D.; Traore-Lamizana, M.; Diallo, M. Thonnon, J., Digoutte, J.P. y Zeller, H.G. (1998). New Vectors of Rift Valley Fever in West Africa. *Emerging Infectious Disease*, 4 (2), 289-293.
- García-Bocanegra, I., Busquets, N., Napp, S., Alba, A., Zorrilla, I., Villalba, R. y Arenas, A. (2011). Serosurvey of West Nile virus and other flaviviruses of the Japanese encephalitis antigenic complex in birds from Andalusia, southern Spain. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 11, 1107-13. Doi:10.1089/vbz.2009.0237
- Gjenero-Margan, I., Aleraj, B., Krajcar, D., Lesnikar, V., Klobučar, A., Pem-Novosel, I., Kurečić-Filipović, S., Komparak, S., Martić, R., Đuričić, S., Betica-Radić, L., Okmadžić, J., Vilibić-Čavlek, T., Babić-Erceg, A., Turković, B., Avšić-Županc, T., Radić, I., Ljubić, M., Šarac, K., Benić, N. y Mlinarić-Galinović, G. (2010). Autochthonous dengue fever in Croatia, August–September 2010. *Euro Surveillance*, 16(9):pii=19805. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19805>.
- Gobierno de La Rioja (2014). *Informe de resultados de caso de sospecha de malaria autóctona en Viana (Navarra)*. Dirección General de Salud Pública y Consumo, Gobierno de La Rioja.
- González, M., López, S. y Alarcón-Elbal, P.M. (2015). Blood-feeding Diptera (Culicidae and Ceratopogonidae) in an urban park of the city of Vitoria-Gasteiz (Basque Country, Spain). *Journal of the European Mosquito Control Association*, 33, 10-14.
- Hernández-Triana, L.M., Brugman, V.A., Prosser, S.W.J., Weland, C., Nikolova, N., Thorne, L., Fernández de Marco, M., Fooks, A.R. y Johnson, N.

- (2017). Molecular approaches for blood meal analysis and species identification of mosquitoes (Insecta: Diptera: Culicidae) in rural locations in southern England, United Kingdom. *Zootaxa*, 4250 (1), 067–076. Doi: <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4250.1.5>
- Horsfall, W.R. (1972). *Mosquitoes: their bionomics and relation to disease*. Hafner Publications, New York, 723 p.
- Kampen, H., Proft, J., Etti, S., Maltezos, E., Pagonaki, M., Maier, W.A. y Seitz, H.M. (2003). Individual cases of autochthonous malaria in Evros Province, northern Greece: entomological aspects. *Parasitology Research*, 89, 252-258. PMID:12632161
- Jupille, H., Seixas, G., Mousson, L., Sousa, C.A. y Failloux, A.B. (2016). Zika Virus, a New Threat for Europe? *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 10(8), e0004901. Doi:10.1371/journal.pntd.0004901
- La Roche, G., Souares, Y., Armengaud, A., Peloux-Petiot, F., Delaunay, P., Despres, P., Lenglet, A., Jourdain, F., Leparcqoffart, I., Charlet, F., Ollier, L., Mantey, K., Mollet, T., Fournier, J.P., Torrents, R., Leitmeyer, K., Hilaret, P., Zeller, H., Van Bortel, W., Dejour-Salamanca, D., Grandadam, M. y Gastellu-Etchegorry, M. (2010). First two autochthonous dengue virus infections in metropolitan France, September (2010). *Euro Surveillance*, 15(39):pii=19676. Available online: [http:// www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx? ArticleId=19676](http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19676).
- Lundström, J.O. (1994). Vector competence of western European mosquitoes for arboviruses: A review of field and experimental studies. *Bulletin of the Society for Vector Ecology*, 19, 23-36.
- Melero Alcibar, R. (2004). *Biología y fenología de los culicinae (Diptera: Culicidae) de la Comunidad de Madrid*. Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Ciencias Biológicas, Madrid, 219 p.
- Medlock, M.J., Snow, K.R. y Leach, S. (2005). Potential transmission of West Nile virus in the British Isles: an ecological review of candidate mosquito bridge vectors. *Medical and Veterinary Entomology*, 19, 2-21.
- Medlock, M.J., Hansford, K.M., Schaffner, F., Versteirt, V., Hendrickx, G., Zeller H. y Van Bortel W. (2012). A review of the invasive mosquitoes in Europe: ecology, public health risks, and control options. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 12(6), 435-447. Doi: <https://doi.org/10.1089/vbz.2011.0814>
- Muñoz, J., Ruiz, S., Soriguer, R., Alcaide, M., Viana, D.S., Roiz, D., Vázquez, A. y Figuerola, J. (2012). Feeding patterns of potential West Nile virus vectors in south-west Spain. *PLoS One*, 7:e39549.
- Murgue, B., Zeller, H. y Deubel, V. (2002). The ecology and epidemiology of West Nile virus in Africa, Europe and Asia. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 267, 195-221.
- Ramsdale, C.D. y Snow, K.R. (2001). Distribution of the genera *Coquilletidia*, *Orthopodomyia* and *Uranotaenia* in Europe. *European Mosquito Bulletin*, 10, 25.

- Rueda, J., Hernández, R., Benavent, J.M., Saccò, M. y Benedito-Durà, V. (2015). Primera cita de *Coquillettidia (Coquillettidia) richiardii* Ficalbi, 1899 (Diptera: Culicidae) para la Comunidad Valenciana (España). *Anales de Biología* 37, 129-132. Doi: <http://dx.doi.org/10.6018/analesbio.37.14>
- Santa-Olalla, P., Vázquez-Torres, M.C., Latorre-Fandós, E., Mairal-Claver, P., Cortina-Solano, P., Puy-Azón, A., Adiego-Sancho, B., Leitme yer, K., Lucientes-Curdi, J. y Sierra-Morós, M.J. (2010). First autochthonous malaria case due to *Plasmodium vivax* since eradication, Spain, October 2010. *Euro Surveillance*, 15 (41),pii=19684. Available online: <http://www.euro-surveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19684>
- Sérandour, J., Willison, J., Thuiller, W., Ravanel, P., Lempérière, G. y Rave-ton, M. (2010). Environmental drivers for *Coquillettidia* mosquito habitat selection: a method to highlight key field factors. *Hidrobiologia*, 652,377-388.
- Service, M.W. (1993). *Mosquito Ecology. Field Sampling Methods*. Essex. Elsevier Science Publishers, 988 p.
- Schaffner, F., Angel, G., Geoffroy, B., Hervy, J.O. y Rhaeim, A. (2001). *The mosquitoes of Europe / Les moustiques d' Europe*. Montpellier (IRD Éditions and EID Méditerranée). (CD program).
- Vázquez, A., Sánchez-Seco, M.P., Ruiz, S., Molero, F., Hernández, L., Moreno, J., Magallanes, A., Gómez Tejedor, C. y Tenorio, A. (2010). Putative new lineage of West Nile virus, Spain. *Emerging Infectious Diseases*, 16, 549-552.
- Vázquez, A., Ruiz, S., Herrero, L., Moreno, J., Molero, F., Magallanes, A., Sánchez-Seco, M.P., Figuerola, J. y Tenorio, A. (2011). West Nile and Usutu viruses in mosquitoes in Spain, 2008–2009. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 85, 178-181.
- Török, E., Tomazatos, A., Cadar, D., Horváth, C., Keresztes, L., Jansen, S., Becker, N., Kaiser, A., Popescu, O., Schmidt-Chanasit, J., Jöst, H. y Lühken, R. (2016). Pilot longitudinal mosquito surveillance study in the Danube Delta Biosphere Reserve and the first reports of *Anopheles algeriensis* Theobald, 1903 and *Aedes hungaricus* Mihályi, 1955 for Romania. *Parasites & Vectors*, 9, 196. Doi: 10.1186/s13071-016-1484-7.