

TESIS DOCTORAL

**DISTRIBUCIÓN DE DíPTEROS VECTORES EN EL SUROESTE ESPAÑOL Y
CONSECUENCIAS SANITARIAS DEBIDO A ESPECIES PRODUCTORAS DE
MIASIS INVASORAS Y AUTÓCTONAS**



JUAN BLANCO CIUDAD

Departamento de Sanidad Animal

Área de Parasitología

2017



TESIS DOCTORAL

**DISTRIBUCIÓN DE DÍPTEROS VECTORES EN EL SUROESTE ESPAÑOL
Y CONSECUENCIAS SANITARIAS DEBIDO A ESPECIES PRODUCTORAS
DE MIASIS INVASORAS Y AUTÓCTONAS**

JUAN BLANCO CIUDAD

Departamento de Sanidad Animal.

Conformidad de los Directores:

Fdo: Eva María Frontera Carrión **Fdo:** Juan Enrique Pérez Martín **Fdo:** Francisco Javier Serrano Aguilera

2017

Dña. Eva María Frontera Carrión, D. Juan Enrique Pérez Martín y D. Francisco Javier Serrano Aguilera, profesores titulares de Universidad del Área de Parasitología (Departamento de Sanidad Animal), de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Extremadura, y directores de la Tesis Doctoral **“DISTRIBUCIÓN DE DíPTEROS VECTORES EN EL SUROESTE ESPAÑOL Y CONSECUENCIAS SANITARIAS DEBIDO A ESPECIES PRODUCTORAS DE MIASIS INVASORAS Y AUTÓCTONAS”** de la cuál es autor el Licenciado en Veterinaria **D. Juan Blanco Ciudad**.

INFORMAN

Que dicha memoria ha sido realizada bajo su dirección, cumpliendo los requisitos exigidos en la legislación vigente para optar al grado de Doctor en Veterinaria.

VºBº

Los Directores

Fdo: Eva María Frontera Carrión **Fdo:** Juan Enrique Pérez Martín **Fdo:** Francisco Javier Serrano Aguilera

A Esther, por su confianza incondicional

Para el investigador no existe alegría comparable a la de un descubrimiento, por pequeño que sea...

-Alexander Fleming.

L'homme est un enfant capricieux qui croit que la Terre est sa chambre, les bêtes ses jouets, les arbres ses hochets.

-Sylvain Tesson. Dans les forêts de Sibérie.

ÍNDICE

1	INTRODUCCIÓN.....	17
2	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.	23
2.1	ENTOMOFAUNA DE <i>CULICOIDES</i> Y DÍPTEROS NECRÓFAGOS	23
2.1.1	<i>Dípteros: Culicoides</i>	23
2.1.1.1	Características.....	23
	Introducción.....	23
	Taxonomía.....	26
	Morfología.....	30
2.1.1.2	Distribución.....	44
	Europa.....	44
	España.....	46
	Extremadura.....	50
2.1.1.3	Importancia sanitaria.....	50
	Lengua Azul.....	51
	Métodos de control de la lengua azul.....	55
	Peste Equina Africana.....	59
	Enfermedad Hemorrágica Epizoótica.....	60
	Protozoos sanguíneos.....	61
	Oncocercosis equina.....	62
	Dermatitis alérgica equina.....	63
	Virus de Schmallenberg.....	64
2.1.2	<i>Dípteros: Moscas necrófagas</i>	65
2.1.2.1	Características.....	65
	Familia Calliphoridae.....	65
	Familia Sarcophagidae.....	74
	Otras familias de moscas.....	76
2.1.2.2	Distribución geográfica.....	78
2.1.2.3	Importancia.....	80
	Terapia Larvaria.....	80
	Entomología forense.....	82
	Importancia médico-veterinaria.....	84
	Uso de dípteros como agentes recicladores.....	86
	El uso de cebos en pesca deportiva en Extremadura.....	89
2.1.3	<i>Efectos del calentamiento global sobre el medio ambiente y la fauna de dípteros</i> ...94	
2.1.4	<i>Captura de dípteros necrófagos y Culicoides</i>	100
2.1.4.1	Sistemas de captura de dípteros.....	100
	Tipos de Cebos.....	101
	Tipos de Trampas.....	102
2.1.4.2	Eficacia de las trampas de <i>Culicoides</i>	108
	Factores de influencia en las capturas.....	110
2.2	MIASIS TRAUMÁTICAS.....	115
2.2.1	<i>Introducción</i>	115
2.2.2	<i>Especies productoras de miasis</i>	118
2.2.2.1	<i>Wohlfahrtia magnifica</i> (Schiner, 1862).....	120
2.2.2.2	Otras especies.....	123
2.2.3	<i>Epidemiología de las miasis</i>	123
2.2.4	<i>Clínica y Lesiones. Lugares de asentamiento de las miasis</i>	127
2.2.5	<i>Diagnóstico y tratamiento</i>	130

2.2.6	<i>Prevención y control.</i>	133
2.2.6.1	Control mecánico.	134
2.2.6.2	Control químico.	135
2.2.6.3	Control biológico.	135
2.2.6.4	Control con trampas.	136
2.2.6.5	Control mediante el uso de vacunas.	136
2.2.7	<i>Costes económicos de las miasis.</i>	138
2.2.8	<i>Aspectos zoonóticos.</i>	138
2.2.9	<i>Toma de muestras para la identificación de la especie parásita.</i>	140
2.2.10	<i>Prevalencia de miasis en el mundo.</i>	141
2.3	MIASIS EXPERIMENTAL POR <i>PROTOPHORMIA TERRAENOVAE</i> EN OVINOS.	142
2.3.1	<i>La mosca: Protophormia terraenovae.</i>	142
2.3.2	<i>Dosis infestantes en las miasis.</i>	144
2.3.3	<i>Efectos de las miasis sobre los ovinos.</i>	146
2.3.3.1	Daños tisulares.	146
	Pequeños rumiantes.	146
	Roedores.	148
2.3.3.2	Respuesta a nivel hematológico y bioquímico.	149
	Mediciones sanguíneas.	149
2.3.3.3	Respuesta inmunitaria celular y humoral.	158
3	MATERIAL Y MÉTODOS.	161
3.1	OBJETIVOS PRINCIPALES.	161
3.2	CAPTURA DE <i>CULICOIDES</i> Y DÍPTEROS NECRÓFAGOS.	161
3.2.1	<i>Material de muestreo.</i>	161
3.2.1.1	Trampas de muestreo de <i>Culicoides</i> .	161
3.2.1.2	Trampas de muestreo de dípteros necrófagos.	162
3.2.2	<i>Periodos y puntos de muestreo.</i>	163
3.2.3	<i>Retirada de la trampa y envío del material.</i>	167
3.2.4	<i>Mantenimiento.</i>	168
3.2.5	<i>Conservación, etiquetado de las muestras y métodos de identificación.</i>	168
3.3	DÍPTEROS PRODUCTORES DE MIASIS.	171
3.3.1	<i>Puntos de muestreo.</i>	171
3.3.2	<i>Obtención de la muestra.</i>	172
3.3.3	<i>Preparación, conservación, identificación y etiquetado de la muestra.</i>	172
3.4	MIASIS EXPERIMENTAL.	177
3.4.1	<i>Diseño experimental.</i>	177
3.4.2	<i>Obtención del inóculo.</i>	178
3.4.3	<i>Procedimiento de infestación.</i>	179
3.4.4	<i>Animales de estudio.</i>	179
3.4.5	<i>Instalaciones de realización del experimento.</i>	180
3.4.6	<i>Recogida de muestras.</i>	180
3.4.7	<i>Procesado y conservación de las muestras.</i>	181
	Sangre.	181
	Histología.	181
3.4.8	<i>Análisis de las muestras.</i>	182
	Estudio Hemático.	182
	Estudio histopatológico.	183
3.4.9	<i>Material para histología.</i>	184

3.4.10	Material para el análisis sanguíneo.	184
3.5	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.	185
4	RESULTADOS.	189
4.1	ENTOMOFAUNA DE <i>CULICOIDES</i> Y DÍPTEROS NECRÓFAGOS.	189
4.1.1	<i>Culicoides</i>	189
4.1.1.1	Temporalidad.	190
4.1.1.2	Factores ambientales.	191
	Temperatura.	191
	Humedad relativa.	191
	Altitud.	192
4.1.1.3	Diferenciación geográfica.	192
4.1.1.4	Factores de influencia.	193
4.1.1.5	Análisis por especies de <i>Culicoides</i>	195
	<i>Culicoides circumscriptus</i>	196
	<i>Culicoides</i> spp.	198
	<i>Culicoides punctatus</i>	201
	<i>Culicoides imicola</i>	202
	<i>Culicoides pulicaris</i>	206
	<i>Culicoides fagineus</i>	207
	<i>Culicoides festivipennis</i>	208
	<i>Culicoides longipennis</i>	209
	<i>Culicoides newsteadi</i>	210
	<i>Culicoides univittatus</i>	211
	<i>Culicoides maritimus</i>	214
	<i>Culicoides obsoletus</i> s.l.	215
	<i>Culicoides odiatus</i>	216
	<i>Culicoides paolae</i>	217
	<i>Culicoides nubeculosus</i>	218
	<i>Culicoides parroti</i>	219
	<i>Culicoides atripennis</i> s.l.	220
	<i>Culicoides riethi</i>	221
	<i>Culicoides pictipennis</i>	222
	<i>Culicoides accraensis</i>	223
	<i>Culicoides impunctatus</i>	224
	<i>Culicoides puncticollis</i>	225
	<i>Culicoides fascipennis</i>	226
4.1.2	Dípteros necrófagos.	227
4.1.2.1	Familia Calliphoridae.	229
	<i>Calliphora vicina</i>	229
	<i>Calliphora vomitoria</i>	231
	<i>Lucilia sericata</i>	234
	<i>Lucilia caesar</i>	236
	<i>Lucilia illustris</i>	238
	<i>Lucilia ampullacea</i>	240
	<i>Chrysomya albiceps</i>	242
	<i>Protophormia terraenovae</i>	244
	<i>Pollenia</i> sp.	246
	<i>Stomorphina lunata</i>	247
4.1.2.2	Familia Muscidae.	248
	Temporalidad.	248
	Temperatura y humedad relativa.	248

Distribución geográfica.....	249
4.1.2.3 Familia Anthomyiidae.....	251
Temporalidad.....	251
Temperatura y humedad relativa.....	251
Distribución geográfica.....	252
4.1.2.4 Familia Sarcophagidae.....	254
Temporalidad.....	254
Temperatura y humedad relativa.....	254
Distribución geográfica.....	255
4.1.2.5 Familia Fanniidae.....	256
Temporalidad.....	256
Temperatura y humedad relativa.....	256
Distribución geográfica.....	257
4.1.2.6 Familia Ulidiidae.....	258
Temporalidad.....	258
Temperatura y humedad relativa.....	258
Distribución geográfica.....	259
4.1.2.7 Familia Scathophagidae.....	260
Temporalidad.....	260
Temperatura y humedad relativa.....	260
Distribución geográfica.....	261
4.2 DÍPTEROS PRODUCTORES DE MIASIS.....	262
4.2.1 <i>Temporalidad</i>	262
4.2.2 <i>Carga parasitaria y número de imagos obtenidos</i>	263
4.2.2.1 Número de casos según distribución geográfica.....	265
4.2.2.2 Número de larvas e imagos según hospedador.....	268
4.2.2.3 Número de larvas por edad y especie de hospedador.....	270
4.2.2.4 Carga parasitaria según número de focos larvarios y sexo del hospedador.....	271
4.2.3 <i>Agente productor de miasis</i>	273
4.2.4 <i>Viabilidad de las larvas obtenidas</i>	273
4.2.5 <i>Influencia de las zonas de cultivo</i>	274
4.2.6 <i>Localización anatómica de las miasis</i>	275
4.2.7 <i>Carga parasitaria según zona corporal</i>	275
4.2.7.1 Vulva.....	275
4.2.7.2 Prepucio.....	276
4.2.7.3 Zona perineal.....	277
4.3 MIASIS EXPERIMENTAL EN OVINOS.....	278
4.3.1 <i>Cantidad de larvas</i>	278
4.3.2 <i>Resultados hematológicos</i>	279
4.3.2.1 Glóbulos rojos.....	279
4.3.2.2 Hemoglobina.....	280
4.3.2.3 VCM.....	281
4.3.2.4 HCM.....	282
4.3.2.5 CHCM.....	283
4.3.2.6 Leucocitos.....	284
4.3.2.7 Neutrófilos.....	285
4.3.2.8 Basófilos.....	286
4.3.2.9 Eosinófilos.....	287
4.3.2.10 Linfocitos.....	288
4.3.2.11 Monocitos.....	289
4.3.2.12 Plaquetas.....	290

4.3.3	<i>Bioquímica sanguínea</i>	291
4.3.3.1	Aspartato aminotransferasa (AST).....	291
4.3.3.2	Creatinina quinasa (CK).	292
4.3.3.3	Lactato deshidrogenasa (LDH).	293
4.3.4	<i>Resultados histológicos</i>	294
4.3.4.1	Descripción general.	294
	Lote 1.	295
	Lote 2.	295
	Lote 3b.	296
4.3.5	<i>Análisis por variables</i>	296
4.3.5.1	Nivel de exudado.	296
4.3.5.2	Extensión de la necrosis.....	297
4.3.5.3	Ulceración.....	298
4.3.5.4	Infiltrado.	299
4.3.5.5	Afección de las capas dérmicas.	299
4.3.5.6	Bacterias.	300
4.3.5.7	Células inflamatorias.	301
	Macrófagos.....	301
	Célula plasmáticas y linfocitos.	301
	Eosinófilos.....	301
	Mastocitos.	301
	Neutrófilos.....	301
	Fibroblastos.	302
4.3.5.8	Afección del folículo piloso.	302
4.3.5.9	Otras lesiones.....	303
5	DISCUSIÓN	307
5.1	DISCUSIÓN DÍPTEROS.....	307
5.1.1	<i>Capturas de ejemplares del género Culicoides</i>	307
5.1.1.1	Especies de Culicoides.....	312
5.1.2	<i>Dípteros necrófagos</i>	319
5.1.2.1	Familia Calliphoridae.	319
5.1.2.2	Familia Muscidae.....	326
5.1.2.3	Familia Anthomyiidae.	327
5.1.2.4	Familia Sarcophagidae.	327
5.1.2.5	Familia Fanniidae.	328
5.1.2.6	Familia Ulidiidae.	328
5.1.2.7	Familia Scathophagidae.....	329
5.2	DISCUSIÓN DÍPTEROS PRODUCTORES DE MIASIS.	330
5.2.1	<i>Temporalidad</i>	330
5.2.2	<i>Carga parasitaria y número de imagos obtenidos</i>	330
5.2.2.1	Número de casos según distribución geográfica.	331
5.2.2.2	Número de larvas e imagos según hospedador.	331
5.2.2.3	Número de larvas por edad y especie de hospedador.....	332
5.2.2.4	Carga parasitaria según número de focos larvarios y sexo del hospedador.....	333
5.2.3	<i>Agente productor de miasis</i>	333
5.2.4	<i>Viabilidad de las larvas obtenidas</i>	334
5.2.5	<i>Influencia de las zonas de cultivo</i>	335
5.2.6	<i>Localización anatómica de las miasis</i>	335
5.3	MIASIS EXPERIMENTAL EN OVINOS.....	337
5.3.1	<i>Nivel de larvas</i>	337

5.3.2	<i>Resultados hematológicos.</i>	337
5.3.3	<i>Bioquímica sanguínea.</i>	339
5.3.4	<i>Resultados histológicos.</i>	340
6	CONCLUSIONES.	347
	AGRADECIMIENTOS.	351
	RESUMEN.	355
	SUMMARY.	359
	BIBLIOGRAFÍA.	363

Introducción

1 Introducción.

La real academia de la lengua define a las moscas como el “insecto díptero, muy común y molesto, de unos seis milímetros de largo, de cuerpo negro, cabeza elíptica, más ancha que larga, ojos salientes, alas transparentes cruzadas de nervios, patas largas con uñas y ventosas, y boca en forma de trompa, con la cual chupa las sustancias de que se alimenta”. De un modo más resumido, podemos decir que son los dípteros, que se encuadran dentro del suborden “Brachycera”, comúnmente conocido como “moscas verdaderas”. Dentro de este suborden se incluyen diferentes familias con un gran interés por su capacidad de producir miasis y transmisores de enfermedades.

El término “miasis” se define como la infección de los animales vertebrados o seres humanos vivos con larvas de mosca del orden Diptera que se alimentan, durante un periodo variable de tiempo, de tejidos vivos o muertos del hospedador, sustancias que este segrega o de sangre (Zumpt, 1965). El término miasis fue originalmente propuesto por Hope en 1840 a partir del término griego “myia” que significa mosca (Hope, 1840).

La especie ganadera más susceptible a esta enfermedad y, por tanto, donde cobra mayor importancia desde un punto de vista económico es en el ovino. Por esto, es de reseñar la importancia que el sector ovino tiene en España, el cual supuso el 8 % de la producción ganadera total en el año 2013, con un total estimado de 16.573.000 cabezas, siendo el 20 % del ovino europeo y sólo superado por la cabaña ovina de Reino Unido que es del 28 %. Como Comunidad Autónoma, Extremadura tiene la mayor cabaña ovina de España con un total del 20,9 % de la producción total.

Con estos datos, es fácil deducir que los costes económicos de las miasis deben ser tenidos muy en cuenta. Respecto a esto, Grindle (2001) estima que los costes por miasis en un animal suponen en torno a 2,7 euros en medicamentos y gastos de trabajo y 2 euros por pérdidas de producción. Esto en España donde *W. magnifica* es una especie endémica supondría, si estimamos en un 8 % de afectados con una sola miasis anual, unos costes de 8,5 millones de euros de pérdidas económicas (Ruiz-Martínez *et al.*, 1987, 1992a, 1993a; Ruiz-Martínez and Cruz-Mira, 1994). Si tenemos en cuenta que los casos de miasis normalmente son repetitivos y que hay que estar revisando los animales cada pocos días en las épocas de verano, si estimásemos 4 miasis por animal, los costes serían de 32,8 millones de euros en España.

Introducción

Otra consideración importante de las moscas es su estudio en la entomología forense, que es la ciencia que se basa en el estudio de los insectos para el conocimiento del intervalo postmortem (PMI) (es decir, el tiempo que ha transcurrido desde la muerte hasta que se haya el cadáver) y de otra serie de parámetros como puede ser si el cadáver ha sido movido de lugar. El conocimiento de los insectos y más concretamente de los dípteros necrófagos de un determinado ecosistema, en muchas ocasiones pueden ayudar en la resolución de crímenes.

Además de las moscas productoras de miasis, hay otros dípteros que producen o transmiten numerosas enfermedades, como es el caso de los *Culicoides*. Desde un punto de vista económico y sanitario, quizás la Lengua azul sea la enfermedad más importante transmitida por éstos, y que afecta a los rumiantes, con especial gravedad en ciervos y algunas razas de ovejas (Taylor, 1986; MacLachlan, 1994). Es una patología que, además de las graves pérdidas económicas que produce por su elevada mortalidad y restricciones en el movimiento del ganado, también es importante tener en cuenta el gasto implicado en la prevención y evitar el contacto del hospedador con el vector.

Así pues, dada la importancia de estos tipos de dípteros, nos planteamos ampliar el conocimiento de la entomofauna de moscas productoras de miasis en el propio ganado, de moscas necrófagas capturadas en diferentes ecosistemas y de *Culicoides* recogidos en condiciones naturales. La captura de dípteros necrófagos mediante trampas WOT (Wind Oriented Traps) permitirá establecer un catálogo de estos insectos en Extremadura, lo cual será de gran interés para campos de conocimiento como la entomología forense (escasamente investigado en esta zona), así como la vigilancia de especies invasoras como *Protophormia terraenovae*, que ya se ha detectado anteriormente y se teme que se esté introduciendo en nuestro ecosistema a través de uso de sus larvas como cebo de pesca con las implicaciones ecológicas y sanitarias que esto puede conllevar. Debido a esto, se prestará un especial interés a la identificación de las especies de la familia Calliphoridae. En los mismos lugares de trampeo, la captura de *Culicoides* mediante trampas CDC (Control Diseases Center Traps) de luz ultravioleta permitirá conocer las especies presentes en la comunidad extremeña, de esta forma, podremos establecer posibles áreas de riesgo de transmisión de enfermedades como la lengua azul en esta región. Así como, establecer un mapa epidemiológico de los lugares donde pueden encontrarse las especies transmisoras más frecuentes, y por tanto, donde las medidas de control vectorial deberían ser más intensas. En cuanto al estudio de las moscas productoras de miasis, nuestro estudio pretende identificar las especies más frecuentes en la región extremeña y algunas características de las lesiones miásicas, todo ello con el fin último de optimizar las medidas de control realizadas por los veterinarios y los propios ganaderos.

Finalmente, se conoce que *Protophormia terraenovae* es una especie de mosca usada fundamentalmente como cebo vivo de pesca. También se sabe que esta especie tiene una alta capacidad de producir miasis en zonas como Escocia (Morris and Titchener, 1997), por su adaptación a temperaturas frías. Por tanto, nos planteamos realizar un estudio experimental de miasis en el ganado ovino con el fin de determinar si esta especie proveniente de los cebos comercializados en la región extremeña podría provocar miasis en nuestro ganado ovino. Los resultados obtenidos serán especialmente interesantes, ya que en el caso de que lleguen a provocar lesiones, podrían producirse miasis en épocas en las que no son habituales como podrían ser las épocas otoñales e invernales.

Por tanto, los objetivos principales que nos planteamos con la realización de este trabajo son:

- Conocer la entomofauna de dípteros necrófagos y de *Culicoides*, en las diferentes zonas geográficas y ecosistemas de Extremadura, incluyendo especialmente una vigilancia epidemiológica de la especie *Protophormia terraenovae*.
- Identificar las especies de mosca productoras de miasis en Extremadura, así como los factores que influyen en la epidemiología de esta enfermedad.
- Determinar, mediante un estudio experimental, si *P. terraenovae* procedente de los cebos vivos de pesca comercializados, podría actuar como productora de miasis en el ganado ovino de la región extremeña.

Revisión Bibliográfica

2 Revisión bibliográfica.

2.1 Entomofauna de *Culicoides* y dípteros necrófagos.

2.1.1 Dípteros: *Culicoides*.

2.1.1.1 Características.

Introducción.

Los "*Culicoides*" o "jejenes" son dípteros pertenecientes a la familia Ceratopogonidae, chupadores de sangre extremadamente pequeños, de 0.5 a 5 mm longitud (Figura 1). El género *Culicoides* incluye unas 1400 especies, de las cuales sólo 32 pueden actuar como vector biológico (Mellor and Boorman, 1995).

De las enfermedades transmitidas por *Culicoides*, dos son especialmente graves y pueden afectar de forma importante a animales en la península ibérica. Se trata de la Lengua Azul y la Peste Equina Africana, ambas incluidas en la *Lista A de la Oficina Internacional de Epizootías* (OIE).



Figura 1. *Culicoides imicola* capturado en la comarca de Berlanga (Badajoz) en agosto de 2013. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

Esta capacidad de los *Culicoides* de actuar como vectores de enfermedades transmisibles reside en un receptor que tienen en las células intestinales. El receptor reconoce específicamente al virus y permite la infección de la célula. Una vez dentro de ésta, el virus se multiplica y, posteriormente, se disemina llegando a las glándulas salivares, donde vuelve a replicarse. A partir de esta saliva cargada con partículas virales, es como se infecta el hospedador susceptible cuando le pica el mosquito infectado. De esta forma, el vector actúa como un amplificador de la carga viral.

Estos pequeños artrópodos no solo pueden actuar como vectores de arbovirus, sino también de nematodos y protozoos, todos ellos causantes de enfermedades en los animales, pero también excepcionalmente en las personas. Además, los daños directos derivados de su picadura provocan fuertes reacciones alérgicas y producen pérdidas económicas importantes en sectores relacionados con actividades al aire libre (Blackwell *et al.*, 1997; Takken and Knols, 2010).

De todas las enfermedades que transmiten los *Culicoides*, la enfermedad de la lengua azul es la que más importancia tiene en Extremadura. Ésta puede ocasionar graves pérdidas económicas, tanto directas (derivadas de la afectación de los ovinos por la enfermedad), como indirectas (debidas a la imposición de restricciones al comercio de animales, semen y óvulos).

Esto motivó al entonces Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación en colaboración con las Comunidades Autónomas, la creación y puesta en marcha de un Programa de Vigilancia Entomológica específico dentro del Programa Nacional de Erradicación de la Lengua Azul. El objetivo de este Programa fue conocer las especies de *Culicoides* asociadas a la cría de rumiantes domésticos, haciendo especial atención a la detección de aquellas que se conocían que estaban implicadas en la transmisión de la lengua azul, determinar su área de repartición actual y su potencial evolución, así como detectar el periodo de actividad a lo largo del año para delimitar los periodos de riesgo de transmisión de la enfermedad y la posibilidad de que pudiera existir transmisión durante el invierno.

Actualmente, a pesar de la favorable evolución epidemiológica que la enfermedad ha tenido en la península en los últimos años, la notificación en territorio español, durante el periodo 2011-2012, de los nueve focos del serotipo 1, concretamente siete de ellos localizados en animales bovinos centinela en la provincia de Cáceres, y los tres del serotipo 4, en animales centinela en Andalucía, ha puesto en evidencia la circulación de dichos serotipos. A ello se suma el riesgo continuo que, por proximidad geográfica, supone para la península la presencia de los serotipos 1 y 4 en el Norte de África, así como la detección de circulación del serotipo 1 en la zona central de Portugal.

Durante el año 2014 hubo de nuevo brotes de lengua azul en Extremadura, Andalucía, gran parte de Castilla-La Mancha y algunas comarcas de Castilla y León. Todo esto llevó a nuevas medidas de restricción y vacunación para todas las especies sensibles (ovino y bovino). Las medidas de restricción se extienden a toda la Comunidad Autónoma de Extremadura y las de vacunación del serotipo 4 también son obligatorias para toda la región, mientras que las vacunas de serotipo 1 no son obligatorias en este territorio, aunque si en la mayoría del territorio, como aparece recogido en la Orden AAA/88/2015 del 29 de enero, por la que se establecen medidas específicas de protección en relación con la lengua azul (Boe nº 27, de 31/01/2015).

La distribución geográfica de los vectores de enfermedades es un aspecto de reconocida importancia para la evaluación epidemiológica en los programas de control, siendo ampliamente conocida la influencia de factores ambientales sobre la distribución y abundancia de insectos (Gorla, 2002).

Es por ello que este trabajo tiene como objetivo el estudio de las especies de *Culicoides* presentes en Extremadura durante el periodo 2012-2013. Este estudio forma parte de un proyecto subvencionado cuyo objetivo es determinar además de los dípteros *Culicoides*, otros nematoceros (*Culicidae* y *Psychodidae*). Por ello, parte de las trampas de captura de mosquitos, además de colocarse en explotaciones ganaderas y alrededores, se colocaron en zonas urbanas y lugares alejados de explotaciones de ganado más favorecedoras para el desarrollo de enfermedades de riesgo importantes en la Salud Pública.

Los *Culicoides* son dípteros chupadores de sangre extremadamente pequeños, de 0.5 a 5 mm longitud. Su cuerpo es alargado, delgado y de alas estrechas.

Son conocidos en América Latina como jejenes, mientras que en inglés se les denomina *No-see-um*, que puede ser traducido por «ni los ves», haciendo referencia a que al ser tan pequeños se aproximan y pican a sus presas casi sin ser percibidos. En el noreste de los EEUU, les llaman *punkies* haciendo referencia a una americanización del término indio *Algonquin punka* que quiere decir parecido a ceniza, dada la apariencia del minúsculo punto grisáceo y a la sensación intensa de quemadura cuando está picando. También se conocen como *five-O's*, ya que inician su actividad de picar a esa hora cada día.

Revisión bibliográfica

La familia Ceratopogonidae incluye unas 4000 especies descritas, que comprenden insectos higrófilos, florícolas, saprófagos, zoófagos o hematófagos. Un gran número de especies se alimentan de la melaza excretada a través de los sifones de los pulgones y del néctar producido por las flores, por lo que juegan un importante papel en la polinización de determinadas especies vegetales.

El género *Culicoides* incluye unas 1400 especies, de las cuales sólo 32 pueden actuar como vector biológico (Mellor and Boorman, 1995). Gran parte de éstas pican al hombre y a otros animales para alimentarse de su sangre, siendo muchas de ellas conocidas por su papel en la transmisión de enfermedades de gran importancia sanitaria.

Los *Culicoides* pueden ser una plaga que genera gran incomodidad a animales domésticos y silvestres, y puede llegar a crear grandes incomodidades para el ser humano. No obstante, también pueden ser vectores de virus, protozoos y nematodos.

Taxonomía.

La familia Ceratopogonidae está representada en todo el globo terráqueo por aproximadamente 78 géneros y más de 4000 especies. Los ceratopogónidos se dividen en 4 subfamilias:

- Leptoconopinae
- Forcipomyiinae
- Dasyheleinae
- Ceratopogoninae

Con excepción de Dasyheleninae y Ceratopogoninae, cada subfamilia incluye especies que se alimentan de vertebrados. Sólo cuatro géneros atacan a animales y al ser humano, de ellos, el género más importante es *Culicoides*, que, con 1400 especies descritas, incluye a la mayoría de las especies problemáticas en todo el globo. Según el NCBI (2017), el género *Culicoides*, a modo de resumen, se encuadra taxonómicamente del siguiente modo:

- ❖ Dominio Eucariota
- ❖ Reino Animalia
- ❖ Subreino Eumetazoa
- ❖ Filo Arthropoda
- ❖ Subfilo Hexapoda
- ❖ Clase Insecta
- ❖ Subclase Pterygota
- ❖ Infraclasse Neoptera
- ❖ Superorden Endopterygota
- ❖ Orden Díptera
- ❖ Suborden Nematocera
- ❖ Infraorden Culicomorpha
- ❖ Superfamilia Chiromoidea
- ❖ Familia Ceratopogonidae
- ❖ Subfamilia Ceratopogoninae
- ❖ Género *Culicoides*, Latreille, 1809

Para determinar las especies de *Culicoides* detectadas en nuestro país (Tabla 1) utilizaremos de las revisiones más completas realizadas hasta el momento, referente al catálogo de *Culicoides* presentes en España ha sido realizada por Alarcón-Elbal and Lucientes (2012), añadiendo algunas especies como *C. paradoxalis* (Sánchez-Murillo *et al.*, 2015) que han aparecido posteriormente a este estudio.

Tabla 1. Especies de *Culicoides* detectadas en España.

Subgénero	Especie	Primera cita en España
Avarintia Fox, 1955	<i>C. chiopterus</i> (Meigen,1830)	(Anónimo, 1992)
	<i>C. dewulfi</i> Goethebuer, 1936	(Rawlings, 1996)
	<i>C. imicola</i> Kierffer, 1913	(Mellor <i>et al.</i> , 1983)
	<i>C. montanus</i> Shakirzjonova, 1962	(Delécolle, 2002)
	<i>C. obsoletus</i> (Meigen, 1818)	(Strobl, 1906)
	<i>C. scoticus</i> Downes & Kettle, 1952	(Ortega <i>et al.</i> , 1999)
Beltranmya Vargas, 1953	<i>C. brevifrontis</i> Smatov & Isimbekov, 1971	(Delécolle <i>et al.</i> , 1997)
	<i>C. circumscriptus</i> Kieffer, 1918	(De Prada and Gil Collado, 1959)
Culicoides Latreille, 1989	<i>C. almeidae</i> Cambournac, 1970	(Gil-Collado and Sahuquillo-Herráiz, 1983)
	<i>C. deltus</i> Edwards, 1939	(Ventura <i>et al.</i> , 2005)

Revisión bibliográfica

	<i>C. fagineus</i> Edwards, 1939	(Sánchez-Covisa <i>et al.</i> , 1979)
	<i>C. flavipulicaris</i> Dzhafarov, 1964	(Sarto i Monteys and Saiz-Ardanaz, 2003)
	<i>C. impunctatus</i> Goetghebuer, 1920	(De Prada and Gil Collado, 1959)
	<i>C. lupicaris</i> Downes & Kettle, 1952	(Goldarazena <i>et al.</i> , 2008)
	<i>C. newsteadi</i> Austen, 1921	(Sahuquillo-Herráiz and Gil-Collado, 1982a)
	<i>C. pulicaris</i> (Linnaeus, 1758)	(Strobl, 1900)
	<i>C. punctatus</i> (Meigen, 1818)	(Havelka, 1982)
	<i>C. subfagineus</i> Dellécolle & Ortega, 1999	(Dellécolle and Ortega, 1998)
	<i>C. paradoxalis</i> Ramilo & Delécolle, 2013	(Sánchez-Murillo <i>et al.</i> , 2015)
Monoculicoides Latreille, 1809	<i>C. helveticus</i> Callot, Kremer & Deduit, 1962	(Anónimo, 1992)
	<i>C. nubeculosus</i> (Meigen, 1830)	(De Prada and Gil Collado, 1959)
	<i>C. parroti</i> Kieffer, 1922	(De Prada and Gil Collado, 1959)
	<i>C. puncticollis</i> (Becker, 1903)	(Strobl, 1900)
	<i>C. riethi</i> Kieffer, 1914	(De Prada and Gil Collado, 1959)
	<i>C. stigma</i> (Meigen, 1818)	(Goldarazena <i>et al.</i> , 2008)
Oecacta Poey, 1853	<i>C. alazanicus</i> Dzhafarov, 1961	(Ventura <i>et al.</i> , 2005)
	<i>C. begueti</i> Clastrier, 1957	(Anónimo, 1992)
	<i>C. brunnicans</i> Edwards, 1939	(Mellor <i>et al.</i> , 1983)
	<i>C. cataneii</i> Clastrier, 1957	(Callot <i>et al.</i> , 1975)
	<i>C. clastrieri</i> Callot, Kremer & Deduit, 1962	(González and Goldarazena, 2011)
	<i>C. comosioculatus</i> Tokunaga, 1956	(Goldarazena <i>et al.</i> , 2008)
	<i>C. derisor</i> Callot & Kremer, 1965	(Sarto i Monteys <i>et al.</i> , 2009)
	<i>C. duddingstoni</i> Kettle & Lawson, 1955	(Gil-Collado and Sahuquillo-Herráiz, 1983)
	<i>C. dzhafarovi</i> Remm, 1967	(Dellécolle, 2002)
	<i>C. festivipennis</i> Kieffer, 1914	(De Prada and Gil Collado, 1959)
	<i>C. furcillatus</i> Callot, Kremer & Paradis, 1962	(Sarto i Monteys <i>et al.</i> , 2009)
	<i>C. gejelensis</i> Dzhafarov, 1964	(Mellor <i>et al.</i> , 1983)
	<i>C. griseidorsum</i> Kieffer, 1918	(Mellor <i>et al.</i> , 1983)
	<i>C. hantari</i> Rioux, Descous & Pesh, 1959	(Sánchez-Covisa <i>et al.</i> , 1979)
	<i>C. heliophilus</i> Edwards, 1921	(González and Goldarazena, 2011)
	<i>C. heteroclitus</i> Kremer & Callot, 1965	(Mellor <i>et al.</i> , 1983)

	<i>C. jumineri</i> Callot & Kremer, 1969	(Callot <i>et al.</i> , 1975)
	<i>C. kibunensis</i> Tokunaga, 1937	(Sahuquillo-Herráiz and Gil-Collado, 1982a)
	<i>C. kurensis</i> Dzhafarov, 1960	(Mellor <i>et al.</i> , 1983)
	<i>C. longipennis</i> Khalaf, 1957	(Havelka, 1982)
	<i>C. malevillei</i> Kremer & Coluzzi, 1971	(Delécolle, 2002)
	<i>C. maritimus</i> Kieffer, 1924	(Callot <i>et al.</i> , 1975)
	<i>C. paradisionensis</i> Boorman, 1988	(González and Goldarazena, 2011)
	<i>C. pictipennis</i> Staeger, 1839	(De Prada and Gil Collado, 1959)
	<i>C. poperinghensis</i> Goethebuer, 1953	(Anónimo, 1992)
	<i>C. pseudoheliophilus</i> Callot & Kremer, 1961	(Delécolle, 2002)
	<i>C. pseudopallidus</i> Khalaf, 1961	(Talavera <i>et al.</i> , 2011)
	<i>C. santonicus</i> Callot, Kremer, Rault & Bach, 1966	(Delécolle, 2002)
	<i>C. semimaculatus</i> Clastrier, 1958	(González and Goldarazena, 2011)
	<i>C. shaklawensis</i> Khalaf, 1957	(Mellor <i>et al.</i> , 1983)
	<i>C. simulator</i> Edwards, 1939	(Delécolle, 2002)
	<i>C. submaritimus</i> Dzhafarov, 1962	(Delécolle, 2002)
	<i>C. truncorum</i> Edwards, 1939	(Sahuquillo-Herráiz and Gil-Collado, 1982a)
	<i>C. univittatus</i> Vimmer, 1932	(Anónimo, 1992)
	<i>C. vexans</i> Staeger, 1839	(Sahuquillo-Herráiz and Gil-Collado, 1982a)
	<i>C. vidourensensis</i> Callot, Kremer, Molet & Bach, 1968	(Mellor <i>et al.</i> , 1983)
Pontoculicoides	<i>C. saevus</i> Kieffer, 1922	(Mellor <i>et al.</i> , 1983)
Remm, 1968	<i>C. seifadinei</i> Dzhafarov, 1958	(Talavera <i>et al.</i> , 2011)
	<i>C. tauricus</i> Gutsevich, 1952	(González and Goldarazena, 2011)
Silvaticulicoides	<i>C. achrayi</i> Kettle & Lawson, 1955	(Capela <i>et al.</i> , 1992)
Glukhova, 1972	<i>C. fascipennis</i> (Staeger, 1839)	(De Prada and Gil Collado, 1959)
	<i>C. pallidicornis</i> Kieffer, 1919	(Sarto i Monteys and Saiz-Ardanaz, 2003)
	<i>C. picturatus</i> Kremer & Dedit, 1961	(Delécolle, 2002)
	<i>C. subfascipennis</i> Kieffer, 1919	(Sahuquillo-Herráiz and Gil-Collado, 1982a)
Synhelea	<i>C. accraensis</i> Carter, Ingram & Macfie, 1920	(Sahuquillo-Herráiz and Gil-Collado, 1982a)
Kieffer, 1925	<i>C. coluzzii</i> Callot, Kremer & Bailly-Choumara, 1970	(Talavera <i>et al.</i> , 2011)
	<i>C. corsicus</i> Kremer, Leberre & Beaucournu-Saguez, 1971	(Gil-Collado and Sahuquillo-Herráiz, 1983)

	<i>C. sahariensis</i> Kieffer, 1923	(Sahuquillo-Herráiz and Gil-Collado, 1982b)
	<i>C. yemenensis</i> (Boorman, 1989)	(Talavera <i>et al.</i> , 2011)
Wirthomyia Vargas, 1973	<i>C. minutissimus</i> (Zetterstedt, 1855)	(Sahuquillo-Herráiz and Gil-Collado, 1982a)
	<i>C. segnis</i> Campbell & Clinton, 1959	(Gil-Collado and Sahuquillo-Herráiz, 1983)
Indefinido	<i>C. bahrainensis</i> Boorman, 1989	(Ortega, 1993)
	<i>C. indistinctus</i> Khalaf, 1961	(Talavera <i>et al.</i> , 2011)
	<i>C. marclei</i> Callot, Kremer & Basset, 1968	(Ortega, 1993)
	<i>C. odiatus</i> Austen, 1921	(Mellor <i>et al.</i> , 1983)
	<i>C. paolae</i> Boorman, 1996	(Estrada <i>et al.</i> , 2011)
Nomen dibium	<i>C. analis</i> Santos Abreu, 1918	(Borkent, 1997)

Morfología.

Larvas.

Las larvas de Ceratopogonidae representadas por el género *Culicoides* son típicamente largas y delgadas, de 2-5 mm de largo cuando están maduras. El cuerpo es blanco-translúcido y la cápsula de la cabeza de amarilla a marrón. El tórax tiene marcas con patrón característico de pigmentación subcutánea. Los segmentos abdominales y torácicos son parecidos en tamaño, lo que contribuye a su apariencia alargada y cilíndrica.

Las partes bucales están caracterizadas por un par de mandíbulas que no están opuestas, que se mueven verticalmente y rotan parcialmente, mientras la larva se alimenta, siendo utilizadas para raspar y coger el alimento, dependiendo de la especie. Localizado en la cavidad bucal hay una estructura interna y compleja llamada la epifaringe, que consiste en un par de brazos laterales y una región medial que apoya de dos a cuatro peinillas que están sobrepuestas una a las otras. La epifaringe ayuda a desmenuzar las partículas de alimento y a mover el alimento sólido al tracto alimentario. En las especies que se alimentan mayoritariamente de microorganismos y detritos, las peinillas actúan más para filtrar la comida que pasa a la boca. El número de peinillas y el grado de esclerotización varía considerablemente, lo que refleja la gran variedad de elementos que utilizan como fuente de alimentación.

Pupas.

Las pupas son de color marrón, con un par de cuernos respiratorios protorácicos, cortos pero visibles que salen de la parte anterior. Una inspección más cercana revelará una serie de aperturas espiraculares en la punta. Los tubos respiratorios

repelen el agua lo que les permite a las formas acuáticas suspenderse en la superficie de este medio, de donde obtienen aire durante la metamorfosis a la etapa adulta. Un bolsillo de aire debajo de los parches alares provee de flotación adicional para mantener la larva en la superficie. Rasgos cuticulares en forma de tubérculos, espinas y setas proveen caracteres con valor taxonómico para la identificación a nivel de especie.

Adultos.

Los adultos son mosquitos muy pequeños en los que los machos presentan antenas plumosas y las hembras pilosas. No presentan ocelos y sus piezas bucales se encuentran adaptadas a picar, pudiéndose alimentar de sangre de vertebrados, como en el caso del género *Culicoides*, o sangre de insectos grandes tales como polillas, orugas o libélulas en el caso del género *Forcipomyia*, e incluso pueden llegar a capturar insectos de tamaño menor al suyo.

Las alas se encuentran horizontalmente plegadas sobre el abdomen durante el reposo. Poseen los extremos de las alas redondeados y una distribución de venas y celdas característica de la familia que se describe en la Figura 2.

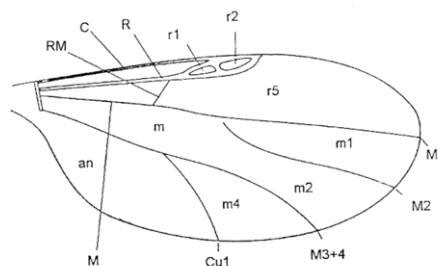


Figura 2. Representación esquemática de un ala perteneciente al género *Culicoides*, en la que se muestran las venas y celdas principales. C: vena costal; R: vena radial; T: vena transversal; M: vena medial; M1: primera vena medial; M2: segunda vena medial; M3+4: vena medial 3+4; Cu1: primera vena cubital; r1: primera celda radial; r2 segunda celda radial; r5: quinta celda radial; m: celda medial; m1: primera celda medial; m2: segunda celda medial; m4: cuarta celda medial; an: celda anal. Tomado de Boorman (1988).

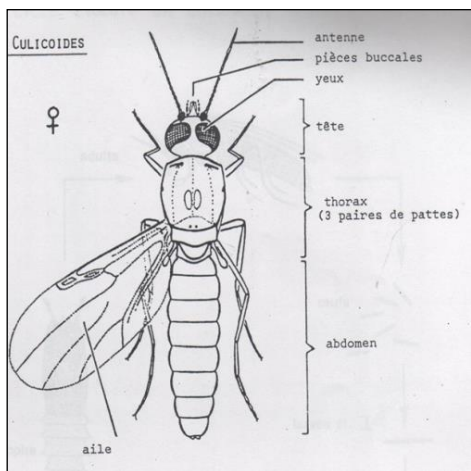


Figura 3. Morfología típica de insectos del género *Culicoides*. Tomado de Delécolle (1985).

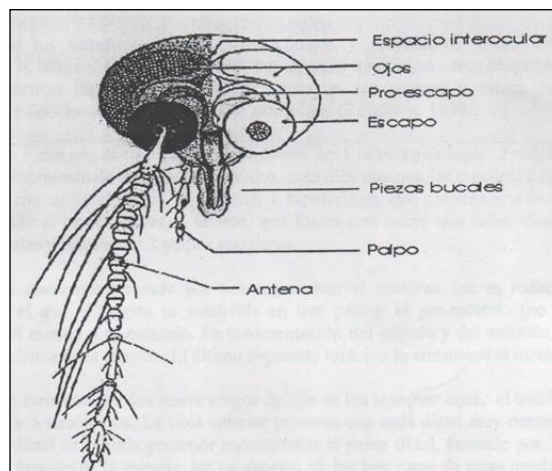


Figura 4. Representación de la cabeza de *Culicoides* sp. Tomado de Delécolle (1985).

La longitud de los adultos pertenecientes a este género oscila entre los 1.5 y los 3 mm. Se pueden distinguir básicamente por las manchas que presentan en sus alas (Figura 3).

En los adultos de *Culicoides* se pueden distinguir tres regiones diferenciadas:

La cabeza.

La cabeza presenta una morfología redondeada, ligeramente comprimida en el sentido antero-posterior inclinada unos 45° hacia abajo con respecto al eje longitudinal del tórax. Gran parte de la superficie de la cabeza se encuentra ocupada por los ojos, que son de tipo compuesto, y nunca presentan ocelos (Figura 4 y Figura 5)

El espacio existente entre los omatidios es variable, pudiendo ser nulo; además presentan sedas, que son de gran importancia para la determinación de la especie. Delante de los ojos se insertan las antenas y debajo de éstas, se encuentra el clipeo, que se extiende hasta las piezas bucales.

Las antenas son largas y se encuentran formadas por quince artejos (denominados flagelómeros). A los dos primeros segmentos se les denomina pro-escapo y escapo.



Figura 5. Cabeza hembra *C. imicola*. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

El primero presenta forma de anillo, insertándose sobre la cabeza y el escapo, es voluminoso, globular, y más desarrollado en los machos que en las hembras. Los trece artejos restantes, numerados del tres al quince, forman el flagelo antenal, y en él se encuentran las estructuras más importantes utilizadas en sistemática. Los machos presentan diez artejos cortos y tres largos, en cambio las hembras presentan ocho artejos cortos y cinco largos. Cada artejo del flagelo antenal presenta órganos sensoriales o sensilios (mecanorreceptores, quimiorreceptores o una combinación de ambos), cuyo reconocimiento es de importancia capital para la descripción sistemática de estos insectos. Los machos presentan antenas plumosas y las hembras pilosas (Figura 6 y Figura 7).



Figura 6. Antena pilosa de una hembra de *C. newsteadi*. Fuente: Blanco-Ciudad, J.



Figura 7. Antena plumosa de un macho de *C. pulicaris*. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

Las piezas bucales son de tipo picador (Figura 8), compuestas de:

- Un labro epifaríngeo,
- Dos mandíbulas, provistas frecuentemente de dentículos aserrados, más robustas que las maxilas,
- Dos maxilas membranosas con dentículos más espaciados,
- Una hipofaringe que presenta una hendidura estrecha llamado el canal salivar,
- Un labium que forma una vaina que cubre el resto de estructuras bucales y,
- Dos palpos maxilares.

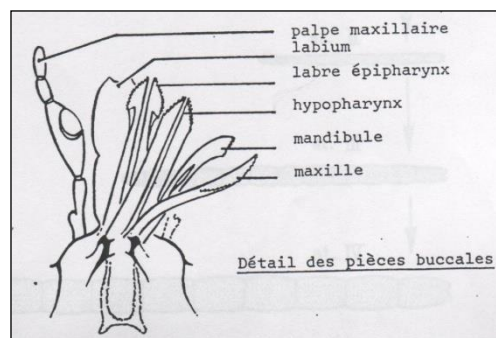


Figura 8. Representación de las piezas bucales de un *Culicoides*. (Tomado de Delécolle (1985)).

El palpo maxilar está constituido por cinco artejos, de los que el primero y el segundo se encuentran soldados. El tercer artejo del palpo maxilar presenta una foseta sensorial, más o menos desarrollada en función de la especie, y que puede encontrarse dividida a su vez en subfosetas, sobre las que se insertan grupos de sensilios capitados o claviformes. La longitud relativa de los artejos que constituyen el palpo, también es utilizada en la descripción de las especies. De la misma manera, la morfología, longitud y profundidad de las fosetas sensoriales son importantes para la clasificación de estos insectos.

El tórax.

El tórax se encuentra formado por tres segmentos:

- Protórax, que es reducido
- Mesotórax en el que el terguito se subdivide en tres partes:
 - pre-escutelo (no visible dorsalmente),
 - escudo
 - escutelo
- Metatórax, constituido como el último segmento torácico.

La ornamentación del escudo y el escutelo puede ser una característica de la especie. Las patas están formadas por los nueve artejos típicos de los insectos: coxa, el trocánter, el fémur, la tibia y cinco tarsómeros. La tibia anterior presenta una seda distal muy desarrollada. En el extremo distal de la tibia posterior encontramos el peine tibial, formado por dos series de espinas.

Las alas son membranosas y redondeadas en su extremo distal y se encuentran siempre cubiertas de microtricos y por otras sedas más largas denominadas macrotricos, cuya distribución varía en función de la especie de la que se trate. La superficie del ala puede ser de un color claro uniforme o bien presentar diversas manchas oscuras. El patrón alar es muy importante para la clasificación de estos insectos, si bien en la mayoría de los casos además es necesario observar otras estructuras anatómicas para su identificación.

El abdomen.

Está compuesto por diez segmentos, donde el décimo está muy reducido, constituyendo las estructuras genitales de machos (hipopigio) y hembras.

Aparato genital masculino (Figura 9).

El noveno terguito es trapezoidal, y su borde distal constituye la lamela que puede presentar distintas morfologías en función de la especie, y además puede presentar en algunos casos un lóbulo suplementario.

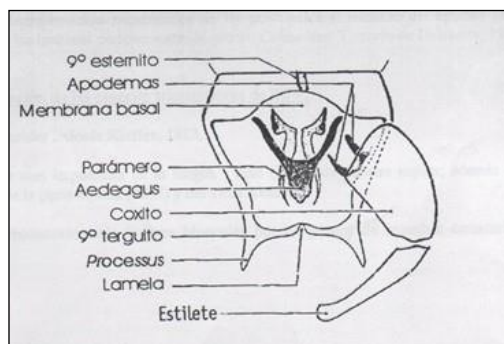


Figura 9. Representación esquemática de las principales estructuras anatómicas del aparato genital masculino (hipopigio) de *Culicoides* (Tomado de Delécolle (1985)).

El noveno esternito puede desarrollarse, presentando un borde distal más o menos escotado, a veces hasta partido en dos. Vistas lateralmente, las pinzas genitales están compuestas de un coxito voluminoso y de un estilete terminal de morfología variable

Aparato genital femenino (Figura 10).

El orificio genital se encuentra entre el 8º y el 9º terguito. Éste se encuentra rodeado de placas quitinosas, cuya morfología es de gran importancia para la clasificación de las hembras de estos insectos. Presentan dos espermatecas funcionales, y en algunos casos pueden presentar una espermateca rudimentaria adicional.

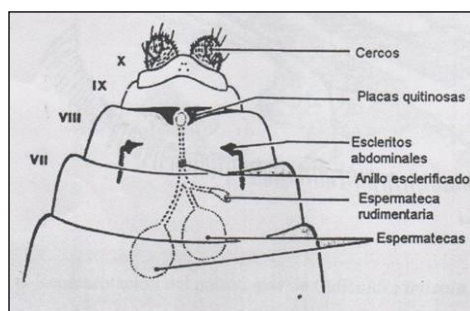


Figura 10. Representación esquemática de las principales estructuras anatómicas del aparato genital femenino de *Culicoides* (Tomado de Delécolle (1985)).

Morfología de las alas de las principales especies de *Culicoides*.

Uno de los métodos más comúnmente utilizados para identificar *Culicoides* en la península ibérica es a través del estudio de su patrón alar mediante las claves dicotómicas de Rawlings (1996) así como otras claves morfológicas que comparan diferentes regiones corporales (Mathieu *et al.*, 2010, 2012).

Además de esta identificación a través del patrón alar, actualmente se están desarrollando otros métodos basados en técnicas de PCR, siendo ejemplos de esto los estudios realizados por Cêtre-Sossah *et al.* (2004) en el que es capaz de detectar mediante esta técnica la presencia de *C. imicola*, o el trabajo de Pagès and Sarto I Monteys (2005) en el que diferencian *C. obsoletus* y *C. scoticus*, algo que resultaba complicado desde el punto de vista morfológico, o también el de Pagès *et al.* (2009) que consiguen diferenciar diferentes especies de *Culicoides* e incluso subespecies de los grupos Pulicaris, Fagineus y Newsteadi, algo que morfológicamente hubiera sido extremadamente difícil.

Las principales especies identificadas en España fueron descritas por Sánchez-Murillo *et al.* (2007) desde un punto de vista morfológico como se expone a continuación:

***Culicoides imicola* (Kieffer, 1913).**

Sin duda, *C. imicola* es el vector más importante de la lengua azul en España. Su patrón alar es característico y, por tanto, fácilmente reconocible con el estereomicroscopio por la distribución de sus manchas oscuras sobre fondo claro.

Los macrotricos se encuentran restringidos a determinadas zonas de la región distal del ala. Una de las manchas características se encuentra situada sobre la quinta celda radial (r5) y su forma se asemeja a un reloj de arena o diábolo perfectamente conformado. Otra cubre parcialmente la r1 y la r2, por lo que la segunda celda radial no es completamente oscura. Posee una mancha oscura que ocupa toda la vena cubital y parte de la medial 3+4. Señalar como característico el fondo blanco con forma oval que queda en las porciones proximales del espacio comprendido entre la primera y segunda vena medial (Figura 11).

Respecto a posibles diferencias con otras especies, no hay ninguna mancha oscura sobre la vena transversal (R-M) como en el caso de *C. circumscriptus*. Presenta manchas oscuras en los extremos de M1, M2 y M3+ 4, en lugar de claras como *C. punctatus* y *C. newsteadi*. En la celda anal presenta manchas irregulares y no uniformes, a diferencia de *C. festivipennis* y *C. maritimus* que poseen manchas redondeadas y bien localizadas. Sobre la celda cubital (m4) no hay

ninguna mancha identificativa, como en el caso de *C. punctatus*, *C. newsteadi* y *C. pulicaris*.

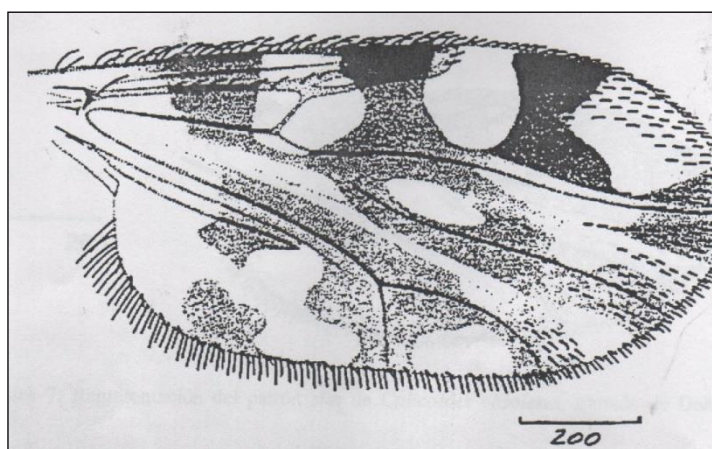


Figura 11. Representación del patrón alar de *Culicoides imicola* (tomado de Delécolle (1985)).

***Culicoides obsoletus* s.l. (Meigen, 1818).**

Los adultos de *C. obsoletus* tienen una longitud media de 1,9 mm. Las hembras pertenecientes a *C. obsoletus* junto con *C. scoticus* (Downes & Kettle, 1952), *C. dewulfi* (Goetghebuer, 1936), *C. chiopterus* (Meigen, 1830), conforman el denominado complejo Obsoletus, ya que son especies morfológicamente indistinguibles bajo la lupa binocular.

Los macrotricos son poco abundantes. Al contrario que *C. imicola* posee manchas claras sobre un fondo oscuro. Dichas manchas están situadas en la vena R-M, en la celda m4, en el extremo distal de la r5, en la celda m1, y otra que se encuentra entre las venas C y M1, englobando parte de la r2, que en este caso no es totalmente oscura. También presenta una zona clara extensa que ocupa la mayor parte de la celda anal y se continúa por toda la celda m2.

A diferencia de *C. univittatus*, *C. pictipennis* y *C. circumscriptus* las manchas claras del ápex no están bien definidas y no son redondeadas. La característica principal del grupo Obsoletus es la indefinición de sus manchas.

***Culicoides pulicaris* (Linné, 1758).**

Es un mosquito cuyas alas presentan manchas oscuras y puntiformes sobre fondo blanco. Es de mayor tamaño que *C. imicola* y *C. obsoletus*; sin embargo, por su tamaño (3 mm aproximadamente) y el parecido de algunas de sus manchas, podría confundirse con especies como *C. punctatus* y *C. newsteadi*. De ellas cabe

destacar la que se encuentra en la r5, con forma de diábolo esbelto y fino que no quiebra en su borde distal, siendo la más característica y definitoria a la hora de distinguirlo de otras especies.

En una visualización más pormenorizada, se pueden observar diferencias significativas con otras especies. Así, las manchas situadas en los extremos distales de las venas M1, M2 y M3+4, en *C. pulicaris* son oscuras mientras que las dos especies antes citadas muestran una mancha clara sobre otra oscura.

C. pulicaris no tiene la r2 totalmente oscura y presenta una mancha oscura en la celda cubital y otra pequeña y definida sobre la M2 muy parecidas a las de *C. punctatus*.

***Culicoides punctatus* (Meigen, 1818).**

Al igual que *C. pulicaris*, se trata de un mosquito grande (2,2 mm de media). Entre las manchas oscuras que lo caracterizan, son muy significativas para distinguirlo de otros *Culicoides*, la que existe sobre la r2 y que la cubre parcialmente, la mancha situada en la celda r5 con forma de diábolo o reloj de arena quebrada en su base distal y similar a *C. newsteadi* y mucho más ancha que en el caso de *C. pulicaris*, y una mancha oscura bien definida en la celda m4.

Una serie de manchas claras que poseen en el extremo de las venas M1, M2 y M3+4, tanto *C. punctatus* como *C. newsteadi* son las que los diferencian de *C. pulicaris*. Debemos fijar nuestra atención en una mancha pequeña presente en la base de M2, que en *C. newsteadi* es mucho mayor y más definida, que es la que nos permite distinguir entre ambas especies.

***Culicoides newsteadi* (Austen, 1921).**

Los individuos adultos miden aproximadamente 2,1 mm y se caracterizan por presentar manchas oscuras de mayor extensión que las de *C. punctatus*. Al igual que éste, el extremo distal de la mancha oscura con forma de reloj de arena sobre la r5 se encuentra quebrado en la parte basal y presenta un punto claro sobre una mancha oscura en los extremos de las venas M1, M2 y M3+4. La segunda celda radial no es toda oscura al igual que *C. punctatus* y *C. pulicaris*.

La mancha de la celda m4 es de mayor tamaño que la de *C. punctatus*. Sin embargo, la característica principal que lo diferencia es la presencia de una mancha oscura muy extensa a lo largo de la región proximal de la m2.

***Culicoides circumscriptus* (Kieffer, 1918).**

También es un mosquito de gran tamaño (2,2 mm), sus hembras poseen una única espermateca funcional (Sánchez-Murillo *et al.*, 2007).

Respecto a su patrón alar, sobre fondo oscuro presenta numerosas manchas claras redondeadas y ovaladas que le dan un aspecto característico. Como hecho diferenciador, posee sobre la vena R-M una mancha oscura dentro de una mancha clara con forma redondeada sobre la base de m1. La r2 es toda oscura y la r1 queda cubierta por la mancha clara redondeada descrita anteriormente.

Una línea clara cubre el tramo más distal de las venas cubital, M1, M2 y M3+4. La celda cubital presenta una sola mancha clara que ocupa casi toda su superficie.

Encontramos siempre dos manchas claras por encima de la M1, entre M1 y M2 y entre las venas M2 y M3+4. Por último, señalar que la celda anal presenta dos manchas claras redondeadas, que pueden encontrarse unidas o separadas.

***Culicoides festivipennis* (Kieffer, 1914).**

Es una especie de talla mediana (2 mm) cuyas alas presentan numerosas y pequeñas manchas claras en lugares específicas del ala. Su celda r2 está totalmente sombreada. Las tres manchas claras del ápex están bien definidas, no son totalmente redondeadas y tocan el margen del ala, a diferencia de otras especies de *Culicoides*, existiendo también otra mancha clara en la base de m1.

Las dos manchas claras presentes en la celda anal son redondeadas, se encuentran muy próximas entre sí pero bien delimitadas y cercanas a la vena cubital, hecho que la diferencia claramente con la especie *Culicoides maritimus*.

***Culicoides univittatus* (Vimmer, 1932).**

La mitad de su r2 es clara y la otra mitad oscura. Presenta manchas claras distribuidas de forma uniforme por toda el ala, incluida la zona del ápex.

Se diferencia de *C. pictipennis* por la forma redondeada de las manchas del ápex, que en el caso de éste aparentan estar cortadas por el margen del ala.

***Culicoides maritimus* (Kieffer, 1924).**

Se trata de una especie de menor tamaño que *C. festivipennis* y, al igual que ésta, su r2 también está totalmente sombreada. Posee también manchas claras en el ápex y otra en la base de m1 más alargada que la de *C. festivipennis*.

Al igual que *C. festivipennis*, la celda cubital se caracteriza por una sola mancha clara y las dos manchas de la celda anal se encuentran muy próximas a la celda cubital, aunque en *C. maritimus* están unidas formando una única mancha, siendo ésta la principal diferencia entre ambas especies.

***Culicoides pictipennis* (Staeger, 1839).**

Es una especie de talla media a grande (2,2 mm). Los macrotricos son abundantes prácticamente en toda la superficie alar. *C. pictipennis* y *C. univittatus* se diferencian principalmente del grupo *Obsoletus* por sus manchas pálidas bien definidas en toda el ala.

Al igual que *C. univittatus*, presenta una mancha clara redondeada que cubre la mitad de r2, otra ocupa la vena R-M y gran parte de la r1 extendiéndose a la zona proximal de la m2. Tanto la mancha única que presenta la celda cubital como la redondeada de la anal, son muy parecidas en *C. pictipennis* y *C. univittatus*, sin embargo, la mancha que se encuentra en la base de m1 es más pequeña en el primero.

En cada extremo distal de las celdas r5, m1 y m2 se encuentra una mancha cuya superficie es algo mayor que un semicírculo y es la diferencia principal con *C. univittatus*.

***Culicoides puncticollis* (Becker, 1903).**

Las hembras presentan una única espermateca con forma de plátano. La r2 de sus alas es totalmente oscura y junto con el hecho de la no presencia de manchas claras en el ala, queda englobada, según las claves de P. Rawlings, en un grupo de 5 especies donde destacan *C. nubeculosus* y *C. riethi*, especies con las que podría confundirse.

***Culicoides nubeculosus* (Meigen, 1830).**

A través de las claves de Rawlings (1996), podemos confundir con especies como *C. puncticollis*; sin embargo, las manchas oscuras de éste son mucho más intensas y la mancha clara que posee en la primera celda medial (m1), en el caso de *C. nubeculosus* se divide en dos manchas claras. Posee al igual que la especie anterior, la r2 completamente oscura.

La hembra sólo tiene una espermateca con forma ovoide y una dilatación característica al final de la misma. Presenta un punto amarillento en el centro del escutelo. Es muy similar a *C. puncticollis*, pero en aquella especie la espermateca tiene forma de salchicha y el aedeagus en el macho es diferente.

***Culicoides parroti* (Kieffer, 1922).**

Presenta como característica principal toda la superficie del ala blanca (clara) a excepción de la segunda celda radial (r2) que es completamente oscura. Las hembras tienen una sola espermateca funcional con forma característica. El ala es muy similar a la de *C. stigma* por lo que es necesario recurrir al estudio pormenorizado de la genitalia de los machos, donde se aprecia claramente la diferencia, sobre todo en la forma del 9º terguito.

***Culicoides stigma* (Meigen, 1818).**

A través de sus alas es prácticamente imposible distinguir de *C. parroti*. Para llegar a la identificación de esta especie es necesario recurrir al montaje de la genitalia del macho donde se puede observar diferencias considerables sobre todo a nivel del 9º terguito. Al igual que *C. parroti* su ala es prácticamente transparente, sin manchas de ningún tipo, salvo la existente en la segunda celda radial, que la hace completamente oscura.

***Culicoides fagineus* (Edwards, 1939).**

Las hembras presentan dos espermatecas funcionales y una rudimentaria. Por sus alas son muy parecidos a *C. impunctatus*, encontrando mayores diferencias a nivel del 9º terguito en el macho y las ornamentaciones del cibarium en la hembra. En cuanto a su patrón alar, su r2 no es totalmente oscura y las venas M1, M2 y M3+4 aparecen rodeadas por manchas oscuras. La base de la M2 es pálida, hecho que diferencia, entre otros, a esta especie de *C. imicola*.

***Culicoides alazanicus* (Dzhafarov, 1961).**

Pertenece al grupo de los ejemplares de talla mediana (1,9 mm), cuyas hembras presentan dos espermatecas funcionales y una rudimentaria. Sus ojos están separados y la foseta de sus palpos es circular.

Respecto a su patrón alar, presenta manchas claras sobre un fondo oscuro. La segunda celda radial es totalmente oscura si bien existe una mancha clara en su límite con la r5. La otra mancha clara abarca parte de la r1 y la vena transversal R-M. Existen sendas manchas claras en las celdas r5, m1, m2 y m4 situadas en el borde del ala. Finalmente, la mancha clara de la celda anal parece estar bilobulada. Los macrotricos son abundantes en toda la superficie alar.

***Culicoides lupicaris* (Downes & Kettle, 1952).**

Es una especie documentada por primera vez en Extremadura por Sánchez-Murillo *et al.* (2013). A nivel morfológico, se ha observado gran variación intraespecífica en cuanto al tamaño y patrón alar en *C. lupicaris*, presentando diferentes morfotipos bien diferenciados (González and Goldarazena, 2011), aunque es fácilmente distinguible del resto de especies del complejo *pulicaris* por métodos anátomo-morfológicos clásicos. A este respecto, *C. lupicaris* presenta unas alas de aproximadamente 1,5 mm de largo, con manchas oscuras confluentes bien delimitadas y venas m1, m2 y m3 oscuras en su extremo apical. En la celda anal posee una mancha oscura irregular, ausente en otras especies taxonómicamente cercanas como *C. punctatus* o *C. pulicaris* (Pagès *et al.*, 2009), y presenta macrotricos dispersos por la superficie alar. La hembra de *C. lupicaris* posee unos ojos fusionados y no pubescentes, antenas con sensilas celocónicas en el artejo 3 y del 11 al 15 y un 3er segmento palpar engrosado con varias fosetas.

***Culicoides paolae* (Boorman, 1996).**

Especie documentada por primera vez en Extremadura por Sánchez Murillo *et al.* (2012). *C. paolae* presenta unas alas de más de 1 mm de largo, de fondo oscuro con áreas blancas nítidas con un patrón de coloración bastante singular: vena r-m no pigmentada, segunda célula radial con mácula oscura, celda R5 con dos áreas blancas, celda m1 con más de una mancha blanca, vena m2 abrazada por un área clara y pequeñas áreas claras distantes de las celdas M1 y M2 (Estrada *et al.*, 2011). Los macrotricos están presentes en toda la superficie alar. Estableciendo además Boorman *et al.* (1996) un radio antenal en un rango de entre: 1.10-1.32. A nivel de la cabeza, la hembra de *C. paolae* posee unos ojos moderadamente separados y unos palpos cuyo 3er segmento está engrosado y ostenta una foseta sensorial muy grande, profunda y de contorno arriñonado. En las antenas se aprecian 2 sensilas tricoideas cortas y 2 largas, no delgadas, en los flagelómeros basales III-X y sensilas celocónicas en los flagelómeros III-XV. El número y repartición de estas sensilas en el artejo antenal es igualmente de gran importancia para la identificación específica (González and Goldarazena, 2011). Abdominalmente, son patentes dos espermatecas ovoides funcionales, de tamaño ligeramente desigual, y una rudimentaria.

2.1.1.2 Distribución.

Europa.

Si bien existen más de 1500 especies de *Culicoides* en todo el mundo, relativamente pocas de estas especies han sido identificadas como posibles transmisoras del virus de la lengua azul (Meiswinkel *et al.*, 2004; Maclachlan, 2011).

Las especies de *Culicoides* transmisoras de ciertas enfermedades van a variar de una región a otra en función de muy diversos parámetros, especialmente los climáticos.

No obstante, parece que *C. imicola* es el principal vector de la lengua azul en aquellos países endémicos de esta enfermedad (Tabachnick, 2004; Maclachlan, 2010; Jafari-Shoorijeh *et al.*, 2010). En agosto de 2006, la enfermedad de la lengua azul fue detectada por primera vez en los países de Holanda, Bélgica, Luxemburgo, Alemania y el norte de Francia. Inmediatamente que comenzaron a confirmarse los casos en ovejas y vacas, se iniciaron numerosos estudios con el fin de determinar las especies de vectores que estarían diseminando esta infección por una gran parte de la ganadería en el centro de Europa. Los resultados de estos estudios determinaron que la especie más abundante de *Culicoides*, encontrada en las granjas afectadas fue el complejo *C. obsoletus* (hasta el 97 % del total de ejemplares capturados). En segundo lugar, fue identificado *C. pulicaris*, mientras que con menor frecuencia se hallaron ejemplares de *C. nubeculosus*, *C. dewulfi*, *C. scoticus*, *C. chiopterus* y de *C. festivipennis*. (Mehlhorn *et al.*, 2007). En ninguno de los estudios realizados en esta zona de Europa central se halló *C. imicola*, lo que confirma que el virus de la lengua azul es capaz de utilizar otras especies cuando esta última no está presente (Caracappa *et al.*, 2003; Savini *et al.*, 2005; Meiswinkel *et al.*, 2007; Dijkstra *et al.*, 2008; Kampen and Werner, 2010).

En el Norte de Europa y en concreto en Suecia, se han realizado algunos estudios para determinar la distribución de los *Culicoides* y las características epidemiológicas de los mismos, destacando, como en el caso de Europa central, que la especie más abundante y potencial vector de la lengua azul en esta zona es *C. obsoletus/C. scoticus*. No obstante, también se han encontrado en unas proporciones mucho menores *C. impunctatus*, *C. grisescens*, *C. punctatus*, *C. chiopterus* y *C. pulicaris*. El complejo *C. obsoletus/C. scoticus* fue más abundantes durante mayo y junio y en agosto-septiembre, aunque ambas especies permanecieron activas entre marzo y noviembre (Ander *et al.*, 2012).

En países del este de Europa como Bulgaria, también se han llevado a cabo estudios epidemiológicos sobre la población de *Culicoides*, de tal manera que Purse *et al.* (2006) capturaron un total de 70000 ejemplares durante la estación de verano, sugiriendo que, en este país, la transmisión de la lengua azul no se produce por *C. imicola* (nunca fue detectado), sino por vectores autóctonos europeos como son los complejos *C. obsoletus* y *C. pulicaris*. Prácticamente, el 75 % de los ejemplares identificados pertenecieron a *C. obsoletus*. Dentro del complejo *C. pulicaris*, solamente *C. pulicaris* sensu stricto, *C. punctatus* y *C. newsteadi* se encontraron en cantidades lo suficientemente altas como para establecer que también juegan un papel importante en la transmisión de la lengua azul. Es importante mencionar que los autores de este estudio determinaron que, a pesar de no haberse capturado ejemplares de *Culicoides* durante al menos los 3 meses del invierno en la zona oeste de Bulgaria, el virus sí es capaz de sobrevivir en el medio natural durante esta época, bien de forma estacionaria en los hospedadores vertebrados o bien en forma de estado latente dentro del vector.

En países del sur de Europa como Italia, también se han realizado algunos estudios para conocer la entomofauna de *Culicoides* y las especies potencialmente vectoras de la lengua azul. En concreto, en Sicilia se determinó que solamente en el 10 % de las granjas positivas al virus se pudo observar *C. imicola*. Otros potenciales vectores observados fueron *C. obsoletus* y *C. newsteadi*, las cuales aparecieron en el 54,52 % y el 55,45 %, respectivamente de las granjas positivas. Le siguió *C. gejjelensis* (35,51 %), *C. circumscriptus* (31,78 %), *C. pulicaris* (22,12 %), *C. paolae* (18,07 %), *C. subfascipennis* (15,58 %), *C. tauricus* (11,84 %), *C. agathensis* (7,48 %), *C. nubeculosus* (5,61 %) y *C. punctatus* (3,12 %). Otras especies también fueron identificadas pero con una frecuencia inferior al 1 % (Guercio *et al.*, 2010).

En Francia se han encontrado, por orden decreciente en cuanto al número de ejemplares capturados, las especies *C. obsoletus*, *C. dewulfi*, *C. scoticus*, *C. chiopterus*, *C. lupicaris*, *C. pulicaris*, *C. punctatus*, *C. pallidicornis*, *C. achrayi*, *C. furcillatus*, *C. brunnicans*, *C. picturatus* y *C. poperinghensis* (Ninio *et al.*, 2011).

En Portugal, (Capela *et al.*, 2003), identificaron un total de 55.937 *Culicoides* y encontraron que hasta el 66 % de ellos pertenecieron a *C. imicola*, siendo especialmente abundante en la zona del este de Portugal y cerca de Lisboa. *C. pulicaris* y *C. obsoletus* fueron los siguientes más abundantes, alcanzando porcentajes del 17,3 % y del 10,7 %, respectivamente.

En Grecia se realizó un extenso estudio de la distribución y frecuencia de *Culicoides* entre 1999 y 2004 (Patakakis *et al.*, 2009). Se llegaron a identificar

Revisión bibliográfica

hasta 39 especies diferentes de estos dípteros, seis de las cuales (*C. furcillatus*, *C. impunctatus*, *C. paolae*, *C. pictipennis*, *C. riethi* y *C. scoticus*) fueron identificadas por primera vez en este país. Tanto *C. impunctatus* como *C. scoticus* podrían tener una gran importancia debido a su papel como vectores de la lengua azul y otros orbivirus. Además, en este mismo estudio se capturó por primera vez a *C. imicola* en la Grecia continental.

España.

Las enfermedades asociadas a artrópodos continúan constituyendo en la actualidad un gran problema en muchos países, especialmente en los subdesarrollados, afectando a la población humana y animal. Nuevas estirpes de patógenos, así como nuevos agentes causantes de enfermedades transmitidos por artrópodos, están originando serios problemas de salud local e internacional.

El estudio de la distribución de los *Culicoides* en España es un hecho usual, sobre todo debido a la cercanía con la costa africana, que tiene una influencia en las poblaciones de dípteros en la península ibérica. En muchas ocasiones, especies de dípteros entre los que destaca *C. imicola*, son arrastrados desde el sur hacia la península, ya que éstos pueden volar por si mismos unos 5 km (Purse *et al.*, 2015) o ser desplazados más de 700 km (Sellers, 1992). Esto ya se sospechaba y se confirmó con la forma de entrada de gran número de enfermedades, como la peste equina africana desde el año 1966 documentada por Sellers *et al.* (1977).

Incluso también se piensa que existe una influencia de *Culicoides* (entre ellos *C. imicola*) en las islas Baleares debido a la influencia de las corrientes de aire desde las islas italianas de Sicilia y Cerdeña, la isla francesa de Córcega y del noreste de Argelia, con el consecuente riesgo en las enfermedades transmitidas por Arbovirus (Alba *et al.*, 2004). En este sentido se ha determinado, que la mayoría de ejemplares de esta especie al sur de Francia son provenientes de la isla de Córcega (Jacquet *et al.*, 2016).

Esta influencia Africana ya se documentó en trabajos como el de (Rawlings *et al.*, 1997), quienes confirmaron la presencia de *C. imicola* en la península ibérica desde 1982 (Figura 12). Si bien se piensa que esta expansión de la lengua azul es debida sobre todo a cambios del vector y del virus, ya que la presencia de *C. imicola* en la cuenca mediterránea data de épocas muy anteriores (Jacquet *et al.*, 2015)

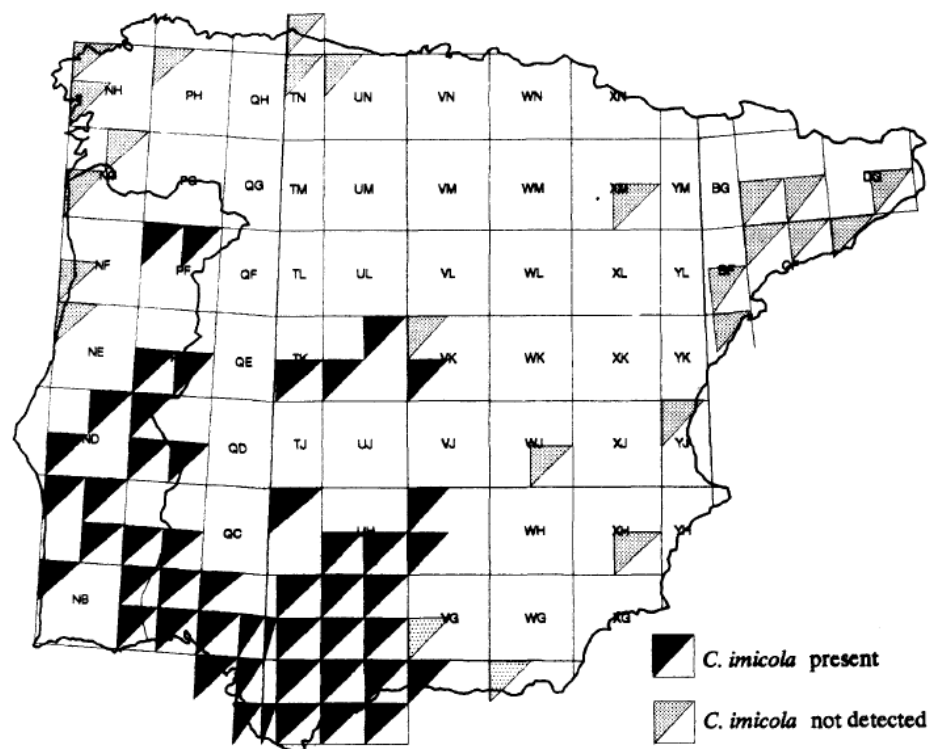


Figura 12. Presencia de *C. imicola* en la península ibérica durante el año 1982 (Rawlings *et al.*, 1997).

La distribución geográfica de los vectores de enfermedades es un aspecto de reconocida importancia para la evaluación epidemiológica en los programas de control, siendo ampliamente conocida la influencia de factores ambientales sobre la distribución y abundancia de insectos (Gorla, 2002). Debido a esto, incluso se han realizado modelos de predicción de la presencia de *C. imicola* en la península ibérica, como el de Peters *et al.* (2011) que utilizan datos de muestreo de los años 2004-2006, aportando valiosa información que ayudaría a reforzar las medidas de control frente a este vector.

En la actualidad esta especie se ha ido extendiendo y llegando hasta el norte peninsular e incluso en las islas Baleares como veremos en la distribución por provincias.

En otros estudios más recientes, como el de Ducheyne *et al.* (2013) se determinan los factores que afectan a la presencia de diferentes especies de *Culicoides* en la península que podrían actuar como vectores de lengua azul.

Otro claro ejemplo de enfermedades emergentes transmitidas por vectores dípteros es el virus Schmallenberg, detectado desde hace muy poco tiempo en Europa. Este orbivirus parece afectar mayoritariamente al ganado ovino, bovino y caprino, produciendo malformaciones congénitas y provocando fiebre, diarrea

severa y abortos, entre algunas de las manifestaciones más importantes descritas hasta el momento.

Desde su identificación por vez primera en Alemania en noviembre de 2011, en la Unión Europea (UE) se han encontrado nuevos casos, siendo el país de origen el que más brotes ha constatado y seguido por Francia, Bélgica, Holanda, Reino Unido, Luxemburgo, Italia y España. Como otras arbovirosis que afectan al ganado tales como la lengua azul, este virus parece ser transmitido por dípteros nematóceros del género *Culicoides* Latreille, 1809 (Díptera, Ceratopogonidae), siendo muchos los estudios que se están realizando en la actualidad para conocer mejor su mecanismo de propagación y todos los factores implicados.

Como ya se ha mencionado, en Europa tienen especial relevancia aquellas patogenicias vehiculizadas por estos insectos que afectan al ganado, como la lengua azul o peste equina africana, cuya presencia ya fue registrada dentro de nuestras fronteras en el pasado. Aun así, no puede descartarse que otras enfermedades de distribución tropical o subtropical puedan acabar circulando por Europa, especialmente debido al calentamiento global, ya que muchos vectores están experimentando una expansión geográfica notable (Meiswinkel *et al.*, 2008).

En cuanto a los diferentes estudios de captura de *Culicoides* en nuestro país podemos indicar que algunos se han centrado en determinar las zonas de presencia de éstos en instalaciones ganaderas, como el de Romón *et al.* (2012) en el que con un análisis usando trampas CDC ultra violeta (UV) en tres zonas con antecedentes de lengua azul, identifican un total de 27 especies de *Culicoides* realizando un trampeo en zonas interiores y exteriores de una explotación ganadera. Las especies más frecuentes en las zonas de exterior son *C. obsoletus/C. scoticus* (89,8 %) seguidas por *C. lupicaris* (6,3 %), *C. pulicaris* (1,5 %) y *C. kibunensis* (1,2 %); mientras que en las zonas de interior lo son *C. obsoletus/C. scoticus* (92,3 %), *C. lupicaris* (3,5 %) y *C. punctatus* (1,3 %), siendo datos de trampeo similares a los recabados en una explotación en Álava usando también trampas CDC UV y trampas de emergencia de larvas (González *et al.*, 2013; González, 2014), en el cual encuentran un total de 52 especies, siendo *C. obsoletus/C. scoticus* los más frecuentes tanto en las trampas CDC (58,5 %) como en la recolecta de larvas (74,5 %) seguida de *C. pulicaris* con un 20,9 % en las trampas CDC y solo un 1,2 % de larvas. En esta zona, también se encuentran algunos ejemplares de *C. imicola* que había sido identificado por primera vez en esta zona entre 2007-2008 por Goldarazena *et al.* (2008) destacando como más frecuentes también las especies *C. obsoletus/C. scoticus*.

Además de este, existen una serie de trabajos en distintas zonas de España que indican cómo se distribuyen las diferentes especies del género *Culicoides*. Tal es el

caso de Baleares, donde se detecta *C. imicola* por primera vez en 2001 por Miranda *et al.* (2004) y además realizan un muestreo con trampas CDC miniatura UV en las islas de Mallorca y de Menorca encontrando que, en Mallorca, la especie de *Culicoides* más frecuente es *C. imicola* (37 %) seguida de *C. obsoletus* (32,3 %), mientras que en la isla de Menorca, la especie más frecuente es *C. newsteadi* encontrándose una frecuencia muy inferior de *C. imicola* (9,3 %) y *C. obsoletus* (9,2 %).

En Andalucía, Pérez *et al.* (2012) llevaron a cabo un muestreo sistemático durante los años 2007 y 2008 en las distintas provincias utilizando trampas CDC miniatura de luz ultravioleta en explotaciones ganaderas de esta comunidad, capturándose un total de 15 especies, siendo las cuatro más frecuentes *C. imicola*, el complejo *C. obsoletus*, el complejo *C. pulicaris*, y *C. nubeculosus* aunque también se capturan en el siguiente orden *C. newsteadi*, *C. maritimus*, *C. circumscriptus*, *C. punctatus*, *C. festivipennis*, *C. parroti*, *C. univittatus*, *C. puncticollis*, *C. pictipennis*, *C. fascipennis*, y *C. heteroclitus*. La tasa de ejemplares por trampa fue de 25,5 ejemplares en el año 2007 y de 13,2 en el 2008, siendo el 68 % de los trampeos negativos.

En Canarias se realizan varios muestreos en la isla de Tenerife y Gran Canaria con trampas CDC miniatura UV, en los cuales se captura solamente *C. obsoletus*, pudiendo ser de importancia a la hora de transmitir la lengua azul en Canarias, si bien todavía no se ha producido ningún caso declarado de esta enfermedad (Martínez-de la Puente *et al.*, 2012).

En otro estudio realizado en Castilla-La Mancha (Alarcón-Elbal, 2015; Alarcón-Elbal *et al.*, 2016) utilizando trampas CDC en diferentes explotaciones ganaderas del territorio durante los años 2007-2009, se detectan un total de 21 especies, siendo las más abundantemente capturadas *C. imicola* (33,3 %), *C. obsoletus* s.l. (6,2 %), *C. circumscriptus* (9,4 %), *C. newsteadi* (12,6 %), *C. pulicaris* (7,8 %), *C. punctatus* (20,6 %), *C. nubeculosus* (1,4 %), *C. parroti* (0,3 %), *C. festivipennis* (2,5 %) y *C. univittatus* (2,9 %). Además, en este estudio, la proporción total de machos supone el 4,6 %, mientras que los estados gonotróficos de las hembras fueron 7,3 % de hembras grávidas, 18,7 % de nulíparas y 69,4 % de paras. En la misma zona en 2012, Durán (2012), detecta un total de 13 especies de *Culicoides* entre las que destacan *C. punctatus* (34,6 %), seguido por *C. circumscriptus* y *C. pulicaris* (ambos 13,4 %), *C. newsteadi* (11,7 %), *C. festivipennis* (7,8 %), *C. odibilis* y *C. sphagnumensis* (ambos 4,5 %) y el grupo *C. fascipennis* (3,4 %). Además, indica que la abundancia de los dos principales vectores de la lengua azul en Europa (*C. imicola* y el grupo *C. obsoletus*) es muy

reducida en localizaciones no ganaderas en una región donde ambas especies son abundantes en estas explotaciones.

Extremadura.

En Extremadura en un trabajo realizado por Sánchez-Murillo *et al.* (2011) durante los años 2008-2010, observan que la especie más frecuente en Extremadura es *C. imicola* con un 66 % de las capturas, siendo esta especie reconocida como uno de los principales transmisores de la lengua azul (93,42 % hembras y 6,58 % machos). Analizando otros de los vectores de esta enfermedad, indican que los *Culicoides* del complejo *Obsoletus* suponen un 0,1 % de las capturas (siendo un 92,86 % hembras y un 7,14 % machos) y *C. pulicaris* supone un 0,06 % de las capturas (siendo un 97,59 % hembras y un 2,41 % machos).

Además, en los últimos años se han encontrado en la región por primera vez algunas especies como son *C. paolae* (Sánchez-Murillo *et al.*, 2012), *C. lupicaris* (Sánchez-Murillo *et al.*, 2013) y reciente la especie *C. paradoxalis* que ha sido nombrada en Extremadura y supone una nueva especie dentro de España (Sánchez-Murillo *et al.*, 2015) resultando esto en un total de 28 especies en Extremadura.

En resumen, como ya se ha indicado, hoy en día hay descritas en España 82 especies de *Culicoides* (Alarcón-Elbal and Lucientes, 2012; Sánchez-Murillo *et al.*, 2015), repartidas en 9 subgéneros, un grupo misceláneo (subgénero indefinido) y un *nomen dubium*. Estas especies deben ser la base a la hora de determinar las especies dentro de la Comunidad Autónoma de Extremadura, aunque debido a la existencia de especies crípticas, es muy interesante poner en marcha técnicas de PCR como las descritas ya en diferentes estudios (Cêtre-Sossah *et al.*, 2004; Pagès and Sarto I Monteys, 2005; Pagès *et al.*, 2009), las cuales nos permitirían marcar la diferencia entre especies de una forma más consistente.

2.1.1.3 Importancia sanitaria.

Los *Culicoides* son vectores de más de 35 arbovirus que infectan animales domésticos. Sólo algunos de esos virus causan enfermedades clínicas. El ganado, principalmente ovejas y caballos son los más seriamente afectados.

La mayoría de esos agentes virales son miembros de la familia Reoviridae y Bunyaviridae, incluyendo patógenos que causan la Enfermedad de la Lengua Azul, la Enfermedad Epizootica Hemorrágica y la Peste Equina Africana.

Otras dos familias de virus en las que parece que estén involucrados los *Culicoides* son Rhabdoviridae y Poxviridae.

Como ya se ha indicado, los *Culicoides* no sólo pueden actuar como vectores de arbovirus, sino también de nematodos y protozoos, todos ellos causantes de enfermedades en los animales, pero también de modo menos frecuente en las personas. Incluso se han llegado a proponer que algunas especies de *Culicoides* pueden actuar como transmisores de la leishmaniosis (Slama *et al.*, 2014). Sin embargo, la mayor parte de autores piensan que este hecho es simplemente debido a la detección mediante técnicas PCR de parásitos en la sangre de la que se alimentan estos vectores, pero que estos dípteros no son capaces de actuar como hospedadores intermediarios completos y por tanto, no son transmisores reales de la enfermedad (Seblova *et al.*, 2012, 2014).

La transmisión de estas enfermedades va a estar lógicamente relacionada por el patrón de picadura que dependerá tanto de la especie de *Culicoides* como de la localización geográfica. En este sentido, Calvo *et al.* (2012) realizaron un estudio para determinar el patrón de picadura de los *Culicoides* en los Picos de Europa analizando la procedencia de la sangre de los dípteros capturados en esta zona, determinaron que el 95,6 % habían picado a mamíferos, mientras que el resto habían picado a aves. Dentro de los mamíferos, el 87,7 % tenían sangre de ovino, el 6,5 % de humano, el 3,7 % de vacuno y del 2,1 % de topillo de Savi.

Entre las enfermedades más importantes que pueden transmitir los *Culicoides* tenemos:

Lengua Azul.

La lengua azul (LA) o fiebre catarral ovina es una enfermedad de declaración obligatoria causada por un Orbivirus perteneciente a la familia Reoviridae. La forma principal de transmisión del virus en condiciones naturales es por la picadura de los mosquitos del género *Culicoides*, aunque también puede transmitirse por semen o embriones infectados (Du Toit, 1944) o incluso según se ha demostrado recientemente, se puede dar el contagio horizontal por el uso de una misma aguja en inyecciones subcutáneas (Darpel *et al.*, 2016). Hasta hace relativamente poco se conocían 24 serotipos distintos (Gould and Pritchard, 1990; Mertens, 1999). En el año 2012, estos pasaron a ser 26 (Maan *et al.*, 2012) y en el año 2015 se ha identificado otro serotipo, situándose actualmente en un total de 27 (Jenckel *et al.*, 2015).

Afecta a rumiantes de diferentes especies, siendo las ovejas donde aparece el cuadro clínico completo de la enfermedad, con inflamación de las membranas mucosas, hemorragias y edemas, y cursando de forma generalmente inaparente en

el resto de las especies afectadas. Causa graves pérdidas económicas en la cabaña ovina, las cuales se han datado en Holanda en 32 millones de euros en 2006 y entre 164 y 174 millones de euros en 2007 (Velthuis *et al.*, 2010) y a nivel mundial, en el año 1996 se estimaron unas pérdidas de 3000 millones de dólares (Tabachnick, 1996).

Este cuadro clínico causa una elevada mortalidad en ciertas razas de oveja y otros rumiantes domésticos y salvajes (Le Gal *et al.*, 2008; Elbers *et al.*, 2008; Allepuz *et al.*, 2010). La morbilidad en ovejas puede alcanzar un 100 %, variando la mortalidad entre el 2-30 % (Verwoerd and Erasmus, 2004) y pudiendo llegar en algunos casos incluso al 70 % (Gambles, 1949). Los animales que sobreviven se suelen recuperar en pocos días (hasta dos semanas). En bovino la morbilidad puede alcanzar un 5 %, cursando generalmente de forma subclínica.

Como ya se ha mencionado, el virus de la LA (lengua azul) es un arbovirus que también se ha demostrado que se puede transmitir directamente entre vertebrados a través del semen y vía transplacentaria (Parsonson, 1990). Sin embargo, estas formas de transmisión son sólo ocasionales. En el campo, la LA se transmite principalmente entre sus hospedadores vertebrados mediante la picadura de artrópodos picadores y en relación a esto, existen gran número de investigaciones que nos indica que la mayor importancia epidemiológica la tienen varias especies del género *Culicoides* y que, por tanto, esto son los verdaderos vectores biológicos de esta enfermedad (Du Toit, 1944; Walker and Davies, 1971; St George and Muller, 1984; Mellor *et al.*, 1984, 1990; Blackburn *et al.*, 1985; Standfast *et al.*, 1985; Venter *et al.*, 1991).

En un análisis realizado sobre la LA en España, de Diego *et al.* (2014) nos indican que los brotes de esta enfermedad se han producido en España en seis ocasiones y han sido causados por los siguientes serotipos del virus de la lengua azul (en inglés Blue Tongue Virus), en orden cronológico: BTV10, BTV2, BTV4, BTV1 y BTV8. Los serotipos BTV1, BTV2 y BTV4 pueden haber entrado en el país por *Culicoides* transportados por el viento; BTV8 a través de los movimientos de animales infectados; y BTV10 a través de la frontera portuguesa. La evolución de cada serotipo ha sido diferente: BTV1, BTV4 y BTV10 se extienden por toda la España peninsular; BTV2 no ha llegado a extenderse desde las Islas Baleares a la península ibérica; y BTV8 tiene un poder de difusión muy escaso en toda España. El impacto económico de la enfermedad es muy significativo y ha llevado a las autoridades a adoptar medidas de control y erradicación, que han evolucionado como nuevas herramientas de diagnóstico y vacunas disponibles para el control de la enfermedad. Desde el 1 de enero de 2013, la península ibérica se consideraba un área restringida para BTV1, y una pequeña zona en el sur de España es un área

restringida para BTV4. A 17 de noviembre de 2014 esto ha vuelto a producirse en la mayor parte de la Comunidad Autónoma de Andalucía y en algunas zonas de las Comunidades de Extremadura y Castilla-La Mancha, al producirse nuevos brotes en estas zonas. Actualmente está instalada en Extremadura una campaña de vacunación frente a esta enfermedad que finalizará en 2018, por lo que en 2016 solo se ha producido un caso de forma esporádica en un ovino sin vacunar.

Esta diseminación de la LA también se produjo por Europa emergiendo en 2006 un brote de BTV6 en los países de Bélgica, Francia, Alemania, Luxemburgo y Holanda. En 2008, se produjo un brote del serotipo 6 en Holanda y Alemania y del 11 en Bélgica. Por lo que en estos países también se tuvieron que adoptar las medidas de control de las que antes hablábamos (Zientara and Sánchez-Vizcaíno, 2013).

Debido a la aparición estacional de los mosquitos en España, la enfermedad aparece fundamentalmente a finales del verano y principio del otoño. Sin embargo, también se ha constatado que este virus es capaz incluso de pasar el invierno en zonas más frías como son los países de centro Europa, llegando a la conclusión que puede ser debido a que existen especies resistentes al invierno. Además, también se ha comprobado que algunos *Culicoides* tienden a vivir en el interior de las viviendas. De hecho, trabajos como el de Calvete *et al.* (2009), indican que *C. imicola*, a diferencia de lo que pensaban otros autores, es capturado en mayor número en zonas de interior de las explotaciones que en las exteriores. No obstante, se cree que debe haber más factores que favorezcan esta resistencia al frío (Napp *et al.*, 2011). En otros estudios sobre la supervivencia del virus, se llega a la conclusión de que en el área mediterránea existe una clara relación entre un ciclo doméstico y silvestre (en el que en la mayoría de los casos actúan como portadores inaparentes, tomando especial importancia el ciervo rojo, que además por su amplia distribución puede ser usado como centinela (Falconi *et al.*, 2011)) que dificulta la erradicación de la enfermedad en esta área, mientras que en el norte de Europa el control resulta mucho más fácil (Ruiz-Fons *et al.*, 2014).

La distribución geográfica de la LA depende de la presencia de ciertas especies de *Culicoides*, habiéndose identificado *C. imicola* como principal transmisor en la zona mediterránea (Purse *et al.*, 2005), mientras que se considera al complejo *Obsoletus* como el principal vector centro europeo. Además, también se ha demostrado como vector *C. pulicaris* (Mellor *et al.*, 1990; Caracappa *et al.*, 2003; Romón *et al.*, 2012), y otros como *C. newsteadi* y *C. punctatus*, dentro del grupo *C. pulicaris* o *C. montanus* son sospechosos de transmitir esta enfermedad aunque esto queda pendiente de confirmación ya que sólo se ha detectado el virus en su interior mediante PCR (Goffredo *et al.*, 2015), sin embargo como se ha dicho, el

grupo *Obsoletus* juega un importante papel en la transmisión de la lengua azul en Europa (Mellor and Wittmann, 2002; Caracappa *et al.*, 2003; Carpenter *et al.*, 2006; Mehlhorn *et al.*, 2007; Calvete *et al.*, 2008a; Purse *et al.*, 2008; Patakakis *et al.*, 2009). Sin embargo, recientemente en Cerdeña, se describe a *C. newsteadi* como la especie más importante en la transmisión de esta enfermedad durante el invierno, estando también implicada en la supervivencia del virus durante esta estación climática (Foxi *et al.*, 2016). En otras zonas del mundo, como pueden ser Norte América y Australia, los principales vectores son respectivamente *C. sonorensis* y *C. brevitarsis* (Wilson and Mellor, 2009). Además, existen especies que aún son consideradas sospechosas, como *C. nubeculosus*, que ha demostrado que los virus de LA son capaces de reproducirse en su interior (Jennings and Mellor, 1988), o *C. parroti*, que por su cercanía con *C. sonorensis* es considerado como especie de riesgo (Sarto i Monteys *et al.*, 2009).

A pesar de que *C. imicola* se ha considerado siempre como uno de los principales vectores de la LA, en el estudio realizado por Del Rio López *et al.* (2012) sobre infección experimental de dípteros de esta especie, determinan que no poseen una eficacia tan elevada como se pensaba a la hora de transmitir este virus y por tanto, cobran importancia otras especies de este género.

Además, se han realizado diferentes modelos para la predicción de brotes de LA como el de Calvete *et al.* (2008) o Calvete *et al.* (2009b) en el que analizan la presencia de *C. imicola* y *Culicoides* del grupo *Obsoletus* para predecir los brotes de la enfermedad, llegando a la conclusión que la especie de *Culicoides* más influyente en estos brotes es *C. imicola*. Otros factores que tenían relación con estos brotes eran la densidad de cabezas de ganado y la dispersión entre granjas (hospedadores), así como con factores bioclimáticos como son las precipitaciones anuales y aún más evidentemente con las precipitaciones por estación. Acevedo *et al.* (2010) realizaron otro de estos modelos, en el que llega a la conclusión que los hospedadores (tanto silvestres como domésticos) y las variantes topoclimáticas suponen más de un 80 % de influencia en la presencia de *C. imicola*. Además, realizan una predicción de cambio de la población de este vector debido a la variación de la climatología, dándose un aumento en su población, favoreciéndose de este modo la transmisión de los arbovirus. En este sentido se ha determinado que, en zonas del sur de Europa, donde *C. imicola* es el principal vector de la LA, la posibilidad de transmisión se reduce drásticamente a temperaturas inferiores a 21°C, mientras que en Centro Europa esta reducción se produce a temperaturas inferiores a 15°C, debido a la mayor resistencia al frío de *C. obsoletus* (Napp *et al.*, 2016). Situándose la temperatura óptima de transmisión de esta enfermedad en Europa entre 15-25°C (Gubbins *et al.*, 2008).

Por tanto, la transmisión de la LA puede diferir entre áreas dependiendo de, por ejemplo, los serotipos virales involucrados, las diferencias entre vectores, así como la competencia entre las especies de *Culicoides*, entre poblaciones de la misma especie de este género, o incluso las diferencias en las condiciones climáticas que determinan si el período de incubación del virus puede ser completado dentro del tiempo de vida del vector (Calvete *et al.*, 2008a).

Otros estudios como el de Peters *et al.* (2011) o más recientemente el de Ducheyne *et al.* (2013) también proponen que los factores de influencia de los vectores de la LA, cómo pueden ser las precipitaciones, la densidad de hospedadores o la vegetación, van a permitir estimar el riesgo de aparición de esta enfermedad. En relación a este riesgo, se ha determinado que resulta más efectivo unir los factores ambientales y la distancia a zonas de brotes anteriores (Peters *et al.*, 2014).

Además, se ha podido determinar que además de actuar como vectores, los *Culicoides* juegan un importante papel a la hora de inmunomodular la respuesta inmune del hospedador para favorecer de este modo el desarrollo de la enfermedad (Pagès *et al.*, 2014). Demostrándose que los anticoagulantes y saliva producida por los *Culicoides* al picar reducen la respuesta de los linfocitos y la producción de ácido nítrico por parte de los macrófagos (Bishop *et al.*, 2006). Además, se ha determinado que los virus de LA producidos *in vitro* en células de insecto han resultados más infectantes que los producidos en células de mamífero (Moulin *et al.*, 2012).

Métodos de control de la lengua azul.

El control de la lengua azul es un campo ampliamente estudiado. A continuación se detallan las diferentes estrategias que se utilizan, basándonos en la clasificación que nos indican Maclachlan and Mayo (2013):

Vacunación.

La vacunación es actualmente la principal respuesta en la mayoría de las situaciones de riesgo en países a cualquier brote de LA. La vacunación, sin embargo, puede ser problemática dada la pluralidad de serotipos de LA, junto con la aparente inmunidad específica de serotipo en el ganado (Alpar *et al.*, 2009; Noad and Roy, 2009; Zientara *et al.*, 2010). Por lo tanto, vacunas potencialmente eficaces deben ser desarrolladas frente a los 26 serotipos reconocidos actualmente de LA. Además, hay una falta evidente de opciones en términos de vacunas comerciales disponibles en la actualidad contra la enfermedad. Las vacunas vivas atenuadas (virus vivo modificado o MLV), son rutinariamente usadas para prevenir la LA entre las ovejas

en EE.UU., Sudáfrica e Israel, y utilizada para la vacunación obligatoria de ganado vacuno y ovino en Italia después de la incursión de LA en el país en 1999 (Calistri *et al.*, 2004). Los virus de la vacuna MLV tienen en contra que pueden ser adquiridos y transmitidos por insectos vectores y, circular entre las cepas de virus naturales, pudiéndose además recombinar con segmentos de genes de estos virus para generar una nueva progenie (Osburn *et al.*, 1996; Ferrari *et al.*, 2005; Batten *et al.*, 2008). Además, los virus de vacunas MLV también tienen la capacidad para cruzar la placenta e infectar al feto (Schultz and DeLay, 1955; Flanagan and Johnson, 1995; MacLachlan *et al.*, 2000; Maclachlan and Osburn, 2008; Savini *et al.*, 2014).

Medidas de protección de la zona de vivienda ganadera y restricciones de movimiento y el sacrificio.

Como ya se ha comentado, la mayoría de los casos de LA se producen normalmente en el final del verano y otoño en las áreas templadas.

Los agricultores sudafricanos llegaron a la conclusión que minimizar la exposición de ovejas a los insectos durante este periodo era un método eficaz para reducir su impacto (Spreull, 1905; Nevill, 1971; Verwoerd, 2012).

Por tanto, las estrategias de control de las enfermedades fueron aceptadas como beneficiosas, incluyendo la estabulación de los animales por la noche, la adición de unas cabezas de ganado vacuno a rebaños de ovejas, con base en la percepción de que el insecto vector tiene preferencia para alimentarse del vacuno en lugar del ovino, y la reubicación de ovejas susceptibles en las zonas menos adecuadas para los insectos vectores de la enfermedad. Hay que tener en cuenta que estas estrategias se desarrollaron mucho antes de que fuera determinado y demostrado definitivamente que el vector principal de LA en el sur de África era un mosquito del género *Culicoides*, específicamente *C. imicola*. Las mismas estrategias de control fueron adoptadas posteriormente en otras áreas del mundo en las que la enfermedad fue detectada más tarde. Sin embargo, debido a que el comportamiento de *C. imicola* puede ser bastante diferente de la de otras especies de vectores que habitan otros sistemas epidemiológicos, la utilidad de tales estrategias de gestión puede no ser la misma, ya que es totalmente dependiente de la alimentación y del comportamiento de la especie residente en cada ecosistema.

Las restricciones de movimientos de animales también se consideran fundamentales para el control de los brotes de LA, aunque hay que destacar que estos pueden ser logísticamente desafiantes y económicamente devastadores (Papadopoulos *et al.*, 2009). Durante la epizootia de la LA en Italia, por ejemplo, la imposición de restricciones a la circulación (trashumancia) de ganado de Cerdeña

a la Toscana dio lugar a disturbios sociales y un fuerte malestar que sólo se resolvió por una campaña coordinada de vacunación masiva junto con el desarrollo de una legislación de emergencia para permitir el movimiento del ganado vacunado (Giovannini *et al.*, 2004).

Orientación al control de etapas de la vida inmaduras de *Culicoides*.

El control de las etapas de la vida inmadura en los *Culicoides*, como por ejemplo las larvas, se puede utilizar para reducir las poblaciones de mosquitos adultos a nivel local, disponiéndose de datos que indican una reducción del número de adultos, pero existen pocos datos en relación con el efecto que tiene en la reducción de la transmisión de la LA a la ganadería. Tales estrategias de control, en muchos casos, se basan en reducir o eliminar el hábitat donde crían estos mosquitos, drenando zonas encharcadas como pequeños pantanos, lagunas de aguas residuales o charcos de agua (Mullens and Rodriguez, 1989; Carpenter *et al.*, 2008). Una estrategia similar se utilizó previamente para controlar las poblaciones de *C. furens* en las zonas de marisma de Florida y el Caribe (Linley *et al.*, 1970). Otras estrategias de control que se dirigen a los estadios larvarios del vector incluyen el uso de insecticidas organoclorados, organofosforados o piretroides (Holbrook, 1986). Sin embargo, su eficacia requiere una amplia aplicación, limitando la utilidad de esta estrategia, a lo que hay que sumar las preocupaciones con respecto a los potenciales daños ambientales de este tipo de enfoque. Por estas razones, existe un mayor interés en los métodos alternativos de control de vectores, como el uso de pesticidas que utilizan agentes hormonales o microbiológicos para limitar el desarrollo de estos mosquitos, tales como bacterias (por ejemplo, *Bacillus thuringiensis*) virus, y hongos (*Lagenidium giganteum*, *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana*) (Apperson and Yows, 1976; Kelson *et al.*, 1980; Wirth, 1980; Kline *et al.*, 1985; Paine and Mullens, 1994; Wright and Easton, 1996; Mullens *et al.*, 1999; Narladkar *et al.*, 2015). Hasta la fecha, aunque estos agentes y estrategias han demostrado ser eficaces en el laboratorio, su utilidad para una aplicación más amplia en el campo permanece en gran parte desconocida.

Focalización del control en *Culicoides* maduros.

Los insecticidas se pueden utilizar para reducir las poblaciones de estos vectores y reducir así el riesgo de transmisión del virus de la LA. Sin embargo, teniendo en cuenta lo amplias que serían las zonas en cuestión y la probabilidad de la exposición humana, las estrategias de pulverización análogas a las utilizadas para reducir las poblaciones de mosquitos durante los brotes humanos de enfermedades causadas por arbovirus, no son realistas ni éticas para el caso de una enfermedad no zoonótica, como la LA (Lucientes and Alarcón-Elbal, 2016). No obstante, sí pueden ser usadas para reducir la tasa de contagio en la entrada de la infección,

como se probó en países como España, Italia y Grecia. Los insecticidas se pueden utilizar, al menos temporalmente, para proteger a personas o grupos de animales contra ataques por vectores. Además está indicado el uso de redes impregnadas con insecticida para ayudar a proteger el ganado estabulado contra el ataque de los mosquitos adultos (Porter, 1959; Jamnback, 1963). En este sentido, Calvete *et al.* (2010) demuestran que la presencia de *C. imicola* es muy inferior con el uso de redes tratadas con insecticida que en redes sin insecticida. Más recientemente, Del Río *et al.* (2014) realizan un experimento similar utilizando una red impregnada con cipermetrina, que también muestra gran efectividad en el control de los *Culicoides* matando la mayoría de dípteros que entran en contacto con ésta. Si bien es cierto, que otros estudios están demostrando cierta resistencia de estos dípteros frente a algunos insecticidas (De Keyser *et al.*, 2017). Una variedad de compuestos utilizados para controlar tanto ecto y endoparásitos de ganado tienen eficacia potencial contra *Culicoides*. Estos incluyen la administración tópica de productos *Pour-On*, marcas auriculares, impregnación o inmersión de animales en compuestos piretroides sintéticos u organofosforados, etc. (Mullens *et al.*, 2001; Carpenter *et al.*, 2007). La eficacia de la administración sistémica (inyectable) con productos tales como las lactonas macrocíclicas (avermectinas) no se han evaluado adecuadamente, pero es poco probable que sean útiles en la reducción de las poblaciones de *Culicoides* (Standfast *et al.*, 1984; Holbrook and Mullens, 1994). Ciertos atrayentes también han sido evaluados como señuelos para atraer a los *Culicoides* artificialmente y, por lo tanto, reducir la tasa de infección entre los animales. Varios compuestos, como p-menthane-3,8-diol, N, N-dietil-metilbenzamida, DEET y KBR2023, han demostrado eficacia como repelentes y para reducir las tasas de picadura a los seres humanos. Sin embargo, su uso en el ganado es complicado y limitado ya que su aplicación diaria resulta tediosa, combinado además con la escasa información disponible sobre el tiempo de espera para los ingredientes activos que se absorben rápidamente través de la piel (Trigg, 1996; Carpenter *et al.*, 2005). La utilidad de los atrayentes de insectos incluyendo señales químicas (es decir, 1-octen-3-ol, 3-n-propil-fenol, 4-metilfenol) permanece en gran parte sin explorar. Aunque los estudios en Florida y Escocia sugieren que la captura utilizando atrayentes de insectos pueden reducir las poblaciones de *Culicoides*, no hay datos disponibles que demuestren que esta estrategia tiene un impacto significativo en los índices de picadura de animales o virus de transmisión (Blackwell, 2001; Cilek *et al.*, 2003).

Otras estrategias posibles para reducir las tasas de picadura en el ganado incluyen la captura de adultos de *Culicoides* o el uso de animales señuelo (Du Toit, 1962; Nevill, 1978). En el mismo contexto que el uso de atrayentes y repelentes sintéticos, se ha recomendado que el vacuno, que son generalmente resistentes a la LA, se coloque en los pastos con ovejas para actuar como 'hospedadores señuelo'

para reducir la incidencia de la enfermedad en esta última especie. Si bien, esto puede ser algo eficaz para reducir la transmisión de la LA a las ovejas por *C. imicola*, cada vez es más evidente que muchas especies de *Culicoides* son oportunistas, de modo que el aumento de la densidad de animales en una granja también podría aumentar la población de vectores y así aumentar el riesgo a toda la población animal (Martínez-de la Puente *et al.*, 2012; Santiago-Alarcón *et al.*, 2012). Además, se ha determinado que el ganado vacuno podría servir como hospedador amplificador del virus de la LA a los ovinos (Spreull, 1905; Barratt-Boyes and MacLachlan, 1994; Verwoerd and Erasmus, 2004; Mayo *et al.*, 2012).

Peste Equina Africana.

La Peste equina africana es una enfermedad causada por un Orbivirus de la familia Reoviridae, habiéndose descrito un total de 7 serotipos con estrecha relación antigénica entre sí (Howell, 1962). No es una enfermedad de contagio directo, sino que es transmitida por mosquitos del género *Culicoides*, siendo considerado *C. imicola* como el principal vector de esta enfermedad (Meiswinkel *et al.*, 2000). Debido a esto, su aparición resulta estacional según las condiciones climáticas del área, apareciendo en España habitualmente desde mediados del verano hasta finales de otoño. Se piensa que este vector, debido al cambio climático, se extenderá hacia el norte y oeste de Europa, lo que hace estas zonas especialmente propensas a esta enfermedad (Guichard *et al.*, 2014).

La enfermedad se encuentra de forma endémica en la zona del África Subsahariana, si bien en ciertas ocasiones se ha descrito fuera de estas áreas, como en el Magreb, península ibérica y Oriente Medio. Desde las zonas endémicas se extienden a la península ibérica y a la zona de Pakistán e India de forma epidémica (Mellor and Hamblin, 2004). De hecho, una serie de brotes que se produjeron en Marruecos en el año 1989, se transmitió como un brote epidémico a España (Zientara *et al.*, 1998). Las graves consecuencias económicas que tendría la expansión de esta enfermedad por Europa hace que la concienciación y toma de medidas frente a ésta sean elevadas (Gale *et al.*, 2010). En España, usando varios factores como son la densidad de población equina y la densidad y competencia entre las especies de *Culicoides*, han identificado como las zonas de mayor riesgo (sobre todo a finales del verano) la zona suroeste, central y baleares y las de menor riesgo, Castilla y León, La rioja y Galicia (Sánchez-Matamoros *et al.*, 2014).

En las zonas epidémicas, en muchas ocasiones se infectan cebras y asnos de modo inaparente, pero cuando afecta al caballo suele cursar de forma hiperaguda o aguda, con alteraciones respiratorias y circulatorias y con una tasa de mortalidad entorno al 90 %, según datos de la OIE (Oficina internacional de epizootias).

Revisión bibliográfica

En áreas endémicas se han empleado ampliamente vacunas polivalentes y monovalentes con virus vivo atenuado. En zonas libres de la enfermedad se recomienda la cuarentena y vigilancia serológica, así como el control de vectores.

Es conveniente realizar los estudios entomológicos adecuados mediante la colocación de trampas que nos permitan conocer las especies de mosquitos que pueden transmitir la enfermedad y cuándo aparecen éstos en la región objeto de estudio.

Además, se recomienda el control de los vectores para impedir la diseminación del virus, como puede ser uso de insecticidas y larvicidas. En el movimiento de animales se recomienda la desinsectación en los transportes, y la estabulación de los animales desde el anochecer hasta el amanecer.

Enfermedad Hemorrágica Epizoótica.

La enfermedad epizoótica hemorrágica (EEH) de los ciervos es una enfermedad causada por un Orbivirus perteneciente a la familia Reoviridae que fue descrita por primera vez en 1955 en un ciervo de cola blanca (Shope *et al.*, 1955). Es de carácter infeccioso no contagioso de modo directo, estando su transmisión ligada a la presencia de diversas especies de mosquitos del género *Culicoides* entre las que podemos encontrar algunas especies como *C. imicola* o *C. nubeculosus* (Dik *et al.*, 2012). Se conocen 8 serotipos diferentes en el mundo (Anthony *et al.*, 2009a; b). Esta enfermedad está muy relacionada con la LA y está distribuida por la mayor parte del mundo (África, Australia, América y Asia) (Maclachlan and Osburn, 2004).

Debido a su patogenicidad y gran poder de transmisión/difusión, forma parte de las enfermedades de la Lista de la OIE y en la lista de enfermedades de declaración obligatoria de la Unión Europea.

En los últimos años, la EEH de los ciervos ha estado presente en poblaciones de ciervos de América del Norte y periódicamente ha causado problemas de epidemias en los mismos. Algunos de estos virus pueden llegar a causar problemas en ganado doméstico, aunque normalmente cursan de forma asintomática y raramente producen mortalidad, y suelen estar asociados a epidemias en animales silvestres.

Igualmente, en el año 2006 fue descrita su presencia en Marruecos, así como otros países del Magreb (Túnez, Argelia) y en Oriente medio (Israel), por lo que se trata de una enfermedad de gran riesgo de nueva introducción en España.

En los cérvidos, pueden diferenciarse la forma hiperaguda con fiebre, debilidad, inflamación de la lengua y conjuntiva; una forma aguda con hemorragias, salivación, descarga nasal y úlceras en lengua; y una forma crónica que desarrolla principalmente cojeras.

En los bovinos, la enfermedad de Ibakari en Japón (causada por el serotipo 2) (Kitano, 2004) se caracteriza por fiebre, anorexia y dificultad en la deglución. Las dificultades en la deglución están causadas por daño en los músculos estriados de la laringe, faringe, esófago y lengua y pueden originar deshidratación, emaciación y neumonía por aspiración. Alrededor de los labios y del rodete coronario pueden verse hemorragias, ulceraciones y erosiones y la piel puede estar engrosada y edematosa. También se han observado abortos y muertes perinatales.

Protozoos sanguíneos.

Los *Culicoides* son vectores biológicos de varios protozoos llamados Hemosporidios, que son parásitos sanguíneos de reptiles, aves y mamíferos.

Tres géneros transmitidos por *Culicoides* son: *Haemoproteus*, *Hepatocystis* y *Leucocytozoon*. La mayoría de las especies de protozoos aviares causan poco o ningún daño aparente a sus hospedadores. Los hemosporidios transmitidos por dípteros (sobre todo por culícidos del género *Culex*), están relacionados a los parásitos de la malaria (especies de *Plasmodium* sp.) con los que comparten un ciclo de vida y desarrollo parecido. Aunque estos hemosporidios también se han encontrado en *Culicoides*, parece que éstos no actúan como vectores sino simplemente como hospedadores de transporte (Santiago-Alarcón *et al.*, 2012).

En este sentido, cobra especial importancia *C. circumscriptus*, ya que tiene un comportamiento ornitófilo (Martínez-de la Puente *et al.*, 2009; Votýpka *et al.*, 2009; Pettersson *et al.*, 2013). Tiene una amplia distribución que cubre la mayor parte de Europa y el Norte de África, considerándose la especie ornitófila más abundantes en el sur de España (Pérez *et al.*, 2012). Sin embargo, también se ha comprobado que puede alimentarse de mamíferos, concretamente del ser humano, por lo que puede actuar en ciertos casos de vector entre especies (Slama *et al.*, 2015), llegándose incluso detectarse en dípteros de esta especie parásitos del género *Lehismania*, aunque su papel vector parece haber quedado descartado (Seblova *et al.*, 2012, 2014) o resta en estudio (Rebêlo *et al.*, 2016). Como ya se ha mencionado, actúa como vehiculador de diferentes parásitos de la sangre (Martínez-De La Puente *et al.*, 2011). De hecho, en un estudio realizado Ferraguti *et al.* (2013) hallaron un 13,4 % de las hembras con sangre capturadas en el Parque Nacional de Doñana (Andalucía) que portaban parásitos sanguíneos (*Haemoproteus* y *Plasmodium*). Estos resultados son similares a otros estudios realizados en el centro

peninsular, donde ven diferencias dependiendo de la especie de *Culicoides*, siendo *C. pictipennis* y *C. segnis*, donde mayor porcentaje de ejemplares parasitados se encontraron (7.9 % y 7.7 %, respectivamente) (Martínez-De La Puente *et al.*, 2011). Estos porcentajes, pueden estar influenciados por un mecanismo descrito recientemente, en el que las hembras infectadas con altas cargas de estos protozoos tenían una mortalidad temprana (Bukauskaitė *et al.*, 2016).

Con la excepción de *Haemoproteus kochi* que parasita monos del Viejo Mundo, y *Haemoproteus brayi* que parasita ardillas en Malasia, estos hemosporidios parasitan normalmente aves. *Haemoproteus melegridis* es un parásito de pavos silvestres y domésticos, pero se considera no patogénico y sólo en raras ocasiones causa estrés, anemia, pérdida de peso, inflamación del músculo cardíaco y esquelético, daño al hígado y bazo, y la condición de abandono y letargo característica de infecciones crónicas. Otras especies de *Culicoides* como *C. univittatus* y *C. festvipennis*, las cuales tienen un marcado carácter ornitófilo alimentándose en gran medida de aves de corral (Kitaoka and Morii, 1963) lo que las hace sospechosas de poder influir en la transmisión de *Leucocytozoon caulleryi*, la cual es la única especie del género *Leucocytozoon* que es transmitida por dípteros y se ha observado que causa daño significativo en la industria avícola de pollos de Japón y sudeste de Asia, donde se conoce como leucocytozoonosis aviar o enfermedad hemorrágica de Bangkok. Aunque el principal vector es considerado *Culicoides arakawae* que se cría en las charcas de producción de arroz.

Además de actuar como vectores de estos hemosporidios, se ha determinado que la picadura de *Culicoides* son un factor estresante para las aves (Martínez-De La Puente *et al.*, 2011) que puede tener incidencia en las diferentes etapas de producción de éstas y por tanto, las consecuentes pérdidas económicas.

Oncocercosis equina.

La oncocercosis equina está causada por el nematodo filarial, *Onchocerca cervicalis* que es el nematodo de mayor distribución transmitido a animales domésticos por un díptero. Los caballos son su único hospedador y aunque es de distribución global, los problemas principales se producen en EEUU y en Australia, donde causa dermatitis (oncocercosis cutánea equina). La prevalencia puede ser de hasta un 85 % en los caballos. Las larvas normalmente se encuentran en el ligamento de la nuca y cuello, y entre los hombros. Las microfilarias producidas por las hembras se mueven a la piel en donde son activas en el epitelio, generando una respuesta localizada de inflamación y prurito. Las concentraciones más altas están cerca de la parte ventral media del animal. La densidad de las microfilarias varía con la estación, estando más cerca de la piel durante el verano y

más profundo durante el invierno. Los caballos afectados por *Onchocerca cervicalis* desarrollan varios tipos de lesiones de la piel, incluyendo despigmentación, prurito, escamas y pérdida de pelo; lo que ocurre con frecuencia en la cara, ojos, pecho, la línea ventral, en donde las microfilarias son más abundantes. El diagnóstico se realiza mediante la detección de microfilarias por biopsia de la piel. Si el animal recibe tratamiento suele responder bastante bien, y se restablece con facilidad en varias semanas. *Culicoides variipennis* es el principal vector de *Onchocerca cervicalis* en EEUU. En Europa están relacionadas con la transmisión de este parásitos especies como *C. nubeculosus* o *C. parroti* (Linley, 1985; Jennings and Mellor, 1988).

Dermatitis alérgica equina.

Es la dermatitis pruriginosa más común del caballo. Está producida por picaduras de insectos, sobre todo mosquitos del género *Culicoides* y especies de moscas como *Stomoxys calcitrans*. El proceso está mediado por reacciones de hipersensibilidad de tipo I y de tipo IV frente a antígenos salivales de las especies nombradas.

Cursa con prurito intenso, estacional o permanente en climas cálidos. Los caballos afectados se mordisquean o rascan contra cualquier objeto, apareciendo lesiones pápulo-costrosas, erosiones, alopecias, liquenificación, alteraciones de la pigmentación, etc. El proceso empeora con la edad.

Tiene tres patrones de distribución:

1. Dorsal: cabeza, orejas, cuello, crinera, cruz, dorso, grupa y cola (cola de rata).
2. Ventral: extremidades, axilas, ingles, espacio intermandibular, tórax ventral y abdomen.
3. Mixto.

Es fundamental como prevención y tratamiento el control de insectos: estabulado a los animales al atardecer y al anochecer, colocando mallas finas en las ventanas, aplicando piretrinas sobre el animal y en las mallas, etc. Al inicio es conveniente tratar a los caballos con corticoides como antipruriginoso.

Virus de Schmallerberg.

El virus de Schmallerberg (SBV) es un miembro del género Orthobunyavirus identificado por primera vez en Renania del Norte (Westfalia, Alemania) durante el verano de 2011 (Hoffmann *et al.*, 2012). La infección con el SBV puede llevar a signos clínicos leves en adultos rumiantes, incluyendo fiebre, disminución de la producción de leche y diarrea (Davies *et al.*, 2012). El principal impacto económico del SBV, sin embargo, radica en las malformaciones congénitas graves que puede producir, como la artrogriposis e hidrocefalia, después de la transmisión transplacentaria en el ganado vacuno y ovino (Van den Brom *et al.*, 2012; Peperkamp *et al.*, 2014). Estudios filogenéticos iniciales han colocado al SBV en el serogrupo Simbu, compartiendo una estrecha relación a los virus Sathuperi y Douglas y, en segundo, lugar al virus de Shamonda e incluido en el mismo linaje que el virus Akabane (Saeed *et al.*, 2001; Goller *et al.*, 2012). Estos virus se han aislado principalmente en *Culicoides* (Doherty *et al.*, 1972; St George *et al.*, 1978; Lee, 1979; Cybinski, 1984; Blackburn *et al.*, 1985; Kurogi *et al.*, 1987; Yanase *et al.*, 2005) y más raramente en Culícidos (Dandawate *et al.*, 1969; Metselaar and Robin, 1976). La aparición de una forma similar al virus de la LA en el oeste y el norte Europa (Carpenter *et al.*, 2009) cuyo vector son *Culicoides*, llevó a una inmediata sospecha de que SBV también podría ser transmitido por mosquitos hembras de este mismo género.

Estos estudios asocian un extendido y abundante número de especies de *Culicoides* de zonas agrícolas en la transmisión del SBV, incluyendo *C. obsoletus*, *C. scoticus*, *C. dewulfi* y *C. chiopterus*. Se piensa incluso que puede producirse una transmisión transovárica, al encontrarse hembras nulíparas infectadas con este virus (Larska *et al.*, 2013).

Entre 2011 y 2013, la SBV se ha extendido por una enorme área geográfica de Europa a un ritmo sustancialmente superior que el de la epidemia de LA por el serotipo 8, que se produjo en la misma región entre 2006 y 2010. La distribución actual del SBV va desde el Mediterráneo hasta las regiones escandinavas, y desde Irlanda a Estonia. La tasa de seroconversión registrada en muchas granjas es rápida (Elbers *et al.*, 2012; Méroc *et al.*, 2013), con una alta proporción de los rumiantes que se infectaron en un corto período de tiempo. A pesar de esto en el año 2015 ya hay países como Inglaterra que pueden considerarse libres de enfermedad (Stokes *et al.*, 2016).

En diferentes trabajos realizados en Países Bajos (Elbers *et al.*, 2013), Bélgica (De Regge *et al.*, 2012), Italia (Goffredo *et al.*, 2013), Polonia (Larska *et al.*, 2013), Francia (Balenghien *et al.*, 2014) y Alemania (Kameke *et al.*, 2017) se confirmó el papel de *C. obsoletus* como vector altamente probable de la SBV en Europa.

2.1.2 Dípteros: Moscas necrófagas.

2.1.2.1 Características.

Familia Calliphoridae.

La familia Calliphoridae, perteneciente a la Superfamilia Oestroidea, Infraorden Muscomorpha, Suborden Brachycera y Orden Díptera (ver página 26 (NCBI, 2017)), es un grupo muy abundante de insectos presentes en todos los continentes y latitudes (como *P. terraenovae* que es capaz de soportar las condiciones ambientales del Círculo Polar Ártico).

Los califóridos son dípteros de tamaño mediano o grande, cuyas especies más conocidas son frecuentemente de colores metálicos. Son fundamentalmente necrófagos y saprófagos pudiendo actuar también como coprófagos (Martínez-Sánchez *et al.*, 1998). Incluso *Stomorphina lunata* es considerada como un parásito de nidos de hormigas (Bharti and Bharti, 2016), encontrándose los adultos principalmente en la vegetación, concretamente en las flores (González-Mora and Peris, 1988). Las hembras realizan una selección para ovopositar en lugares que más tarde proporcionarán el alimento a las larvas, como en el interior de carne fresca, algunos tipos de heces e incluso en heridas de mamíferos, produciendo miasis facultativas. Las miasis generan una intensa destrucción tisular, dando lugar a una disminución de la producción de carne, leche, lana, pérdida de la capacidad reproductiva de los hospedadores y, si no es tratada a tiempo, puede provocar incluso la muerte del hospedador originada por una septicemia secundaria.

En contraste, es posible la utilización controlada de las larvas en medicina humana (terapia larvaria) llegando a ser muy beneficiosa (Fleischmann *et al.*, 2003).

Las especies de la familia Calliphoridae son importantes componentes de los ecosistemas, ya que su presencia favorece el proceso de descomposición, así como la polinización de ciertas especies vegetales (Pérez-Bañón *et al.*, 2003). También destaca su papel como bioindicadores del estado de conservación de los hábitats (Nuorteva, 1971) o como evidencias entomológicas en la entomología forense (Velásquez *et al.*, 2010), siendo considerados una familia de hábitos principalmente diurnos y con poca actividad nocturna (Payne, 1965; Anderson, 1999, 2001). Sin embargo, Wooldridge *et al.* (2007) estudiando las especies *L. sericata* y *C. vomitoria*, llegan a la conclusión de que no se puede excluir la posibilidad de una ovoposición nocturna, especialmente en noches de luna llena, aunque la posibilidad de un vuelo orientado en estas condiciones parece bastante remota. Esta ovoposición nocturna ha quedado demostrada recientemente en el hemisferio sur

(Williams *et al.*, 2017) por diferentes especies de esta familia, por lo que debe ser un factor a tener en cuenta.

Las hembras de los dípteros de esta familia muestran una clara atracción por la materia orgánica en descomposición que es donde van a alimentarse y depositar sus huevos, pero no así los machos quienes normalmente se sitúan en zonas de vegetación cercana donde esperan a las hembras (Stoffolano *et al.*, 1995).

En lo referente a su ciclo biológico, la hembra necesita la ingesta de proteínas para la maduración de los ovarios (Harlow, 1956; Stoffolano *et al.*, 1990). Tras la cópula y fecundación, comienza la embriogénesis. Los huevos tienen un tamaño aproximado de 1,5 mm x 0,4 mm, son amarillentos o blancos (Figura 13).

Cada hembra suele poner entre 150-200 huevos, y hasta 2000 huevos durante toda su vida. Desde el huevo hasta la primera fase larvaria suelen pasar entre 8 y 24 horas. A partir de aquí, comienza la fase larvaria, que pasa por tres estadios (L1, L2 y L3). Las larvas suelen permanecer en el sustrato de cría entre 3 y 19 días, dependiendo de la cantidad de materia orgánica disponible, temperatura, competencia con otras larvas y la disponibilidad de humedad (Rivers *et al.*, 2013). Las características morfológicas larvarias de especies de califóridos y de otros dípteros quedan recogidas en el trabajo de Velásquez *et al.* (2010), de la península ibérica.

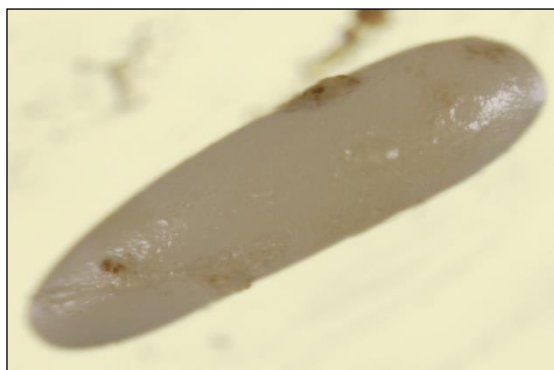


Figura 13. Huevo de califórido. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

Tras el desarrollo larvario, se entierran en el suelo y forma la pupa, completando su metamorfosis en 3-7 días (Figura 14). Tras ello, se produce la emergencia del imago, que tarda de 24-36 horas en tener una cutícula completamente esclerotizada. El imago o adulto suele tener una vida media de un mes (Figura 15).

La fase de pupa supone la mejor adaptación a las condiciones adversas, y algunas especies pueden permanecer en esta etapa entre 2 y 8 meses (diapausa),

hasta que las condiciones ambientales sean favorables para su emergencia (Ternovoy, 1982).



Figura 14. Pupa de un califórido. Fuente: Blanco-Ciudad, J.



Figura 15. Adulto de califórido. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

La mayoría de dípteros de esta familia se ha determinado que tienen una tendencia positiva hacia la temperatura y humedad relativa, aunque también se ha determinado que a finales de primavera y a lo largo del verano, cuando la humedad relativa es similar o incluso si esta descende, a una mayor temperatura también sigue aumentando el número de dípteros capturados, excepto en algunas especies como *C. vicina* (Azevedo and Krüger, 2013).

Género *Lucilia*.

Las especies de este género citadas en Extremadura son las siguientes:

Lucilia sericata (Meigen, 1826).

Especie cosmopolita. En la península ibérica está ampliamente distribuida (Peris and González-Mora, 1991), siendo uno de los califóridos más comunes en zonas de vegetación con porte no arbóreo y en medios antropizados (Baumgartner and Greenberg, 1985; Fremdt and Amendt, 2014).

En la zona sudeste de la península ibérica, esta especie es la más abundante durante la primavera en la comunidad sarcosaprófaga, siendo capturada en el cuarto día de exposición del cebo (Arnaldos *et al.*, 2001). Sin embargo en zonas más frías, como en la provincia de Salamanca, la actividad máxima de imagos se centra en los meses de verano, entre temperaturas medias de 17-20°C (Martínez-Sánchez *et al.*, 2000b). En otro estudio en el sudeste de España, Martínez-Sánchez (2003) indica que esta especie presenta actividad imaginal prácticamente durante todos los meses, con máximos poblacionales durante la primavera y principios de verano, coincidiendo con temperaturas máximas superiores a 30°C y mínimas, en la mayoría de los casos, superiores a los 20°C. Los meses de actividad de esta especie

son los más calurosos y secos del año, coincidiendo con el final de las lluvias primaverales. Es por tanto una especie de carácter marcadamente termófilo.

Es de gran interés en la entomología forense, ya que junto con el género *Calliphora*, son los primeros en llegar al cadáver en el sur de Europa y por tanto, son muy interesantes a la hora de determinar el periodo de intervalo postmortem (PMI) (Introna *et al.*, 1998). En concreto, la especie *Lucilia sericata* es una de las primeras en llegar (Denno and Cothran, 1975; Easton and Feir, 1991; Fisher *et al.*, 1998) siendo por tanto, uno de los indicadores más fiables a la hora de determinar la hora de la muerte (Nuorteva, 1977). La forma más común de realizar esta determinación era matando las larvas encontradas en el cadáver y comparando el crecimiento con otras criadas en laboratorio (Williams and Richardson, 1984; Anderson, 2000; Grassberger and Reiter, 2001; Grassberger *et al.*, 2003). Estudios posteriores, exponen que el tiempo de desarrollo de las larvas de *L. sericata* depende del tejido en que éstas se estén desarrollando y por tanto, esto también sería un factor a tener en cuenta a la hora de no cometer error al determinar el PMI (El-Moaty and Kheirallah, 2013), así como del lugar donde se encuentre el cadáver, el cual influirá sobre el tiempo postalimentación o etapa errante (Mai and Amendt, 2012).

Los adultos presentan hábitos alimenticios saprófagos, frugívoros, necrófagos, florícolas y ocasionalmente coprófagos (Seguy, 1928). Las hembras ponen los huevos sobre carne, aunque en ocasiones ponen huevos sobre las heridas de animales vivos produciendo miasis, o bien sobre miasis ya establecidas por otras especies de dípteros, por lo que se las puede catalogar como miásicas facultativas (Figura 16).

La puesta es en grupos de entre 200 y 500 huevos. La larva emerge tras 12 horas y se alimenta del tejido y secreciones, completando así su desarrollo, independientemente de los cambios de temperatura. Una vez alcanzado el estadio 3, la larva se dirige al suelo enterrándose entre 15-30 cm para formar la pupa. Este desarrollo está muy estudiado principalmente debido a su importancia en la entomología forense. La temporalidad va a depender de varios factores, siendo el más importante y estudiado la temperatura (Grassberger and Reiter, 2001), si bien, se ha observado que no existe desarrollo de esta especie a temperaturas superiores a 35°C (Wall *et al.*, 2001).

L. sericata puede ser atacada por otros califóridos depredadores como *Chrysomya rufifacies* y *Ch. albiceps* (Omar, 1995).

L. sericata es el principal agente de miasis cutánea en el ganado ovino de la Europa septentrional (Wall *et al.*, 1992) y en algunas partes del hemisferio sur

(Mackerras *et al.*, 1936) estando ampliamente distribuida por la mayoría de las zonas ganaderas (Greenberg and Povolny, 1971; Smith, 1986; Spradbery, 1991), habiéndose encontrado además, mayor viabilidad en larvas de esta especie provenientes del Reino Unido que de ejemplares capturados en España (Martínez-Sánchez *et al.*, 2007). Sus larvas han sido citadas en heridas de animales domésticos y silvestres (Pariante-Palomino, 2009), además de en el hombre (Nielsen, 1993), siendo considerado como uno de los agentes productores más importantes en mascotas en Corea (Choe *et al.*, 2016). A pesar de todos los perjuicios sanitarios y económicos que origina su actividad como productora de miasis, en 1934 Stewart (Stewart, 1934) citó sus efectos beneficiosos en el tratamiento contra la osteomielitis, ya que sus larvas eliminan el tejido necrosado desinfectando de este modo las heridas, gracias a una serie de proteínas anti agregados (Rivers *et al.*, 2010) y a la secreción de sustancias antimicrobianas efectivas frente algunas bacterias Gram-positivas y Gram-negativas (Hassan *et al.*, 2016). También han sido utilizadas sus larvas para tratar llagas de difícil curación (Fleischmann, 2004).



Figura 16. *Lucilia sericata*. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

Existen otras especies dentro del género *Lucilia* también citadas en España, pero de menor importancia, como por ejemplo, *Lucilia caesar* distribuida principalmente en zonas boscosas en el oeste de España (Martínez-Sánchez *et al.*, 2000a), *Lucilia illustris* cuyo hábitat son zonas de abundante vegetación (Macleod and Donnelly, 1957), siendo ambas consideradas como indicadores del medio rural (Fremdt and Amendt, 2014), y *Lucilia ampullacea* (Villeneuve, 1922) que se distribuye por una amplia variedad de hábitats (Nuorteva, 1963, 1966; Davies, 1999) (Figura 17 y Figura 18). En cuanto a la temperatura de desarrollo de

Lucilia illustris, se ha determinado que esta especie es capaz de cerrar su ciclo a una temperatura entre 15 y 32,5°C, siendo incapaz de hacerlo a 35°C (Wang *et al.*, 2016).



Figura 17. *Lucilia caesar*. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

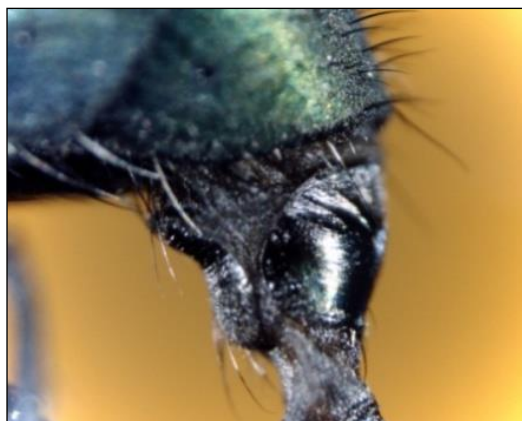


Figura 18. Detalle del 6º terguito de *L. caesar*. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

Género *Calliphora*.

Calliphora vicina (Robineau-Desvoidy, 1830).

Especie originaria de la región holártica, aunque actualmente se considera cosmopolita (Davies, 1990) siendo un indicador de bajas temperaturas (Fremdt and Amendt, 2014). Se encuentra en toda la península ibérica, siendo más abundante que su congénere *Calliphora vomitoria* (González-Mora, 1989).

En la península ibérica la actividad de los imagos de *C. vicina* presenta un patrón bimodal, con máximos poblacionales en septiembre y junio, siendo mayor el máximo poblacional detectado en primavera (Hernández-Moreno, 1998; Martínez-Sánchez *et al.*, 2000b).

La distribución geográfica del género *Calliphora* nos indica su capacidad de adaptación al frío, de tal forma, que en el sudeste ibérico esta especie muestra actividad durante prácticamente todo el año, con un máximo en el mes de febrero y no capturándose en verano (Martínez-Sánchez, 2003).

La ovoposición se realiza en grupos de unos 180 huevos. Una vez que la larva alcanza el estadio 3, se entierra bajo tierra para formar la pupa, aunque pueden llegar a pupar en la propia fuente de alimentación (Chernysh *et al.*, 1995).

Las larvas son necrófagas y saprófagas (Zumpt, 1965). Los imagos presentan las mismas preferencias tróficas que sus larvas, aunque también se alimentan del néctar de las flores de donde obtienen hidratos de carbono (Nuorteva, 1971).

C. vicina es una especie bastante común de ambientes urbanos (Hwang *et al.*, 2005) y semiurbanos, a diferencia de su congénere *C. vomitoria*, pudiendo llegar a introducirse en el interior de las casas y en ambiente rurales (González-Mora, 1989). Esta especie ha sido citada como causante de miasis facultativa en animales y en el hombre (Nielsen, 1993) (Figura 19 y Figura 20).



Figura 19. *Calliphora vicina*. Fuente: Blanco-Ciudad, J.



Figura 20. Detalle de las genas de *C. vicina*. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

Calliphora vomitoria (Linnaeus, 1758).

En España, se encuentra citada en casi todas las provincias españolas (González-Mora, 1989) (Figura 21 y Figura 22).

Presenta una biología muy similar a su congénere *C. vicina*, aunque prefiere hábitat menos antropizados (Nuorteva, 1963), pudiendo encontrarse en zonas boscosas (Macleod and Donnelly, 1957) y rurales (Fremdt and Amendt, 2014), en cadáveres de animales y en áreas urbanas alimentándose de basura (Rognes, 1991). Igual que *C. vicina*, es incapaz de desarrollarse a temperaturas superiores a 29 °C (Evans, 1936).

C. vomitoria presenta movimientos espaciales según la estación del año, como migraciones y desplazamientos altitudinales según el periodo del año. Presenta máximos poblacionales en primavera y otoño en zonas de veranos cálidos, mientras que en zonas más frías estos máximos tienden a unirse y limitarse a primavera (Cragg, 1955).

Revisión bibliográfica

En la mitad norte de la península ibérica vemos que los máximos poblacionales de esta especie se producen en primavera y otoño, siendo la actividad en esta última estación mucho menos acusada. Los imagos comienzan a detectarse después de las primeras lluvias de septiembre y de abril, como consecuencia del marcado carácter higrófilo de la especie (Martínez-Sánchez, 1997).

Sus larvas son utilizadas, junto con la de otros califóridos (como *L. sericata*), como cebo vivo para la pesca, y debido a esto, se han asociado a síntomas como asma y rinitis en pescadores o trabajadores que manipulan pescado capturado con dicho cebo (Siracusa *et al.*, 1994). Al igual que otros dípteros necrófagos, puede ocasionar miasis facultativa (Rognes, 1991).

Tanto *C. vomitoria* como *C. vicina* son muy utilizados en entomología forense sobre todo en las épocas frías cuando *L. sericata* y *Ch. albiceps* son menos abundantes (Sabanoğlu and Sert, 2010). Como característica diferenciante entre ambas especies en este ámbito es que *C. vicina* es capaz de colonizar cadáveres enterrados a 10 cm, mientras que *C. vomitoria* es capaz de colonizar cadáveres enterrados a una profundidad máxima de 5 cm (Gunn and Bird, 2011). Además se ha desarrollado un método para detectar en las larvas de *C. vomitoria* trazas de nicotina, lo que nos permite determinar si un cadáver ha sido envenenado por este producto (Magni *et al.*, 2016).



Figura 21. *Calliphora vomitoria*. Fuente: Blanco-Ciudad, J.



Figura 22. Detalle de las genas de *C. vomitoria*. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

Género *Chrysomya*.

Chrysomya albiceps (Wiedemann, 1819).

Especie ampliamente distribuida por la región paleártica occidental, siendo hasta hace poco la única especie del género que se encontraba en el continente europeo (Martínez-Sánchez *et al.*, 2000a) (Figura 23 y Figura 24). En España, ha sido citada en la mayor parte del territorio (Martínez-Sánchez *et al.*, 2002), debido a su gran capacidad de dispersión y a su asociación con las actividades y asentamientos humanos. En los últimos treinta años ha sido introducida en las Islas Canarias y Madeira (Hanski, 1977).

Chrysomya albiceps es potencialmente peligrosa en las nuevas zonas donde aparece por su capacidad para desplazar a las especies nativas con las que comparte el mismo nicho ecológico, debido a su carácter de depredador. Su presencia ha podido afectar a otras especies, como por ejemplo *Cochliomyia* (Peris, 1987).

Los adultos se alimentan de materia orgánica en descomposición, como pescado, hígado o fruta, aunque las hembras se sienten atraídas por la carne en putrefacción para favorecer la ovogénesis. Las larvas de primer y segundo estadio se alimentan de los exudados de la materia orgánica en descomposición, mientras que las de tercer estadio son depredadoras de otras larvas de dípteros, coleópteros, etc. (Guimarães *et al.*, 1978). De hecho, se ha determinado la preferencia en la ovoposición de otras especies de dípteros, como *L. eximia*, en cadáveres no invadidos por *Ch. albiceps* (Spindola *et al.*, 2017). Debido a esto, también es utilizada en entomología forense para determinar el PMI. Un factor a tener en cuenta que ha sido determinado en recientes estudios es que la presencia de cocaína aumenta y favorece el crecimiento de las larvas, reduciéndose el PMI en cadáveres con esta sustancia respecto a los cadáveres que no la tengan (De Carvalho *et al.*, 2012).

La duración del ciclo varía en función de las condiciones ambientales, aunque por norma general no suele exceder de los doce días, siendo su temperatura más adecuada 32°C (Queiroz, 1996), por lo que no se encuentra a más de 3325 metros en Perú. En el laboratorio se ha observado que *Ch. albiceps* es monegénica, desarrollando un único sexo de las larvas emergidas de una misma puesta.

Los máximos poblacionales se encuentran en los meses más calurosos del año, presentando por tanto un carácter termófilo (Martínez-Sánchez *et al.*, 2002). En el sudeste de España, se ha determinado que la actividad de esta especie se limita a los meses de verano y otoño presentando su máximo poblacional en septiembre (Martínez-Sánchez, 2003). Las larvas de *Ch. albiceps* están descritas como

productoras de miasis facultativas en el ganado de África y América (González-Mora and Peris, 1988).



Figura 23. *Chrysomya albiceps*. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

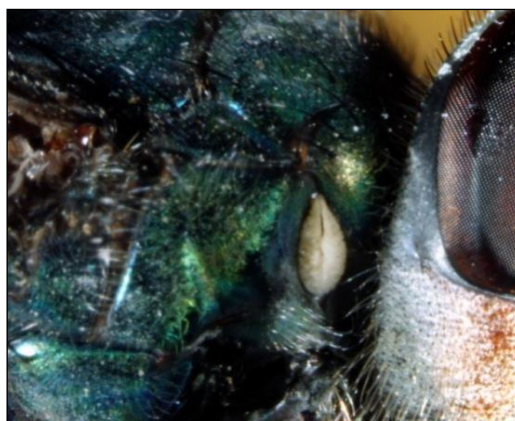


Figura 24. Espiráculo anterior de *Ch. albiceps*. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

Género *Protophormia*.

Esta especie será descrita en el ensayo experimental de ovino en el apartado 2.3.1 de la revisión bibliográfica.

Familia *Sarcophagidae*.

En cuanto a la familia Sarcophagidae, se debe tener en cuenta que las hembras adultas son vivíparas. Además, los sarcófagidos muestran gran diversidad de regímenes tróficos: coprofagia, depredación, miasis, parasitismo, necrofagia o saprofagia, aunque la mayoría de las especies de este género son necrófagas de pequeños cadáveres de vertebrados o insectos (Pape, 1996). Esta familia también es ampliamente utilizada en la entomología forense. En este sentido, es importante tener en cuenta que en esta familia se ha probado su capacidad de ovoposición nocturna (Singh and Bharti, 2008), aunque con menor probabilidad y menor número de larvas (Greenberg, 1990; Singh and Bharti, 2001). Además, es la segunda familia de dípteros en llegar al cadáver en el sur de Europa (después de los géneros *Lucilia* y *Calliphora*) (Introna *et al.*, 1998), siendo de gran importancia en las épocas más calurosas en los países centroeuropeos (Cherix *et al.*, 2012).

Los adultos son relativamente grandes, pudiendo llegar a medir 10-15 mm. El abdomen es largo, cónico y de coloración grisácea, con manchas negras similares a un tablero de ajedrez en el género *Sarcophaga* (Figura 46) y manchas negras fijas en los cuatro terguitos aparentes para el género *Wohlfahrtia* (Cordero del Campillo and Rojo, 1999) (Figura 47).

En estudios sobre la competencia larvaria, se ha observado que ésta aumenta en función del agotamiento del recurso nutricional. El mayor desarrollo de los ganchos bucales de los sarcófágidos determina el triunfo de éstos frente a las especies de otras familias, incluso cuando han sido los últimos en colonizar. En estudios realizados sobre agresión larvaria se ha observado que, en un substrato alimenticio pobre, las L1 de un sarcófágido agreden y dan muerte a las L3 de un califórido, aunque parece no existir agresividad larvaria intraespecífica (Cordero del Campillo and Rojo, 1999).

Wohlfahrtia magnifica está relacionada con climas templados y áridos. Presenta una marcada zoofilia, pero no suele invadir a animales que se encuentren en el interior de las poblaciones o de las casas, siendo la mosca típica del ambiente rural. Debido a la robustez de su aparato bucal, pueden ingerir líquidos y partículas en suspensión y raspar superficies con la ayuda de su aparato bucal. Su sentido del olfato está muy desarrollado, lo que le permite localizar fuentes de alimento a grandes distancias.

El ciclo del adulto es de unos 30-40 días. Copula una sola vez en la vida, ya que almacena el líquido seminal. Las hembras depositan las larvas en las heridas o cavidades naturales del hospedador, en un número de 30 o 40 por puesta. El desarrollo larvario dura de 15 a 20 días y la emergencia del pupario se produce a los 12-13 días.

En la península ibérica, hay adultos desde mayo hasta septiembre-octubre.

En la identificación taxonómica de los sarcófágidos, destacamos el codo que forma la vena M1 del ala, que está generalmente más cerca del ápice de la celda dm que del margen alar (Figura 25), mientras que en los califóridos el codo de la vena M1 generalmente está más cerca del margen alar que del ápice de la celda dm (Figura 26).

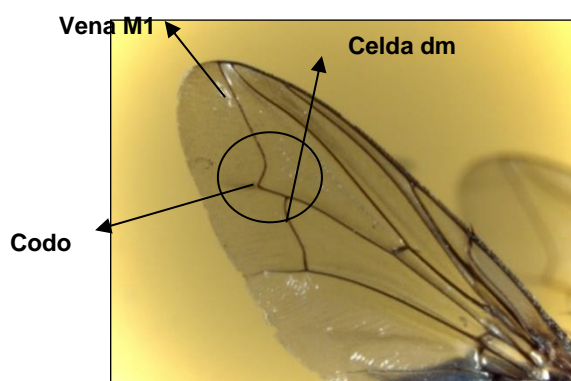


Figura 25. Detalle del ala de un sarcófágido. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

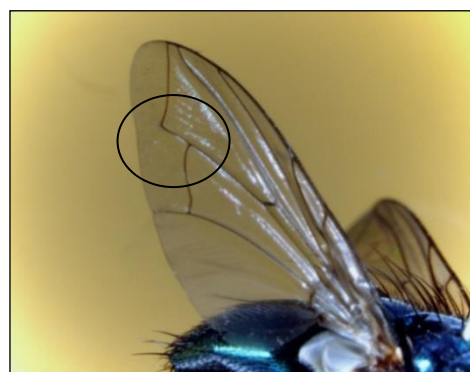


Figura 26. Detalle del ala de un califórido. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

Otras familias de moscas.

Además de los califóridos y los sarcófagidos existe una gran diversidad de dípteros necrófagos que viven en climas similares al extremeño. Entre tal cantidad de familias, podemos destacar algunas que son de interés, bien por su abundante presencia o porque tienen importancia desde el punto de vista de la Sanidad Animal. Así, podemos destacar a la familia Muscidae, familia Anthomyiidae, familia Scathophagidae y familia Fanniidae.

La familia Muscidae, muestra gran número de hábitos tróficos, siendo coprófagos, saprófagos, fumívoros, fitófagos o carnívoros, e incluso en algunos casos pueden producir miasis en humanos y otros vertebrados (Huckett and Vockeroth, 1987). Además, dentro de ésta, destaca la especie adaptada a los ambientes urbanos, *Musca domestica*, de amplia distribución mundial, exceptuando el Ártico, el Antártico y áreas de extrema altitud (Figura 27).



Figura 27. Ejemplar familia Muscidae. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

Presentan un ciclo biológico rápido. Una vez fecundada la hembra, ponen centenares de huevos, las primeras larvas emergen tras 24 horas de la puesta en condiciones ambientales óptimas (23°-30°C).

Las L3 tienen un tamaño de 10-15 mm de largo, las cuales se distinguen por la presencia de unas prominencias ambulatorias en la cara ventral de sus segmentos abdominales y por el aspecto de sus espiráculos post-abdominales provistos de tres ojales muy sinuosos (como una doble S).

En los países cálidos, los adultos están presentes durante todo el año y los ciclos se suceden, ininterrumpidamente, completándose en 2-3 semanas. En nuestro clima, los adultos solo están presentes durante los meses de primavera hasta comienzos de invierno (Gallego-Berenguer, 2007).

El resto de familias de dípteros que pueden hallarse en nuestras latitudes son de menor trascendencia y, como ya dijimos, algunas de las más representativas son

la familia Anthomyiidae (Figura 28), cuyas larvas presentan comportamientos tróficos muy diferentes, las hay fungívoras, fitófagas, fitosaprófagas, zoófagas, zoosaprófagas y coprófagas (Suwa and Darvas, 2000). La familia Fanniidae, cuyas larvas en general son saprófagas, pudiéndose alimentar de los microorganismos presentes en fuentes tróficas, como hifas y esporas de hongos o granos de polen; pero las principales asociaciones de los adultos se dan con refugios y nidos de mamíferos, aves e insectos (Pont, 1986). La familia Scathophagidae (Figura 29) y la familia Ulidiidae (Figura 30).



Figura 28. Vista lateral (izquierda) y dorsal (derecha) de un Anthomyiidae. Fuente: Blanco-Ciudad, J.



Figura 29. Vista lateral (izquierda) y dorsal (derecha) de un Scathophagidae. Fuente: Blanco-Ciudad, J.



Figura 30. Vista lateral (izquierda) y dorsal (derecha) de un Ulidiidae. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

2.1.2.2 Distribución geográfica.

Los dípteros de las familias Calliphoridae, Muscidae y Sarcophagidae, son los más abundantes a la hora de degradar la materia orgánica animal en los ecosistemas mediterráneos (Tantawi *et al.*, 1996; Castillo, 2002); considerándose quizás la familia Fanniidae la siguiente en importancia debido a su abundancia relativa (Arnaldos *et al.*, 2001), así como otras familias como la Anthomyiidae y otras mucho menos frecuentes (Castillo, 2002).

En la península ibérica, se han hecho diferentes estudios sobre estos dípteros y la temporalidad con la que nos los encontramos en las diferentes zonas geográficas.

Por ejemplo, en un estudio en el sudeste de España en dos puntos de muestreo diferentes Martínez-Sánchez (2003) utilizando Trampas WOT durante 72 horas por muestreo, nos indica que los califóridos, son los dípteros sarconécrofagos más abundantes tanto en la zona de Tabarca (80 %), como en la de Benidorm (60 %), seguidos por las Familias Sarcophagidae (11 %), Tachinidae (5 %) y Muscidae (3 %) en Tabarca, y por Anthomyiidae (25 %), Sarcophagidae (8 %), Muscidae (3 %) y Fanniidae (3 %), en el caso del islote de Benidorm. Dentro de la familia Calliphoridae, la especie más frecuente en Tabarca es *L. sericata* (77,29 %) seguido de *Ch. albiceps* (14,22 %) y *C. vicina* (7,64 %). En Benidorm los resultados son similares siendo la más frecuente *L. sericata* (54,27 %) seguido de *C. vicina* (28,82 %) y *Ch. albiceps* (12,54 %), también se han encontrado otras especies como *C. vomitoria*, *Stomorphina lunata* y otras del género *Pollenia*, pero en un número desdeñable. En algunos casos, como en el de este último género, esto es debido a que son mayoritariamente depredadores o parásitos de invertebrados (Martínez-Sánchez *et al.*, 1998).

Otro estudio en la misma zona (Velásquez *et al.*, 2011), realizado utilizando como medio de atracción un cadáver de cerdo durante 10 días en otoño, y recogiendo las larvas y las pupas cada 24 horas, indican que las especies más frecuentes con este método son *Ch. albiceps* (61,26 %), *L. sericata* (29,37 %) y *C. vicina* (8,95 %); capturando *Ch. megacephala* y *C. vomitoria* en escaso número. En invierno, sin embargo, solo se recogen *C. vicina* (96,3 %) y *C. vomitoria* (3,7 %). En un trabajo diferente en esta misma área geográfica (Velásquez *et al.*, 2015), se estudia, mediante el uso de trampas WOT, dos ecosistemas distintos (uno de pinar y una zona soleada de cultivo de almendros) durante el mes de junio, llegándose a la conclusión de que en ambos ecosistemas se encuentran ejemplares de *C. vicina*, *C. vomitoria*, *Ch. albiceps*, *L. caesar* y *L. sericata*.

Un ensayo anterior (Arnaldos *et al.*, 2001), también en la zona del sudeste, en este caso Murcia, usando un cadáver de pollo, evidencia que las cuatro familias de

dípteros necrófagos más numerosas son Calliphoridae (69.4 %), Muscidae (16.9 %), Sarcophagidae (7.3 %) y Fanniidae (6.3 %). En esta misma geografía, Arnaldos *et al.* (2005) sitúan a *L. sericata* como la especie más frecuente en verano, a *Ch. albiceps* en otoño y a *C. vicina* en invierno.

En el País Vasco también se realiza un estudio de dípteros de la familia Calliphoridae (Saloña Bordas *et al.*, 2009) utilizando trampas para dípteros necrófagos del modelo de Hwang and Turner (2005), durante 24-72 horas en 60 zonas geográficas durante un año. Obtienen un total de 44551 dípteros necrófagos de los cuales 25598 pertenecen a la familia Calliphoridae, lo que supone el 55 % del total capturado. Dentro de esta familia, el 69,54 % son hembras y las especies registradas son *Calliphora vicina* (37,22 %), *C. vomitoria* (26,17 %), *Lucilia caesar* (22,24 %), *L. ampullacea* (8,57 %), *L. illustris* (1,08 %), *L. sericata* (2,86 %), *L. cuprina* (0,25 %), *L. richardsii* (0,04 %), *L. silvarum* (0,07 %) y *Chrysomya albiceps* (1,47 %).

En Portugal, Prado e Castro *et al.* (2011), en este caso en el jardín botánico de Coímbra, plantean un ensayo utilizando como cebo cadáveres de cerdo durante los meses de mayo a septiembre para la atracción de imagos. Se identifican entre otras, las siguientes familias de dípteros necrófagos: Calliphoridae (27,78 %), Muscidae (37,54 %), Sarcophagidae (2,57 %) y Fanniidae (11,67 %). Además, dentro de la familia Calliphoridae se determina que el 71,11 % de los ejemplares eran hembras y se identifican las siguientes especies: *Calliphora vicina* (21,38 %) que aparece a partir del día 1 del ensayo, *C. vomitoria* (22,10 %) que aparece a partir del día 1 del ensayo, *Chrysomya albiceps* (29,79 %) que aparece a partir del día 3 del ensayo, *Lucilia ampullacea* (5,68 %) que aparece a partir del día 2 del ensayo, *L. caesar* (16,61 %) que aparece a partir del día 2 del ensayo, *L. illustris* (0,07 %) que aparece a partir del día 4 del ensayo, *L. sericata* (4,05 %) que aparece a partir del día 1 del ensayo, *L. silvarum* (0,07 %) que aparece a partir del día 6 del ensayo, *Pollenia* sp. (0,09 %) que aparece a partir del día 17 del ensayo, *P. terraenovae* (0,11 %) que aparece a partir del día 6 del ensayo y *Stomorphina lunata* (0,09 %) que aparece a partir del día 9 del ensayo.

En otro estudio más reciente en Portugal (Prado e Castro *et al.*, 2016), en el cual realizan un pequeño muestreo en la isla de Madeira, se detectan las siguientes especies de la familia Calliphoridae, *L. sericata* (76,60 %), *C. loewi* (3,03 %), *C. vicina* (12,33 %), *C. vomitoria* (0,21 %), *Ch. albiceps* (0,21 %), *P. rudis* (3,62 %) y *Stomorphina lunata* (5,11 %).

En Extremadura en una zona periurbana de la ciudad de Badajoz, Pérez-Bote *et al.* (2012) analiza la fauna de dípteros necrófagos, utilizando como atrayente un cadáver de cerdo para la captura tanto de imagos como de larvas durante los meses

de abril y mayo de 2009. Las familias más importantes de dípteros necrófagos son la Calliphoridae (63,58 %) cuyas especies más frecuentes son *L. sericata*, *Ch. albiceps* y *C. vicina*, la Muscidae (23,09 %), la Sarcophagidae (13,32 %) y en menor proporción la familia Fanniidae. En cuanto a la temporalidad de aparición en el cadáver, las especies *C. vicina* y *L. sericata* aparecen al momento de depositar el cebo y posteriormente la familia Sarcophagidae que aparece el día 2 y a ésta le sigue *Ch. albiceps* el día 3, *C. vomitoria* el día 4 y *L. caesar* el día 6.

Respecto a las zonas urbanas, Hwang and Turner (2005), estudian la fauna de dípteros necrófagos en Londres, determinase que la que la familia más frecuente de esta urbe es la Calliphoridae (78,6 %) y dentro de ésta la especie *C. vicina* (46,9 %). Además, el hábitat del centro de la ciudad estaba dominado por *C. vicina*, *L. illustris* y *L. sericata*, mientras que un hábitat de pastizales rurales estaba dominado por *L. caesar* y él de bosques rurales por *C. vomitoria*. Sin embargo, en un estudio en zonas de dehesa en la zona de Salamanca (Martínez-Sánchez *et al.*, 2000b), que normalmente son zonas poco antropizadas, podemos observar que la especie de la familia Calliphoridae más frecuente es *L. sericata* seguida de *Ch. albiceps* y en muy menor número *C. vicina* y *C. vomitoria*.

Los factores topoclimáticos que influyen de forma más importantes en la captura de dípteros necrófagos, descritos para diferentes especies, son la temperatura y la humedad relativa. En este sentido Azevedo and Krüger (2013), en un estudio realizado en Brasil, indican que la temperatura es un factor importante para *Ch. albiceps*, mientras que la humedad relativa lo es para *C. vicina*. No obstante, en otros estudios en esta misma zona (Ferraz *et al.*, 2010), destacan como factores determinantes la humedad relativa y las precipitaciones, no siéndolo la temperatura. Sin embargo, en otro trabajo en Tailandia (Klong-klaew *et al.*, 2014), correlacionan la presencia de especies de la familia Calliphoridae positivamente con la temperatura y las horas de luz y negativamente, aunque de un modo débil, con la humedad relativa.

2.1.2.3 Importancia.

Terapia Larvaria.

La técnica conocida como terapia larvaria (Weil *et al.*, 1933), desbridado mediante el uso de gusanos (Sherman *et al.*, 1996) o biocirugía (Church, 1995), es una técnica terapéutica que consiste en que larvas de mosca eliminan el tejido necrótico de las heridas facilitando así la curación de éstas. Las larvas que se utilizan son normalmente de especies productoras de miasis facultativas, como son las de la familia Calliphoridae, siendo la especie más utilizada *L. sericata* (Courtenay *et al.*,

2000). No obstante, otras especies como *L. cuprina* han demostrado ser también adecuadas para este tipo de tratamientos (Tantawi *et al.*, 2010) o incluso *P. terraenovae*, aunque un fallo en el proceso de desinfección de las larvas llevó a cambiar de especie (Nuesch *et al.*, 2002).

La asociación de larvas de dípteros con las heridas infectadas es muy antigua, datando el primer escrito en el que se hace referencia a este proceso en el antiguo testamento de la Biblia. De hecho, existen evidencias de que estas larvas se han usado durante miles de años por diferentes tribus y civilizaciones, como por ejemplo por los Mayas (Dunbar, 1944). De un modo más reciente, se comenzaron a usar gracias al cirujano francés Ambroise Pare (1510-1590) que notó los efectos beneficiosos de las larvas de mosca en las heridas, siendo posteriormente usadas en los ejércitos de Napoleón (Greenberg, 1973). En 1929, el cirujano francés William Baer reporta una serie de casos de osteomielitis tratados con larvas durante la primera Guerra Mundial, y además desarrolla una serie de técnicas para intentar esterilizar huevos para usarlos en las heridas. A partir de aquí, con el uso de los antibióticos la utilización de la terapia larvaria fue reduciéndose, hasta que en los años 90 Ronald Sherman y Edward Pechter (Pechter and Sherman, 1983; Sherman, 2000) reintroducen y promueven de nuevo esta técnica larvaria en USA, llegando a la conclusión de que era una terapia más efectiva y con un tiempo de curación más rápido que las terapias comúnmente utilizadas.

Los mecanismos de acción de las larvas frente al crecimiento bacteriano no están completamente estudiados, pero parece que están basados en la secreción de antimicrobianos (Pavillard and Wright, 1957) y la basificación del pH de la herida, lo que inhibe el crecimiento de las bacterias, habiéndose identificado entre ellos 3 tipos diferentes de proteasas (Valachova *et al.*, 2014) u otras sustancias como la Lucifensina (Cеровský *et al.*, 2010). Además, parece que las larvas se alimentan en parte de las bacterias con la consiguiente disminución de las mismas (Whitaker *et al.*, 2007). Por último, se ha detectado que las larvas segregan algunos agentes promotores del crecimiento (Prete, 1997) que pueden estar relacionado con la más rápida curación de las heridas.

Actualmente, la aplicación principal de la terapia larvaria es su utilización en heridas de difícil curación como son las úlceras de decúbito o diabéticas, las úlceras vasculares (Sherman *et al.*, 1996; Wayman *et al.*, 2000) o la osteomielitis. Además, también se utiliza como tratamiento de ciertos tipos de tumores o de infecciones fúngicas donde la intervención quirúrgica no sea posible (Seaquist *et al.*, 1983). Estando contraindicadas en infecciones en las que estén expuestos los órganos o los vasos sanguíneos.

En el futuro, el uso de la terapia larvaria puede ir extendiéndose dada su mayor aceptación en el ámbito médico, siendo, como ya se ha mencionado, el primer tratamiento de elección para las heridas de difícil curación y de gran interés para las infecciones por *S. aureus* resistentes a algunos antibióticos (Wolff and Hansson, 1999; Thomas *et al.*, 1999; Bonn, 2000).

A la hora de utilizar las larvas para realizar este tipo de terapias, éstas deben ser estériles utilizando diferentes técnicas, como puede ser la esterilización de los huevos usando una solución de glutaraldehído al 2 % (Dallavecchia *et al.*, 2014). La forma de aplicación de las larvas estériles es utilizando algo similar a un vendaje que lleva una protección para que las enzimas proteolíticas de las larvas no afecten a la piel sana. Éstas deben ser cubiertas con una almohadilla que permita perfectamente respirar a las larvas, nunca debiendo poner cinta adhesiva. Las larvas se exponen a la herida impidiendo que éstas abandonen la zona, desbridando y limpiando así la zona de la herida.

A pesar de los beneficios de esta terapia larvaria, hay autores que recomiendan que aquellas heridas que ya están contaminadas por larvas de dípteros silvestres, deberían ser eliminadas de la misma mediante técnicas de extracción poco invasivas como el uso de un absorbedor (Elder and Grover, 2013). No obstante, otros autores sí observan una mejora en la curación de dichas heridas infectadas por larvas de dípteros silvestres, por lo que no recomiendan su eliminación (Chan *et al.*, 2012).

Entomología forense.

Cientos de especies de artrópodos son atraídos por cuerpos muertos, principalmente moscas (Díptera) y escarabajos (Coleóptera), y sobre todo en cuerpos en avanzado estado de descomposición (Kulshrestha and Satpathy, 2001). Igualmente son atraídos gran cantidad de ácaros, nematodos, isópodos y opiliones. Estos animales se alimentan, viven o crían dependiendo de sus preferencias biológicas y del estado de descomposición (Megnin, 1894; Pietrusky and Leo, 1929; Heymons and von Lengerken, 1931; Abbott, 1937; Deonier, 1940).

En este sentido, cabe resaltar el importante papel que tienen los dípteros necrófagos a la hora de realizar el estudio forense. Para ello, incluso se han elaborado claves dicotómicas que nos permitan identificar morfológicamente las larvas de las principales especies de dípteros necrófagos presentes en España (Velásquez *et al.*, 2010).

El estudio de estas especies ha permitido, a lo largo de la historia, obtener información relativa a la fecha y data de la muerte o el lugar de ésta, siendo de enorme interés para la resolución de crímenes complicados. A la hora de realizar

este tipo de determinaciones, siempre se han de tener en cuenta todos los factores que afectan a la putrefacción, así como al desarrollo de los artrópodos que se van a estudiar, como son la temperatura, humedad, el tamaño del cuerpo (Sutherland *et al.*, 2013) o el acceso de los artrópodos al cuerpo (Mann *et al.*, 1990; Campobasso *et al.*, 2001).

Los primeros datos sobre el uso de la entomología forense para resolver un crimen proceden de China, del siglo XIII, por el abogado e investigador forense Sung Tzu en el texto legal Hsi yüan chi lu (como posible traducción “el lavado de los errores”) (Figura 31). En él, se narra un apuñalamiento en un campo de arroz y cómo pidiendo a todos los obreros que pusieran sus hoces sobre el suelo y viendo que las moscas solo acudían a una de ellas donde había rastros imperceptibles de sangre, resolvió el crimen (Benecke, 2001).

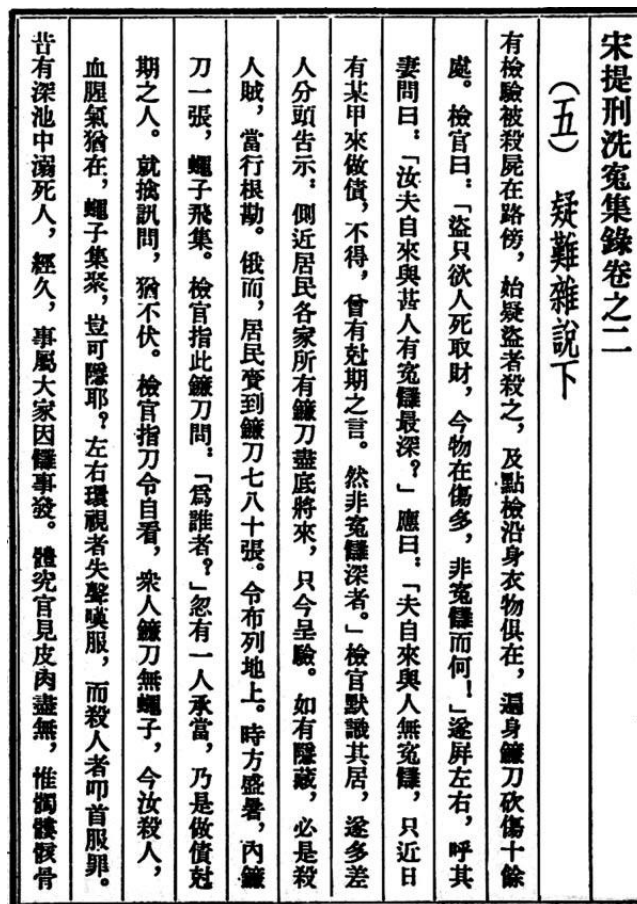


Figura 31. Capítulo 5 del libro de Sung Tzu donde utiliza los dípteros para descubrir la hoz de un asesinato en un campo de arroz. (Benecke, 1998).

En la actualidad, la entomología forense es la ciencia que aplica el conocimiento de los insectos (y otros artrópodos) a los procedimientos civiles y juicios penales. Esto es debido a que el estudio de la fauna de un cadáver es un método válido para establecer el tiempo de la muerte o intervalo postmortem (PMI),

y esto puede apoyar los análisis histológicos y químicos y ayudar a las investigaciones policiales. Por tanto, el objetivo principal de la entomología forense es establecer el PMI, es decir, el tiempo que ha transcurrido desde la muerte o, más exactamente, el tiempo que un cuerpo sin vida ha sido expuesto al medio ambiente. La mayor parte de la fauna de invertebrados que invade un cadáver son insectos, en su mayoría Díptera (larvas) y Coleóptera. Ellos se sienten atraídos de forma selectiva por la descomposición y se forman comunidades complejas dentro de especies necrófagas y sus depredadores, parásitos y parasitoides. Los cambios rápidos y continuos en la carroña, que puede considerarse un micro-ecosistema, no permiten que un estado de equilibrio se alcance entre las comunidades de animales hasta la descomposición. Existe, pues, una serie de sucesiones de fauna, que nos permite estimar cuándo (y quizás dónde) se produjo la muerte. La identificación de las especies, el conocimiento de sus parámetros y temporalidad de vida, la duración de cada etapa con temperaturas variables, y otros factores abióticos nos permiten establecer la PMI con gran precisión. La evaluación del PMI todavía se basa principalmente en las tablas de sucesión faunística en cadáveres humanos descritas por Megnin (1894) y Johnston and Villeneuve (1897) en el siglo XIX, con los cambios propuestos por investigaciones más recientes de otros autores, y con las variaciones necesarias de acuerdo a la región geográfica, latitud, ecosistema, clima, etc. Como ya se ha comentado, la fauna típica y, por lo tanto, las sucesiones de artrópodos en el cadáver, pueden variar entre dos regiones, y también las especies más extendidas pueden tener diferente temporalidad de vida de acuerdo con las tendencias ambientales. Por tanto, el estudio de estas diferentes poblaciones de fauna necrófagas puede, en muchos casos, proporcionarnos no solamente información sobre la temporalidad de la muerte, sino también valiosa información relativa a la localización de la zona geográfica donde se produjo la muerte.

Importancia médico-veterinaria.

La importancia de estos dípteros necrófagos tanto desde un punto de vista médico como veterinario, es como agente productor de miasis, que está ampliamente descrito en capítulos anteriores. A esta importancia como agentes miásicos, hay que unirle la importancia que tienen como vehiculadores de ciertos tipos de bacterias y otros agentes infectocontagiosos. Estudios realizados por Singh *et al.* (2015) consiguen determinar la fauna bacteriana más común, asociada a las especies *L. sericata* y *L. cuprina*, que podrían complicar los casos de miasis, así como crear graves problemas al aplicar la terapia larvarias a través de larvas no esterilizadas, llegando a producir incluso septicemia (Mumcuoglu *et al.*, 2001).

Otros estudios también nos indican que ciertas especies de dípteros necrófagos, pueden actuar como vectores de ciertos parásitos. De hecho, un estudio

realizado en Etiopía demostró que *Chrysomya rufifacies* actuó como un vector de al menos cinco helmintos parásitos, incluyendo *Ascaris lumbricoides*, y cuatro especies de parásitos protozoos: *Entamoeba histolytica/dispar*, *Entamoeba coli*, *Giardia lamblia* y *Cryptosporidium* sp. (Getachew *et al.*, 2007).

Incluso en el caso de dípteros de ambiente más antropogénico como es *Musca domestica* se han detectado parásitos animales como *Ascaris suum*, *Strongyloides ransomi*, *Metastrongylus* sp., especies del orden Strongylida e incluso ectoparásitos como *Haematopinus suis*. Estos fueron aislados en exoesqueleto e intestino de 224 imagos de esta especie capturados en una granja de cerdos en Alemania (Förster *et al.*, 2009).

Además, en un estudio realizado mediante la exposición de dípteros a heces humanas infectadas usando como vectores *Musca domestica*, *Chrysomya megacephala* y *Musca sorbens*, se llega a la conclusión que se encuentran huevos de *Ascaris lumbricoides* y *Trichuris trichiura* en el exoesqueleto y contenido intestinal de los dípteros 77,5 antes de eliminar las heces y 36,4 después de eliminarlas. Además, se encuentran huevos del género *Taenia* en el contenido de 3 dípteros de *C. megacephala*, lo que evidencia la capacidad vectorial que tienen estas especies de dípteros para parásitos zoonóticos.

Monzon *et al.* (1991) compararon el papel de *Musca domestica* y *Ch. megacephala* como vectores en una zona expuesta a impactos antropogénicos en Manila y llegaron a la conclusión de que esta última se asoció con una frecuencia significativamente mayor a huevos de helmintos. Esto hace tener en cuenta la introducción de estas especies del género *Chrysomya* y sus implicaciones en la transmisión de enfermedades (Carmo and Vasconcelos, 2014). Otra especie llamada *Chrysomya putoria* se cree que es uno de los principales transmisores mecánicos de agentes productores de diarrea (Greenberg and Povolny, 1971; Greenberg, 1973; Kobayashi *et al.*, 1999), enfermedad que en África causa alrededor de un millón y medio de muertes al año (UNICEF/WHO, 2009).

También se han identificado dípteros necrófagos como vectores de enfermedades víricas. En un estudio realizado por Bagshaw *et al.* (2014), se demuestra que diferentes especies de las familias Muscidae, Sarcophagidae y Calliphoridae pueden actuar como transportadores mecánicos de la parvovirus canina, enfermedad vírica extremadamente contagiosa que causa una considerable morbilidad y mortalidad en cachorros (Prittie, 2004; Greene and Decaro, 2012), incluso con tasas de mortalidad superiores al 90 % para los animales jóvenes no inmunes (Bragg *et al.*, 2012).

Del mismo modo, grupos de dípteros taxonómicamente más alejados, conocidos como moscas negras (Simúlidos), son los responsables de la transmisión de una enfermedad tan importante como es la Onchocercosis o ceguera de los ríos, que es debida a la infección del nematodo *Onchocerca* que causa discapacidad visual, ceguera, una serie de lesiones en la piel y un aumento de mortalidad (Little *et al.*, 2004; Bradley *et al.*, 2005). Se ha estimado que en África, 37 millones de personas se infectaron antes del inicio del Programa de Lucha contra la Oncocercosis en África Occidental (OCP) y el Programa Africano de Lucha contra la Oncocercosis (APOC) (Amazigo *et al.*, 2006; Basáñez *et al.*, 2006). Además, con el cambio climático la evolución de la enfermedad parece incierta, ya que disminuirá el tiempo de vida del parásito, pero probablemente se aumentará el número de vectores.

Uso de dípteros como agentes recicladores.

Hace casi 100 años, (Lindner, 1919) fue probablemente el primero que propuso el uso de moscas para recuperar los nutrientes, especialmente la grasa, de residuos orgánicos (excrementos humanos y animales). Más tarde, otros científicos demostraron que el estiércol de aves de corral podría ser “sembrado” artificialmente con huevos de mosca doméstica, de tal modo que las larvas recién eclosionadas se criarían en dicho estiércol de un modo controlado y transformarían este estiércol en harina, para poder ser utilizado posteriormente en la alimentación de pollos en crecimiento (Miller *et al.*, 1974; Calvert, 1979).

Esta aplicación de las moscas es de sumo interés, debido al incremento de la población humana, lo que conllevará un aumento en la producción de residuos de diferentes tipos. Para el año 2050, se prevé un aumento de la población hasta los nueve mil millones de personas y por tanto, en la demanda de productos animales de un 50-70 % (Makkar *et al.*, 2014). Además, se exigirá una elevada producción de proteínas que puede ser incrementada gracias a la labor de transformación de los residuos que realizan las moscas, reduciendo los compuestos contaminantes (Sánchez-Muros *et al.*, 2014).

Principales especies utilizadas.

Las principales moscas utilizadas para el reciclaje de residuos son la *Musca domestica* (mosca doméstica), *Hermetia illucens* (mosca “Soldado negro”), *Lucilia sericata* y *Musca autumnalis*, junto con los sustratos que son adecuados para su desarrollo (Čičková *et al.*, 2015). También puede ser utilizada la especie de díptero *Sarcophaga carnaria* en el caso de residuos de carne bajo condiciones de laboratorio (Pape, 1987; Yehuda *et al.*, 2011).

Estas especies han demostrado en muchos casos su viabilidad para el uso en el tratamiento de materia orgánica, como por ejemplo, el caso de la mosca doméstica que con 25000 adultos produciendo huevos pueden tratar 444 kg de estiércol de cerdo (Čičková *et al.*, 2012).

Tipos de sustratos adecuados para los cultivos de larvas.

Las larvas han sido comúnmente utilizadas en sustratos de estiércol de pollo, bovino y porcino (Miller *et al.*, 1974; Morgan and Eby, 1975; Newton *et al.*, 1977; Eby and Dendy, 1978), si bien el estiércol en general, es pobre en nutrientes y, por tanto, la producción de biomasa es muy escasa (20-80 g/kg). Sin embargo, más recientemente se están utilizando otros sustratos a partir de desperdicios con mayor cantidad calórica llegando a los 100-400 g/kg de biomasa obtenida (Aniebo *et al.*, 2008; Diener *et al.*, 2011a; b; Yehuda *et al.*, 2011; Zheng *et al.*, 2012). El cultivo de estas larvas puede hacerse de un modo natural, es decir, dejando la materia orgánica con las larvas y esperar a que aparezcan las moscas adultas (esto solo puede realizarse en climas lo suficientemente cálidos) o también puede realizarse en cultivo artificial, en el que se elige la especie de mosca más adecuada así como la temperatura y otras condiciones, optimizándose de este modo la producción de los productos (Čičková *et al.*, 2015).

Usos de la biomasa creada a partir de larvas de dípteros.

Como ya se ha comentado con anterioridad, muchos estudios han demostrado que las larvas y pupas de mosca cultivadas en residuos orgánicos pueden convertirse en alimento valioso para pescado, pollo y cerdos, ya sea en la forma seca (harina de gusano) o como larvas vivas (Newton *et al.*, 1977; Koo *et al.*, 1980; Bondari and Sheppard, 1981; El Boushy, 1991; Nuov *et al.*, 1995; Djordjevic *et al.*, 2008; Ogunji *et al.*, 2008). La proteína aislada de las larvas y pupas de mosca puede ser comparada de un modo favorable con la de soja o carne que se encuentra tradicionalmente en las formulaciones de los alimentos. Los insectos también pueden servir como una buena fuente alimentaria de sales minerales (Koo *et al.*, 1980; Khusro *et al.*, 2012). St-Hilaire *et al.* (2007) han demostrado que el perfil graso de ácidos de las prepupas de la mosca “soldado negro” puede mejorarse con la adición de despojos de pescado al sustrato de cría de las larvas. Esto puede proporcionar una oportunidad para mejorar la composición de nutrientes de la biomasa generada por las moscas manipulando la dieta de las larvas. Los insectos normalmente poseen un buen perfil de aminoácidos esenciales siendo los más limitantes la histidina, lisina y el triptófano, que deben ser suplementados incluyendo otros productos en la dieta (Sánchez-Muros *et al.*, 2014). Respecto a esto, se ha demostrado que los dípteros son los que poseen un mejor perfil proteico

para formar la parte proteica del pienso para alimentar pescado (Barroso *et al.*, 2014).

La gran cantidad de grasa (sobre todo son de gran interés los ácidos grasos saturados C16 y C18 por su elevado poder calorífico) presente en larvas de mosca y pupas, tanto criadas en estiércol como en restos de comida, ha demostrado ser una valiosa fuente de materia prima para la producción de biodiesel. Durante el procedimiento, la grasa se extrae de las larvas por éter de petróleo y se modifican por esterificación catalizada por ácido de los ácidos grasos libres (para disminuir la acidez de grasa cruda) y la transesterificación alcalina catalizada (Li *et al.*, 2011b; Manzano-Agugliaro *et al.*, 2012). El biodiesel producido se compara de un modo favorable con el biodiesel obtenido a partir de vegetales y cumple con la mayoría de criterios exigidos por el EN14214 (incluyendo factores como la densidad (860 kg/m³), o la viscosidad (4.9 mm²/s) (Li *et al.*, 2011a; Zheng *et al.*, 2012). La cantidad de grasa de insectos difiere entre las especies, dando lugar a rendimientos variables de biodiesel. Además de la utilización de larvas para la alimentación y la producción de biodiesel, varios autores han demostrado que las larvas de numerosas especies de moscas pueden producir sustancias biológicamente activas (antibacteriano, antitumoral, estimulantes del crecimiento, etc.) que pueden ser fácilmente extraídas del cuerpo de las larvas y puede ser interesantes para la industria farmacéutica (Hou *et al.*, 2007; Kawabata *et al.*, 2010; Choi *et al.*, 2012).

Uso de larvas desde el punto de vista económico.

El uso de larvas para tratamiento de residuos no es solo atractivo desde el punto de vista ecológico, sino que puede ser un sector a explotar a la hora de conseguir una economía sostenible, como muestran diferentes autores. Por ejemplo, Newton *et al.* (2005) indican que el uso de *H. illucens* usada para el reciclado de estiércol en las explotaciones de pollo, con una mínima inversión y bajos costes de mantenimiento supone un retorno de unos 25.000 dólares por año. En otro estudio, en relación al tratamiento de residuos orgánicos municipales, Diener *et al.* (2009) establecieron que una planta en Costa Rica de unos 1100 m² con 5 trabajadores permanentes que serían necesarios para procesar 3 toneladas de residuos orgánicos (peso húmedo) por día, los costes iniciales para la construcción de la planta y la infraestructura necesaria sería de unos 85,000\$ y los gastos de funcionamiento anuales estimados, incluidos los salarios, serían de unos 35.700 \$. Por otra lado, tal planta sería, en base a los resultados preliminares, capaz para producir 150 kg de prepupas (peso seco) por día, vendiéndose por 1000\$ por tonelada (precio en 2009 del pienso para pescado), lo que redundaría en unos ingresos anuales de en torno a 55.000 dólares (Diener *et al.*, 2009). Esta opción puede ser atractiva particularmente en países de renta per cápita baja, donde los costes de producción anuales son más reducidos.

El uso de cebos en pesca deportiva en Extremadura.

La pesca deportiva en agua dulce, sin fines lucrativos, es una de las principales aficiones de los extremeños. Según datos publicados por la Junta de Extremadura, la evolución del número de licencias de pesca expedidas ha ido incrementándose sustancialmente encontrándose actualmente estables (Tabla 2).

Tabla 2. Evolución del número de licencias de pesca expedidas anualmente (Servicio de recursos cinegéticos y piscícolas de la Junta de Extremadura).

Año	Nº de licencias
1988	47.846
1994	86.947
2000	128.326
2006	135.000
2010	156.128
2014	136.058

La pesca en lagos, embalses y grandes ríos, se realiza generalmente a nivel de la orilla o en pequeñas embarcaciones, mientras que para la pesca en ríos pequeños o en arroyos, los pescadores se introducen en el agua con ropa impermeable y botas especiales.

Los cebos artificiales están hechos de madera, plástico, goma o metal, e imitan la comida habitual de los peces. Los cebos naturales son también muy utilizados por los pescadores extremeños (Pérez-Bote *et al.*, 2004), y se dividen en los de origen vegetal y los de origen animal. Como cebo vegetal se utiliza cañamón, trigo, patata cocida, pan y el más utilizado que es el maíz dulce. Las masas utilizadas como atrayentes para la pesca deportiva, llamadas “masillas”, suelen hacerse con estas materias primas, aunque también pueden llevar componentes de origen animal. Como cebo animal destacan el *asticot* (larvas de mosca) y la lombriz de tierra, aunque también se utilizan crustáceos, peces, etc.

Tipos de cebos vivos en la pesca deportiva.

Como ya se ha mencionado, los cebos vivos en la pesca deportiva más utilizados en Extremadura son el *asticot* y la lombriz de tierra. Al hablar de *asticot* hacemos referencia a larvas de la “mosca de la carne”. Las “moscas de la carne”, son dípteros que depositan sus huevos generalmente en carne o material orgánico en descomposición englobando muchas especies de diferentes familias (Calliphoridae principalmente).

Revisión bibliográfica

También se usan, aunque con mucha menos frecuencia, larvas de otros artrópodos y vertebrados, que se citan a continuación:

1. Insectos

- Ortópteros: saltamontes, grillos, langostas, etc.
- Dípteros de las familias Muscidae y Sarcophagidae.
- Larvas de los múscidos, *Musca domestica* L. e *Hydrotaea aenescens* (Wiedemann).
- Larvas del sarcófago *Sarcophaga* sp. De un tamaño mayor.
- Larva del mosquito rojo, familia Quironomidae. Se comercializan con el nombre de *fouilli*. Son conocidos comúnmente como “gusanos del cieno o del lodo” y tienen un color rojo intenso.
- Coleópteros. Generalmente los más usados son las larvas del escarabajo molinero *Tenebrio molitor*, plaga de las harinas de los cereales.
- Lepidópteros. Los más comunes son las larvas de *Galleria mellonella* (L.), también conocida como polilla de la cera o de las abejas. Pueden causar plagas en los panales de abejas, excavando túneles e incluso alimentándose de abejas pequeñas.

2. Otros artrópodos

- Gambas, langostinos, cangrejos, camarones, etc.

3. Vertebrados

- Utilización de peces vivos (como la tenca), empleados en las capturas de presas depredadoras como el lucio y la perca americana.

Asticot.

Asticot es un nombre originario de Francia, utilizado en la comercialización de larvas de dípteros como cebo vivo para la pesca deportiva. Las empresas que crían estas larvas suelen utilizar la familia Calliphoridae, denominadas “blow-flies” en la literatura anglosajona. En muchas ocasiones, como sucede en Extremadura, y probablemente en muchas comunidades autónomas del territorio nacional, el *asticot* que podemos comprar en las tiendas no suele comercializarse identificado taxonómicamente.

En publicaciones especializadas de pesca y en la literatura científica, el nombre de “greenbottle” (“moscardas verdes”) suele asociarse a las especies de *Lucilia sericata* (Meigen, 1826), *Lucilia caesar* (Linnaeus, 1758), *Protophormia terraenovae* (Robineau-Desvoidy, 1830) y *Lucilia cuprina* (Wiedemann, 1830), y el nombre de “bluebottle” (“moscardas azules”), a las especies *Calliphora vomitoria* (Linnaeus, 1758) y *Calliphora vicina* (Robineau-Desvoidy, 1830).

El *asticot* ha desplazado a cebos más clásicos como la lombriz de tierra. Es uno de los más utilizados en la actualidad en la pesca amateur y el más utilizado en pesca de competición en agua dulce, con una gran avidez para todo tipo de pescado.

Se puede adquirir en grandes cantidades en tiendas de pesca, y está disponible durante todo el año, aunque normalmente en las estaciones de otoño e invierno solo se pueden conseguir en ciudades o grandes pueblos debido a la disminución durante estas épocas de la actividad de la pesca deportiva.

Su conservación es muy sencilla ya que con un poco de serrín y en frigorífico permanecen viables durante bastantes días. Esto es posible gracias a que las bajas temperaturas ralentizan el metabolismo de las larvas retrasando su pupación. No obstante, la pupa (“Caster” en argot de pesca), también puede ser utilizada como cebo y también se comercializa, aunque su uso en España es limitado.

El *asticot* se pincha en el anzuelo de manera superficial, sin atravesarlo completamente, por su parte posterior, para que de esta manera siga moviéndose y sea así más atractivo para los peces. Los pescadores suelen cebar la zona de pesca arrojando varios puñados de *asticot* al agua junto con masilla antes y durante la jornada de pesca, para que de esta forma los peces se vean atraídos hacia la zona de pesca.

Comercialización de los Calliphoridae.

El sistema de producción del *asticot* comienza con las moscas adultas, las cuales se mantienen en cajas ventiladas, con temperatura y humedad controladas, y alimentadas con glucosa para su maduración. En unos días, se les añade hígados de pollo en gran cantidad, con el fin de que las hembras tengan la cantidad de proteína necesaria para realizar la puesta de huevos (Figura 32).



Figura 32. Puesta de huevos de califóridos sobre hígados. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

De estos huevos emerge la L1, que se va alimentando de los hígados hasta llegar a L2. En este momento, se trasladan las L2 con los restos de hígados a unas salas, con parcelaciones dispuestas a ras de suelo, donde las larvas se seguirán alimentando, hasta alcanzar el estadio de L3, que es cuando presentan el tamaño idóneo para su comercialización.

Una vez alcanzado el estadio de L3 se mezclan con serrín, con el fin de absorber al máximo la humedad y de esta manera se separen unas de otras. A continuación, se transfieren a unos rodillos que actúan a modo de hormigoneras, con un sistema de filtros, de tal forma que puedan separarse los restos de serrín y otros materiales no deseables, de las larvas que van a ser comercializadas.

Las formas de comercialización son muy variadas; desde tarrinas de pocos gramos a bolsas de kilos e incluso a granel (Figura 33).



Figura 33. Diversas formas de presentación del asticot vendido en las tiendas. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

Legislación vigente.

Actualmente, en Extremadura no hay ningún control sobre la utilización del *asticot* en la pesca deportiva, ni sobre las especies de dípteros que pueden usarse como cebos. Sin embargo, en determinadas zonas se prohíbe la utilización en la pesca de este tipo de cebo natural, como son todas las zonas de pesca sin muerte como aparece recogido en la Orden del 29 de agosto de 2014 para la ley general de vedas de pesca para el año 2014, de la Comunidad Autónoma de Extremadura que aparece en el DOE nº 174 del 10 de septiembre del 2014.

En otras Comunidades Autónomas también se está regulando el uso en la captura de determinadas especies de peces. De hecho, por ejemplo, en el Boletín Oficial de Álava (BOTH) en su número 23 de febrero de 2015, se establece la prohibición en la pesca deportiva de lo siguiente:

- La utilización como cebo natural de todo tipo de huevas, larvas, pupas, ninfas o imagos de insectos u otros invertebrados que no pertenezcan a la fauna local.
- La utilización como cebo natural del gusano llamado “asticot” o semejantes, así como todos aquellos cebos provistos de sustancias atrayentes, aromatizantes y/o saborizantes. Así mismo, se prohíbe la utilización como cebo de las masas aglutinadas de queso, carne y similares, y el cebado de las aguas antes o durante la pesca.

2.1.3 Efectos del calentamiento global sobre el medio ambiente y la fauna de dípteros.

Los cambios temporales y espaciales de las temperaturas (Watson *et al.*, 1998) así como las precipitaciones y la humedad que, según las previsiones, tendrán lugar según los diferentes escenarios del cambio climático, afectarán a la biología y ecología de los vectores y los hospedadores intermediarios y, por consiguiente, al riesgo de transmisión de enfermedades. El riesgo aumenta porque, aunque los artrópodos pueden regular su temperatura interna modificando su comportamiento, no pueden hacerlo fisiológicamente y, por lo tanto, dependen totalmente del clima para su supervivencia y desarrollo (Lindsay and Birley, 1996).

Durante el siglo XX, el clima del mundo se ha calentado en torno a 0.6°C (IPCC, 2001), empezando a partir de 1910. Los dos períodos principales de calentamiento están registrados entre: 1910-1945, y de 1976 a hoy, la última tasa de aumento de este último periodo es aproximadamente el doble de la del anterior (Figura 34). El aumento de la temperatura en la última treintena de años ha sido el más grande jamás registrado durante los últimos 1000 años. La cuenca del Mediterráneo sigue la tendencia mundial. La temperatura del Mar Mediterráneo ha aumentado en los últimos años y la potencia térmica-tampón del agua contribuye al mantenimiento de la temperatura en nuestra zona. Esto está provocando casos como los de Italia, que se está calentando mientras la barrera creada por los Alpes provoca una gran diferencia entre la península y Europa, que sufre los efectos del calentamiento más lentamente.

Un claro ejemplo de esto es lo que indican, Turchetto and Vanin (2004), que han documentado en Italia como en estos últimos años de cambio climático las especies termófilas de dípteros están poblando zonas de mayor altitud (calculándose este aumento en unos 8-10 metros por año). Debido a esto, especies que se habían introducido hace años como la *Hermetia illucens* L. (Diptera: Stratiomyidae), originaria de las zonas tropicales de América, y que fue identificado por primera vez en Italia en el año 1956 (Venturi, 1956) (probablemente fue introducido durante la Segunda Guerra Mundial por las tropas de Estados Unidos) están ganando terreno, ya que en los últimos años se ha generalizado por toda Italia, incluso llegando al norte, y detectándose en altitudes de hasta 1300 metros sobre el nivel del mar.

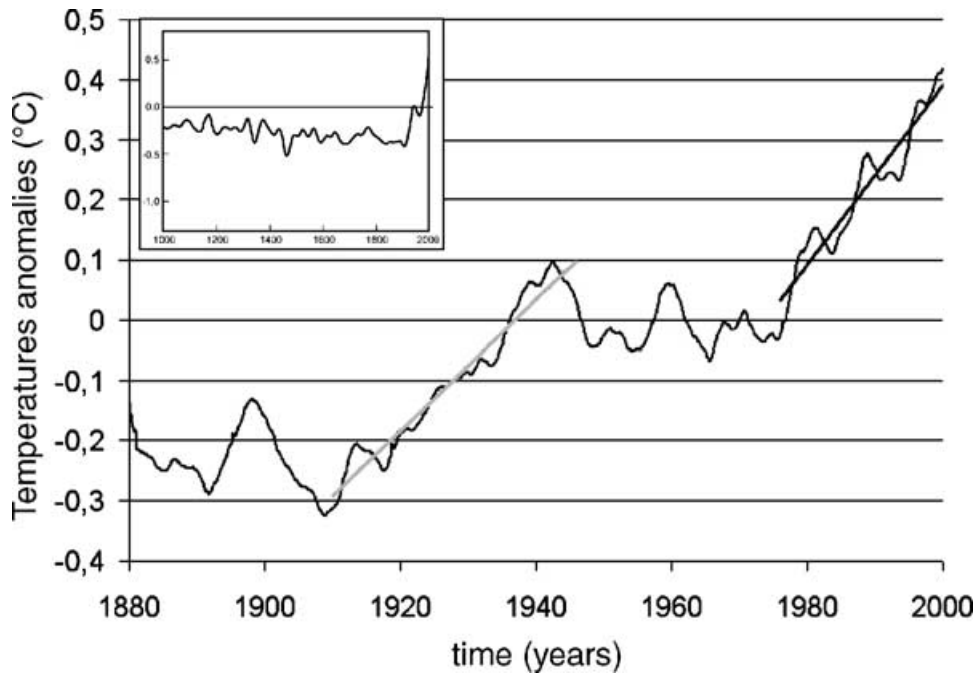


Figura 34. (IPCC, 2001).

En resumen, lo que esto nos está indicando es que un gran número de especies están aumentando los márgenes de sus ecosistemas y que, por tanto, será probable encontrarnos especies en cadáveres o en el medio ambiente, en zonas donde antes no se encontraban o especies incluso de ecosistemas muy diferentes a los nuestros y que son traídas por el hombre (viajes, guerra biológica etc.) y consiguen adaptarse y reproducirse. Todas estas especies deberán ser tenidas en cuenta por la entomología forense y en ciencias de la salud siempre y cuando se consiga adaptar los conocimientos previos que se tengan de estas a nuestras condiciones climáticas, y aún más importante es tener en cuenta estas nuevas especies como posibles transmisoras de enfermedades.

El mayor efecto del cambio climático sobre la transmisión de enfermedades se observará probablemente en los extremos del intervalo de temperaturas requerido para la transmisión (para muchas enfermedades, 14-18°C como límite inferior y 35-40°C como límite superior) (Githeko *et al.*, 2000). El calentamiento en el intervalo inferior tiene repercusiones significativas y no lineales sobre el periodo de incubación (Watts *et al.*, 1987) y, por consiguiente, en la transmisión de enfermedades, mientras que en el límite superior se podría interrumpir la transmisión. Sin embargo, en torno a los 30-32°C, la capacidad vectorial puede aumentar notablemente debido a la reducción del periodo de incubación, a pesar de que disminuye la tasa de supervivencia del vector. A medida que el clima se hace más cálido, muchos vectores ampliarán probablemente su distribución en Europa y

es posible que se introduzcan nuevas especies de vectores procedentes de los trópicos. Cada especie de vector requiere un rango de temperatura y humedad relativa, así como unas condiciones ambientales determinadas para poder desarrollar su ciclo vital. Por ello, el rango de distribución geográfica de cada especie de vector está determinado por aquellas zonas donde se dan esas condiciones, y por los accidentes geográficos que limitan su dispersión. Sin embargo, a consecuencia del cambio global esta distribución se puede modificar, alterando con ello la distribución potencial de las enfermedades transmitidas por vectores (Bett *et al.*, 2017).

Además de la influencia directa de la temperatura sobre la biología de los vectores y parásitos, la modificación del régimen de precipitaciones puede tener también efectos a corto y largo plazo sobre los hábitats de los vectores (Githeko *et al.*, 2000). El aumento de las precipitaciones puede incrementar el número y calidad de criaderos de vectores tales como mosquitos, garrapatas y caracoles, así como la densidad de vegetación, influyendo en la existencia de lugares donde posarse.

Europa se ha recalentado 0,8°C durante aproximadamente los últimos 100 años (Watson *et al.*, 1998). Los cambios no han sido uniformes, pues el mayor aumento de la temperatura se ha producido en invierno y en el norte. De continuar esta tendencia, es probable que se reduzca la elevada mortalidad de vectores durante el periodo invernal y que otras zonas sean propensas a la transmisión de enfermedades.

Es más difícil predecir los cambios que experimentará el régimen de precipitaciones, aunque probablemente los inviernos serán más húmedos y los veranos más secos. Todo parece indicar que las regiones septentrionales serán más lluviosas y que el tiempo será más seco en el sur y el este del continente (Watson *et al.*, 1998). No es fácil predecir las consecuencias de esos cambios. Por ejemplo, es posible que en las zonas donde disminuyan las precipitaciones y se sequen los humedales haya menos criaderos de mosquitos. Sin embargo, la disminución de las poblaciones de mosquitos se compensará en parte si éstas encuentran nuevos lugares de reproducción, como las aguas estancadas que quedarán al secarse el lecho de las corrientes de agua o los depósitos de agua utilizados por los horticultores para conservar el agua de lluvia.

Tenemos ejemplos ya objetivos de esas invasiones, como es el caso del vector más importante del dengue, *Aedes albopictus* (“mosquito tigre”), aunque esta invasión se ha visto muy asociada al comercio de neumáticos usados. La lluvia produce pequeñas acumulaciones de agua en el interior de los neumáticos almacenados al aire libre, que son un magnífico hábitat de cría para este mosquito, pues imitan a los huecos de los troncos de árboles de la selva húmeda que

constituyen su hábitat natural. Por medio del transporte de neumáticos conteniendo los huevos, el mosquito (de origen asiático) ha alcanzado una distribución mundial. En este caso, el factor del cambio global relacionado con esta expansión es el incremento del comercio y el transporte internacional.

El mosquito tigre fue detectado por primera vez en España en 2004, en las costas catalanas, y desde entonces se ha expandido hacia el sur a lo largo de la costa mediterránea, alcanzando el levante. La presencia de este mosquito en España tiene alerta a las autoridades sanitarias desde que fuera detectado, pues se sabe que es el factor clave que eleva notablemente el riesgo de introducción de virus como el Chikungunya, para los que es un excelente vector. También actúa como vector de virus que causan enfermedades tan graves como la fiebre amarilla o el dengue.

Los arbovirus transmitidos por mosquitos pueden causar una gran morbilidad y mortalidad en Europa (Lundström, 1999). En varios países europeos se han notificado casos de infección por el virus del Nilo Occidental confirmados mediante pruebas de laboratorio. Así, como ejemplo podemos destacar que desde principios de julio de 2011 hasta el 11 de agosto de ese mismo año se notificaron a la OMS oficialmente 2 casos en Albania, 22 en Grecia, 6 en Israel, 1 en Rumania y 11 en la Federación de Rusia y se han seguido notificando en años posteriores por primera vez por diferentes países de Europa como por ejemplo en Bosnia y Herzegovina en octubre de 2013 (Ahmetagić *et al.*, 2015). Entre enero y octubre de 2012 estas notificaciones son el resultado de una mayor sensibilización de los profesionales sanitarios, de la mejora de la capacidad de laboratorio y de las condiciones climáticas favorables, con precipitaciones y temperaturas elevadas, que han producido un aumento considerable de los mosquitos, entre ellos *Aedes* spp. y *Culex* spp. El primer aislamiento del virus tuvo lugar en 1937 en una mujer febril en Uganda, al Oeste del Nilo (Smithburn *et al.*, 1940). Epidemias por este virus han ocurrido en Israel, Sudáfrica y Rumanía. En los últimos 30 años se ha registrado un importante número de casos de infección en humanos y en caballos en toda Europa y en la cuenca mediterránea. En Estados Unidos, el virus West Nile apareció por primera vez en 1999 en Nueva York con casos de encefalitis severas, extendiéndose por todo el país con una importante tasa de mortalidad del 12 % (Weiss *et al.*, 2001). En España, se han registrado varios casos como el de un paciente con encefalitis por el virus del Nilo Occidental residente en la localidad de Cornellá de Llobregat (Barcelona) en 2004 (Kaptoul *et al.*, 2007) y en 2010 se detectaron dos casos de meningoencefalitis por este patógeno en la provincia de Cádiz (García-Bocanegra *et al.*, 2011). Estudios realizados para conocer la seroprevalencia de infecciones por el virus del Nilo Occidental en la población del Sur de España (Bernabeu-Wittel *et al.*, 2007) mostraron una tasa del 0,6 % de infección pasada (IgG positiva) y exposición de la población humana al virus en esta zona, aunque nadie desarrolló

la enfermedad, datos concordantes con un estudio realizado en el nordeste peninsular, en el que se detectó un 0,2 % (Bofill *et al.*, 2006). La aparición de los 2 casos de meningoencefalitis en humanos en Andalucía coincide con focos declarados de encefalitis del Nilo Occidental en equinos en la provincia de Cádiz por la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía, concretamente de 36 caballos afectados de distintas explotaciones ganaderas, de los cuales 8 fallecieron. La OMS alienta a los Estados Miembros a que consideren la posibilidad de poner en práctica medidas de salud pública pertinentes destinadas a minimizar las repercusiones de un posible brote del virus del Nilo occidental en los países en riesgo.

Desde hace muy pocos años, un nuevo virus, el virus Schmallerberg ha sido descubierto en Europa y se ha ido extendiendo muy rápidamente por el continente. Este virus está asociado fundamentalmente a *Culicoides*, aunque aún quedan muchas lagunas sobre el conocimiento de la biología y epidemiología de este virus de la familia Bunyaviridae. Fue detectado por primera vez el 18 de noviembre de 2011 en un ternero en la ciudad alemana de Schmallerberg, situada en Renania del Norte-Westfalia, cerca de la frontera de los países del Benelux (Hoffmann *et al.*, 2012) y provoca una enfermedad que afecta al ganado vacuno y ovino principalmente. En España, el primer caso de este virus se comunicó el 13 de marzo de 2012, por el Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, en una explotación mixta de ganado ovino y caprino en la comarca de Hinojosa del Duque en la provincia de Córdoba (Balseiro *et al.*, 2015).

Se han registrado también brotes de la enfermedad del virus Sindbis en el norte de Europa durante los años ochenta y noventa y se han notificado muchas otras infecciones víricas. Es extremadamente difícil predecir cuándo y dónde se producirán esos brotes, pero es posible establecer cuáles son las zonas propensas si se puede determinar y cartografiar el medio climático en el que vive el vector (Sutherst, 1998).

En el caso particular de España, debido a su proximidad con el continente africano, siendo lugar de tránsito obligado de aves migratorias y personas, y por las condiciones climáticas, cercanas a las de zonas donde hay transmisión de enfermedades vectoriales, España es un país en el que este tipo de enfermedades podrían verse potenciadas por el cambio climático. El posible riesgo vendría por extensión geográfica de vectores ya establecidos o por la importación e instalación de vectores sub-tropicales adaptados a sobrevivir en climas menos cálidos y más secos. Hipotéticamente, las enfermedades vectoriales susceptibles de ser influidas por el cambio climático en España serían aquellas transmitidas por dípteros como el dengue, encefalitis del Nilo occidental, fiebre del valle del Rift, malaria y

leishmaniosis; las transmitidas por garrapatas como la fiebre de Crimea Congo (demostrada a día de hoy su presencia en Extremadura (Palomar *et al.*, 2017)), encefalitis por garrapata, enfermedad de Lyme, fiebre botonosa y fiebre recurrente endémica; y las transmitidas por roedores (Hantavirus). Como ya se ha comentado, la OMS ha puesto de relieve que especies de insectos transmisoras de enfermedades parasitarias están apareciendo en nuevas áreas como consecuencia del desplazamiento provocado por el incremento de temperaturas.

En muchos lugares del mundo, enfermedades como el dengue o la malaria están incrementando su virulencia. La malaria provocada por el protozoo *Plasmodium falciparum* es transmitida por los mosquitos del género *Anopheles*. El ciclo del parásito a 20°C de temperatura ambiente es de 26 días, pero a 25°C disminuye a 13 días, lo que implica una mayor reproducción del causante del mal y duplicación de las posibilidades de transmisión de una enfermedad que ya afecta a más de 300 millones de personas en todo el mundo, encontrándose países como España en las zonas de riesgo de aparición de la misma.

En nuestras latitudes uno de los casos más relevantes es el de *C. imicola*. Este insecto se conocía solamente de la mitad sur-occidental de la península ibérica, estando su distribución condicionada por la temperatura media anual y las precipitaciones, por lo que el aumento de temperaturas podría provocar que nos encontráramos con adultos durante todo año (Lucientes, 2014). Esta especie ha ampliado durante los últimos diez años su área de distribución hacia el norte peninsular, extendiendo el riesgo de transmisión de enfermedades del ganado a nuevas áreas y desplazando a otras especies más adaptadas al frío como son *C. obsoletus* y *C. pulicaris*. Los estudios realizados indican que un incremento de unos 2°C en la temperatura media anual durante el presente siglo, podría significar la ampliación en 200 km el límite norte de distribución en Europa, lo que indudablemente provocaría la aparición de graves enfermedades parasitarias, no sólo en España, sino alcanzando el norte de Francia, Bélgica y Suiza.

En este mismo sentido estudios como el de Wall *et al.* (2011), ponen en alerta que con el calentamiento global especies productoras de miasis más agresivas, como *W. magnifica* podrían desplazar a las autóctonas (*L. sericata* principalmente). Con las graves pérdidas económicas en gasto sanitario que esto supondría.

Como ya se ha mencionado, existe un vínculo muy claro entre las enfermedades transmitidas por insectos y/o artrópodos y el clima (Mouchet and Carnevale, 1997). Pero una serie de factores no climáticos también influye en la transmisión de las enfermedades, desde las condiciones de vida y las prácticas de riego hasta la resistencia a medicamentos, la infraestructura de salud y la urbanización. Por lo tanto, si bien es de suma importancia el control de vectores

desde un punto de vista climático, no se pueden dejar de lado los restantes factores desencadenantes de estas importantes enfermedades.

Las enfermedades transmitidas por insectos y arácnidos son un reto importante para la Salud Pública en el presente y en el futuro. Pero la mayor parte de los riesgos para la salud derivados del cambio climático no serán ahora ‘viejos demonios’, sino nuevos problemas. La razón de que no haya malaria en Europa o Norte América, como tampoco en gran parte de América del Sur, no es solamente por un clima inadecuado, sino por el eficiente control y monitoreo de la enfermedad, combinado con la destrucción de ecosistemas naturales del vector a través, por ejemplo, de la urbanización. Sin embargo, como ya se mencionó, es posible que los cambios medioambientales provocados por un sistema de cambio climático mundial extiendan los territorios donde las enfermedades transmitidas por insectos son endémicas.

La esperanza para detectar tales extensiones es que los programas de control desarrollen estrategias de vigilancia en las fronteras de las actuales zonas de distribución de la enfermedad (sean de latitud o de altura) especialmente donde las proyecciones climáticas sugieren una probabilidad más alta de cambio en las próximas décadas. La vigilancia medioambiental por satélite, usando datos hidrometeorológicos, puede ser importante en este proceso. Del mismo modo, la vigilancia de los insectos y arácnidos vectores detectando cambios en sus rangos antes que las áreas de transmisión de la enfermedad se expandan y finalmente el chequeo serológico de posibles reservorios que nos alerten de la posible circulación de los agentes de las patologías emergentes.

2.1.4 *Captura de dípteros necrófagos y Culicoides.*

2.1.4.1 *Sistemas de captura de dípteros.*

Los sistemas de captura para dípteros necrófagos se basan principalmente en la utilización de un señuelo o atrayente para estos tipos de dípteros, que puede ser un compuesto químico formado por uno o varios componentes o puede ser cebo natural como por ejemplo carne u otros alimentos.

Estos métodos de captura son principalmente utilizados con dos objetivos:

- Para reducir la población de imagos en zonas cercanas a las explotaciones ganaderas y de esta forma reducir la incidencia de miasis en éstas. Esta metodología se ha demostrado muy efectiva para la mayoría de los dípteros de la familia Calliphoridae, pero no tanto para

los miásicos obligatorios, ya que su atracción por los animales es muy superior a la que sienten por el señuelo (Parker and Welch, 1991).

- Para recolectar muestras de dípteros necrófagos y de esta forma realizar estudios poblacionales, algo que será de gran interés para determinar las poblaciones productoras de miasis y relacionarlas con la entomología forense o incluso como indicador de la contaminación en una determinada zona.

Tipos de Cebos.

Como ya se dijo, el cebo puede estar formado por un compuesto químico, por varios o por un cebo natural. Los cebos químicos formados por un solo componente proporcionan unos niveles de atracción reducidos 0-22 %, los que están formados por varios componentes proporcionan una atracción del 26-64 %, siendo los más atrayentes los cebos naturales, que se sitúan entre el 55 y el 88 %, de atracción en un estudio realizado con *Calliphora vicina*. Las hembras mostraron una clara predisposición con el cebo de hígado con respecto a los artificiales. Realizando una comparación entre tres cebos naturales tales como pescado, ratón e hígado, el orden de mayor a menor atracción por los dípteros fue ratón, pescado e hígado (Aak *et al.*, 2010). Sin embargo, es importante mencionar que, con respecto al cebo, debemos tener en cuenta que el grado de atracción va a ser diferente dependiendo de la especie de díptero, e incluso se ha determinado que en una misma especie de díptero tiene un comportamiento diferente frente a un cebo dependiendo de la zona geográfica (Hall *et al.*, 2003).

Actualmente, existen varios atrayentes comerciales para dípteros como el Lucilurer^R (Bioglobal Ltd, Wacol, QLD, Australia) y el Kiwitech (Kiwitech Ltd, Bulls, Nueva Zelanda), los cuales son cebos enfocados a la captura de *Lucilia* spp. (Díptera: Calliphoridae), que son las principales responsables de miasis en ovino en Australia y, por tanto, de enorme importancia económica (Denwood *et al.*, 1999; Horton *et al.*, 1999; Morris, 2005; Urech *et al.*, 2009). Además, existe otro tipo de cebos como el Swormlure^R (Nanjing Chemlin Chemical Industry Co, Nanjing, China) enfocado a la captura del “gusano barrenador del ganado” o *Cochliomyia hominivorax*, Coquerel, 1858 (Diptera: Calliphoridae) (Mackley and Brown, 1984). No obstante, en pruebas realizadas con este tipo de díptero, se observó que las hembras tienen una mayor atracción por las heridas que incluso por los cebos naturales como el hígado o el pescado (Parker and Welch, 1991).

Tipos de Trampas.

Trampas para dípteros necrófagos.

Lucitrap.

La Lucitrap^R (Miazma Pty Ltd, Queensland, Australia) (Horton *et al.*, 1999) normalmente combinada con un olor a cebo sintético, llamado Lucilure^R (Miazma Pty Ltd, Queensland, Australia), es una trampa comercial disponible principalmente para el control de *Lucilia cuprina* (Wiedemann) en Australia, aunque también puede ser utilizada para realizar muestreos.

La trampa consta de un cubo blanco en cuyo interior se sitúan tres botellas de atrayente con diferentes compuestos. La trampa lleva una tapa de color amarillo y dos agujeros que permiten la entrada de moscas. Es de gran interés como control de estos dípteros, ya que tiene una larga duración (dura unos 6 meses desde la apertura de los cebos).

Trampas pegajosas.

Son láminas comúnmente de color amarillo para atraer a las moscas, las cuales quedan adheridas a las láminas por la impregnación de éstas en un pegamento. Como ventajas tienen que son baratas y tienen una durabilidad bastante alta. Sin embargo, estudios como el de Aak *et al.* (2011), han determinado que tienen una eficacia de captura muy inferior a las trampas con cebos y además son poco útiles para realizar muestreos, ya que en muchos casos se dañan estructuras y esto nos puede dificultar la identificación del imago.

Trampas WOT.

Las trampas WOT (Wind Oriented Traps) normalmente están cebadas con materia orgánica en descomposición de origen animal y son usadas para capturar imagos de varias familias de dípteros, entre los que destacan por su abundancia los Calliphoridae, Sarcophagidae, Muscidae (Ruiz-Martínez *et al.*, 1992b; Martínez-Sánchez *et al.*, 2000b; Azevedo and Krüger, 2013), y en menor medida, otros órdenes de insectos himenópteros, coleópteros y lepidópteros. Además, dado el cebo utilizado, estas trampas atraen mayoritariamente a hembras.

El esquema de este tipo de trampas se puede observar en la Figura 35. Básicamente, consiste en dos recipientes de plástico transparentes que encajan entre sí. Dichos recipientes se mantienen en el aire en posición horizontal, mediante un soporte de metal con una veleta. Uno de los botes actúa como recolector, mientras que en el otro se sitúa el cebo. El interior de ambos botes está separado por una

malla metálica que permite fácilmente la difusión del olor del cebo sin que las moscas accedan a éste. El bote recolector de la trampa está orientado para que las moscas al volar en sentido opuesto al viento dominante puedan entrar. De esta manera, los insectos voladores detectan el olor despedido por el cebo de la trampa, buscan la entrada en el centro de un embudo invertido y este mismo, les imposibilita salir al exterior.

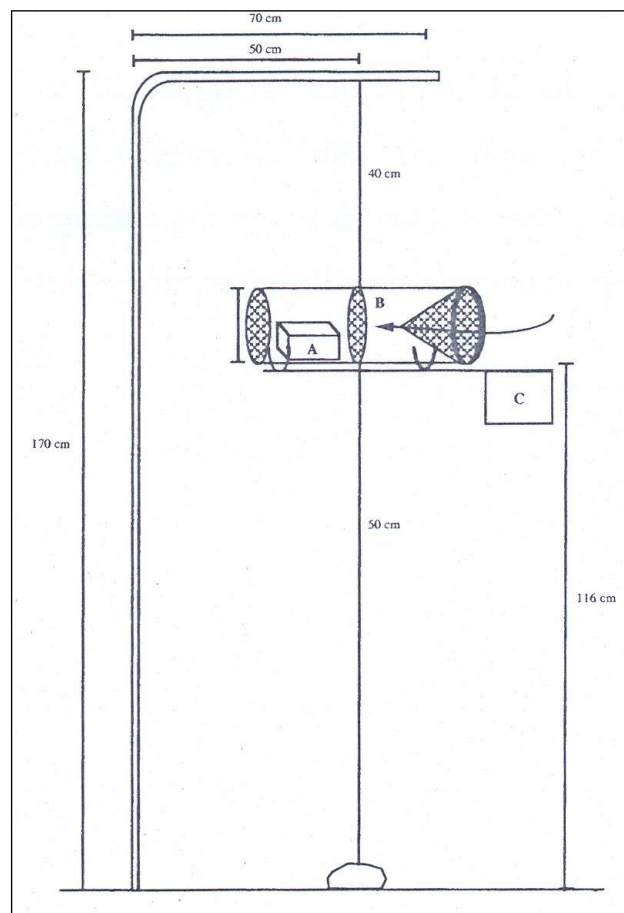


Figura 35. Esquema de una trampa W.O.T. (Vogt *et al.*, 1985) (A: cebo atrayente; B: rejilla separadora; C: veleta atrayente) (Martínez-Sánchez, 1997).

Trampas caseras.

Además de las trampas que se han visto anteriormente, existen múltiples posibilidades a la hora de realizar trampas basándose todas en los mismos principios, que son un señuelo de olor para atraer a los dípteros (Hall, 1995) y un mecanismo que los permita entrar fácilmente pero que impida su salida. Un buen ejemplo es el diseño que realizaron Hwang and Turner (2005) utilizando como cebo hígado de cerdo y usando botellas de plástico para capturar los ejemplares. El esquema general de este tipo de trampas está reflejado en la Figura 36.

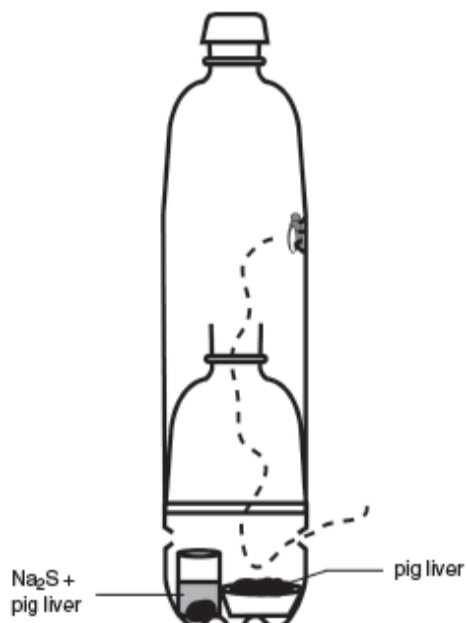


Figura 36. Diseño de trampa usando botellas de Hwang and Turner (2005).

Otro método de trampeo que utiliza una metodología un tanto diferente es el de Höller *et al.* (1990), en el cual se usa cebo de hígado vacuno, pero no deja espacio para el aterrizaje de la mosca en éste, y cubre toda la parte inferior de la trampa con agua con jabón para eliminar la tensión superficial. De este modo, el díptero cae en este líquido penetrando en él fácilmente y ahogándose (Figura 37).

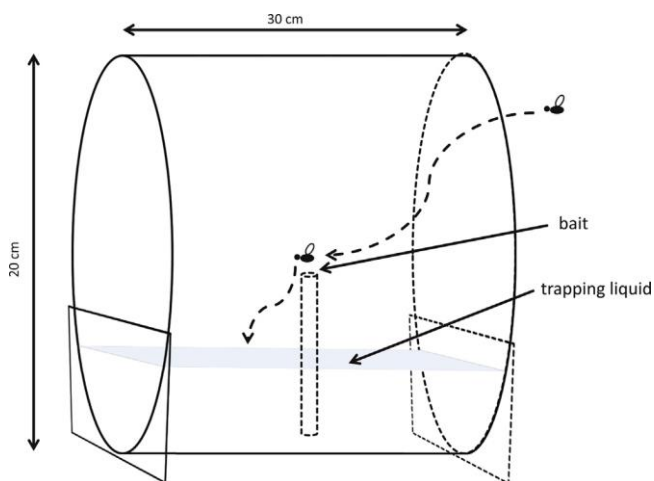


Figura 37. Diseño de trampa de Höller *et al.* (1990).

Trampas para *Culicoides*.

En varios estudios como el de Venter *et al.* (2009a) y Del Río *et al.* (2013) se comparan varias de las trampas más utilizadas en la captura de *Culicoides*, entre ellas las trampas utilizadas en nuestro estudio que son la CDC miniatura, que se describen a continuación:

Trampa CDC miniatura.

Esta trampa se encuentra disponible comercialmente (JW Hock, Gainesville, EE.UU., Modelo 1212, (Driggers *et al.*, 1980)), la cual fue descrita originalmente por Sudia y Chamberlain en 1962. Es utilizada en varios países de Europa, como por ejemplo en España (Miranda *et al.*, 2004), Portugal (Capela *et al.*, 1992) y Bélgica (De Deken *et al.*, 2008). También es la trampa preferida, por lo general cebadas con CO₂, en América del Norte (Mullens and Schmidtman, 1982; Smith and Mullens, 2003). Esta trampa, en su mayoría de plástico, es ligera (0,8 kg) y se encuentra alimentada por una batería de 6 V recargable (2,2 kg), que hace que sea muy manejable para usar en ausencia de suministro eléctrico. La trampa se basa en una fuente de luz que se consigue con un tubo de 4W UV (luz ultravioleta), unida a una corriente descendente de aire que tiene un poder de absorción de 11,06 m³/min (Chandler and Highton, 1975). Además, polillas y otros insectos están excluidos de las trampas de luz por un filtro (tamaño de malla 5 mm) situado entre la luz fuente y el ventilador. El recipiente de recogida tiene una capacidad de 450 ml.

Trampa “Onderstepoort”.

La trampa Onderstepoort se fabrica en Sudáfrica (ARC-Instituto de Ingeniería Agrícola). El diseño es una modificación de una disponible en Europa desde principios de 1970. A partir de ese momento, esta trampa se ha utilizado en el ARC-Onderstepoort Instituto Veterinario (ARC-OVI), para la captura de *Culicoides*, el aislamiento de arbovirus y encuestas de distribución de sus especies y abundancia (Meiswinkel *et al.*, 2004). Desde 1996, la trampa se ha utilizado para la captura de *Culicoides* a la hora de realizar encuestas epidemiológicas en varios países de Europa, por ejemplo, Italia (Goffredo *et al.*, 2004), Grecia (Patakakis, 2004), Suiza (Cagienard *et al.*, 2006) y desde 2006 también en Francia (Balenghien *et al.*, 2008; Baldet *et al.*, 2008). El funcionamiento de esta trampa se basa en un tubo ultravioleta (UV) de 8W al que se adiciona un ventilador que trabaja a 220 V creando una corriente descendente. Por tanto, se necesita un generador si la trampa no tiene acceso a este tipo de corriente eléctrica. El vaso de recolección tiene una capacidad de 500 ml y las polillas e insectos más grandes están excluidos por una malla de 2 mm colocada alrededor de la fuente de luz de la trampa.

Trampa Rieb.

Jean Pierre Rieb diseñó esta trampa en Francia en 1979 (Rieb, 1982). El principio es el de la trampa de luz New Jersey (Mulhern, 1985). El uso de la trampa se extendió entre los años 2000 y 2005 en Francia para encuestas epidemiológicas de *Culicoides* (Baldet *et al.*, 2004; Guis *et al.*, 2007). La trampa Rieb está fabricada en plástico resistente y es relativamente ligera (1 kg) y compacta. Está alimentada por una batería de 12 V y 105Ah. El funcionamiento es similar al de la trampa Onderstepoort basado en una corriente descendente y una fuente de luz que en este caso es un tubo de 4W UV. Las polillas y otros insectos más grandes son excluidos de la colección por una malla de plástico (tamaño de malla 5 mm) colocada alrededor de la luz fuente. El vial de recogida es relativamente pequeño, con una capacidad de 40 ml.

Trampa Pirbright.

El principio de la trampa Pirbright es similar a la de la trampa Monks Wood. Este proyecto de trampa fue construido por John Boorman, del Instituto Animal Health de Pirbright, Reino Unido. Fue ampliamente utilizada en los muestreos de *Culicoides* en Europa (Rawlings *et al.*, 1997; Patakakis, 2004), África Norte (Baylis *et al.*, 1997) y África Occidental (Rawlings *et al.*, 1998). Esta trampa ya no está disponible, siendo reemplazada por la trampa Onderstepoort en 1996.

La trampa es relativamente ligera (2,4 kg). Está basada en una corriente de aire descendente creada por un ventilador accionado por un motor de 12 V y la fuente de luz (blanca) es una bombilla incandescente de 24W. La trampa puede alimentarse de la red eléctrica (220 V) o a través de un transformador. Las polillas y otros insectos grandes quedan excluidos de la trampa de luz con una rejilla metálica (malla 5 mm) situada entre la fuente de luz y el ventilador. El recipiente de recogida tiene una capacidad de 90 ml.

Trampa para mosquitos BG-centinela.

Esta trampa disponible comercialmente (Biogents AG, Regensburg, Alemania) fue diseñada principalmente para la recogida de los mosquitos que pertenecen al género *Aedes*, aunque se utiliza ampliamente para la recolección y la investigación sobre los mosquitos en general (Rose *et al.*, 2006; Williams *et al.*, 2007). Recientemente, se ha utilizado para la colección de *Culicoides* en Alemania (Kiel *et al.*, 2009). La trampa es ligera (1,4 kg) y es esencialmente un contenedor de tela plegable con una gasa blanca cubriendo su apertura. El diámetro es de 36 cm y la altura 40 cm. El aire es aspirado a la trampa a través de un tubo de captura por un ventilador eléctrico. Los insectos son recolectados en una bolsa de recogida o recipiente (300 ml). La fuente de luz se basa en un tubo de 30 cm y 4,88W UV (luz ultravioleta).

El vial de recogida se coloca entre la fuente de luz y el ventilador. Esto tiene la ventaja de que los insectos no han de pasar a través del ventilador y de este modo se evita su muerte o que puedan llegar a tapan el ventilador. Las polillas y otros insectos están excluidos de las colecciones por una malla de plástico (tamaño de malla 5 mm) por encima del vaso de recolección.

Aspiración directa en el animal.

Estos métodos consisten en utilizar como cebo un animal (normalmente una oveja), del cual iremos absorbiendo con la ayuda de un aspirador los *Culicoides* que se acerquen a picarle. Este método es de gran utilidad a la hora de determinar estrictamente cuales son los *Culicoides* que van a picar al hospedador (Jones *et al.*, 1977; Campbell and Kettle, 1979; Schmidtman *et al.*, 1980) y por tanto, estimar los ratios de picadura por especie. El lado negativo de estas trampas es que se necesita el trabajo de una persona que de un modo continuo esté capturando los dípteros.

Trampas de CO₂.

Suelen ser trampas CDC o similares, que en lugar de utilizar el cebo luminoso utilizan como atrayente hielo seco que va liberando lentamente CO₂ y tienen un ventilador que absorbe a los dípteros que se van acercando. Su uso es reducido debido al escaso número de capturas que proporciona (Gerry *et al.*, 2009), aunque sí se ha descrito como interesante junto con el uso de luz, ya que puede aumentar el poder atrayente de ésta.

Trampas de emergencia de larvas.

Este tipo de trampas se basan en el análisis de excrementos de los animales, donde se desarrollan las larvas de *Culicoides*, proporcionando el medio adecuado para el desarrollo de las mismas hasta adultos que son capturados y posteriormente identificados y analizados (Figura 38).

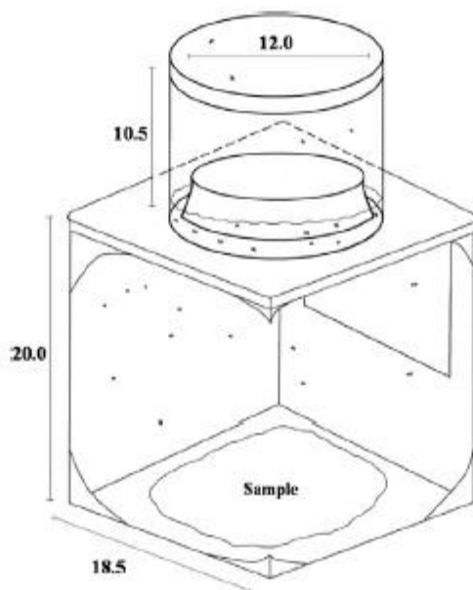


Figura 38. Trampa de emergencia de larvas. Adaptada por Steinke *et al.* (2014) de A. Wittmann.

2.1.4.2 Eficacia de las trampas de *Culicoides*.

Dentro de este grupo de trampas, se han realizado diferentes estudios para determinar su eficacia en la captura de *Culicoides*, comparando el número de ejemplares recogidos en cada trampa. En un estudio realizado en Sudáfrica por Venter *et al.* (2009a) donde se analiza la captura de ejemplares de *Culicoides* en verano e invierno, se determina que en verano, la trampa que más ejemplares de *Culicoides* captura es la Onderstepoort con un 63,32 % de las capturas, seguida por la CDC miniatura (25,61 %), Pirbright (6,08 %) y Rieb (4,98 %). Sin embargo, la trampa que más diversidad de especies captura es la Rieb, que capturó 13 especies diferentes, seguida de la Onderstepoort y la Pirbright con 12 y la CDC miniatura, con 7 especies capturadas. Esta prueba también se realizó en la estación de invierno testando además de las anteriores, la trampa BG-centinela. En este caso la trampa que capturó más ejemplares siguió siendo la Onderstepoort, con un 50,96 % de las capturas, seguida por la CDC miniatura (25,75 %), BG-centinela (16,31 %), Rieb (4,27 %) y Pirbright (2,71 %). En cuanto a la variedad de especies capturadas, la que mayor número detectó fue la Onderstepoort (13), seguida de la BG-centinela (12), CDC miniatura (10), Pirbright (10) y Rieb (6). Con estos resultados, podemos llegar a la conclusión que las trampas CDC miniatura son 2,5 veces menos efectivas que las Onderstepoort.

En otro estudio similar, realizado en las islas Baleares (España), Del Río *et al.* (2013) obtienen resultados similares al estudio anterior, si bien no encontraron diferencias significativas en la media del número de capturas entre las dos trampas

que más dípteros capturaron (la Onderstepoort y la CDC miniatura). Además, éstas son las únicas dos trampas que capturan las 10 especies de *Culicoides* detectadas en este estudio, mostrando diferencias significativas en el número de capturas con las otras dos trampas analizadas (Pirbright y Rieb). Por tanto, sus autores concluyen que las principales trampas para la captura de *Culicoides* en esos ecosistemas fueron la Onderstepoort y la CDC miniatura.

Además si analizamos el sexo de los *Culicoides* que atraen las trampas de luz, observamos que éstas capturan sobre todo hembras, con una proporción de machos del 0 al 8 % (Venter *et al.*, 2009a). Pudiendo ser esto debido a que los machos no son hematófagos y mueren poco después de copular y las hembras sin embargo, deben nutrirse de sangre para completar su ciclo biológico y por ello son más atraídas (Archana *et al.*, 2016). No obstante, en muchos casos este índice de recolección está muy reducido por la competencia que tienen los animales de las explotaciones con las trampas (Venter *et al.*, 2009a). A pesar de ello, en otros estudios sitúan el ratio hembras/macho entre 1,02 y 1,08 a partir de la captura de larvas (González *et al.*, 2013), lo que demuestra que las hembras resultan más atraídas por las trampas de luz y que estas grandes diferencias hembra/macho no se producen en la naturaleza.

En cuanto al estado gonotrófico de las hembras observamos que para *C. imicola* en Sudáfrica en invierno éstas se distribuyen en nulíparas (75-85 %), paras (20-25 %), con sangre (0,5 %) y con huevos (0,5 %), y sin embargo, en verano estos porcentajes varían en nulíparas (50-55 %), paras (40-45 %), con sangre (0,5 %) y con huevos (0,5 %) (Venter *et al.*, 2009a). Esta división de las hembras es muy interesante ya que se cree que las hembras paras son las únicas implicadas en la transmisión de los orbivirus, debido a la necesidad de un proceso de replicación dentro de éstas, de hecho en ciertos estudios, sólo se ha detectado a las hembras paras como portadoras del virus (Kramer *et al.*, 1990; Venter *et al.*, 2009a).

En otro estudio sobre la eficacia de distintos tipos de trampas, que se realiza en el norte de España por Gerry *et al.* (2009), indican que si comparamos el método de captura de absorción en ovino con los métodos de trampas por luz, existe escasa diferencia en el número de capturas, pero sí se observa que mediante la absorción en ovino solamente se capturan hembras, mientras que en las trampas de luz se captura un pequeño porcentaje de machos. Además, también se evidencia que las especies capturadas son diferentes en cada uno de los métodos. En este mismo estudio, comparando también las trampas de CO₂, se llega a la conclusión que el número de capturas es muy bajo y, además, solamente se capturan hembras. En otro ensayo en Sudáfrica, realizado por Scheffer *et al.* (2012), evidencian un mayor

número de ejemplares capturados y de variedad de especies en las trampas de luz con respecto a la técnica de aspiración en ovino.

En relación a las especies capturadas, vemos que especies como *C. circumscriptus* se captura casi en su totalidad en las trampas de luz, excepto en las trampas con CO₂, posiblemente debido a que esta especie se alimenta principalmente de aves (Braverman and Linley, 1994) produciendo la trampa mayor cantidad de CO₂ de lo que producen las aves y por tanto, reduciéndose su atracción. Otras especies como *C. obsoletus* se capturó aproximadamente en un 95 % en el cebo vivo, por lo que la trampa de UV no sirve para estimar el índice real de picadura en ovino para esta especie (Gerry *et al.*, 2009). Esto contrasta con el trabajo de Carpenter *et al.* (2008), en el cual se capturan un mayor número de ejemplares de esta especie en trampas de luz que el cebo ovino, aunque esto puede ser debido a diferencias en el lugar o en la metodología utilizada. Estos estudios resultan de gran importancia en especies que son más activas durante las horas del día, como es el caso de *C. actoni* (Bellis *et al.*, 2004) o *C. yukonensis* y *C. obsoletus* (McCreddie *et al.*, 1985). Sin embargo, en otros casos, como en el de *C. imicola*, las trampas de luz sobrestiman el índice de picadura de esta especie frente al cebo ovino (Scheffer *et al.*, 2012).

En general las trampas de luz se consideran un instrumento muy útil para la epidemiología de estos vectores, aunque es de gran interés realizar muestreos con cebo vivo para poder interpretar de un modo más adecuado lo que capturamos en las trampas (Scheffer *et al.*, 2012). En muchos casos el CO₂ se usa como un complemento a la luz, para aumentar el número de capturas, así como el número de especies.

Factores de influencia en las capturas.

Dentro de las características de las trampas que se analizaron, pueden realizarse variaciones como la elección de luz blanca o luz ultravioleta. En este sentido, estudios como el de Venter and Hermanides (2006) llegan a la conclusión de que la luz ultravioleta es más efectiva para la captura de *C. imicola* y captura mayor variedad de especies que la luz blanca.

La altura también es un factor a la hora de colocar la trampa, ya que de ello puede depender el número de capturas, así como el porcentaje de especies a capturar. En un trabajo de Venter *et al.* (2009b), donde se analizan trampas dispuestas a 4 alturas diferentes (0,6 m, 1,4 m, 2,2 m y 2,8m), se determina que, a mayor altura se obtiene un mayor número de capturas de *Culicoides*. Sin embargo, en la menor de las alturas el porcentaje de *C. imicola* con respecto a las demás especies es mayor. Aunque es de reseñar, que otros autores como Braverman and

Linley (1993) capturan *C. imicola* con trampas a 26 metros sobre el nivel del suelo. Dentro de la altura de la trampa hay que tener en cuenta tanto la zona geográfica de muestreo como el ecosistema a muestrear (Venter *et al.*, 2009b).

Además, es de gran interés el lugar donde se establece la trampa, ya que dos de los principales factores a tener en cuenta que afectan a la probabilidad de captura de *Culicoides* son la humedad y la distancia a granja (Meiswinkel *et al.*, 2004; Kaufmann *et al.*, 2009; Tschuor *et al.*, 2009; Aybar *et al.*, 2010; Venter *et al.*, 2011; Pérez *et al.*, 2012). Esto es así debido a que las larvas pueden criarse en el estiércol de las explotaciones y necesitan una elevada humedad para que éstas lleven a cabo su desarrollo (Meiswinkel *et al.*, 2004; Uslu and Dik, 2010), hasta tal punto que se han hallado larvas de *C. imicola* en las zonas de goteo de mangueras de riego (Mellor and Pitzolis, 1979). No obstante, se debe tener en cuenta que cuando la humedad es muy elevada debido a la lluvia, el vuelo de estos insectos se ve muy reducido.

También se ha relacionado la presencia de hospedadores de los que alimentarse, con el número de *C. imicola* capturados en las trampas (Meiswinkel *et al.*, 2004; Venter *et al.*, 2011). De hecho, se ha demostrado que si se comparan trampas colocadas en el exterior y en zonas interiores de las granjas, el número de *Culicoides* capturados es muy superior en las zonas interiores (Romón *et al.*, 2012). Lo que parece evidente, es que existe una relación entre el número de animales de una explotación y la captura de *Culicoides*, es decir, a un mayor número de animales se obtendrá un mayor número de capturas (García-Saenz *et al.*, 2011).

En relación a la localización de las trampas en las explotaciones, en un estudio realizado por González *et al.* (2013) determinan la presencia de *Culicoides* en diferentes lugares de una explotación. En el caso de *C. obsoletus*, se producen la mayor parte de las capturas dentro de distintos tipos de abono (estiércol compostado, estiércol mezclado con materia orgánica y estiércol fresco). En contraste con lo anterior, las larvas de *C. scoticus* y *C. lupicaris* se asocian con el suelo sustancialmente compuesto de hojarasca en descomposición, la cual incluía la planta parásita *Lathraea clandestina*. Varias especies de *Culicoides*, como *C. festivipennis*, *C. punctatus* y *C. brunnicans*, son muy comunes en el barro en los márgenes del bebedero. De hecho, es en los microhábitats del estanque y en la escorrentía debajo de los tejados del granero, donde se reporta la mayor riqueza de especies. En el hábitat de la charca, el 49,4 % de los especímenes surgieron de barro en el borde del agua, 50 cm por encima de la línea de flotación se encontraron el 32,4 % y 1 metro por encima el 18 %. La riqueza de especies es similar, pero se observan entre estas diferentes zonas muestreadas en la charca diferencias estadísticamente significativas en relación a la abundancia total. En cuanto a la

profundidad, en general la mayoría de las larvas se encuentran en la capa superior (0-3 cm), excepto en el estiércol, donde prefieren las capas más profundas (> 6 cm).

Otro factor a tener en cuenta es la temperatura, Ortega *et al.* (1999) nos indican que la temperatura máxima y mínima, respectivamente, para la actividad de los insectos adultos era aproximadamente entre 18°C y 38°C para *C. imicola*, 12°C de temperatura mínima para *C. newsteadi*, 14°C para *C. circumscriptus*, y entre 14°C y 32°C para la generalidad del género *Culicoides*. Esto indica que a pesar que los huevos y larvas puedan sobrevivir a bajas temperaturas (4-6°C) durante varias semanas (Hunt and Tabachnick, 1995; Bishop *et al.*, 1996), los adultos dejan de volar con las primeras heladas (Purse *et al.*, 2015).

En cuanto a la estacionalidad, Ortega *et al.* (1999) determinan que en Andalucía el pico de captura de *C. imicola* se produce en junio. Sin embargo, otros estudios en esta misma zona como el de Ortega *et al.* (1997), lo sitúa entre septiembre-octubre, resultado similar al que obtiene Miranda *et al.* (2004) en Baleares. No obstante, para *C. newsteadi* el pico de capturas se produce en mayo, y para *C. circumscriptus* se produce en junio (Ortega *et al.*, 1999) en Andalucía, siendo este pico en la misma época en Castilla-La Mancha, donde se captura de marzo a diciembre (Alarcón-Elbal *et al.*, 2016), destacando esta especie por su facilidad para adaptarse a diferentes ecosistemas. En el caso de *C. obsoletus*, en las islas Baleares, se muestra una mayor frecuencia entre abril y junio (Miranda *et al.*, 2004). Esta mayor presencia primaveral coincide con otros estudios en el suroeste español (Ortega *et al.*, 1998, 1999) y en Cataluña (Sarto i Monteys and Saiz-Ardanaz, 2003). Aunque, Arenas-Montes (2013) indica para esta especie, que en Andalucía las densidades más elevadas se encuentra en épocas de temperaturas frías o bien en lugares de una altitud elevada (superiores a los 1.000 msnm).

En el País Vasco, González *et al.* (2013) sitúan los picos máximos de abundancia en los meses de verano, tanto en las trampas de luz como en muestras de suelo, mientras que el aumento de las capturas en otoño era percibido sólo en trampas de luz. Ambos sistemas de captura no lograron recolectar *Culicoides* adultos en los meses más fríos de diciembre, enero y febrero.

En Extremadura *C. imicola* empieza a volar entre mayo-junio hasta noviembre-diciembre y su pico de abundancia aparece entre agosto y octubre. *C. obsoletus* muestra mayor actividad estacional en los meses de abril, mayo, junio y julio, siendo también junio el mes de mayor número de capturas. *C. pulicaris* tiene una distribución similar a la de *C. obsoletus* con presencia en los meses mayo, junio y julio y con el pico de capturas en junio (Sánchez-Murillo *et al.*, 2011).

Además, se ha demostrado que factores como la temperatura, la humedad relativa y la altitud son elementos importantes a la hora de determinar la densidad de los *Culicoides* (Racloz *et al.*, 2008). En relación a la altitud, en diferentes estudios realizados en Suiza (Kaufmann *et al.*, 2009, 2012; Tschuor *et al.*, 2009), se ha determinado que este factor provoca una clara variación en las especies de *Culicoides* capturadas. Siendo, el grupo *Obsoletus* predominante a alturas inferiores a 2000 metros y *C. pulicaris* a mayores altitudes. Esta última especie es frecuente en países del norte de Europa (Nielsen *et al.*, 2010; Ander *et al.*, 2012) y, por tanto, está más adaptadas a temperaturas frías.

En otros trabajos, en este caso en Italia, como el de Purse *et al.* (2004), se destaca que el factor más importante para *C. obsoletus* y *C. newsteadi* es la temperatura, mientras que para *C. imicola* y *C. pulicaris* era tener zonas húmedas y boscosas para realizar el proceso de cría. Esto último está en contra de lo que nos indicaban Conte *et al.* (2007), quienes determinan la presencia de *C. imicola* en zonas de escasa vegetación, debido a la necesidad de áreas soleadas de cría. Este hecho coincide con otros trabajos sobre las zonas de cría de esta especie (Braverman *et al.*, 1974; Meiswinkel *et al.*, 2004). Asimismo Conte *et al.* (2007), indican que los parámetros más adecuados para *C. imicola* son una altitud 207.5 metros y una temperatura mínima de 16,9°C frente a los 587.1 metros y 14,2°C para el complejo *Obsoletus*. Algo similar ocurre en la isla de Cerdeña, donde *C. imicola* no se captura a altitudes de más de 420 metros, mientras que otras especies con mayor plasticidad o con mayor adaptación a temperaturas frías como *C. newsteadi*, el complejo *Obsoletus* o sobre todo *C. pulicaris* se capturan a 980 metros (Foxi *et al.*, 2016). No obstante, otros autores sitúan la presencia del complejo *Obsoletus*, a zonas boscosas de elevada densidad arbórea (De Liberato *et al.*, 2010).

Debemos tener en cuenta que la importancia de estos factores va a depender de la zona de estudio. Por ejemplo, se ha determinado que en la isla de Cerdeña el factor más importante en la presencia de *C. imicola* es la altitud, mientras que en la región de la Toscana es la temperatura media anual (Ippoliti *et al.*, 2013). En este sentido en Rumania (Dascălu *et al.*, 2007), también detectan como factores de influencia la humedad relativa, la velocidad del viento y la temperatura, siendo el más influyente este último.

En Escocia *C. obsoletus* y *C. pulicaris* aparecen ampliamente distribuidas, sin mostrar una clara influencia por los factores climáticos. No obstante, *C. impunctatus*, tiene preferencia por las zonas de pastos y además, parece la especie mejor adaptada al frío (Purse *et al.*, 2012). Aunque, en un estudio realizado en Dinamarca (Kirkeby *et al.*, 2013) para estas mismas especies, hallan que la humedad relativa es un factor que influye positivamente en las capturas de

Culicoides, situándose la temperatura media más adecuada alrededor de 16°C, mientras que las precipitaciones o un viento racheado en el momento de captura, tienen una influencia negativa. Sin embargo, la velocidad del viento no produjo variación alguna en los ejemplares detectados, estando esto en contra de lo que indican Carpenter *et al.* (2008), quienes determinan que un viento de más de 3 m/s es un factor negativo para la captura de estos dípteros.

En este sentido, en Senegal (Diarra *et al.*, 2015) evidencian que *C. imicola* se ve relacionado negativamente con los factores temperatura, humedad relativa, precipitaciones e índice de vegetación, aunque estos factores tienen una mayor influencia los días antes de realizarse el trapeo. Este hecho parece estar relacionado con las inundaciones de sus lugares de cría de esta especie.

En otro trabajo realizado por Baylis and Rawlings (1998) en Marruecos y en diferentes zonas de la península ibérica, llegan a la conclusión de que el viento es un factor negativo para la presencia de *C. imicola*, ya que en muchas ocasiones puede matar a los adultos. Sin embargo, la vegetación es un factor positivo para la captura de éstos, ya que puede proporcionar áreas de cría y protección.

En Europa los requerimientos para la presencia de *C. imicola* (Purse *et al.*, 2007) se sitúan en unas temperaturas medias de entre 12 y 20°C, que raramente bajen de 9°C de media en invierno y con al menos tres meses por encima de 23°C de temperatura media. Las precipitaciones más adecuadas serán de 0-400 mm en verano y de 120mm a 1200mm en invierno.

En España existen trabajos (Calvete *et al.*, 2008b) que indican que el factor más importante para la presencia de *C. imicola* y el grupo *Obsoletus*, es la temperatura media, seguido de factores como el índice de vegetación o las precipitaciones. Esto está de acuerdo con Verhoef *et al.* (2014), quienes señalan la temperatura como un factor primordial. Sin embargo, otros estudios más recientes (Ducheyne *et al.*, 2013), señalan como el factor más importante para la presencia de *C. imicola* y *C. obsoletus* s.l. las lluvias de verano, y la temperatura para *C. pulicaris*. Otros trabajos como el de Acevedo *et al.* (2010) también concluyen que el elemento de mayor importancia para *C. imicola* son las condiciones topoclimáticas (especialmente temperatura y precipitaciones), si bien, del mismo modo, dan importancia a la presencia de sus hospedadores tanto domésticos como silvestres.

2.2 Miasis traumáticas.

2.2.1 Introducción.

La primera definición de miasis la encontramos en Hope (1840) describiéndola como “aquel proceso patológico que se refiere a la infestación de cualquier órgano de un hospedador vertebrado con estadios larvarios de dípteros”. Sin embargo, una de las definiciones más aceptadas del término “miasis” es la de Zumpt (1965), indicando que es una “infestación de animales vertebrados y humanos con larvas de dípteros, las cuales, por lo menos durante cierto período de tiempo, se alimentan de tejidos vivos o muertos del hospedador, líquidos corporales o alimentos ingeridos”. Desde el punto de vista ecológico, se podría definir como “la utilización de tejidos animales vivos como hábitat para completar su ciclo biológico por parte de determinadas especies de dípteros”. La revista “New York Entomological Society” las define como “enfermedades o heridas causadas por el ataque de dípteros” (Cordero del Campillo and Rojo, 1999).

A nivel mundial se presentan una gran variedad de tipos de miasis, hospedadores afectados y localizaciones preferentes. Existen unas 20 familias con representantes productores de miasis, que aglutinan unos 100 géneros y unas 400 especies (James, 1947; Zumpt, 1965; Teskey, 1981). El siguiente cuadro (Tabla 3) recopila las especies de dípteros productoras de miasis en España (Cordero del Campillo and Rojo, 1999; Soler-Cruz, 2000).

Podemos realizar una clasificación de las miasis atendiendo fundamentalmente a tres criterios:

Según el modo de alimentación larvaria. Conforme a este criterio existirían miasis obligatorias o específicas, y miasis facultativas o accidentales. Las miasis obligatorias están ocasionadas por especies que necesitan obligatoriamente un hospedador para poder desarrollar sus fases larvarias y completar su ciclo. Las miasis facultativas (o semiespecíficas) están originadas por especies necrófagas (se alimentan de cadáveres) y/o saprófagas (se alimentan de materia orgánica en descomposición), que de manera ocasional pueden invadir tejidos de animales vivos.

Tabla 3. Cuadro de especies productoras de miasis en España (Cordero del Campillo and Rojo, 1999; Soler-Cruz, 2000).

ESPECIE	DISTRIBUCIÓN	HOSPEDADOR	TIPO MIASIS
<i>Calliphora erythrocephala</i>	(ver <i>C. vicina</i>)	(<i>C. vicina</i>)	(<i>C. vicina</i>)
<i>C. vicina</i> (Syn. <i>C. erythrocephala</i>)	toda la península	hombre, animales domésticos	accidental, invasor secundario y terciario
<i>C. vomitoria</i>	toda la península	hombre, animales domésticos	accidental, nasal, bucal y sinusal
<i>Chrysomya albiceps</i>	Granada	hombre (cadáveres)	accidental, traumática
<i>C.a. flaviceps</i>	Huesca	Desconocido	-----
<i>Eristalis arbustorum</i>	-----	-----	-----
<i>E. diminuta</i>	toda la península	Mamíferos	Accidental
<i>E. tenax</i>	toda la península	Hombre	Accidental
<i>Gasterophilus equi</i>	(ver <i>G. intestinalis</i>)	(<i>G. intestinalis</i>)	(<i>G. intestinalis</i>)
<i>G. flaviceps</i>	(ver <i>G. haemorrhoidalis</i>)	(<i>G. haemorrhoidalis</i>)	(<i>G. haemorrhoidalis</i>)
<i>G. haemorrhoidalis</i> (Syn. <i>G. flaviceps</i>)	Sevilla, Córdoba, Madrid, Salamanca	caballo, asno, mulo	Obligatoria
<i>G. inermis</i>	Córdoba	caballo, mulo	Obligatoria
<i>G. intestinalis</i> (Syn. <i>G. equi</i>)	Álava, Burgos, Cáceres, Córdoba, León, Madrid, Mallorca, Salamanca, Segovia	Caballo	Obligatoria
<i>G. meridionalis</i>	(ver <i>G. nigricornis</i>)	(<i>G. nigricornis</i>)	(<i>G. nigricornis</i>)
<i>G. nasalis</i>	(ver <i>G. veterinus</i>)	(<i>G. veterinus</i>)	(<i>G. veterinus</i>)
<i>G. nigricornis</i> (Syn. <i>G. meridionalis</i>)	toda la península	Caballo	Obligatoria
<i>G. pecorum</i>	Burgos, Cáceres, Castellón, Córdoba	Caballo	Obligatoria
<i>G. veterinus</i> (Syn. <i>G. nasalis</i>)	Córdoba	caballo, mulo	Obligatoria
<i>Helophilus pendulus</i>	sin precisar	Mamíferos	Accidental
<i>Hermetia illucens</i>	Alicante, Lérida, Tenerife, Valencia	Hombre	accidental, intestinal
<i>Hypoderma bovis</i>	toda la península	vacuno, equino, hombre	Obligatoria
<i>H. diana</i>	Cáceres, Ciudad Real, Córdoba	ciervo, corzo	Obligatoria
<i>H. lineatum</i>	Badajoz, Córdoba, Salamanca, Soria, (Asturias, Málaga, Vizcaya?)	vacuno, ciervo, hombre	Obligatoria
<i>Lucilia ampullacea</i>	Asturias, Cantabria, Huesca, Granada, Pontevedra	Desconocido	Accidental
<i>L. caesar</i>	toda la península	Mamíferos	Accidental
<i>L. illustris</i>	Asturias, Cantabria, Huesca, Pontevedra	Desconocido	-----
<i>L. sericata</i>	(ver <i>Phaenicia sericata</i>)	(<i>Phaenicia sericata</i>)	(<i>Phaenicia sericata</i>)
<i>Megaselia rufipes</i>	-----	-----	Traumática
<i>M. scalaris</i>	toda la península	Mamíferos	accidental, ocular
<i>Oestrus ovis</i>	toda la península	ovejas, cabras, hombre	obligatoria, nasal, bucal, sinusal, auricular, ocular
<i>Phaenicia richardsi</i>	Barcelona, Cantabria, Huesca, Madrid, Navarra, La Rioja	Desconocido	-----
<i>P. sericata</i> (Syn. <i>L. sericata</i>)	toda la península	oveja	Accidental

ESPECIE	DISTRIBUCIÓN	HOSPEDADOR	TIPO MIASIS
<i>Pharyngomyia picta</i>	Cáceres, Ciudad Real, Córdoba, Jaén, Toledo	ciervo	Obligatoria
<i>Phormia regina</i>	toda la península	Mamíferos	accidental, traumática
<i>Phryne fenestralis</i>	toda la península	Mamíferos	Accidental
<i>Phiophila casei</i>	toda la península	Hombre	Accidental
<i>Psychoda albipennis</i>	-----	-----	-----
<i>P. alternata</i>	sin precisar	Hombre	Accidental
<i>Rhinoestrus nasalis</i>	(ver <i>R. purpureus</i>)	(<i>R. purpureus</i>)	(<i>R. purpureus</i>)
<i>R. purpureus</i> (Syn. <i>R. nasalis</i>)	Andalucía	bóvidos, équidos, (hombre?)	obligatoria, nasal, bucal, sinusal, auricular, ocular
<i>Sarcophaga carnaria</i>	toda la península	oveja, (hombre?)	accidental, nasal, bucal, sinusal, ocular, anal, vaginal
<i>S. haemorrhoidalis</i>	toda la península	Hombre	accidental, anal, vaginal
<i>Sepsis</i> sp.	sin precisar	Hombre	Accidental
<i>Teichomyza fusca</i>	sin precisar	Hombre	Accidental
<i>Thelmatoscopus meridionalis</i>	Barcelona	Hombre	Accidental
<i>Wohlfahrtia bella</i>	Canarias	Desconocido	Obligatoria
<i>W. magnifica</i>	menos en el norte de la península	Mamíferos	obligatoria, traumática

Según la localización orgánica de la miasis. Desde este punto de vista, hablamos de *miasis profundas* (Figura 39), aquellas en el que el agente etiológico coloniza los tejidos, penetrando activamente en el organismo del hospedador y ocupando territorios oculares, nasofaríngeos, oftálmicos, urogenitales o intestinales, y de *miasis cutáneas* (Figura 40). En estas últimas, las larvas se sitúan entre la epidermis y la dermis.

Según la capacidad biológica del parásito. Podemos entonces diferenciar entre invasores primarios, aquellos que pueden entrar a través de la piel intacta o aprovechando orificios naturales del hospedador, y los invasores secundarios (o terciarios), que aprovechan discontinuidades traumáticas de la piel o llegan al hospedador a través del alimento o la bebida (Pariente *et al.*, 2009).

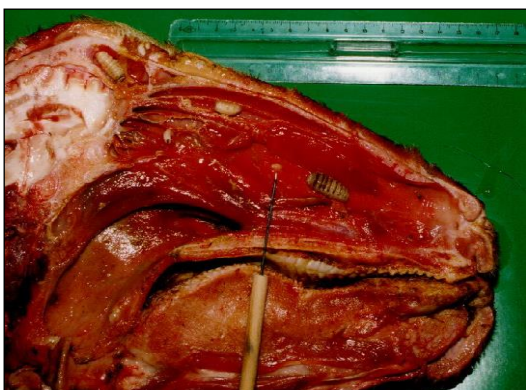


Figura 39. Miasis profunda por *Oestrus ovis*. Fuente: Blanco-Ciudad, J.



Figura 40. Miasis cutánea en vulva. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

2.2.2 Especies productoras de miasis.

Los dípteros son uno de los cuatro órdenes de insectos con mayor número de especies conocidas. Se conocen más de 120.000 especies repartidas en unas 190 familias. Sin embargo, las principales especies causantes de miasis cutáneas en Europa se encuadran taxonómicamente dentro de las familias Muscidae, Fanniidae, Oestridae, Calliphoridae y Sarcophagidae (Francesconi and Lupi, 2012).

En la península ibérica son muy escasos los estudios sobre la identificación taxonómica de las especies implicadas en las miasis cutáneas del ganado. Por ello, la mayor parte de las listas de especies que aparecen en textos y manuales, se refieren a otros países o no están actualizadas y son incompletas. Los estudios que se han llevado a cabo en España, ponen de manifiesto que las principales especies productoras de miasis cutáneas pertenecen a los géneros de la familia Sarcophagidae: *Wohlfahrtia* (fundamentalmente *W. magnifica* (Figura 41) y *Sarcophaga*; y en menor grado a los de la familia Calliphoridae: *Lucilia* (generalmente *L. sericata* (Figura 42) y *Calliphora*.

Los adultos o imagos son moscas relativamente grandes (1-1,5 cm), de coloración variada (muchos califóridos presentan colores metálicos, pero los sarcófágidos suelen poseer tonalidades grisáceas no metálicas). El cuerpo se divide en tres regiones: cabeza, tórax y abdomen. Poseen únicamente dos alas adaptadas para el vuelo y piezas bucales con aparato bucal chupador.



Figura 41. Ejemplar de *W. magnifica*.
Fuente: Blanco-Ciudad, J.



Figura 42. Ejemplar de *L. sericata*.
Fuente: Blanco-Ciudad, J.

Las especies miásicas no pican ni succionan sangre, pero pueden alimentarse en heridas y secreciones diversas. Estructuras de especial valor taxonómico son: las estructuras cefálicas (antenas, ojos y ocelos), zonas del tórax, la venación alar (Figura 43), el diseño del patrón abdominal y la quetotaxia (disposición del conjunto de setas o “pilosidad” presente en todo el cuerpo). En ocasiones, es además imprescindible el estudio de la genitalia (estructura genital masculina).

Las larvas maduras pueden alcanzar hasta los 2 cm. de longitud. Presentan sensilias y anillos de espinas en todo el cuerpo, piezas bucales (esqueleto cefalofaríngeo) (Figura 44) y espiráculos respiratorios anteriores y posteriores, con importancia en la identificación taxonómica. La distribución corporal y morfología de estas estructuras es característica según los géneros y especies, siendo necesario su conocimiento para la identificación de las especies.



Figura 43. Venación alar de un sarcófago. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

Cuando la larva alcanza su máximo desarrollo deja de alimentarse y se transforma en pupa. La parte externa del exoesqueleto de la larva se endurece

formando el *puparium* que obviamente retiene algunas características morfológicas de las larvas maduras. La pupa presenta diferentes tonalidades a lo largo de su desarrollo así como en función de las especies (Figura 45) (Pariente *et al.*, 2009).



Figura 44. Detalle de los ganchos bucales de una larva de díptero. Fuente: Blanco-Ciudad, J.



Figura 45. Pupa de *W. magnifica* tras la emergencia del imago. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

2.2.2.1 *Wohlfahrtia magnifica* (Schiner, 1862).

Son dípteros grandes y estilizados, de coloración grisácea y vuelo potente con un zumbido característico.

Los imagos son de cabeza mediana, de color gris, con macrosetas negras definiendo la frente y dejando un canal entre ambas hileras. Ojos de color rojo intenso. Aparato bucal lamedor-chupador. El tórax es de color gris oscuro con tres bandas muy patentes longitudinales. La pilosidad del mesonoto es de color negro. Patas largas, negras y muy peludas. El abdomen es de color blanco-grisáceo cubierto con características manchas redondeadas por pares en cada terguito abdominal, que sirve como taxón para diferenciar al género *Wohlfahrtia* del género *Sarcophaga* cuyo abdomen presenta una distribución de las manchas en forma de ajedrez (Figura 46 y Figura 47). La longitud corporal es de 8-14 mm (Seguy, 1941; Ruiz-Martínez *et al.*, 1992g; Pérez *et al.*, 1997). Tras una compleja interacción entre pautas de defensa del hospedador y el ataque a cargo de las hembras grávidas, éstas logran depositar unas 42 larvas como promedio (Ruiz-Martínez *et al.*, 1992b), que rápidamente barrenan la piel del hospedador aprovechando heridas (Diakakis *et al.*, 2006) u orificios naturales (Farkas *et al.*, 1997), en hospedadores con una buena salud aparente (Hall and Wall, 1995), aunque también son atraídos por heridas (Hall and Wall, 1995), completando su desarrollo postembrionario en 5-6 días (Ruiz-Martínez *et al.*, 1992c).



Figura 46. Imago del *G. Sarcophaga*.
Fuente: Blanco-Ciudad, J.



Figura 47. Imago del *G. Wohlfahrtia*.
Fuente: Blanco-Ciudad, J.

Las larvas de primer estadio (L1) tienen una longitud de 2,5-4,5 mm, con un cuerpo densamente poblado de espículas visibles a simple vista, organizadas en líneas transversales. Ganchos bucales en tridente y boca en forma de “U”.

Las larvas de segundo estadio (L2) alcanzan una longitud de 3,5-8,5 mm, con espiráculos anteriores de 4-6 hendiduras, con espículas corporales fuertes, cubriendo la totalidad de los segmentos 7° y 8° (Pérez *et al.*, 1997).

Las larvas de tercer estadio presentan numerosas espículas, negras y afiladas, con una longitud corporal de 5,7-21,5 mm. Los espiráculos anteriores tienen de 4 a 6 hendiduras y una placa peritremal posterior cerrada con tres hendiduras perimetrales divergentes (James, 1947; Pérez *et al.*, 1997) (Figura 48). Las larvas de tercer estadio (L3) o larvas en fase postalimentaria abandonan la herida y caen al suelo aprovechando las horas de descanso del hospedador. Una vez en el suelo, profundizan entre 5 y 60 centímetros (dependiendo de la textura del suelo), buscando condiciones favorables donde realizar la metamorfosis pupal (Ruiz-Martínez, 1990).



Figura 48. Detalle de las placas peritremales de *W. magnifica*. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

La fase o estado de pupa supone la mejor adaptación a las condiciones climáticas tan variables imperantes en el Paleártico, pues si éstas no son propicias, las pupas pueden permanecer en reposo entre 2 y 8 meses, que es lo que se conoce con el nombre de diapausa estacional (Ternovoy, 1982). El estudio de esta fase del desarrollo del díptero es de vital importancia, siendo imprescindible su conocimiento para futuras técnicas de producción en masa, formando parte de la técnica de control del “macho estéril”, ensayada en otros dípteros parásitos con gran éxito (Graham, 1985). Resultados de diversos estudios ponen de manifiesto que en *W. magnifica* pueden ser reconocidos con claridad 9 estadios durante la pupación (Díaz-López and Ruiz-Martínez, 1996):

- Prepupa Blanca (P1). - Fase alcanzada por la larva 3 (L3) tras alcanzar el lugar de enterramiento en el suelo, donde se contrae e inmoviliza. Su edad es de 0-2 horas desde su inmovilización.
- Prepupa Oscura (P2). - Comienza a oscurecerse por efecto de la esclerotización. Aquí se concluye la formación del *puparium* (Fraenkel and Bhaskaran, 1973) y se inicia la pupación propiamente dicha.
- Pupa Criptocefálica (P3). - Transcurridas 32 y 36 horas desde la inmovilización de la L3, tiene lugar la apólisis larva-pupa (muda pupal).
- Pupa Fanerocefálica (P4). - 10-12 horas después se completa la eversión de la cabeza y los apéndices torácicos. En esta fase se observa plenamente desarrollado entre las 40-50 horas (2 días).
- Adulto Faral (P5). - Desde el estado de pupa fanerocefálica no hay muchos cambios morfológicos reseñables hasta el 6º día de metamorfosis pupal (140-150 h.).
- Ojos Amarillos (P6). - El siguiente cambio destacable de la morfología externa del adulto es el color de los ojos compuestos. Este proceso sucede en torno a los 8 días después de la inmovilización.
- Ojos Rojos (P7). - Se produce la pigmentación de los ojos hasta obtener el color rojo brillante característico del adulto. Este proceso tiene lugar alrededor de los 9 días de iniciación de la pupación.
- Sedas Oscurecidas (P8). - Alrededor de los 10 días de pupación, todas las sedas son de color pardo, exceptuando unas pocas del segmento distal de las patas y segmento abdominal, que son de color negro. La genitalia externa está aún sin oscurecer.

- Genitalia Oscurecida (P9). - A los 11 días aproximadamente de metamorfosis, el adulto faral ha completado todos sus cambios morfológicos (Figura 49).

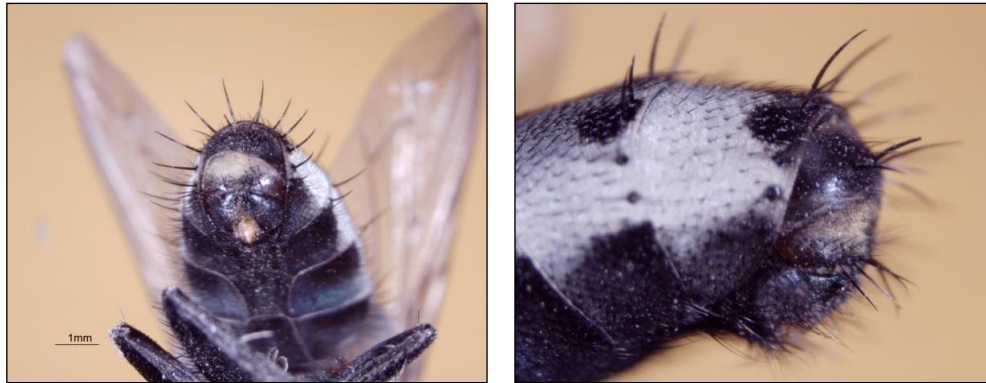


Figura 49. Detalles de la genitalia de *W. magnifica*. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

2.2.2.2 Otras especies.

La especie de díptero causante de las miasis va a estar condicionado por la zona geográfica y sobre todo climatológica. Respecto a esto, Hall (1997) realiza una revisión de los agentes causantes de miasis en Europa, situando a *W. magnifica* como el principal agente en el sur y este del continente, a *L. sericata* en las latitudes medias y a *L. caesar/illustris* en las zonas del norte de Europa. Esto concuerda con un trabajo realizado en Escocia (Morris and Titchener, 1997), quienes encuentran que la especie más común en las miasis es *L. sericata*, apareciendo en un 77 % de los casos, seguida de *L. caesar* y *P. terraenovae*, lo que demuestra la capacidad miásica de este último díptero en el norte de Europa.

2.2.3 Epidemiología de las miasis.

El ciclo de vida de los dípteros es holometábolo, es decir, sufren una metamorfosis completa, compuesta de cuatro etapas sucesivas: el huevo, la larva, la pupa y el adulto (Figura 50). Las especies causantes de miasis cutáneas pueden completar este ciclo en algo menos de dos semanas. El adulto (preferentemente a finales de primavera, principios de verano y comienzos de otoño) pone masas de huevos en las heridas de los hospedadores, en puestas de entre 50 y 300 huevos. Sin embargo, las especies de la familia Sarcophagidae son ovovivíparas, es decir que las hembras depositan directamente larvas de primer estadio sobre las heridas, y por tanto el número es más reducido. Todas las especies de dípteros miásicos pasan por tres estadios larvarios antes de la pupación. De todas formas, el desarrollo de las L1, cuando son muy numerosas estará limitado por el proceso de competencia larvaria, estando descrito que en infecciones de más de 300 larvas, la mortalidad y la

reducción del tamaño van a incrementarse según aumenta la densidad de éstas (Smith and Wall, 1997).



Figura 50. Ciclo biológico de un díptero productor de miasis. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

Las características del ciclo biológico de la wohlfahrtiosis (miasis producida por el agente etiológico *W. magnifica*), se inicia con una pequeña migración de las L1 penetrando en el epitelio del hospedador. Si no existiera herida o trauma en la piel que facilitase la penetración, se produce un agrupamiento en focos larvarios, normalmente 1 o a lo sumo 2 en la piel intacta, o agrupándose en una miasis ya establecida por larvas en otras fases de desarrollo (Pérez *et al.*, 1997). La tendencia a formar grupos larvarios es absoluta, y tal es así que implantar larvas aisladas experimentalmente supone inducir una mortalidad superior al 90 % en las mismas. Las razones se pueden encontrar en la digestión extra oral que ejercitan las larvas de los dípteros productores de miasis cutáneas, y en razones de tipo energético y metabólico (Figura 51).



Figura 51. Agrupación de larvas en una miasis. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

En estos focos larvarios, las larvas, perfectamente dotadas estructuralmente para la vida parásita, perforan una cavidad semiesférica de dimensiones reducidas o se sitúan en la periferia de la miasis existente (según sean invasores primarios o una reinfestación) (Dallwitz, 1987; Ruiz-Martínez *et al.*, 1989, 1992b; d).

Tras la primera muda larvaria (entre 18-30 horas después de la iniciación del ataque) se sucede la L2, que incrementa la superficie de la excavación producida en el hospedador y mantiene una fuerte tendencia a agruparse en focos larvarios y multiplica su tamaño y peso (Ruiz-Martínez *et al.*, 1992e).

Con la segunda muda larvaria la L3 alcanza los mayores valores de longitud y peso, y es cuando la larva permanece más tiempo en el hospedador.

El tiempo total del desarrollo postembrionario se aproxima a las 140 horas (6 días) (Ruiz-Martínez *et al.*, 1992b).

La disposición de las larvas en los focos larvarios se corresponde con su tamaño o su edad, de tal modo que las L3 ocupan posiciones centrales, mientras que las L1 y L2 ocupan posiciones periféricas. El número total de larvas por foco larvario oscila entre 4 y 360, con un promedio de 127 larvas/foco (Pérez *et al.*, 1997). La tasa de mortalidad para el desarrollo larvario se acerca al 50 % (Ruiz-Martínez, 1990; Ruiz-Martínez *et al.*, 1992b; d; e). En *W. magnifica* una vez que la L3 alcanza los 80-100 mg entonces entra en la madurez (Pérez *et al.*, 1997).

La L3 una vez alcanzado su peso, abandona al hospedador y cae al suelo para enterrarse e iniciar la pupación; si las condiciones ambientales no son favorables permanece en diapausa. A partir de octubre, en el centro y sur de España, el 70-80 % de las pupas estaban en diapausa, y el 90 % en noviembre (Ruiz-Martínez, 1990).

En *W. magnifica*, la diapausa invernal es un excelente mecanismo transinvernal. Estudios llevados a cabo de forma experimental, ponen de manifiesto que el 66 % de las pupas mantenidas experimentalmente durante 5 meses a 2-0 °C sobrevivieron. Sólo cuando la diapausa se extiende más allá de 6 meses, en climas muy fríos, la supervivencia pupal se reduce por debajo del 50 %. El mecanismo que garantiza la supervivencia son dos familias de proteínas; arilforinas y vitelogeninas (Ruiz-Martínez, 1990; Díaz López, 1993). Temperaturas por encima de 21 °C (5 días) y fotoperiodos de 12 h. de luz, reactivan la metamorfosis y rompen la diapausa pupal (Ternovoy, 1982; Gnagey and Denlinger, 1984; Ternovoy and Ruiz-Martínez, 1996).

La salida del imago tras la ruptura de la pupa se realiza en no más de 5 minutos, aunque la extensión y endurecimiento de las alas requieren hasta 10 minutos (Pérez *et al.*, 1997).

Tras la salida del imago se produce un vuelo dispersivo que no suele sobrepasar los 3 km desde el origen. Los adultos sobreviven en condiciones laborales hasta 25 días, valor promedio probablemente mayor del que se da en la naturaleza (Pérez *et al.*, 1997).

Los machos establecen vigilancia alrededor de puntos de agua, sesteros y pastizales, en busca de hembras. Cuando localizan a una, se inicia una corta persecución que culmina con la cópula. En este momento, las hembras grávidas no suelen alejarse de los grupos de ganado.

Como ya se mencionó con anterioridad, *W. magnifica* es ovovivípara, depositando L1 en traumatismos o en orificios naturales del hospedador, para lo cual realizan un vuelo de acoso alrededor del hospedador.

El ciclo anual puede extenderse de abril-mayo hasta octubre-noviembre, el cual varía en función de las características climáticas y ambientales, con un mínimo de 3 meses y un máximo de 7,5 meses de actividad anual (Ruiz-Martínez and Cruz-Mira, 1994).

La frecuencia de las miasis depende de varios factores. Algunos de los factores que más influyen son las condiciones ambientales y el área geográfica. En particular, los veranos calurosos y secos favorecen el desarrollo de algunas especies, y los adultos son atraídos rápidamente por el olor que desprenden las heridas de sus hospedadores. El ganado ovino es el más propenso a padecer miasis por *W. magnifica* con diferentes prevalencias según la zona (Tabla 4), aunque también se ha encontrado en otras especies ganaderas como, cerdo, vaca, caballos, camellos (Hall and Farkas, 2000) cabras (Sotiraki *et al.*, 2003) y aves (Farkas *et al.*, 2001), e incluso en animales silvestres (Rosen *et al.*, 1998). No obstante, las miasis

pueden encontrarse en la mayoría de los vertebrados terrestres, describiéndose incluso en ranas por las especies de califóridos, *Bufolucilia silvarum* y *Bufolucilia elongata* en Wisconsin (Bolek and Janovy, 2004). Actualmente, algunos autores creen que el perro puede actuar como un reservorio de *W. magnifica* de gran importancia para el ganado y el hombre (Farkas *et al.*, 2009; Sotiraki *et al.*, 2010). Las especies miásicas obligatorias son biontófagas, es decir, se desarrollan sólo en animales vivos. En nuestras latitudes éstas se encuentran fundamentalmente dentro de la familia Sarcophagidae. Mientras que las especies causantes de miasis facultativas necesitan un sustrato con cierto grado de autolisis y de descomposición bacteriana (generalmente dentro de la familia Calliphoridae), por lo que suelen aparecer días después de las obligatorias (Pariente *et al.*, 2009).

2.2.4 **Clínica y Lesiones. Lugares de asentamiento de las miasis.**

Entre los síntomas más significativos que aparecen en los animales afectados por miasis destacan prurito local intenso, inflamación, pérdida de peso, lasitud, postración, pérdida de apetito, búsqueda de lugares oscuros y húmedos, caquexia y tendencia al aislamiento.

Los cuadros clínicos se pueden clasificar en función de la región corporal afectada. Así, podemos hablar de:

- Miasis Prepucial: se produce tumefacción y deformación de la bolsa prepucial y perforación de la mucosa. Es causa de esterilidad permanente o temporal (Figura 52).



Figura 52. Miasis prepucial en ovino. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

- Miasis Vulvar: genera erosión, destrucción, tumefacción, edema y calcificación de la mucosa vulvar. Produce deformación y esterilidad temporal (Figura 53).



Figura 53. Miasis vulvar en ovino. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

- Miasis Podal: origina destrucción de la membrana queratogena falangeal e interdigital, con edematización y alteración de los canales córneos y dificultad para andar (Figura 54).



Figura 54. Miasis podal en ovino. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

- Miasis Foruncular: produce erosión y destrucción, junto con edema y calcificación de los bordes de la lesión, pudiendo afectar a la dermis y primeros estratos musculares. Produce abscesos.
- Miasis Auricular: causa erosión, perforación, tumefacción y edematización del pabellón auditivo externo (Figura 55).



Figura 55. Miasis en el pabellón auditivo de un perro. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

- Miasis Traumática: se produce en diversas regiones del cuerpo por accidentes o traumatismos. En el ojo produce la destrucción de la córnea. También pueden aparecer en los dientes cuando se produce una pérdida de una pieza dental, en el conducto lacrimal por una lesión en el mismo, etc. (Figura 56 y Figura 57) (Pariente *et al.*, 2009).

En España prácticamente todos los estudios hasta la fecha se han realizado sobre las miasis genitales producidas por *W. magnifica* (ver por ejemplo, (Ruiz-Martínez *et al.*, 1987)). Está demostrado que las miasis prepuciales y vaginales son las más frecuentes e importantes cuando actúa esta especie (Lehrer *et al.*, 1988), describiéndose casos clínicos lo suficientemente graves como para pensar en una posterior castración del hospedador duradera o permanente en un amplio abanico de hospedadores (Ruiz-Martínez *et al.*, 1993b). Las larvas que invaden preferentemente la vaina prepucial o vulvar, se van a alimentar de tejidos externos, exudados y mucosa genital. De las miasis observadas, *W. magnifica* utiliza el ano como vía de entrada en el 74 % del total observado (sobre una muestra de 9.370 casos) (Ruiz-Martínez *et al.*, 1993b). Un macho sufre una media de 2 a 4 contactos anuales con el parásito y una hembra de 1 a 6. Sin embargo, estudios como el de Farkas *et al.* (1997) en Hungría, indican que las miasis son mucho más frecuentes en machos, con un 74,3 % de prevalencia, mientras que en hembras nos encontramos un porcentaje de animales infestados mucho menor (16,5 %). Además, se demuestra que en las miasis causadas por *W. magnifica* existe una verdadera correlación entre localización preferencial de sus larvas y el tercio posterior y ventral de sus hospedadores, que coincide con la situación de los genitales (Ruiz-Martínez *et al.*, 1993b). En otros países como Holanda, también se observa que las zonas corporales con mayor índice de miasis en ovino están situadas alrededor de la zona de la cola 69,1 %, seguida de la zona de la espalda 5,7 % (Snoep *et al.*, 2002). Asimismo, en Hungría, un 87 % de los casos estaban localizados en la zona genital (Farkas *et al.*, 1997), siendo el verano la estación donde los casos de miasis son más frecuentes, al tener unas temperaturas más elevadas y un ciclo biológico más rápido. En el caso de Holanda, el mes con mayor incidencia de miasis es agosto, cuando se produce un 47,1 % de los casos (Snoep *et al.*, 2002). En cuanto a las infestaciones mixtas, es decir por varias especies de dípteros, lo descrito en la bibliográfica es que estas son extremadamente raras en ovino, suponiendo en 0,06 % en el estudio de Farkas *et al.* (1997). Si bien, se han descrito que pueden llegar al 3 % en humano (Hu *et al.*, 2013) o incluso al 26,93 % en gansos (Farkas *et al.*, 2001) en miasis formadas por *W. magnifica* y *L. sericata*.



Figura 56. Miasis en el conducto lacrimal de un ovino. Fuente: Blanco-Ciudad, J.



Figura 57. Miasis tras la pérdida de una pieza dental. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

2.2.5 Diagnóstico y tratamiento.

El diagnóstico de una miasis cutánea es bastante sencillo, ya que las larvas maduras son visibles desde el exterior fácilmente. Suelen estar colocadas con los espiráculos respiratorios posteriores dirigidos hacia el exterior de la herida. Para conocer la especie causante de la miasis, se deben recoger las L3 y enviarlas a un laboratorio especializado para su identificación. Aunque es posible la identificación larvaria, sería recomendable lograr la emergencia del adulto en el laboratorio, ya que su identificación es mucho más sencilla y segura que las propias larvas.

Las wohlfahrtiosis son inconfundibles dentro del espectro de las posibles miasis cutáneas que nos podemos encontrar; de tal forma, que macroscópicamente podemos hablar de:

- Miasis cutáneas cerradas (con sólo un poro): se corresponderán con el agente etiológico *Hypoderma* spp. siempre se observa solo una larva de un tamaño bastante grande (más de 20 mm). Se corresponde con miasis forunculares y dérmicas.
- Miasis cutáneas abiertas: presentan un borde festoneado o irregular. Presencia de varias o muchas larvas, de tamaño inferior a 20 mm. (Figura 58). Otra característica es que el agrupamiento larvario es muy sensible al tacto, de tal modo que, al tocarlos, las larvas penetran en profundidad rápidamente. Este fenómeno no se observa en miasis cutáneas por otros agentes en España, por lo que sería patognomónico para diagnosticar wohlfahrtiosis (Meana-Máñez and González-Rodríguez, 1997).



Figura 58. Wohlfahrtiosis vulvar. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

A la hora de realizar el tratamiento debemos seguir las siguientes indicaciones:

- Eliminar las larvas mecánicamente por medio de pinzas o mediante el uso de insecticidas tópicos y/o sistémicos en pomadas o soluciones (Neguvon, Asuntol, Butacarb, Diazinon, Clorfenvifos, Cipermetrina, Deltametrina). También son eficaces las lactonas macrocíclicas (avermectinas y milbemicinas).
- Es conveniente resanar los bordes de la herida, junto con la adicción de antisépticos y antibióticos. Asimismo, se pueden usar fármacos para favorecer la cicatrización.



Figura 59. Miasis del pabellón auditivo tras la crotalización. Fuente: Blanco-Ciudad, J.



Figura 60. Tratamiento con insecticida tras la crotalización como preventivo. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

Los efectos que se persiguen con la aplicación de estos tratamientos son:

- Desalojar las larvas de la miasis. Para esto utilizaremos insecticida que nos permite eliminar las larvas y una posible reinfestación. Además, utilizaremos un desinfectante que previene una posible infección bacteriana. Uno de los agentes que mayor eficacia ha presentado frente a las larvas es el Hipoclorito sódico seguido del alcohol isopropílico, el betadine y el agua oxigenada (McIntosh *et al.*, 2011).
- Incrementar el período de protección frente a reinfestaciones.
- Reducir las tasas de prevalencia e incidencia.
- Amortiguar la patogenicidad del proceso, reduciendo la microflora asociada.
- Activar los procesos de cicatrización y restauración epitelial.

A la hora de elegir el tratamiento para tratar la wohlfahrtiosis, hay que tener en cuenta el agente antiparasitario que vamos a utilizar, debido a que no todos van a proporcionar el resultado más adecuado. Esto se debe sobre todo a la diferente durabilidad en el hospedador, que puede favorecer reinfecciones. Por ejemplo los piretroides, tales como cipermetrina, aunque son eficaces en el tratamiento, sólo proporcionan protección hasta 12 días (Sotiraki *et al.*, 2003).

Se han hecho estudios para comprobar la eficacia profiláctica de la ivermectina dando diferentes resultados, que muestran evidencia de algún grado de protección (hasta los 12 días (Ruiz-Martínez, 1995)) o de ninguna protección (Farkas *et al.*, 1996). Otros estudios realizados con avermectinas nos indican que la moxidectina ha demostrado ser ineficaz como un profiláctico (Farkas *et al.*, 1996), aunque sí ha sido usado como parte del tratamiento (Fragkou *et al.*, 2011), así como la doramectina proporcionó una protección hasta 22 días (Sotiraki *et al.*, 2003).

Otros insecticidas, como son los reguladores del crecimiento de insectos (IGR), ofrecen un nuevo enfoque para la profilaxis de esta parasitosis, ya que interfieren con la muda entre estadios larvales y, por tanto, son más adecuados a la profilaxis que el tratamiento de las infestaciones en curso, porque no van a impedir el desarrollo de las larvas al alimentarse. Uno de estos insecticidas es el diciclanilo, que pertenece a la clase de las pirimidinaminas con actividad IGR y tiene una alta actividad específica contra insectos del orden Díptera. Los estudios han demostrado que proporciona a largo plazo protección residual contra ataques de mosca (frente a las especies del género *Lucilia*) en ovejas (Bowen *et al.*, 1999; Schmid *et al.*, 1999; Lonsdale *et al.*, 2000; Nottingham *et al.*, 2001). Además, la actividad

profiláctica del diciclanilo fue eficaz en la prevención del desarrollo de las larvas de *Wohlfahrtia* en la castración de terneros (heridas) por un periodo de hasta 25 días (Anziani *et al.*, 1998). Un claro ejemplo de esta eficacia se muestra en un estudio reciente donde el diciclanilo proporciono un 100 % de protección contra wohlfahrtiosis en ovejas en la isla de Creta durante un período de 28 semanas (Sotiraki *et al.*, 2005).

A lo largo de la historia uno de los principales inconvenientes en la lucha contra las miasis cutáneas es la falta de información que los ganaderos españoles tienen sobre esta parasitosis, como queda de manifiesto tras la realización de una encuesta a más de 1.000 ganaderos en España y Portugal. Se pudo comprobar que el nivel de información en cuanto a tratamientos contra las wohlfahrtiosis era muy escaso (Ruiz-Martínez *et al.*, 1994), lo que provoca una utilización inadecuada de los mismos. A día de hoy pese a la que la información es más completa, en muchas ocasiones el tratamiento es caro y necesita de un elevado coste en mano de obra, lo que hace que sea más dificultoso llevarlo a cabo de un modo adecuado.

2.2.6 Prevención y control.

Entre las consideraciones a tener en cuenta para la prevención son importantes varios aspectos:

- Conocimiento del parásito y de las medidas de prevención, combate y seguimiento.
- Evitar suciedad y heridas sin curar en los animales.
- Separar animales enfermos de sanos.
- Al realizar las operaciones que lleven un riesgo de pérdida de sangre, heridas (como partos, cirugías, marcación, castración, crotalización, ombligos de recién nacidos, etc.), se deben realizar en condiciones de asepsia y aplicar un insecticida tópico de larga duración. En esta etapa es muy interesante el uso de insecticidas como diciclanilo que es un regulador de crecimiento y nos va a impedir el crecimiento de las larvas (Figura 59 y Figura 60).

Las miasis son una de las parasitosis que más pérdidas económicas causan en la cabaña ovina, suponiendo solamente en Australia y en Nueva Zelanda cientos de millones de dólares (Heath and Bishop, 2006; Sackett *et al.*, 2006).

Por tanto, es de gran importancia el control de las miasis en el ovino, que está basado principalmente en dos factores, la cantidad de dípteros en el medio ambiente

(Wardhaugh and Morton, 1990; Broughan and Wall, 2007), y la susceptibilidad de los ovinos a las miasis. A partir de esto, podemos desarrollar una serie de estrategias para controlar esta parasitosis (Wall, 2012). El desarrollo de estas estrategias sigue siendo importante a día de hoy, ya que deben enfrentarse a retos como el cambio climático, los cambios en los mercados y las variaciones que se producen en el parásito (Sandeman *et al.*, 2014a).

Así pues, el control de las miasis podría hacerse mediante:

2.2.6.1 Control mecánico.

Se basa tanto en la selección de líneas de sangre de ovinos con menor susceptibilidad a las miasis (Raadsma, 1987; Raadsma *et al.*, 1989; Smith *et al.*, 2008), en muchos casos seleccionando los ovinos con una conformación que provoque una mayor resistencia a las miasis (Hatcher *et al.*, 2009), como en técnicas quirúrgicas tales como el raboneo, que a pesar de su componente ético discutido (Palmer, 2004; Sneddon and Rollin, 2010), se ha demostrado su eficacia con respecto a las miasis (French *et al.*, 1992; Sutherland and Tucker, 2011).

Otro procedimiento más agresivo que el raboneo es el “mulesing” (Figura 61). Esta técnica está extendida por Australia y consiste en eliminar la piel en toda la zona adyacente al ano y la vulva. De esta forma, genera un tejido cicatricial sin lana que impide la acumulación de orina y heces que son descritos como factores que facilitan la producción de miasis por *L. cuprina* en Australia (Beveridge, 1984; James, 2006), por lo que se proporciona una protección al animal durante toda su vida (Rothwell *et al.*, 2007). Esta técnica se debe realizar por una persona acreditada en la técnica de mulesing y normalmente sin el uso de analgesia (O’Halloran, 1986; Evans, 2006). Estudios experimentales indican que el tiempo de curación de la herida es entre 32-47 días (Lepherd *et al.*, 2011). Debido a la agresividad de la técnica, existe gran número de estudios en búsqueda de otros métodos que la replacen, siendo uno de los más recientes el uso de clips de cierre. Éstos, puestos estratégicamente en la zona perineal, consiguen aumentar el área en el que no crece lana y por tanto, se reduce el acúmulo de heces y orina, habiéndose obtenido resultados positivos usando ésta técnica más de 6 días, aunque se debe seguir estudiando la eficacia frente a la prevención de miasis (Evans *et al.*, 2012; Playford *et al.*, 2012).



Figura 61. Zona perianal después de la realización del “mulesing” (Lepherd *et al.*, 2011).

2.2.6.2 Control químico.

Es uno de los métodos más extendidos para el control de las miasis del que ya se ha hablado anteriormente en el tratamiento. Para ello, se utilizan por ejemplo insecticidas neurotóxicos para las moscas como son los organofosforados o los piretroides (French *et al.*, 1994; Tellam and Bowles, 1997; Lonsdale *et al.*, 2000). Además, hay autores que mencionan una cierta eficacia de la ivermectina (Eagleson *et al.*, 1993; Allerton *et al.*, 1998; Rugg *et al.*, 1998; Rehbein *et al.*, 1999), y en las últimas décadas se han extendido los reguladores del crecimiento como el diciclanilo (Bisdorff and Wall, 2008).

El control químico es el método más utilizado actualmente para el control de las miasis, a pesar de las resistencias que están desarrollando los dípteros frente a la mayoría de compuestos utilizados (Levot, 2012).

2.2.6.3 Control biológico.

Se basa principalmente en el uso de microorganismos como *Bacillus thuringiensis var. Wuhhanensis* que mostró eficacia en el control de miasis frente a *L. cuprina* durante 21 días (Cooper *et al.*, 1985). Otro ejemplo es el hongo *Metarhizium anisopliae* que causó un 68 % de mortalidad en adultos de *L. sericata* (Wright *et al.*, 2004).

Además, el uso del efecto insecticida de los extractos de algunas plantas oleáceas ingeridos, tales como alholva, apio, rábano y mostaza, han sido indicadas en contra las L3 de *L. sericata* (Khater and Khater, 2009).

2.2.6.4 Control con trampas.

Este método se basa principalmente en la utilización de trampas con cebos, habiéndose demostrado una gran eficacia en la reducción de dípteros del medio ambiente (Scholtz *et al.*, 2000) y por tanto, la incidencia de miasis (Ward, 2001; Ward and Farrell, 2003). En un estudio realizado por Urech *et al.*, 2009, se utilizó una trampa por cada 100 ovejas desde el comienzo de la temporada de moscas, observándose una reducción de las poblaciones de *L. cuprina* en un 60 % en comparación con las explotaciones de control. En Gran Bretaña, se utilizaron trampas adhesivas para *L. sericata* que se han desarrollado y comercializado. Estas trampas se cebaron con hígado liofilizado y, cuando se desplegaron en las explotaciones de ovino en el suroeste de Inglaterra, se mostró una reducción de la incidencia de miasis en ovejas y corderos en granjas de la región a una quinta parte de la que se observó en las granjas control no tratadas (Broughan and Wall, 2006). En Australia, donde el principal agente productor de miasis es *L. cuprina*, utilizando trampas con cebo, se consiguió reducir la prevalencia en miasis entre un 38 y un 55 % (Ward and Farrell, 2003).

2.2.6.5 Control mediante el uso de vacunas.

La vacunación es un método de protección que tradicionalmente se ha utilizado para proteger a los animales frente a bacterias y virus, pero muy escasamente frente a parásitos. Sí se han ido creando algunas vacunas que han resultado efectivas frente a algunos parásitos metazoos, como son contra *Boophilus microplus* (Willadsen *et al.*, 1989) y contra *Taenia ovis* (Johnson *et al.*, 1989). Las razones de esta poca utilización por su baja eficacia son muchas, pero entre ellas destaca la habilidad que tienen algunos parásitos de evitar la respuesta antiparasitaria del hospedador. Además, en el caso de las larvas productoras de miasis, la respuesta inmune del hospedador se ve dificultada por el escaso tiempo de contacto de esta larva con el hospedador, así como debido a la fina y dura cutícula que tienen estas larvas (Tellam, 1996). A pesar de esto, una ligera resistencia se ha documentado en ovino después de sufrir varias infecciones, aunque no lo suficientemente fuerte como para reducir las pérdidas de producción (Sandeman *et al.*, 1986; Eisemann *et al.*, 1990).

Referente a las miasis, se han realizado algunos estudios que incluyeron ensayos de inmunización que apuntaban a maximizar el nivel de IgG sérica dirigida hacia antígenos larvarios. Para ello, se utilizaron una amplia gama de antígenos, que incluían repetitivas infestaciones con larvas, inyecciones de antígenos en forma de larvas en bruto (primero, segundo y tercer estadios) y preparaciones de excreción-secreción (Bowles *et al.*, 1987), proteasas de serina purificadas (Tellam *et al.*, 1994), proteínas de membrana peritrófica de las larvas (Tellam and

Eisemann, 1998; Colditz *et al.*, 2002) o proteínas de la cutícula (Barrett and Trevella, 1989). No es de extrañar que cuando estos antígenos, particularmente proteínas purificadas, se usaron para inmunizar ovejas, se alcanzaron unos excelentes niveles de IgG sérica específica. El crecimiento de las larvas en la presencia de estos sueros fue estudiado *in vitro*, para evaluar la probabilidad de que las respuestas humorales proporcionaran protección frente a la exposición de las larvas, y en muchos casos el crecimiento de las larvas fue retardado significativamente por estos sueros en experimentos *in vitro*. Lamentablemente, *in vivo*, la evaluación usando modelos de larvas no demostró ninguna protección significativa utilizando este enfoque, demostrándose que la respuesta IgG frente a esta parasitosis no proporcionaba protección (Elkington and Mahony, 2007).

Otro de los caminos realizados fue la protección celular frente a esta parasitosis que parece que pueda obtener resultados más prometedores. Bowles *et al.* (1996) informaron de niveles significativos de protección en ovejas inmunizadas con cuatro antígenos larvarios (uno una proteasa, un segundo asociado con la superficie de L1, y dos no descritos) presentado en la formulación con los adyuvantes Montanide ISA-25 e interleucina-1 β ovina recombinante (rovIL-1 β). La IL-1 β es una citoquina importante en la iniciación de la activación de las células T a través de la inducción de IL-2, un importante factor de crecimiento de células T, y su receptor (Nambu *et al.*, 2006). La administración de rovIL-1 β como coadyuvante contribuyó sustancialmente a esta protección. Un hallazgo clave de este estudio fue que los niveles de anticuerpos en ovejas inmunizadas no se correlacionaban con su protección frente a miasis (algo que ya veíamos con la respuesta IgG). Este hallazgo pone de manifiesto el hecho de que es poco probable que los anticuerpos jueguen un papel importante en la protección. De hecho, las ovejas que mostraron los niveles más altos de protección tras la inmunización con antígenos de larvas en combinación con Montanide ISA-25 y rovIL-1 β tenían menor título de anticuerpos en suero que las ovejas inmunizadas con la proteína larvaria en ausencia de rovIL-1 β (Bowles *et al.*, 1996). La ausencia de una herida en ovejas totalmente protegidas indica que una respuesta celular local rápida y específica fue inducida en horas del primer contacto con la piel de la L1. La velocidad de la respuesta inmunológica descrita implicó la inducción de una reacción de hipersensibilidad. Aunque el tipo tardío de hipersensibilidad (DTH; medida entre 24 y 48 h post-implantación larval) fue mayor en ovejas inmunizadas con el antígeno de larvas y rovIL-1 β , la respuesta DTH no fue correlacionada con la protección. Alternativamente, la inducción de reacciones de tipo I y III de hipersensibilidad inmediata se han descrito en ovejas clasificadas como "resistentes" a miasis (Sandeman *et al.*, 1986; Bowles *et al.*, 1987). Todo esto abre un amplio campo para la creación de vacunas realmente efectivas frente a las miasis, reduciendo el empleo de agentes contaminantes como los pesticidas, así como evitando enormes pérdidas económicas en el sector ovino.

Por tanto, pese al escaso número de antígenos eficaces y la escasa eficacia todavía demostrada en el campo de la vacunación frente a este parásito, la necesidad de una vacuna y el mayor conocimiento sobre esta debe llevar en el futuro a la consecución de este objetivo (Willadsen, 2006). Pese a todo no se han producido grandes avances en este campo en los 10 últimos años (Sandeman *et al.*, 2014b).

2.2.7 Costes económicos de las miasis.

La wohlfahrtiosis es una de las enfermedades parasitarias que más pérdidas económicas causa en la cuenca mediterránea en el ganado ovino. Ello es debido a los problemas reproductivos que puede causar, sobre todo en carneros (Sotiraki *et al.*, 2005), donde las pérdidas de carne, leche y lana se tasan en un 34 % (Farkas and Hall, 1998), así como los costes de sus tratamientos que suponen en torno a 0,91 euros por animal sólo en insecticidas (Farkas and Hall, 1998). Grindle (2001) estimó que los costes debidos a esta parasitosis en ovino son aproximadamente 2,7 euros en medicamentos y mano de obra y 2 euros debido a las pérdidas de producción, lo que supondría un total de 4,7 euros por cada oveja afectada. En España, donde *W. magnifica* es una parasitosis importante al situarse sus niveles de prevalencia alrededor del 8 % (Ruiz-Martínez *et al.*, 1987, 1992b, 1993b; Ruiz-Martínez and Cruz-Mira, 1994), supondría un coste de 8,5 millones de euros (suponiendo unos 22,5 millones de ovejas). Sin embargo, las infestaciones únicas por animal y año son bastante raras y los animales se vuelven con frecuencia a reinfestar, necesitando constantes chequeos. Por tanto, si cada animal infestado fuera tratado anualmente cuatro veces, esto equivaldría a un coste de 32,8 millones de euros al año en España.

2.2.8 Aspectos zoonóticos.

Cabe destacar la importancia de esta parasitosis como agente zoonótico, destacando sobre todo las especies causantes de miasis traumáticas en Sudamérica.

En España, se han observado tres tipos de miasis en humanos provocadas por especies autóctonas (Cordero del Campillo and Rojo, 1999):

Miasis específicas. En España los principales agentes son *W. magnifica*, *Oestrus ovis* e *Hypoderma* spp., que son causantes de miasis cutáneas traumáticas, forunculares y miasis cavitarias (oftalmomiasis fundamentalmente) (Gil-Collado, 1960). En el caso de *Oestrus ovis* recientemente, se ha detectado un caso de miasis nasal en humano (Hoyer *et al.*, 2016). A nivel más global, los principales agentes productores de miasis humanas son *Dermatobia hominis* y *Cordylobia anthropophaga*. *Dermatobia hominis* es la especie más importante a nivel económico en América (Hunter, 1990). El ciclo de este parásito es diferente al de otros agentes productores de miasis, ya que los huevos van a llegar a las patas de un mosquito y este será el que los transmita a sus hospedadores (Gordon *et al.*, 1995; Guse and Tieszen, 1997). La lesión suele ser de tipo foruncular y es muy dolorosa, especialmente en horas nocturnas (Latorre *et al.*, 1993; Mahal and Sperling, 2012), pudiendo causar trastornos del sueño y complicarse con infecciones bacterianas secundarias por *Staphylococcus aureus* (Varani *et al.*, 2007). Es muy importante en el diagnóstico (para *D. hominis* y *C. anthropophaga*), conocer si se han realizado viajes a Centro y Sudamérica (Rice and Gleason, 1972; Hubler *et al.*, 1974; Lyerly, 1983; Gordon *et al.*, 1995) y de un modo más infrecuente para *Cordylobia rodhaini* (Hannam *et al.*, 2011) si los viajes son a África. En otros países como Estados Unidos, las principales especies productoras de miasis son las del género *Cuterebra* o “moscardón del conejo” (Safdar *et al.*, 2003). También es de gran importancia en América central y del sur *Cochliomyia hominivorax*. Esta especie es de enorme importancia por las elevadas pérdidas económicas que causan al ganado en esas latitudes, aunque también por su carácter zoonótico, sobre todo en gente con proximidad a este ganado y con escasas medidas higiénico-sanitarias (Novelli *et al.*, 1993; Al-Ismaily and Scully, 1995; Gomez *et al.*, 2003). Las miasis orofaciales son bastante frecuentes en estos países en personas con enfermedades que les lleven a un descuido de su higiene, o en procesos que puedan favorecer el acceso de los dípteros a la cavidad bucal como es la ventilación artificial (Yoshitomi *et al.*, 1997; Antunes *et al.*, 2011). Como ejemplo del carácter zoonótico de otras especies como es *W. magnifica*, que tienen gran importancia como agente productor de miasis en el ganado en Europa, podemos describir el caso que se produjo en una zona de Marruecos, donde se documentó el primer caso humano en el mismo periodo en el que se produjo un incremento en las miasis por *W. magnifica* en el ganado (Lmimouni *et al.*, 2004).

Miasis semiespecíficas; sobre todo ocasionadas por *Lucilia* spp., *Calliphora* spp., y *Sarcophaga* spp., las cuales provocan miasis cutáneas traumáticas, urogenitales y nosocomiales. En una revisión realizada por Sherman (2000) en EEUU, indican que de todos los casos estudiados, estos géneros suponen en torno a un 75 % de las miasis, y su localización era fundamentalmente a nivel de ulceraciones, heridas postquirúrgicas o heridas traumáticas. Además, en torno al

62 % de los pacientes eran vagabundos, lo que pone de manifiesto la importancia de la falta o el descuido en la higiene en el desarrollo de estas miasis. Otro ejemplo de estas miasis oportunistas fue una miasis umbilical que se produjo en un recién nacido en India. En este caso, una especie del género *Chrysomya* aprovechó la zona umbilical para desarrollarse y completar el ciclo (Patra *et al.*, 2012), complicándose además con una infección por *S. aureus*. Como ya se ha mencionado, la falta de higiene es una de las principales causas de miasis oral, a lo que hay que sumar también el alcoholismo (Rodrigues Fonseca *et al.*, 2007; Droma *et al.*, 2007; Francesconi and Lupi, 2012) o las neoplasias (Demirel-Kaya *et al.*, 2016).

Miasis accidentales; por *Musca* spp., *Piophilila* spp., *Eristalix* spp., entre otras. Son causantes de miasis intestinales y nosocomiales.

En líneas generales, se puede afirmar que son escasos los casos reportados de miasis humanas por especies autóctonas en España (Salesa *et al.*, 1991; Ruiz-Martínez *et al.*, 1992f; Cordero del Campillo and Rojo, 1999) y aún mayor es la carencia de información en casos de miasis humanas importadas (Ruiz-Martínez *et al.*, 1992f).

2.2.9 Toma de muestras para la identificación de la especie parásita.

La identificación de la especie causante de las miasis puede realizarse directamente a partir del estudio de las estructuras morfológicas de las larvas, o intentado obtener el estadio adulto a partir de ésta, lo que facilita la identificación y la hace más precisa en algunos casos.

Para identificar la especie a partir de las larvas, debemos retirarlas de las heridas y matarlas en agua muy caliente, a unos 80°C (no en ebullición ya que podríamos destruir estructuras) durante 30 segundos. Después, se conservarían en una solución de etanol a una concentración de entre el 70 y el 95 % (Adams and Hall, 2003; Amendt *et al.*, 2007; McGraw and Turiansky, 2008). Es importante no matar las larvas directamente en la solución de conservación, ya que probablemente se pudrirían. Si no disponemos de etanol, podríamos utilizar alcohol isopropílico al 70 % y nunca soluciones de formol que causarían un excesivo endurecimiento de los tejidos de las larvas (Schauff, 2001). Para identificar las larvas, debemos realizar un estudio de su forma, su tamaño y su coloración, siendo además de gran importancia sus espiráculos posteriores, que en ocasiones deben ser diseccionados para verlos de un modo más simple (Noutsis and Millikan, 1994).

2.2.10 Prevalencia de miasis en el mundo.

La prevalencia de las miasis a nivel mundial varía en función de numerosos factores, entre los que destacan la especie hospedadora, la zona geográfica, el nivel de higiene y sanidad de los animales, etc. El agente más común de miasis descrito en la cuenca mediterránea, Marruecos y norte de Asia ha sido *W. magnifica* (El-Abrak *et al.*; Hall and Farkas, 2000). Sin embargo, en el noroeste de Europa predominan distintas especies de la familia Calliphoridae, destacando la especie *L. sericata* (Wall *et al.*, 1992; Hall and Wall, 1995). En otras zonas como en Australia, el principal agente causante de miasis es *L. cuprina*, habiéndose encontrado adultos de este agente en Los Monegros, una zona del noreste de España (Rognes, 1994), aunque desde su observación inicial ningún caso de miasis por este agente ha sido encontrado en esta región.

En la Tabla 4 se muestran las diferentes prevalencias de los estudios de miasis realizados, así como la especie parásita encontrada en las mismas.

Tabla 4. Principales prevalencias en miasis animales encontradas en diferentes países del mundo.

País	Hospedador	Prevalencia (%)	Especie parásita	Referencia
Rumania	Ovino	80-95	<i>W. magnifica</i>	(Lehrer <i>et al.</i> , 1988)
URSS	Ovino	30-50	<i>W. magnifica</i>	(Pokidov and Goncharov, 1971)
Bulgaria	Ovino	23-41	<i>W. magnifica</i>	(Nedelchev, 1988)
Hungría	Ovino	5-39	<i>W. magnifica</i>	(Farkas <i>et al.</i> , 1997)
España	Ovino	0,7-17,5	<i>W. magnifica</i>	(Ruiz-Martínez <i>et al.</i> , 1987; Ruiz-Martínez and Leclercq, 1994)
Israel	Ovino	1,5-12,5	<i>W. magnifica</i>	(Hadani <i>et al.</i> , 1971)
Reino Unido	Ovino	1,7	---	(Farkas <i>et al.</i> , 1997)
Hungría	Ovino	17,54/0,06	<i>W. magnifica</i> / <i>L. sericata</i>	(Farkas <i>et al.</i> , 1997)
Italia	Ovino	3-6,3	<i>W. magnifica</i>	(Giangaspero <i>et al.</i> , 2011, 2014)
Mongolia	Camello	8-10	<i>W. magnifica</i>	(Valentin <i>et al.</i> , 1997)
Irán	Camello	14,28	<i>W. magnifica</i>	(Pirali Kheirabadi <i>et al.</i> , 2014)

2.3 Miasis experimental por *Protophormia terraenovae* en ovinos.

2.3.1 La mosca: *Protophormia terraenovae*.

Protophormia terraenovae (Robineau-Desvoidy, 1830)

Especie muy común en las zonas más frías de la región holártica (Erzinclioglu, 1988), perteneciente a un pequeño grupo de dípteros, que forman la tribu Phormiini. Es la única de su género presente en la península ibérica y junto a *Protophormia atricepp* son las únicas que conforma el género, ambas de distribución holártica (Rognes, 1991). Habiéndose encontrado incluso *Protophormia terraenovae* a 550 millas del polo norte (Smith, 1986).

Especie considerada como eusinantrópica (Gregor and Povolny, 1961), *P. terraenovae* está descrita por algunos autores como productora de miasis traumáticas sobre ovejas en Escocia y por ser portadora de salmonelosis en Finlandia (Zumpt, 1965; Nuorteva, 1971).

Estudios llevados a cabo en Centroeuropa y en el Norte de América ponen de manifiesto que *P. terraenovae* es una de la especies más comunes en la carroña (Grassberger and Frank, 2004; Mavárez-Cardozo *et al.*, 2005; Hobischak *et al.*, 2006), teniendo como característica una baja pérdida de agua, lo que le permite desarrollarse en sustratos bastante secos (Rivers *et al.*, 2013). Todo esto hace que sea una de las especies más utilizadas y estudiadas en entomología forense en las zonas geográficas donde se encuentra ampliamente distribuida (Nuorteva, 1971). Incluso se han realizado estudios para determinar el intervalo postmortem de esta especie en España. De manera si se produjera una expansión geográfica de *P. terraenovae* en nuestro país podría ser utilizada en la entomología forense, como en un caso producido en Madrid en el año 2005 donde se encuentran larvas de esta especie (Martínez-Sánchez *et al.*, 2015).

Hasta el momento, en España sólo se han encontrado algunos pocos ejemplares en el pirineo aragonés (González-Mora and Peris, 1988) y en áreas montañosas de la provincia de Alicante (datos sin publicar), lo que indica su escasa presencia en nuestro territorio.

Este díptero prefiere las bajas temperaturas para criar y es capaz de sobrevivir en condiciones climáticas extremas, lo cual explicaría su abundancia en las regiones más frías del planeta y su presencia en las zonas de elevada altitud en regiones templadas (Grassberger and Reiter, 2002).

Las hembras, al igual que todos los dípteros de la familia Calliphoridae, son ovovivíparas, y para la maduración ovárica necesita la ingesta de proteínas. Tras la cópula y fecundación, la hembra deposita masas de huevos de entre 150-200 por puesta sobre carroña fresca. Desde la puesta de los huevos hasta la salida de la L1 suelen transcurrir entre 8 y 24 horas. A partir de aquí, se inicia la fase de desarrollo larvario, pasando por tres estadios, con una duración de entre 3 y 19 días dependiendo de los recursos alimenticios disponibles. Una vez alcanzada la L3, se forma la pupa, que en un periodo de 3-7 días completará la metamorfosis emergiendo el imago (Figura 62). Las variaciones en el tiempo de metamorfosis vienen determinadas por las condiciones climatológicas en las que se encuentren (Grassberger and Reiter, 2002), así como por el fotoperiodo (Shiga, 2007), pudiendo entrar en diapausa pupal si las condiciones no son favorables e incluso en una diapausa en el estado adulto aumentando el tiempo de desarrollo del ovario en la hembra (Matsuo *et al.*, 1997). Es una especie muy común en trabajos de fisiología animal, ya que es fácil de criar en laboratorio.



Figura 62. Ejemplar de *P. terraenovae*. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

Además, esta especie es la más usada en la cría de asticot para la pesca en Extremadura y por tanto, de gran interés en esta zona (Porcel-Carreño, 2007). Desde el punto de vista sanitario, se debe tener en cuenta que se han detectado un 7 % de personas alérgicas a la larvas de esta especie en la provincia de Cáceres (Porcel-Carreño *et al.*, 2009), identificándose como la causa de esta alergia una banda en el IgE inmunoblot de 15,5 kDa que también se encontraba en la lombriz de tierra, pero que era diferente a las que se encontraban en otros califóridos como *L. sericata* y *C. vomitoria* (Porcel-Carreño *et al.*, 2013).

2.3.2 Dosis infestantes en las miasis.

Existe pocos estudios acerca de la metodología de infestación experimental con larvas de mosca productoras de miasis traumáticas, destacando los trabajos de Sandeman *et al.* (1985) y Sandeman *et al.* (1986) por sus estudios sobre la caracterización de la respuesta inmune y resistencia a larvas de *L. cuprina* en ovejas. En el experimento de 1985, se eligen 12 carneros de 2 años de edad de una zona en la que la frecuencia de las miasis era muy baja. Estos animales se dividen en dos grupos; el experimental formado por 8 animales y el control formado por 4. El grupo experimental se infecta con 200-300 L1 de *L. cuprina* una vez a la semana durante cuatro semanas. En esta cuarta semana se realizan determinaciones del nivel de anticuerpos y de histamina (mediador de la inflamación) y se deja descansar a los carneros durante 2 semanas. Finalmente, se infecta a ambos grupos con 500 L1 que pasados 3 días son recolectadas, cuantificadas y medidas para determinar la resistencia del hospedador. Estas larvas son recolectadas principalmente en forma de L3 y no existe diferencia significativa en el tamaño ni en el número de larvas aisladas. Sí que hay relación clara entre el tamaño de la herida y el número de larvas aisladas y además es cierto, que los tres carneros con un menor número de larvas se encuentran entre los reinfestados y mostraron una respuesta cutánea a las L3, por lo que se cree que esta respuesta inflamatoria puede estar relacionada con la resistencia a las miasis. En el estudio del año 1986 el proceso fue el siguiente: previo al inicio del estudio las 30 ovejas fueron pesadas y se tomaron dos muestras de suero con una semana de diferencia. Se realizan 3 lotes de 10 ovejas de la misma procedencia que los carneros del estudio de 1985, denominados H (High), L (Low) y C (Control), los cuales son dispuestos en corrales a prueba de moscas. El lote H fue infestado cada 15 días con 500 L1, excepto por un intervalo de 4 semanas entre las infecciones número 3 y 4 hasta un total de 8 infecciones. El grupo L es infestado una semana después del lote H, siguiendo el mismo proceso que el lote H, pero el número de L1 depositadas en piel es de 50. Las infecciones siempre son protegidas con apósitos en la zona de la herida. Por último, el grupo C presentaba la misma zona sin lana, que dejaba libre la piel, procesándose de igual manera que las ovejas de los lotes H y L pero sin añadir las L1 en la piel. A las 72 horas post-inoculación en todos los grupos, se retiran los apósitos, y las larvas son pesadas y contadas. Además, se mide la herida mediante un papel de calco. En las infecciones 7 y 8 a todos los grupos se les infecta con 500 L1. La toma de muestras de sangre se realiza semanalmente.

Los resultados de esta experiencia mostraban que en el grupo L solo se recogen larvas en la mitad de los animales infestados y además se recuperaron solo un 28 % de éstas, frente al 41 % del grupo H, lo que muestra que 50 L1 resultan escasas a la hora de generar una miasis. Además, no se encuentran diferencias de

susceptibilidad entre los diferentes grupos, aunque es cierto, que en el grupo H si se encuentra cierta resistencia a la infestación.

La técnica de infestación que se siguió para ambos experimentos es el procedimiento estandarizado de la granja de investigación “Merridanle” del ICI (Imperial Chemica Industries) en Melbourne, que consiste en colocar las larvas entre la piel que había sido abundantemente humedecida y dos tapones dentales de algodón. Los algodones también se empaparon con agua destilada, evitando así la desecación de las larvas. Todo esto quedo anclado a la piel con una banda de goma para evitar su movilidad (Sandeman *et al.*, 1985). Las L1 se originan del cultivo de larvas mantenidas en hígado o un medio artificial obtenidas a partir de larvas de una miasis en ovino (Singh and Jerram, 1976).

Entre los artículos más recientes de infestación experimental por agentes productores de miasis se encuentra el de Colditz *et al.* (2005), los cuales realizan una prueba con 5 carneros y cuya dosis infestante es la administración de 500 L1 de *L. cuprina* (35 mg) al día durante 8 días.

En los casos cuya metodología ha sido descrita, la infestación experimental está destinada a comprobar si las ovejas del estudio desarrollaban resistencia inmunitaria al ataque de las larvas de *L. cuprina*. La conclusión más destacada de estos estudios es que existe una ligera protección en los ovinos que han sido infestados previamente, debido posiblemente a una respuesta de hipersensibilidad que se produce cuando hay un contacto con un número elevado de larvas (ésta se produce con 500 L1, mientras que no se produce con 50 L1) (Sandeman *et al.*, 1985, 1986, 1992). En otros estudios, como los de Eisemann *et al.* (1990) y Johnston *et al.* (1992), se ha comprobado que los anticuerpos que se producen en el ovino en el que se ha provocado una infestación experimental son capaces de retardar el crecimiento de las larvas en un cultivo in vitro. En este sentido, Sandeman *et al.* (1995), indican que a pesar de que un porcentaje de los anticuerpos producidos puedan ser destruidos por las larvas, esto no afectaría realmente a la eficacia de una vacuna frente a esta parasitosis. La infestación experimental realizada por Colditz *et al.* (2005) estuvo destinada a comprobar el efecto que la miasis producía en los parámetros fisiológicos del animal, así como en comprobar el efecto sobre aspectos relacionados con la producción, especialmente la ganancia de peso. Pese a que no se demuestra una diferencia significativa frente al grupo control, si se puede identificar una pérdida considerable de peso en la primera semana de infestación, además de un proceso de aumento de temperatura corporal de alrededor de 2°C entre los días 3 y 11 post-inoculación.

2.3.3 Efectos de las miasis sobre los ovinos.

2.3.3.1 Daños tisulares.

La histología de las lesiones producidas en las miasis en la especie ovina ha sido escasamente estudiada. Debido a esto, realizaremos una revisión extendida de los daños tisulares que se han realizado también en otras especies diferentes.

Pequeños rumiantes.

Dentro de los pequeños rumiantes, el animal sobre el que se han realizado más estudios de miasis a nivel tisular es la cabra. En concreto, el estudio de Oryan and Bahrami (2012) se lleva a cabo en cabras sacrificadas en el matadero de Shiraz, en la provincia de Fars, sur de Irán. Los cadáveres de 16.250 cabras son examinados para detectar la presencia de larvas de *Przhevalskiana silenus* de octubre de 2008 a diciembre de 2010.

Las zonas miásicas son aisladas de la piel y tejidos subcutáneos de cada canal, contadas, medidas, fotografiadas y almacenadas por separado en recipientes en solución salina tamponada al 0,9 % a 4°C de temperatura, después de haber registrado su ubicación en los esquemas corporales de los animales. Además, secciones apropiadas del tejido subcutáneo de zonas infestadas son fijadas en un 10 % de formalina tamponada neutra para su posterior procesamiento. Estas secciones son deshidratadas en etanol, embebidas en parafina, seccionadas y teñidas y, finalmente, se estudian en un microscopio. Las larvas encontradas son fotografiadas usando un estereomicroscopio. Entre los resultados más relevantes se observa que la reacción de los tejidos al primer estadio larvario fue mínima. No se inicia la degeneración celular y el tejido necrótico y la piel se mantiene prácticamente intacta durante los meses en los que las L1 fueron dominantes. La respuesta del tejido infestado a la L1 viva está compuesta fundamentalmente por células mononucleares con moderada infiltración de linfocitos, células plasmáticas y macrófagos. En algunos casos, una cápsula fibrosa de tejido conectivo rodeaba a la L1. Sin embargo, pocos eosinófilos se encuentran en el infiltrado en esta fase de infestación por L1.

En los casos en los que se observa la muerte y degradación de las larvas, que era un hallazgo común en casos de infestación por L1, se encuentran zonas de necrosis de los tejidos con infiltración de neutrófilos y formación de pus en el centro, rodeado de linfocitos, células plasmáticas, macrófagos, eosinófilos, células gigantes y una cápsula de tejido conectivo fibroso de varios espesores, formando una reacción piogranulomatosa. En esta situación, cuerpos extraños y células

gigantes de Langhans están presentes en las proximidades de la larva degradada. Además, restos de la cutícula fragmentada están presentes en el centro de algunas de estas reacciones piogranulomatosas, y el centro de estas lesiones se encuentra mineralizada.

Cuando la L1 muda a L2, fragmentos de pared exterior separados se añaden a la zona de la miasis, produciendo una severa reacción inflamatoria y necrosis masiva de los tejidos. El músculo de esta zona se torna pálido, necrótico, fragmentado y con cápsulas de tejido conectivo. Estas cápsulas poseen numerosos fibroblastos y haces de tejido conectivo infiltrados con gran cantidad de linfocitos y macrófagos. Junto a ello, también se hallan neutrófilos y eosinófilos en esta área necrótica y en las proximidades de la larva viva.

Sin embargo, en las fases tardías de la infestación por L2, los neutrófilos son sustituidos por linfocitos, macrófagos, células plasmáticas y células gigantes. La infiltración de eosinófilos también es documentada en la etapa posterior a la infestación de L2. El área subcutánea, la dermis y la epidermis que se encuentran cerca de las L2 se transforman en tejido necrótico con un infiltrado de células inflamatorias. Posteriormente se produce el cambio de L2 a L3. En algunos casos, un absceso se forma alrededor de la L3 viva con pus (consistente en neutrófilos junto con los restos de tejido). Además, una capa de tejido conectivo fibroso, en la mayoría de los casos infiltrado por linfocitos, macrófagos y eosinófilos, rodea diferentes partes de la larva, excepto la zona de la cabeza. Cuando la larva se separa, se observan muchas cavidades que contienen restos de tejido y células inflamatorias que indican la reciente separación de la piel del tercer estadio de la larva, así como zonas de tejido cicatricial, que muestran que los distintos estadios de larvas han dejado la piel en la que estuvieron presentes, en la dermis y la epidermis. El tejido de la cicatriz se encuentra desorganizado, muy vascularizado y numerosas células mononucleares estaban todavía presentes entre las fibras del tejido conectivo. En algunos casos, los capilares y arteriolas muestran hiperemia y en algunos lugares la dermis está muy edematosa. La rotura de los vasos sanguíneos dando lugar a hemorragias en este tejido de granulación fue otro hallazgo bastante frecuente. Los apéndices de la piel como las glándulas sebáceas, folículos pilosos y otros, habían desaparecido en las proximidades de la localización larval, siendo reemplazados con tejido de granulación. Hasta 40 días después de que la última L3 abandonara a sus hospedadores, todavía quedaban algunas pústulas y abscesos cutáneos.

En otro tipo de miasis, como la oestrosis, se describe sobre todo un gran infiltrado de linfocitos, macrófagos, mastocitos y eosinófilos (Tabouret *et al.*, 2003), destacando la exocitosis de estos últimos, siendo esto diferente a lo que veíamos para las miasis cutáneas. En otros trabajos como el de Cabanelas *et al.*

(2015) en el que se estudia otro tipo de miasis que tienen un desarrollo interno, como es el caso de *Hypoderma lineatum*, se determina que en la fase subcutánea existen tres estadios histológicos. El primero en el que la larva se encuentra intacta y se encuentran principalmente células plasmáticas, en el segundo en el que la cutícula de la larva ya se ha destruido y cuya célula principal son los linfocitos y macrófagos, y un tercero cuando solo queda la cicatriz en el que encontramos tejido de granulación.

Roedores.

Pereira *et al.* (2001) realizan un ensayo experimental en 60 ejemplares de *Ratus norvegicus* para estudiar el tejido lesionado ocasionado por la infestación de *Dermatobia hominis* en este hospedador. Los resultados más destacados son los siguientes:

Día 1: Se observa un discreto infiltrado de neutrófilos.

Día 2: Se observa un infiltrado inflamatorio predominantemente de neutrófilos.

Día 4: Se observa una fina capa necrótica alrededor la larva, con intenso infiltrado inflamatorio neutrofílico, así como linfocitos, macrófagos y un pequeño número de eosinófilos y mastocitos. En algunos casos, se produce hiperqueratinización y presencia de neutrófilos y bacterias sobre la superficie de la piel.

Días 4 a 7: El proceso inflamatorio muestra un aumento, particularmente cuando la L1 muda (por lo general en el séptimo día) a L2.

Día 8: Se observa una capa necrótica gruesa adyacente. El tejido conectivo estaba invadido por neutrófilos, macrófagos, linfocitos y eosinófilos. Además, existe una proliferación de fibroblastos y células endoteliales y unas pocas hemorragias localizadas.

Día 10 a 12: La lesión es similar a la del octavo día, con neoformación de capilares y la producción de fibras de colágeno.

Día 12: Se observa un infiltrado inflamatorio de células y bacterias, además de eosinófilos degranulados y mastocitos.

Día 15: Resultados muy similares a los del día 12, aunque también muestra neoformación capilar con producción de fibras de colágeno.

Días 18 a 20: Se produce la muda a L3. Los resultados muestran neoformación capilar y producción de fibras de colágeno, que rodean la cavidad larval. El

infiltrado inflamatorio mostró alta concentración de neutrófilos, eosinófilos y linfocitos, así como mastocitos y unas pocas células plasmáticas.

Días 25 a 30: No se observa una reducción de la capa necrótica ni en el número de neutrófilos y linfocitos, aunque sí se produce un aumento de eosinófilos y células plasmáticas, asociados con la producción de fibras de colágeno.

Día 32: El infiltrado de mastocitos se reduce y la producción de fibras de colágeno aumentó.

Día 39: La lesión ya fue residual, observándose, además, áreas dispersas de necrosis y un gran número de células plasmáticas.

Posteriormente, Leite *et al.* (2011) realizan un estudio similar utilizando larvas de *Dermatobia hominis*, en ratones como hospedadores. Los ratones se dividen en tres grupos, cada uno infestado con una larva recién eclosionada, tomándose biopsias de piel para histopatología a los días 4, 12, y 20 post-inoculación (d.p.i). Se observa un discreto proceso inflamatorio a los 4 d.p.i, coincidiendo con el trabajo en ratas de Pereira *et al.* (2001). Éste consiste en una capa necrótica fina alrededor de la larva y en un proceso edematoso con gran cantidad de neutrófilos y pocos eosinófilos y mastocitos, así como una proliferación de fibroblastos. En el día 12 d.p.i, se observó una capa más gruesa necrótica, edema, muchos neutrófilos, eosinófilos y mastocitos, además de una marcada neoformación de capilares, algo que en el trabajo de Pereira *et al.* (2001) veíamos en el día 15 post-inoculación. También se detecta una gran proliferación del endotelio, con gran número de fibroblastos, así como las primeras etapas de fibrosis. Estas mismas características histopatológicas, junto con una mayor fibrosis sobre una gran área de la lesión, se observan en el 20 d.p.i, siendo estos resultados similares a lo determinado por Pereira *et al.* (2001).

2.3.3.2 Respuesta a nivel hematológico y bioquímico.

Mediciones sanguíneas.

La sangre es un fluido rojo opaco compuesto por el plasma, de color amarillo pálido, en el que se encuentran diversos tipos de células en suspensión como son los glóbulos rojos, hematíes o eritrocitos, los glóbulos blancos o leucocitos y las plaquetas o trombocitos. Estas células se mantienen en suspensión, que es mantenida y facilitada por la circulación. La sangre juega un papel importante en los diagnósticos clínicos, porque es una muestra muy fácil de tomar y en muchas enfermedades la composición y propiedades se modifican de forma clara y específica.

Revisión bibliográfica

Las funciones de la sangre se resumen en transporte, defensa y prevención de hemorragias.

Las propiedades físicas de la sangre son: volumen, velocidad de sedimentación, color y presión osmótica.

- Volumen: La sangre representa entre un 6-8 % del peso de un individuo adulto, siendo mayor en jóvenes; entre un 8-9 %. El volumen sanguíneo se conoce como volemia y supone la suma del volumen plasmático y el volumen eritrocitario. Este último viene determinado por un índice llamado hematocrito, que es el volumen ocupado por los eritrocitos partidos por el volumen sanguíneo total. Este índice varía con la edad y el sexo y estados fisiológicos. El hematocrito suele disminuir cuando disminuye la tasa de hemoglobina y aumenta cuando aumenta la misma.

- Velocidad de sedimentación: es la velocidad con la que se depositan los elementos formes de la sangre. Depende del tamaño y densidad de glóbulos rojos, temperatura ambiente, y sobre todo de la viscosidad plasmática. Las variaciones en este valor suelen ser indicativo de enfermedades, embarazo, envejecimiento y crecimiento.

- Color: rojo debido al contenido en hemoglobina, la sangre arterial tiene un color rojo brillante y la venosa más oscura.

- Presión osmótica: se debe fundamentalmente a la presencia de ClNa y en menor proporción a las proteínas.

Los análisis de sangre se usan como rutina para ayudar al diagnóstico de enfermedades o como control de salud. Mediante los análisis se pueden detectar la presencia de muchas enfermedades habituales y frecuentes como pueden ser la anemia, la diabetes, infecciones, pero también pueden dar a conocer otras menos frecuentes y más graves. La rutina habitual es un estudio hematológico o hemograma con velocidad de sedimentación globular y un estudio de bioquímica.

Los parámetros y medidas más utilizados en un análisis de sangre son:

Glóbulos rojos o eritrocitos (eritrograma).

El glóbulo rojo es una de las células más especializadas del organismo y la más abundante de la sangre. Está presente en todos los vertebrados, en los mamíferos son discos bicóncavos sin orgánulos citoplasmáticos. En las aves los glóbulos rojos son nucleados. En función de la especie oscilan tanto en diámetro, entre 4 y 11mm, como en vida media, entre 90 y 140 días.

La concentración sanguínea de eritrocitos depende de diversos factores, como especie, sexo, estado nutricional o altitud. En los animales domésticos los valores oscilan entre 3-14 millones/mm³.

La membrana del eritrocito es un componente muy importante por diversos motivos. En primer lugar, su forma bicóncava hace que aumente el cociente superficie/volumen y, por tanto, facilita los procesos de intercambio entre la célula y el plasma. Presenta gran capacidad de deformación permitiendo el paso del eritrocito por los capilares de la microcirculación sin que se rompan, a pesar de que mucho de estos capilares son de menor diámetro que el eritrocito. La membrana es permeable al agua; los eritrocitos son más sensibles a la osmolaridad del plasma que otras células, de modo que soluciones hipotónicas hinchan el eritrocito mientras que las hipertónicas le hacen perder agua y volumen.

Las funciones de los glóbulos rojos son el transporte sanguíneo de O₂ y CO₂ y colaborar en el mantenimiento del pH del plasma.

Para la cuantificación de los eritrocitos existe el hemograma. El hemograma es un estudio que nos va a permitir cuantificar y evaluar diferentes grupos celulares, los glóbulos rojos, los glóbulos blancos, las plaquetas, el contenido de hemoglobina y otros parámetros relacionados con su cantidad forma y contenido.

El hemograma se realiza porque la cantidad de hematíes puede ofrecer datos de salud o la presencia de anemia o diferentes tipos de enfermedades. Como los glóbulos rojos son los encargados del transporte de la hemoglobina, su disminución produce cansancio y sensación de fatiga. La concentración de hemoglobina nos ofrecerá datos complementarios sobre la posible alteración del número de hematíes. Con esos datos son calculados los índices hematimétricos.

Estos índices son los parámetros que relacionan el índice hematocrito, la hemoglobina y el número de hematíes o glóbulos rojos.

El volumen corpuscular medio (VCM) es una forma de expresar el tamaño de los eritrocitos.

La hemoglobina corpuscular media (HCM) se corresponde con el contenido en hemoglobina de cada eritrocito (Hemoglobina/número de hematíes).

En el caso de las ovejas, los valores de referencia del eritrograma están representados en la Tabla 5.

Tabla 5. Valores de referencia Eritrograma ovino (Jain, 1993; Meyer and Harvey, 2004).

Eritrocitos (x10 ⁶ /μl)	8-16
Hb (g/dL)	8-16
Ht (%)	24-50
VCM (fL)	23-48
CHCM (%)	30-34

Plaquetas.

Las plaquetas son las células encargadas de parte de la coagulación. Por ello, si su número disminuye pueden aparecer cuadros de hemorragias que pueden deberse a diferentes patologías. Siendo el parámetro normal para el ovino entre 3 y 8 x 10³/mm³ (Meyer and Harvey, 2004).

Glóbulos Blancos (leucograma).

Son las células que defienden al organismo de agentes biológicos extraños, constituyendo por tanto el sistema inmune. Están presentes tanto en la sangre como en otros tejidos, no tienen hemoglobina y comprenden un sistema de células de origen y características morfológicas variadas. La sangre es la vía por la que acceden desde los sitios de formación hasta los tejidos donde se necesitan. Normalmente se encuentran en la sangre 5 tipos diferentes de leucocitos agrupados en granulocitos (neutrófilos, eosinófilos, basófilos) y agranulocitos (monocitos y linfocitos) según tengan o no gránulos en el citoplasma.

En el caso de los ovinos afectados con miasis, Colditz *et al.* (2005) detalla un agudo aumento en el conteo total de glóbulos blancos entre los días 2 y 3 de la infestación, volviendo a valores normales en torno al día 5.

Dentro de los granulocitos distinguimos:

Neutrófilos: sus gránulos se tiñen con colorantes neutros, y contienen enzimas microbicidas. Duran solamente unas horas en circulación, y luego pasan a tejidos. Aproximadamente la mitad se encuentran adheridos a la pared vascular o muy cerca de ella (población marginal). Su función es fagocitar microorganismos y sustancias procedentes de lesiones celulares y reacciones inmunológicas. Colditz *et al.* (2005) detalla en los procesos miasígenos un incremento de estas células sanguíneas durante los días 2 y 3 y posteriormente en los días 11, 13 y 15.

Eosinófilos: sus gránulos se tiñen por colorantes ácidos. Son un porcentaje muy bajo de los leucocitos totales, y tras pocas horas en la circulación permanecen varios días en los tejidos, sobre todo en piel, aparato digestivo y respiratorio. De escaso poder fagocítico, juegan un gran papel en la detoxificación de histamina y serotonina, sustancias liberadas en las inflamaciones y reacciones inmunes. Su número se encuentra elevado en infestaciones parasitarias y procesos alérgicos. Colditz *et al.* (2005) señaló una ligera depresión de esta célula en ovinos infestados con miasis frente al control a partir del día 3 post-inoculación.

Basófilos: con numerosos gránulos teñidos por colorantes básicos. Duran unos 11-12 días en los tejidos. Su función es bastante desconocida. Se sabe que en su metabolismo libera heparina hacia la sangre, sustancia que evita la coagulación sanguínea y parece que pueden liberar histamina, por lo que pueden ser responsables de la sintomatología que acompaña a los procesos alérgicos. Sus sustancias producen vasodilatación y aumento de permeabilidad vascular. Colditz *et al.* (2005) indican que en ovinos con miasis se produce un aumento de estas células a partir del día 3 hasta el día 15 post-inoculación.

Dentro de los agranulocitos diferenciamos dos tipos:

Monocitos: son las células de mayor tamaño que existen en la sangre. Tras unas 10-20 horas en sangre suelen pasar a los tejidos, donde se transforman en macrófagos en unas 2-3 horas, permaneciendo así hasta 2-3 meses. Los macrófagos pueden tener rasgos morfológicos en función de su localización (histiocitos en tejido conectivo, células de kupffer en hígado, macrófagos alveolares en los pulmones), y tienen mayor cantidad de lisosomas y sustancias microbicidas que los neutrófilos, acompañados de una mayor capacidad de fagocitosis. Son fundamentalmente fagocíticos, y participan en la inflamación y la fiebre.

Linfocitos: son los responsables de la respuesta inmune celular y de la humoral, ya que son los que sintetizan anticuerpos, además de producir diversas señales químicas que promueven y organizan la respuesta inmune. Se diferencian de los demás porque no se forman en la médula ósea, sino en los ganglios linfáticos, timo y bazo. En general, se clasifican en linfocitos B, productores de anticuerpos, y linfocitos T, células defensivas y reguladoras de la respuesta inmune.

Las principales propiedades de los leucocitos (principalmente de neutrofilos y monocitos) son:

Marginación: aumento de la adherencia del glóbulo blanco a la pared del capilar. Estimulado por sustancias quimiotácticas, es el paso previo a la diapédesis.

Revisión bibliográfica

Diapédesis: capacidad de atravesar la pared de los capilares, gracias a que reducen su tamaño y se exprimen a través de los poros del capilar.

Quimiotaxis: atracción que determinadas sustancias químicas ejercen sobre los neutrófilos y monocitos. Las sustancias quimiotácticas pueden ser liberadas por las bacterias o por los tejidos afectados o por células defensivas en el curso de la respuesta inmune o inflamatoria.

Movimiento ameboide: movimiento del que se valen los fagocitos para desplazarse por los tejidos. Consiste en la formación de pseudópodos o falsos miembros que van arrastrando a la célula. Aumenta con la quimiotaxis.

Fagocitosis: se trata de un proceso por el que monocitos y neutrófilos captan un microorganismo o sustancia extraña, incorporándola al interior de una vacuola fagocítica (fagosoma). La capacidad de fagocitar de los neutrófilos es inferior a la de macrófagos. Los neutrófilos mueren tras eliminar de 20 a 25 bacterias, ya que los productos de digestión no son eliminados adecuadamente, porque estas células apenas tienen exocitosis. Utilizan para digerir el material tanto enzimas microbicidas como sustancias oxidantes (radicales libres de oxígeno o especies reactivas de oxígeno), producidas rápida e intensamente en lo que se llama estallido respiratorio, que emplea gran cantidad de O₂ para generar los oxidantes. Los macrófagos tienen la posibilidad de eliminar las vacuolas digestivas fuera de las células, por lo que sobreviven más tiempo. Utilizan básicamente enzimas microbicidas, con muy poca formación de radicales de oxígeno.

El leucograma es la fracción del hemograma que se refiere al conteo total de los leucocitos (glóbulos blancos) y de las diferentes clases de leucocitos. Los valores de referencia en la especie ovina se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6. Valores de referencia del leucograma ovino (Valores absolutos (n/ μ l) (Pugh, 2005)).

Leucocitos	400-12000
Neutrófilos	700-6000
Linfocitos	2000-9000
Monocitos	0-750
Eosinófilos	0-1000
Basófilos	0-3

La fórmula leucocitaria determina la proporción o porcentaje de las principales clases de leucocitos dentro del conteo total de leucocitos.

Cada clase tiene un papel diferente en la defensa del organismo, la cantidad de cada clase de leucocito da información sobre el estado del sistema inmune. Cada animal tiene un recuento leucocitario diferente. Así, los animales monogástricos como el caballo, el perro y el cerdo exhiben una fórmula leucocitaria tipo neutrófilo, esto significa que dichas células se acumulan en mayor porcentaje. Mientras que, los rumiantes como las ovejas, cabras y vacas presentan una fórmula tipo linfocitario, en la que los linfocitos representan más del 50 % del recuento leucocitario. Estas características son de naturaleza genética. La fórmula leucocitaria de referencia en la especie ovina se expone en la Tabla 7.

Tabla 7. Formula leucocitaria normal ovino (%) (Ramírez, 2006).

Neutrófilos	32
Eosinófilos	8
Basófilos	0,5
Linfocinos	60
Monocitos	3

Evolución hematológica en las miasis.

En el análisis sanguíneo, en todos los procesos de miasis se observa un incremento de los índices de inflamación, lo cual, se corresponde con la presencia de prurito y la zona inflamada y eritematosa en la sintomatología clínica.

Hay escasos estudios sobre la evolución y el estado de los parámetros sanguíneos en infecciones por miasis, pero en un caso de miasis humana, producida por la mosca de especie *Wohlfahrtia magnifica* documentado por (Tuygun *et al.*, 2009), se describieron los siguientes valores: el hemograma presentó un conteo elevado de glóbulos blancos con una importante eosinofilia, hemoglobina 12.9 g/dl y 254,00/mm³ plaquetas. En lo referente al suero sanguíneo, el paciente presentó niveles normales de las inmunoglobulinas IgG, IgA e IgM, pero niveles elevados de IgE, inmunoglobulina de infestaciones parasitarias y alergias. Tras la eliminación de la larva como parte del tratamiento, la eosinofilia y los niveles de IgE en suero fueron disminuyendo paulatinamente.

Bioquímica sanguínea.

Se trata de un apartado importante de la analítica sanguínea, que consiste en la medición de las concentraciones de las sustancias que están disueltas en la sangre como son la glucosa, urea, sodio, potasio, proteínas como la albúmina, enzimas hepáticas o cardíacas, lípidos como el colesterol y triglicéridos y minerales.

La concentración anormal, ya sea baja o elevada de estas sustancias en la sangre, puede ser indicativa de la existencia de alguna enfermedad.

Su determinación permite al veterinario:

- Confirmar la sospecha diagnóstica en un paciente.
- Controlar la respuesta de las sustancias alteradas al tratamiento.
- El diagnóstico precoz de enfermedades que no presentan síntomas.

En función de las enzimas solicitadas se podrán valorar determinadas funciones orgánicas como son la hepática o la renal.

Los parámetros que se suelen analizar para el estudio bioquímico y sus valores de referencia en la especie ovina se exponen en la Tabla 8.

Tabla 8- Parámetros bioquímicos y valor de referencia en ovino (Kaneko *et al.*, 1997; Meyer and Harvey, 2004).

Parámetro	Valor
Urea (mg/dL)	17,12-42,8
Creatinina (mg/dL)	1,2-1,9
ALT (UI/L)	26-34
AST (UI/L)	60-280
Fosfatasa alcalina (UI/L)	68-387
GGT (UI/L)	20-52
Glucosa (mg/dL)	50-80
Colesterol (mg/dL)	52-76
Triglicéridos (mg/dL)	-----
Albumina (g/dL)	2,40-3,00

Globulina (g/dL)	3,50-5,70
Bilirrubina total (mg/dL)	0,1-0,42
Bilirrubina directa (mg/dL)	0-0,27
Bilirrubina indirecta (mg/dL)	0-0,12
Amilasa (UI/L)	-----
Lipasa (UI/L)	-----
Fibrinógeno (mg/dL)	100-500
CK (UI/L)	100-547
LDH (UI/L)	238-440
Ácido úrico (mg/dL)	0-1.9

Las enzimas más directamente relacionadas con el daño tisular, lesión más característica de las miasis son:

□ Aspartato aminotransferasa (AST): enzima que se encuentra en varios tejidos del organismo de los mamíferos especialmente en el hígado, corazón y el tejido muscular. Se encuentran cantidades elevadas de esta enzima en el suero en casos de hepatopatía aguda, miopatías y en enfermedades o trastornos en el cual resulten dañadas las células.

□ Creatina quinasa (CK): enzima expresada en varios tejidos y tipos celulares, especialmente importante en las células musculares y el tejido muscular donde participa en la contracción muscular.

□ Lactato deshidrogenasa (LDH): enzima catalizadora, que se encuentra en muchos tejidos del organismo, pero su presencia es mayor en corazón, hígado, riñones, músculos, glóbulos rojos, cerebro y pulmones.

Estas 3 enzimas señaladas anteriormente fueron las elegidas en el presente estudio con el fin de comprobar la afección debido a la posible penetración de las larvas de mosca en el tejido muscular de los hospedadores.

En otros estudios como el de Colditz *et al.* (2005), hay un aumento en la haptoglobina o el amiloide A sérico, que son proteínas que aumentan en la fase aguda de una infestación, así como un aumento del cortisol sérico que aumenta en las situaciones de estrés.

2.3.3.3 Respuesta inmunitaria celular y humoral.

Como ya veíamos en la sección de vacunas, la exposición de la especie ovina a larvas de dípteros de la familia Calliphoridae y más concretamente frente a la especie *Lucilia cuprina*, que es la más estudiada por su importancia sanitaria y económica en Australia, produce un rápido aumento de anticuerpos, detectándose pequeños niveles de IgG tan sólo 6 horas después de la infestación (Sandeman *et al.*, 1995) frente al antígeno excretor-secretor de estas larvas. Sin embargo, parece que esta respuesta no es efectiva frente a sucesivas infecciones (Sandeman *et al.*, 1985; Eisemann *et al.*, 1990; Tellam *et al.*, 1994). En otros trabajos, se observan anticuerpos frente a *C. hominivorax* en torno a los 7 días, alertando además de posibles reacciones cruzadas, mediante la técnica ELISA, con otras larvas de diferentes especies de moscas que pueden producir miasis (Thomas and Pruett, 1992). Además, la respuesta inmune humoral va a depender de la zona corporal donde se produzca la miasis, así como del antígeno larvario, siendo el de las glándulas salivales de la larva más inmunógeno que el de cutícula, intestino o de la larva completa, como nos indica Farkas and Hall (1998) en un estudio realizado con *W. magnifica*.

La inmunidad en las miasis cutáneas en ovino es de escaso interés a la hora de realizar el diagnóstico, ya que normalmente es más sencillo el examen directo del animal. Por este motivo, el estudio de la respuesta inmune se realiza sobre todo como base para el desarrollo de vacunas.

Sin embargo, el estudio de anticuerpos sí es de mucho interés en el diagnóstico de miasis cavitarias como *Oestrus* sp. ya que además de poder realizar un diagnóstico, también nos ha permitido conocer la temporalidad del parásito y enfocar correctamente los posibles tratamientos (Suárez *et al.*, 2005). El análisis inmunológico también ha demostrado su efectividad en el diagnóstico etiológico y diferencial de *C. hominivorax*, lo que supone una importante herramienta para las campañas de erradicación de esta parasitosis (Figarola *et al.*, 2001).

Para detectar esta respuesta inmune, la técnica más empleada es el ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent-Assay), que sigue el protocolo de Eisemann *et al.* (1990).

Material
y
Métodos

3 Material y Métodos.

3.1 Objetivos principales.

Antes de comenzar este trabajo nos marcamos los objetivos principales que exponemos a continuación:

- Conocer la entomofauna, tanto de dípteros necrófagos como de las diferentes especies del género *Culicoides*, así como su distribución en las diferentes zonas geográficas y ecosistemas en la región.
- Determinar si la especie *Protophormia terraenovae* forma parte de la fauna natural de dípteros de los ecosistemas en Extremadura, por su posible introducción a través de los cebos vivos usados en la pesca deportiva.
- Identificar las especies productoras de miasis en Extremadura, así como los factores que influyen en la epidemiología de esta enfermedad.
- Determinar si *Protophormia terraenovae* tiene capacidad de provocar lesiones miásicas en ovino en condiciones experimentales en Extremadura.

3.2 Captura de *Culicoides* y dípteros necrófagos.

3.2.1 Material de muestreo.

3.2.1.1 Trampas de muestreo de *Culicoides*.

La metodología empleada para el muestreo de poblaciones de *Culicoides* estuvo basada en un muestreo mensual durante los años 2012-2013, mediante trampas facilitadas por la Consejería de Agricultura, Desarrollo Rural, Medio Ambiente y Energía del Gobierno de Extremadura. Estas trampas se basan en la captura de los mosquitos por aspiración y con una fuente de luz ultravioleta, desarrolladas por el Centro del Control y Prevención de Enfermedades (CDC) (Figura 63), dotadas de una fuente de luz ultravioleta, en las que la entrada de mosquitos se produce por la parte superior. Como fuente de alimentación de estas trampas se utilizaron baterías de 6 voltios que alimentaban también a un ventilador colocado bajo esta fuente de luz. La forma de captura de estas trampas se basa en que los insectos que son

Material y métodos

atraídos por la luz UV, son aspirados de este modo por el ventilador y conducidos a través de un embudo de tela a un bote de plástico fijado en su extremo.

Debido a que, según la bibliografía consultada, la actividad de los *Culicoides* está muy influenciada por las condiciones atmosféricas, y fundamentalmente por las temperaturas mínimas, junto a cada trampa se instaló una estación meteorológica automática “Hobo”, que registró de forma continua la temperatura y la humedad relativa ambiental cada hora (Figura 63).

Mediante el uso de estas estaciones, se puede establecer la relación del microclima al que estuvieron sometidas las trampas con las presencia o ausencia de *Culicoides*, por lo que son esenciales para interpretar los resultados obtenidos.



Figura 63. Trampas en distintas localizaciones extremeñas (localidades de Villarreal de San Carlos y Talayuela). En la imagen de la izquierda se aprecia el dispositivo “Hobo” colocado cerca de la trampa, para obtener datos de humedad y temperatura. Las trampas se mantenían 24 horas una vez al mes en cada punto de muestreo. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

3.2.1.2 Trampas de muestreo de dípteros necrófagos.

La captura de dípteros necrófagos se realizó mediante el uso de trampas cebadas orientadas por el viento o trampas WOT (Wind Oriented Traps) (Figura 64). Las trampas WOT cebadas con materia orgánica en descomposición de origen animal son comúnmente usadas para capturar imagos de varias familias de dípteros, entre los que destacan por su abundancia los Calliphoridae, Sarcophagidae, Muscidae (Ruiz-Martínez *et al.*, 1992b; Martínez-Sánchez *et al.*, 2000b), y en menor medida,

otros órdenes de insectos himenópteros, coleópteros y lepidópteros. Sin embargo, conviene destacar que estas trampas atraen mayoritariamente a hembras.

La trampa WOT consiste en dos recipientes de plástico transparentes que encajan entre sí. Dichos recipientes se mantienen en el aire en posición horizontal, mediante un soporte de metal con una veleta. Uno de los botes actúa como recolector, mientras que en el otro se sitúa el cebo. El interior de ambos botes está separado por una malla metálica que permite fácilmente la difusión del olor del cebo sin que las moscas accedan al mismo. El bote recolector de la trampa está orientado para que las moscas al volar en sentido opuesto al viento dominante puedan entrar. De esta manera, los insectos voladores detectan el olor despedido por el cebo de la trampa, buscan la entrada en el centro de un embudo invertido y éste mismo, le imposibilita salir al exterior (Figura 64).

El cebo utilizado en este estudio consistió en 300 gr. de hígado de cerdo triturado, 75 ml de sangre de cerdo y 1ml de anticoagulante (EDTA, para mantener la sangre diluida durante más tiempo).



Figura 64. Trampas W.O.T. en la finca de Las Cansinas “Monfragüe”. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

Al igual que en el caso de los *Culicoides*, también se colocaron estaciones meteorológicas marca "Hobo", con el fin de conocer las condiciones de temperatura y humedad en cada punto de muestreo durante las 24 horas de recolección mensual.

3.2.2 **Periodos y puntos de muestreo.**

Para realizar el estudio de *Culicoides* y dípteros necrófagos en Extremadura, se seleccionaron 22 puntos distintos de la geografía extremeña para instalar trampas de succión luminosa y las trampas “WOT”, con el objeto de obtener resultados en la mayoría de las comarcas (Figura 65) que fueran representativos de la población de estos dípteros en la Comunidad Autónoma en su conjunto.

Material y métodos

Las trampas de muestreo se colocaron en cada punto una vez al mes durante los años 2012 y 2013. Se mantuvieron durante 24 horas, de modo que éstas se colocaban por la mañana y se recogían al día siguiente a la misma hora. Debido a los numerosos desplazamientos a que esto obligaba, no fue posible colocar todas las trampas en los mismos días.

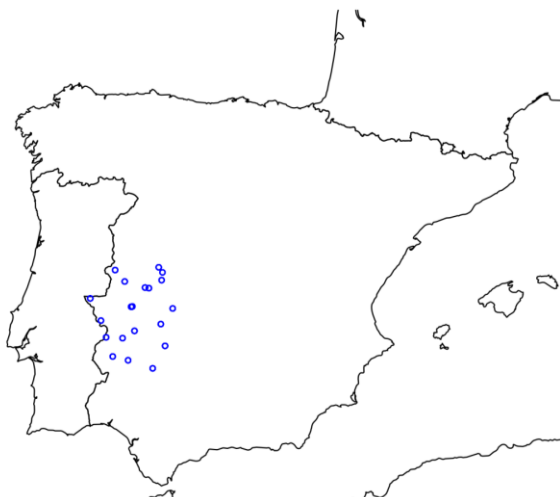


Figura 65. En el mapa se puede observar los distintos puntos de muestreo distribuidos por el suroeste de España. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

La situación de las trampas se seleccionó, procurando muestrear ecosistemas diversos, como el objeto de comprobar si existían diferencias importantes entre las poblaciones de *Culicoides* y de dípteros necrófagos en los mismos.

Así, entre los lugares de colocación, se encuentran puntos cercanos a instalaciones ganaderas, aunque se evitaba el interior de las mismas, también casas de campo sin ganado, explotaciones cerca de ríos e interior de pueblos y ciudades (Figura 66).



Figura 66. Algunos de los hábitats estudiados: Charca Las Cansinas (izquierda) y una zona de dehesa (centro), ambos en Monfragüe y una charca de riego en Villamiel (derecha). Fuente: Blanco-Ciudad, J.


Cuando en el lugar de colocación de la trampa hubiera animales, se procuró colocarla cerca de donde durmieran los animales (a no más de 30 metros de ellos). Se tuvo la precaución de colocar las trampas en lugares donde los animales no accedieran a la misma para no dañarla.

Se procuró no colocarlas dentro de construcciones cerradas, aunque se consideró aceptable bajo cobertizos o en establos muy abiertos. Tampoco cerca de otros puntos de luz durante la noche, para evitar que interfirieran en la atracción lumínica de la trampa. Además, se evitó también la colocación en días con fuertes vientos o en los que se previeran lluvias.

Las trampas se colocaron en alto, de tal forma que la luz quedara a una altura de 1,7 a 2 metros sobre el suelo. El termómetro de máximas y mínimas se colocó cerca de la trampa. Además, las baterías en el caso de la trampa “CDC” miniatura debían estar bien protegidas, para evitar que se mojaran en el caso de lluvia. Tras su instalación, se comprobaba que tanto la luz como el ventilador funcionaran correctamente y que la batería estaba conectada con la polaridad adecuada (porque de otro modo, el ventilador giraría, pero en sentido contrario, y la luz no se encendería). Estas trampas llevan en su parte superior una cubierta para evitar que en caso de lluvia penetrase el agua. En ella, hay una arandela que permite sujetarla a cualquier estructura mediante una cuerda. Dada la fragilidad de la trampa, conviene sujetar la trampa o prever que cuando se mueva por fuertes vientos no golpee contra ninguna estructura o árboles. Los lugares debían ser además accesibles para la puesta y recogida de trampas, donde los propietarios fueran colaboradores con los mismos y pudieran mantenerse fuera del acceso de grandes animales o caminantes curiosos.

No obstante, se procuró muestrear lugares geográficamente distintos con el objeto de comprobar si existía una relación entre el tipo de lugar o su clima con la presencia de *Culicoides* o dípteros necrófagos y de cómo esto podía influir en la presencia de determinadas especies.

Además, en cada uno de los muestreos se rellenó una ficha realizada por el Área de Parasitología del Departamento de Sanidad Animal en la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Extremadura, en la que se hace constar la colocación de la trampa y si se ha producido alguna incidencia en el muestreo (Figura 67). Además de esta ficha, también se realizó una encuesta epidemiológica en la que se incluían diversos factores de los lugares de muestreo (como la distancia a la localidad, la población, etc.) que nos serían de utilidad a la hora de relacionarlos con las capturas obtenidas (Figura 68).

 **FICHA DE CAPTURAS**

	Coordenadas de colocación	
Comarca de la Explotación		
Localidad de la Explotación		
Fecha y hora de colocación de la trampa		
Fecha y hora de retirada de la trampa		
Latitud, Longitud y altura con GPS		
Incidencias climatológicas (lluvia, aire,...)		
Fuente de la luz (batería, red eléctrica)		
Ubicación de la trampa (árbol, pared, cobertizo, silo, etc)		
Incidencias		
Nombre de la persona que recoge la trampa y rellena la ficha		
Fecha, Firma		

RESULTADOS

Trampas moscas	Trampas mosquitos

Figura 67. Ficha de captura realizada cada día al recoger la trampa. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

Encuesta epidemiológica mosquitos

Nombre:

1. Localidad
2. Altitud
3. Distancia a masa de agua:
4. Tamaño masas de agua.
5. Distancia a la localidad:
6. Población de la localidad:
7. Distancia a explotaciones porcina, bovinas, ovinas, caprinas y aviaries.

8. ¿Miasis frecuentes en verano?
9. Zonas de estiércol. (Heces) (Distancia)
10. Vegetación de la zona:
 - a. Bosque mediterráneo.
 - b. Dehesa.
 - c. Zona cultivo Secano.
 - d. Zona cultivo regadío.
 - e. Zona de matorral (bosque bajo).
 - f. Otro (Indicar)
11. Presencia de otros animales. (Salvajes o domesticos)
12. Conocimiento de brotes de alguna enfermedad en zonas cercas (Lehismania, lengua azul, dirofilariosis...)

13. Población de inmigrantes (%)

Figura 68. Encuesta de capturas realizada de cada zona de muestreo. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

3.2.3 Retirada de la trampa y envío del material.

Transcurridas las 24 horas de puesta de trampas, se comprobó que éstas seguían funcionando correctamente sin incidencias, rellenando la ficha de captura. El bote colector se recogía y se trasladaba al laboratorio lo antes posible.

3.2.4 Mantenimiento.

Tras la utilización de las trampas, se comprobaba que tanto la luz como el ventilador funcionaban correctamente antes de volverlas a utilizar, con el objeto de sustituir los tubos fluorescentes o los motores que pudieran haberse estropeado con repuestos adquiridos en tiendas especializadas, o sustituirlas por otras trampas.



Figura 69. Recarga de baterías. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

La autonomía de las trampas es de 24-48 horas, por lo que se precisa una sustitución continua de las pilas o la recarga de las baterías poco antes de colocarlas (Figura 69).

Las trampas WOT también eran arregladas con cierta frecuencia, ya que en ocasiones sufrían pequeñas roturas.

3.2.5 Conservación, etiquetado de las muestras y métodos de identificación.

A su llegada al laboratorio, se traspasaron todos los ejemplares a un bote, el cual, se identificaba con un rotulador permanente con el nombre del punto de muestreo y la fecha (día y mes) de recogida.



Figura 70. Imagen del laboratorio de análisis. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

Este bote era congelado a la espera de poder identificar los ejemplares capturados. Éstos se diferenciaban entre machos y hembras, y dentro de estas últimas se comprobaba si eran paras nulíparas, con sangre o con huevos basádonos en la pigmentación del abdomen (Dyce, 1969)). Los machos presentan antenas plumosas y las hembras pilosas, siendo rasgos fáciles de diferenciar (Figura 70).

En el laboratorio se realizó la clasificación taxonómica del género *Culicoides* (familia Ceratopogonidae) (Figura 71). Esta identificación de las especies se llevó a cabo mediante visualización directa del patrón alar bajo un estereomicroscopio y siguiendo principalmente las claves de Rawlings (1996) pero también otras claves dicotómicas que analizan diferentes características morfológicas (Mathieu *et al.*, 2010, 2012). La clasificación en función de las manchas de las alas a veces no permite diferenciar especies parecidas, pero al menos permite asociar especies del mismo grupo. Así por ejemplo cuando hablamos de *Culicoides obsoletus* s.l. nos estamos refiriendo siempre a un grupo de especies que son morfológicamente muy parecidas e imposible de diferenciar en el estereomicroscopio, denominándose como complejo Obsoletus. Lo mismo sucede con el grupo de *C. atripennis* que encuadra a 4 especies (*C. atripennis*, *C. pallidicornis*, *C. achrayi*, *C. furcillatus*) que no pueden diferenciarse mediante las alas por lo que durante nuestro trabajo lo nombraremos como *C. atripennis* s.l.

Los *Culicoides* separados se conservaron en tubos Eppendorf con alcohol absoluto separados por especies y/o grupos, identificados con el nombre de la especie y/o grupo, la fecha y localidad en que fueron capturados.

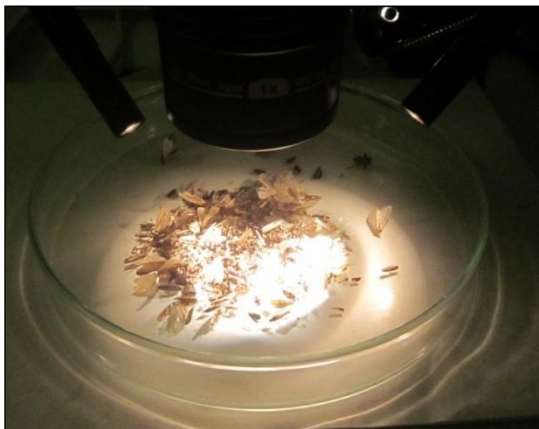


Figura 71. Diferenciación de los insectos capturados para la búsqueda de *Culicoides* spp. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

El proceso que se lleva a cabo con las muestras de dípteros necrófagos fue similar al que se realizó para los *Culicoides*. Para la identificación de los dípteros capturados se utilizaron las claves taxonómicas del libro “Curso Práctico de Entomología” de Barrientos (2004), si bien solo permitía llegar a nivel de familia. Dado que la familia más abundante y objeto de este estudio ha sido la familia Calliphoridae, para la identificación a nivel de géneros y especies se ha hecho especial hincapié en la quetotaxia de la familia y se han usado los trabajos de Seguy (1941), Zumpt (1965), González-Mora and Peris (1988), González-Mora (1989), Rognes (1991, 1994) o Williams and Villet (2014). Una vez realizada la identificación, se procedió a la conservación en seco de estos dípteros; de tal forma que, una parte representativa del material capturado fue etiquetado y conservado en cajas entomológicas, y el resto se mantiene guardado en botes herméticos debidamente etiquetados con alcohol de 70°.

3.3 Dípteros productores de miasis.

3.3.1 Puntos de muestreo.

Para conocer cuáles son las especies productoras de miasis en Extremadura, se han obtenido muestras de animales parasitados de diferentes zonas de la región (Tabla 9 y Figura 72).

Tabla 9. Número de animales analizados por comarca.

	Comarca
Alcántara	2
Badajoz	2
Cáceres	61
Campaña Sur	3
Jerez de los Caballeros	3
La Siberia	4
Los Baldíos	50
Mérida	3
Salamanca	1
Tentudia	3
Trujillo	3
Valencia de Alcántara	88
Vegas Altas	3
Zafra	3

A pesar de intentar diversificar los lugares donde se tomaban las muestras, la mayor facilidad para llegar a algunas zonas, así como el conocimiento de las explotaciones de éstas, nos llevaron a que la mayoría de las muestras se tomaran en las comarcas de “Cáceres”, “Los Baldíos (Alburquerque)” y “Valencia de Alcántara”.

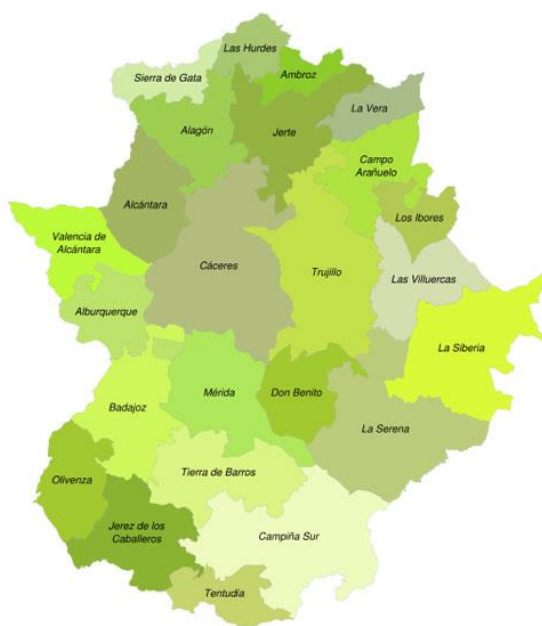


Figura 72. Diferentes comarcas en la Comunidad Autónoma de Extremadura. Fuente: <http://bichotoblog.com>

3.3.2 Obtención de la muestra.

Para conocer las especies causantes de las miasis cutáneas en Extremadura, se procedió a la obtención mediante extracción mecánica (con pinzas) de las larvas presentes en la herida. Las larvas obtenidas se introdujeron en recipientes con orificios en la parte superior para permitir la entrada de aire, y posteriormente fueron transportadas al laboratorio para su procesado (Figura 73).



Figura 73. Extracción de larvas para transportar al laboratorio. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

3.3.3 Preparación, conservación, identificación y etiquetado de la muestra.

Una vez en el laboratorio, se realizó una separación de la muestra en función de los estadios en los que se encuentran las larvas obtenidas. De esta forma, las L1 y L2 se etiquetaron y guardaron en alcohol de 70° para futuros estudios genéticos. Dichos estudios son la tendencia actual para la identificación de las muestras obtenidas, eliminando de esta forma el error asociado a la interpretación de las características morfológicas usadas como taxón por el especialista.

Las L3 se colocaron en terrarios para que pudieran enterrarse y pasar al estado de pupa. Una vez en estado de pupa, se individualizó cada espécimen en placas de Petri hasta la emergencia del imago. Durante este proceso, las condiciones ambientales del laboratorio quedaron registradas mediante estaciones meteorológicas que obtuvieron información sobre la temperatura y humedad relativa a la que se encontraban los terrarios (Figura 74).



Figura 74. Terrario y pupa individualizada. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

Aunque es posible la identificación morfológica larvaria, es mucho más óptimo lograr la emergencia del adulto, ya que la identificación de éste es bastante más sencilla que la identificación larvaria. Una vez obtenido el imago en el laboratorio, se mantuvieron durante dos días antes de someterlos a congelación con el fin de que la muerte se produjera rápidamente y se facilitase su posterior manejo. El hecho de dejarlos dos días una vez obtenido el imago, fue para que desarrollen y adopten la coloración todas sus estructuras morfológicas, puesto que estas estructuras se utilizaron como caracteres taxonómicos para la identificación morfológica del adulto (Figura 75).



Figura 75. Imago eclosionado en el laboratorio. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

El siguiente paso fue el “picado”, consistente en la colocación del imago sobre unas placas de poliestireno, procediendo al estiramiento de alas y patas para facilitar su identificación. Ésta se realizó mediante el análisis y estudio de sus estructuras morfológicas bajo un estereomicroscopio. Una vez identificados, los imagos fueron etiquetados y conservados en los expositores entomológicos (Figura 76 y Figura 77).



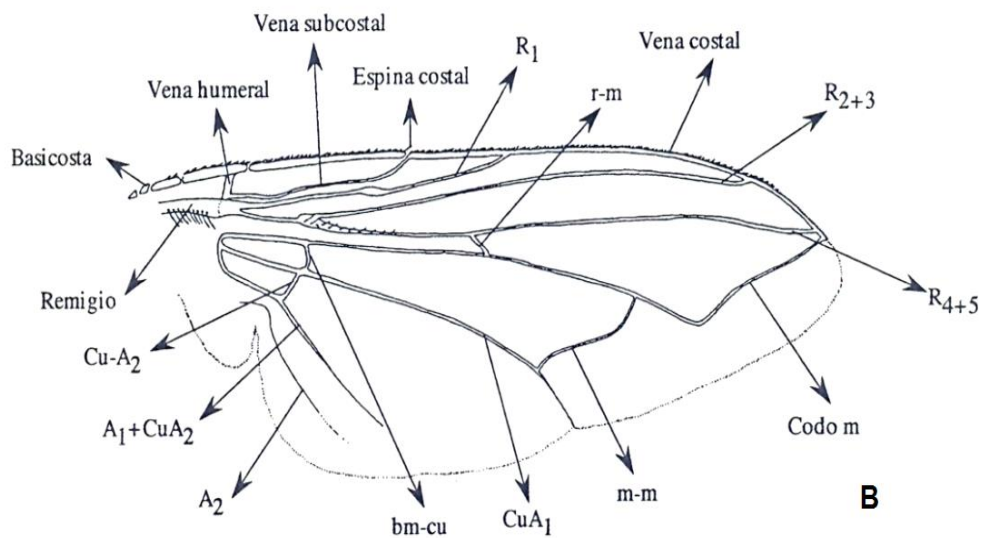
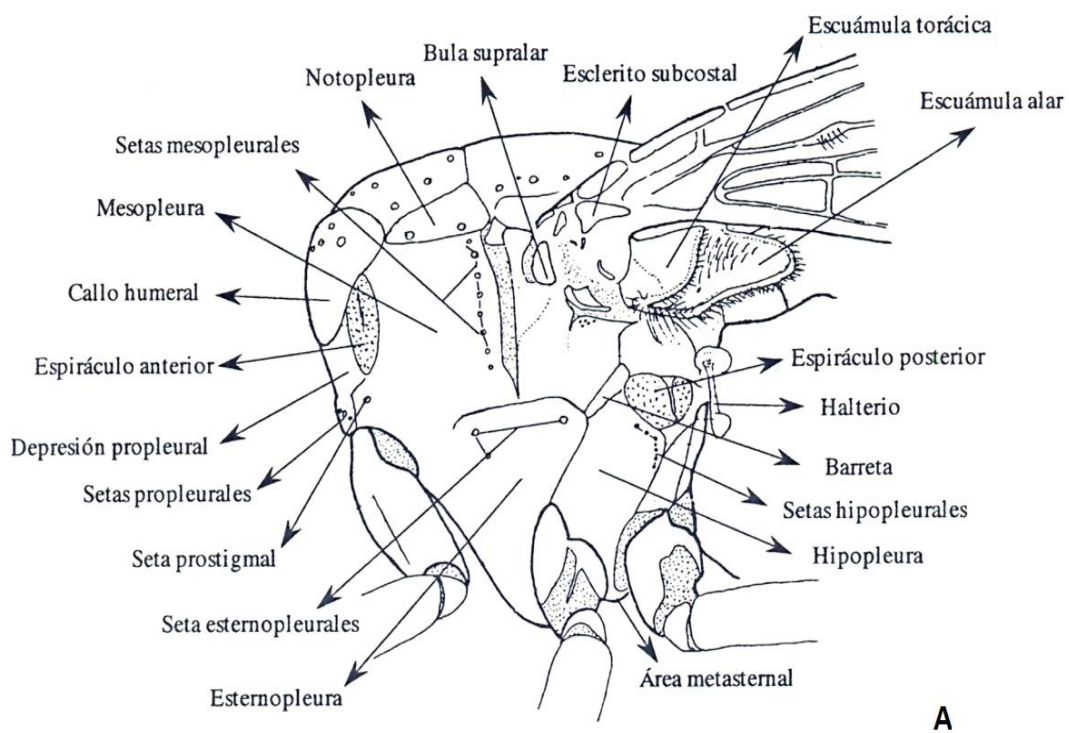
Figura 76. Expositores entomológicos.
Fuente: Blanco-Ciudad, J.



Figura 77. Etiquetado de un imago y su pupa. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

Como ya se ha comentado, la identificación morfológica de los adultos se realizó mediante el estudio de sus estructuras morfológicas utilizando una serie de claves dicotómicas, las cuales también se utilizaron en los dípteros necrófagos capturados (Figura 78). Con el fin de identificar los adultos hasta el nivel de familia se utilizó el libro “Curso Práctico de Entomología” (Barrientos, 2004).

Sin embargo, hasta los taxones de géneros y especies se usaron las siguientes claves dicotómicas; “Myiasis in man and animals in the old world” (Zumpt, 1965), “Mouches Parasites II. Calliphorines, Sarcophagines et Rhinophorines de l’Europe occidentale et méridionale” (Seguy, 1941) y “Veterinary Ectoparasites” (Wall and Shearer, 2001).



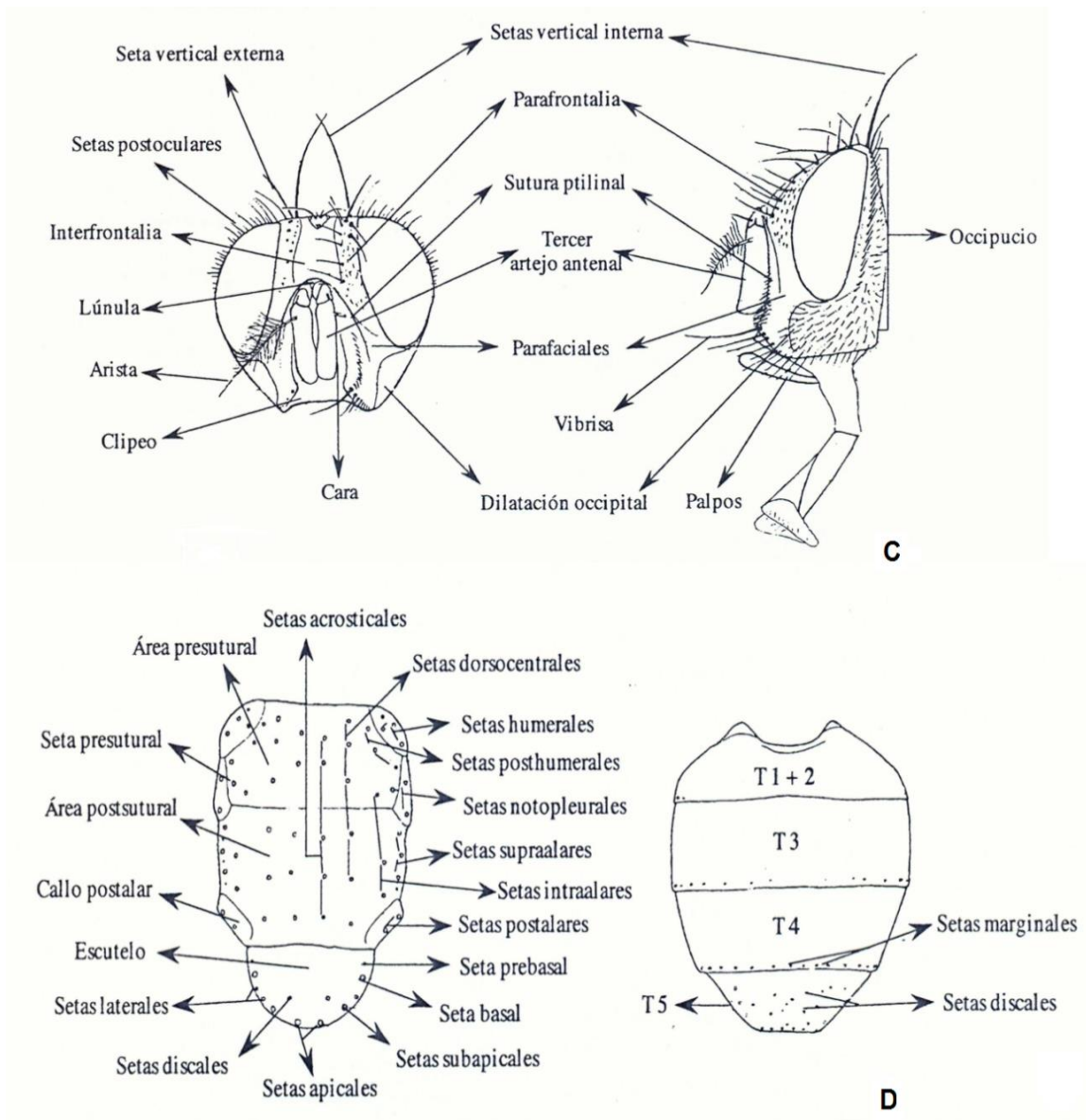


Figura 78. Tórax en visión lateral (A), ala derecha en visión dorsal (B), cabeza en visión frontal y lateral (C), tórax en visión dorsal (izquierda) y abdomen en vista dorsal (derecha) (D) de un califórido. Martínez-Sánchez (2003) modificado de Rognes (1991).

3.4 Miasis experimental.

3.4.1 Diseño experimental.

Durante los meses de junio y octubre de 2012, se llevó a cabo en las instalaciones de la granja de la facultad de Veterinaria de Cáceres una infección experimental de ovejas de raza merina con larvas *Protophormia terraenovae*, con el fin de comprobar si este díptero, especie propia de regiones frías, es capaz de desarrollar miasis en los animales de regiones cálidas. Para ello, se establecieron tres lotes de ovejas constituidos por 10 animales en cada lote. La estructura del experimento se expone a continuación y se resume en la Tabla 10.

LOTE 1 (n=10 ovinos). Las ovejas de este lote fueron infestadas seriadamente con dosis bajas de L1. En concreto, a las ovejas se le practicó una pequeña herida en la escápula derecha al día 0 y fueron infestadas seriadamente con 500, 200 y 200 L1 de *Protophormia terraenovae* a los días 0, 2 y 4 post-inoculación (p.i.), respectivamente. Se tomaron muestras de sangre y exudado de la herida 3 veces por semana durante los primeros 14 d.p.i (día post-inoculación). Posteriormente se tomaron muestras de sangre 2 veces por semana hasta el día 31 d.p.i y 1 vez por semana hasta el 45 d.p.i. Del mismo modo, se practicaron dos biopsias de piel en el foco de la lesión a los 4 y 14 d.p.i.

LOTE 2 (n=10 ovinos). Las ovejas de este lote fueron infestadas seriadamente con dosis altas de L1. Se procedió de modo similar a las del lote 1, pero en este caso la infestación fue con 2500, 1000 y 1000 L1 de *Protophormia terraenovae* a los días 0, 2 y 4 post-inoculación (p.i.), respectivamente. Las tomas de sangre, exudado y biopsias de piel se practicaron en los mismos d.p.i que en las ovejas del lote 1.

LOTE 3 (n=10 ovinos). Este lote fue el control no infestado con ninguna larva. Este grupo de animales se dividió a su vez en dos subgrupos; un grupo de 5 animales (**Lote 3A**) a los que no se les hizo ninguna herida y otro grupo de 5 animales (**Lote 3B**) a los que sí se le practicó una pequeña herida del mismo modo que a los animales de los lotes 1 y 2, pero sin infestación posterior por larvas. No obstante, al igual que se hizo con los lotes infestados, se tomaron muestras de sangre, de exudado de la herida (solo en el lote 3B) y biopsia (solo en el lote 3B) en los mismos días que en los lotes 1 y 2.

Tabla 10. Resumen de la cronología llevada a cabo en el diseño experimental.

Lote	D.P.I de recogida de exudado	D.P.I de recogida de sangre	D.P.I de biopsia
Lote 1	2,4,7,9,11,14	2,4,7,9,11,14,17,21,14,31,38,45	4,14
Lote 2	2,4,7,9,11,14	2,4,7,9,11,14,17,21,14,31,38,45	4,14
Lote 3	2,4,7,9,11,14	2,4,7,9,11,14,17,21,14,31,38,45	4,14
Lote 3 b	--	2,4,7,9,11,14,17,21,14,31,38,45	--

3.4.2 Obtención del inóculo.

Las L1 que utilizamos como agente infestante en el experimento, se obtuvieron completando el ciclo de vida de estos dípteros. Para ello, se compraron L3 procedente del asticot comercializado para la pesca deportiva. Estas L3 se dejaron pupar en el laboratorio y estas pupas se traspasaron a unos criaderos a la espera de su eclosión (Figura 79).

Tras la eclosión de los imagos, se identificaban varios ejemplares con el fin de confirmar que la especie comercializada se trataba de *Protophormia terraenovae* y no otras especies de dípteros, también usados como cebos en la pesca deportiva.

Una vez eclosionados los imagos, se les proporcionaba un alimento consistente en una solución de agua y azúcar y además se incluía una bandeja con hígado de cerdo, que fue donde las hembras pondrían los huevos y así obtendríamos el inóculo de L1.

El inóculo exacto se calculó siguiendo las indicaciones de Colditz *et al.* (2005), estableciendo que 35 mg suponen un número de 500 L1.



Figura 79. Criadero de dípteros y bandeja con hígado donde se obtienen las L1. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

3.4.3 Procedimiento de infestación.

El procedimiento de infestación consistió, en primer lugar, en la eliminación de la lana de una pequeña zona de piel localizada en la zona media de la espalda baja. A continuación, se raspó con una hoja de bisturí esa zona de piel sin llegar a visualizar sangre en la misma. Se colocaron las larvas directamente sobre la piel lacerada y se rodearon con una estructura de tal manera que impedía que se escaparan de la zona. Además, se cubrieron con gasas con el fin de poder recoger el exudado producido. En la Figura 80 se puede observar la lesión con las L1 y la estructura y anejos añadidos para evitar su fuga de dicha herida.



Figura 80. Sistema de infestación con L1. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

3.4.4 Animales de estudio.

En este estudio se han empleado ovejas de raza merina, raza autóctona que se adapta bien al medio. Es una oveja típica de Extremadura, que se encuentra ampliamente adaptada a la región y ampliamente extendida en las explotaciones ovinas de la comunidad, siendo de esta manera más fácil la interpretación de los resultados y su extrapolación posterior.

Las ovejas de este estudio fueron de edad adulta y presentaban una condición corporal entorno al 2.5 (Figura 81).



Figura 81. Ovejas de uno de los corrales del estudio. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

3.4.5 Instalaciones de realización del experimento.

Como ya se indicó, el experimento se realizó durante los meses de julio a octubre en las instalaciones de la granja de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Extremadura, donde se dispuso de un recinto habilitado para el desarrollo de este estudio. El recinto contaba con tres corrales que reunían las condiciones de espacio (unos 40 m² para 10 ovejas) y alimento suficiente para el desarrollo de la vida de las ovejas. También presentaba las medidas de aislamiento para evitar el contacto de ectoparásitos y otros insectos durante el desarrollo del mismo, evitando de esta forma la alteración de los posibles resultados. Para ello, los corrales constaban de paredes de bloques de hormigón y en la parte superior fueron cubiertos con una tela mosquitera. Además, la puerta fue doble y diseñada con telas mosquiteras, de tal forma que una de las puertas siempre se encontrase cerrada evitando tanto la salida como la entrada de la mayoría de los dípteros. En el centro del corral se encontraba un comedero donde se depositaba pienso y paja, esta última ad-libitum. Además, todos los corrales constaban de un bebedero automático.

3.4.6 Recogida de muestras.

La toma de muestras se produjo desde el día siguiente a la infestación hasta el 45 d.p.i. Se tomaron muestras de sangre, exudado y biopsias de piel.

Se tomó sangre de la yugular empleando el sistema venoject (Figura 82). La sangre obtenida por venopunción fue recogida por dos tubos, uno de ellos para la obtención de suero para poder realizar las pruebas bioquímicas y otro heparinizado para la realización posterior del frotis sanguíneo

La biopsia se realizó en la herida mediante el uso de un punch cutáneo o sacabocados.



Figura 82. Toma de sangre. Fuente: Blanco-Ciudad, J.

3.4.7 Procesado y conservación de las muestras.

Sangre.

Las muestras sanguíneas obtenidas fueron procesadas en los laboratorios del área de Parasitología de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Extremadura. Con el tubo de sangre sin heparina, se procedía a la realización de la hematología sanguínea mediante el empleo de una máquina para tal fin, obteniendo los datos referentes a la serie roja de elementos formes de la sangre. La sangre heparinizada se empleó para elaborar un frotis sanguíneo que nos permitirá cuantificar la serie blanca mediante la realización de la fórmula leucocitaria.

Histología.

En primer lugar, el material obtenido en las biopsias, fue fijado en formol al 10 % tamponado, tallado en pequeños bloques, tras varios días de fijación, e incluido en parafina en un procesador automático (LEICA, TP1020), siendo almacenados hasta su uso.

Se realizaron cortes de entre 4 y 8 μm de espesor, se depositaron en portaobjetos y se sometieron a calentamiento suave para provocar su adherencia. Más tarde, se desparafinaron sometiendo el corte primero a 50°C durante un mínimo de 1 hora. A continuación, se sometieron a dos baños de xilol, y posteriormente se rehidrataron mediante sucesivos baños de alcohol etílico de concentración decreciente (100°, 96° y 70°) y luego en agua destilada. Por último, se realizó la

Material y métodos

técnica de tinción con hetatoxilina-eosina. De forma resumida, constaría de los siguientes pasos:

- Hemalumbre de Hematoxilina de Mayer 6 min
- Lavado con agua destilada
- Tampón ácido para diferenciación 1 min
- Lavado con agua destilada
- Tampón básico de viraje 2 min
- Lavado con agua destilada
- Eosina G 5min
- Lavado con agua destilada
- Tampón neutro de diferenciación 5 min

Una vez teñido, se realizó este mismo proceso, pero en sentido contrario, para lograr la deshidratación absoluta del tejido, y tras el último baño en xilol, se cubrió la preparación con medio de montaje permanente. Una vez teñido, podemos observar los núcleos celulares en color azul oscuro, mientras que el citoplasma aparece en distintas tonalidades de rosa.

Todas las tinciones fueron realizadas en el Laboratorio de Anatomía Patológica de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Extremadura.

Una vez procesadas las muestras, fueron analizadas mediante su visualización en un microscopio realizando un score que permitía dar un valor a los parámetros a estudiar.

3.4.8 *Análisis de las muestras.*

Estudio Hemático.

El análisis para el conteo de los eritrocitos y los valores referentes a la serie roja como el hematocrito, el volumen corpuscular medio, hemoglobina corpuscular media o el conteo de las células blancas se realizaron de forma automatizada mediante el empleo de una máquina de conteo de células sanguíneas, Animal Blood Counting.

La fórmula leucocitaria se realizó de forma manual mediante la observación de los frotis sanguíneos al microscopio. Se contabilizaron los distintos tipos de leucocitos, usando un “contador de saco” u otro cualquier artilugio que posibilite el conteo. Pueden cogerse varios campos del microscopio (los mejores, sin repetirlos) usando el sistema de conteo de dividir mentalmente el campo del microscopio en

una esfera de reloj y ejecutar el contaje sistemáticamente. Se realizó recuento de 200 a 300 leucocitos.

Se realizaron los cálculos pertinentes y se pasaron a tanto por ciento. Se comparó lo obtenido con los valores normales.

Las pruebas de bioquímica sanguínea se realizaron de forma automática e informatizada mediante el empleo de una máquina específica denominada Saturno 100. Estos análisis se realizaron en los laboratorios de la unidad de Medicina Interna del Hospital Clínico Veterinario de la Universidad de Extremadura.

Estudio histopatológico.

Las muestras histopatológicas tras su procesado y tinción, son analizadas bajo el microscopio a diferentes aumentos. Las imágenes fueron interpretadas para calcular el grado de lesión, el estudio microscópico de las muestras incluyó un score basado en parámetros que, según la bibliografía consultada, son susceptibles de aparecer. Los parámetros utilizados y la graduación empleada en cada uno de ellos fueron los siguientes:

- Necrosis: extensión (0-3)
- Ulcera: extensión (0-3)
- Bacterias: Ausencia-presencia (0-1)
- Infiltrado
- Cantidad: nulo-masivo (0-3)
- Extensión: Afección capas (0-3)
- Tipo: Macrófago (M), célula plasmática (pl), linfocito (l), eosinófilo (e), célula cebada o mastocito (cc)
- Fibroblastos: ausencia-presencia (0-1)
- Afección muscular: ausencia-presencia (0-1)
- Hemorragias: ausencia-presencia (0-1)

3.4.9 Material para histología.

Para el análisis microscópico, utilizamos los siguientes elementos:

- Microscopio i80 Eclipse® (Nikon Instech Co., LTD., Kanagawa, Japan).
- Procesador automático de muestras Leica 1020® (Leica Microsystems Inc. Buffalo Grove, IL, USA).
- Cabina de filtración de gases horizontal Airnet® (CRUMA Material de Laboratorio, S.A., Barcelona, España).
- Dispensador de parafina Selecta® (J.P. Selecta S.A. Fábrica de Aparatos y Equipos para Laboratorio, Barcelona, España).
- Microtomo Leica® (Leica Microsystems Inc. Buffalo Grove, IL, USA).
- Portaobjetos.
- Cubreobjetos.
- Kit de tinción de hematoxilina-eosina.
- Cámara digital Nikon® (Nikon Instech Co., LTD., Kanagawa, Japan).
- Programa de captura de imágenes ACT-1 Nikon® (Nikon Instech Co., LTD., Kanagawa, Japan).
- Punks o Sacabocados de 8 mm usados para realizar las biopsias.

3.4.10 Material para el análisis sanguíneo.

- Microscopio i80 Eclipse® (Nikon Instech Co., LTD., Kanagawa, Japan).
- Cámara digital Nikon® (Nikon Instech Co., LTD., Kanagawa, Japan).
- Portaobjetos.
- Cubreobjetos.
- Tubos de sangre heparinizados y sin heparinizar.
- Agujas venojet y adaptador empleados para la extracción de sangre.
- Agitador Rotatorio “Blood Mixer (Modelo. 683)” (Nahita, Beriáin, España).
- Vet abc (animal blood counting) (Scil, St Gurnee, Illinois, EEUU) empleada para cuantificar los parámetros de la serie roja.
- Máquina Saturno 100 (Crony Instrument srl, Rome, Italy) utilizada para la cuantificación de los parámetros bioquímicos.

3.5 Análisis estadístico.

Los datos recogidos fueron analizados con el programa estadístico R versión 2.14.1 (R Development Core Team, 2011) utilizando test paramétricos o no paramétricos en función de las características de las variables analizadas. La normalidad de los datos continuos se determinó mediante el test de Saphiro-Wilk. La posible asociación entre los factores microclimáticos de temperatura y humedad con el número de capturas se estudió mediante el test de correlación de Spearman. Los valores de "p" en las comparaciones múltiples con el test de Wilcoxon, se ajustaron por el método de Benjamini and Hochberg (1995), para controlar el porcentaje de falsos positivos.

Resultados

4 Resultados.

4.1 Entomofauna de *Culicoides* y dípteros necrófagos.

4.1.1 *Culicoides*.

En el presente estudio se realizó la captura de mosquitos *Culicoides* con una frecuencia mensual durante dos años, utilizando para ello trampas CDC miniatura de luz ultravioleta. El número total de *Culicoides* capturados durante estos dos años fue de 6601, siendo la media capturada por trampa de 15,5 ejemplares. Sin embargo, es llamativo que la mediana sea de 0,0, lo que significa que en la mayoría de las trampas no se capturó ningún *Culicoides*, tal y como se observa en la Figura 83.

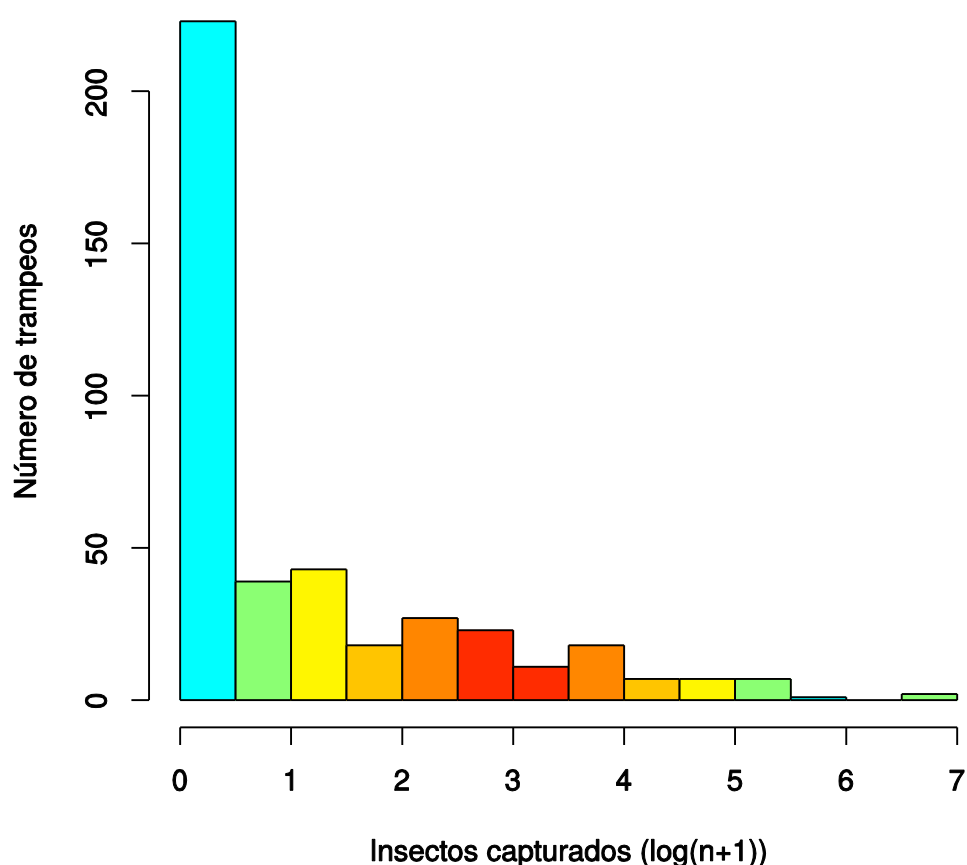


Figura 83. Relación del número de *Culicoides* capturados en los diferentes muestreos realizados.

4.1.1.1 Temporalidad.

Realizando un análisis de la temporalidad de las capturas en los dos años de estudio, podemos ver que existe una tendencia muy marcada de captura en los meses de verano, mientras que en algunas épocas de invierno los muestreo resultaron prácticamente nulos (Figura 84).

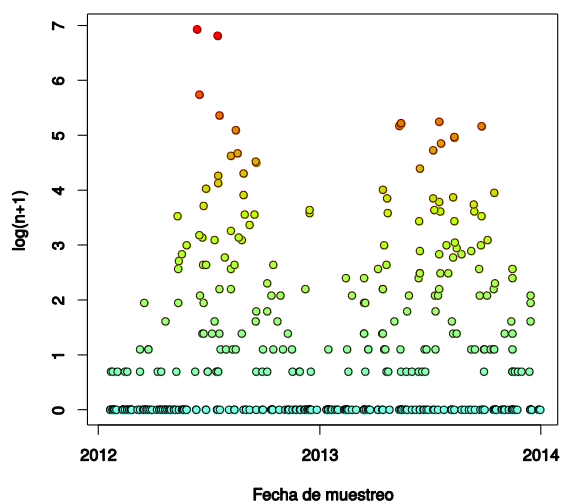


Figura 84. Distribución temporal de capturas de *Culicoides* en los dos años de estudio.

Si analizamos esta temporalidad de un modo mensual uniendo los dos años de muestreo, vemos que los meses con mayor número medio de capturas fueron julio y agosto y en los meses de diciembre, enero y febrero las capturas fueron muy escasas (Figura 85). De hecho, al analizar las comparaciones múltiples entre los distintos meses mediante el test de Wilcoxon y ajustadas por el método de Benjamini and Hochberg (1995), se obtienen diferencias claramente significativas entre los meses de invierno (diciembre, enero y febrero) respecto al resto de meses.

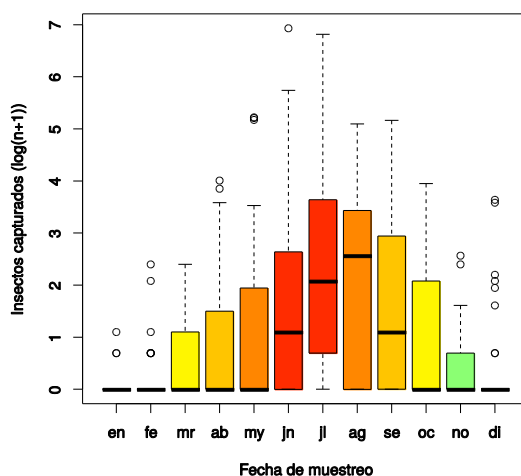


Figura 85. Distribución de capturas de *Culicoides* según el mes de muestreo.

4.1.1.2 Factores ambientales.

Temperatura.

Si analizamos el número de capturas de *Culicoides* en función de la temperatura media en la que se realizó el muestreo, podemos ver que el número de *Culicoides* capturados por trampa se incrementó según lo hizo la temperatura máxima en la zona de muestreo, como nos muestra la línea de tendencia de datos de la Figura 86.

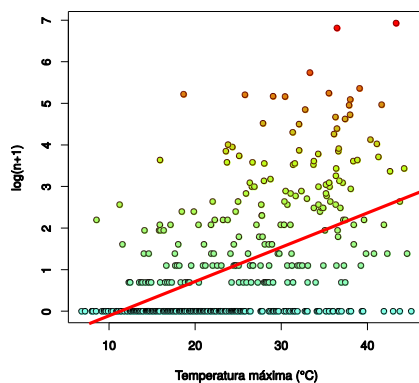


Figura 86. Distribución de capturas de *Culicoides* según la temperatura máxima ambiental.

Humedad relativa.

Analizando el número de *Culicoides* capturados en función de la humedad relativa media del momento de captura, podemos observar que el número de ejemplares capturados por trampa, mostró una tendencia ligeramente negativa según aumentaba la humedad relativa máxima, como vemos en la línea de tendencia de datos de la Figura 87. No obstante, hay que mencionar que este hecho pudo ser debido al contexto climatológico de Extremadura, ya que cuando la temperatura es más elevada la humedad relativa tiende a reducirse en esta región.

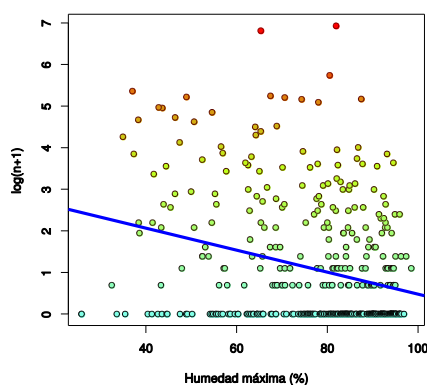


Figura 87. Distribución de capturas de *Culicoides* según la humedad relativa máxima ambiental.

Altitud.

En el presente estudio se realizó un análisis del número de capturas de *Culicoides* en función de la altitud de la zona donde se realizaban éstas. Se ha hallado que existió una leve tendencia a disminuir el número de capturas según aumentaba la altitud (Figura 88).

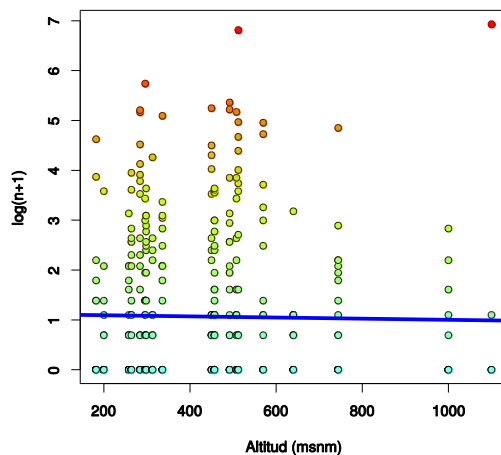


Figura 88. Distribución de capturas de *Culicoides* según la altitud sobre el nivel del mar.

4.1.1.3 Diferenciación geográfica.

Si analizamos los datos de muestreo por la localización geográfica en función de la provincia, se evidencia que existió una media de capturas ligeramente superior en la provincia de Badajoz con respecto a la de Cáceres, como observamos en la Figura 89. Esta diferencia fue estadísticamente significativa mediante la prueba de suma de rangos de Wilcoxon ($p=4,819e^{-10}$).

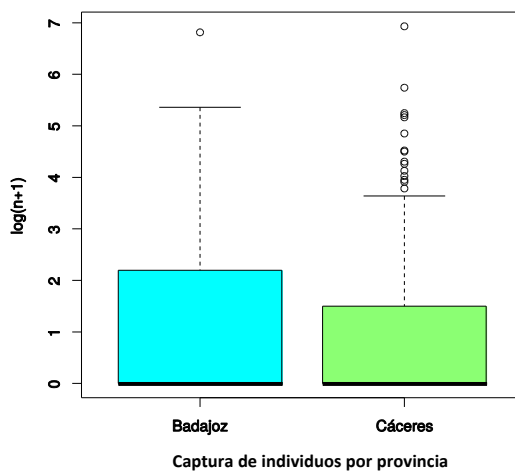


Figura 89. Distribución de capturas de *Culicoides* según la provincia de estudio.

Realizando el mismo análisis geográfico de las capturas, pero en esta ocasión según las comarcas, observamos que las que concentraron un mayor número de capturas de *Culicoides* fueron las de “La Serena”, “Campo Arañuelo” y “Campiña Sur”. Mientras que en las que obtuvimos un menor número de capturas fueron “Vegas Bajas”, “Valle del Jerte” y “Cáceres” (Figura 90).

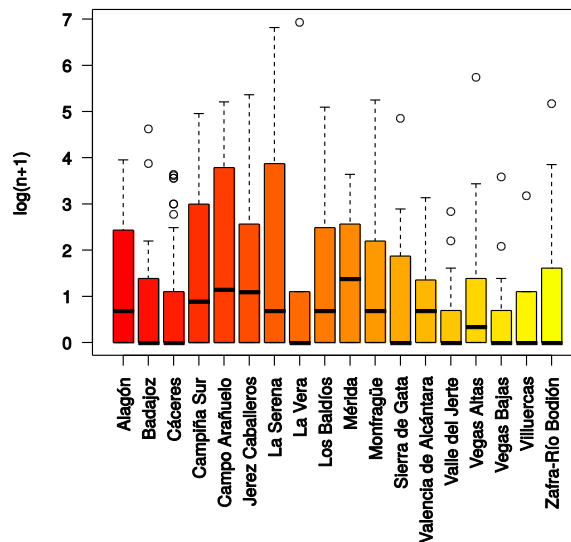


Figura 90. Distribución de capturas de *Culicoides* según la comarca de estudio.

4.1.1.4 Factores de influencia.

En nuestro proyecto, analizamos diferentes factores y su influencia en la captura de los *Culicoides*. Uno de los factores con una influencia mayor fue la situación de la trampa, bien en las afueras o en el centro de los cascos urbanos (Figura 91). Dicho análisis evidenció un mayor número de capturas en las afueras de los núcleos urbanos, siendo esta diferencia estadísticamente significativa mediante el test de suma de rangos de Wilcoxon ($p=0,0016$).

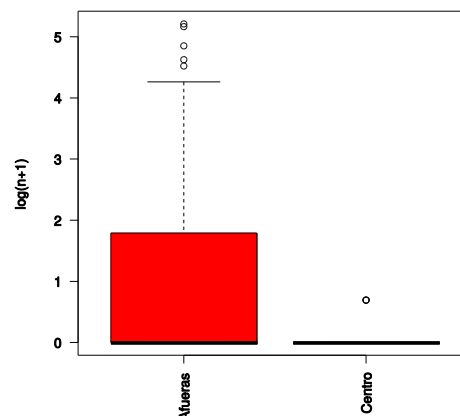


Figura 91. Distribución de capturas de *Culicoides* según la zona de captura en relación a la localización de la trampa.

Resultados

Otro de los factores epidemiológicos a tener en cuenta en el caso de los *Culicoides* fue la distancia a la población humana en la que se ponía la trampa, mostrándose un ligero aumento en las capturas a una mayor distancia de zonas pobladas (Figura 92).

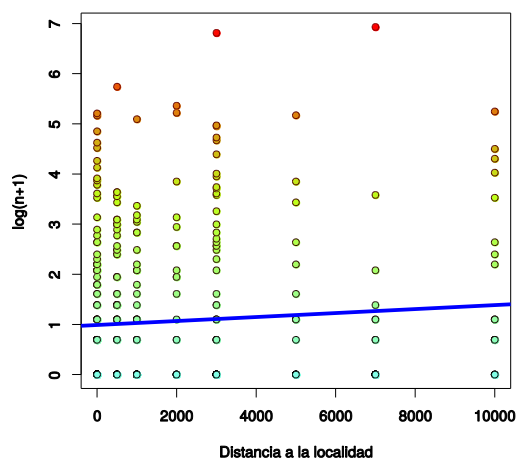


Figura 92. Distribución de capturas de *Culicoides* según la distancia de zona de captura respecto a la localidad más cercana.

Además, si analizamos la vegetación de la zona, que fue otro de los factores tenidos en cuenta en la encuesta epidemiológica; fue evidente el aumento en la media de capturas en las zonas con una vegetación arbórea, relacionándose de un modo positivo con la presencia tanto de dehesa ($p=4,257e^{-10}$), bosque mediterráneo ($p=7,82e^{-07}$) y bosque de rivera ($p=6,051e^{-06}$), frente a las zonas que no tenían este tipo de vegetación (Figura 93).

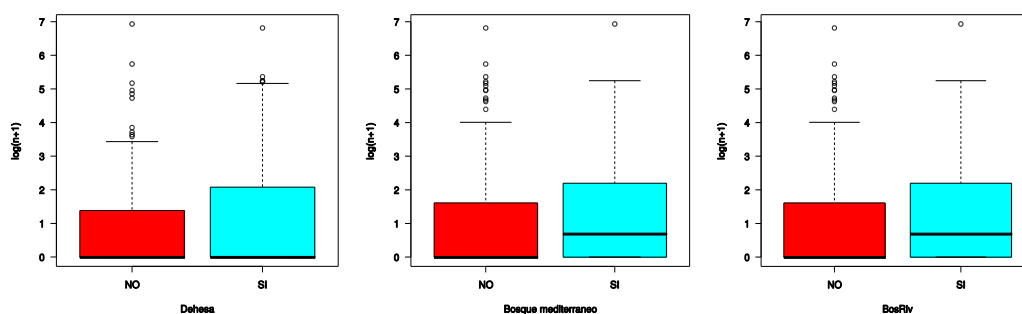


Figura 93. Distribución de capturas de *Culicoides* según la vegetación de la zona de captura. De izquierda a derecha vegetación “Dehesa”, “Bosque mediterráneo” y “Bosque de rivera”.

4.1.1.5 Análisis por especies de *Culicoides*.

En el presente estudio se analizaron un total de 6601 *Culicoides* identificándose de cada individuo la especie (siempre que fue posible mediante el patrón alar), así como el sexo. Dentro de las hembras se identificó el estadio vital de las mismas (nulíparas, paras o repletas de sangre o de huevos) según se detalla en la Tabla 11.

Tabla 11. Diferentes especies de *Culicoides* según sexo y estado gonotrófico.

	Machos	Hembras					Total	Porcentaje
		Total	Nulíparas	Paras	Sangre	Huevos		
<i>C. circumscriptus</i>	171	1376	287	837	159	93	1547	23,44 %
<i>C. spp.</i>	34	981	230	521	144	75	1015	15,38 %
<i>C. punctatus</i>	52	837	325	429	60	25	889	13,47 %
<i>C. imicola</i>	60	593	172	314	78	28	653	9,89 %
<i>C. pulicaris</i>	10	484	65	360	39	20	494	7,48 %
<i>C. fagineus</i>	5	455	61	370	13	11	460	6,97 %
<i>C. festivipennis</i>	31	397	165	143	65	22	428	6,48 %
<i>C. longipennis</i>	36	381	59	244	49	30	417	6,32 %
<i>C. newsteadi</i>	38	205	93	91	15	6	243	3,68 %
<i>C. univittatus</i>	18	113	43	62	4	4	131	1,98 %
<i>C. maritimus</i>	22	91	36	35	18	5	113	1,71 %
<i>C. obsoletus</i> s.l.	4	44	28	15	1	0	48	0,73 %
<i>C. odiatus</i>	3	45	19	22	4	0	48	0,73 %
<i>C. paolae</i>	2	35	13	18	3	1	37	0,56 %
<i>C. nubeculosus</i>	10	14	6	8	0	0	24	0,36 %
<i>C. parroti</i>	10	7	1	5	1	0	17	0,26 %
<i>C. atripennis</i> s.l.	0	13	5	5	2	1	13	0,20 %
<i>C. pictipennis</i>	0	6	2	4	0	0	6	0,09 %
<i>C. riethi</i>	3	3	0	1	2	0	6	0,09 %
<i>C. accraensis</i>	3	2	0	0	2	0	5	0,08 %
<i>C. impunctatus</i>	2	2	0	2	0	0	4	0,06 %
<i>C. puncticollis</i>	0	2	1	1	0	0	2	0,03 %
<i>C. fascipennis</i>	0	1	0	1	0	0	1	0,02 %
Número total	514	6087	1611	3488	659	321	6601	100,00 %
Porcentaje total	7,79 %	92,21 %	24,41 %	52,84 %	9,98 %	4,86 %	100,00 %	

Resultados

En la Tabla 11, vemos que en el muestreo se identificaron un total de 22 especies de *Culicoides*, donde la especie más frecuente fue *C. circumscriptus* (23,44 %) seguido de *C. spp.* (15,38 %), *C. punctatus* (13,47 %), *C. imicola* (9,34 %), *C. pulicaris* (7,38 %) *C. fagineus* (6,97 %), *C. festivipennis* (6,48 %) y *C. longipennis* (6,32 %), detectándose las demás especies de un modo más ocasional.

Dentro de las hembras, al observar el estado gonotrófico de las mismas, se comprobó que el más frecuente fue el de hembras paras (52,84 %), seguido de nulíparas (24,41 %), las hembras con sangre (9,98 %) y las hembras con huevos (4,86 %).

Culicoides circumscriptus.

Si analizamos las diferentes especies de *Culicoides* encontradas, evidenciamos que en el presente estudio la especie que se halló más frecuentemente fue *C. circumscriptus* con un 23,44 %.

Temporalidad.

El mayor número de capturas de *C. circumscriptus* se produjo en los meses de verano, aunque para esta especie, como podemos ver en la Figura 94, se han realizado capturas durante todos los meses del año.

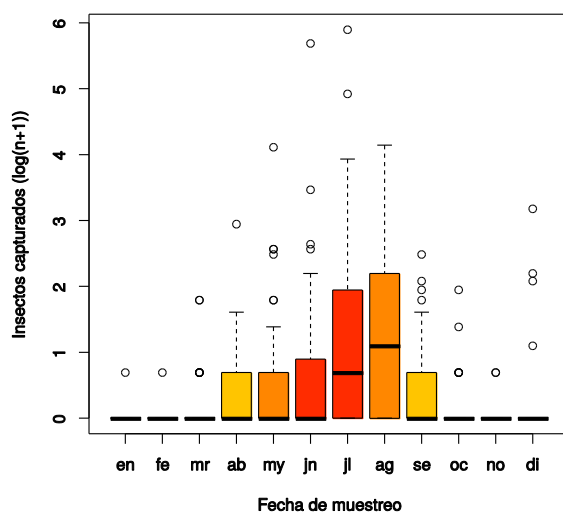


Figura 94. Distribución de capturas de *C. circumscriptus* según el mes de estudio.

Temperatura y Humedad relativa.

Como observamos en la Figura 95, esta especie tuvo una línea de tendencia que muestra que el número de capturas aumentó con la temperatura media ambiental. Asimismo, observamos un descenso en el número de capturas según aumentó la humedad relativa media ambiental, aunque esto, como ya se ha dicho anteriormente, está más relacionado con las circunstancias climatológicas que se produjeron en la región.

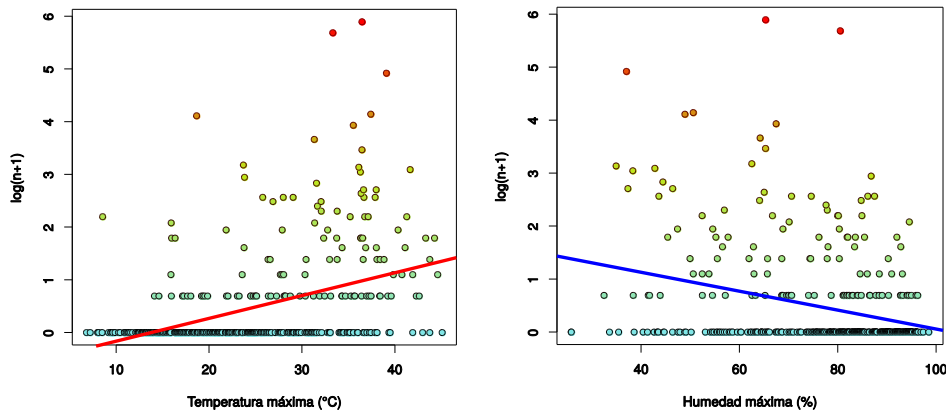


Figura 95. Distribución de capturas de *C. circumscriptus* según la temperatura máxima y la humedad relativa máxima ambiental.

Localización geográfica.

En el análisis de esta especie por comarcas, podemos observar que el mayor número de capturas se produjo en la comarca “La Serena”, si bien se realizaron capturas en todas las áreas de estudio, lo que nos indica una amplia distribución de esta especie por toda la geografía extremeña (Figura 96).

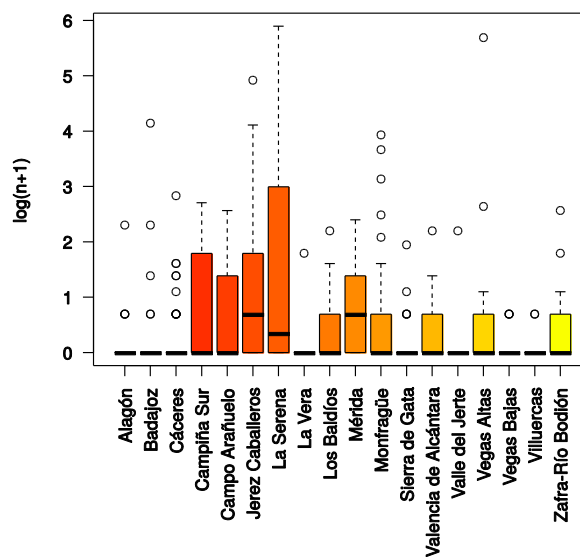


Figura 96. Distribución de capturas de *C. circumscriptus* según la comarca de estudio.

Resultados

En la Figura 97 podemos ver que esta especie se encontró en diversos lugares, aunque se registraron dos muestreos especialmente elevados en las comarcas de “La Serena” y “Vegas Altas”. Estos muestreos de mayor tamaño se registraron en temperaturas cálidas, aunque en general, las capturas de esta especie se realizaron en un rango bastante amplio de temperaturas.

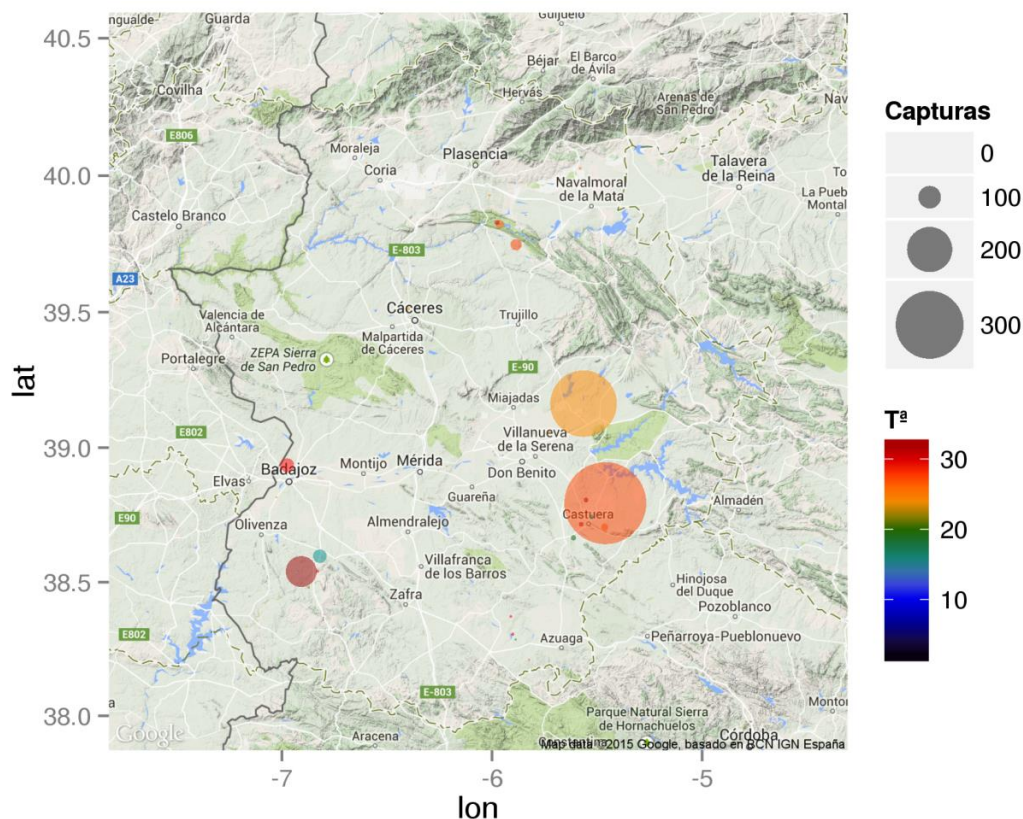


Figura 97. Distribución de capturas de *C. circumscriptus* según los diferentes puntos de muestreo y la temperatura media máxima (Lat= latitud; Lon= longitud).

***Culicoides* spp.**

Dentro de este estudio, el segundo mayor número de ejemplares que se han obtenido, son del grupo de *C. spp.* (15,38 %) que son el grupo de *Culicoides* de alas grises, en los cuales no se pudo llegar a la identificación hasta el nivel de especie. Dentro de este grupo se encuadran gran número de especies crípticas cuyo escalón taxonómico deberá ser esclarecido mediante el uso de técnicas moleculares.

Temporalidad.

En este grupo, como observamos en la Figura 98, la mayor parte de las capturas se produjeron en los meses de verano, mientras que en los principales meses de invierno no se realizó ninguna captura, lo que indica un marcado carácter estacional de este grupo.

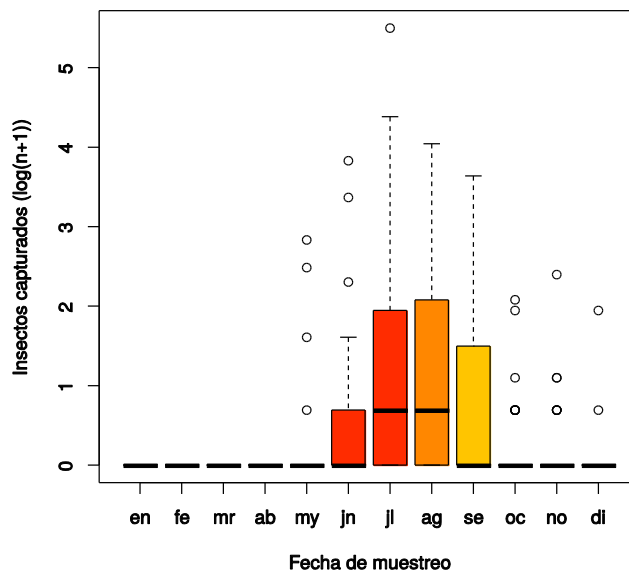


Figura 98. Distribución de capturas de *C. spp.* según el mes de muestreo.

Temperatura y Humedad relativa.

En este grupo también existió un aumento del número de capturas según aumentó la temperatura ambiental y éste se reduce según aumentó la humedad ambiental (Figura 99).

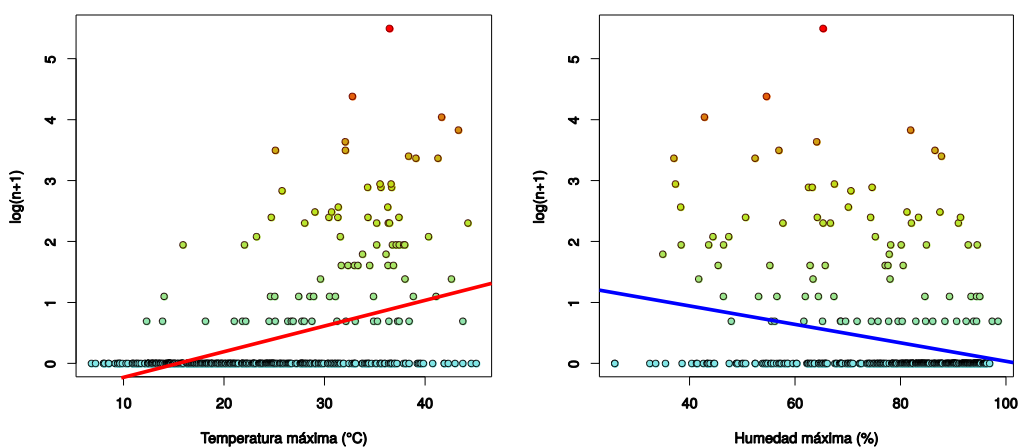


Figura 99. Distribución de capturas de *C. spp.* según la temperatura máxima y la humedad relativa máxima ambiental.

Distribución geográfica.

Si analizamos la distribución de este grupo en las diferentes comarcas, se observa una concentración de capturas en la comarca de “La Serena”, mostrándose bastante disperso el hallazgo de esta especie en el resto de comarcas de estudio (Figura 100).

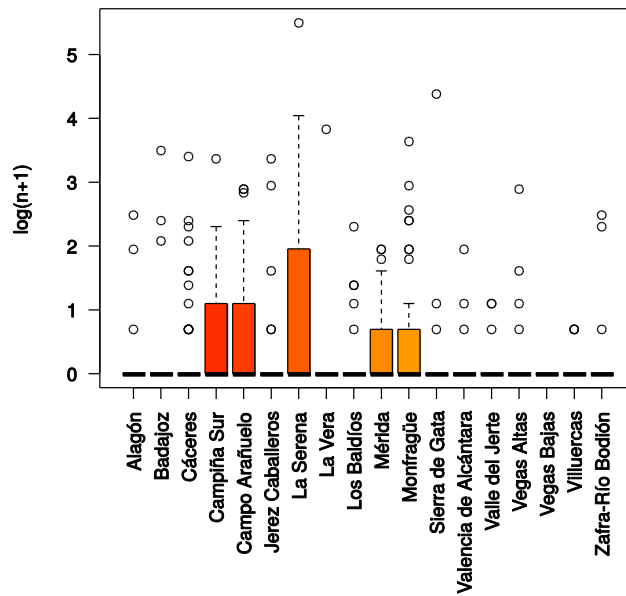


Figura 100. Distribución de capturas de *C. spp.* según la comarca de estudio.

Si analizamos su distribución geográfica (Figura 101) determinamos que *C. spp.* ha sido capturado en prácticamente todas las zonas muestreadas con temperaturas cálidas, si bien destaca la comarca de “La Serena” como el punto donde se realizaron las capturas con mayor número de ejemplares.

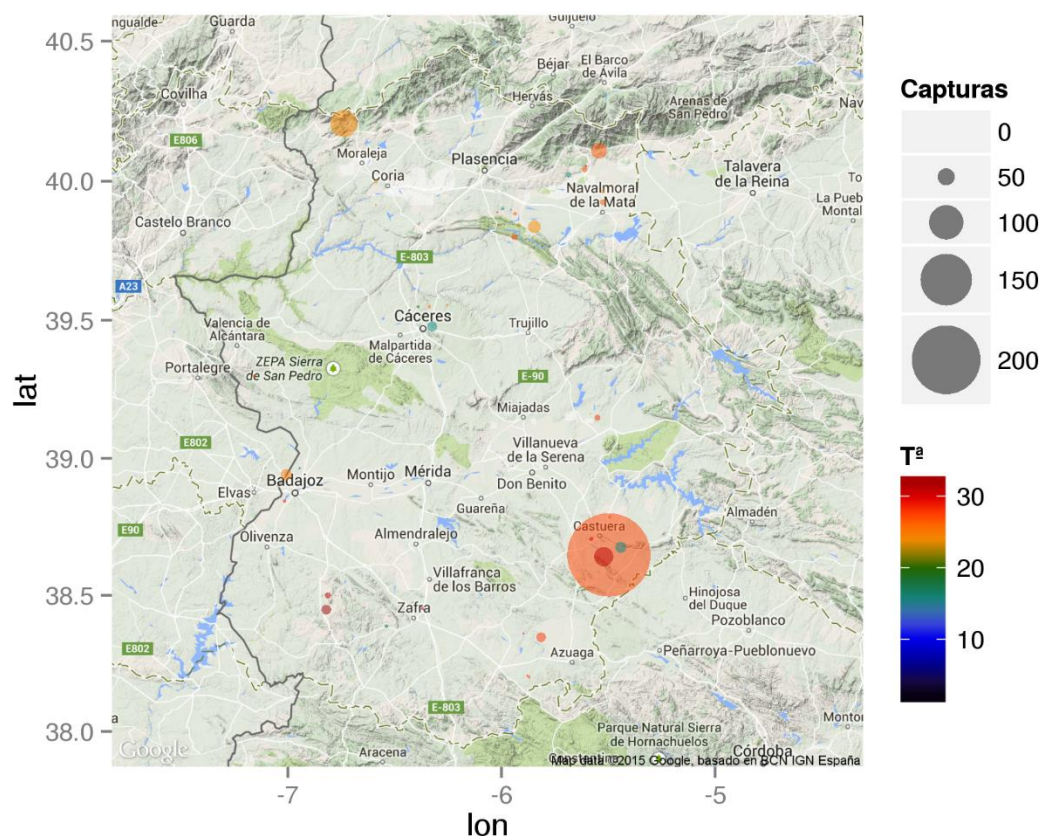


Figura 101. Distribución de capturas de *C. spp.* según los diferentes puntos de muestreo y la temperatura media máxima.

Culicoides punctatus.

Dentro del presente estudio, *C. punctatus* fue la tercera especie más frecuente. Su distribución estacional, que fue similar a la de *C. circumscriptus*, está caracterizada por tener una concentración de casos durante los meses más cálidos, aunque se pudo encontrar durante todo el año, por lo que como es de esperar, se observa una tendencia positiva de capturas al aumentar la temperatura ambiental, así como a disminuir según aumenta la humedad relativa.

Si analizamos todo lo anterior conjuntamente con la distribución geográfica, podemos observar que esta especie se capturó en la mayoría de las zonas de muestreo, dándose las mayores capturas en las comarcas de “Zafra-Rio Bodión” y en “La Vera”. Esta especie además, mostró un amplio rango de temperaturas en sus capturas, que van desde temperaturas frías a cálidas (Figura 102).

Resultados

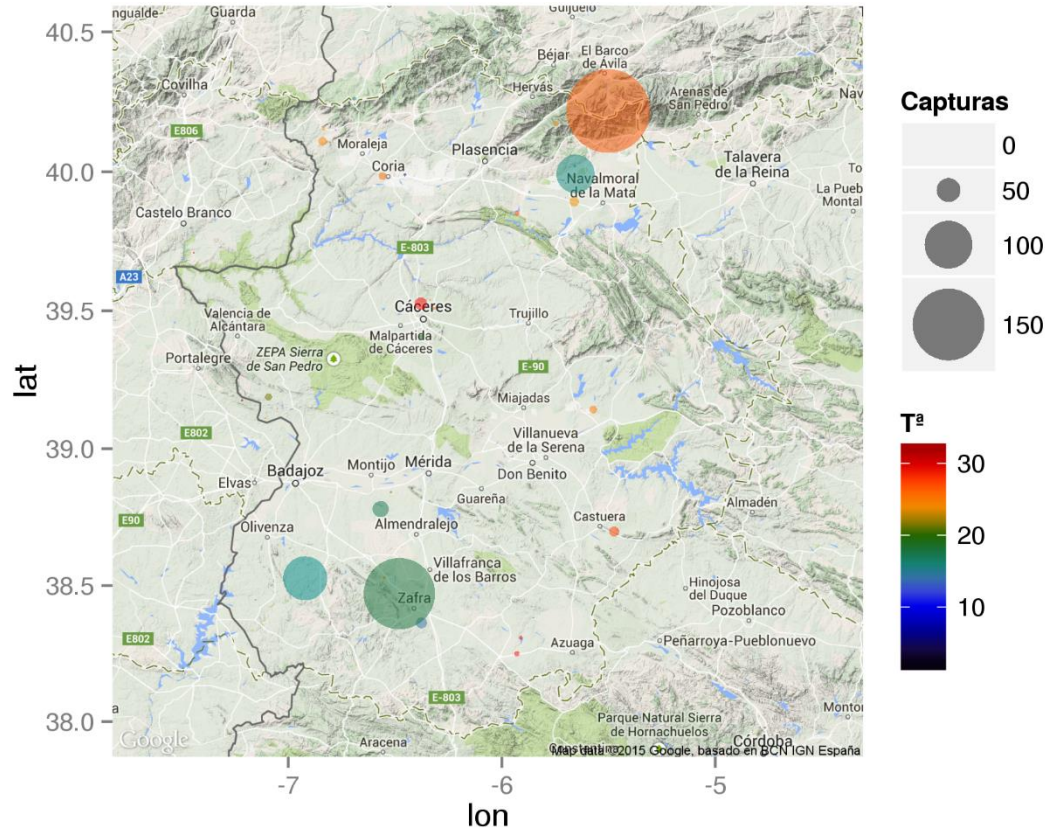


Figura 102. Distribución de capturas de *C. punctatus* según los diferentes puntos de muestreo y la temperatura media máxima.

***Culicoides imicola*.**

Esta especie es considerada la mayor transmisora de la lengua azul en el sur de Europa, lo que le otorga una gran importancia, representando el 9,34 % de los *Culicoides* recogidos en este trabajo.

Temporalidad.

Como característica principal de esta especie destaca su claro carácter termófilo, presentándose sobre todo en los meses veraniegos de mayor temperatura, no habiendo capturado ningún ejemplar entre los meses de diciembre a marzo (Figura 103).

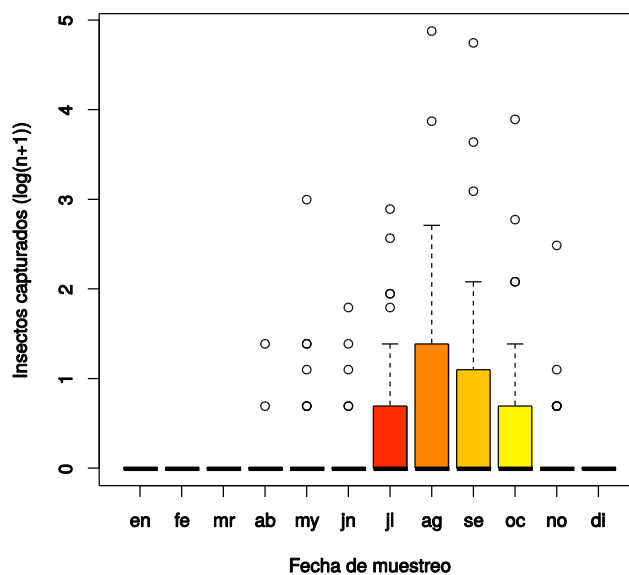


Figura 103. Distribución de capturas de *C. imicola* según el mes de estudio.

Además, como era de esperar debido a este marcado carácter termófilo, podemos indicar que como en todos los casos anteriores, el número de capturas tuvo una tendencia a aumentar según lo hizo la temperatura ambiental y a reducirse según aumentó la humedad relativa ambiental (Figura 104).

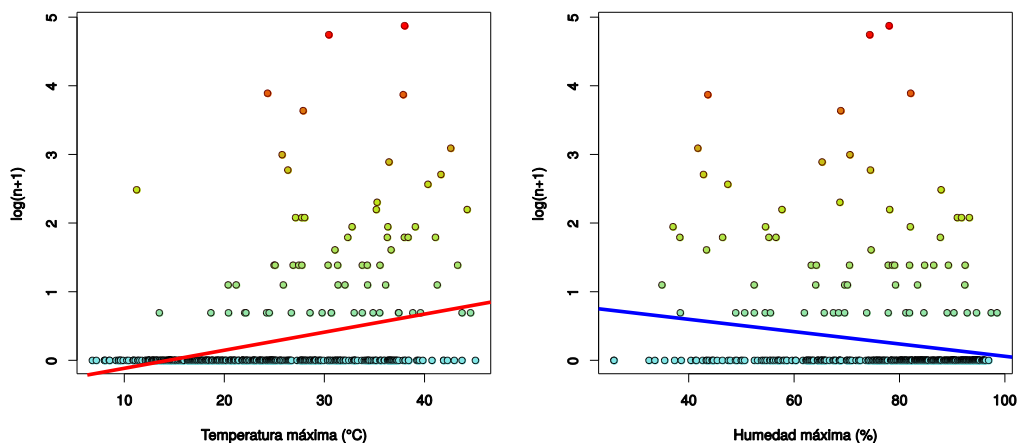


Figura 104. Distribución de capturas de *C. imicola* según la temperatura máxima y la humedad relativa máxima ambiental.

Distribución geográfica.

Si analizamos la localización geográfica de las capturas de esta especie, se encontró ampliamente distribuida por la mayoría de las comarcas muestreadas, destacando por el número de capturas “Campo Arañuelo”. También cabe reseñar que en las zonas montañosas como son “Valle del Jerte” y “Villuercas” no se realizó ninguna captura de esta especie y en “La Vera” sólo se realizó una captura (Figura 105). Esto puede ser debido a la mayor altitud y a la menor temperatura. De esta forma mostró una tendencia ligeramente negativa con respecto a la altitud.

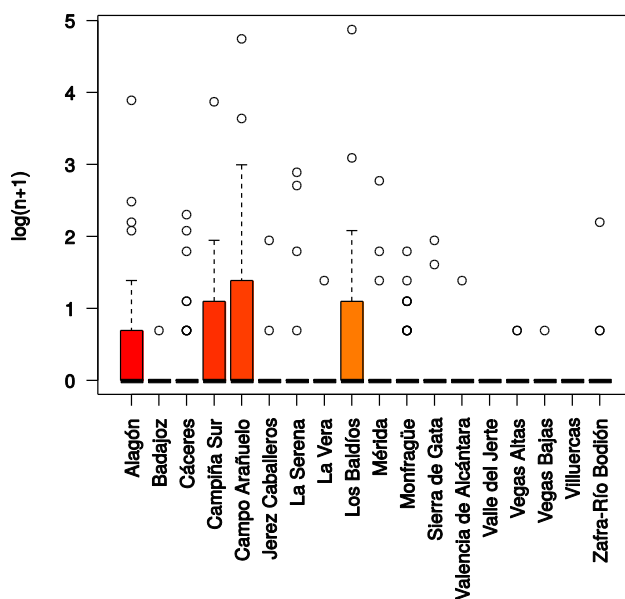


Figura 105. Distribución de capturas de *C. imicola* según la comarca de estudio.

La mayoría de las capturas se realizaron a temperaturas elevadas, si bien algunas de ellas se produjeron con temperaturas medias más moderadas (en torno a los 20°C) (Figura 106).

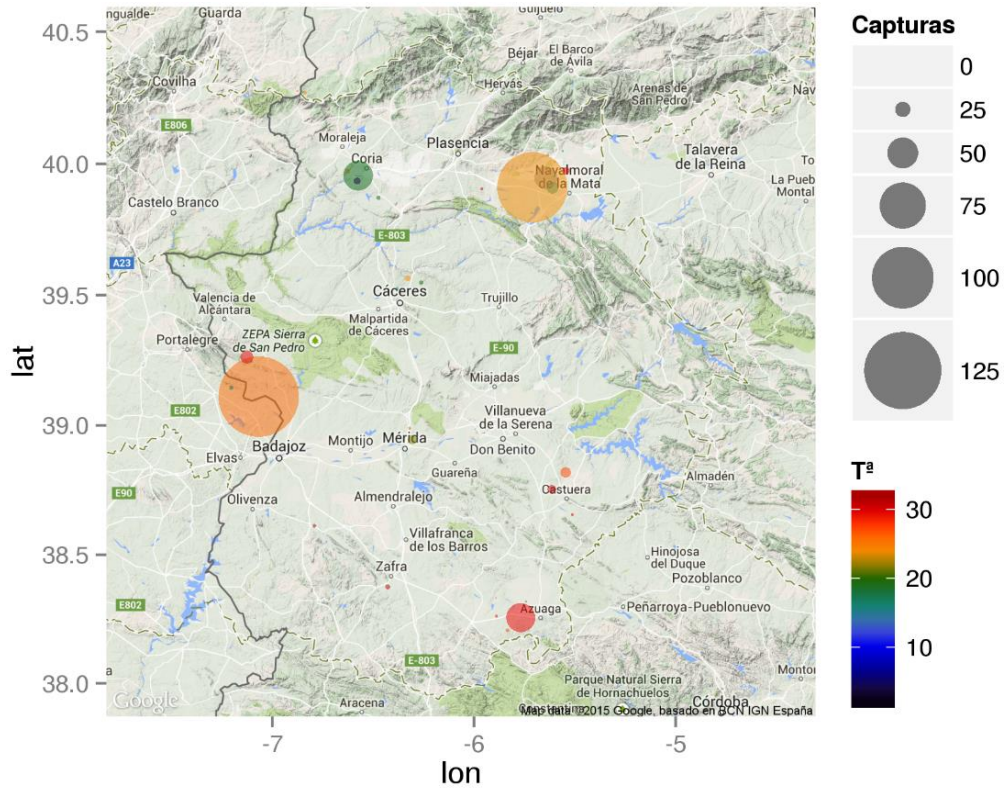


Figura 106. Distribución de capturas de *C. imicola* según los diferentes puntos de muestreo y la temperatura media máxima.

Altitud.

Como ya habíamos indicado anteriormente, se observa que esta especie mostró una clara tendencia a capturarse en mayor número en localizaciones de baja altitud, tal y como se ve reflejado en la línea de tendencia de la Figura 107.

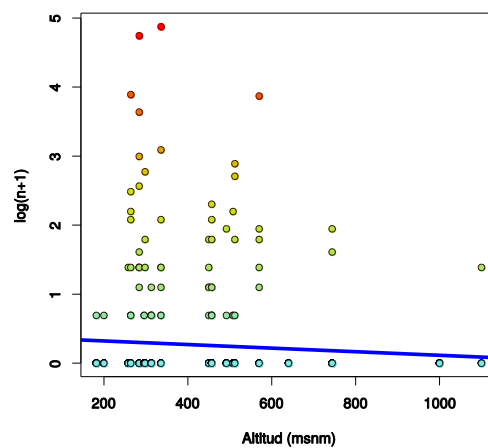


Figura 107. Distribución de capturas de *C. imicola* según la altitud de la zona de muestreo.

***Culicoides pulicaris*.**

Las siguientes especies halladas se encontraron de una forma más ocasional que las que analizábamos en apartados anteriores. *C. pulicaris* es una especie que ha sido capturada en escaso número de ocasiones, si bien en algunas de las trampas cayeron un gran número de ejemplares de esta especie. Se ha detectado sobre todo en la comarca de “La Vera”, con temperaturas cálidas, como vemos en la Figura 108.

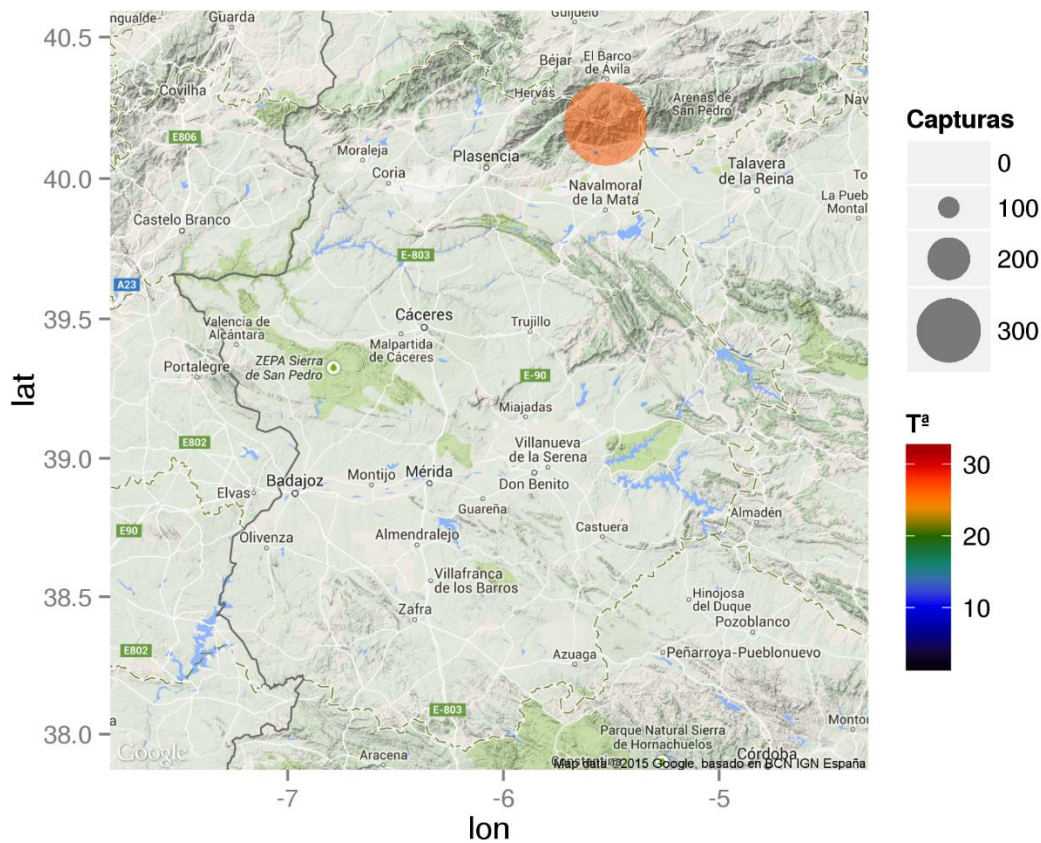


Figura 108. Distribución de capturas de *C. pulicaris* según los diferentes puntos de muestreo y la temperatura media máxima.

***Culicoides fagineus*.**

Al igual que la anterior, esta especie se ha capturado prácticamente en su totalidad en un punto de trampeo, en concreto en la comarca de “La Vera”, con un buen número de ejemplares (Figura 109).

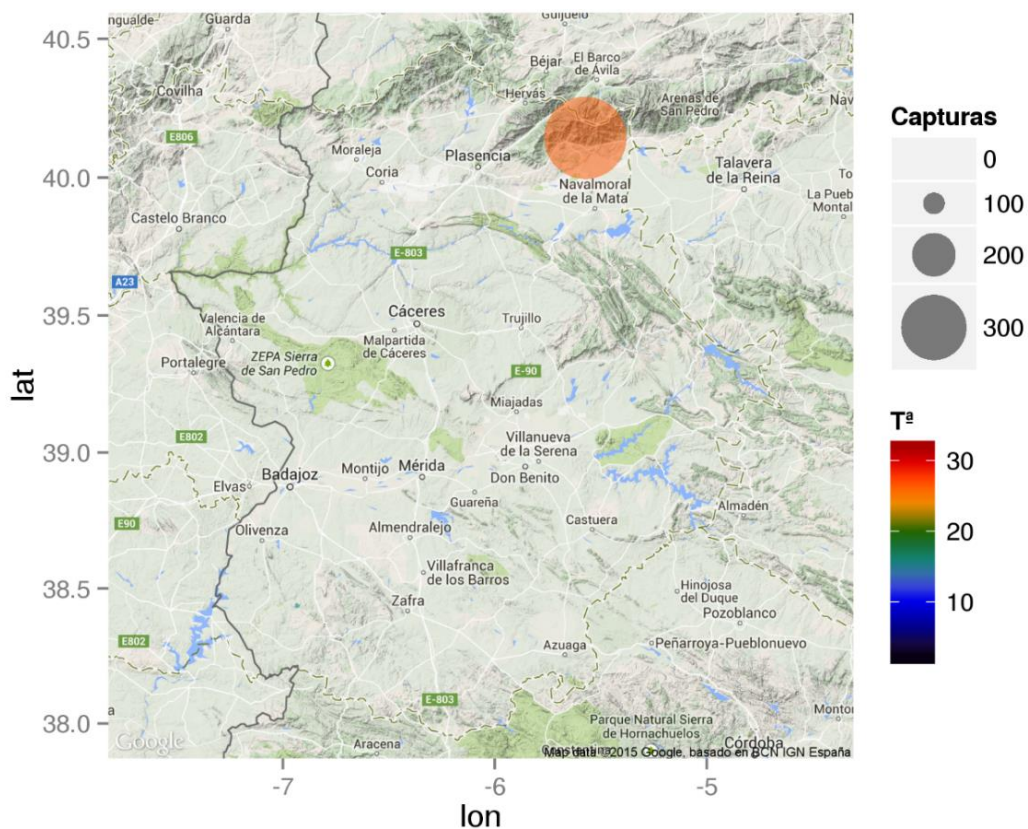


Figura 109. Distribución de capturas de *C. fagineus* según los diferentes puntos de muestreo y la temperatura media máxima.

Resultados

***Culicoides festivipennis*.**

Si analizamos esta especie, podemos observar que se realizaron capturas en un gran número de las zonas de trampeo, por lo que podemos indicar, que es una especie que mostró cierta dispersión por todo el territorio, aunque las mayores capturas se localizaron en la zona norte de Cáceres, más concretamente en el “Parque Nacional de Monfragüe” cuando las temperaturas fueron cálidas (Figura 110).

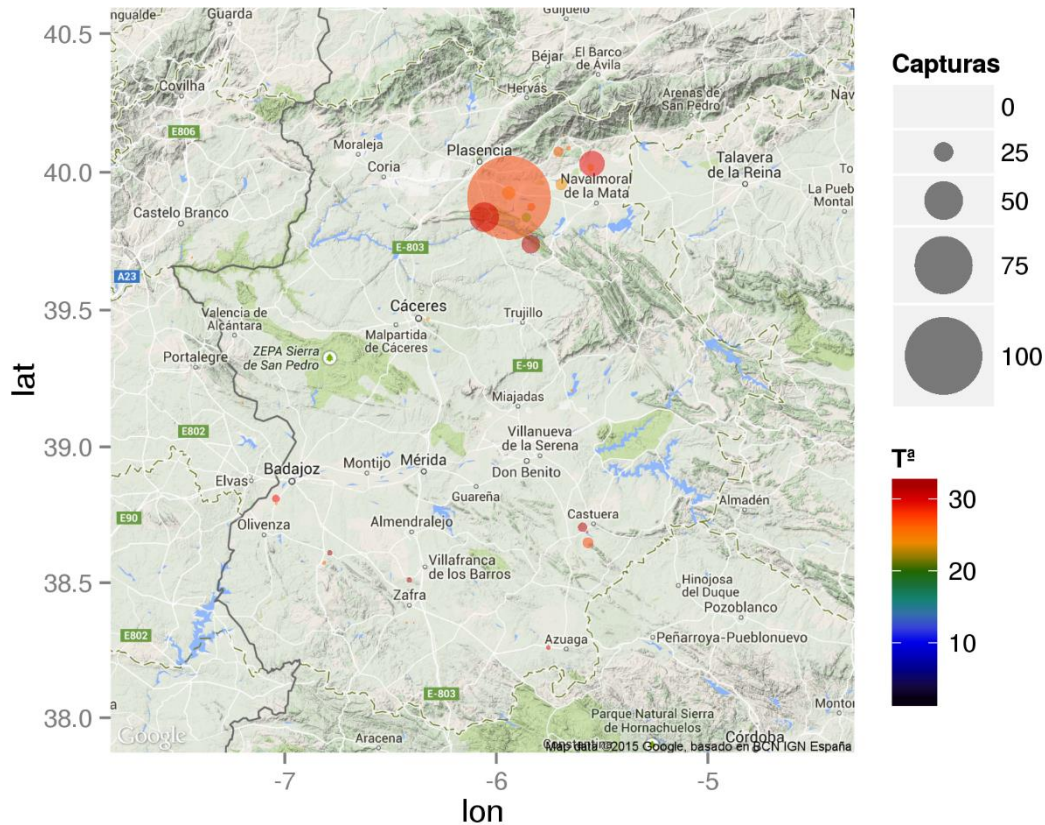


Figura 110. Distribución de capturas de *C. festivipennis* según los diferentes puntos de muestreo y la temperatura media máxima.

***Culicoides longipennis*.**

Esta especie se encontró bastante circunscrita a la comarca de “La Serena” lugar donde se ha producido la mayor parte de las capturas en 3 muestreos en esta zona (Figura 111).

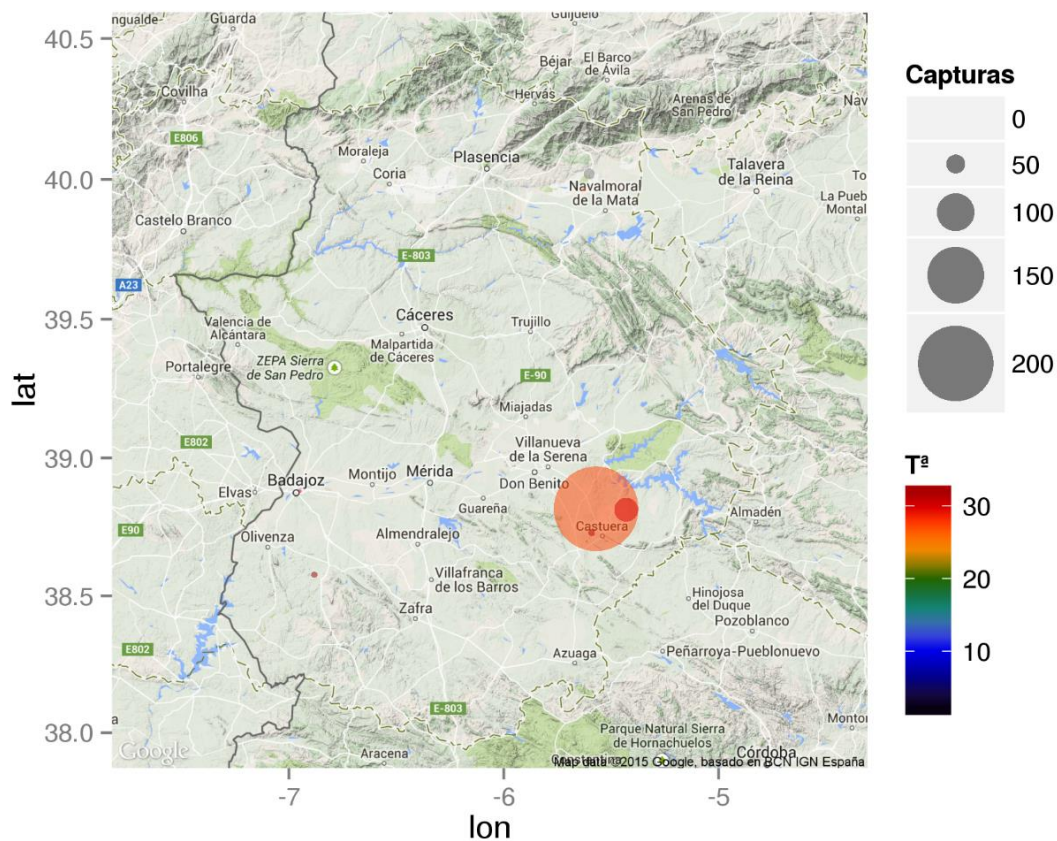


Figura 111. Distribución de capturas de *C. longipennis* según los diferentes puntos de muestreo y la temperatura media máxima.

Resultados

Culicoides newsteadi.

Esta especie se capturó principalmente en dos muestreos en la comarca de “Campiña Sur”, aunque también se detectó en otras zonas bastante dispersas de la geografía de la región. La mayoría de las capturas se realizaron con temperatura elevada (Figura 112).

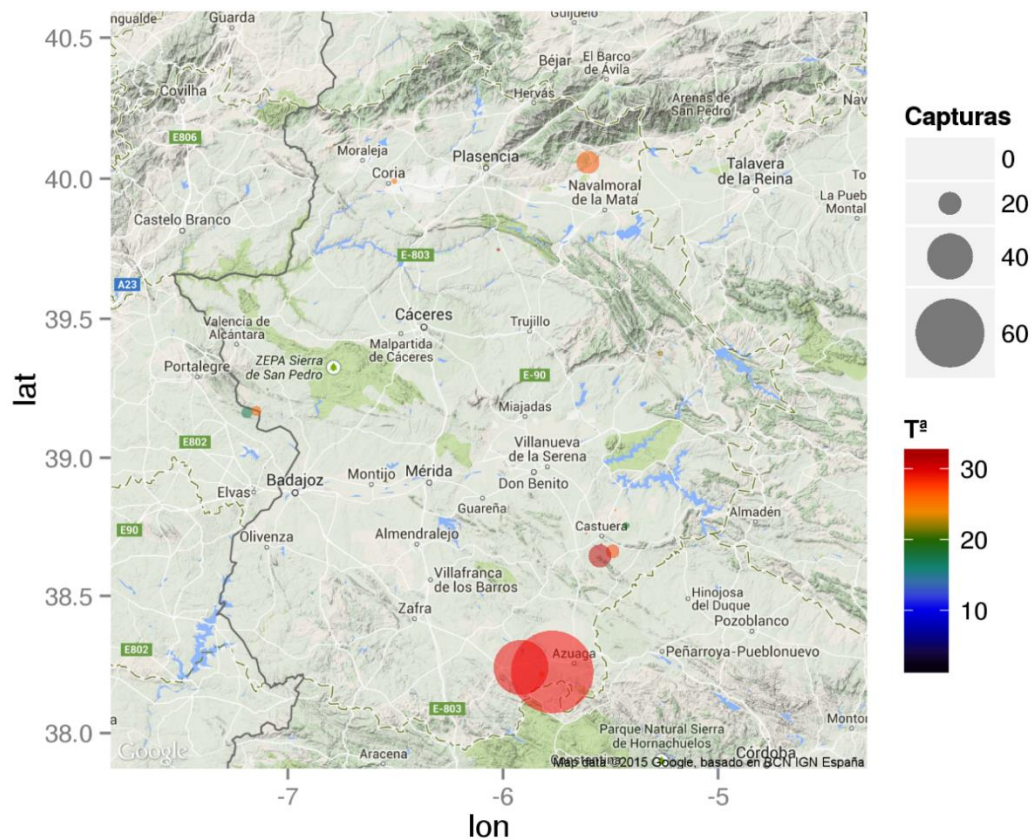


Figura 112. Distribución de capturas de *C. newsteadi* según los diferentes puntos de muestreo y la temperatura media máxima.

Culicoides univittatus*.*Temporalidad.**

Culicoides univittatus merece un análisis especial, ya que mostró una fenología completamente diferente al resto de especies, algo que evidenciamos al analizar la temporalidad de esta especie, ya que la captura de la mayoría de ejemplares se dio en las estaciones más frías que son primavera, otoño e invierno, no capturándose prácticamente en los meses de verano (Figura 113).

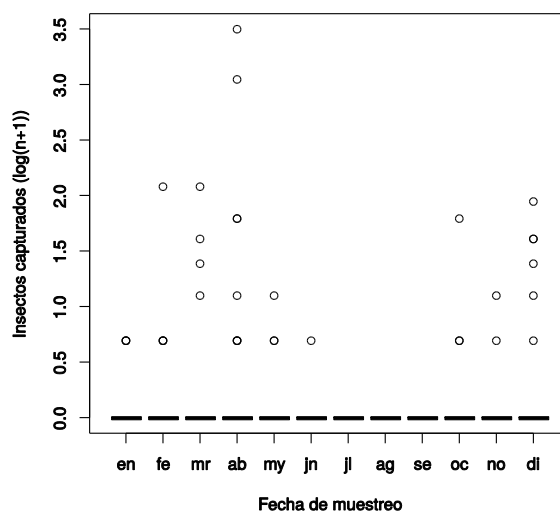


Figura 113. Distribución de capturas de *C. univittatus* según el mes de estudio.

Temperatura y humedad relativa.

Esta especie tuvo una respuesta a la temperatura y la humedad relativa, como ya dijimos, diferente a las anteriores, ya que mantuvo una tendencia negativa de sus capturas frente al aumento de la temperatura y positiva frente al aumento de la humedad relativa ambiental, como podemos ver en la Figura 114.

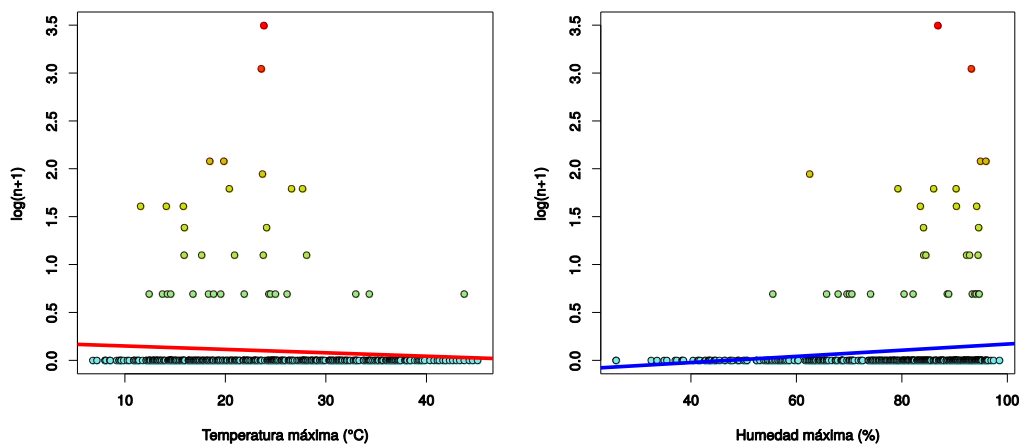


Figura 114. Distribución de capturas de *C. univittatus* según la temperatura máxima y la humedad relativa máxima ambiental.

Localización geográfica.

En relación a la distribución por comarcas, se observa una amplia distribución por un gran número de ellas (Figura 115), si bien se encuentra de forma ocasional en cada una de dichas comarcas.

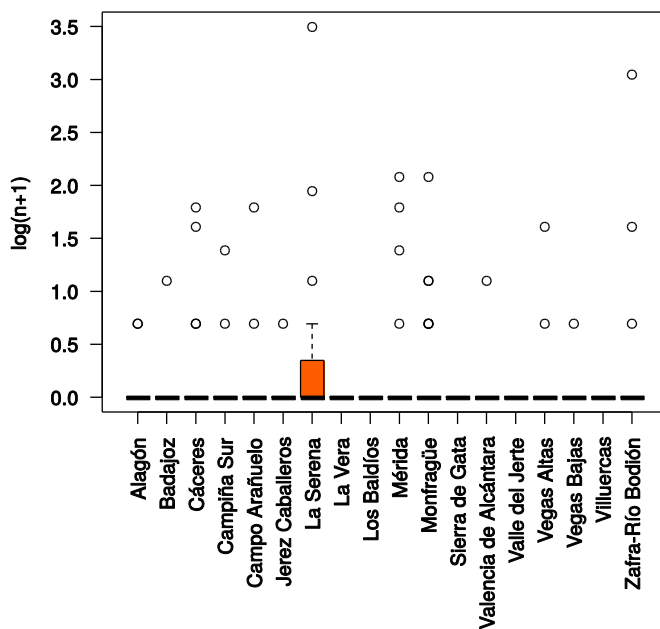


Figura 115. Distribución de capturas de *C. univittatus* según la comarca de estudio.

Las capturas más abundantes fueron en "La Serena" y es de destacar, como ya se mencionó anteriormente, que en todos los casos esta especie se capturó con temperaturas más bien bajas, con temperaturas máximas de unos 20°C (Figura 116).

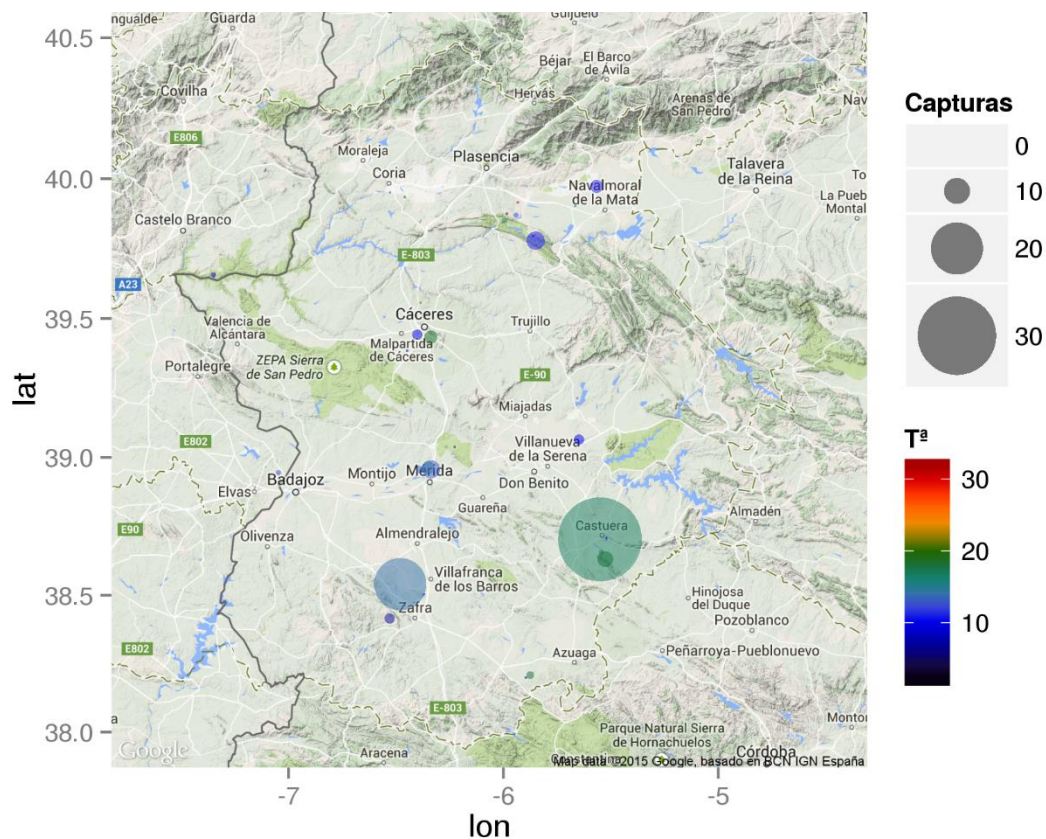


Figura 116. Distribución de capturas de *C. univittatus* según los diferentes puntos de muestreo y la temperatura media máxima.

***Culicoides maritimus*.**

Culicoides maritimus se encontró en gran número de muestreos por todas las áreas y rangos de temperatura, aunque con un escaso número de ejemplares por trampa, es decir, se halló ampliamente distribuido por toda el área de estudio, pero con un carácter bastante ocasional. Las comarcas con capturas más numerosas fueron las de “La Serena” y “Mérida” (Figura 117).

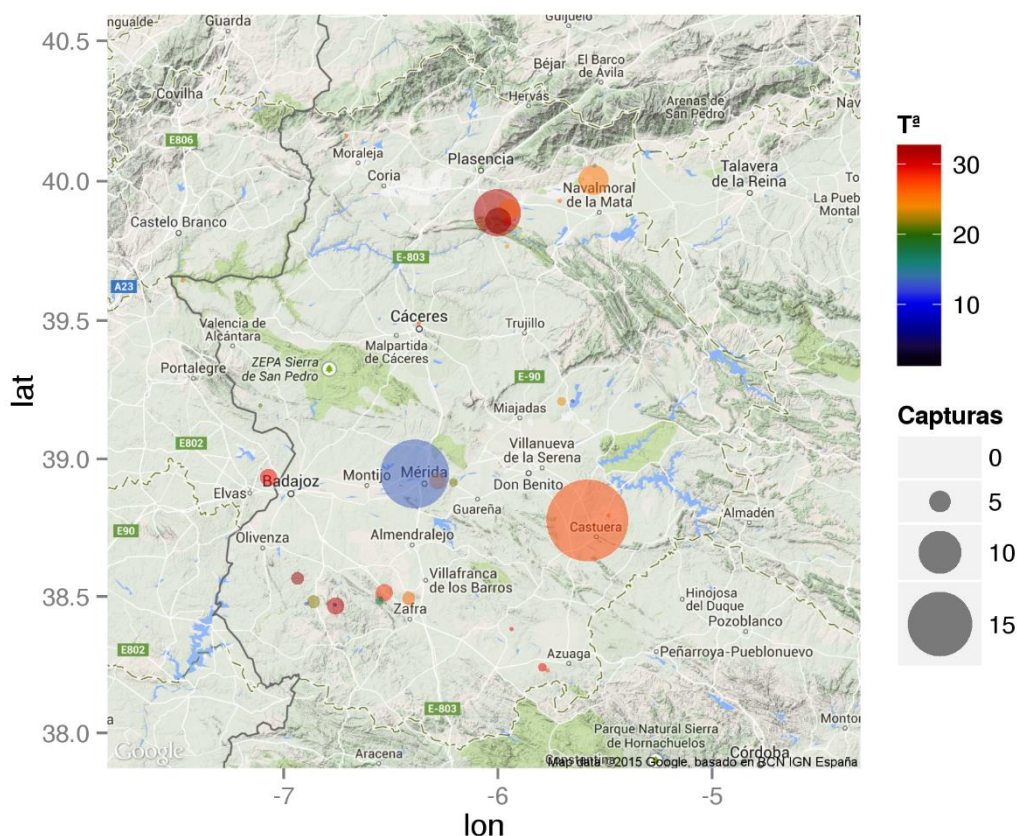


Figura 117. Distribución de capturas de *C. maritimus* según los diferentes puntos de muestreo y la temperatura media máxima.

***Culicoides obsoletus* s.l.**

Como podemos observar en la Figura 118, *C. obsoletus* s.l. mostró una tendencia a localizarse en la zona noreste de la provincia de Cáceres, que es donde se realizaron las mayores capturas. Además, podemos ver que las más numerosas se dieron a una temperatura cálida, aunque también se produjeron a temperaturas bastante frías, encontrándose, por tanto, esta especie en un amplio rango de temperaturas. Esto es interesante ya que esta especie se ha demostrado también como uno de los vectores de lengua azul en el centro y norte de Europa.

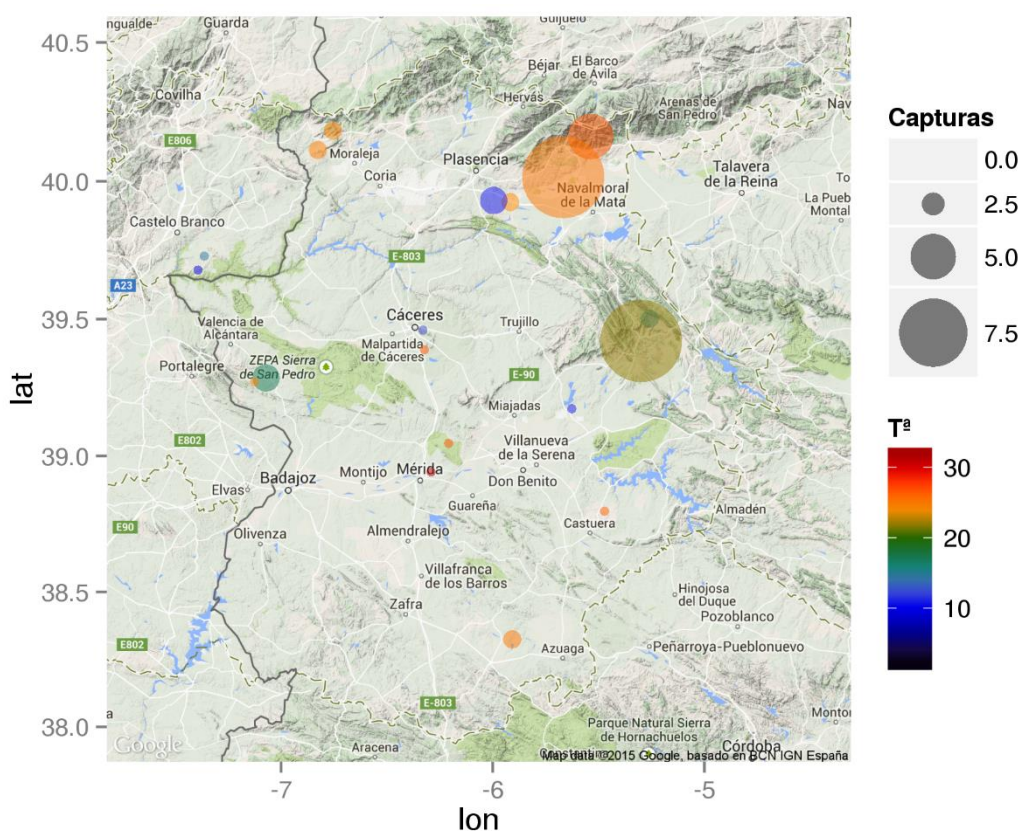


Figura 118. Distribución de capturas de *C. obsoletus* s.l. según los diferentes puntos de muestreo y la temperatura media máxima.

Resultados

Culicoides odiatus.

Como podemos ver en esta especie, las capturas se centraron en la provincia de Cáceres cuando las temperaturas son templadas, dándose la mayor captura en la comarca de “La Vera” (Figura 119).

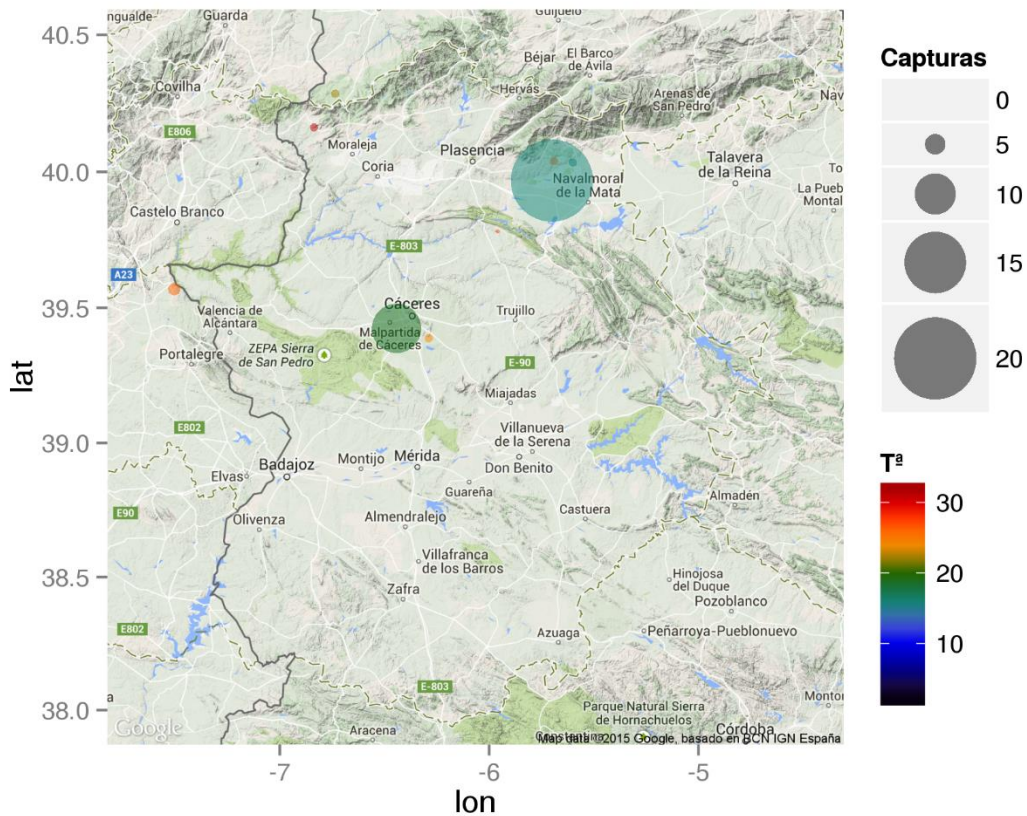


Figura 119. Distribución de capturas de *C. odiatus* según los diferentes puntos de muestreo y la temperatura media máxima.

***Culicoides paolae*.**

Las capturas de la especie *C. paolae* se centraron en la provincia de Badajoz, y en concreto en la comarca de "Jerez de los Caballeros", siempre con las temperaturas más cálidas, demostrando un marcado carácter termófilo, tanto por las temperaturas del momento de su captura como la zona geográfica de las mismas, al sur de la región (Figura 120).

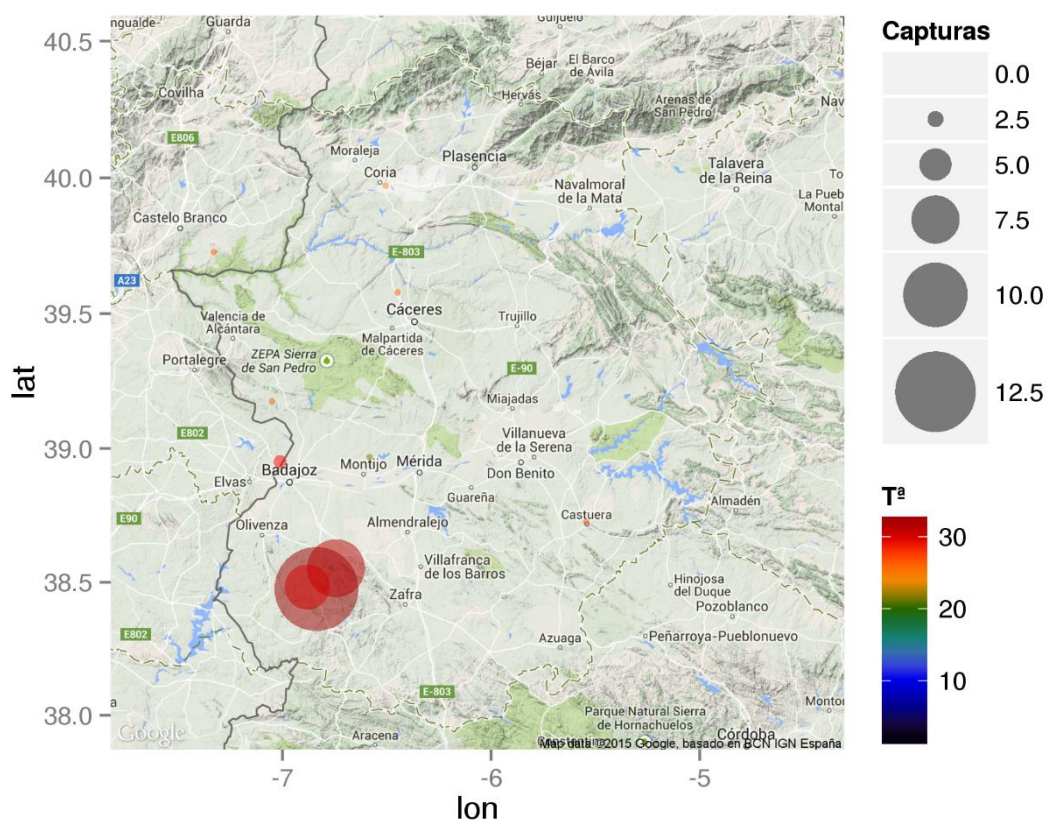


Figura 120. Distribución de capturas de *C. paolae* según los diferentes puntos de muestreo y la temperatura media máxima.

Resultados

***Culicoides nubeculosus*.**

Esta especie se detectó en escaso número y a pesar de esto, en zonas muy diferentes de Extremadura, pero sobre todo llama la atención el amplio rango de temperaturas en el que se encuadró (Figura 121).

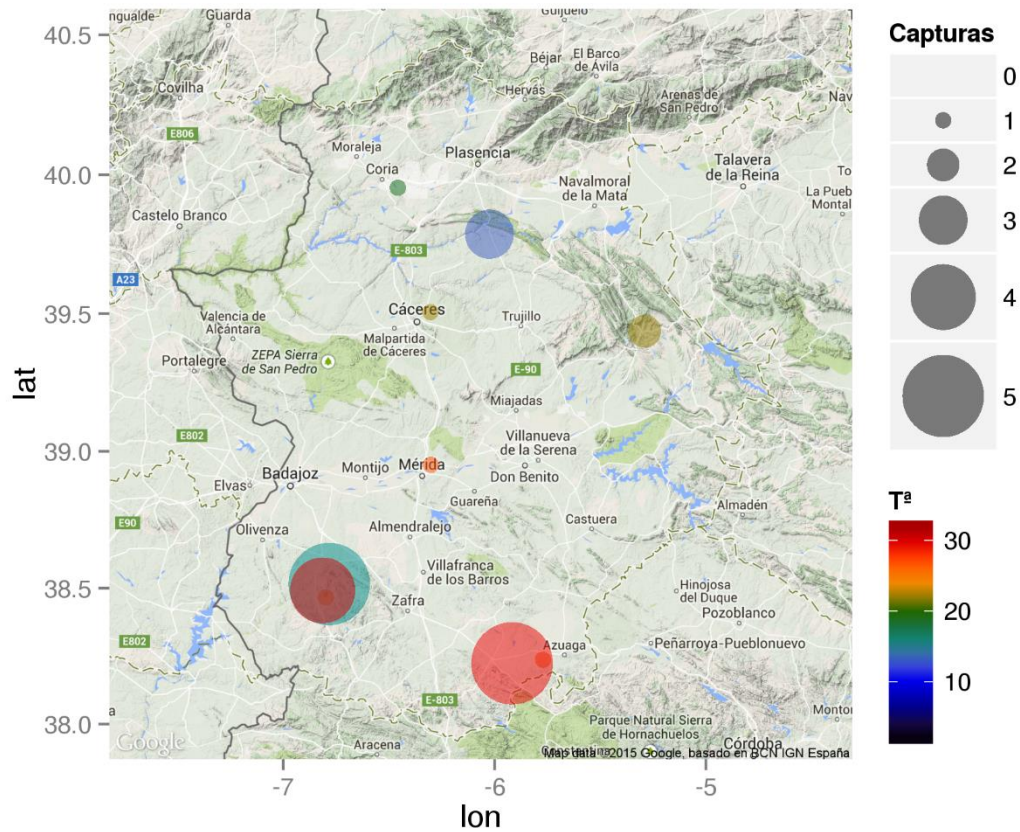


Figura 121. Distribución de capturas de *C. nubeculosus* según los diferentes puntos de muestreo y la temperatura media máxima.

***Culicoides parroti*.**

Como podemos observar en la Figura 122, pese al escaso número de ejemplares capturados, *C. parroti* se localizó en la mayoría de los lugares muestreados y en un amplio rango de temperaturas, mostrando así una gran dispersión.

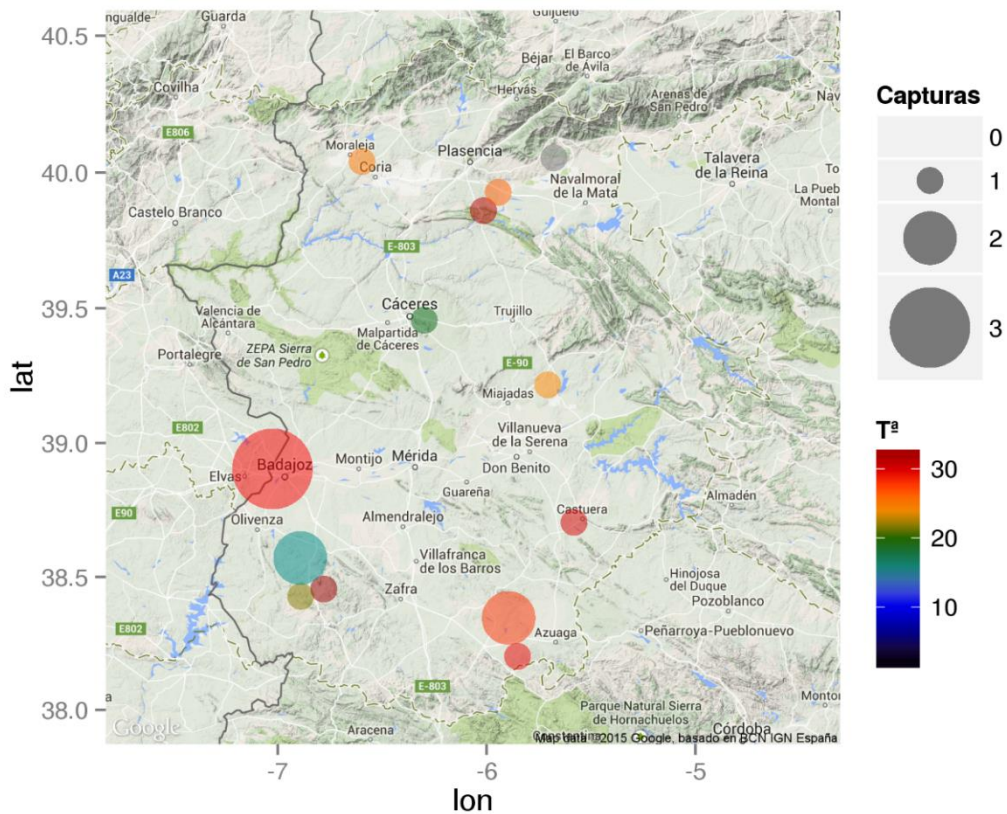


Figura 122. Distribución de capturas de *C. parroti* según los diferentes puntos de muestreo y la temperatura media máxima.

Resultados

Culicoides atripennis s.l.

Este complejo se ha encontrado en varias zonas, pero en escaso número de ejemplares, siendo la zona del “Parque Nacional de Monfragüe” donde se capturaron la mayor parte de ellos (Figura 123).

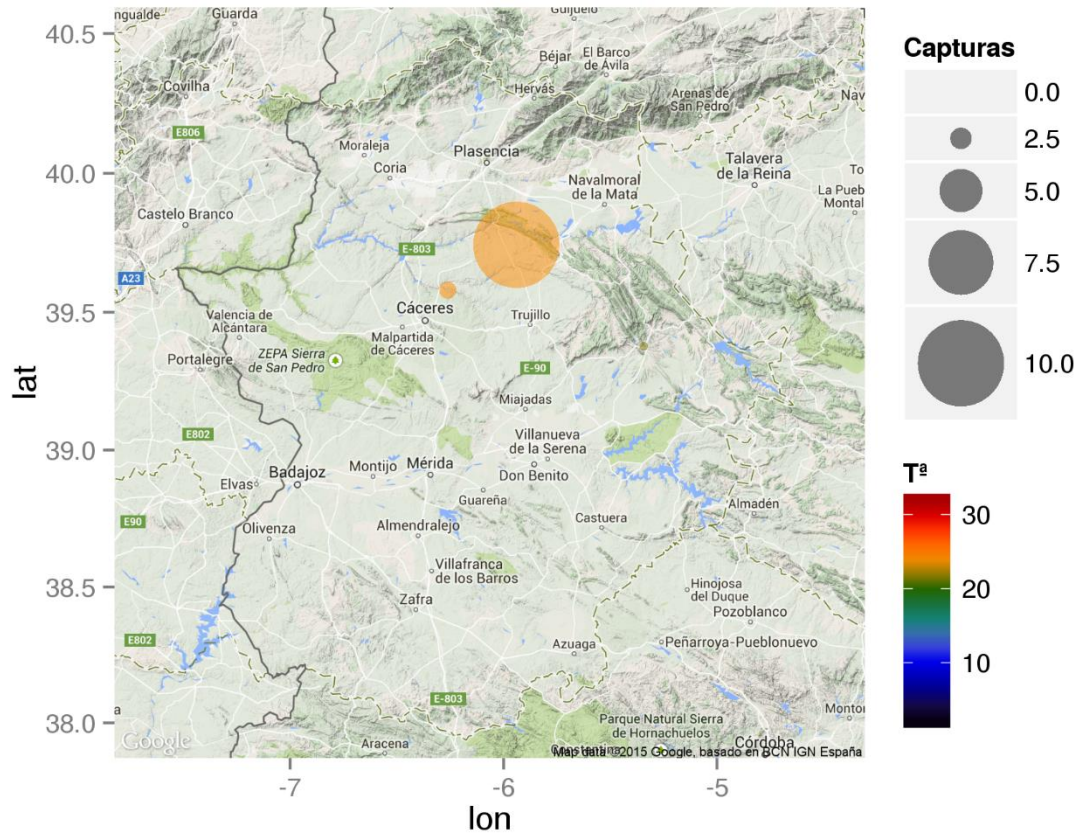


Figura 123. Distribución de capturas de *C. atripennis* s.l. según los diferentes puntos de muestreo y la temperatura media máxima.

***Culicoides riethi*.**

Culicoides riethi se capturó de un modo ocasional a lo largo del estudio, detectándose tanto en zonas del norte y del sur de la región, en un rango de temperaturas templadas y cálidas, tal y como se observa en la Figura 124.

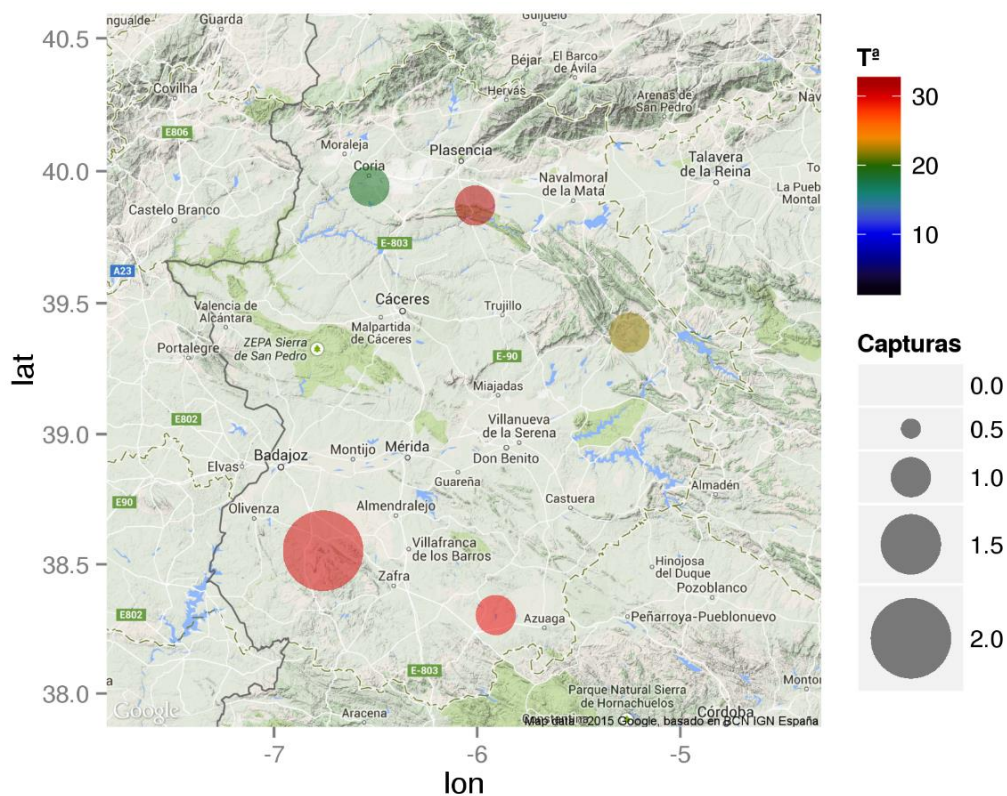


Figura 124. Distribución de capturas de *C. riethi* según los diferentes puntos de muestreo y la temperatura media máxima.

Resultados

Culicoides pictipennis.

Esta especie se ha capturado en escasas ocasiones y en un número muy reducido de ejemplares. La única captura se hizo en la comarca de “Los Baldíos” (Figura 125).

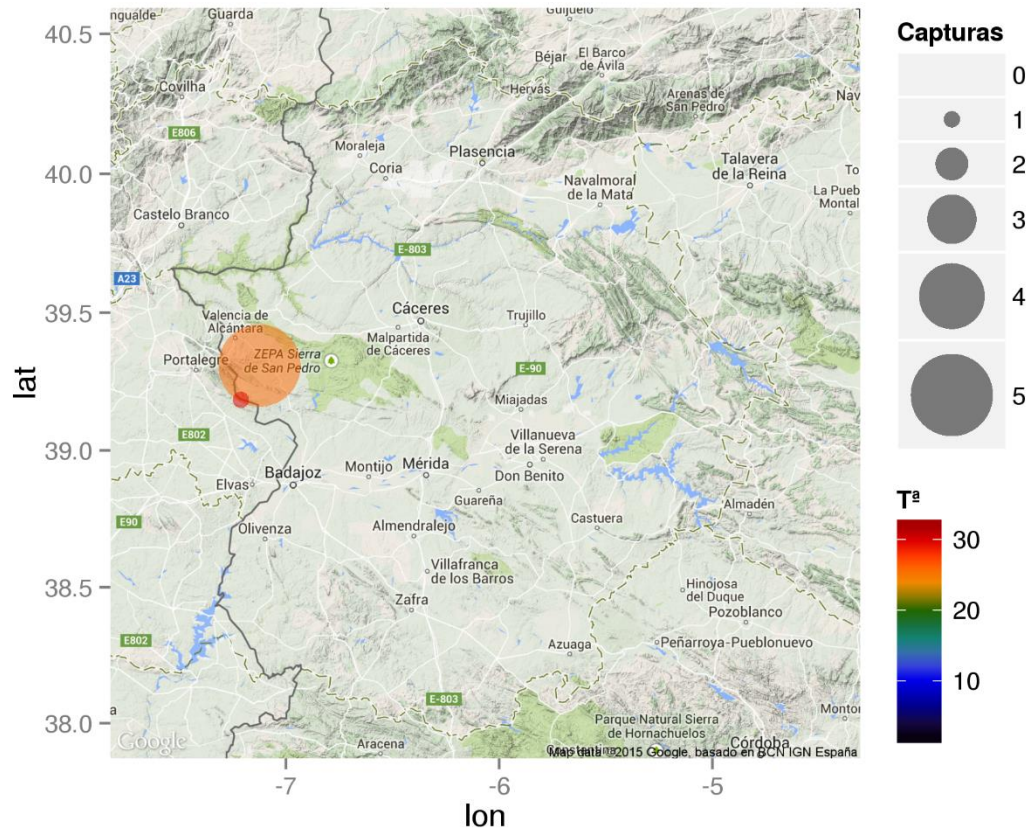


Figura 125. Distribución de capturas de *C. pictipennis* según los diferentes puntos de muestreo y la temperatura media máxima.

***Culicoides accraensis*.**

A lo largo del estudio esta especie ha sido detectada solo en tres trampeos y en escaso número de ejemplares en cada uno de ellos. Han sido más frecuentes en la comarca de "La Serena", como se puede ver en la Figura 126.

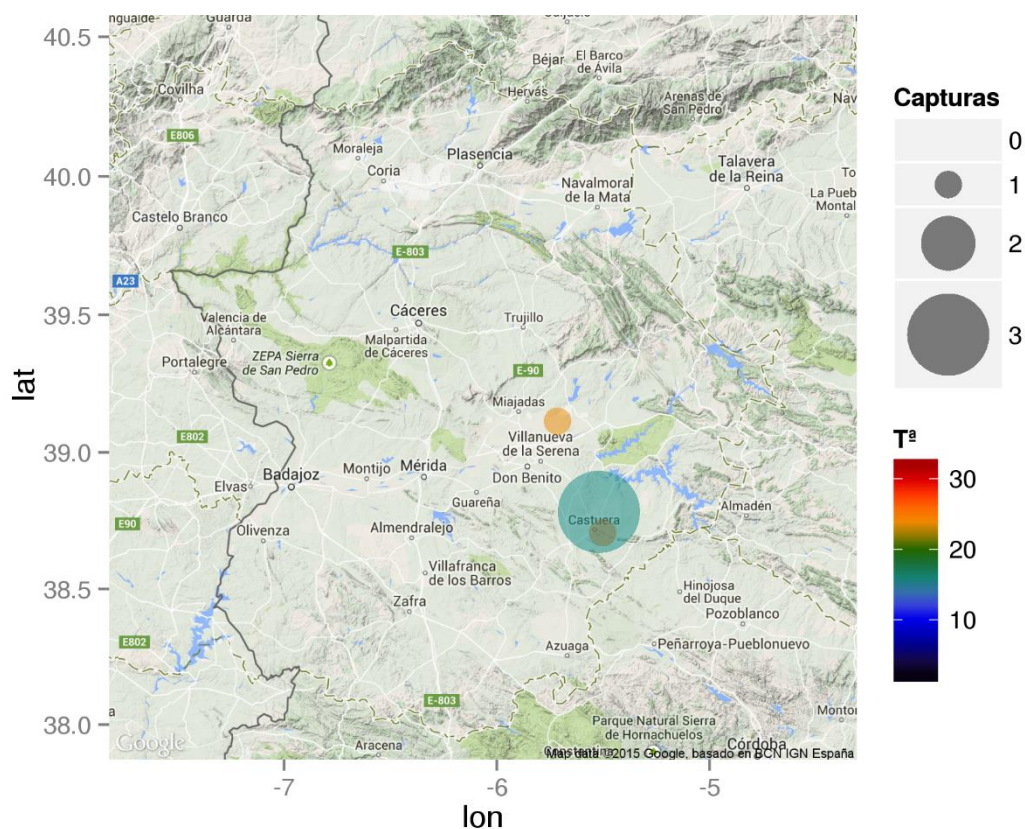


Figura 126. Distribución de capturas de *C. accraensis* según los diferentes puntos de muestreo y la temperatura media máxima.

Resultados

***Culicoides impunctatus*.**

Culicoides impunctatus al igual que la anterior, solo se ha detectado en tres muestreos en diferentes zonas de la región y con temperaturas muy variadas, habiéndose realizado el mayor número de capturas en el “Parque Nacional de Monfragüe” (Figura 127).

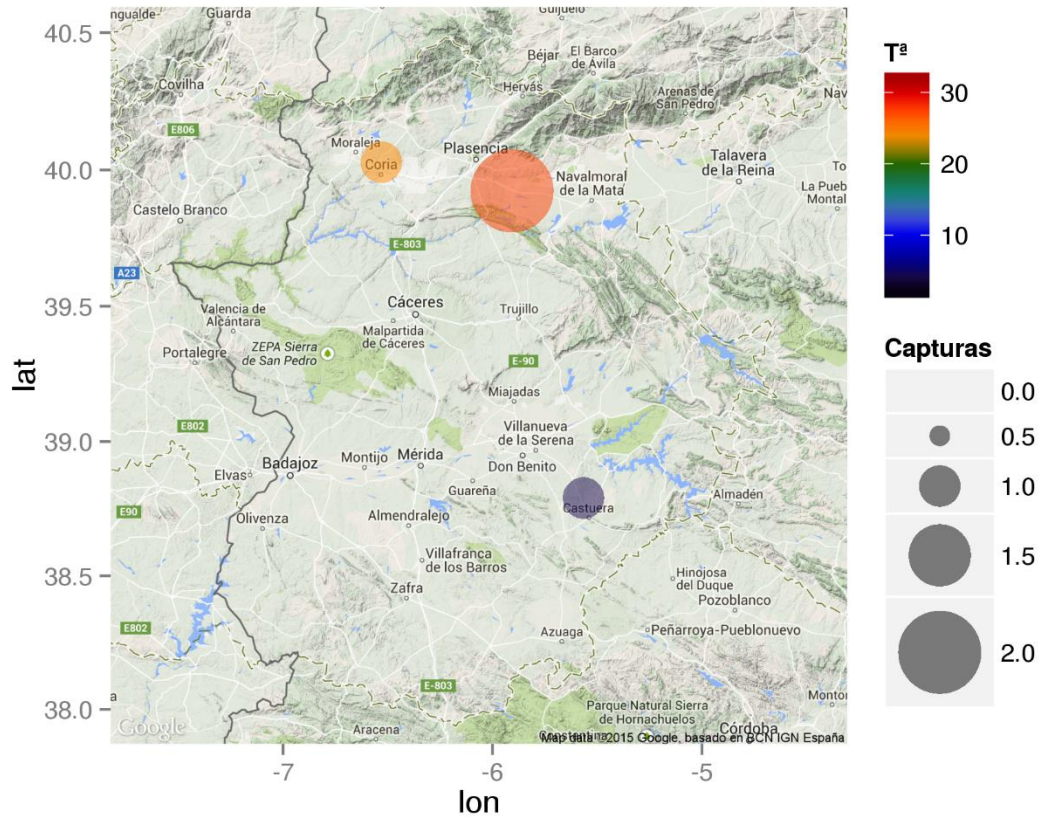


Figura 127. Distribución de capturas de *C. impunctatus* según los diferentes puntos de muestreo y la temperatura media máxima.

***Culicoides puncticollis*.**

Esta es una especie de la que solo se han capturado dos ejemplares en dos zonas de muestreo diferentes de la provincia de Badajoz, habiéndose realizado estas capturas con temperaturas cálidas, como observamos en la Figura 128.

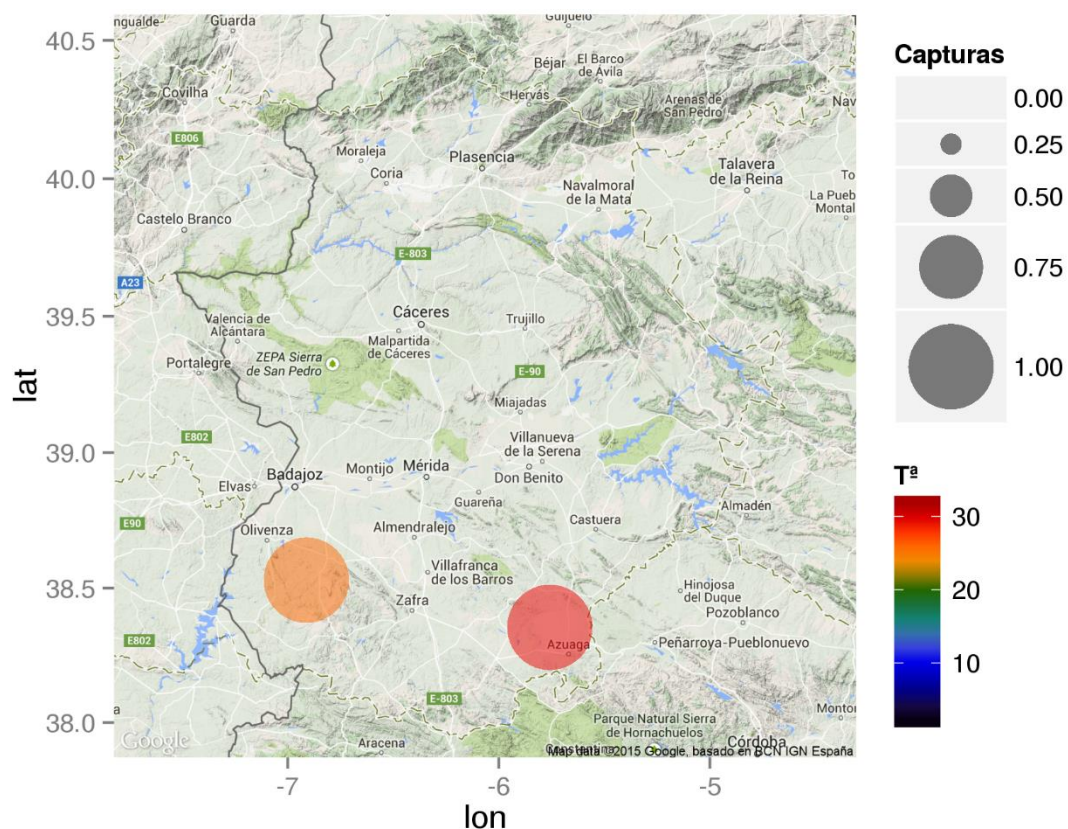


Figura 128. Distribución de capturas de *C. puncticollis* según los diferentes puntos de muestreo y la temperatura media máxima.

Resultados

Culicoides fascipennis.

Esta especie solo se ha encontrado en una ocasión en la comarca de “Cáceres”, con temperaturas cálidas, por lo que se trata de una especie muy esporádica en la región extremeña (Figura 129).

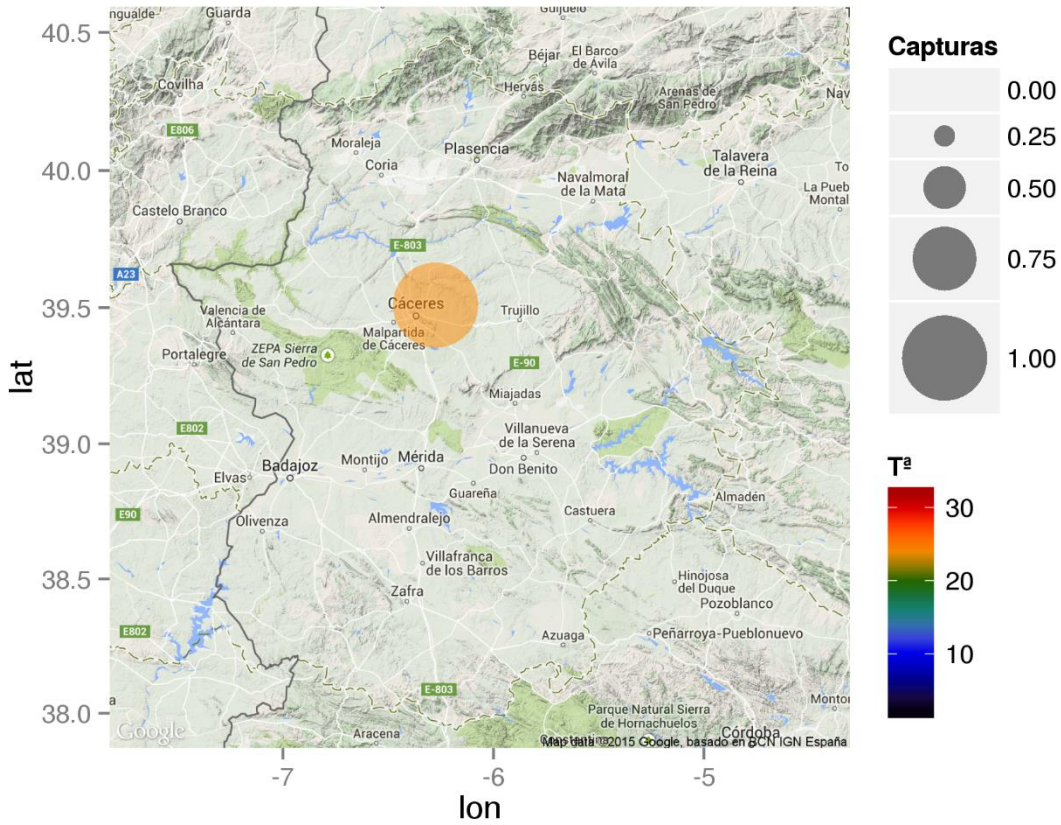


Figura 129. Distribución de capturas de *C. fascipennis* según los diferentes puntos de muestreo y la temperatura media máxima.

4.1.2 Dípteros necrófagos.

En el presente trabajo, tal y como ya se comentó en el apartado de Material y Métodos, se realizó un muestreo de dípteros necrófagos mediante el uso de trampas WOT. El análisis taxonómico de los ejemplares capturados llegó hasta el nivel de familia, si bien, en el caso de la familia Calliphoridae, la clasificación se llevó a cabo hasta nivel de especie. Además, se identificó igualmente el sexo de cada uno de los individuos de esta última familia. Los resultados se exponen en la Tabla 12.

Tabla 12. Clasificación taxonómica de los dípteros necrófagos capturados.

	Especie	Machos	Hembras	Total	Porcentaje Calliphoridae	Porcentaje total
Familia Calliphoridae	<i>Calliphora vicina</i>	653	2007	2660	27,93 %	21,36 %
	<i>Calliphora vomitoria</i>	129	301	430	4,52 %	3,45 %
	<i>Lucilia sericata</i>	765	4439	5204	54,65 %	41,79 %
	<i>Lucilia ampullacea</i>	1	10	11	0,12 %	0,09 %
	<i>Lucilia caesar</i>	50	160	210	2,21 %	1,69 %
	<i>Lucilia illustris</i>	3	50	53	0,56 %	0,43 %
	<i>Chrysomya albiceps</i>	243	697	940	9,87 %	7,55 %
	<i>Protophormia terraenovae</i>	0	4	4	0,04 %	0,03 %
	<i>Pollenia sp</i>	0	9	9	0,09 %	0,07 %
	<i>Stomorphina lunata</i>	0	2	2	0,02 %	0,02 %
	Total Familia Calliphoridae	1844	7679	9523	100,00 %	76,48 %
	Porcentaje	19,36 %	80,64 %	100 %		
Familia Muscidae				1987		15,96 %
Familia Anthomyiidae				422		3,39 %
Familia Sarcophagidae				240		1,93 %
Familia Fanniidae				107		0,86 %
Familia Ulidiidae				94		0,75 %
Familia Scathophagidae				79		0,63 %
Total				12452		100,00 %

Resultados

El total de dípteros necrófagos capturados y analizados ha sido de 12452. Dentro de éstos, los individuos de la familia Calliphoridae fueron los que se capturaron en mayor porcentaje respecto al total (76,48 %). A su vez, la especie más frecuente fue *L. sericata* (54,65 %), seguida de *C. vicina* (27,93 %), *Ch. albiceps* (9,87 %) y *C. vomitoria* (4,52 %). En el análisis por sexo vemos que resultó más frecuente la captura de hembras (80,64 %) que de machos (19,32 %).

En cuanto a las demás familias muestreadas, las que tuvieron mayor porcentaje de captura fueron Muscidae (15,96 %), seguida de Anthomyiidae (3,39 %), Sarcophagidae (1,93 %), Ulidiidae (0,75 %) y Scathophagidae (0,63 %). Dentro de los sarcófagos, encontramos un ejemplar del género *Wohlfahrtia* de gran interés por ser agente productor de miasis.

4.1.2.1 Familia Calliphoridae.

Calliphora vicina.

Temporalidad.

Si analizamos la captura de individuos de esta especie en relación al mes de muestreo, como podemos ver en la Figura 130, se produjo un mayor número de capturas en las estaciones frías y templadas, siendo muy escasas las capturas en verano con las temperaturas más elevadas.

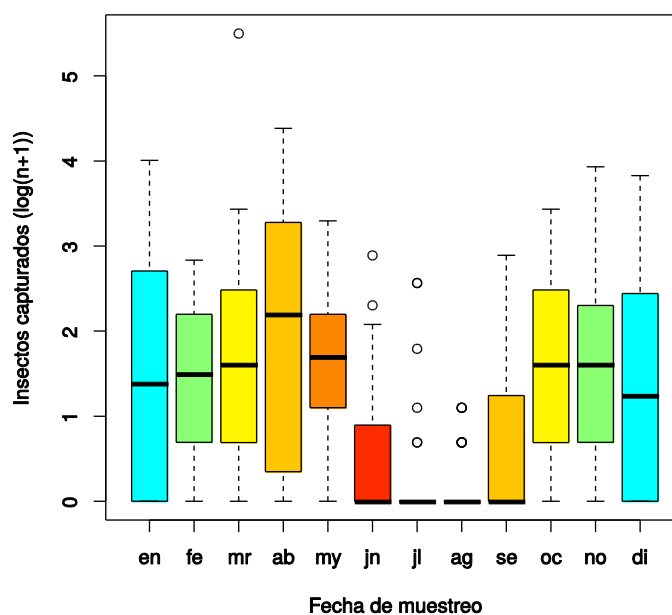


Figura 130. Distribución de capturas de *C. vicina* según el mes de estudio.

Temperatura y humedad relativa.

Teniendo en cuenta lo que observábamos en el apartado anterior, el número de capturas de esta especie mostró una clara tendencia a aumentar según disminuye la temperatura máxima y según aumenta la humedad relativa (Figura 131). Como ya indicábamos para el caso de los *Culicoides*, este hecho se debió sobre todo al clima de la región en el que la humedad relativa se encuentra claramente relacionada con la temperatura.

Resultados

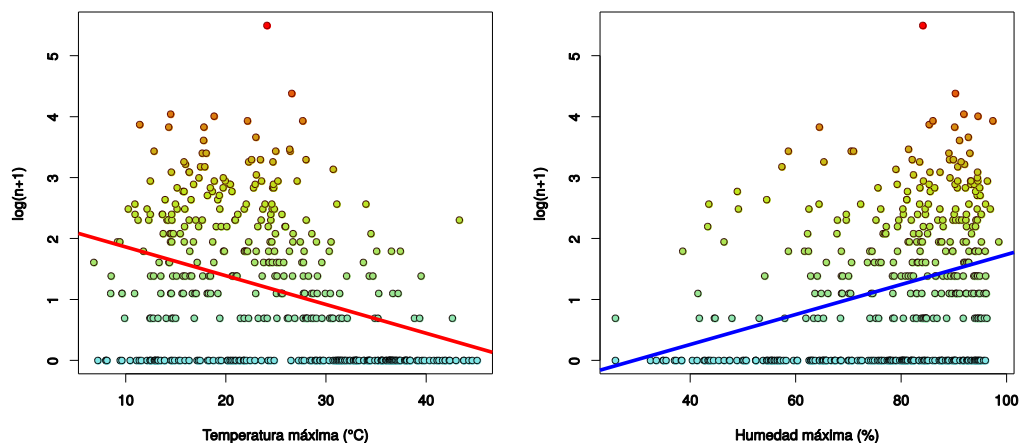


Figura 131. Distribución de capturas de *C. vicina* según la temperatura máxima y la humedad relativa máxima ambiental.

Localización geográfica.

Al analizar la distribución geográfica de los dípteros de esta especie, podemos ver que las comarcas con una media de mayores capturas fueron las de “La Vera”, “Valencia de Alcántara” y “Jerez de los Caballeros”, siendo la de menor número de capturas la del “Valle del Jerte”. No obstante, esta especie en general se encuentra ampliamente distribuida por toda la geografía muestreada (Figura 132 y Figura 133).

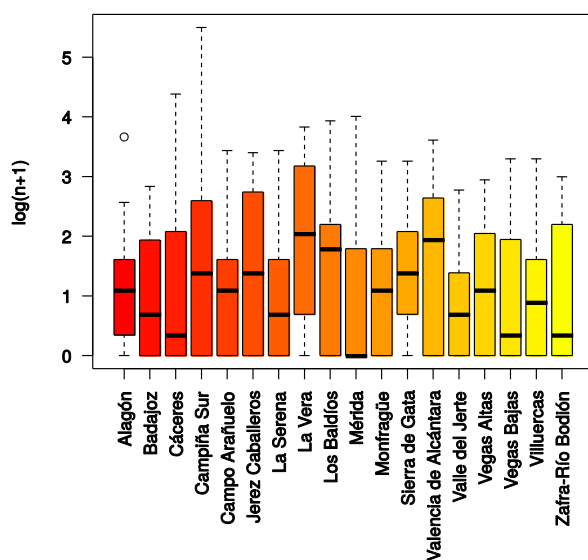


Figura 132. Distribución de capturas de *C. vicina* según la comarca de estudio.

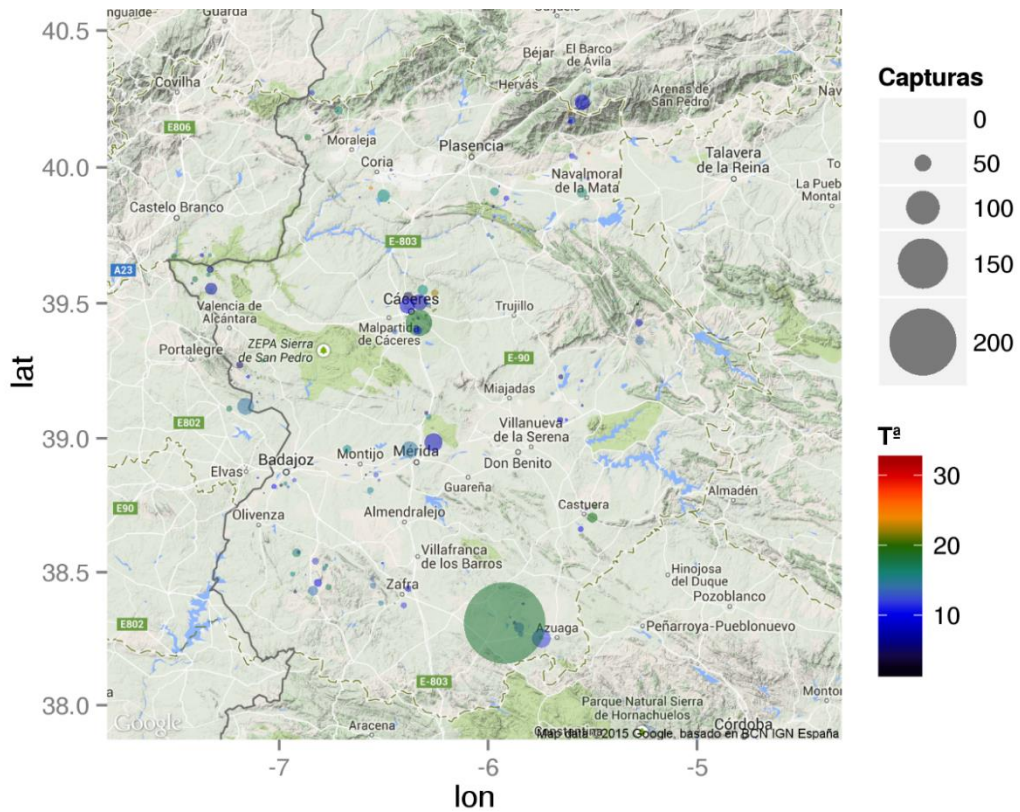


Figura 133. Distribución de capturas de *C. vicina* según los diferentes puntos de muestreo y la temperatura media máxima.

Calliphora vomitoria.

Temporalidad.

Al analizar la distribución temporal de esta especie podemos determinar que se obtuvieron unos resultados muy similares a los de la especie anterior, produciéndose un escaso o nulo número de capturas durante los meses de verano y capturándose sobre todo en primavera, aunque también en todos los meses de otoño e invierno, como observamos en la Figura 134.

Resultados

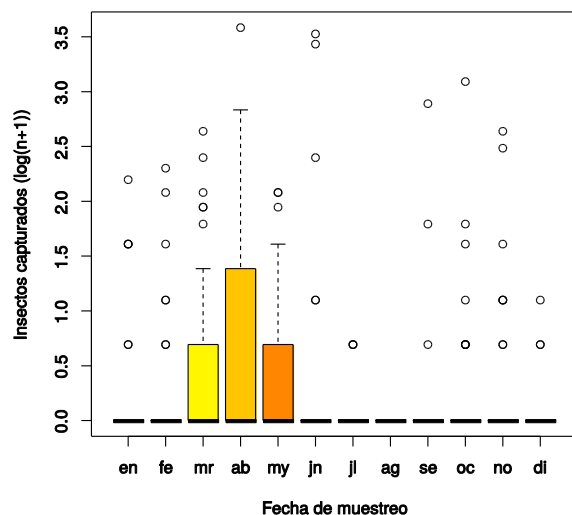


Figura 134. Distribución de capturas de *C. vomitoria* según el mes de estudio.

Temperatura y humedad relativa.

Al igual que en el caso de la otra especie de este género (*C. vicina*), ésta también mostró una tendencia al aumento en el número de capturas según disminuye la temperatura media ambiental y según aumenta la humedad relativa media ambiental (Figura 135).

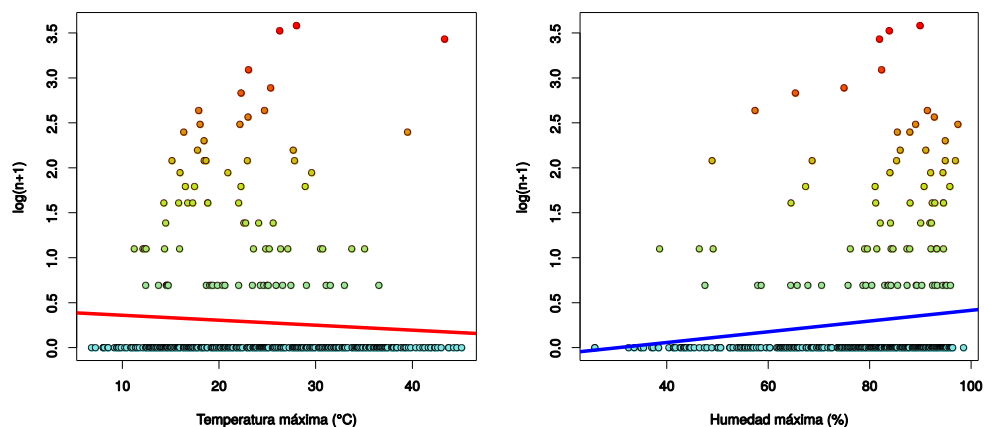


Figura 135. Distribución de capturas de *C. vomitoria* según la temperatura máxima y la humedad relativa máxima ambiental.

Distribución geográfica.

Como observamos en la Figura 136 y Figura 137, la distribución geográfica de esta especie en la región evidenció que el mayor número de capturas se produjo en “La Vera” y en “Las Villuercas” siendo zonas de montaña y naturaleza bien conservadas, si bien se encontraron ejemplares por casi toda la zona de muestreo.

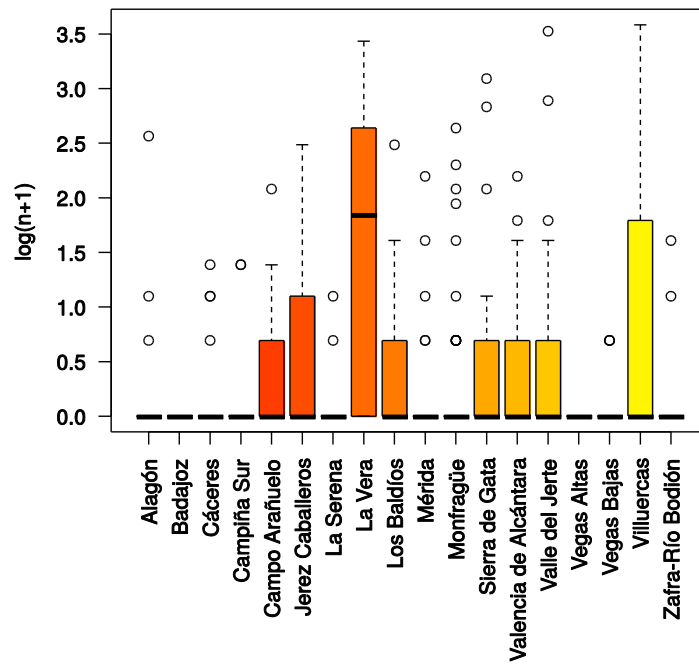


Figura 136. Distribución de capturas de *C. vomitoria* según la comarca de estudio.

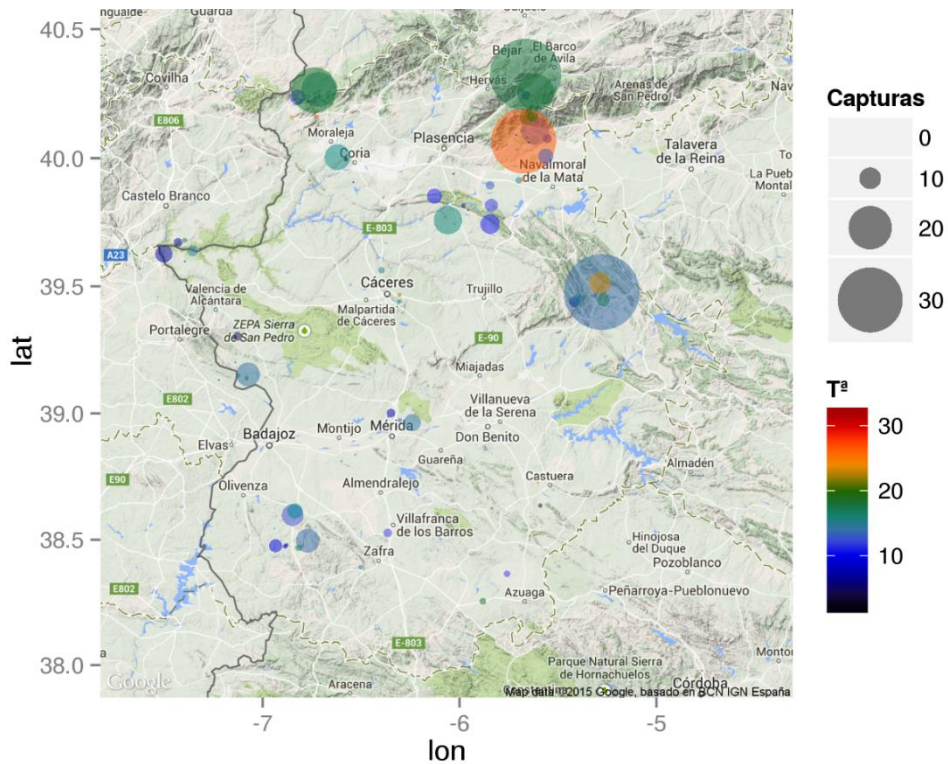


Figura 137. Distribución de capturas de *C. vomitoria* según los diferentes puntos de muestreo y la temperatura media máxima.

Lucilia sericata.

Temporalidad.

Si analizamos la temporalidad mensual de capturas de esta especie, podemos observar que las fechas con un mayor número de capturas fueron los meses de verano en los que la temperatura fue más alta, no detectándose, salvo casos aislados, en los meses de invierno, mostrándose de este modo el carácter claramente estacional de esta especie (Figura 138).

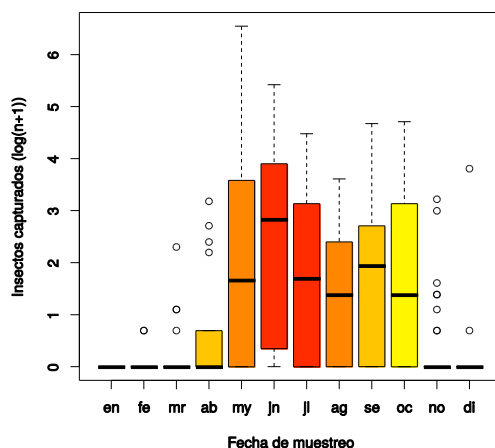


Figura 138. Distribución de capturas de *L. sericata* según el mes de estudio.

Temperatura y humedad relativa.

Analizando las capturas en función de la temperatura media y la humedad relativa, observamos que *L. sericata* mostró un claro carácter termófilo, ya que sus capturas tendieron a aumentar conforme lo hace la temperatura media ambiental y disminuye la humedad relativa media (Figura 139).

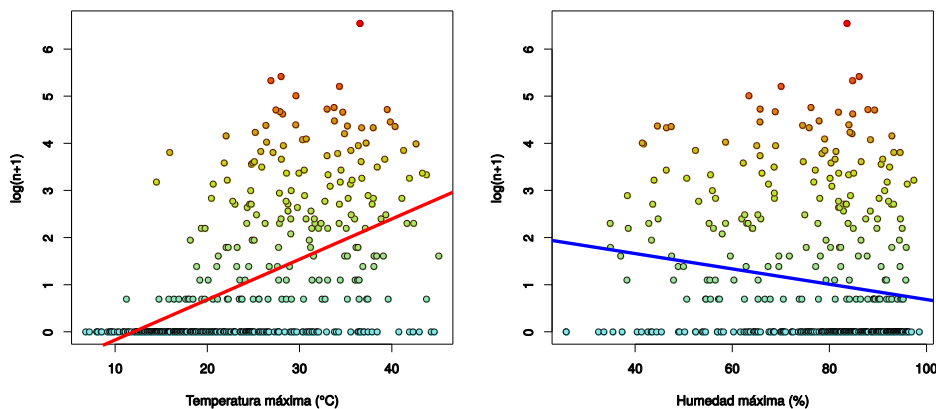


Figura 139. Distribución de capturas de *L. sericata* según la temperatura máxima y la humedad relativa máxima ambiental.

Distribución geográfica.

Analizando la distribución geográfica de esta especie, podemos ver que estuvo bastante distribuida por toda la geografía de la región, siendo las dos comarcas con mayor número de capturas “Mérida” y “Los Baldíos” y las que mostraron un menor número de capturas fueron “Badajoz” y “el Valle del Alagón” (Figura 140 y Figura 141).

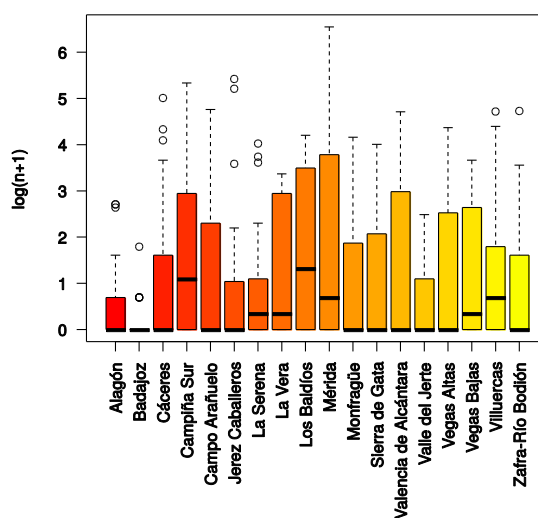


Figura 140. Distribución de capturas de *L. sericata* según la comarca de estudio.

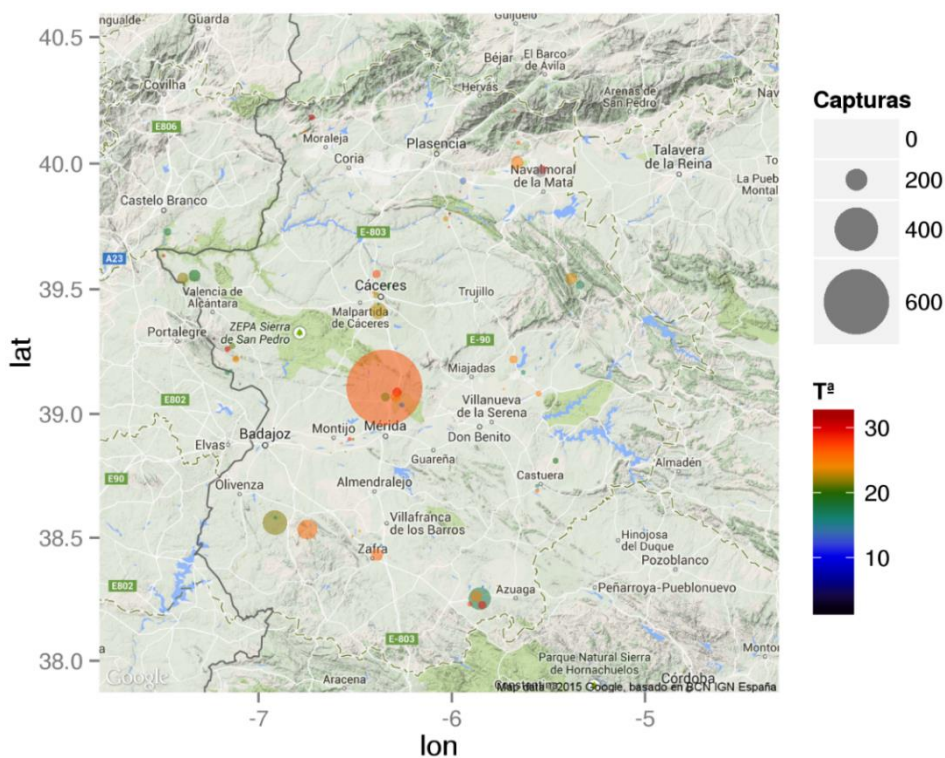


Figura 141. Distribución de capturas de *L. sericata* según los diferentes puntos de muestreo y la temperatura media máxima.

Lucilia caesar.

Temporalidad.

La especie *L. caesar* mostró una clara tendencia al aumento en los meses primaverales y otoñales, si bien también hubo capturas en verano y ocasionalmente en invierno (Figura 142).

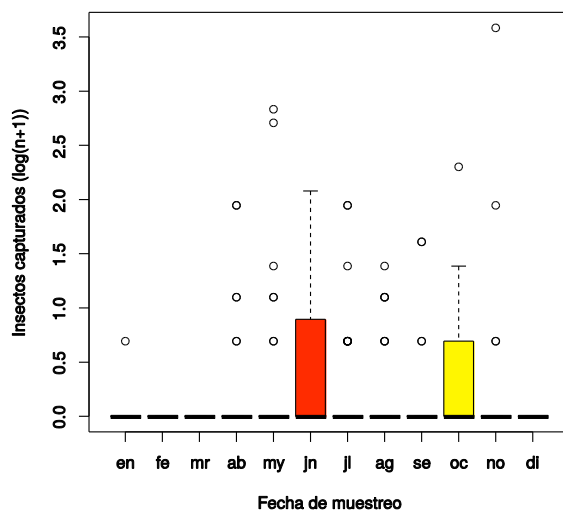


Figura 142. Distribución de capturas de *L. caesar* según el mes de estudio.

Distribución geográfica.

Al analizar la distribución de esta especie dentro de la región, podemos indicar que la comarca con mayor número de capturas de esta especie fue “Campo Arañuelo”, aunque estuvo ampliamente distribuida por prácticamente toda la geografía extremeña, detectándose en casi todas las áreas de muestreo (Figura 143 y Figura 144).

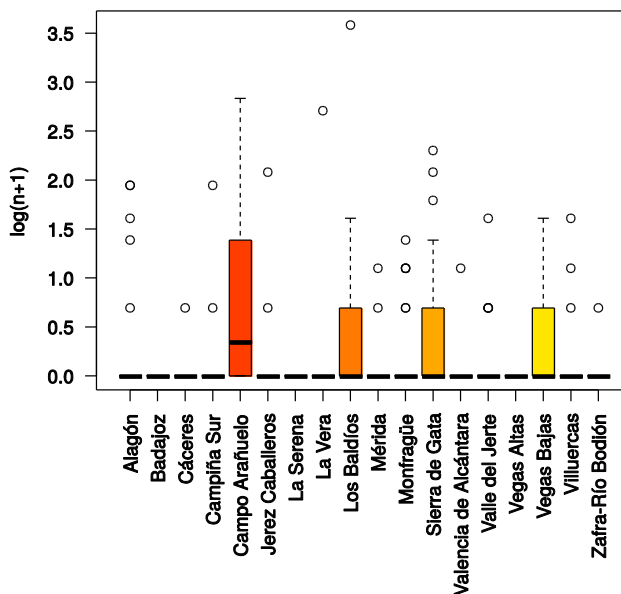


Figura 143. Distribución de capturas de *L. caesar* según la comarca de estudio.

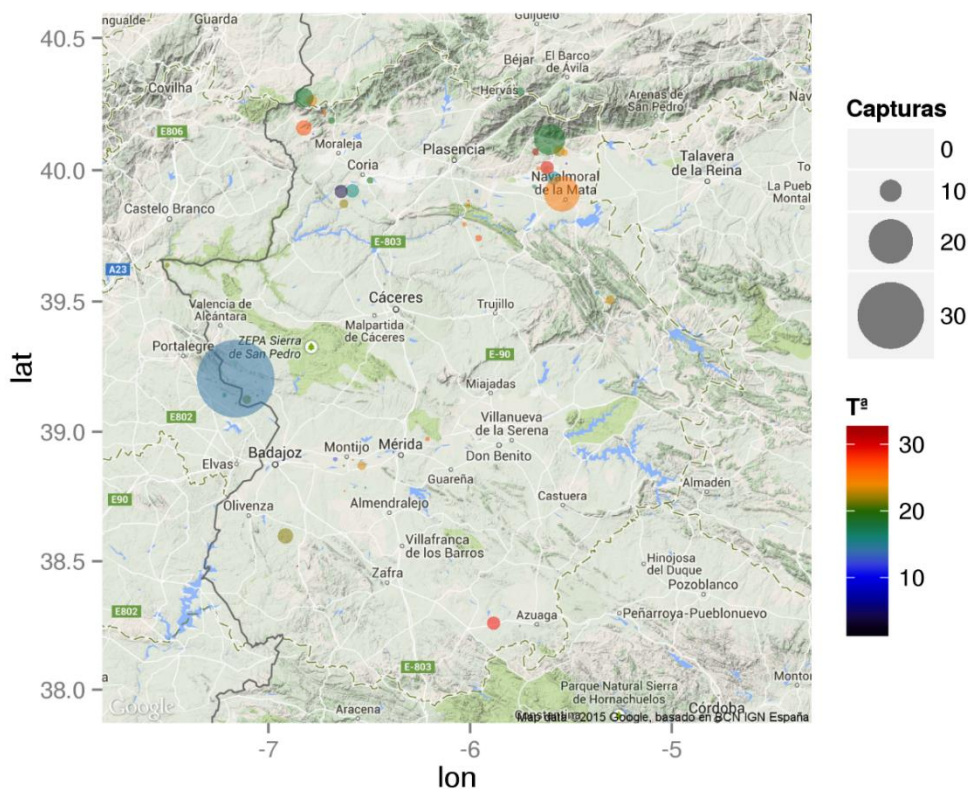


Figura 144. Distribución de capturas de *L. caesar* según los diferentes puntos de muestreo y la temperatura media máxima.

Lucilia illustris.

Temporalidad.

Al analizar la temporalidad de esta especie, debemos de tener en cuenta que se realizó un escaso número de capturas, aunque podemos ver que éstas mostraron una tendencia a detectarse en mayor número durante los meses de mayo y junio coincidiendo con la primavera- No obstante, también se han capturado algunos ejemplares en verano y otoño, como se observa en la Figura 145. Por tanto, esta especie parece que tiene preferencia por temperaturas templadas a cálidas.

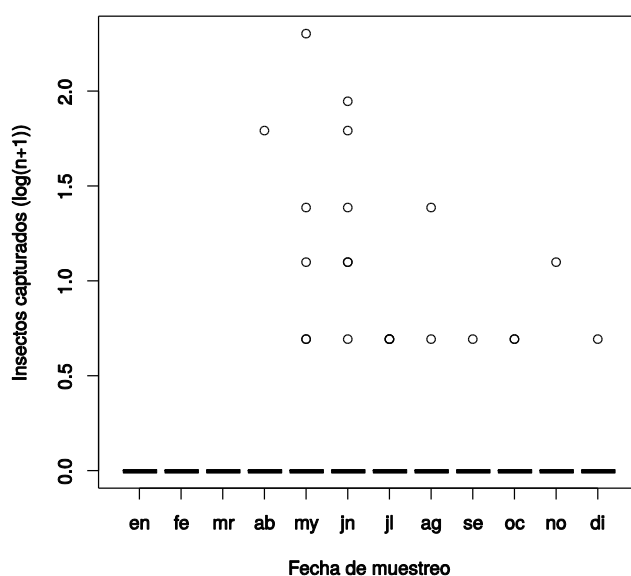


Figura 145. Distribución de capturas de *L. illustris* según el mes de estudio.

Distribución geográfica.

Como ya comentamos, esta especie se capturó de modo esporádico, si bien los ejemplares analizados se encontraron distribuidos por una amplia zona de los puntos de muestreo, encontrando mayor cantidad en la zona norte de Cáceres (Figura 146 y Figura 147).

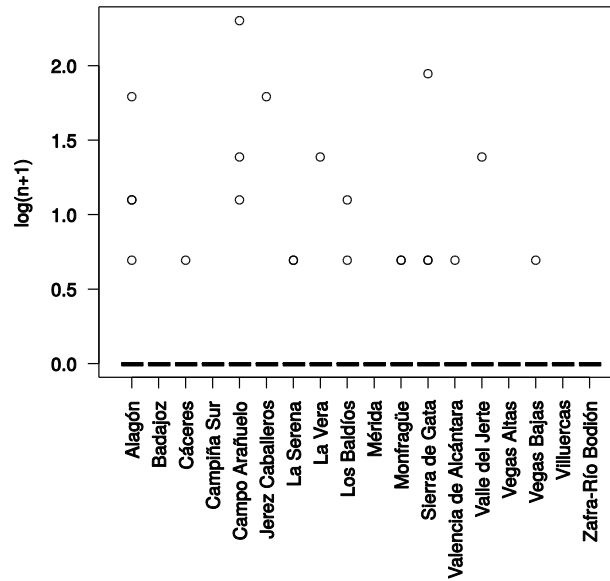


Figura 146. Distribución de capturas de *L. illustris* según la comarca de estudio.

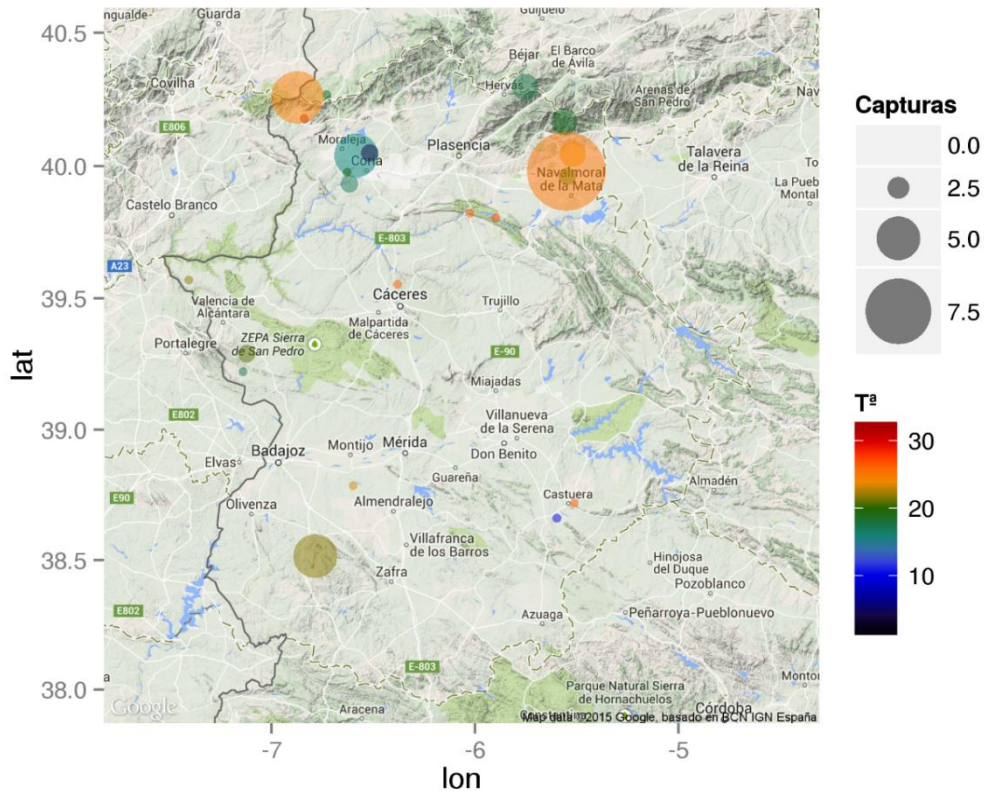


Figura 147. Distribución de capturas de *L. illustris* según los diferentes puntos de muestreo y la temperatura media máxima.

Resultados

Lucilia ampullacea.

Temporalidad.

Esta especie fue capturada de forma ocasional, encontrándose irregularmente durante los meses de primavera y por tanto, parece más adaptada a temperaturas templadas (Figura 148).

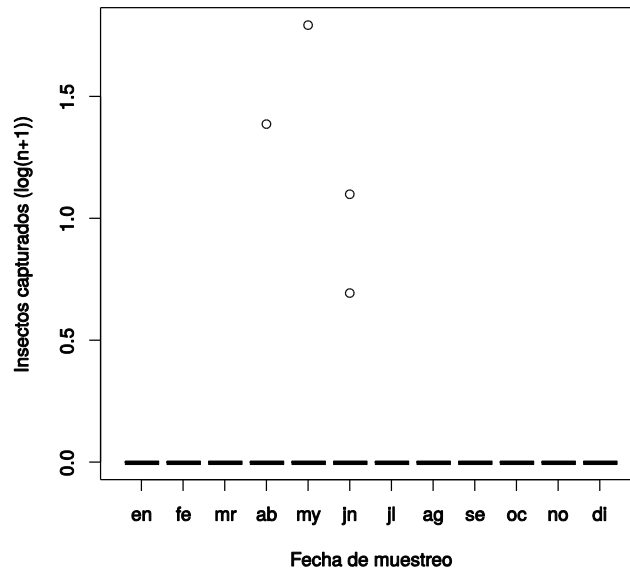


Figura 148. Distribución de capturas de *L. ampullacea* según el mes de estudio.

Distribución geográfica.

Las capturas se han focalizado sobre todo en la comarca de "La Vera", zona montañosa del noreste cacereño, a más de 1000 metros de altitud y con vegetación bien conservada (Figura 149 y Figura 150).

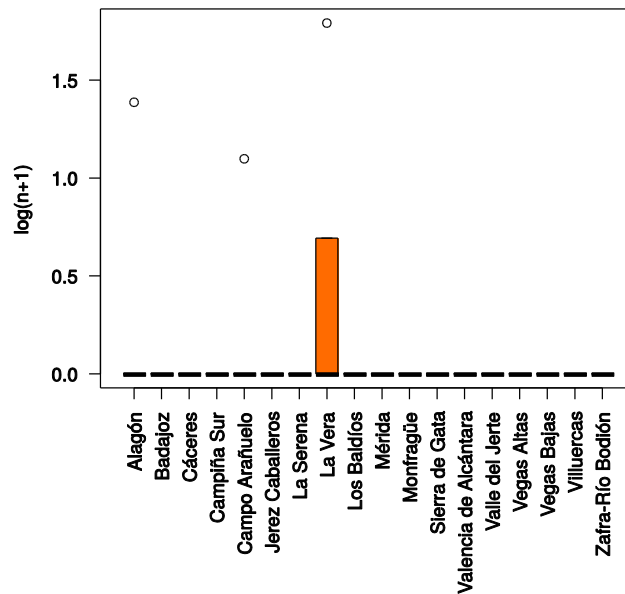


Figura 149. Distribución de capturas de *L. ampullacea* según la comarca de estudio.

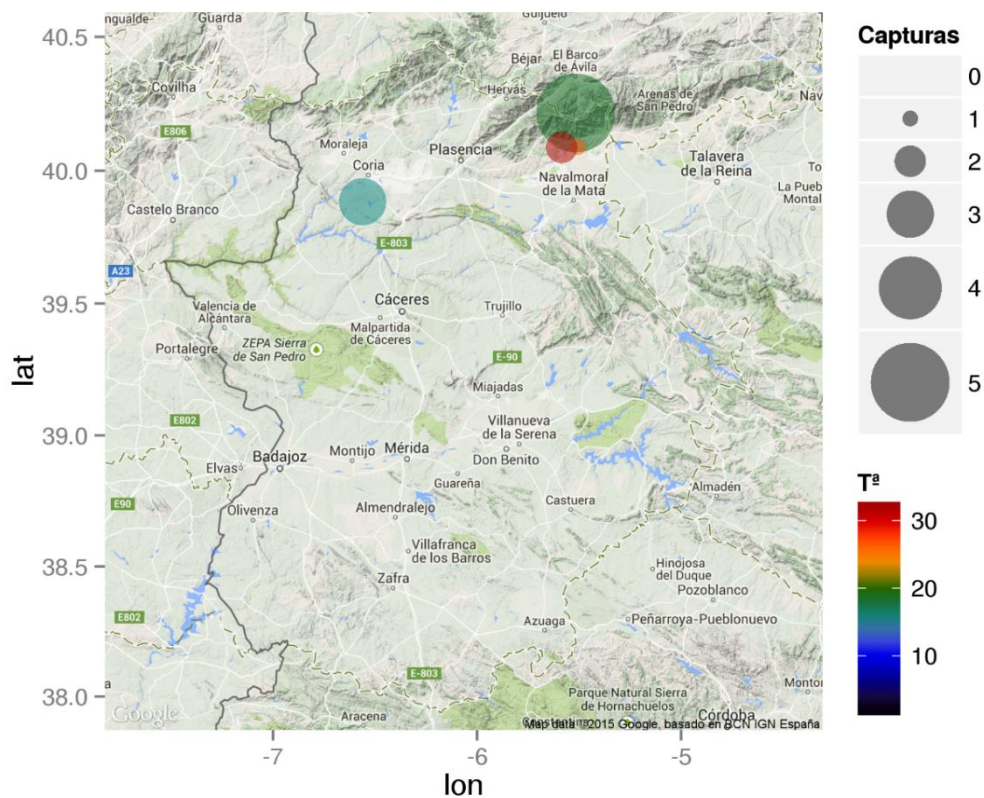


Figura 150. Distribución de capturas de *L. ampullacea* según los diferentes puntos de muestreo y la temperatura media máxima.

Chrysomya albiceps.

Temporalización.

Esta especie mostró una tendencia muy marcada en su temporalización, ya que las capturas se centraron especialmente en los meses de verano (Figura 151), indicando su marcado carácter termófilo.

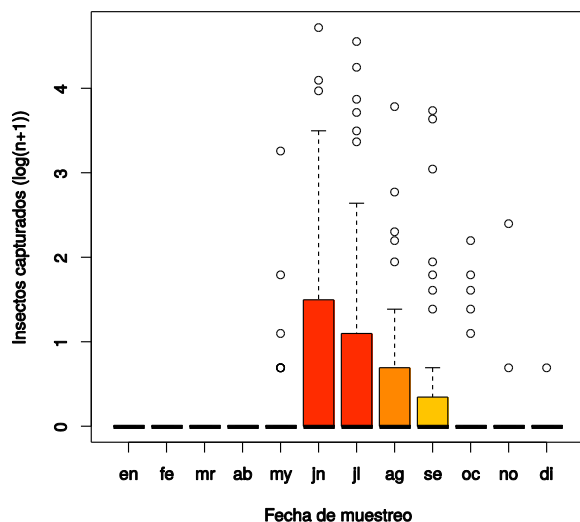


Figura 151. Distribución de capturas de *Ch. albiceps* según el mes de estudio.

Temperatura y humedad relativa.

Tal y como se ha comentado, *Ch. albiceps* presenta un claro carácter termófilo, con un aumento claro de las capturas según aumentan las temperaturas y disminuye la humedad relativa (Figura 152).

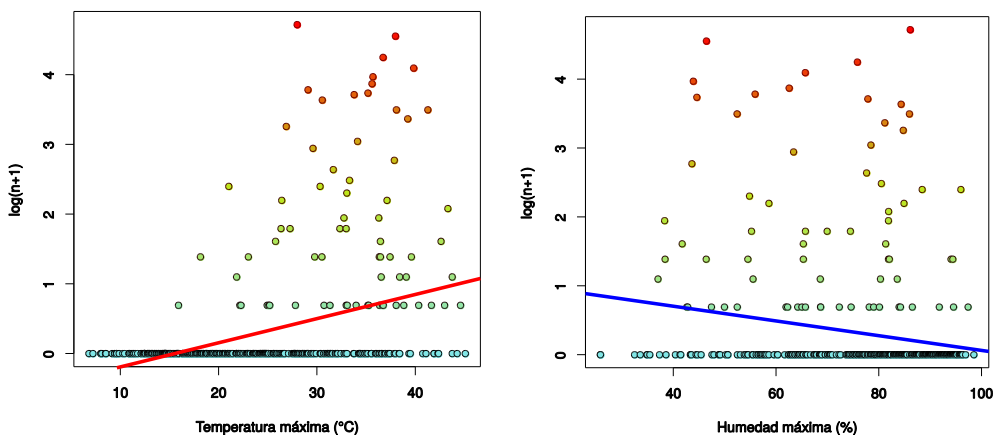


Figura 152. Distribución de capturas de *Ch. albiceps* según la temperatura máxima y la humedad relativa máxima ambiental.

Distribución geográfica.

La mayoría de capturas se encontraron en zonas de Badajoz, destacando las comarcas situadas más al sur de esta provincia (Figura 153 y Figura 154).

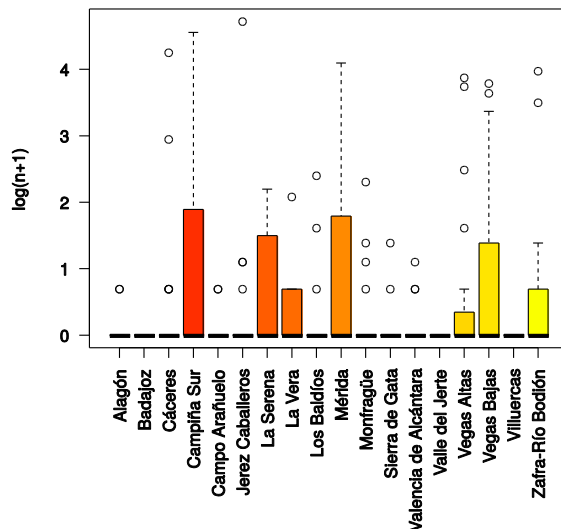


Figura 153. Distribución de capturas de *Ch. albiceps* según la comarca de estudio.

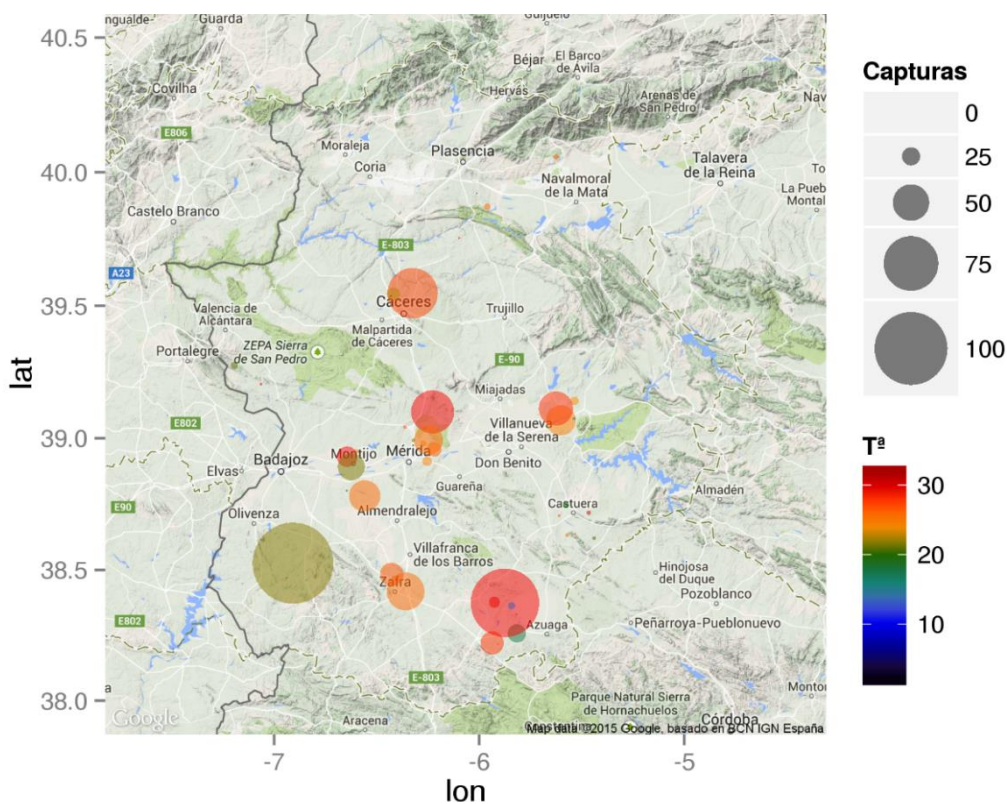


Figura 154. Distribución de capturas de *Ch. albiceps* según los diferentes puntos de muestreo y la temperatura media máxima.

***Protophormia terraenovae*.**

Temporalidad.

Se capturaron un escaso número de ejemplares de la especie *P. terraenovae* (n=4), por lo que es difícil analizar y extrapolar los resultados. No obstante, se observó una ligera tendencia a aumentar al subir las temperaturas con las capturas concentradas entre los meses de abril a octubre (Figura 155).

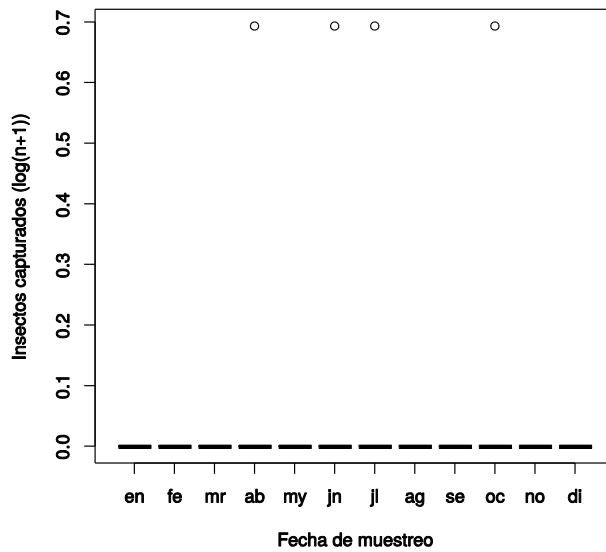


Figura 155. Distribución de capturas de *P. terraenovae* según el mes de estudio.

Distribución geográfica.

Los 4 ejemplares capturados de esta especie se han recogido en “Alagón”, “Badajoz”, “Los Baldíos” y “Zafra-Río Bodión”, es decir, se encuentra distribuida por distintos ecosistemas de la geografía extremeña (Figura 156) y en un amplio rango de temperaturas, desde templadas a cálidas (Figura 157).

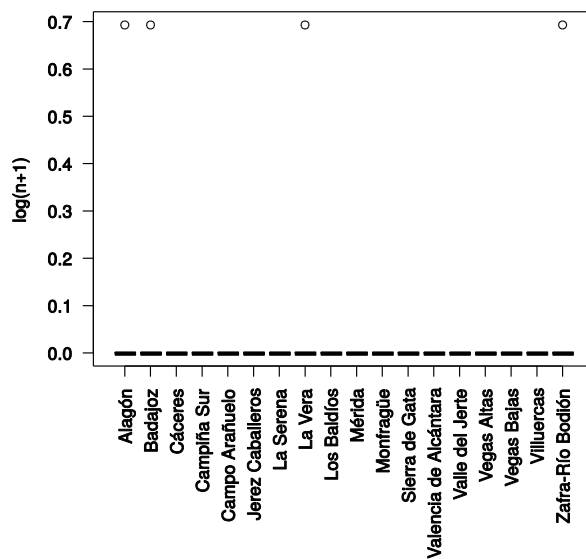


Figura 156. Distribución de capturas de *P. terraenovae* según la comarca de estudio.

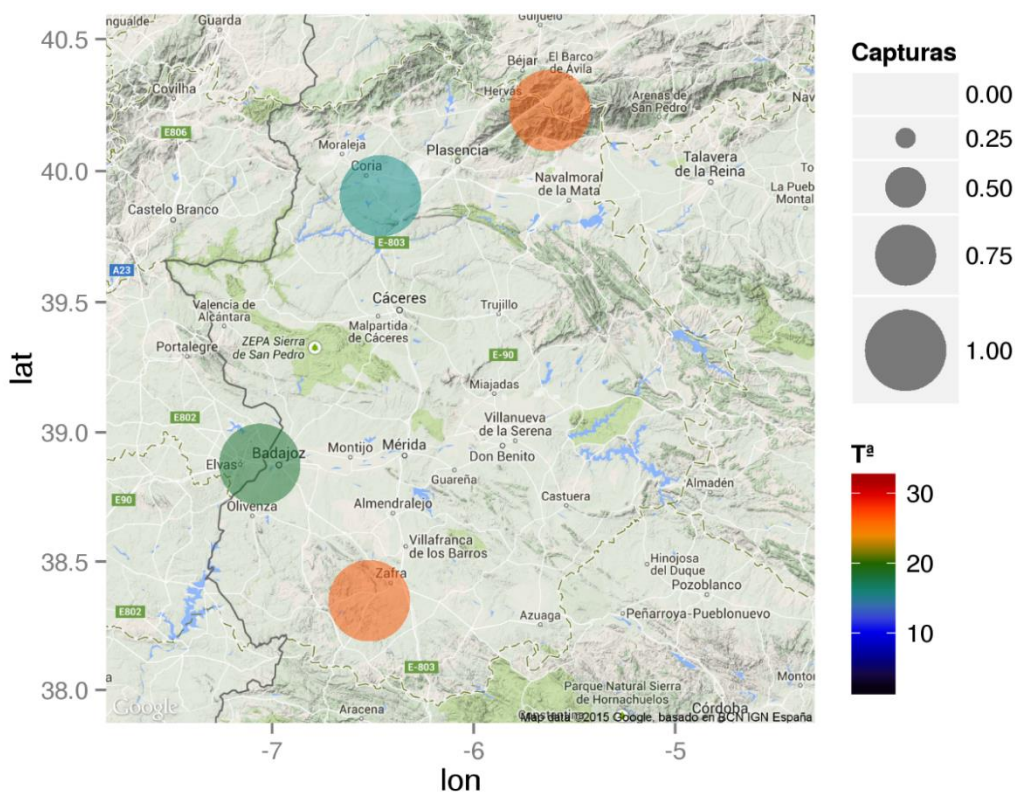


Figura 157. Distribución de capturas de *P. terraenovae* según los diferentes puntos de muestreo y la temperatura media máxima.

Resultados

Pollenia sp.

Este género solo se ha capturado de un modo ocasional en dos trampeos en las comarcas de “Campo Arañuelo” y “La Serena”. Además, en dos rangos de temperatura muy diferentes, lo que indica lo esporádico de estas capturas, resultando de este modo, difícil mostrar ninguna tendencia de datos a la hora de describir los factores de presentación de esta especie (Figura 158).

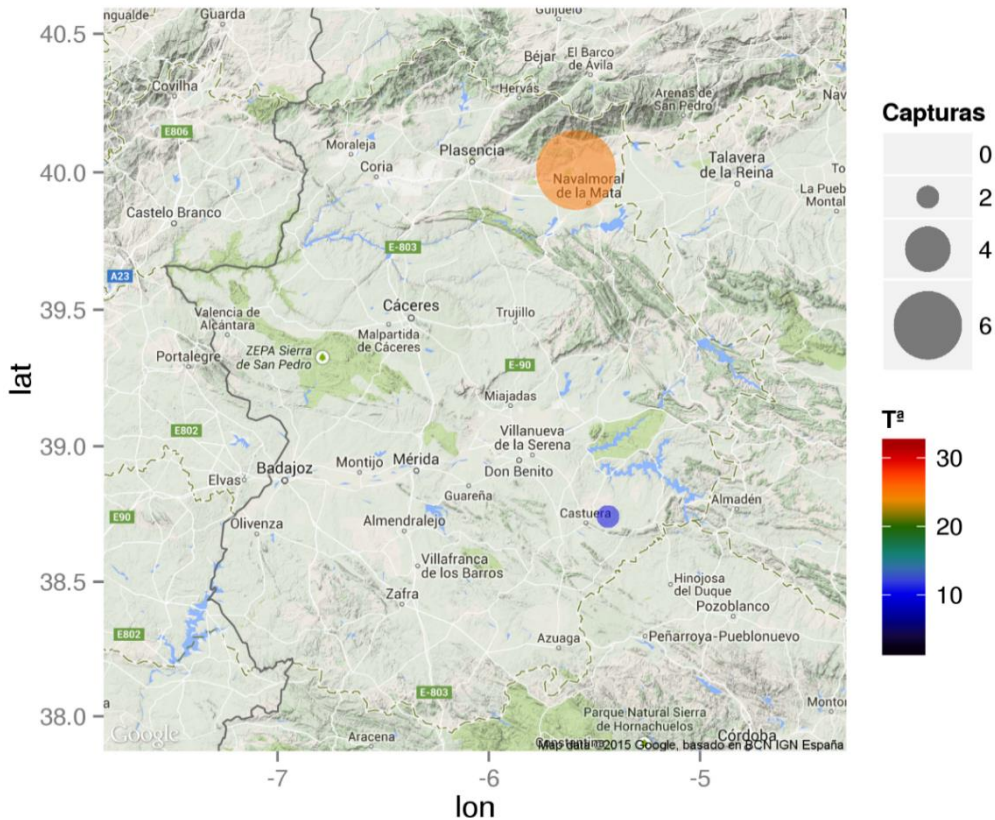


Figura 158. Distribución de capturas de *Pollenia* sp. según los diferentes puntos de muestreo y la temperatura media máxima.

Stomorphina lunata

Como vemos en la Figura 159, esta especie se capturó solamente en una ocasión en la comarca de “Badajoz” con una temperatura templada, por lo que podemos indicar que se trata de una especie que se captura de un modo ocasional, al menos en el tipo de trampas que se ha utilizado para el desarrollo de este estudio.

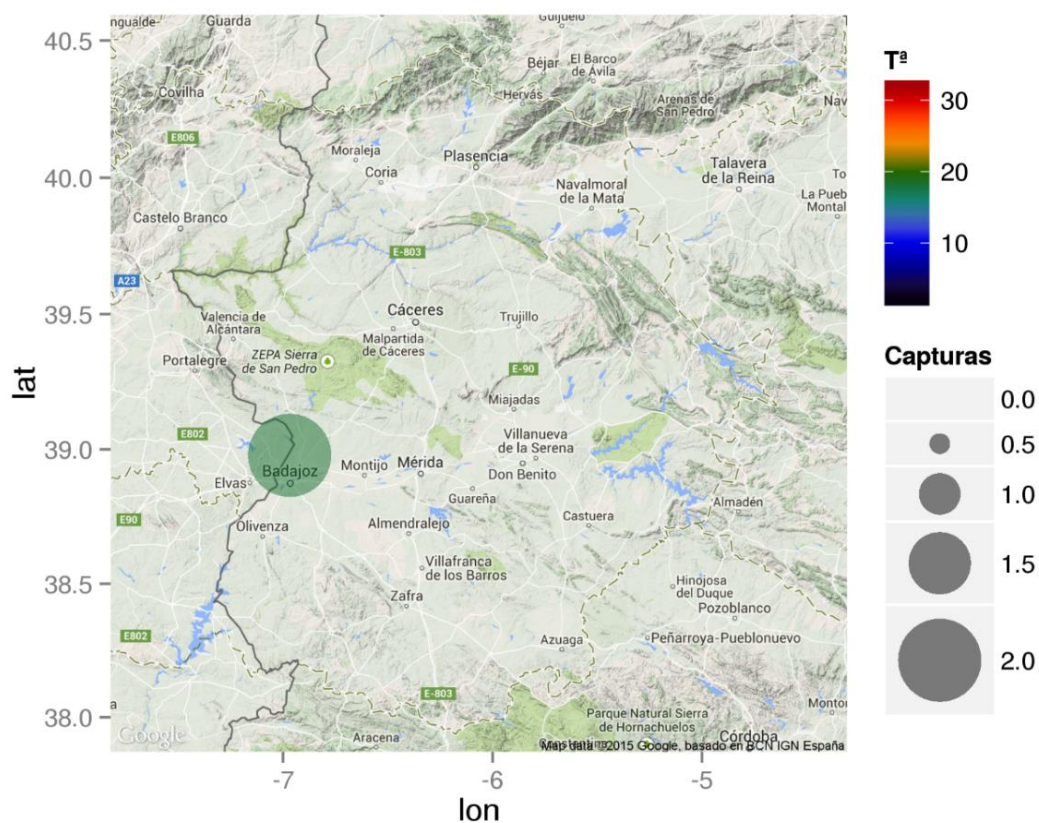


Figura 159. Distribución de capturas de *Stomorphina lunata* según los diferentes puntos de muestreo y la temperatura media máxima.

4.1.2.2 Familia Muscidae.

Temporalidad.

Tras los califóridos, la familia de los mÚscidos han sido los individuos que mayormente han caído en las trampas de muestreo. Se han capturado un total de 1987 ejemplares, mayoritariamente durante los meses de verano, no registrando ninguna captura en el mes de enero (Figura 160).

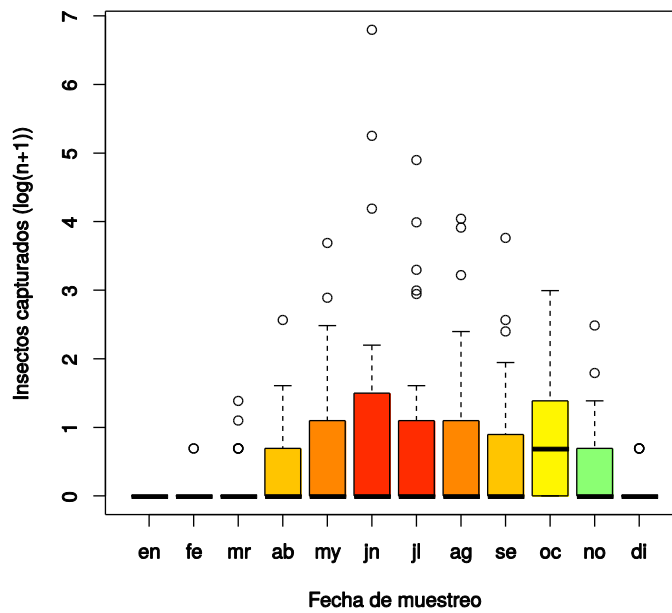


Figura 160. Distribución de capturas de la familia Muscidae según el mes de estudio.

Temperatura y humedad relativa.

Esta familia siguió una tendencia ascendente en las capturas conforme aumentaba la temperatura y todo lo contrario conforme aumentaba la humedad (Figura 161).

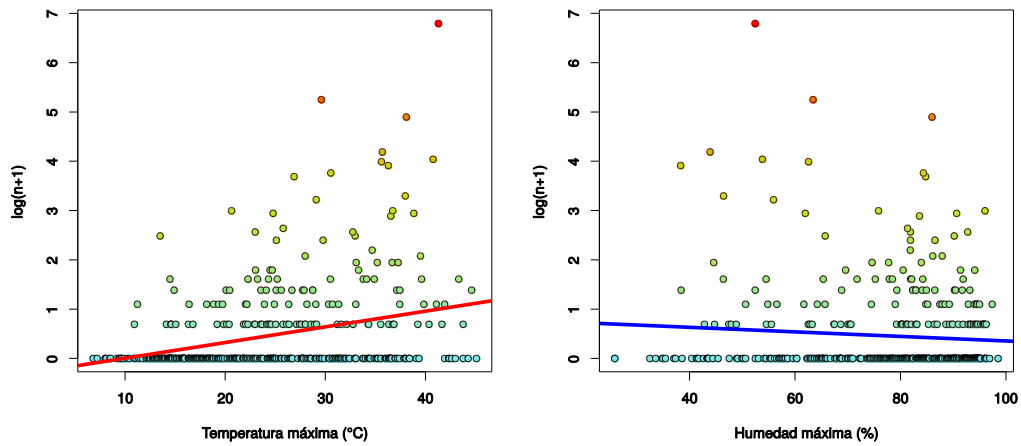


Figura 161. Distribución de capturas de la familia Muscidae según la temperatura máxima y la humedad relativa máxima ambiental.

Distribución geográfica.

En cuanto a la distribución de esta especie, se observaron ejemplares en prácticamente todas las comarcas muestreadas, si bien fueron las comarcas de “Campiña sur” y “Mérida” las de mayor frecuencia de capturas y con temperaturas cálidas, como ya se mencionó (Figura 162 y Figura 163).

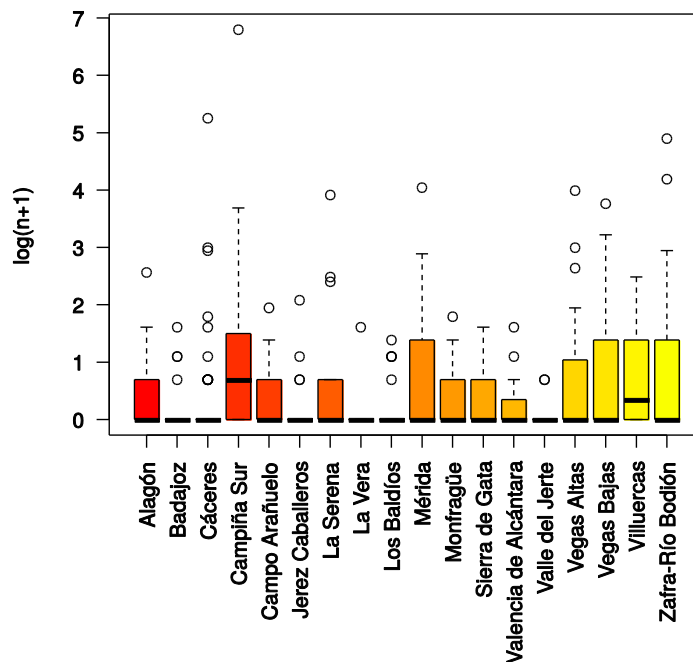


Figura 162. Distribución de capturas de la familia Muscidae según la comarca de estudio.

Resultados

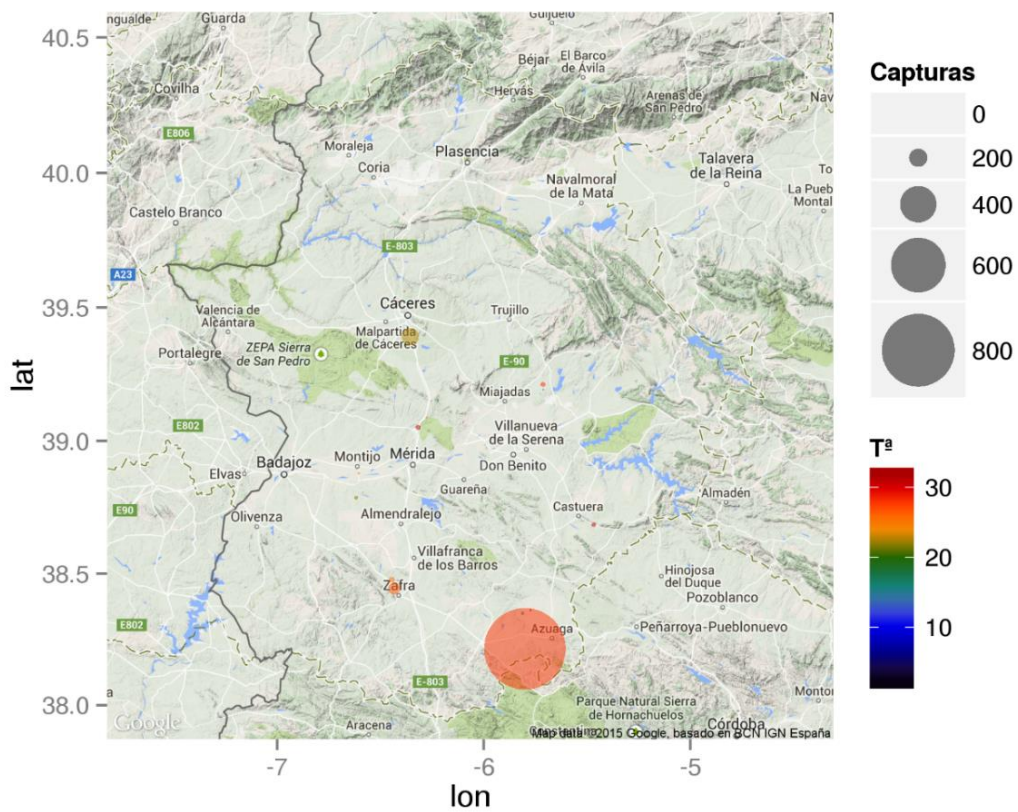


Figura 163. Distribución de capturas de la familia Muscidae según los diferentes puntos de muestreo y la temperatura media máxima.

4.1.2.3 Familia Anthomyiidae.

Temporalidad.

Al analizar su temporalidad, se puede ver que la primavera fue la época de mayores capturas, aunque se pudieron encontrar durante todos los meses del año (Figura 164).

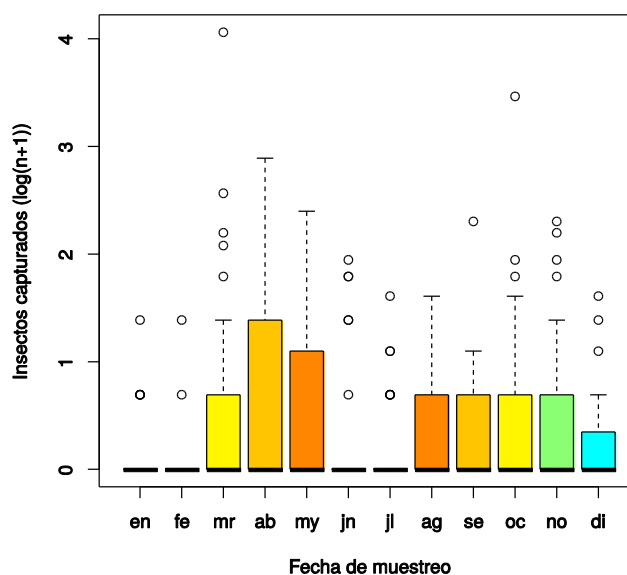


Figura 164. Distribución de capturas de la familia Anthomyiidae según el mes de estudio.

Temperatura y humedad relativa.

Esta familia no mostró variaciones en el número de capturas frente al rango de temperaturas estudiado, pudiendo estar relacionado con que la mayoría de ejemplares se encontraron durante la primavera y otoño, produciéndose de esta forma un descenso en el número de captura tanto en invierno como en verano, cuando las temperaturas son más extremas. Además, en esta familia se produjo un aumento en el número de capturas según aumenta la humedad relativa. Este hecho era un dato esperado, ya que, al desligar la influencia de la temperatura sobre este factor, está descrito que la tendencia de la mayoría de los dípteros es a aumentar según lo hace la humedad relativa ambiental (Figura 165).

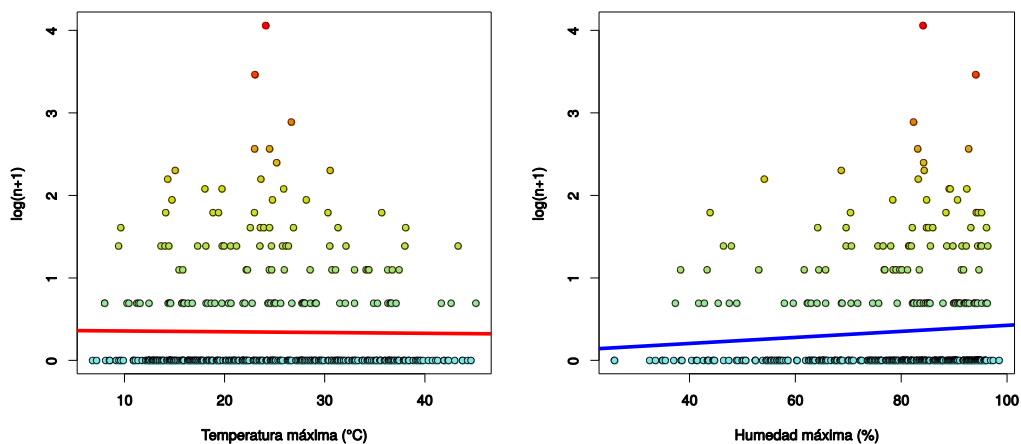


Figura 165. Distribución de capturas de la familia Anthomyiidae según la temperatura máxima y la humedad relativa máxima ambiental.

Distribución geográfica.

Al realizar el análisis de la distribución geográfica de esta familia por comarcas, se detectó que se registran un mayor número de capturas en las de “Vegas Altas” y “Zafra-Río Bodión”, aunque se registraron capturas en todos los puntos de muestreo (Figura 166). Como ya comentamos con anterioridad, las mayores capturas se produjeron con temperaturas templadas y frías (Figura 167).

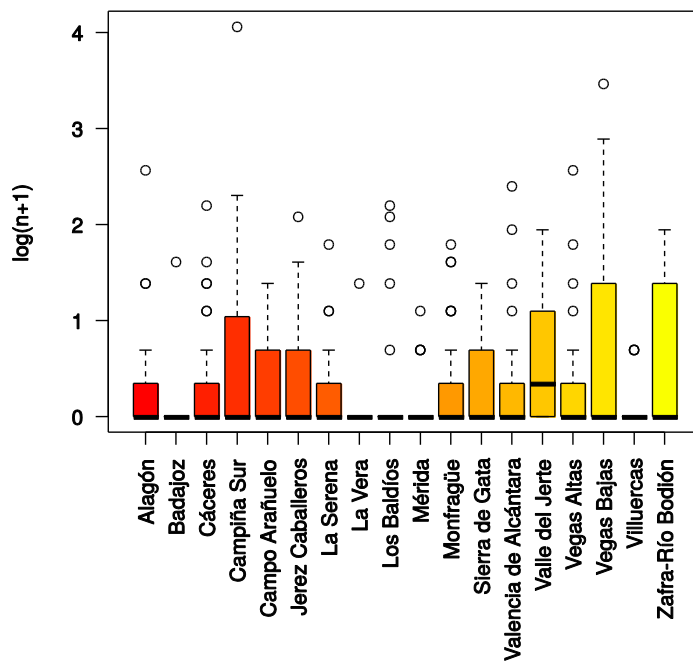


Figura 166. Distribución de capturas de la familia Anthomyiidae según la comarca de estudio.

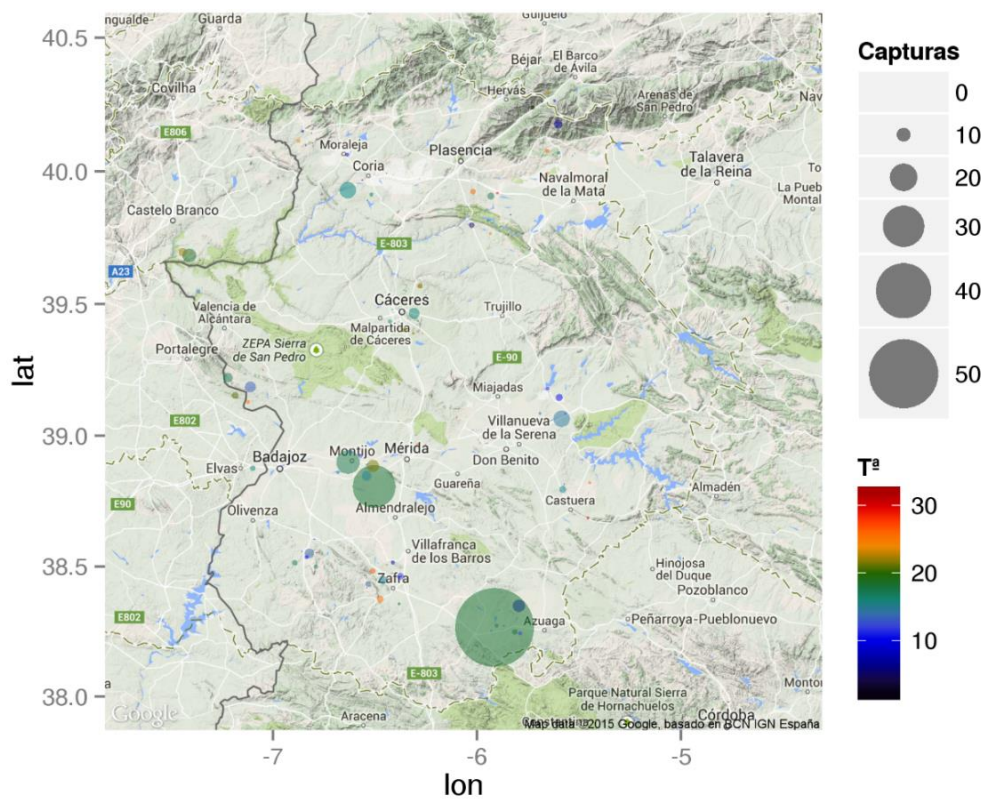


Figura 167. Distribución de capturas de la familia Anthomyiidae según los diferentes puntos de muestreo y la temperatura media máxima.

4.1.2.4 Familia Sarcophagidae.

Temporalidad.

Durante este estudio se han recogido un total de 240 ejemplares de esta familia. En cuanto a la distribución de capturas por meses, podemos ver que estuvo claramente localizada en los meses de veranos que son los de temperaturas más elevadas, indicando el carácter termófilo de esta familia de dípteros (Figura 168).

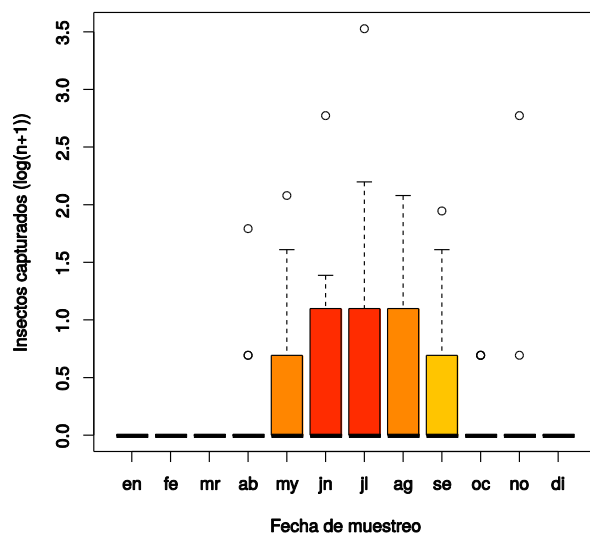


Figura 168. Distribución de capturas de la familia Sarcophagidae según el mes de estudio.

Temperatura y humedad relativa.

Como en la mayoría de las especies de dípteros capturados, la familia Sarcophagidae mostró una clara tendencia a aumentar con el aumento de la temperatura media ambiental y a disminuir con el aumento de la humedad relativa (Figura 169).

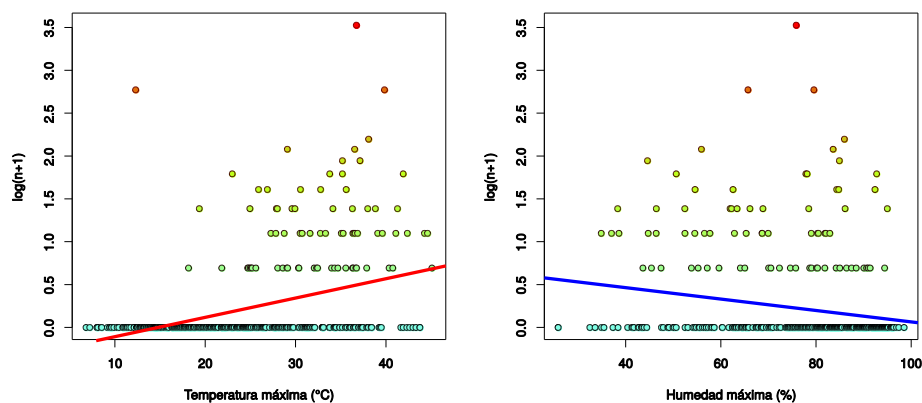


Figura 169. Distribución de capturas de la familia Sarcophagidae según la temperatura máxima y la humedad relativa máxima ambiental.

Distribución geográfica.

En relación a la distribución geográfica por las comarcas en las que se han realizado los muestreos, observamos que esta especie estuvo ampliamente distribuida por la mayoría de los puntos muestreados, siendo más frecuente en las comarcas de “Campiña Sur” y “Mérida” (Figura 170 y Figura 171).

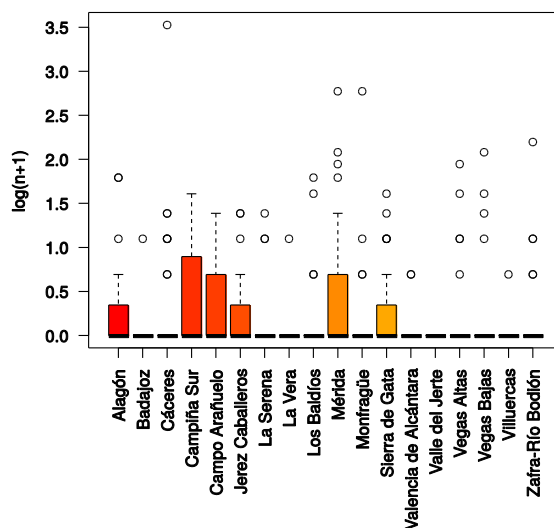


Figura 170. Distribución de capturas de la familia Sarcophagidae según la comarca de estudio.

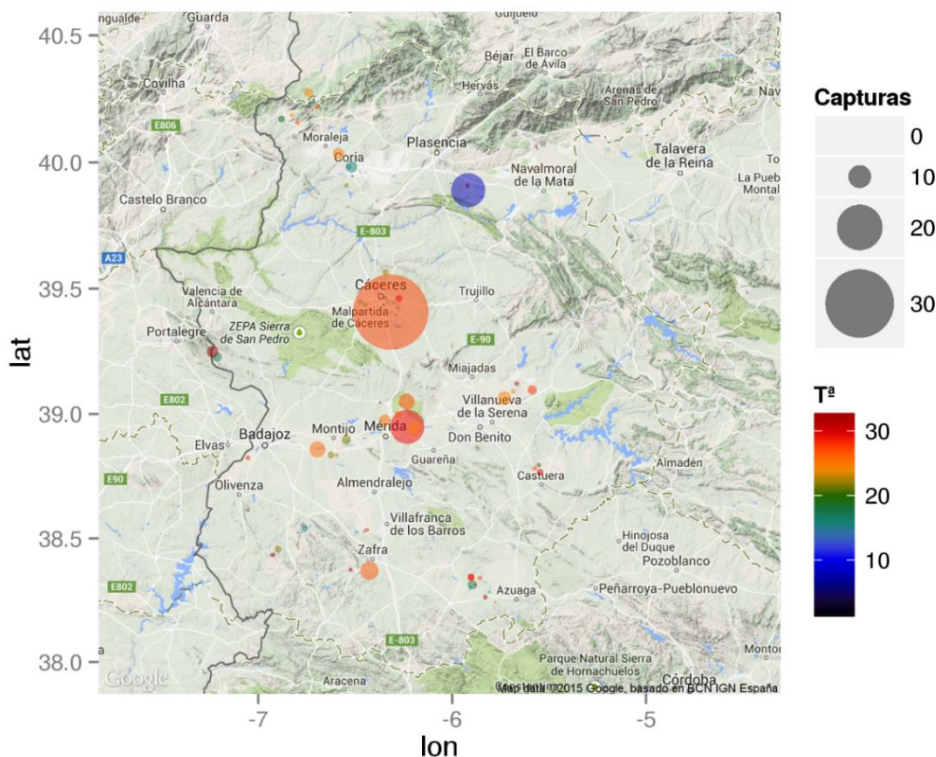


Figura 171. Distribución de capturas de la familia Sarcophagidae según los diferentes puntos de muestreo y la temperatura media máxima.

4.1.2.5 Familia Fanniidae.

Temporalidad.

Sus capturas estuvieron distribuidas en un gran número de meses del año, excepto durante los meses de otoño (Figura 172). No obstante, las mayores concentraciones de moscas de la familia Fanniidae se produjeron en primavera.

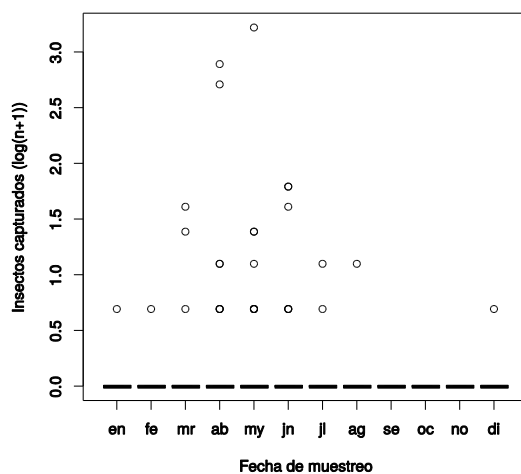


Figura 172. Distribución de capturas de la familia Fanniidae según el mes de estudio.

Temperatura y humedad relativa.

Podemos ver en la Figura 173 que esta familia mostró escasas diferencias en el rango de temperatura y humedad relativa estudiados, seguramente por los escasos ejemplares capturados y porque se capturaron en un amplio rango de temperatura y humedad relativa, sin producirse una tendencia clara.

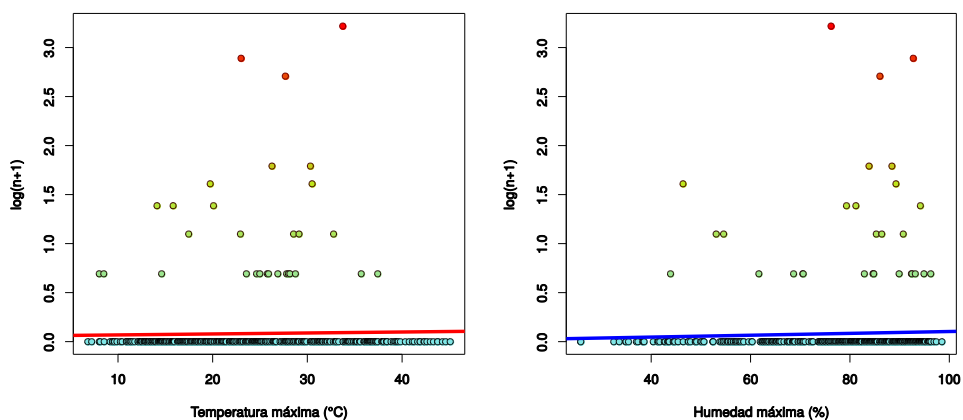


Figura 173. Distribución de capturas de la familia Fanniidae según la temperatura máxima y la humedad relativa máxima ambiental.

Distribución geográfica.

Se capturaron individuos por un gran número de comarcas, excepto las de “Badajoz”, “Jerez de los Caballeros” y “La Serena”, si bien siempre fueron ocasionales y en escaso número (Figura 174). La mayor parte de las capturas se producen con unas temperaturas templadas o moderadamente frías (Figura 175).

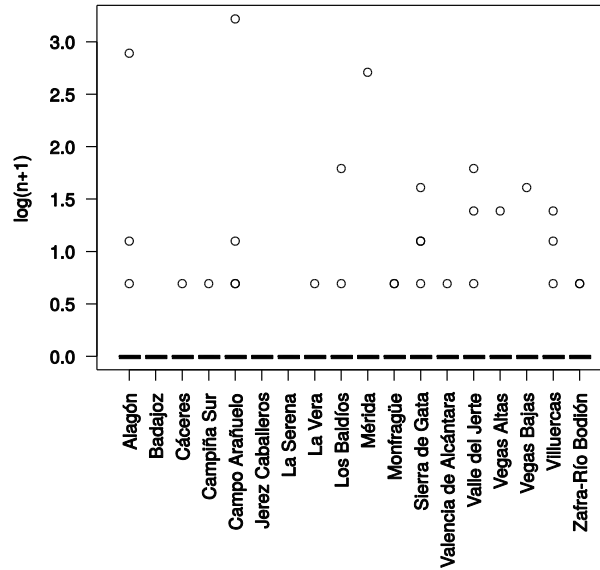


Figura 174. Distribución de capturas de la familia Fanniidae según la comarca de estudio.

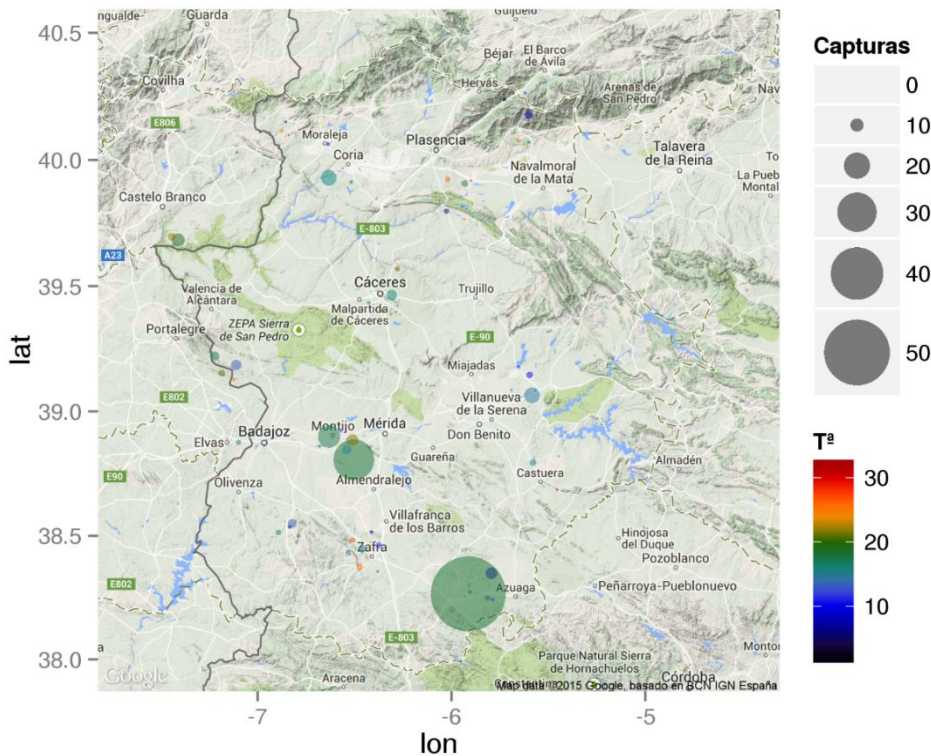


Figura 175. Distribución de capturas de la familia Fanniidae según los diferentes puntos de muestreo y la temperatura media máxima.

4.1.2.6 Familia Ulidiidae.

Temporalidad.

Un total de 94 ejemplares fueron capturados de la familia Ulidiidae. Analizando la temporalidad de capturas, podemos observar que la mayoría de estos casos se concentraron en los meses de primavera y verano y, por tanto, con temperaturas más cálidas (Figura 176).

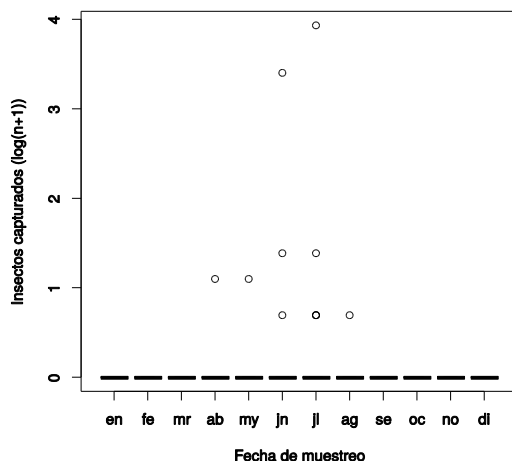


Figura 176. Distribución de capturas de la familia Ulidiidae según el mes de estudio.

Temperatura y humedad relativa.

Como podemos observar en la Figura 177, en esta familia evidenciamos una ligera tendencia a aumentar el número de capturas con el incremento de la temperatura y a disminuir con la elevación de la humedad relativa, como ya se ha descrito en una gran cantidad de dípteros analizados con anterioridad.

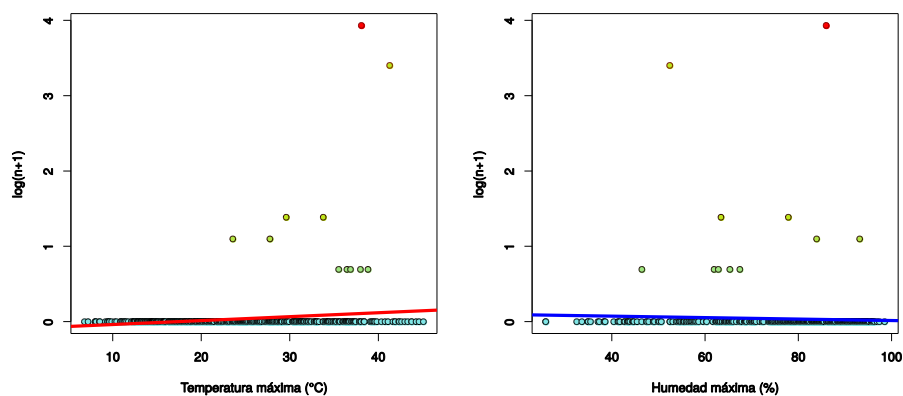


Figura 177. Distribución de capturas de la familia Ulidiidae según la temperatura máxima y la humedad relativa máxima ambiental.

Distribución geográfica.

Si analizamos la distribución geográfica de capturas en la Figura 178, podemos observar que en esta familia los casos se distribuyeron de manera irregular por las diferentes zonas de muestreo, siendo más frecuentes en las comarcas de “Cáceres” y “Zafra-Río Bodión”. Capturándose a temperaturas cálidas (Figura 179).

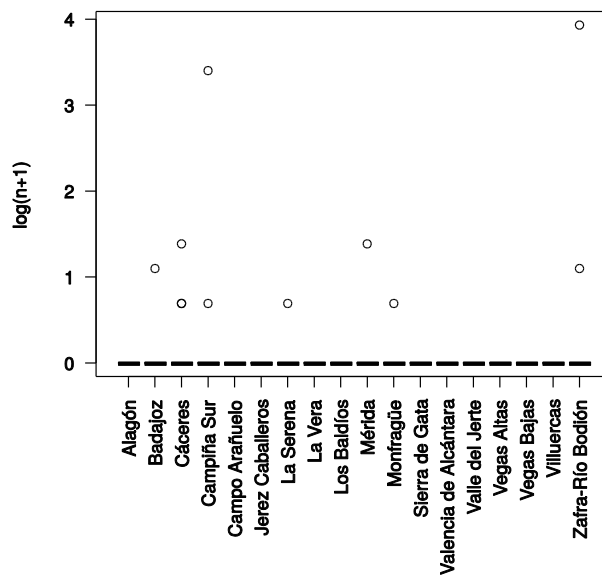


Figura 178. Distribución de capturas de la familia Ulidiidae según la comarca de estudio.

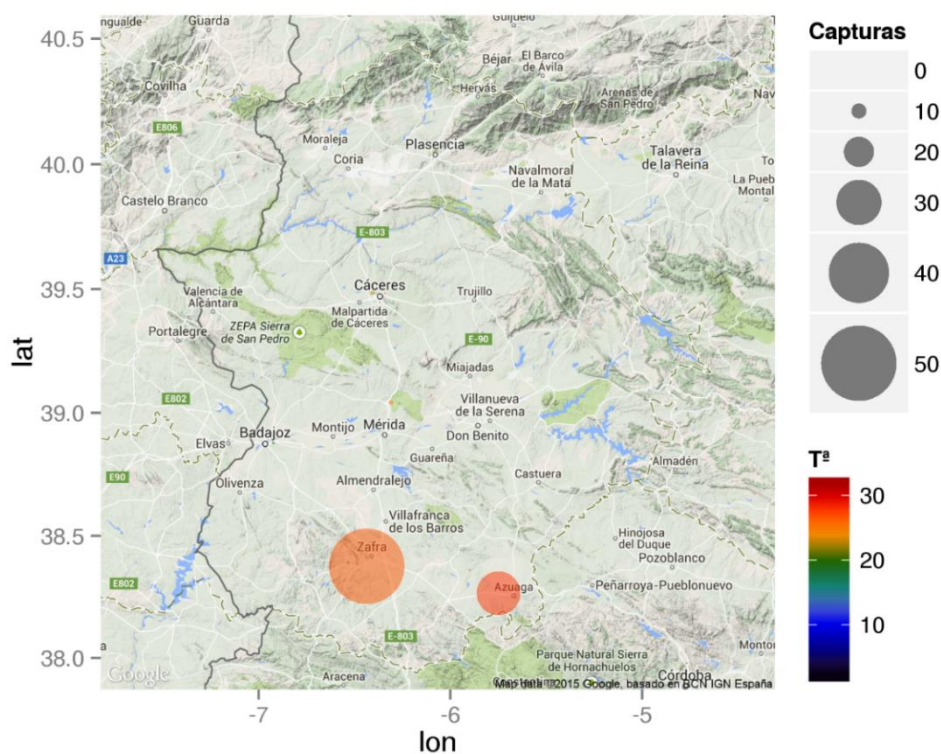


Figura 179. Distribución de capturas de la familia Ulidiidae según los diferentes puntos de muestreo y la temperatura media máxima.

4.1.2.7 Familia Scathophagidae.

Temporalidad.

Durante el estudio se identificaron un total de 79 ejemplares de la familia Scathophagidae. Como podemos ver en la Figura 180, en la que se analiza la distribución temporal, la captura de individuos de ésta se produjo en todos los meses del año, excepto enero y febrero.

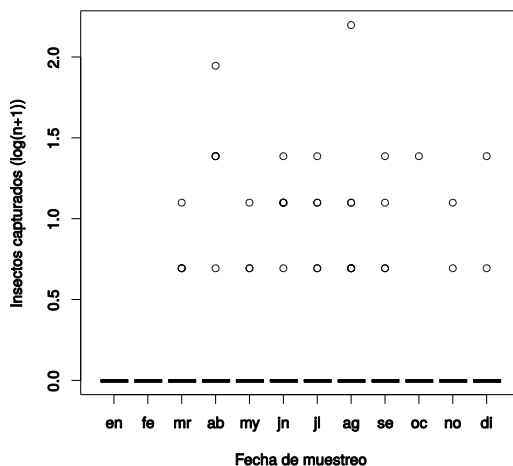


Figura 180. Distribución de capturas de la familia Scathophagidae según el mes de estudio.

Temperatura y humedad relativa.

Como podemos observar en la Figura 181, esta familia mostró una tendencia a aumentar el número de capturas con el incremento de la temperatura media ambiental y a disminuir con una mayor humedad relativa, mostrándose carácter termófilo.

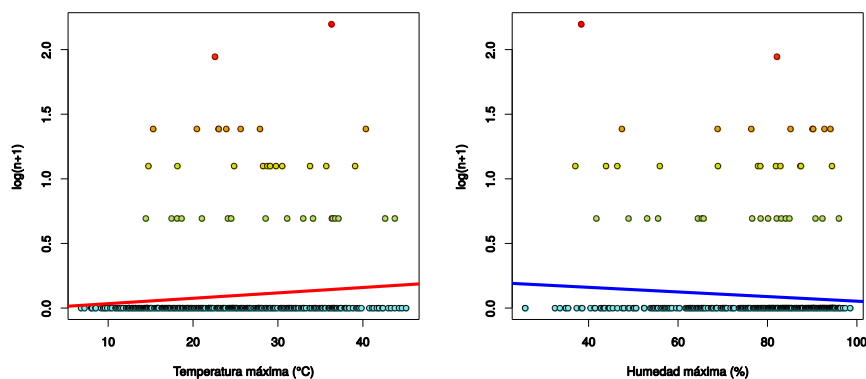


Figura 181. Distribución de capturas de la familia Scathophagidae según la temperatura máxima y la humedad relativa máxima ambiental.

Distribución geográfica.

Se capturaron ejemplares en casi todas las comarcas muestreadas, excepto en “Cáceres” y “La Vera” (Figura 182 y Figura 183)

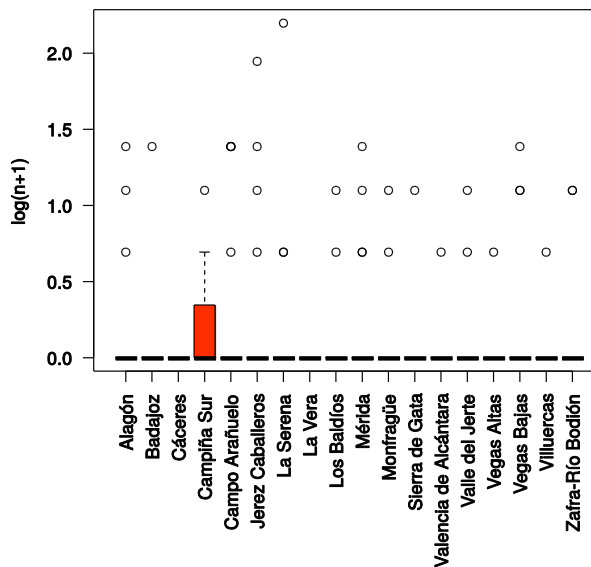


Figura 182. Distribución de capturas de la familia Scathophagidae según la comarca de estudio.

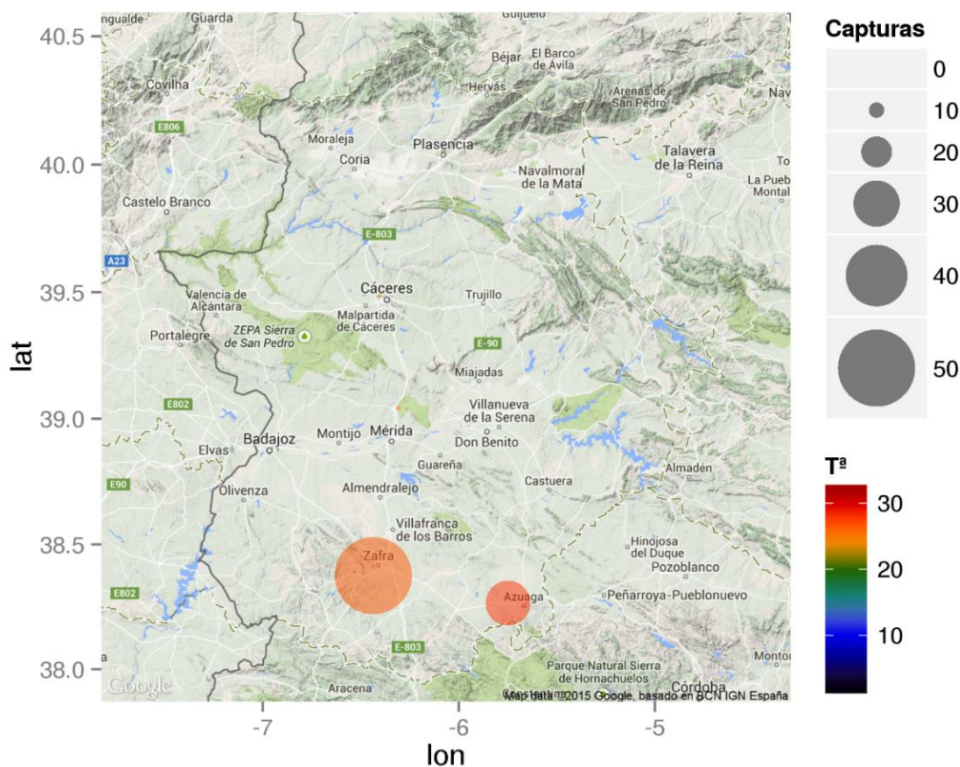


Figura 183. Distribución de capturas de la familia Scathophagidae según los diferentes puntos de muestreo y la temperatura media máxima.

4.2 Dípteros productores de miasis.

4.2.1 Temporalidad.

En el presente trabajo, se recolectaron larvas 3 (L3) de un total de 229 hospedadores diferentes en diferentes especies animales. Como ya indicamos, en el capítulo de material y métodos, la captura de larvas se realizó cuando se detectaban animales infestados en diferentes explotaciones de la Comunidad Autónoma de Extremadura, y, por tanto, el número de muestras resultó representativo de las épocas de mayor producción de miasis, sobre todo en los meses de verano (Figura 184).

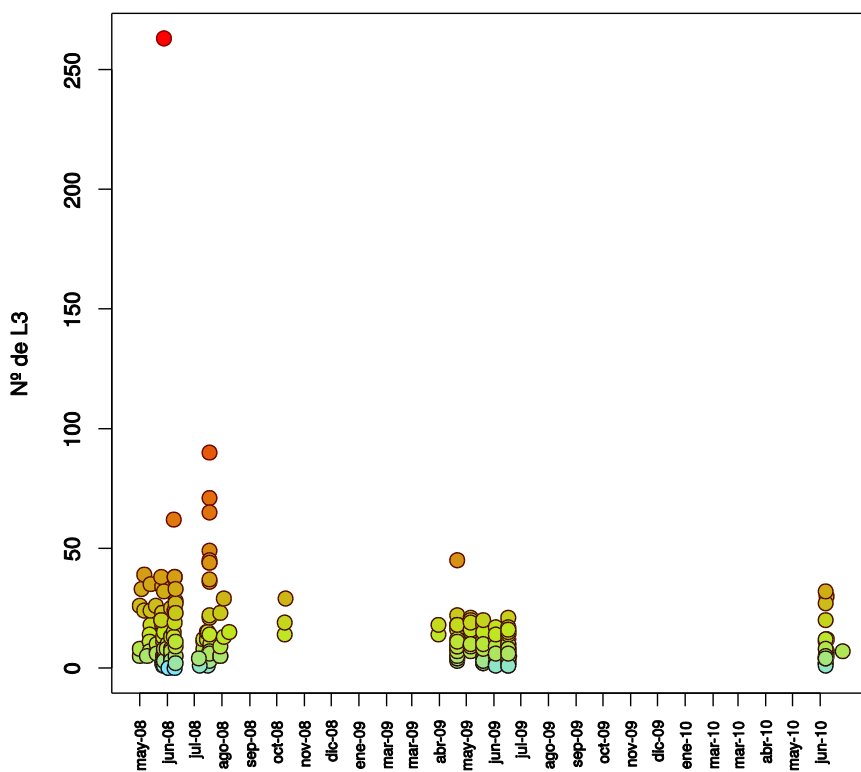


Figura 184. Distribución temporal de la recogida de muestras en función del número de L3.

4.2.2 Carga parasitaria y número de imagos obtenidos.

El número de larvas recogidas de cada foco miásico determinó la carga parasitaria, situándose la mediana de las larvas recogidas por animal en 10 L3 y la media en 14,9 L3. Además, si observamos la Figura 185, donde se expone la distribución de los casos en relación a la frecuencia, podemos ver que la mayoría de los casos se localizaron en el intervalo de menor carga parasitaria.

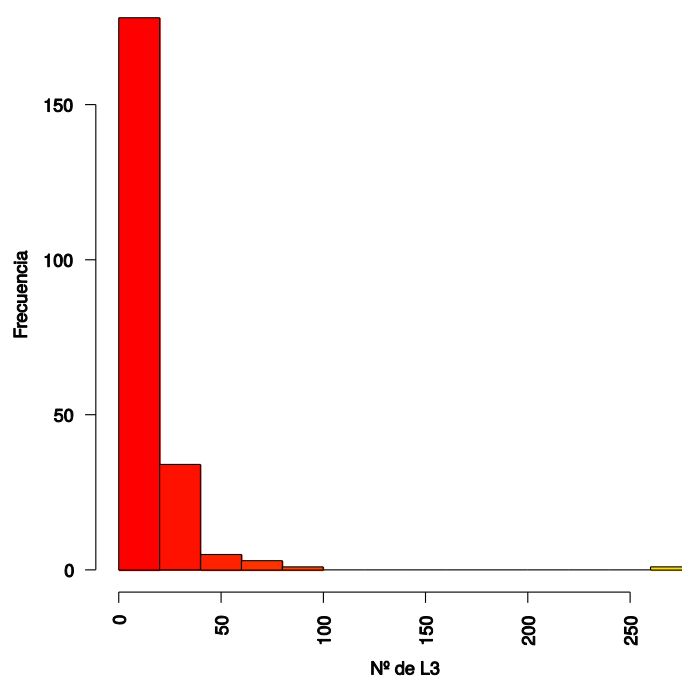


Figura 185. Frecuencia de los casos de miasis según su carga parasitaria.

Sin embargo, si observamos la Figura 186, que representa la frecuencia de casos en función del número de adultos que se han desarrollado en el laboratorio a partir de las L3 recogidas de los focos miásicos, se comprueba que la mediana se sitúa en 1,5 y la media en 3,12. La mayor cantidad de casos se localizaron en el intervalo de 1-5 imagos.

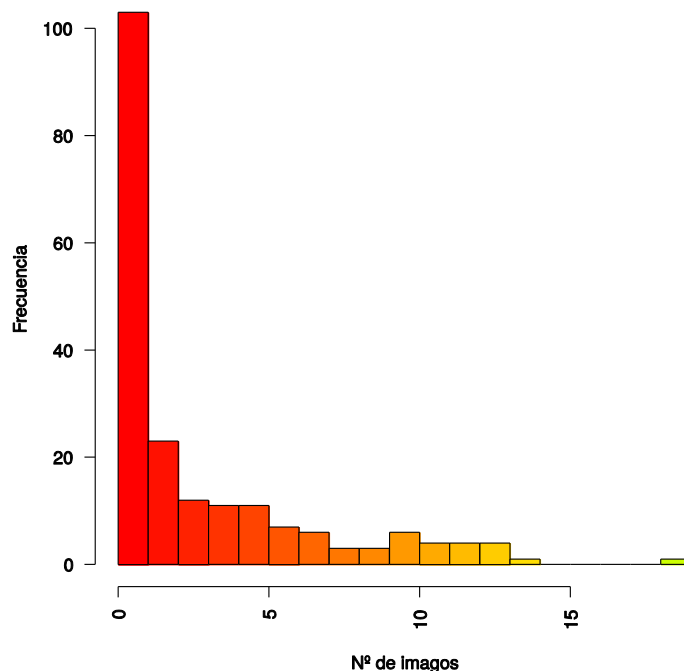


Figura 186. Frecuencia de casos producidos en función de los imagos eclosionados.

En relación a su distribución anual, como observamos en la Figura 187, año tras año la mediana en la recolección de las L3 por animal no varía en gran medida. Sí podemos afirmar, que el número de casos fue mayor durante el primer año, detectándose en éste, además, mayor número de miasis con un número de larvas más elevado. Sin embargo, fue en el año 2009 cuando el número de imagos que eclosionan a partir de las L3 fue mayor y en el año 2010 incluso no emergió ningún imago de las L3 procedentes de las miasis (Figura 188).

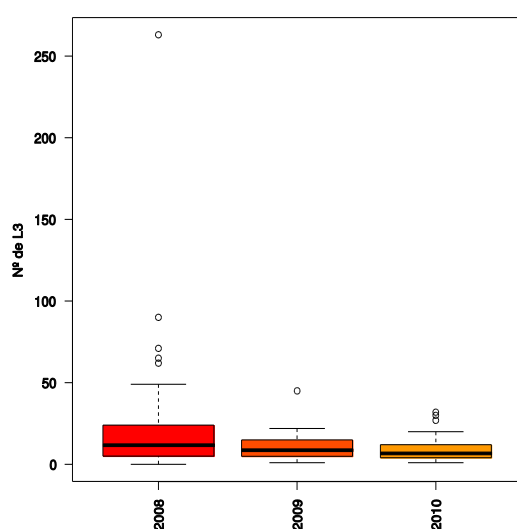


Figura 187. Evolución anual de las L3 recogidas.

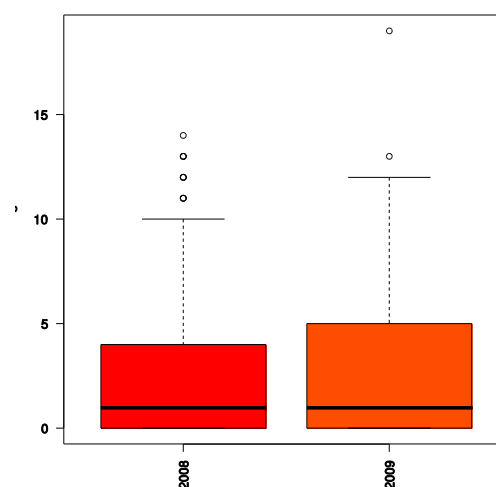


Figura 188. Evolución anual de los imagos eclosionados.

4.2.2.1 Número de casos según distribución geográfica.

En cuanto al análisis de la distribución geográfica de las miasis, debemos tener en cuenta que los resultados estuvieron condicionados por la disponibilidad de las explotaciones para permitir recoger las muestras y la colaboración de veterinarios en la recogida de las mismas. Estos datos quedan expuestos en la Tabla 13, en la que, observamos que las comarcas donde se recogieron un mayor número de casos son “Valencia de Alcántara” (88), “Cáceres” (61) y “Los Baldíos” (50).

Tabla 13. Número de muestreos realizados y carga parasitaria media en función de la distribución geográfica.

Comarca	Nº de hospedadores analizados.	Carga parasitaria media L3	Nº de medio de imagos obtenidos
Valencia de Alcántara	88	10,3	2,8
Cáceres	61	16	2,1
Los Baldíos	50	20,2	5,1
La Siberia	4	19,5	2
Campaña Sur	3	1	0
Jerez de los Caballeros	3	11,5	3,7
Mérida	3	30	4
Tentudía	3	5,5	3,6
Trujillo	3	22,7	0,3
Vegas Altas	3	13	1
Zafra	3	33	2
Alcántara	2	13,5	3
Badajoz	2	16	0,5
Salamanca	1	0	0
Total	229	14,86	3,06

Resultados

En la Figura 189 observamos que existieron grandes diferencias de carga parasitaria en función de la zona de recogida de la muestra, siendo la comarca de “Zafra” donde se obtiene una carga parasitaria mayor (33), si bien es cierto, que en la mayoría de las comarcas el número de muestras es escaso, por lo que puede estar influenciadas por los valores extremos.

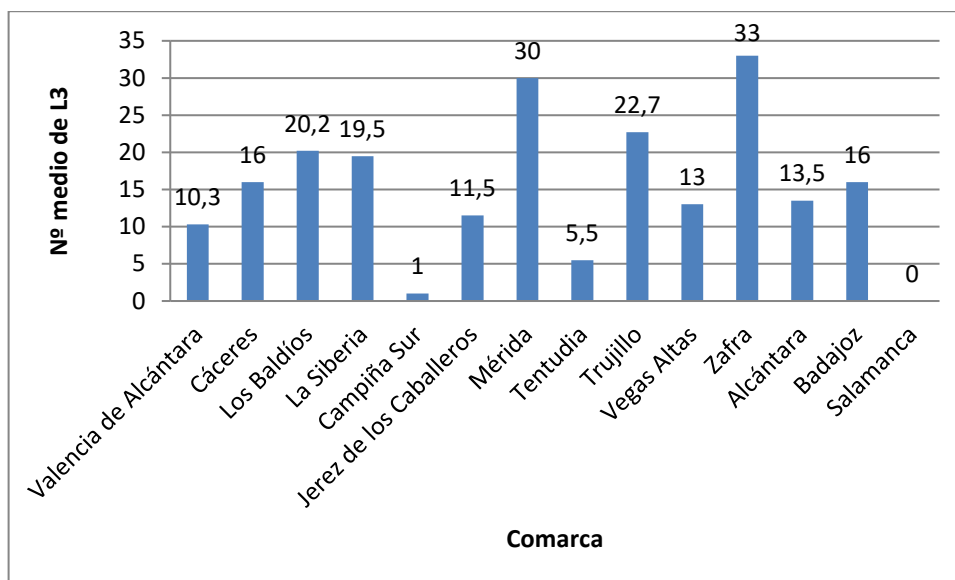


Figura 189. Distribución de la carga parasitaria (L3) según comarca de estudio.

Analizando esta carga parasitaria por comarcas mediante un “box-plot”, se comprueba que fueron “Trujillo”, “Mérida” y “Los Baldíos”, las que presentaban un mayor número de larvas por hospedador, mientras que en el lado opuesto son las comarcas de “Tentudía”, “Vegas Altas” y “Valencia de Alcántara” las que tenían animales miásicos con menor número de L3 (Figura 190).

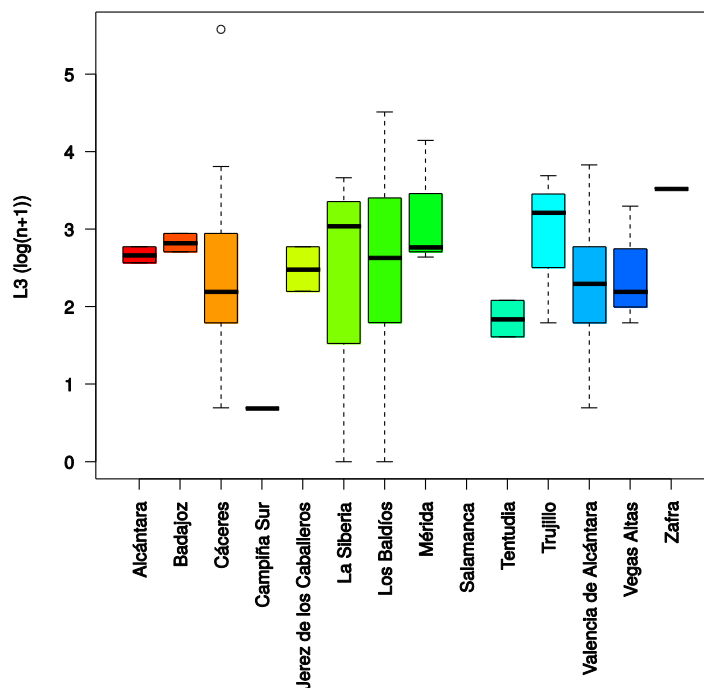


Figura 190. Análisis de la carga parasitaria (L3) según comarca de estudio mediante box-plot.

En el análisis del número de adultos que consiguen emerger de las L3 según las comarcas, se observa que no hay diferencias claras entre ellas, aunque sí se puede ver que la de mayor media se produjo en "Los Baldíos", coincidiendo también con una donde mayor número de L3 se recogieron (Figura 191).

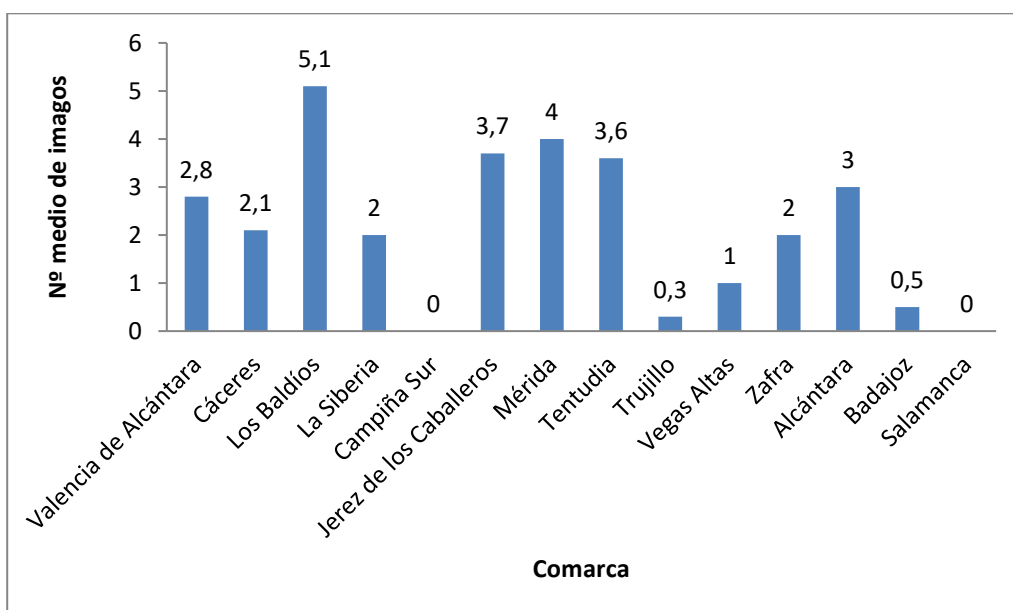


Figura 191. Número medio de imagos eclosionados de las L3 recogidas por foco miásico, según la comarca de procedencia.

4.2.2.2 Número de larvas e imagos según hospedador.

Como se observa en la Tabla 14, la mayoría de los casos recogidos se produjeron en oveja (n=165; 72,05 %), seguida de la vaca (n=45; 19,65 %), recogándose en el resto de especies en un número tangiblemente menor.

Tabla 14. Número de muestreos realizados y carga parasitaria media en función del hospedador.

Hospedador	Nº casos	% de casos respecto al total	Nº medio de L3	Nº medio de Imagos
Oveja	165	72,05 %	14,1	3,4
Vaca	45	19,65 %	11,3	1,5
Perro	9	4 %	51,3	6,7
Cerdo	6	2,6 %	12,8	3,6
Jabalí	3	1,3 %	20,7	2,3
Caballo	1	0,4 %	26	0

En la Figura 192, se representa la distribución de los casos muestreados en relación al hospedador y la carga parasitaria (L3). El hospedador que mayor carga parasitaria obtuvo fue el perro (51,3 L3), aunque debemos tener en cuenta que esta especie se encontró influenciada por un caso extremo de 263 L3. La siguiente especie fue el caballo (26 L3), aunque de esta especie solo se ha recogido una miasis, por lo que podemos considerarlo circunstancial. Si analizamos los dos hospedadores con un mayor número de casos, observamos que la oveja (14,1 L3) tuvo una carga parasitaria media ligeramente superior a la del ganado vacuno (11,3 L3).

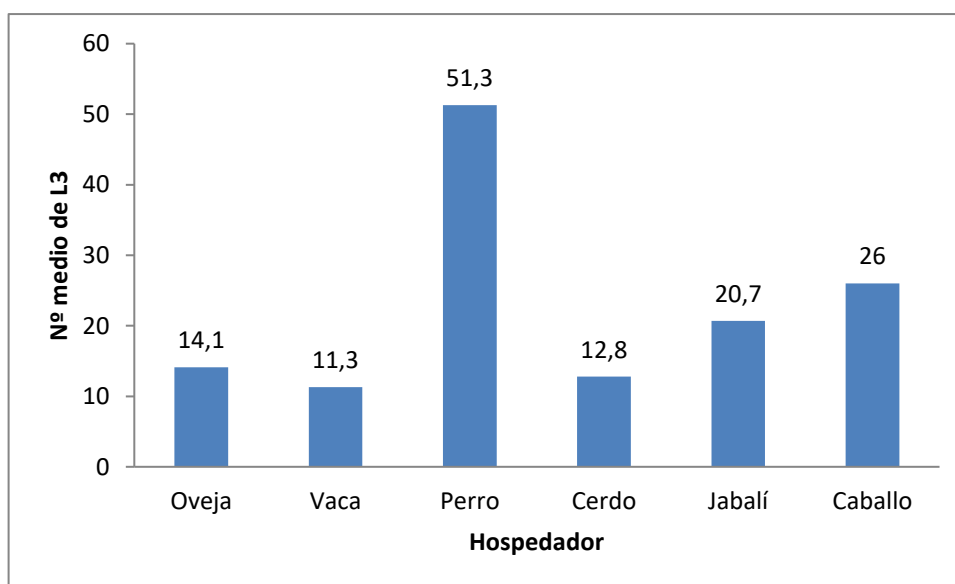


Figura 192. Carga parasitaria media (L3) según hospedador.

Como vemos en la Figura 193 en el caso de los imagos, la distribución fue muy similar al de las L3, siendo la oveja el hospedador más frecuente y, por tanto, del que se obtuvo mayor número de imagos, situándose también el perro entre los casos con mayor número de imagos (6,7 imagos) aunque como indicábamos influenciado por un caso extremo.

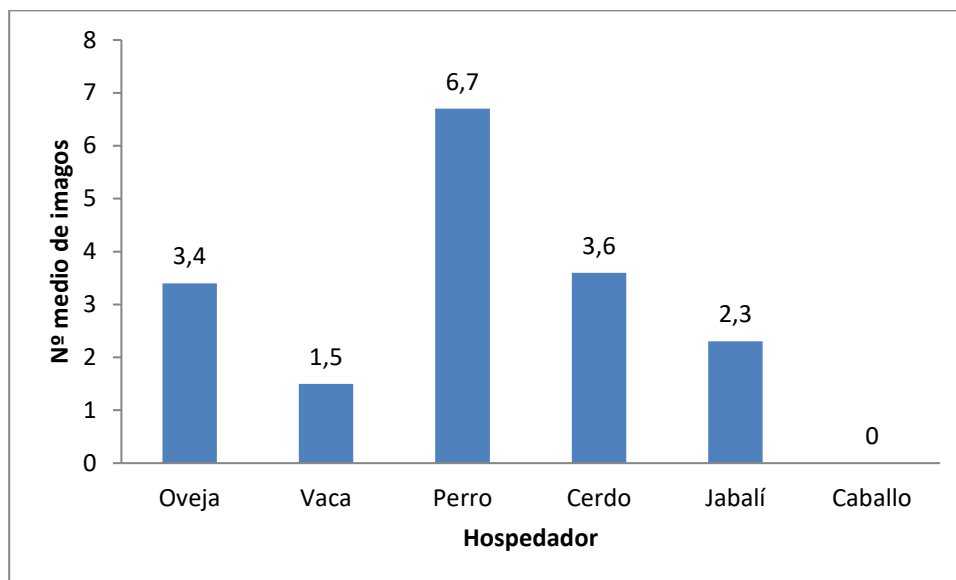


Figura 193. Media de imagos eclosionados según hospedador.

En la Figura 194, mediante un “Box-plot”, determinamos la variabilidad que existió dentro de la carga parasitaria en las diferentes especies de hospedador. Como ya indicábamos, el hospedador con una carga parasitaria media más elevada fue el perro (condicionado por un caso muy extremo en el número de L3), seguido del caballo (del que solo existe un caso), posteriormente el jabalí y después la oveja, la vaca y el cerdo con cargas parasitarias muy similares. Es llamativo el amplio intervalo de confianza que tuvieron la oveja y la vaca, debido al mayor número de casos que tienen respecto al resto, y por tanto, con una mayor diversidad de cargas parasitarias.

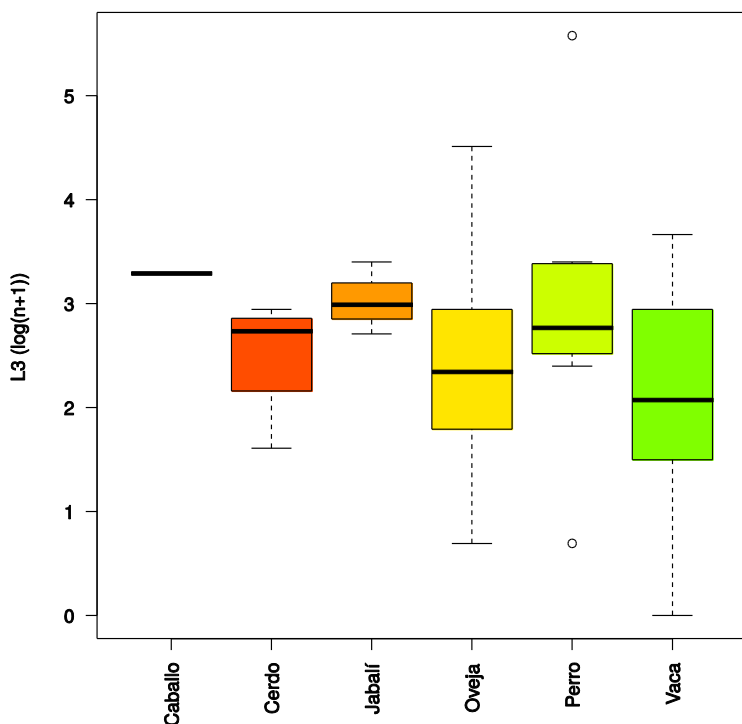


Figura 194. Análisis mediante “box-plot” de la carga parasitaria según el hospedador.

4.2.2.3 Número de larvas por edad y especie de hospedador.

Si relacionamos la edad y el número de L3 por especies, la única en la que existió un agrupamiento de los casos por la edad, fue la oveja, dándose el mayor número de miasis alrededor de las 75 semanas en un amplio rango de cargas parasitarias, mientras que en ovejas más jóvenes el rango de carga de estas afectaciones fue menor (Figura 195).

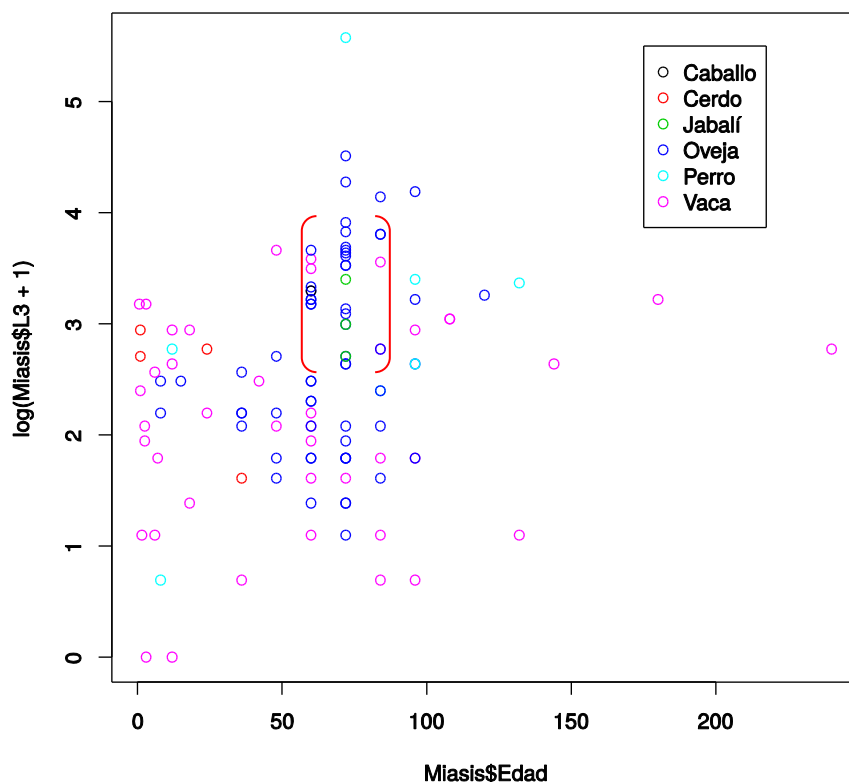


Figura 195. Análisis de la carga parasitaria (en logaritmo) en función de la especie y la edad (en semanas) del hospedador (marcado entre corchetes el acúmulo de casos que se produce alrededor de la semana 75 de vida).

4.2.2.4 Carga parasitaria según número de focos larvarios y sexo del hospedador.

Del total de miasis muestreadas, 223 casos se obtuvieron de animales con solo una miasis, mientras que 12 muestras fueron tomadas de animales con dos miasis (es decir, de 6 animales con dos miasis cada uno) lo que hace un total de 235 focos miásicos analizados. Como se observa en la Figura 196, parece evidente que, en los animales con dos focos larvarios, el número total de larvas recolectadas por animal fue superior que en los animales con un solo foco larvario. No obstante, estos resultados no fueron estadísticamente significativos según el análisis U de ManWitney ($p=0,3665$).

Resultados

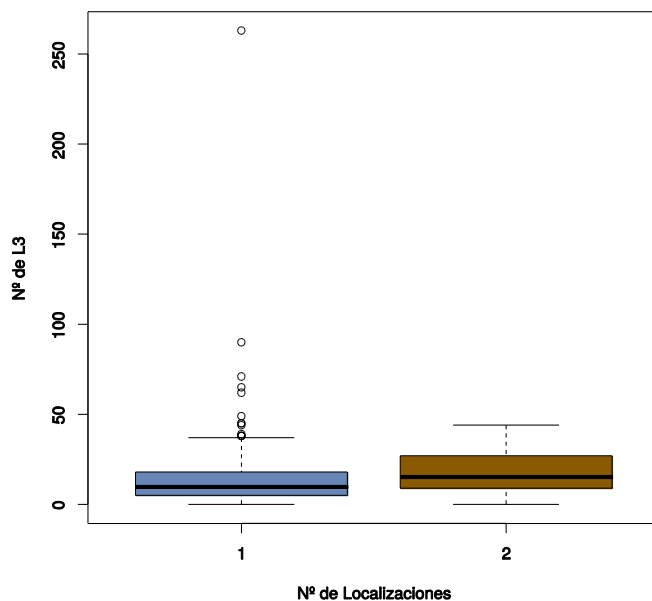


Figura 196. Análisis mediante Box-plot de la influencia de la carga parasitaria (L3) según el número de focos miásicos dentro de un mismo animal.

Si analizamos la carga parasitaria dependiendo del sexo del hospedador, se pudo comprobar que existió una diferencia perceptible entre las miasis en machos y en hembras (Figura 197). Tanto la mediana (13 L3) como la media (22,28 L3) fue mayor en los animales machos que en las hembras (10 y 13,45 L3, respectivamente). Estos resultados no fueron estadísticamente significativos ($p=0,1559$).

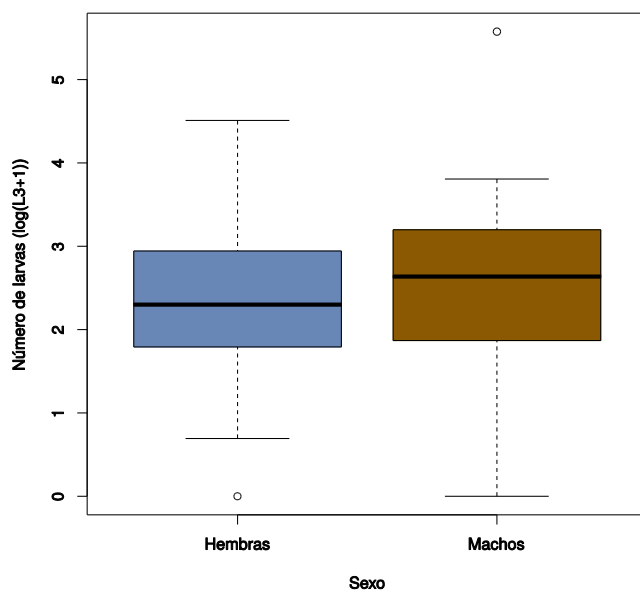


Figura 197. Análisis mediante Box-plot de la influencia de la carga parasitaria (L3 en logaritmo) según el sexo.

4.2.3 Agente productor de miasis.

Uno de los objetivos fundamentales de esta parte del trabajo, fue determinar qué agentes etiológicos fueron los principales responsables del desarrollo de miasis en el ganado en Extremadura. Para ello, como ya se describió en material y métodos, se recogieron larvas de las heridas en distintas especies animales y se procedió a su desarrollo hasta la forma adulta en el laboratorio. Los resultados de estos análisis mostraron que la especie de mosca más frecuente fue *Wohlfahrtia magnifica* representando el 97,13 % del total de imagos desarrollados, seguida de *Lucilia sericata*, con el 2,29 %, *Chrysomya albiceps* con el 0,29 % y dípteros de la familia Muscidae, con el 0,29 %. Del total de focos miásicos analizados, se comprobó que prácticamente la totalidad de ellos, excepto una miasis de un cánido, estaban provocados por larvas de mosca de una sola especie. En el caso del perro con infestación mixta, estaba provocada por larvas de *W. magnifica* conjuntamente con larvas de *L. sericata*. Esta infestación mixta supuso el 0,09 % del total de miasis y el 11,11 % de las miasis diagnosticadas en perro. En este caso se detecta el número más elevado de L3 del estudio (263 L3), encontrándose el hospedador en un mal estado sanitario.

4.2.4 Viabilidad de las larvas obtenidas.

Se recogieron un total de 3300 L3 de los diferentes focos miásicos en todas las especies analizadas. De ellas, un total de 1617 pupas pudieron desarrollarse en el laboratorio en condiciones controladas (49 % de las L3). Finalmente, se pudieron identificar 698 imagos que eclosionaron de las mencionadas pupas (21,15 % de las L3 y el 43,17 % de las pupas). Estos resultados los podemos ver esquemáticamente en la Figura 198.



Figura 198. Esquema de la viabilidad larvaria encontrada durante nuestro estudio.

4.2.5 Influencia de las zonas de cultivo.

Durante el presente estudio, se recogieron datos de diferentes factores epidemiológicos que podrían estar relacionados con la producción de miasis en las explotaciones, tales como el tipo de cultivo, alimentación, presencia de especies animales, etc. Al analizar si podría existir una influencia del tipo de cultivo (secano/regadío) en la presencia de miasis en el ganado, se observó que existe una carga parasitaria media superior, tanto de L3 (Figura 199) como de los imagos desarrollados (Figura 200) en los animales de las zonas de regadío (28,6 L3; 11 imagos) respecto a los de secano (14,38 L3; 2,88 imagos). Resultando la diferencia entre los grupos de animales de estos dos tipos de cultivo estadísticamente significativa ($p=0.003689$).

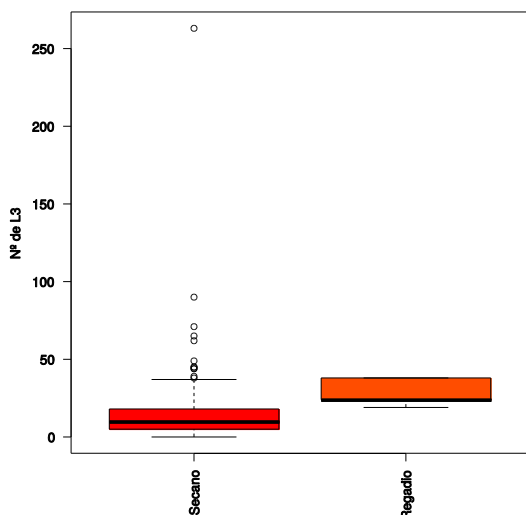


Figura 199. Análisis mediante Box-plot de la carga parasitaria de L3 en función del tipo de cultivo (secano/regadío).

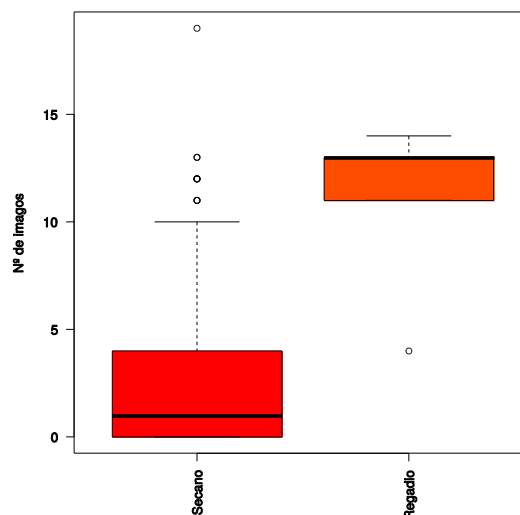


Figura 200. Análisis mediante Box-plot de los imagos eclosionados en función del tipo de cultivo (secano/regadío).

4.2.6 Localización anatómica de las miasis.

Uno de los puntos más importantes en cuanto al desarrollo de las miasis, es conocer la región corporal por la que tienen mayor apetencia las moscas productoras de las mismas. En la Tabla 15 se muestran los resultados de las localizaciones corporales más afectadas por las miasis recogidas en nuestro estudio. De forma general, se pudieron encontrar focos miásicos en cualquier región corporal. No obstante, y como se observa en dicha tabla, fue la región genital donde mayor número de lesiones se han observado. En concreto, la vulva fue, con una gran diferencia respecto al resto, la zona con mayor porcentaje de miasis encontradas (67,66 %), seguida del prepucio (6,81 %) y la zona perineal (5,96 %). En menor medida, se encuentra la zona del ano (4,26 %), las pezuñas (3,4 %), oreja y ubres (2,13 %) y finalmente otras localizaciones con menor presencia de miasis (rabo, patas, costado, etc.).

Tabla 15. Distribución de los casos de miasis según región corporal del hospedador.

Región corporal	Número de miasis muestreadas	Porcentaje (%)
Vulva	159	67,66
Prepucio	16	6,81
Región Perineal	14	5,96
Ano	10	4,26
Pezuña	8	3,4
Oreja	5	2,13
Ubre	5	2,13
Pata	4	1,7
Rabo	4	1,7
Costado	3	1,28
Cuerno	2	0,85
Boca	2	0,85
Lacrimonal	2	0,85
Cadera	1	0,43
Total	235	100,00

4.2.7 Carga parasitaria según zona corporal.

4.2.7.1 Vulva.

En este estudio, se ha analizado la carga parasitaria de las regiones corporales donde se han encontrado el mayor número de miasis. En concreto, los muestreos en vulva, con una media de 13,92 L3 por hospedador, mostraron una distribución tendente a la normalidad, de tal forma que, como se observa en la Figura 201, la mayoría de los casos presentan cargas parasitarias moderadas y muy pocos focos presentan cargas parasitarias extremas.

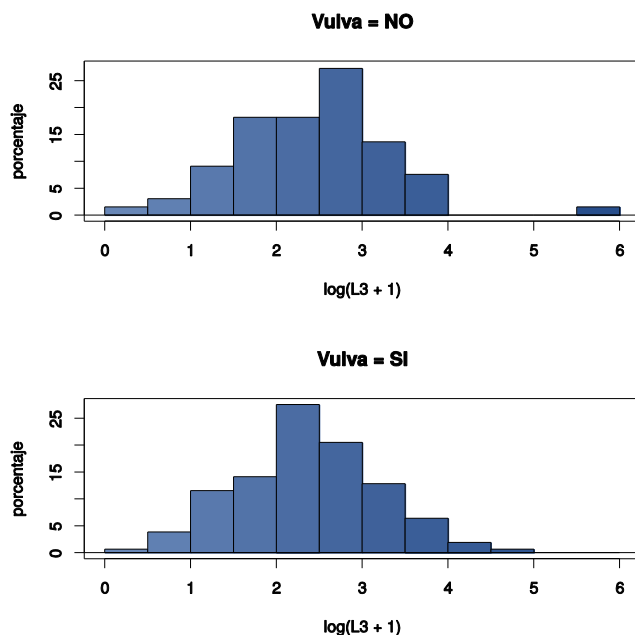


Figura 201. Distribución de la carga parasitaria de los casos de miasis localizadas en la vulva y en otras regiones corporales.

4.2.7.2 Prepucio.

Si analizamos las muestras recogidas en prepucio, la carga media de L3 por hospedador fue de 15,43. Al igual que ocurría con la región vulvar, parece que la mayoría de los casos encontrados presentaron cargas parasitarias medias, no habiendo ningún muestreo con carga parasitaria extrema (Figura 202).

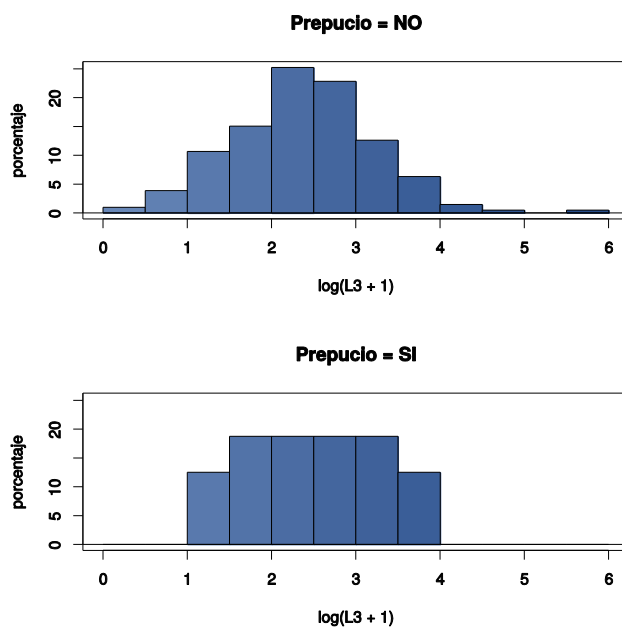


Figura 202. Distribución de la carga parasitaria de los casos de miasis localizadas en el prepucio y en otras regiones corporales.

4.2.7.3 Zona perineal.

Al analizar la carga parasitaria registrada en las miasis localizadas en la zona perineal, se obtiene que el número medio de L3 por hospedador fue de 19,35. Según se observa en la Figura 203, parece que esta región corporal tendió a tener cargas parasitarias más elevadas que las otras zonas analizadas.

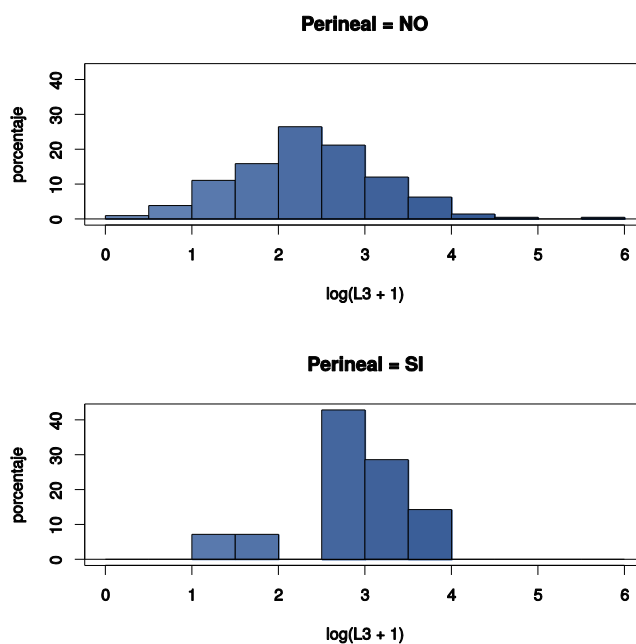


Figura 203. Distribución de la carga parasitaria de los casos de miasis localizadas en la zona perineal y localizados en otras regiones corporales.

4.3 Miasis experimental en ovinos.

4.3.1 Cantidad de larvas.

Como ya se comentó en material y métodos, se procedió a realizar una infección experimental con distintas dosis de L1 de *Protophormia terraenovae* en un rebaño de ovejas de raza merina, manteniendo un lote como control. La carga parasitaria media estimada inicialmente en la lesión fue entre moderada y elevada en los lotes 1 y 2 (Figura 204), con una media de 2,2 y 2,6, respectivamente, en una escala arbitraria de 0 (ausencia de larvas) a 4 (muy elevada). En los lotes control (3 y 3b) como era de esperar, no se encontró larva alguna. Analizando la evolución en el tiempo, en general hubo un marcado descenso hasta su desaparición entre los 2–14 d.p.i. (día post-inoculación) en ambos grupos, aunque al cuarto d.p.i., la carga estimada fue mayor (media de 3,1) en el lote 1. El lote 2 mantuvo inicialmente una carga ligeramente superior a éste, pero la situación se invirtió, aunque con escasa diferencia, entre los días 4 y 9 p.i (post-inoculación).

De este modo, en el lote 1, sometido a un inóculo menor, la estimación media durante los días de estudio fue de 1,42, mientras en el lote 2, que recibió una dosis larvaria mayor, la media sólo fue de 1,00. Sin embargo, estas diferencias no fueron globalmente significativas mediante el test de suma de rangos de Wilcoxon ($p=0,185$). Sólo en el 4º d.p.i la diferencia fue significativa entre los lotes infestados ($p=0,017$), así como entre estos lotes y el lote 3b al 2 d.p.i ($p=0,016$) y al 4 d.p.i ($p<0,001$).

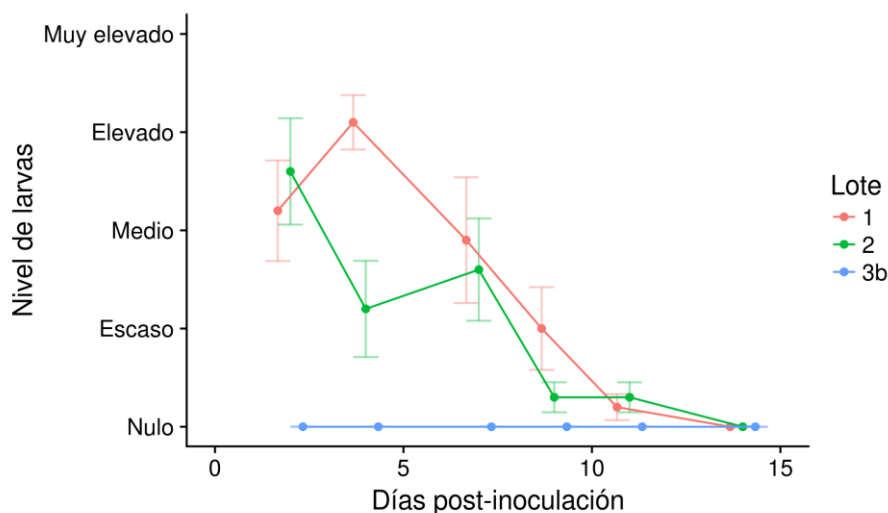


Figura 204. Cantidad de larvas estimada en la herida en una escala arbitraria (0-4) por lotes y d.p.i (días post-inoculación). Las medias se representan con un ligero desplazamiento horizontal para evitar la superposición de las barras de error, que representan el error estándar de la media. El lote 3 no se muestra dado que no existe lesión alguna.

4.3.2 Resultados hematológicos.

4.3.2.1 Glóbulos rojos.

La evolución de la concentración de eritrocitos en sangre se muestra en la Figura 205.

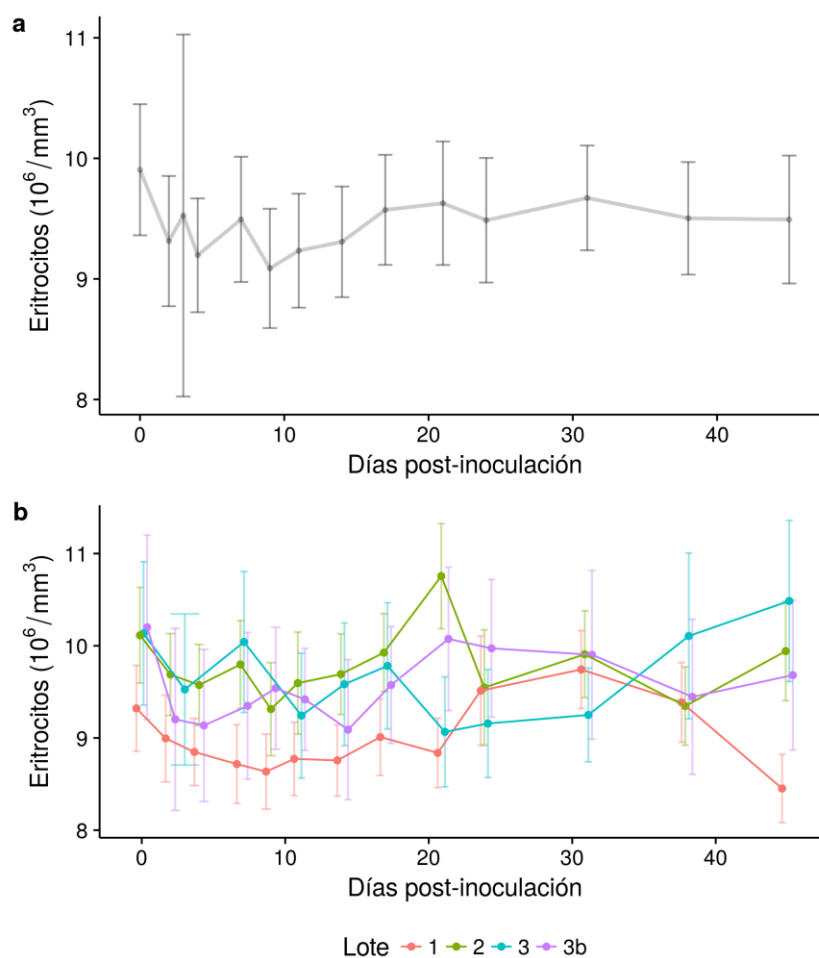


Figura 205. Evolución de la concentración de eritrocitos en sangre durante el periodo experimental (a) Media e intervalo de confianza al 95 % de todos los ovinos. (b) Media y error estándar por lote.

El promedio de eritrocitos de todos los animales durante el estudio se situó en $9,47 \times 10^3/\text{mm}^3$, con escasas fluctuaciones a lo largo del tiempo. Por grupos, este valor promedio fue de 9,00, 9,58, 9,61 y $9,78 \times 10^3/\text{mm}^3$, respectivamente en los lotes 1, 2, 3 y 3b.

En conjunto, los recuentos del lote 1 solo fueron significativamente inferiores a los del lote 2 ($p < 0,0001$). Las diferencias en las tres primeras semanas y al 45 d.p.i son similares a las del día 0 d.p.i, no siendo significativas en ningún día en particular.

4.3.2.2 Hemoglobina.

La concentración de hemoglobina en sangre (Figura 206) en todos lotes del estudio fue de 9,24 g/dl, sin más fluctuación que un ligero descenso en las dos primeras semanas.

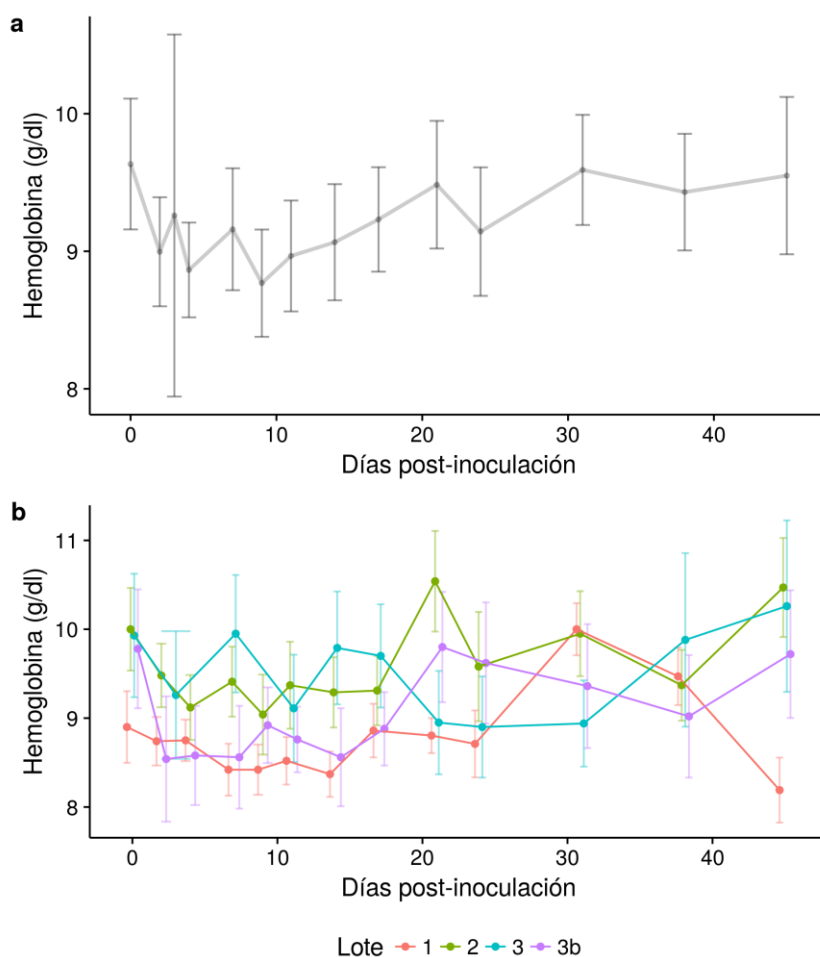


Figura 206. Evolución de la concentración de hemoglobina durante el periodo experimental (a) Media e intervalo de confianza al 95 % de todos los ovinos. (b) Media y error estándar por lote.

Por grupos, mediante el test de la suma de rangos de Wilcoxon y con valores de p ajustados por el método de Bejamini y Hochberg, la Hb en el lote 1, con una media de 8,78 g/dl, fue significativamente inferior ($p < 0,001$) a la del lote 2 (media = 9,61 g/dl) a lo largo del estudio y en menor medida ($p < 0,05$), ambos lotes se diferencian significativamente del lote 3b (media 9,08 g/dl), así como el lote 2 con el lote 3 (media de 9,46 g/dl).

Analizando la evolución por grupos, se aprecia que, en todos los lotes, excepto el lote 3 (control sin herida), la ligera disminución de la Hb antes mencionada,

respecto al día 0, se mantuvo hasta el 17 d.p.i (lotes 2 y 3b) o hasta el 24 d.p.i (lote 1), pero las diferencias solo llegaron a ser dignas de consideración puntualmente entre el lote 1 y 2, concretamente al 21 d.p.i ($p=0,024$) y 45 d.p.i ($p=0,0168$).

4.3.2.3 VCM.

El volumen corpuscular medio (VCM) en el conjunto de todos los lotes alcanzó un valor medio de $31,81 \mu\text{m}^3$ (fl), con escasas fluctuaciones (Figura 207), siendo bastante similar al observado en los lotes 1, 2, 3 y 3b (respectivamente, $31,96$, $31,94$, $31,80$ y $31,26 \mu\text{m}^3$). Aunque en este último, los valores fueron generalmente los más bajos, en ningún caso las diferencias entre lotes fueron significativas.

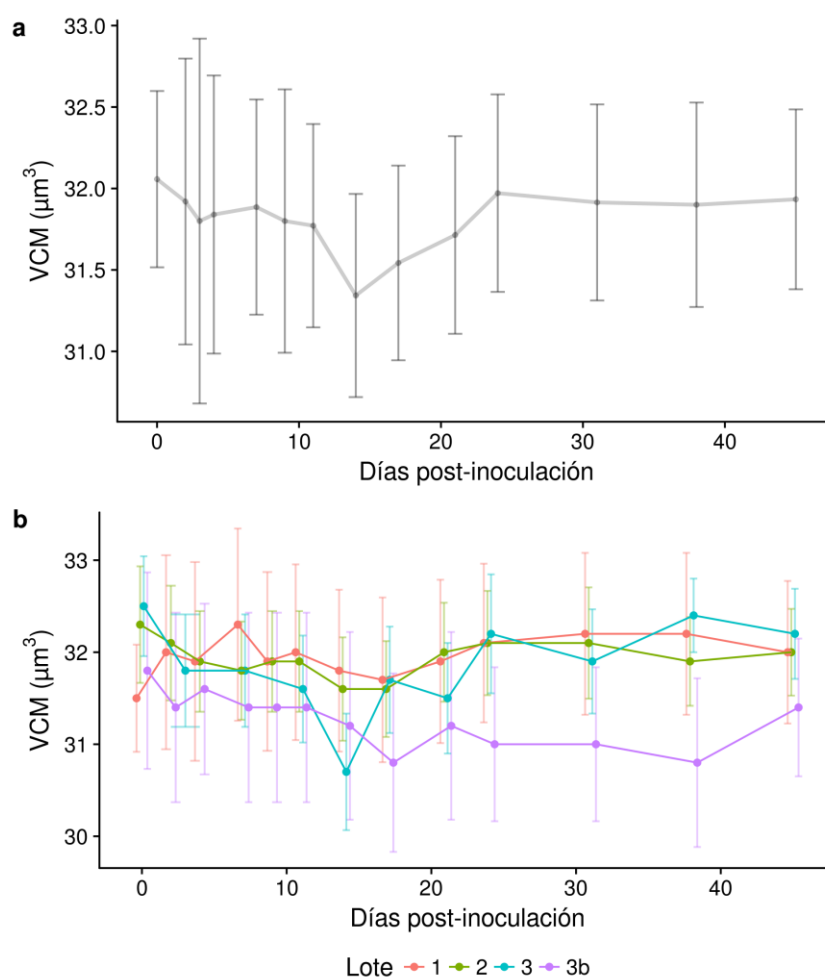


Figura 207. Evolución del VCM durante el periodo experimental (a) Media e intervalo de confianza al 95 % en todos los ovinos. (b) Media y error estándar por lote.

4.3.2.4 HCM.

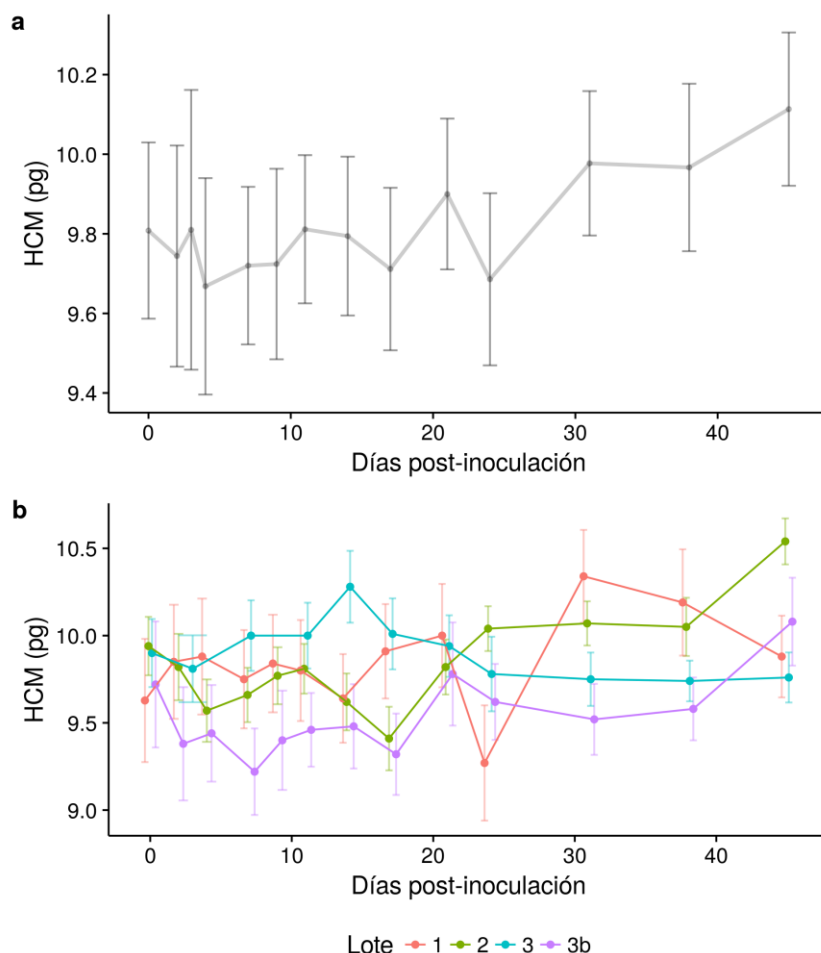


Figura 208. Evolución del HCM durante el periodo experimental (a) Media e intervalo de confianza al 95 % en todos los ovinos. (b) Media y error estándar por lote.

La hemoglobina corpuscular media (HCM) en los lotes del estudio (Figura 208) alcanzó un valor medio de 9,81 pg. Si lo analizamos por grupos, podemos ver que el lote 1 tenía una media de 9,84 pg, el lote 2 una media de 9,85 pg, el lote 3 de 9,92 pg y el lote 3b de 9,54 pg. Este último mostró la diferencia más clara respecto a los lotes 2 y 3 ($p < 0,001$) pero fueron significativas todas las diferencias entre los grupos ($p < 0,05$), excepto entre el lote 2 y 3.

En cuanto a su evolución, en los cuatro grupos se aprecia una similar tendencia al aumento de los valores medios, de modo que las diferencias no fueron significativas, excepto al final (45 d.p.i) entre los lotes 1 y 2, así como entre los lotes 2 y 3 ($p = 0,0268$).

4.3.2.5 CHCM.

El promedio total de la concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM o CCMH) en los lotes del estudio fue del 30,89 %. Por grupos, (Figura 209) observamos que las medias en los lotes 1,2,3 y 3b fueron respectivamente 30,77 %, 30,93 %, 31,23 % y 30,52 %, existiendo una diferencia significativa sólo entre los dos últimos ($p=0,0013$).

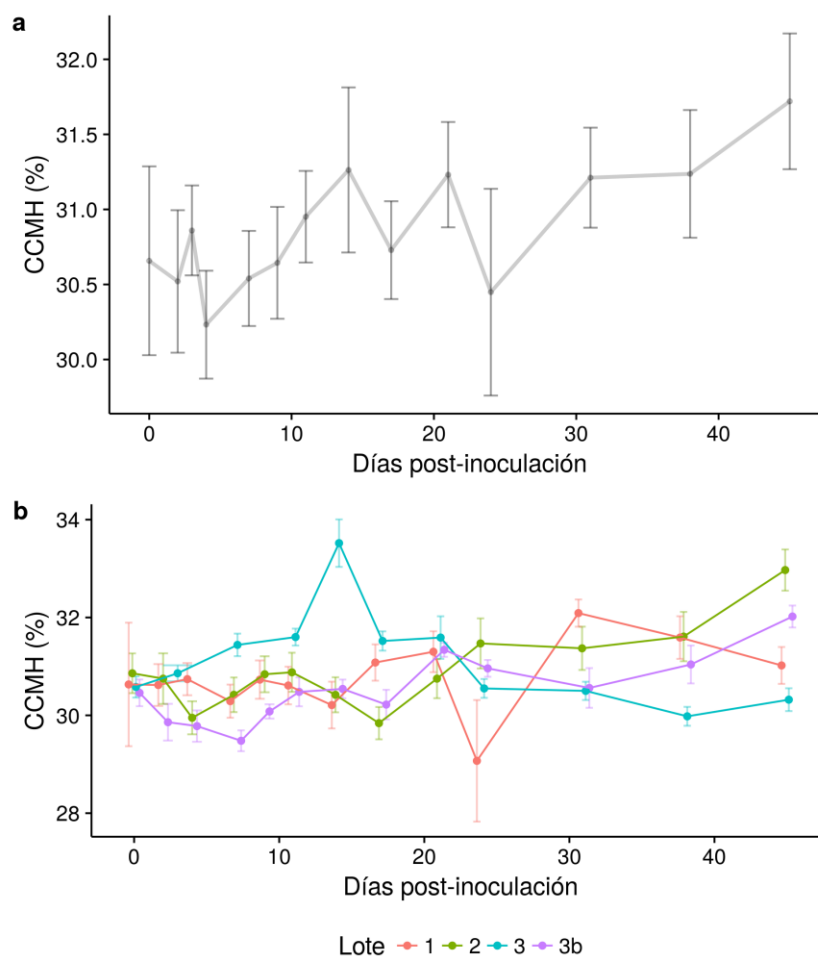


Figura 209. Evolución del CHCM durante el periodo experimental (a) Media e intervalo de confianza al 95 % en todos los ovinos. (b) Media y error estándar por lote.

Analizándolo temporalmente, se aprecia que los valores medios en el 0 d.p.i fueron muy similares y muestran una tendencia ligeramente ascendente con fluctuaciones, salvo en el grupo 3. Al 14 d.p.i se produce un pico aislado en los valores del lote 3, de modo que se diferenció claramente del resto ($p<0,01$), mientras al 24 d.p.i no se encontraron diferencias significativas a pesar de un brusco descenso en el lote 1. Menos evidentes, las diferencias por días en las sumas de rangos fueron también puntualmente significativas entre los lotes 3 y 3b al 7 d.p.i ($p=0,0160$), entre los lotes 1 y 2 ($p=0,0460$) y los lotes 2 y 3 ($p=0,0059$) al 17 d.p.i.

Resultados

Al 31 d.p.i, el lote 1 muestra una diferencia con ambos grupos controles ($p=0,0075$ y $p=0,0301$, respectivamente). Sin embargo, al final de la experiencia (45 d.p.i), las diferencias volvieron a estar entre los lotes 1 y 2, 2 y 3 ($p= 0,0171$), así como entre los lotes control ($p=0,0233$), aunque ya en sentido contrario a la inicial.

4.3.2.6 Leucocitos.

Respecto a la concentración de leucocitos en sangre (Figura 210), encontramos un promedio de $6,13 \times 10^3/\text{mm}^3$ en el conjunto de los animales. Los valores medios en los lotes 1, 2, 3 y 3b fueron respectivamente de $6,41 \times 10^3/\text{mm}^3$, $5,91 \times 10^3/\text{mm}^3$, $6,30 \times 10^3/\text{mm}^3$ y $5,73 \times 10^3/\text{mm}^3$.

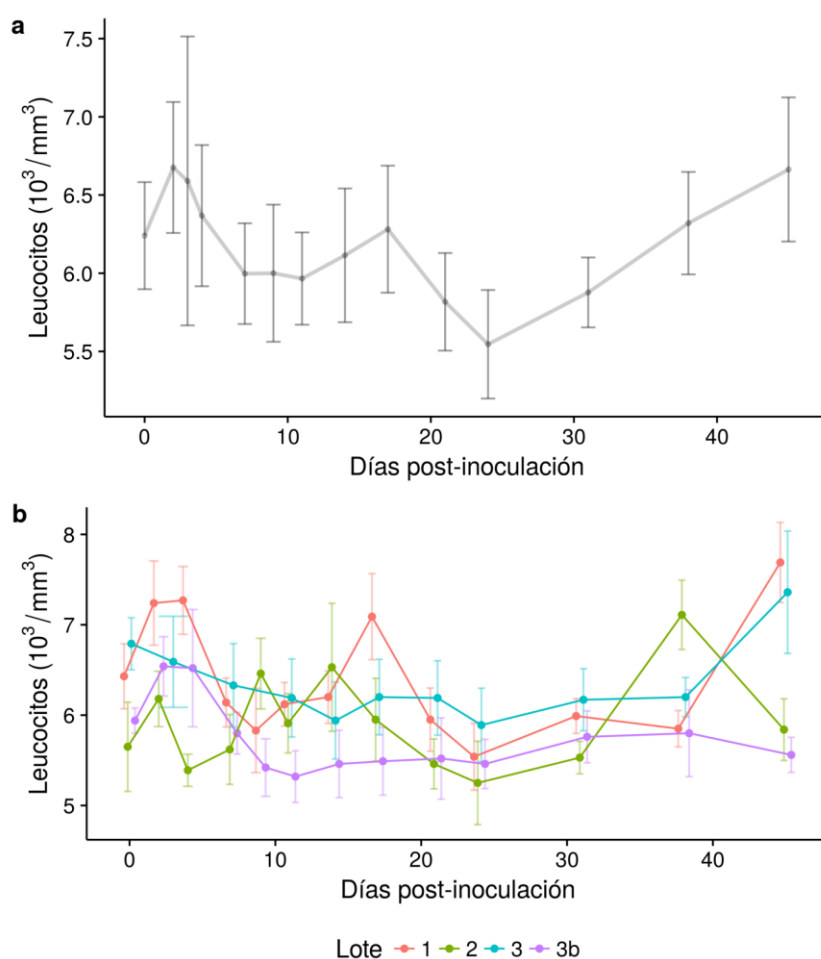


Figura 210. Evolución de la concentración de leucocitos durante el periodo experimental (a) Media e intervalo de confianza al 95 % en todos los ovinos. (b) Media y error estándar por lote.

Aunque los valores medios fueron bastantes similares, el análisis no paramétrico arrojó diferencias significativas entre los lotes 1 con el lote 2 ($p=0,0042$) y 3b ($p=0,0010$), pero también entre ambos controles ($p=0,0112$).

El análisis temporal nos muestra que, en todos los grupos, excepto en el lote 3, se produjo aumento inicial de la concentración de leucocitos, así como picos posteriores excepto el lote 3b. Sin embargo, a través del análisis no paramétrico sólo resultó significativa la diferencia entre los lotes 1 y 2 a los 4 y 45 d.p.i (p=0,0022 y p=0,0344, respectivamente).

4.3.2.7 Neutrófilos.

El porcentaje de polimorfonucleares (PMN) neutrófilos medio (Figura 211), en los lotes del estudio es de 57,58 %. Los porcentajes en los lotes 1, 2, 3 y 3b fueron respectivamente 56,24 %, 59,63 %, 56,75 % y 57,48 %.

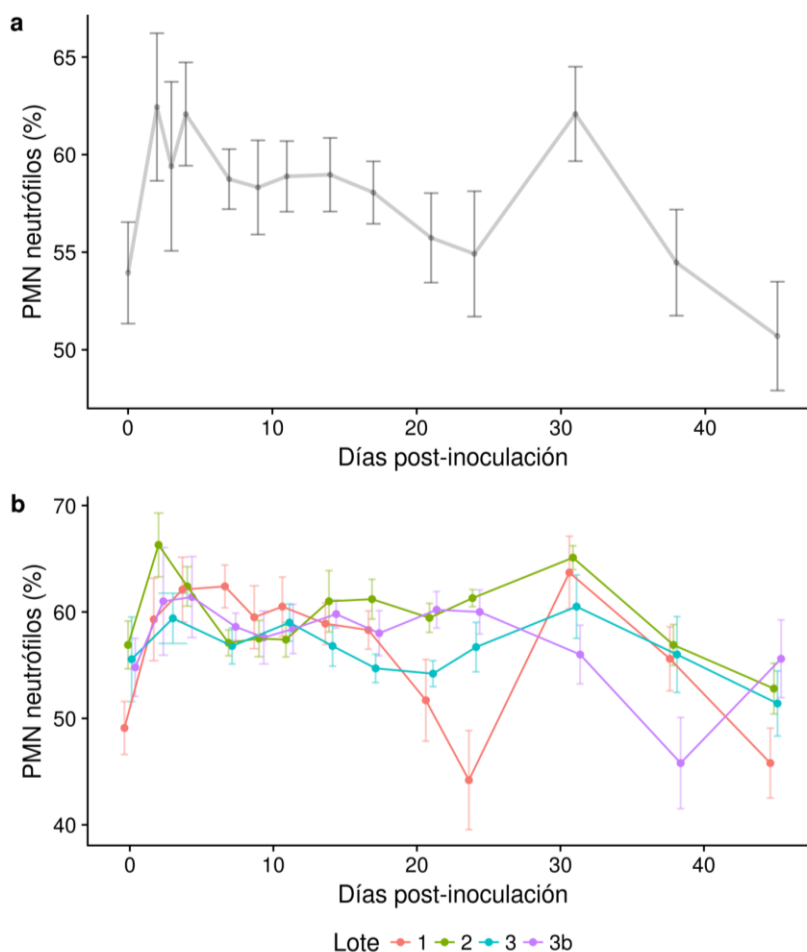


Figura 211. Evolución del porcentaje de polimorfonucleares neutrófilos en sangre durante el periodo experimental (a) Media e intervalo de confianza al 95 % en todos los ovinos. (b) Media y error estándar por lote.

Resultados

Solo se encontró una diferencia significativa entre el lote 2 y 3 ($p=0,0115$) en los recuentos totales. En cambio, por día de estudio, se aprecia un ascenso inicial significativo al 2 y 4 d.p.i ($p=0,01$) y un descenso final, sólo comparable a los valores del 0 y 38 d.p.i. Sin embargo, estas fluctuaciones de los valores no son achacables al distinto tratamiento de los lotes, ya que sólo se encontró cierta significación ente lotes 1 y 2 el 24 d.p.i ($p=0,0234$) por un descenso puntual de los valores en el lote 1.

4.3.2.8 Basófilos.

El promedio total de PMN basófilos medio en el estudio fue del 0,20 %. En general, no se observaron estas células o los recuentos medios por grupo y día fueron claramente inferiores a este promedio en todo el periodo experimental (Figura 212), pero el recuento medio del lote 1 fue del 0,52 %, debido a recuentos anormalmente altos los 14, 17 y 21 d.p.i, significativamente diferentes de los observados en el resto de los lotes ($p<0,05$). En el lote 2 la media fue del 0,05 % a lo largo del estudio, similar a la del lote 3b (0,06 %) y el lote 3 (0,09 %) algo más elevado, ya que alcanzaba un promedio del 1,2 % al 45 d.p.i, aunque sin suficiente significación respecto a los otros grupos ($p=0,055$ en el mejor de los casos)

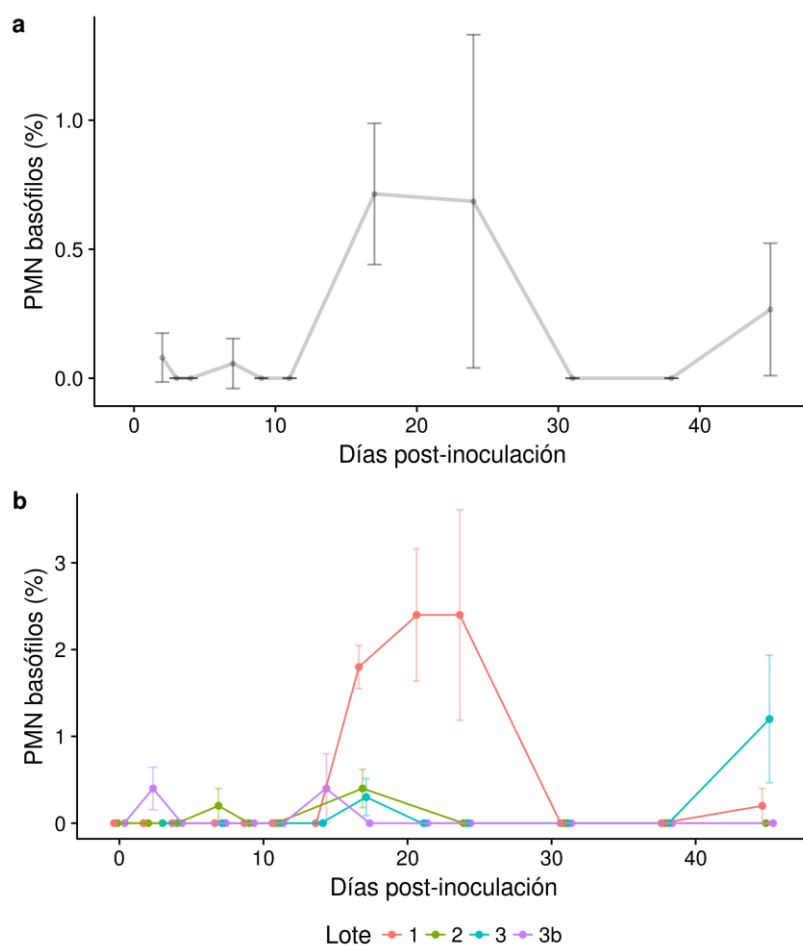


Figura 212. Evolución del porcentaje de polimorfonucleares basófilos en sangre durante el periodo experimental (a) Media e intervalo de confianza al 95 % en todos los ovinos. (b) Media y error estándar por lote.

4.3.2.9 Eosinófilos.

El porcentaje de PMN eosinófilos medio en los lotes del estudio fue del 9,2 %. Por grupos, el lote 1 tiene una media ligeramente más alta (10,48 %), pero similar a la del lote 3 (10,59 %), mientras el lote 2 tuvo una media más baja (8,14 %), pero superior a la del lote 3b, que mostró la media más baja (6,66 %). Las diferencias totales entre lotes fueron siempre significativas ($p < 0,01$) excepto entre los lotes 1 y 3. En relación a la evolución temporal, podemos ver que con escasas fluctuaciones y diferencias entre grupos, existió una tendencia general descendente hasta el 11 d.p.i, con valores significativamente más bajos que los del día 0 ($p = 0,0002$) y un paulatino ascenso de los porcentajes hasta el 45 d.p.i, que mostró diferencias significativas con el resto de los días ($p < 0,01$) excepto con los valores de partida. También al 38 d.p.i las diferencias fueron significativas. Sin embargo, en cuanto a las diferencias entre grupos, solamente resultó de importancia un pico hacia las tres

Resultados

semanas en el lote 1, siendo en concreto significativas las diferencias entre el lote 1 y 3b a los 14-21 d.p.i, así como entre los lotes 1 y 2 a los 21-24 d.p.i (Figura 213).

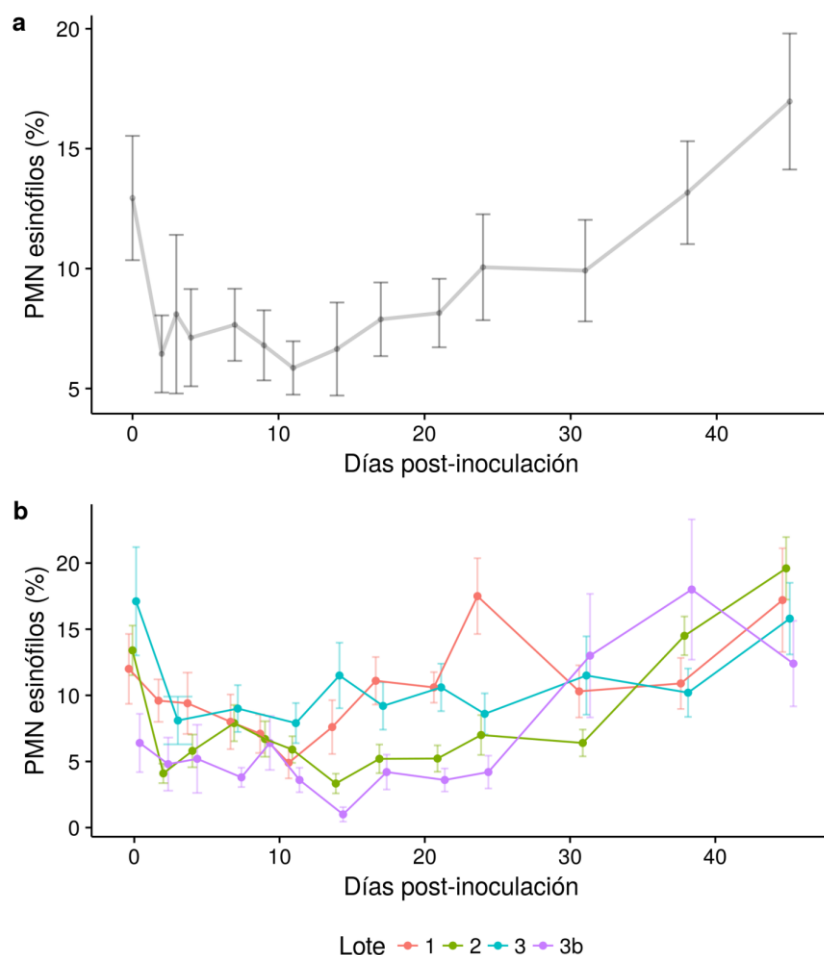


Figura 213. Evolución del porcentaje de polimorfonucleares eosinófilos en sangre durante el periodo experimental (a) Media e intervalo de confianza al 95 % en todos los ovinos. (b) Media y error estándar por lote.

4.3.2.10 Linfocitos.

El porcentaje de linfocitos medio en los lotes del estudio a lo largo del estudio fue del 29,15 %. Por grupos, este promedio fue del 26,78 %, 29,43 %, 29,78 % y 32,43 % respectivamente en los lotes 1, 2, 3 y 3b. Las diferencias entre los cuatro grupos fueron todas significativas ($p < 0,01$) excepto entre los lotes 2 y 3 ($p = 0,8156$).

En cuanto a su evolución, destacó el descenso de los valores medios entre el 31–45 d.p.i (Figura 214). Por grupos, al 0 d.p.i, el lote 3b tuvo valores inferiores al lote 2 y 3 ($p < 0,05$), siendo más suave su diferencia respecto al lote 1 ($p = 0,0614$), aunque se igualan posteriormente, siendo lo más destacable el descenso del porcentaje en los últimos muestreos. Al 45 d.p.i, las diferencias fueron

significativas respecto a los días 0 y el periodo 7-24 d.p.i, excepción hecha del día 21, debido al marcado descenso del lote 1. La abrupta fluctuación el 21–24 d.p.i en este lote hace sospechar de un sesgo accidental, pero los recuentos siguientes sugieren que existió realmente un descenso marcado en este lote, que se inició el 17 d.p.i, donde se diferencia de ambos lotes control ($p < 0,05$) y se acentuaron el 38 d.p.i, donde llegó a distanciarse de forma significativa también del lote 2. Sin embargo, el descenso de los demás lotes anuló esta significación al 45 d.p.i.

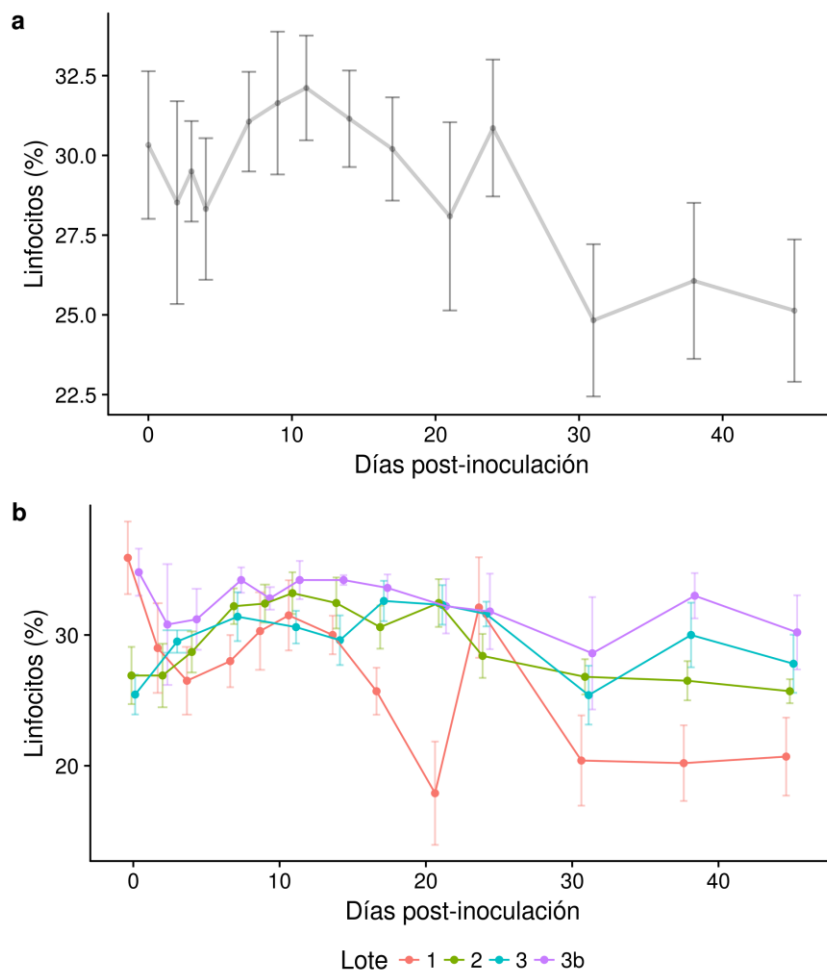


Figura 214. Evolución del porcentaje de linfocitos en sangre durante el periodo experimental (a) Media e intervalo de confianza al 95 % en todos los ovinos. (b) Media y error estándar por lote.

4.3.2.11 Monocitos.

El porcentaje de monocitos en general se mantuvo por debajo del 5 %, con mínimas diferencias entre grupos y días, a excepción del lote 1 en el 17 d.p.i y entre el 38-45 d.p.i (Figura 215). De este modo, los promedios se elevaron al 3,85 % para el total de los animales y al 5,97 % para el lote 1, mientras que fue del 2,75 %, 2,80 % y 3,36 % en los lotes 2, 3 y 3b, respectivamente. Esos valores anormales hicieron

Resultados

que las diferencias del lote 1 sean significativas ($p < 0,01$) incluso considerando todo el periodo experimental.

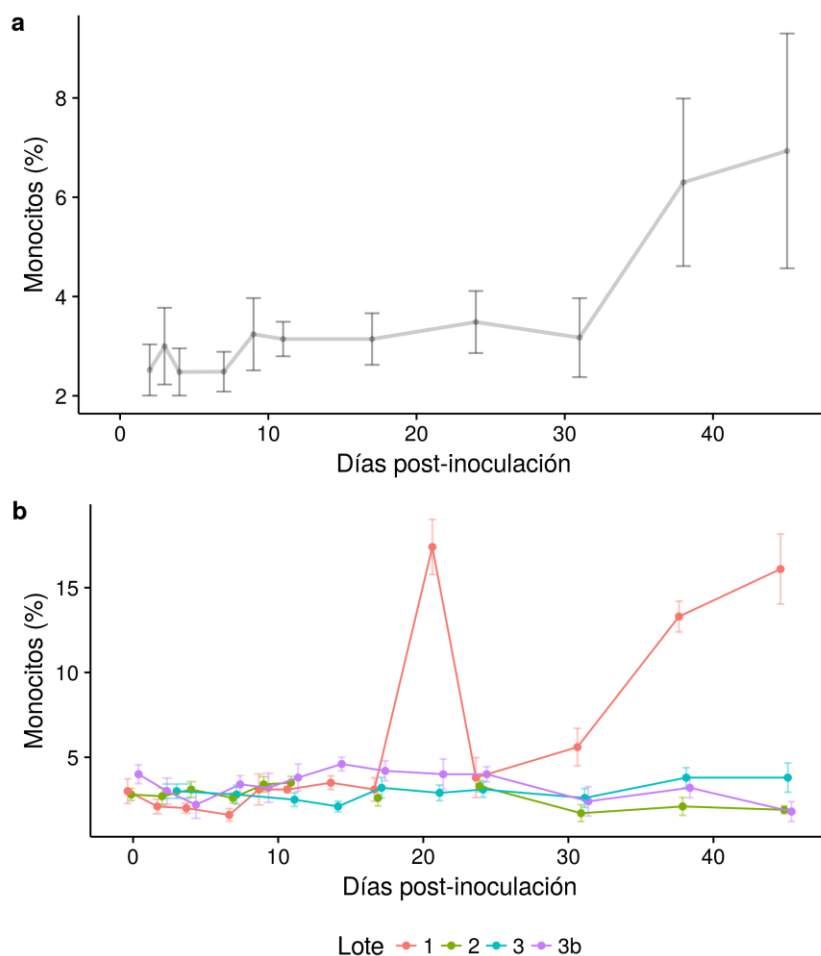


Figura 215. Evolución del porcentaje de monocitos en sangre durante el periodo experimental (a) Media e intervalo de confianza al 95 % en todos los ovinos. (b) Media y error estándar por lote.

4.3.2.12 Plaquetas.

El promedio de plaquetas a lo largo del estudio en todos los lotes fue de $483 \times 10^3 / \text{mm}^3$. Por lotes, estos valores fueron similares, en concreto $497 \times 10^3 / \text{mm}^3$ en el lote 1, $488 \times 10^3 / \text{mm}^3$ en el lote 2, $402 \times 10^3 / \text{mm}^3$ en el lote 3 y $571 \times 10^3 / \text{mm}^3$ en el lote 3b. Excepto entre el lote 1 y 2, las diferencias globales entre grupos fueron significativas ($p < 0,02$).

En la Figura 216 se aprecia que el recuento de plaquetas tendió a aumentar hasta el 9 d.p.i y a mantenerse elevado, aunque en el lote 3 se produjeron escasos cambios. El aumento respecto al día 0 es significativo desde el 7 d.p.i, excepto el día 24. Por grupo y día, solo se apreciaron diferencias significativas entre el lote 3b

frente a los lotes 1 y 3, en concreto a los 14, 21 y 45 d.p.i ($p < 0,05$) aunque la no significación al 31 d.p.i en este sentido fue dudosa ($p = 0,0580$).

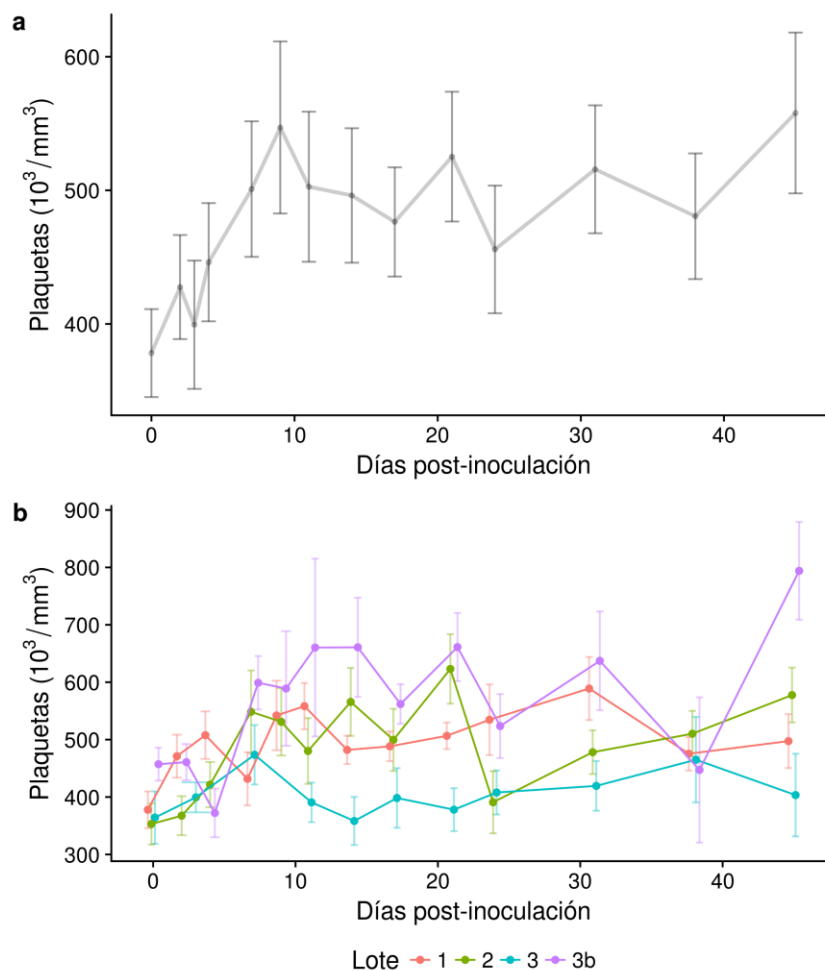


Figura 216. Evolución del porcentaje de plaquetas en sangre durante el periodo experimental (a) Media e intervalo de confianza al 95 % en todos los ovinos. (b) Media y error estándar por lote.

4.3.3 Bioquímica sanguínea.

4.3.3.1 Aspartato aminotransferasa (AST).

Dado que esta enzima se encuentra elevada en situaciones de daño muscular, nos planteamos observar la evolución de la misma en los diferentes lotes de estudio. El promedio de la AST media en los diferentes lotes fue de 150,9 UI/L. Por grupos, el lote 1 tuvo una media de 170,1 UI/L, mientras que la del lote 2 fue de 158,8 UI/L, la del lote 3 de 125,1 UI/L y finalmente la del lote 3b de 123,27 UI/L.

Resultados

No se apreciaron variaciones significativas de esta enzima en ningún sentido (debe tenerse en cuenta que en la Figura 217 los valores del 3 d.p.i correspondían únicamente al lote 3, de ahí el aparente descenso global), siendo las diferencias entre grupos comparables a las del 0 d.p.i, o incluso menores.

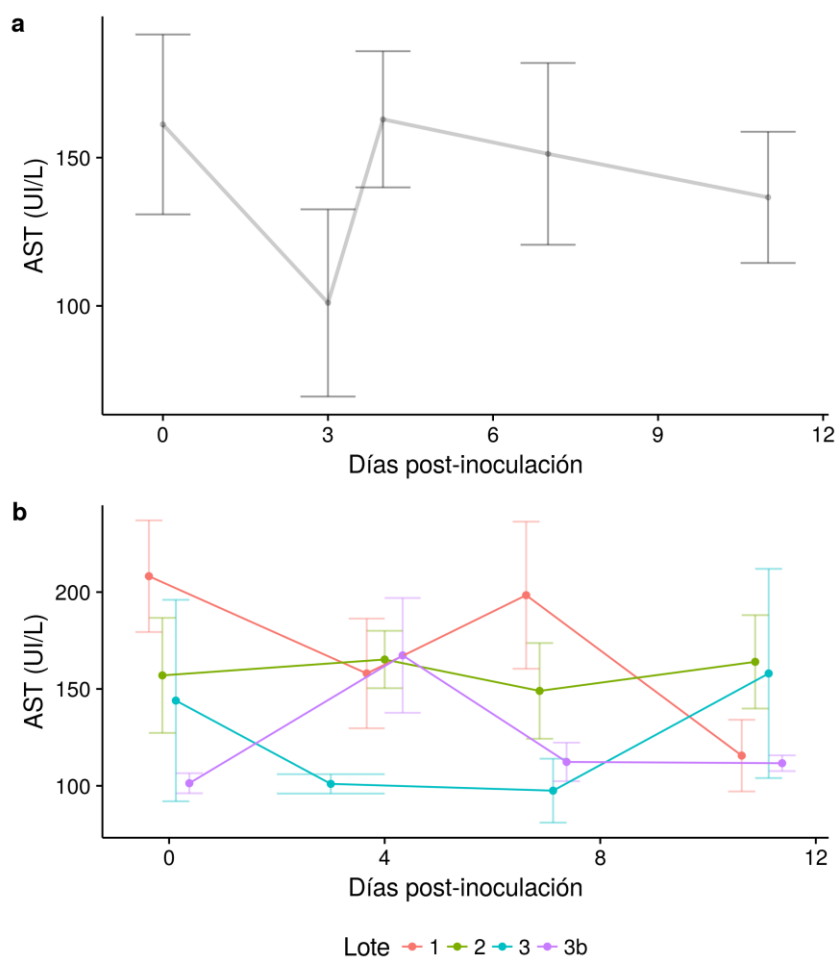


Figura 217. Evolución del porcentaje de la AST durante los 0–11 d.p.i (a) Media e intervalo de confianza al 95 % en todos los ovinos. (b) Media y error estándar por lote.

4.3.3.2 Creatinina quinasa (CK).

Al igual que la AST, la elevación sérica de la CK podría indicar generalmente que el músculo está siendo destruido por algún proceso anormal, por lo que también se decidió medir su actividad en los animales del ensayo. La actividad media de la CK en los lotes del estudio fue de 299,4 UI/L. Por grupos, estas medias fueron 388,4 UI/L en el lote 1, 308,1 UI/L en el lote 2, 115,6 UI/L en el lote 3 y 259,3 UI/L para el lote 3b. Aunque destacan en la Figura 218 los bajos valores del lote 3, las diferencias entre grupos no fueron significativas, así como tampoco entre días de estudio.

La evolución temporal de la CK nos indica que existió una elevación de ésta, alcanzando el máximo el día 4 post infestación en todos los lotes, excepto el 3. Además, cabe reseñar que esta es más marcada en el lote 1 y que a partir del día 4 tendió a disminuir, excepto en el lote 2, que tuvo un repunte el día 11.

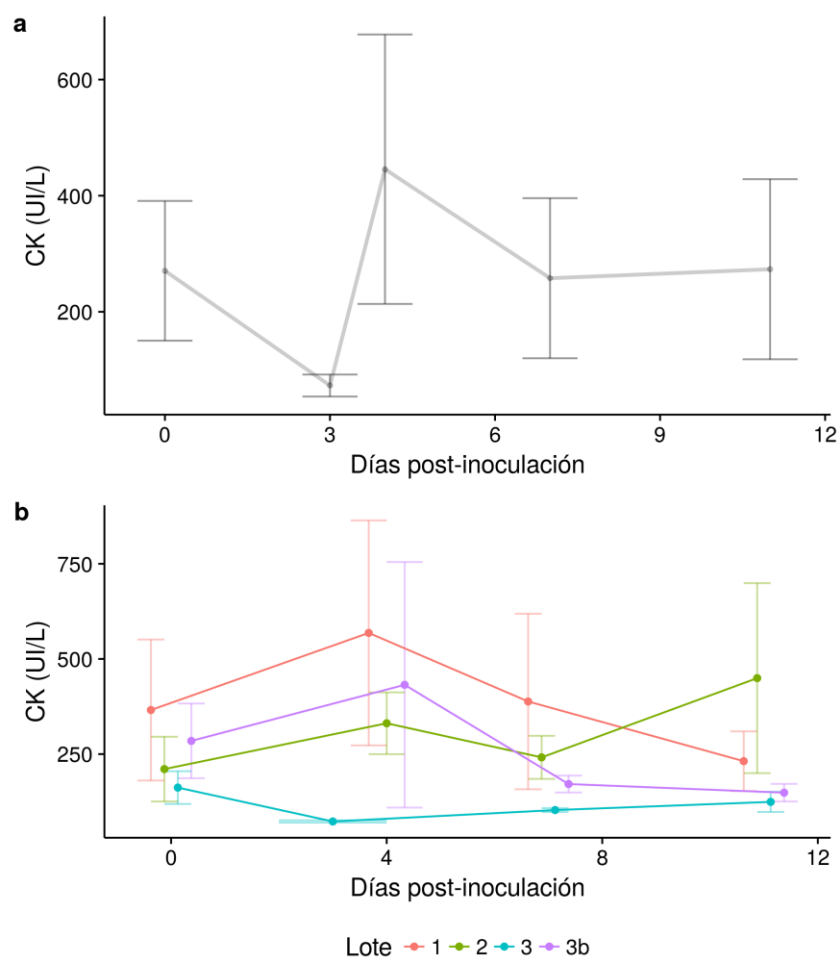


Figura 218. Evolución del porcentaje de la CK durante los 0-11 d.p.i (a) Media e intervalo de confianza al 95 % en todos los ovinos. (b) Media y error estándar por lote.

4.3.3.3 Lactato deshidrogenasa (LDH).

Como en las otras enzimas estudiadas, la LDH también marcaría daño muscular. Los resultados mostraron que no hubo una tendencia clara de evolución ni diferencias entre grupos (Figura 219). La LDH detectada en el conjunto de lotes tuvo un promedio de 1894 UI/L. Por grupos los valores medios fueron de 1885 UI/L, 1924 UI/L, 1660 UI/L y 2014 UI/L para los lotes 1, 2, 3 y 3b, respectivamente.

Resultados

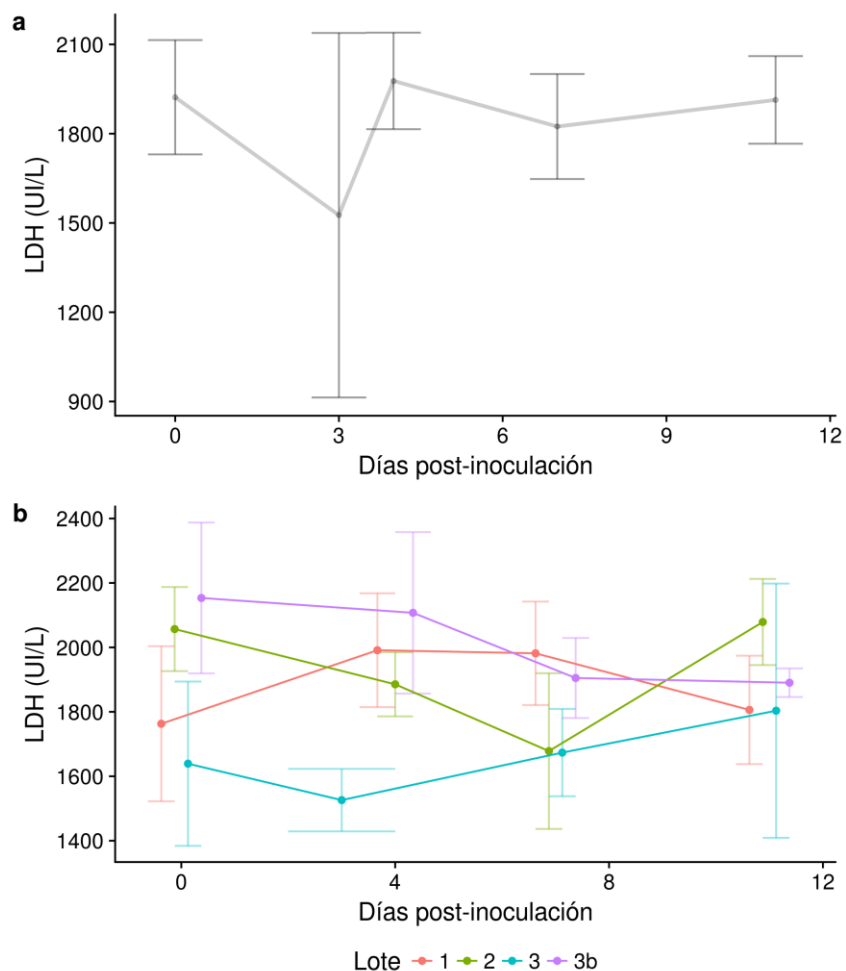


Figura 219. Evolución del porcentaje de la LDH durante los 0–11 d.p.i (a) Media e intervalo de confianza al 95 % en todos los ovinos. (b) Media y error estándar por lote.

4.3.4 Resultados histológicos.

4.3.4.1 Descripción general.

Con el fin de valorar el daño histopatológico provocado por la infestación experimental de las larvas de *Protophormia terraenovae*, se realizó un estudio pormenorizado de dichas lesiones al día 4 y al día 14 p.i., en cada uno de los animales del estudio. En los tres lotes estudiados (cabe recordar que en el lote 3 no existió lesión alguna ya que no se infectó y no se le practicó “herida”), se observó bastante homogeneidad lesional, aunque varía considerablemente en función del tiempo:

Lote 1.

Día 4 p.i.

En estos animales, se observó una zona de necrosis extensa, unida a una úlcera de similar calibre. En algunos animales llegó a afectar al total de la superficie de la muestra. Se apreciaron gran cantidad de bacterias de morfología cocoide, normalmente integrada en la zona de necrosis-úlceras. Hubo una gran cantidad de infiltrado inflamatorio, en las tres capas de la piel, que solía estar formado por linfocitos, células plasmáticas, macrófagos, y en algunos casos eosinófilos, unido a una gran presencia de neutrófilos en la zona de necrosis y ulceración. Los fibroblastos se presentaron en escaso número. El folículo piloso también pareció verse afectado en algunos animales. Presentaron una foliculitis, normalmente con células plasmáticas, conformando el infiltrado inflamatorio presente. Las hemorragias, si bien pudieron evidenciarse, no fueron muy frecuentes.

Día 14 p.i.

Se observó una disminución considerable de la zona ulcerada y necrosis, llegando a ser la primera en algunos animales casi inexistente y el material necrótico apareció expulsado en superficie. En ningún caso se apreciaron elementos bacterianos. La epidermis pareció encontrarse reactiva, con engrosamiento de las capas más profundas y falta de queratina en superficie. El infiltrado inflamatorio se mostró en menor cantidad y solía circunscribirse a la dermis. En este caso, estuvo formado por linfocitos, células plasmáticas y macrófagos, apareciendo también mastocitos y eosinófilos, en algunos animales. Los fibroblastos destacaron en todos los animales, así como la afección pilosa, con plasmocitos en el interior del folículo. No se apreciaron hemorragias ni alteración de la musculatura circundante.

Lote 2.

Día 4 p.i.

De patrón similar al descrito en el lote 1, quizás destacó una menor extensión de la úlcera y de la necrosis, aunque sólo en algunos animales, y mayor presencia de hemorragias. La presencia de eosinófilos y mastocitos en el infiltrado inflamatorio fue habitual.

Día 14 p.i.

Se apreció casi la total restauración de la piel. En el infiltrado, escaso o moderado, predominaron linfocitos, células plasmáticas, y algunos eosinófilos y macrófagos.

Lote 3b.

Día 4 p.i.

Le lesión, en este caso fue de menor cuantía que en los lotes anteriores. Se observaron úlceras y material necrótico de menor cuantía y la presencia de bacterias fue más ocasional. El infiltrado inflamatorio, de carácter como máximo moderado, estuvo formado por linfocitos, células plasmáticas, eosinófilos y macrófagos. Dos animales mostraron mastocitos, los mismos que lo evidencian también a los 14 d.p.i. Tanto la afección pilosa como las hemorragias hacen presencia en algunos animales. Se apreció también destrucción de células musculares y proliferación fibroblástica.

Día 14 p.i.

Las muestras presentaron una estructura casi normal de la piel. La epidermis se encontró reactiva, sobre todo por el engrosamiento de las capas profundas. El infiltrado inflamatorio fue escaso, localizado en la dermis y compuesto por linfocitos, plasmáticas y macrófagos. La proliferación fibroblástica fue constante.

En definitiva y como resumen general del daño lesional, se puede afirmar que las lesiones en el día 4 p.i. fueron más graves que en el día 14 p.i. Según la gravedad de las lesiones iniciales, parece que las más importantes se desarrollaron en el lote 1 y en menor medida el lote 2, siendo de menor importancia en el lote 3b.

4.3.5 Análisis por variables.

Los diversos aspectos de la lesión de cada animal se recogieron como variables categóricas (presencia-ausencia) u ordinales (con categorías según una escala preestablecida), lo que nos permite complementar la anterior descripción histopatológica con un análisis cuantitativo:

4.3.5.1 Nivel de exudado.

El nivel de exudado inicial de todos los lotes con herida (incluido el lote control 3b) fue moderado, con una estimación media de 2,2–2,7 en una escala 0 a 4, sin diferencias significativas entre lotes. Este exudado prácticamente desapareció en la mayoría de los animales hacia el 11 d.p.i y de forma definitiva a los 14 d.p.i (Figura 220).

Sin embargo, mientras que este descenso fue ostensible ya al día 4–7 p.i. en el lote 3b, en el lote 2 fue más discreto e incluso aumentó en los primeros días en el lote 1, siendo la diferencias con los primeros significativas ($p=0,0198$ y $p=0,073$, respectivamente).

Al 9 d.p.i, las diferencias entre los tres grupos llegaron a ser significativas ($p=0,0365$), a pesar de que el exudado ya era escaso, siendo más elevado en el lote 1, con una cantidad mínima de exudado en el lote 2 y prácticamente nula en el lote control 3. Las diferencias entre días contiguos no fueron significativas, pero a excepción del par 2–7 d.p.i, cualquier otra comparación fue significativa ($p<0,05$).

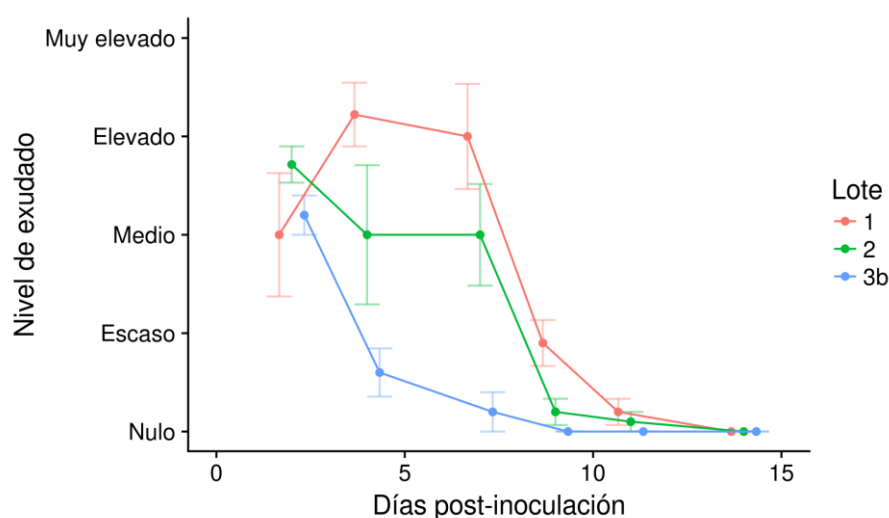


Figura 220. Nivel exudado en la lesión, en una escala arbitraria (0–4) por lote y día post-inoculación. Las barras de error muestran el error estándar de la media.

4.3.5.2 Extensión de la necrosis.

En una escala arbitraria de 0 a 3, en función de si la extensión de la necrosis fue nula, escasa, media o elevada, (Figura 221) y asumiendo el mismo peso numérico a cada categoría, podemos decir que la extensión de la necrosis en las heridas fue inicialmente media-elevada en los lotes 1 y 2 (puntuación media de 2,5 y 2,6, respectivamente), mientras que fue escasa en el lote 3b (puntuación media de 1,0). El análisis no paramétrico de las diferencias al 4 d.p.i respecto al grupo control fue significativa ($p=0,02$). Al día 14 d.p.i estas diferencias se anularon ya que sólo aparece de forma escasa en un animal del lote 1 (puntuación media de 0,1), siendo siempre inapreciable en los lotes 2 y 3.

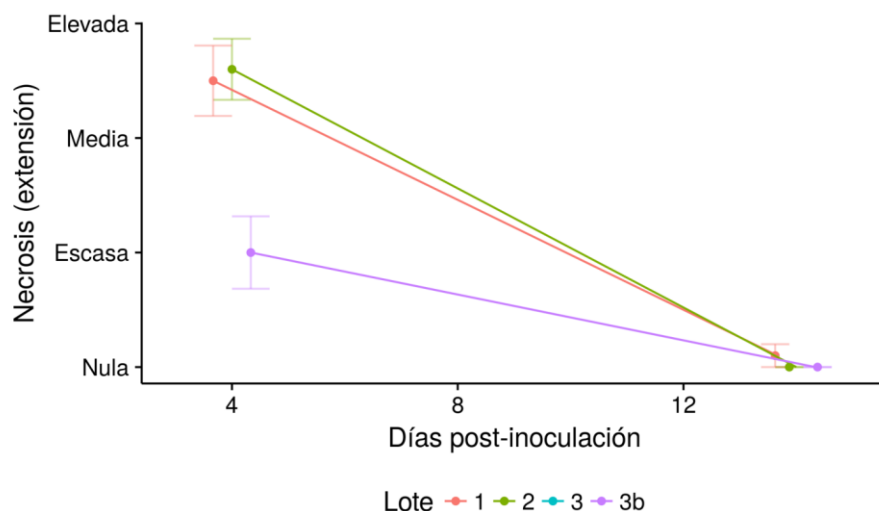


Figura 221. Extensión de la necrosis en una escala arbitraria (0–3) por lote y día post-inoculación. Las barras de error muestran el error estándar de la media.

4.3.5.3 Ulceración.

La valoración de la ulceración, igualmente en una escala de 0 a 3, mostró una evolución similar a la de la necrosis (Figura 222). Inicialmente fue escasa en el lote 3b (media de 1,0), moderada en el lote 1 (media de 2,1) y generalmente elevada en el lote 2 (media de 2,9). Persistió, sin embargo, aunque de forma escasa al 14 d.p.i, en tres ovejas del lote 1 (en una de ellas con intensidad media) y en un animal del lote control 3b. En el lote 2, a pesar de alcanzar la mayor puntuación inicial, desapareció completamente a partir de las 2 semanas p.i. Solo las diferencias al 4 d.p.i entre los lotes 2 y 3b fueron significativas ($p=0,0026$).

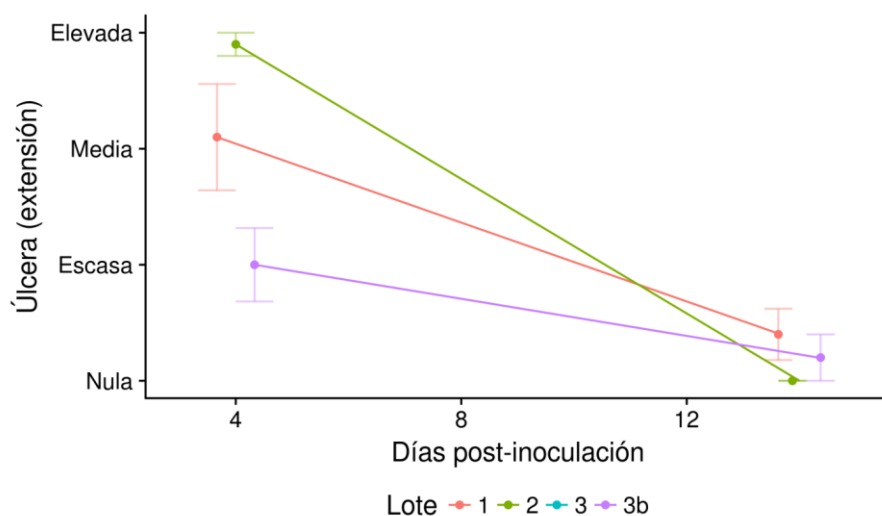


Figura 222. Extensión de la ulceración en una escala arbitraria (0–3) por lote y día post-inoculación. Las barras de error muestran el error estándar de la media.

4.3.5.4 Infiltrado.

La cantidad de infiltrado celular, al igual que los dos parámetros anteriores, fue mayor en los lotes 1 y 2 (puntuación media de 2,4 y 2,6 respectivamente), pero apareció también con escasa o media intensidad en todos los ovinos del lote control 3b (puntuación media de 1,4), de modo que las diferencias entre lotes no fueron significativas. Asimismo, el infiltrado descendió de un modo significativo al 14 d.p.i ($p < 0,0001$), sin embargo, aunque escaso, no desapareció en ningún animal, incluidos los del lote control (Figura 223).

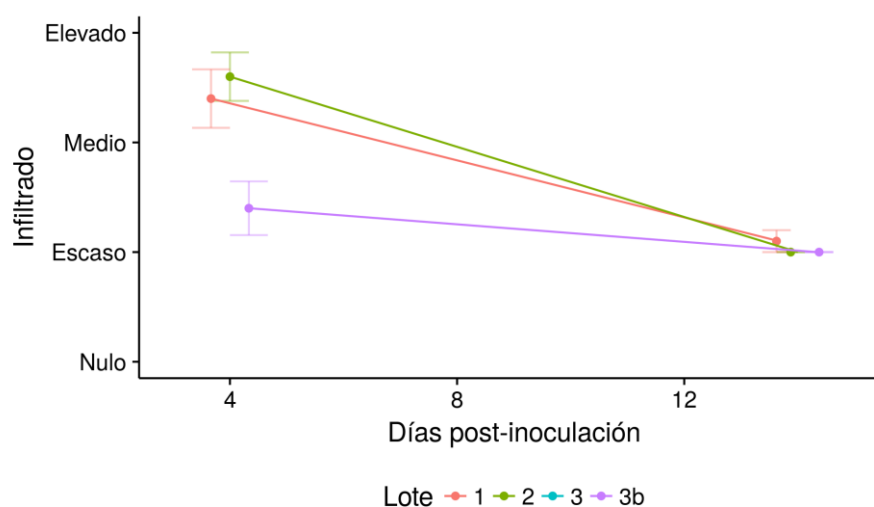


Figura 223. Cantidad de infiltrado en la lesión, en escala arbitraria (0–3) por lote y día post-inoculación. Las barras de error muestran el error estándar de la media.

4.3.5.5 Afección de las capas dérmicas.

La afección de la capa media fue omnipresente en los tres grupos al 4 y al 14 d.p.i, y sin diferencias entre los lotes. Por su parte, el porcentaje de afección de las capas externa e interna en general fue alta, pero desapareció por completo al 14 d.p.i. La frecuencia de la afección de las capas externa, media e interna de la piel por lote y día post-inoculación se detalla en la Tabla 16.

Tabla 16. Afección de las capas dérmicas.

	Día 4 p.i			Día 14 p.i		
	Lote 1 (n=10)	Lote 2 (n=10)	Lote 3b (n=5)	Lote 1 (n=10)	Lote 2 (n=10)	Lote 3b (n=5)
Externa	90 %	100 %	40 %	0 %	0 %	0 %
Media	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
Interna	70 %	100 %	60 %	0 %	0 %	0 %

Resultados

Respecto a la capa externa, la afección del lote 3b fue mucho menor que los lotes infestados, de modo que la diferencia de las proporciones al 4 d.p.i fue significativa ($p=0,0092$). Por parejas de grupos, mediante el test de Fisher, solamente la diferencia entre el lote 2 y 3b fue clara ($p=0,0220$). La reducción de la afección al 14 d.p.i fue significativa sólo en los lotes 1 y 2 ($p<0,0001$).

En la capa interna, las diferencias ocurrieron en el mismo sentido, pero las diferencias respecto a los animales control fueron menores, de modo que no fue posible rechazar la hipótesis nula ($p=0,1122$). La reducción del 70 % al 0 % al 14 d.p.i en el lote 1 siguió siendo significativa ($p=0,0031$) pero no la del lote 3b, ya que estaba formado por sólo 5 animales.

4.3.5.6 Bacterias.

La presencia de bacterias fue habitual en ambos lotes inoculados con larvas (Tabla 17), claramente mayor que en el lote control 3b ($p<0,01$). La reducción de esta presencia al 14 d.p.i fue claramente significativa ($p<0,001$), de modo que sólo se apreció en 1 animal del lote 1. Por lotes, la reducción del lote 1 siguió siendo claramente significativa ($p=0,0011$).

Tabla 17. Frecuencia de la presencia de bacterias y células del infiltrado inflamatorio en las lesiones, por día y lote experimental.

Lote	Día 4 p.i.			Día 14 p.i.		
	1 (n=10)	2 (n=10)	3b (n=5)	1 (n=10)	2 (n=10)	3b (n=5)
Bacterias	90 %	100 %	20 %	10 %	0 %	0 %
Macrófagos	40 %	100 %	80 %	50 %	50 %	60 %
Plasmocitos	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
Linfocitos	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
Eosinófilos	0 %	70 %	40 %	30 %	40 %	10 %
Mastocitos	0 %	40 %	40 %	80 %	40 %	60 %
Neutrófilos	0 %	40 %	40 %	80 %	40 %	60 %
Fibroblastos	80 %	60 %	100 %	90 %	100 %	100 %

4.3.5.7 Células inflamatorias.

La frecuencia de la presencia de células inflamatorias en los tejidos de la herida, expresada en porcentajes, se resume en la Tabla 17.

Macrófagos.

La presencia de macrófagos en las heridas de los animales en el día 4 p.i. mostró una menor presencia de estas células en el lote 1 que en el lote 2 ($p=0,0108$), pero ninguno de ellos mostró diferencias significativas respecto al lote control 3b, donde se observaron con una frecuencia intermedia. Al 14 d.p.i, los tres grupos mostraron una frecuencia media similar ($p=0,4817$). La diferencia respecto al 4 d.p.i solo fue significativa para el lote 2 ($p=0,0325$).

Célula plasmáticas y linfocitos.

Ambos tipos de células estuvieron omnipresentes en las lesiones, tanto al 4 d.p.i como al 14 d.p.i, de modo que como variables categóricas no fueron útiles para establecer comparación alguna.

Eosinófilos.

Contrastó la ausencia de eosinófilos en el lote 1 respecto al lote 2 ($p=0,0031$) e incluso del lote control 3b, aunque no de forma clara en este caso ($p=0,0952$). Sin embargo, estas diferencias se anularon al 14 d.p.i, aunque ningún cambio alcanzó suficiente significación respecto al 4 d.p.i.

Mastocitos.

Al igual que anteriormente, destacó la ausencia de células cebadas o mastocitos en el lote 1 al 4 d.p.i, mientras que fueron relativamente frecuentes en el lote 2, aunque su significación fue dudosa dado el reducido número de animales ($p=0,0867$). Fue llamativa la presencia posterior (al 14 d.p.i) de estas células en 8 de las 10 ovejas del lote 1 ($p<0,001$), aunque no fue significativo este cambio respecto a los otros lotes ese mismo día, que apenas cambiaron.

Neutrófilos.

Se obtuvieron los mismos resultados que con los mastocitos, siendo por tanto idéntica la significación de sus frecuencias.

Fibroblastos.

La presencia de fibroblastos fue relativamente alta en los tres grupos, tanto al 4 d.p.i como el 14 d.p.i. Aunque inicialmente este porcentaje fue algo más bajo en el lote 2, en ningún caso las diferencias fueron significativas.

4.3.5.8 Afección del folículo piloso.

La frecuencia con que se observó la alteración del folículo piloso, y en concreto la presencia de plasmocitos y neutrófilos en el mismo, se resumen en la Tabla 18.

Como podemos ver, la alteración y afección del folículo piloso se produjo aproximadamente en la mitad de los animales, con escasa diferencias entre grupos. Aunque eso conllevó que esta lesión ya no fuese apreciable en el lote 3b, las diferencias entre grupos o días no fueron significativas en ningún caso.

Tabla 18. Frecuencia lesiones en folículo piloso, por día y lote experimental.

Lote	Día 4 p.i.			Día 14 p.i.		
	1 (n=10)	2 (n=10)	3b (n=5)	1 (n=10)	2 (n=10)	3b (n=5)
Afección	60 %	50 %	40 %	50 %	50 %	0 %
Plasmocitos	50 %	40 %	0 %	40 %	30 %	0 %
Neutrófilos	0 %	0 %	0 %	10 %	0 %	0 %

Las células plasmáticas solo se observaron inicialmente en 9 de los 20 animales de los lotes 1 y 2, reduciéndose a sólo 7 al 14 d.p.i, de modo que no se observaron diferencias significativas en ningún sentido.

La ausencia de diferencias fue aún más obvia respecto a la presencia de neutrófilos en el folículo piloso, ya que sólo se observaron en una oveja del lote 1 al 14 d.p.i.

4.3.5.9 Otras lesiones.

La frecuencia en que se observaron alteraciones del tejido muscular y hemorragias se resume en la Tabla 19. Las alteraciones de las fibras musculares fue una constante al 4 d.p.i y solo se mantiene en uno de los controles, de modo que la reducción fue significativa incluso en el lote 3b ($p=0,0476$) pero no existieron diferencias significativas entre los grupos de animales.

Tabla 19.Frecuencia de daño muscular y hemorragias, por día y lote experimental.

Lote	Día 4 p.i.			Día 14 p.i.		
	1 (n=10)	2 (n=10)	3b (n=5)	1 (n=10)	2 (n=10)	3b (n=5)
Daño muscular	100 %	100 %	100 %	0 %	0 %	20 %
Hemorragias	30 %	30 %	60 %	20 %	0 %	0 %

Las hemorragias se apreciaron en casi la mitad de los animales al 4 d.p.i, concretamente en el 30 % de los animales de los lotes 1 y 2 y en el 60 % del lote control. Curiosamente al 14 d.p.i, estas hemorragias ya sólo se observaron en dos ovejas del lote 1, pero en ningún caso se pudo constatar ninguna diferencia significativa entre los grupos a los 4 d.p.i ($p=0,339$) ni a los 14 d.p.i ($p=0,1954$). La disminución del porcentaje sólo fue significativa en el lote 2 ($p=0,0108$).

Discusión

5 Discusión.

5.1 Discusión Dípteros.

5.1.1 Capturas de ejemplares del género *Culicoides*.

Se capturaron un total de 6.601 mosquitos del género *Culicoides* durante los dos años de muestreo mensual en 25 localizaciones diferentes, siendo la media de 15,5 ejemplares por trampa y la mediana de 0. El número de *Culicoides* capturados, comparado con otros trabajos como el de González *et al.* (2013) con 66.575 ejemplares en un año, con una media por día de muestreo de 182,40, o el de Alarcón-Elbal *et al.* (2016), con una media de 32,02 ejemplares por trampa, fue bastante bajo. Este hecho es explicable desde el punto de vista de varios factores; el primero de ellos, es que la mayoría de los trabajos disponibles al respecto están enfocados exclusivamente para la captura únicamente de *Culicoides*, por lo que las trampas se colocaron en zonas específicas de las explotaciones para la captura de dípteros de este género. Nuestro estudio, en cambio, es un trabajo multidisciplinar con el objetivo de estudiar no solamente mosquitos del género *Culicoides*, sino otras familias y géneros, no incluidos en esta Tesis, utilizando para ello las mismas trampas y lugares de posible tránsito común, por lo que el número de ejemplares recolectados con este tipo de trampeo no fue el totalmente óptimo. Caso similar es el de Durán (2012), si bien, sólo capturan 179 ejemplares de este género, resultando un número muy inferior al nuestro. Además, la gran mayoría de los trabajos de los otros autores consultados, no realizan un muestreo seriado como el presente, sino que realizan los muestreos en las épocas de mayor abundancia. De esta forma, podemos explicar que la mediana de nuestro estudio sea tan baja, ya que en una gran parte de los muestreos no se detectó ningún ejemplar de *Culicoides*, y esto es fácil de entender si tenemos en cuenta que en invierno la presencia de estos dípteros es prácticamente nula. No obstante, consultando la bibliografía, encontramos algunos trabajos con resultados similares a los nuestros, como el de Pérez *et al.* (2012), quienes realizando muestreos en explotaciones ganaderas, en el año 2008 capturaron una media de 13,2 ejemplares por trampa, mientras que en el año 2007 capturaron 25,5 de media. Estos autores obtienen un 68 % de los muestreos negativos, lo que pone de manifiesto la importancia de la localización de estas trampas, y las condiciones climatológicas, las cuales pueden suponer una gran variación en las capturas.

Según algunos autores, como Venter *et al.* (2009a) en un estudio en Sudáfrica, otro factor de influencia, tanto por el número total de capturas como por el número

Discusión

y tipo de especies encontradas, sería el tipo de trampa utilizada, si bien en otro trabajo realizado en España por Del Río *et al.* (2013), comparando las mismas trampas que el estudio anterior, no hallan una influencia clara entre la trampa “CDC” que usamos en nuestro estudio, y la “Onderstepoort” que se sitúa como la más efectiva en el trabajo de Venter *et al.* (2009a).

En relación al sexo de los ejemplares capturados, se encontró que las hembras (92,21 %) fueron mucho más frecuentes que los machos (7,79 %). Estos resultados coinciden con los de otros autores, que indican un porcentaje de machos del 0 al 8 % (Venter *et al.*, 2009a), y son también muy similares a los de Durán (2012) y Alarcón-Elbal *et al.* (2016) en Castilla-La Mancha.

Atendiendo al estado gonotrófico de las hembras, se distribuyó de la siguiente forma: nulíparas (24,41 %), paras (52,84 %), con sangre (9,98 %) y con huevos (4,86 %). Estos resultados se aproximan a los que se encuentran en verano en Sudáfrica (Venter *et al.*, 2009a) y también son muy similares a los encontrados en el trabajo de Alarcón-Elbal *et al.* (2016), si bien en este último no se capturan hembras con huevos y el porcentaje de paras es algo superior.

Todos estos hallazgos tienen una gran relevancia epidemiológica, ya que nuestro trabajo demuestra una fuerte presencia de *Culicoides* en zonas exteriores a las explotaciones ganaderas en la región extremeña. Esto cobra aún más importancia si cabe, debido a que en el área mediterránea se ha determinado que existe una evidente relación entre un ciclo doméstico y silvestre de lengua azul, tomando especial consideración el ciervo rojo, que por su amplia distribución puede ser usado como centinela (Falconi *et al.*, 2011), dificultando a su vez la erradicación de la enfermedad en esta área. En este sentido, incluso se ha hallado una correlación positiva entre la presencia de *C. imicola* y la presencia del ciervo rojo y se ha demostrado que este hospedador favorece la implantación de *Culicoides* en zonas en las que no estaba anteriormente (Acevedo *et al.*, 2010). En el norte de Europa, el control de la lengua azul resulta mucho más fácil debido a la menor presencia de este hospedador (Ruiz-Fons *et al.*, 2014). Además, si tenemos en cuenta que los ejemplares del género *Culicoides* pueden moverse cientos de kilómetros gracias a las corrientes de viento (Sellers, 1992; Purse *et al.*, 2015), se pone de manifiesto la dificultad que existe respecto al control de enfermedades transmitidas por estos dípteros. Este hecho se agrava si consideramos, que el estado gonotrófico más frecuente, resultó ser las hembras paras, que son consideradas como las verdaderas transmisoras de los orbivirus (Kramer *et al.*, 1990). Por lo tanto, por el presente trabajo se constata la alta presencia de *Culicoides* en numerosos biotopos y ecosistemas extremeños, con lo que es de suma transcendencia mantener las medidas sanitarias para evitar el contagio de enfermedades como la lengua azul en

explotaciones ganaderas, bien sea mediante el uso de vacunas frente a esta enfermedad (Alpar *et al.*, 2009; Noad and Roy, 2009; Zientara *et al.*, 2010) o mediante el uso de redes con insecticida para evitar la entrada de sus vectores en la explotación (Calvete *et al.*, 2010; Del Río *et al.*, 2014). Un hándicap importante podrían ser las posibles resistencias que se manifiesten en los dípteros por el uso masivo e indiscriminado de estos insecticidas. De hecho, estudios recientes ya han determinado un cierto grado de resistencia de *Culicoides* adultos frente a la mayoría de insecticidas utilizados (De Keyser *et al.*, 2017).

Como se ha comentado anteriormente, la captura de *Culicoides* fue claramente superior durante la época de verano (Ortega *et al.*, 1998, 1999; Sarto i Monteys and Saiz-Ardanaz, 2003; Miranda *et al.*, 2004; Sánchez-Murillo *et al.*, 2011), mientras que durante los meses de invierno las capturas fueron prácticamente nulas. La temperatura va a ser un factor que va a estar muy ligado a la especie de *Culicoides* que estudiemos. Por ejemplo, si hablamos de los principales vectores de lengua azul, observamos que para *C. imicola* la posibilidad de transmisión se reduce drásticamente a temperaturas inferiores a 21°C, mientras que en Centro Europa esta reducción se produce a temperaturas inferiores a 15°C, debido a la mayor resistencia al frío de *C. obsoletus* s.l. (Napp *et al.*, 2016). La temperatura óptima de transmisión de esta enfermedad en Europa se sitúa entre 15-25°C. En este sentido, en Europa existen multitud de estudios en los que se demuestra que la temperatura es el factor primordial y clave en el desarrollo de los *Culicoides*, como en el caso de nuestro estudio, donde se correlacionó positivamente la temperatura con la presencia de *Culicoides*.

Sin embargo, como ya se avanzó en el párrafo anterior, es importante mencionar que no todas las especies tienen la misma sensibilidad a las temperaturas, de modo que *C. imicola* es de un carácter más termófilo, mientras que *C. obsoletus* s.l. es más resistente al frío (Dascălu *et al.*, 2007; Purse *et al.*, 2007; Gubbins *et al.*, 2008; Ippoliti *et al.*, 2013). En España también se han realizado diferentes estudios donde se señala a la temperatura como el factor más influyente en la presencia de estos dípteros (Calvete *et al.*, 2008b; Acevedo *et al.*, 2010). Asimismo, es de gran interés como elemento de riesgo (unido a los factores medioambientales) a la hora de determinar la posibilidad de la transmisión de la lengua azul, la presencia de brotes previos de esta enfermedad en zonas cercanas (Peters *et al.*, 2014).

Algunos autores han indicado que la precipitación mensual es otro de los factores más influyentes en la presencia y abundancia de *Culicoides*. Así lo han confirmado tanto en Italia (Purse *et al.*, 2004; Conte *et al.*, 2007) como en España (Ducheyne *et al.*, 2013) en los estudios sobre la especie *C. imicola*, probablemente

por la necesidad de zonas de humedad para que se produzca el proceso de cría. En el caso de *C. imicola*, además destaca, que estas zonas deben estar soleadas para alcanzar los requerimientos de cría adecuados (Braverman *et al.*, 1974; Meiswinkel *et al.*, 2004).

En nuestro trabajo, se ha observado una ligera tendencia a la baja en las capturas de *Culicoides* respecto a la altitud, es decir, fueron más frecuente las capturas en zonas poco elevadas sobre el nivel del mar. Lo que indican la mayoría de los estudios analizados, es que la altitud va a producir una selección de las especies según su adaptación al frío, tal y como se ha demostrado en estudios hechos en Suiza e Italia (Kaufmann *et al.*, 2009, 2012; Tschuor *et al.*, 2009; Foxi *et al.*, 2016). De esta forma, en las altitudes más bajas nos encontraremos con especies más termófilas como *C. imicola*, a altitudes medias nos encontraremos especies como las del complejo *Obsoletus* y en las zonas más elevadas con *C. pulicaris*; esta última muy frecuente en países del norte de Europa (Nielsen *et al.*, 2010; Ander *et al.*, 2012) y, por tanto, bien adaptada a temperaturas frías. Otros estudios también han demostrado esta variabilidad en cuanto a la distribución de las especies de *Culicoides* según la altitud, con especies como *C. pulicaris* o *C. obsoletus* s.l. que tienen preferencia por zonas montañosas (Racloz *et al.*, 2008; Kaufmann *et al.*, 2009, 2012; Tschuor *et al.*, 2009; Arenas-Montes, 2013).

El estudio realizado según la localización, mostró que la provincia de Badajoz presentó un mayor número de ejemplares capturados que la de Cáceres, posiblemente por las temperaturas medias más cálidas y suaves en la primera de ellas y, como ya se mencionó, por el carácter termófilos de estos dípteros (Dascălu *et al.*, 2007; Purse *et al.*, 2007; Gubbins *et al.*, 2008; Ippoliti *et al.*, 2013). Entre las comarcas en las se concentraron un mayor número de capturas de *Culicoides* se encuentran las pacenses de “La Serena” y “Campiña Sur” y la cacereña “Campo Arañuelo”, mientras que en el extremo opuesto aparecen “Vegas Bajas”, “Valle del Jerte” y “Cáceres”, probablemente por el clima más fresco de estas últimas o a algunas características específicas a nivel local en el punto de muestreo que no resultaran óptimas para la captura de *Culicoides*. Un hecho bastante relevante encontrado en la presente tesis, fue la evidencia de que los *Culicoides* tienden a concentrarse en zonas con escasa presencia humana. De hecho, el número de ejemplares capturados en los puntos de muestreo situados fuera de las ciudades fue bastante mayor que los situados en los núcleos urbanos, incluso fueron aumentando conforme aumentó la distancia a dicho núcleo urbano. Esto puede ser debido a que las zonas de cría de la mayoría de estas especies necesitan zonas de humedad y con alto contenido de materia orgánica (Braverman *et al.*, 1974; González *et al.*, 2013; González, 2014), siendo estas zonas difíciles de encontrar en el ámbito urbano. Las zonas ganaderas, que suelen ser las zonas de cría de elección para la gran parte de

especies mamófilas de este género (González *et al.*, 2013), se encuentran normalmente en zonas bastante alejadas de las localidades. No obstante, algunos autores en sus trabajos correlacionan la presencia de *Culicoides* con la presencia de sus hospedadores, ya sean domésticos o silvestres (Acevedo *et al.*, 2010), si bien pensamos que esta afirmación no contradice nuestra hipótesis, ya que en las zonas rurales y silvestres los dípteros hallan una gran fuente de hospedadores animales para su alimentación.

Otro factor que influyó positivamente en la captura de *Culicoides* fue la presencia de vegetación, ya que en todos los entornos analizados con árboles (dehesa, bosque mediterráneo y bosque de rivera), las capturas fueron superiores. Sin embargo, este hecho difiere según la especie analizada. Parece evidente que la presencia de vegetación favorece la presencia de *Culicoides* debido a factores, como podrían ser un mayor número de zonas de crías en estas áreas o también un mayor acúmulo de materia orgánica y mayor humedad, habiéndose evidenciado, por ejemplo, su reproducción en zonas de hojarasca (González *et al.*, 2013). Sin embargo, tras la consulta bibliográfica correspondiente, se observan contradicciones entre distintos autores, ya que para una misma especie como *C. imicola*, existen estudios que indican la necesidad de una zona boscosa densa para la cría de esta especie (Purse *et al.*, 2004), mientras que otros trabajos afirman que las zonas de cría deben producirse en áreas de escasa vegetación (Conte *et al.*, 2007; Diarra *et al.*, 2015; Braverman *et al.*, 1974; Meiswinkel *et al.*, 2004). Otras especies estudiadas se distribuyen en diferentes ecosistemas, como el complejo *Obsoletus*, que se encuentran principalmente en zonas de bosques densos (De Liberato *et al.*, 2010) o *C. impunctatus*, que tiene preferencia por las zonas de pastos y además, parece la especie mejor adaptada al frío en Escocia (Purse *et al.*, 2012). Lo que parece determinante es que en Extremadura, una vegetación de tipo arbóreo favorece una mayor concentración de dípteros de este género, que como ya se ha mencionado, ya han mencionado otros autores en otras localizaciones (Baylis and Rawlings, 1998).

También podría pensarse que la vegetación densa, sobre todo de tipo arbóreo, podría proteger a estos insectos del viento lo que favorecería el desarrollo y cría de *Culicoides*. En un estudio realizado en Dinamarca (Kirkeby *et al.*, 2013), hallan que un viento racheado tiene una influencia negativa en la captura de estos dípteros, si bien la velocidad del viento no produce variación en la cantidad de ejemplares detectados. Por su parte, Carpenter *et al.* (2008), determinaron que un viento de más de 3 m/s es un factor negativo para la captura de dípteros de este género. Por tanto, y según nuestros resultados, creemos que la presencia de superficie arbórea en Extremadura sería favorable para el desarrollo de los *Culicoides*.

5.1.1.1 Especies de *Culicoides*.

Como ya vimos en el apartado de resultados, se recogieron un total de 22 especies del género *Culicoides*. Esto supone un menor número de las 53 especies que capturan Talavera *et al.* (2011) en Cataluña o de las 37 que describen González *et al.* (2013) en su muestreo en una granja en el País Vasco. Sin embargo, estos resultados son similares a las 21 especies que identifican Alarcón-Elbal *et al.* (2016) en Castilla-La Mancha o incluso superiores a las 15 especies que determinan Pérez *et al.* (2012) en Andalucía o a las 13 especies que describe Durán (2012) también para el caso de Castilla-La Mancha. Como ya indicamos, la gran diferencia de nuestro estudio con la mayoría de los trabajos expresamente realizados para la captura de *Culicoides*, fue que en nuestro trabajo la colocación de las trampas no se realizó sólo en explotaciones ganaderas, sino en un gran abanico de biotopos y ecosistemas.

La especie *C. circumscriptus* representó el 23,44 % de todos los ejemplares de *Culicoides* capturados en nuestro estudio. Esta especie fue detectada por primera vez en España por De Prada and Gil Collado en el año 1959. En algunos estudios realizados en Castilla-La Mancha (Comunidad Autónoma vecina) se obtienen porcentajes algo menores de esta especie, como los trabajos de Durán en 2012 con un 13,4 %, o los de Alarcón-Elbal en 2015 y Alarcón-Elbal *et al.* en 2016 con porcentajes aproximados del 9,4 %. Estos hallazgos diferentes a los de nuestro trabajo, probablemente sean debidos a la diferente metodología utilizada. Como ya mencionamos anteriormente, en la mayoría de la literatura consultada, los autores sitúan las trampas de captura en explotaciones ganaderas, que normalmente son buenas zonas de cría, sobre todo para algunas especies como *C. obsoletus* (González *et al.*, 2013). Sin embargo, en nuestro caso, se han abarcado zonas de muy diversas características medioambientales y geográficas ya que nos permitirían comprobar la presencia de *Culicoides* en diferentes ecosistemas y zonas naturales. De hecho, gracias a este planteamiento, se ha podido comprobar la gran distribución de este díptero en esta región, con las consecuencias para la ganadería, debido a su papel como vector de enfermedades. Esta diversidad de hábitats ya fue comprobada por otros autores como Braverman *et al.* en 1974. *C. circumscriptus* ha sido capturada en casi todas las áreas de muestreo y entre los meses de marzo a diciembre, por lo que podemos afirmar su capacidad de adaptación a diferentes ecosistemas. Por diversos autores, se conoce que la temperatura mínima de desarrollo de esta especie es de 14°C. En otras regiones, el pico máximo de capturas se produce sobre el mes de junio, tanto en Andalucía como en Castilla-La Mancha (Ortega *et al.*, 1999; Alarcón-Elbal *et al.*, 2016), si bien en nuestro estudio en el caso de Extremadura, este pico parece que fue un poco más tardío, entrado ya julio. Esta especie tiene una gran importancia veterinaria y biológica, debido a que

C. circumscriptus tiene un marcado comportamiento ornitofílico (Martínez-de la Puente *et al.*, 2009; Votýpka *et al.*, 2009; Pettersson *et al.*, 2013), actuando como vehiculador de diferentes parásitos hemáticos aviares como *Haemoproteus* y *Plasmodium* (Martínez-De La Puente *et al.*, 2011), si bien, en ausencia de éstas también se ha comprobado que podría alimentarse de mamíferos (Slama *et al.*, 2015).

Otras de las especies detectadas fue *C. punctatus*, representando el 13,47 % de las capturas. Fue diagnosticada por primera vez en España por Havelka en 1982. En Castilla-La Mancha, se obtiene un porcentaje del 20,6 % en los trabajos de Alarcón-Elbal, 2015 o Alarcón-Elbal *et al.*, 2016, mientras que llega al 34,6 % en el estudio realizado fuera de explotaciones ganaderas en esa misma región (Durán, 2012), siendo la especie más numerosa capturada en dicho trabajo. Es una especie que se encuentra ampliamente distribuida por toda la geografía española, encontrándose en las Islas Baleares (Del Rio López *et al.*, 2012), Cataluña (Havelka, 1982), Extremadura (Martínez-Sánchez *et al.*, 2007) o Andalucía (Ortega *et al.*, 1999). Del mismo modo, González en 2014 obtiene capturas en las proximidades de las instalaciones ganaderas, pero también en hábitats naturales de las tres provincias vascas, constatándose su tendencia a criarse al borde de los bebederos de las explotaciones (González *et al.*, 2013; 2014). Debido a su proximidad taxonómica con la especie *C. pulicaris* y que se ha detectado el virus en su interior mediante PCR (Goffredo *et al.*, 2015), podría sospecharse un posible papel en la transmisión de la lengua azul, si bien este hecho no ha podido ser aún confirmado (Carpenter *et al.*, 2006; Patakakis *et al.*, 2009). Estas características hacen que esta especie cobre especial importancia, unido además a su amplio rango de supervivencia térmica.

La especie *C. imicola* fue detectada por primera vez en España muy tardíamente por Mellor *et al.* (1983). En nuestro estudio, ha representado el 9,34 % de los ejemplares capturados. Al igual que la especie anterior, tiene un amplio rango de distribución, documentándose su presencia en 2001 en las Islas Baleares con un 37 % en Mallorca (Miranda *et al.*, 2004). De igual modo, ha sido detectada en Cataluña (Sarto i Monteys and Saiz-Ardanaz, 2003), y se sitúa entre las cuatro especies más frecuentes de Andalucía (Pérez *et al.*, 2012). En un estudio en Castilla-La Mancha se obtiene un porcentaje del 33 % (Alarcón-Elbal *et al.*, 2016), aunque unos años antes no se había detectado su presencia en esta región en zonas externas a explotaciones ganaderas (Durán, 2012). Además, esta especie ha sido detectada incluso en el País Vasco, aunque en muy escaso número, por lo que su presencia en esta zona se considera puntual (Goldarazena *et al.*, 2008). En Extremadura, en un trabajo de Sánchez-Murillo *et al.* en el año 2011, *C. imicola* supuso el 66 % de las capturas, de los que el 93,42 % fueron hembras y el 6,58 % machos, algo inferior

al 10 % de machos que se encontraron en nuestros resultados. Nuevamente, cabe destacar que en la mayoría de artículos consultados, se indica que las capturas se han realizado en áreas de explotaciones ganaderas, que, como ya se ha demostrado, son las zonas más óptimas de cría para esta especie (Mellor and Pitzolis, 1979). Este hecho explicaría la diferencia de porcentajes recopilados por otros autores respecto a nuestro trabajo. Debido a la gran distribución geográfica que ya se ha comentado de esta especie, se considera *C. imicola* como principal transmisor de la lengua azul en la zona mediterránea (Purse *et al.*, 2005), además de ser también el principal vector de la peste equina africana en esta zona (Meiswinkel *et al.*, 2000). Igualmente, el aumento de la temperatura global está permitiendo a esta especie desplazarse hacia el norte, por lo que se piensa que alcanzará el norte de Francia, Bélgica y Suiza en este siglo (Lucientes, 2014; Bett *et al.*, 2017). Esta especie ha sido descrita en diversos países como Italia (Guercio *et al.*, 2010), Portugal (Capela *et al.*, 2003), Grecia (Patakakis *et al.*, 2009) o en la Francia continental arrastrado por corrientes de aire provenientes de la isla francesa de Córcega (Jacquet *et al.*, 2016).

Como indicábamos anteriormente, la mayoría de los ejemplares se detectan con temperaturas cálidas, sobre todo durante los meses de verano, coincidiendo con lo que indican Sánchez-Murillo *et al.* en 2011 en Extremadura, quienes concluyen que esta especie necesita temperaturas elevadas para reproducirse y por eso empieza a volar entre mayo-junio hasta noviembre-diciembre y su pico de abundancia aparece entre agosto y octubre. Esto coincide casi totalmente con lo que se encontró en nuestro trabajo, detectando el pico de capturas en el mes de agosto. A su vez, también está de acuerdo con lo que indican Ortega *et al.* (1999), quienes sitúan el incremento máximo de esta especie en Andalucía en junio y la temperatura idónea de desarrollo para esta especie entre 18 y 38°C. Todos estos resultados coinciden con los diferentes modelos de predicción de esta especie en Europa (Dascălu *et al.*, 2007; Purse *et al.*, 2007; Gubbins *et al.*, 2008; Ippoliti *et al.*, 2013) y en España (Calvete *et al.*, 2008b; Acevedo *et al.*, 2010), los cuales señalan a la temperatura como factor más influyente en la presencia de *C. imicola*. Además, la tendencia a disminuir según aumenta la altitud, también ha sido descrita en otros trabajos, resultando este factor como limitante en la expansión de esta especie, debido a su escasa adaptación al clima de montaña (Ippoliti *et al.*, 2013; Foxi *et al.*, 2016).

Respecto a *C. pulicaris* fue capturada en un 7,38 % del total de *Culicoides*. Esta especie fue detectada por primera vez en España por Strobl (1900). Ha sido documentada en Cataluña y en el País Vasco, situándose sus porcentajes entre el 1,5 % y el 20,9 % (Sarto i Monteys *et al.*, 2005; Romón *et al.*, 2012; González *et al.*, 2013; González, 2014). También se sitúa entre las cuatro especies más frecuentes de Andalucía (Pérez *et al.*, 2012) y entre un 7,8 % y un 13,4 % en

Castilla-La Mancha (Alarcón-Elbal, 2015; Alarcón-Elbal *et al.*, 2016; Durán, 2012). En un estudio previo en Extremadura, supuso el 0,66 % de las capturas (97,52 % hembras y 2,41 % machos, siendo estos similares al 2,07 % de machos de nuestro estudio) (Sánchez-Murillo *et al.*, 2011). Como vemos en la distribución por las diferentes zonas geográficas de España, se obtienen resultados que coinciden con los obtenidos en nuestro estudio, excepto en el caso de Extremadura, aunque eso puede ser debido a circunstancias específicas de las zonas de muestreo de este estudio. No obstante, lo que sí está claro es que en todos los trabajos es coincidente la época de mayores capturas, que son los meses de verano.

Esta especie ha demostrado que es transmisor de la lengua azul, por lo cual, tiene una especial importancia en las zonas de centro y norte de Europa (Mellor *et al.*, 1990; Caracappa *et al.*, 2003; Romón *et al.*, 2012).

Los modelos de predicción de esta especie la describen como una de las de mejor adaptación a zonas montañosas de Europa (Kaufmann *et al.*, 2009, 2012; Tschuor *et al.*, 2009; Foxi *et al.*, 2016), por su buena capacidad de adaptación al frío (Nielsen *et al.*, 2010; Ander *et al.*, 2012). Precisamente, y coincidiendo con estas afirmaciones, en nuestro trabajo las zonas de captura de esta especie se han centrado en la comarca de “La Vera”, zona montañosa al norte de la provincia de Cáceres.

Culicoides festivipennis fue detectada por primera vez en España por De Prada and Gil Collado en 1959. En nuestro estudio, se ha encontrado en un porcentaje del 6,48 %. En Castilla-La Mancha, se obtiene un porcentaje del 2,5 %. (Alarcón-Elbal, 2015; Alarcón-Elbal *et al.*, 2016), algo inferior a nuestros resultados. Es una especie que, debido a su carácter ornitófilo, alimentándose en gran medida de aves de corral (Kitaoka and Morii, 1963) es sospechosa (al igual que *C. univittatus*) de transmitir *Leucocytozoon caulleryi*.

Culicoides newsteadi se detectó por primera vez en España por Sahuquillo-Herráiz and Gil-Collado (1982a). En muestreos realizados en Castilla-La Mancha, esta especie supone entre el 12,6 % (Alarcón-Elbal, 2015; Alarcón-Elbal *et al.*, 2016) y el 11,7 % (Durán, 2012) del total de capturas realizadas. Estos resultados son superiores a los obtenidos en nuestro trabajo, con el 3,68 %, pudiendo deberse al carácter mamófilo de esta especie, por lo que, en muestreos realizados en explotaciones ganaderas, normalmente será más fácil encontrarla. Además, dada su cercanía a la especie *C. pulicaris*, se sospechaba de su participación como vector de la lengua azul (Carpenter *et al.*, 2006; Patakakis *et al.*, 2009), algo que actualmente queda fuera de dudas, al demostrarse como uno de los principales transmisores de esta enfermedad en Cerdeña (Foxi *et al.*, 2016), especialmente en épocas más frías. Esta especie soporta una temperatura mínima de sólo 12°C

(Ortega *et al.*, 1999) por lo que tomaría especial relevancia en circunstancias ambientales en las que *C. imicola* no es capaz de desarrollarse. De hecho, en estudios realizados en Andalucía, sitúan el pico de capturas de esta especie en mayo (Ortega *et al.*, 1999), lo que concuerda con las temperaturas cálidas que describíamos para esta especie, aunque no tan elevadas como en el caso de *C. imicola*. Esta mayor plasticidad de *C. newsteadi*, le permite colonizar zonas montañosas que por sus características topoclimáticas, resultarían imposibles para *C. imicola*, pudiendo actuar como vector de la lengua azul en dichas zonas (Foxi *et al.*, 2016). En nuestro estudio, esta plasticidad se ha puesto claramente de manifiesto, ya que se ha capturado en zonas calurosas del sur de la región y también en zonas de “La Vera”, zona montañosa del norte de Cáceres.

Respecto a *C. univittatus* se detectó por primera vez en España en 1992 (Anónimo, 1992). En nuestras capturas supuso un 1,68 % del total, resultado similar a los obtenidos por otros autores en Castilla-La Mancha con un 2,9 % (Alarcón-Elbal, 2015; Alarcón-Elbal *et al.*, 2016) o el 2 % (Durán, 2012). Como en el caso de *C. festivipennis*, esta especie tiene un marcado carácter ornitófilo, alimentándose en gran medida de aves de corral (Kitaoka and Morii, 1963), y por tanto constituye una de las especies sospechosas de la transmisión de *Leucocytozoon caulleryi*. Un hecho bastante llamativo de esta especie es la fenología tan diferente que tiene respecto al resto de especies de este género, ya que se capturó principalmente a temperatura frías y sobre todo en los meses de primavera, otoño, e incluso invierno, por lo que podría actuar como vector incluso en las épocas más frías en zonas del sur de España.

Las capturas de *C. maritimus* supusieron el 1,71 % del total de ejemplares. Esta especie fue detectada por primera vez en España por Callot *et al.* en 1975.

En el caso de *C. obsoletus* s.l. (0,73 % del total de capturas) fue detectada por primera vez en España por Strobl (1906). Posteriormente, ha sido documentada en Cataluña (Sarto i Monteys *et al.*, 2005) y es la especie más importante en el País Vasco, encontrando porcentajes entre el 92,3 % y el 58,5 % (Romón *et al.*, 2012; González *et al.*, 2013). En la isla de Mallorca, también se obtiene un porcentaje elevado (32,3 %) (Miranda *et al.*, 2004), y en Andalucía se sitúa entre las cuatro especies más frecuentes (Pérez *et al.*, 2012). También ha sido descrita en Canarias como la única especie capturada en varios muestreos (Martínez-de la Puente *et al.*, 2012). Por otro lado, en un estudio en Castilla-La Mancha se obtiene un porcentaje de esta especie del 6,2 % (Alarcón-Elbal, 2015; Alarcón-Elbal *et al.*, 2016), pero en la misma zona en un estudio fuera de explotaciones ganaderas unos años antes no se detectó ningún ejemplar de esta especie (Durán, 2012). Por tanto, y teniendo en cuenta estos trabajos, la mayoría de los resultados descritos en España obtienen

porcentajes de captura superiores a los obtenidos en nuestro estudio. Este hecho tiene relación con que la mayoría de estos trabajos se han realizado en explotaciones ganaderas, hábitat mucho más favorable para el desarrollo de esta especie. De hecho, parece que las zonas de estiércol son los lugares de cría de preferencia de esta especie (González *et al.*, 2013). Según algunos autores como Mehlhorn *et al.* (2007), es el principal vector de la lengua azul en el centro de Europa, indicando que *C. obsoletus* suponía el 97 % de los ejemplares capturados en las explotaciones afectadas por esta enfermedad. En Extremadura, en un trabajo previo realizado en explotaciones ganaderas, esta especie supuso el 0,1 % de las capturas (92,86 % hembras y 7,14 % machos, similar al 9 % de machos de nuestro trabajo) (Sánchez-Murillo *et al.*, 2011) resultados incluso inferiores a los de nuestro estudio. En el norte de Europa, el complejo *C. obsoletus/C. scoticus* es más abundante durante mayo y junio y en agosto-septiembre, aunque permanecieron activos entre marzo y noviembre (Ander *et al.*, 2012). Este hecho ocurre en la mayoría de las regiones de España, situándose la época de pico de capturas en primavera (Ortega *et al.*, 1998, 1999; Sarto i Monteys and Saiz-Ardanaz, 2003; Miranda *et al.*, 2004; Sánchez-Murillo *et al.*, 2011), si bien en el estudio de Arenas-Montes en 2013 se observan las densidades más altas en épocas de temperaturas frías o de altitud elevada en la región andaluza. Además, se ha demostrado que en Suiza es capaz de situarse por encima de los 2000 metros de altitud (Kaufmann *et al.*, 2009, 2012; Tschuor *et al.*, 2009) y que está más adaptada a estas zonas que *C. imicola* (Foxi *et al.*, 2016). Estos hechos coinciden con que, en nuestro estudio, el mayor número de ejemplares se ha capturado en zonas montañosas, como son la comarca de “La Vera” o “Las Villuercas”, al noreste de Cáceres.

Otra de las especies capturadas ha sido *C. nubeculosus* que fue detectada por primera vez en España por De Prada and Gil Collado en 1959. Se sitúa entre las cuatro especies más frecuentes de Andalucía (Pérez *et al.*, 2012) y en Castilla-La Mancha supuso el 1,4 % (Alarcón-Elbal *et al.*, 2016). En nuestro estudio, fue del 0,36 %, algo inferior a los detectados en otras regiones. Esta especie tiene una elevada importancia desde el punto de vista epidemiológico, ya que se ha demostrado como vector de *Onchocerca cervicalis* (Mellor, 1974), siendo portador también del virus de la enfermedad epizoótica hemorrágica (Jennings and Mellor, 1988) y habiéndose demostrado que el virus de la lengua azul es capaz de replicarse dentro de los dípteros adultos de esta especie en condiciones de laboratorio (Dik *et al.*, 2012).

La especie *C. parroti* se obtuvo en un porcentaje del 0,26 % y fue descrita por primera vez en España por De Prada and Gil Collado (1959). Nuestro resultado es casi idéntico al encontrado por Alarcón-Elbal *et al.*, 2016 en Castilla-La Mancha con un 0,3 %. Al igual que *C. nubeculosus*, esta especie tiene un importante papel

epidemiológico, ya que también actúa como vector de *O. cervicalis* y además es una especie a vigilar por su cercanía taxonómica a *C. sonorensis*, que es el principal transmisor de la lengua azul en Estados Unidos (Sarto i Monteys *et al.*, 2009).

El resto de especies halladas son de menor importancia epidemiológica y algunas de ellas se encontraron en un porcentaje bastante bajo. Así, tenemos a ***Culicoides spp.***, con un porcentaje del 15,38 %, donde se incluyeron los ejemplares de alas grises, imposible de identificar morfológicamente a nivel de especie. Lo que fue evidente fue la preferencia de este grupo por las temperaturas cálidas y con una amplia distribución geográfica. Otras especies encontradas fueron ***C. fagineus***, con el 6,97 %, detectada por primera vez en España por Sánchez-Covisa *et al.* (1979) o ***C. longipennis***, con el 6,32 %, detectada por primera vez en España por Havelka (1982) y cuyo hallazgo ha sido pionero en la región extremeña. ***C. odiatus*** y ***C. paolae*** fueron capturadas en bajos porcentajes (0,73 % y 0,56 %, respectivamente) y se detectaron por primera vez en España por Mellor *et al.* (1983) y por Estrada *et al.* (2011), respectivamente. El **Grupo *C. atripennis*** solo fue identificado en el 0,20 % de los ejemplares, no pudiéndose identificar a nivel de especie, si bien dos de ellas ya fueron descritas en Portugal (*C. atripennis* y *C. pallidicornis*) y las otras dos también han sido detectadas previamente en España: *C. achrayi* (Capela *et al.*, 1992) y *C. furcillatus* (Sarto i Monteys *et al.*, 2009). Tanto ***C. riethi*** (0,09 %) como ***C. pictipennis*** (0,09 %) como ***C. impunctatus*** (0,06 %) fueron descritas por primera vez en España por De Prada and Gil Collado (1959). Además, esta última especie tiene preferencia por las zonas de pastos y además, parece ser la especie mejor adaptada al frío de Escocia (Purse *et al.*, 2012). El hallazgo de ***C. accraensis*** (0,08 %) ha supuesto la primera detección de esta especie en Extremadura, ya descrita en España por Sahuquillo-Herráiz and Gil-Collado (1982). Finalmente, ***C. puncticollis*** (0,03 %) y ***C. fascipennis*** (0,02 %) han sido halladas en porcentajes realmente muy bajos en nuestro estudio y fueron descritas por primera vez en España por Strobl (1900) y De Prada and Gil Collado (1959), respectivamente.

5.1.2 Dípteros necrófagos.

En el presente trabajo, se capturaron un total de 12.452 dípteros necrófagos, número inferior al de estudios similares como el de Saloña Bordas *et al.* (2009) en el País Vasco, con un total de 44.551 ejemplares, si bien hay que tener en cuenta que el número de muestreos en nuestro estudio fue inferior al de estos autores (528 frente a 720 muestreos realizados). Otra explicación de este menor número de dípteros capturados, sin duda puede ser por la duración del muestreo, ya que las trampas se colocaban durante 24 horas por las limitaciones metodológicas y de recursos humanos disponibles, en lugar de los 3 días que proponen autores como Martínez-Sánchez (2003) o Saloña Bordas *et al.* (2009). Este hecho ha podido conllevar que el tiempo de atracción de los dípteros hacia el cebo haya resultado quizás escaso (Prado e Castro *et al.*, 2011; Pérez-Bote *et al.*, 2012), ya que en muchos casos, estos insectos tardan en llegar varios días al atrayente.

En general, nuestros resultados evidencian lo que ya indicaban gran cantidad de autores, y es que las larvas y adultos de dípteros de las familias Calliphoridae, Muscidae y Sarcophagidae son considerados como los principales responsables de la degradación de la materia orgánica animal en los ecosistemas mediterráneos (Tantawi *et al.*, 1996; Castillo, 2002). La familia Fanniidae también supuso un elemento importante en las comunidades de dípteros necrófilos por su abundancia relativa, coincidiendo con autores como Arnaldos *et al.* (2001), siendo finalmente los dípteros de la familia Anthomyiidae y otras familias los que menor porcentaje representan según Castillo (2002). Sin embargo, esta última, se sitúa en nuestro estudio como la tercera familia más frecuente con un 3,39 % de las capturas.

5.1.2.1 Familia Calliphoridae.

La familia Calliphoridae fue la más frecuentemente capturada en las trampas WOT (76,48 %). Estos resultados son similares con otros estudios realizados tanto con trampas de cebo (Martínez-Sánchez, 2003; Hwang and Turner, 2005; Saloña Bordas *et al.*, 2009) como utilizando cadáveres (Arnaldos *et al.*, 2001; Pérez-Bote *et al.*, 2012; Velásquez *et al.*, 2015). Solamente en el caso del estudio de Castro *et al.* (2011), usando cadáveres de cerdo durante varios meses, proporciona un porcentaje muy inferior (27,78 %), posiblemente relacionado con la llegada temprana que tiene la familia Calliphoridae al cadáver, por lo que, al ser un estudio a tan largo plazo, el número de éstos respecto a otras familias se ve reducido. Lo que es evidente, es que por esta elevada densidad de capturas (sobre todo en los momentos tempranos de la descomposición), está considerada como la principal familia de dípteros necrófagos, justificándose la importancia de los dípteros de esta

familia en la entomología forense (Velásquez *et al.*, 2010), así como agente productor de miasis secundarias (Morris and Titchener, 1997; Hall, 1997).

En cuanto a la distribución por sexo, la captura de hembras en nuestras trampas fue mucho más frecuente (80,64 %), que la captura de machos (19,36 %), resultados similares al 69,54 % de hembras descritas en el trabajo de Saloña Bordas *et al.* (2009). Esto puede estar relacionado con lo que indican Stoffolano *et al.* (1995), quienes proponen que los machos no muestran una atracción tan directa hacia los cadáveres, sino que se emplazan en la vegetación cercana para esperar a las hembras que se aproximan y aparearse con ellas. Este hecho está asimismo relacionado, con que a diferencia de los machos, las hembras tienen necesidad de proteínas para completar la maduración de sus ovarios y llevar a cabo la reproducción, habiéndose demostrado que dietas con escasas proteínas reducen su fecundidad (Harlow, 1956; Stoffolano *et al.*, 1990).

El género *Calliphora* estuvo compuesto por dos especies principales: *C. vicina* (27,93 %) y *C. vomitoria* (4,52 %), siendo los resultados para *C. vicina* similares a estudios realizados tanto en el sudeste de España (Martínez-Sánchez, 2003) como en Portugal (Prado e Castro *et al.*, 2011). Sin embargo, en estos mismos estudios, los porcentajes de captura de *C. vomitoria* fueron muy divergentes entre ellos, detectándose en escaso número en el sudeste español y sin embargo hasta un 21,38 % en una zona urbana ajardinada de Portugal, por lo que se deduce que es de vital importancia determinar el hábitat específico de captura, ya que muestra gran influencia en la presencia de esta especie. Este gran contraste entre las especies detectadas, puede estar también marcado por el tiempo de aparición en los cadáveres, ya que en un estudio realizado en Extremadura (Pérez-Bote *et al.*, 2012) se observa que *C. vicina* aparecía el primer día y *C. vomitoria* no aparecía hasta el cuarto día. En otros estudios, el tiempo de aparición fue más semejante (Prado e Castro *et al.*, 2011). Ambas especies fueron ampliamente capturadas cuando la temperatura fue templada o fría. De hecho, son las especies de dípteros más frecuentemente observadas en invierno, aunque su punto de capturas más elevado se produjo en ambos casos en primavera. Este hecho explica la gran importancia que tiene este género en zonas del norte de la península ibérica, ya que si analizamos los datos de Saloña Bordas *et al.* (2009) en el País Vasco, podemos ver que este género supone más del 60 % de las capturas. Este hecho también está de acuerdo con la distribución bimodal que sigue *C. vicina* en la península ibérica, con máximos poblacionales en septiembre y junio, siendo mayor el máximo poblacional detectado en primavera, como nos indican otros autores (Hernández-Moreno, 1998; Martínez-Sánchez *et al.*, 2000b). Sin embargo, en la zona sudeste de la península, se ha detectado que el máximo poblacional de este género se produce en febrero (Martínez-Sánchez, 2003) no capturándose en verano y demostrando así que este

género es el que va a ocupar el rango de temperaturas frías-templadas en la península. Según la bibliografía consultada, *C. vicina* fue la especie más frecuente en invierno en gran parte de la península ibérica (Martínez-Sánchez *et al.*, 2000b; Arnaldos *et al.*, 2001, 2005; Castillo, 2002; Martínez-Sánchez, 2003).

En nuestro estudio, hubo una disminución clara en las capturas de ambas especies según aumentaba la temperatura, especialmente evidente por el brusco descenso en verano con temperaturas extremas. Esto ya lo indican Azevedo and Krüger (2013), al observar una tendencia prácticamente a desaparecer cuando las temperaturas son más elevadas. No obstante, en este mismo estudio y en el de Ferraz *et al.* (2010), se muestra que el factor que más afectaba a la presencia de *C. vicina* es la humedad relativa. Este hecho está de acuerdo también con la presente Tesis, con un aumento claro de las capturas conforme aumentaba la humedad. En el género *Calliphora* esta característica cobra especial importancia, ya que según otros autores, los imagos comienzan a detectarse después de las primeras lluvias de septiembre y de abril, como consecuencia del marcado carácter higrófilo de la especie (Martínez-Sánchez, 1997).

Calliphora vicina se encontró ampliamente distribuida por todas las comarcas y zonas muestreadas, indicando su fácil adaptación a diferentes ecosistemas. Además, según algunos autores (Hwang and Turner, 2005) tiene un carácter más antropofílico que su congénere *C. vomitoria*. Esta última también ha sido capturada en un gran número de comarcas, si bien mostró un claro aumento en las comarcas de “La Vera” y “Las Villuercas” que son zonas montañosas y con una vegetación mejor conservada, es decir, en un ambiente más natural y menos antropizado, como también han indicado otros autores (Nuorteva, 1963; Saloña Bordas *et al.*, 2009). De hecho es una especie que puede hallarse en zonas boscosas (Macleod and Donnelly, 1957) y rurales (Fremdt and Amendt, 2014), y en menor medida también se ha encontrado en áreas urbanas alimentándose de basura (Rognes, 1991).

En relación a las especies capturadas del género *Lucilia*, fue *L. sericata*, con un 54,65 % de los casos dentro de la familia Calliphoridae, la más abundante dentro de esta familia, coincidiendo con lo observado por Martínez-Sánchez (2003) en el sudeste español, por Martínez-Sánchez *et al.* (2000b) en el oeste de España o por Prado e Castro *et al.* (2016) en la isla de Madeira en Portugal. Sin embargo, también se han encontrado otros estudios donde *L. sericata* solo supuso el 2,86 % de los califóridos en el País Vasco (Saloña Bordas *et al.*, 2009). Por tanto, y en vista de las consultas realizadas, existe una clara influencia de la climatología en las capturas de esta especie, siendo mucho más frecuente en el sur, aunque pueda hallarse en amplias zonas peninsulares (Peris and González-Mora, 1991). Además, es muy probable que este alto porcentaje de capturas también se haya debido al

escaso tiempo de 24 horas que permanecían las trampas en los puntos de muestreo, siendo este díptero uno de los primeros en llegar y colonizar los cadáveres (Prado e Castro *et al.*, 2011; Pérez-Bote *et al.*, 2012).

Lucilia sericata, como ya vimos, mostró además una estacionalidad muy marcada hacia los meses de verano, aunque ya comenzó a observarse durante los meses de primavera (incluso a finales de febrero) y siguió presente durante los meses de otoño, llegándose a capturar incluso en el mes de diciembre. Estos hallazgos son compatibles con lo indicado por Martínez-Sánchez (2003), que establece un rango de actividad de entre 20 y 30°C, si bien en nuestro estudio ese rango térmico se vio claramente superado. Del mismo modo, tanto Grassberger and Reiter (2001), como Azevedo and Krüger (2013) proponían que el factor ambiental limitante más importante en esta especie era la temperatura. En este sentido, se ha observado que las capturas máximas van a depender de la climatología de la geografía de estudio. Así por ejemplo, en la zona sudeste de la península la máxima densidad de estos dípteros se produce a finales de primavera o principios de verano (Martínez-Sánchez, 2003), mientras que en zonas más frías, como la provincia de Salamanca, la máxima actividad se produce durante los meses de verano (Martínez-Sánchez *et al.*, 2000b). En otros estudios también es la especie más frecuente en verano (Arnaldos *et al.*, 2001, 2005; Castillo, 2002).

Respecto a su distribución geográfica, se observó una amplia presencia por toda la geografía extremeña, sugiriendo que esta especie es capaz de adaptarse también a una amplia gama de ecosistemas, como ya indican otros autores (Baumgartner and Greenberg, 1985; Peris and González-Mora, 1991; Fremdt and Amendt, 2014). Algunos de estos estudios ubican el hábitat ideal de la especie en zonas de vegetación con porte no arbóreo y medios antropizados. A la vista de esta amplia distribución, de su alta presencia en zonas humanas y de ser una de las primeras especies en llegar a las zonas de materia orgánica en descomposición (Denno and Cothran, 1975; Easton and Feir, 1991; Fisher *et al.*, 1998), *L. sericata* es uno de los dípteros a tener en cuenta en la entomología forense a la hora de determinar el PMI (Introna *et al.*, 1998), si bien, debemos tener en cuenta la posibilidad de ovoposición nocturna recientemente comprobada de diferentes especies de familia Calliphoridae, encontrándose entre ellas *L. sericata* (Williams *et al.*, 2017). Además, es importante tener en cuenta que esta especie es un agente productor de miasis ovinas en la Europa septentrional (Wall *et al.*, 1992; Hall, 1997) y un agente de miasis secundarias en la península ibérica, ya que, como acabamos de indicar presenta una amplia distribución geográfica y de ecosistemas, estando presente en la mayoría de zonas ganaderas (Greenberg and Povolny, 1971; Smith, 1986; Spradbery, 1991).

El resto de especies de este género se encontraron en mucho menor número. Se han capturado *L. caesar* (2,21 %), *L. illustris* (0,56 %) y *L. ampullacea* (0,12 %). Si las comparamos con otros estudios, podemos ver que en el sudeste peninsular, estas especies no se encuentran o están prácticamente ausentes (Martínez-Sánchez, 2003; Velásquez *et al.*, 2015). Sin embargo, en otras zonas más al noroeste como Coímbra en Portugal (Prado e Castro *et al.*, 2011) o en el norte en el País Vasco (Saloña Bordas *et al.*, 2009) estas especies son mucho más frecuentes, siendo incluso *L. caesar*, la especie más frecuente de este género. En nuestro estudio, la escasa presencia de estas especies podría deberse, como ya indicamos para *L. sericata*, al escaso tiempo que permanecía la trampa en el punto de muestreo. En algunos trabajos, como el de Castro *et al.* (2011) tanto *L. ampullacea* como *L. caesar* aparecen a partir del día 2 en los cadáveres analizados, mientras que *L. illustris* aparece a partir del día 4 e incluso en otro estudio en Extremadura (Pérez-Bote *et al.*, 2012), *L. caesar* no aparece hasta el día 6. Además, en el caso de estas tres especies, vemos que la mayoría de las capturas se produjeron en los meses cálidos, sobre todo a finales de primavera y principios de verano, estando de acuerdo con lo indicado por Azevedo and Krüger (2013) o Klong-klaew *et al.* (2014). No obstante, hay que señalar que las temperaturas más extremas del verano en la región extremeña dejaron de ser favorables para la presencia de estos dípteros.

En cuanto a la distribución geográfica de estas especies, *L. caesar* se encontró ampliamente distribuida por toda la geografía de estudio, con un cierto acúmulo de capturas en la zona noreste de la provincia de Cáceres. Las otras dos especies (*L. ampullacea* y *L. illustris*) manifestaron una distribución más irregular, aunque también con un cierto aumento en las zonas norte de la provincia de Cáceres. Martínez Sánchez *et al.*, 2000 indicaba que *L. caesar* solía concentrarse en zonas boscosas del oeste de España, mientras que *L. illustris* tenía como hábitat de predilección zonas de abundante vegetación (Macleod and Donnelly, 1957). Estas afirmaciones concuerdan con los hallazgos de nuestro estudio, ya que las zonas del norte de Cáceres son las más boscosas y las que tienen una naturaleza menos antropizada, considerando estas especies como un indicador del medio rural (Fremdt and Amendt, 2014). Además, estas zonas del norte concuerdan con que *L. illustris* no sea capaz de desarrollarse a una temperatura de más de 35°C (Wang *et al.*, 2016). En el caso de *L. ampullacea*, sus capturas fueron realmente escasas y en las mismas zonas geográficas que las anteriores. Algunos autores han señalado que es una especie que podía encontrarse en una amplia variedad de hábitats (Nuorteva, 1963, 1966; Davies, 1999), aunque otros autores (Saloña Bordas *et al.*, 2009) también la señalan como un indicador del medio rural.

En el género *Chrysomya*, solo se ha encontrado la especie *Ch. albiceps*, con una frecuencia del 9,87 %. Estos resultados son similares a los hallados en el sudeste peninsular (Martínez-Sánchez, 2003) y muy superiores a los de las zonas norte (Salonia Bordas *et al.*, 2009), demostrando que es mucho menos frecuente en zonas más frías. En el trabajo de Velásquez *et al.* (2011), se encontraron prevalencias muy elevadas de esta especie, al analizar larvas en cadáveres de cerdo, posiblemente por la elevada competencia respecto a otros dípteros, habiéndose comprobado su tendencia a competir y desplazar a otras especies (Peris, 1987) ya que sus larvas son depredadoras de otras larvas de dípteros (Guimarães *et al.*, 1978). Por tanto, esta es una especie a tener en cuenta en el estudio de la entomofauna necrófaga, especialmente en las zonas cálidas, siendo uno de las principales herramientas de la entomología forense para determinar el PMI (De Carvalho *et al.*, 2012), habiéndose probado, como para el caso de *L. sericata*, la ovoposición nocturna para esta especie (Williams *et al.*, 2017).

En cuanto a su estacionalidad, se trata de una especie que se capturó sobre todo en la época de verano, cuando las temperaturas son más elevadas, aunque Arnaldos *et al.* (2005) y Velásquez *et al.* (2011) la consideran como la especie más frecuente en otoño en la zona mediterránea. Algunos autores aseguran un marcado carácter termófilo de *Ch. albiceps* (Martínez-Sánchez *et al.*, 2002; Azevedo and Krüger, 2013), mostrando un requerimiento térmico de 21°C de mínima y 33°C de máxima (Martínez-Sánchez, 2003), algo que coincide con lo observado en nuestra Tesis. Por otro lado, hay que tener en cuenta que este díptero ha sido descrito como productor de miasis en zonas de África u América (González-Mora and Peris, 1988), por lo que habría que estar alerta por la posibilidad de infección a la cabaña ganadera en las zonas de desarrollo de esa especie.

Si analizamos la distribución geográfica de este díptero, podemos observar que se encontró ampliamente distribuido por todas las zonas de la geografía extremeña, con una tendencia mayor en la zona sur, lo que puede estar relacionado con este carácter termófilo que anteriormente indicábamos (Queiroz, 1996; Martínez-Sánchez *et al.*, 2002; Azevedo and Krüger, 2013). Ya Martínez-Sánchez *et al.* (2002) indicaron la amplia distribución de esta especie por la mayor parte de España, gracias a su gran capacidad de dispersión y a su capacidad de asociación con zonas humanas.

Entre el resto de especies detectadas dentro de la familia Calliphoridae, destaca *P. terraenovae*, ya que uno de los objetivos planteados en este trabajo fue realizar una vigilancia epidemiológica de la misma para comprobar si podía convertirse en una especie invasiva, a través del uso de sus larvas como cebo de pesca. De esta especie solo se han obtenido 4 ejemplares, lo que supone un 0,04 % dentro de la

familia Calliphoridae, datos similares a los encontrados en Portugal (Prado e Castro *et al.*, 2011) donde esta especie supone un 0,11 %. Se ha detectado en 4 lugares diferentes dentro de la geografía estudiada, habiéndose descrito en España anteriormente solamente escasos ejemplares en el pirineo aragonés (González-Mora and Peris, 1988), en áreas montañosas de la provincia de Alicante (Datos sin publicar) o en Madrid en el año 2005 (Martínez-Sánchez *et al.*, 2015).

En cuanto a la época del año en las que se han encontrado dichos ejemplares, podemos indicar que ha sido entre primavera y otoño, no habiéndose detectado en invierno, a pesar de ser una especie holártica (Rognes, 1991) y por tanto, capaz de desarrollarse en temperaturas frías y zonas de gran altitud (Grassberger and Reiter, 2002). Por tanto, el hallazgo de estos ejemplares en nuestra comunidad hace pensar en una introducción accidental de esta especie en nuestra zona de estudio, posiblemente a través del uso de “asticot” como cebo de pesca, ya que se ha determinado como la especie más utilizada para este tipo de cebos (Porcel-Carreño, 2007), que además provoca reacción alérgica por contacto en el 7 % de los pescadores que lo utilizan en la pesca deportiva (Porcel-Carreño *et al.*, 2009).

A la vista de estos resultados, deberíamos también estar vigilantes a la evolución de esta especie en nuestra zona geográfica, ya que ha sido descrita como productora de miasis en ovejas en zonas del norte de Europa como Escocia (Zumpt, 1965; Morris and Titchener, 1997). Al estar mejor adaptada a temperaturas frías que otras especies miasígenas autóctonas, podrían infectar a los animales en épocas en las que no lo hacen las autóctonas por tener inhibido su desarrollo. Además, esto apoya un posible avance geográfico de esta especie en España y con ello la importancia de estudios como el de Martínez-Sánchez *et al.* (2015), para su aplicación en la entomología forense.

Además de la anterior especie, se encontraron escasos ejemplares del género *Pollenia* (1 ejemplar) y de la especie *Stomorhina lunata* (1 ejemplar). Estos ejemplares se encuentran de una forma esporádica debido en gran medida, a que las trampas utilizadas no son las más adecuadas para las capturas de estas especies de dípteros. Este género y esta especie se encuentran en escaso número en otros estudios en el sudeste de España (Martínez-Sánchez, 2003) o en Portugal (Prado e Castro *et al.*, 2011, 2016). La mayoría de especies del género *Pollenia* son mayoritariamente depredadores o parásitos de invertebrados (Martínez-Sánchez *et al.*, 1998) mientras que *Stomorhina lunata* es considerada como un parásito de nidos de hormigas (Bharti and Bharti, 2016), encontrándose los adultos sobre todo en la vegetación y concretamente en las flores (González-Mora and Peris, 1988).

5.1.2.2 Familia Muscidae.

La familia Muscidae fue la segunda con mayor número de ejemplares detectados, suponiendo el 15,96 % de las capturas de dípteros necrófagos en nuestro estudio. Estos resultados son muy superiores a los obtenidos por Martínez-Sánchez (2003) en el sudeste de España. Sin embargo, fueron similares a los de Arnaldos *et al.* (2001) también en el sudeste español y a los obtenidos por Pérez-Bote *et al.* (2012) en el oeste e inferiores a los encontrados para Portugal (Prado e Castro *et al.*, 2011). Está claro que existe una clara influencia de factores como las características medioambientales, climáticas o de presencia humana en relación a la mayor o menor presencia de esta familia.

Esta familia se detectó en mayor medida en las épocas de verano con temperaturas elevadas, tal y como también se hallaron en los trabajos de Azevedo and Krüger (2013) y Klong-klaew *et al.* (2014). A pesar de ello, hay que mencionar que se han capturado ejemplares de esta familia en todos los meses del año, excepto en enero. Estos resultados difieren en parte con las conclusiones del trabajo de Gallego-Berenguer (2007), quien indica que para nuestro clima de España, los adultos de esta familia pueden estar presentes desde la primavera hasta comienzos del invierno.

Esta familia ha sido documentada como especie productora de miasis secundaria, por lo que si aumenta la época de actividad de estos adultos, también podría aumentar la época en la que es posible encontrar miasis causadas por esta familia (Huckett and Vockeroth, 1987).

En cuanto a la distribución geográfica de la misma, podemos comprobar que se encontró ampliamente distribuida por toda la geografía estudiada, coincidiendo con la amplia distribución mundial descrita para su especie más conocida que es la *Musca domestica*, aunque muestra cierta preferencia por las comarcas del sur, normalmente más cálidas, donde encontramos muestreos con mayor número de ejemplares.

5.1.2.3 Familia Anthomyiidae.

La frecuencia de presentación de esta familia ha sido del 3,39 % de los dípteros necrófagos capturados. Es un resultado inferior a uno de los estudios realizados en el sudeste de España (Martínez-Sánchez, 2003) y superior al resto, en los cuales se sitúa como un grupo residual (Arnaldos *et al.*, 2001; Prado e Castro *et al.*, 2011; Pérez-Bote *et al.*, 2012). Esta familia se halló en mayor cantidad durante la primavera, aunque se capturaron ejemplares durante todo el año, adaptándose a diversas condiciones meteorológicas. No obstante, su presencia solía estar bastante ligada al aumento de la humedad relativa, muy relacionado con la utilización habitual de materia orgánica vegetal para llevar a cabo su desarrollo larvario y, por tanto, sería muy importante la existencia de una buena humedad ambiental y del suelo para llevar a cabo esta reproducción. Igualmente, se detecta de forma ocasional en el proceso de descomposición de cadáveres (Castillo, 2002).

Se encontró distribuida por toda la geografía extremeña, aunque el mayor número de capturas se produjo en la zona de “Vegas Altas” que es una zona donde predomina el cultivo de regadío, con elevada humedad relativa y zona muy interesante desde el punto de vista biológico debido al comportamiento fungívoro, fitófago y fitosaprófago que tiene esta familia (Suwa and Darvas, 2000).

5.1.2.4 Familia Sarcophagidae.

Esta familia supuso el 1,93 % de los dípteros capturados en nuestro estudio, dentro de los cuales se ha detectado un solo ejemplar de *W. magnifica*. Este resultado es algo esperado debido a que los dípteros de esta especie son productores de miasis obligatorios, necesitando un hospedador vivo para reproducirse y por tanto las trampas WOT no son un buen método de captura para los mismos. Nuestros porcentajes son muy inferiores a la mayoría de los estudios realizados en España, ya sean en el sudeste (Arnaldos *et al.*, 2001; Martínez-Sánchez, 2003) o en Extremadura (Pérez-Bote *et al.*, 2012). El único trabajo que muestra un porcentaje similar al nuestro es el realizado en Portugal por Castro *et al.* (2011). De igual manera, estos dípteros no suelen aparecer hasta el día 2 en los cadáveres, por lo que el tiempo de colocación de 24 horas de nuestras trampas tampoco resultó óptimo para su captura (Prado e Castro *et al.*, 2011; Pérez-Bote *et al.*, 2012). Otro aspecto importante, es que esta familia tiene un marcado carácter termófilo, ya que como ocurría con *Ch. albiceps*, se encuentra sobre todo en las épocas de verano con temperaturas elevadas y sobre todo con una mayor densidad en las comarcas del sur de la región. Este marcado carácter termófilo hace que esta sea una de las familias más utilizadas en entomología forense en los países centroeuropeos durante el periodo de verano (Cherix *et al.*, 2012), considerándose como la segunda

familia en llegar al cadáver (después de Calliphoridae) (Introna *et al.*, 1998). Por tanto, debería ser tenida en cuenta en la zona geográfica de muestreo para determinar el PMI. Además, no podemos obviar que los imagos de esta familia pueden realizar ovoposición nocturna, lo cual, puede complicar la determinación exacta en la que los dípteros llegan al cadáver (Singh and Bharti, 2008).

Esta familia ha sido documentada como productora de miasis tanto primarias como secundarias en España, pudiéndose alimentar sus larvas de las de otros dípteros como las de la familia Calliphoridae (Cordero del Campillo and Rojo, 1999).

5.1.2.5 Familia Fanniidae.

La familia Fanniidae representó el 0,86 % de los dípteros necrófagos capturados, un porcentaje bastante bajo, similar al que ya indicaron Pérez-Bote *et al.* (2012) previamente en Extremadura. Generalmente el porcentaje de capturas fue algo superior en otros estudios consultados (Arnaldos *et al.*, 2001; Martínez-Sánchez, 2003; Prado e Castro *et al.*, 2011) y está considerado como un díptero importante en la descomposición de cadáveres (Arnaldos *et al.*, 2001). La época del año con mayor número de capturas fue la primavera, aunque también se recogieron ejemplares en otras épocas, excepto en otoño. Suelen vivir en refugios y nidos de mamíferos, aves o insectos (Pont, 1986) por lo que habría que tener en cuenta estos hábitats para lograr el éxito en sus capturas.

5.1.2.6 Familia Ulidiidae.

Esta familia, ampliamente distribuida por Europa, representó el 0,75 % de imagos de nuestro estudio, capturándose sobre todo en épocas de temperaturas elevadas (primavera y verano), de acuerdo con los estudios de Azevedo and Krüger (2013) o Klong-klaew *et al.* (2014). En cuanto a la localización geográfica de las capturas fue bastante irregular, lo que puede estar relacionado con las diferentes características ambientales y de hábitat de las zonas de muestreo. Es un díptero que, como el caso de la familia Anthomyiidae, se haya de forma ocasional en el proceso de descomposición de cadáveres (Castillo, 2002).

5.1.2.7 Familia Scathophagidae.

Esta familia supuso el 0,63 % de las capturas de dípteros necrófagos. Tiene una amplia diversidad de sustratos de cría, aunque muestra preferencia por la materia vegetal en descomposición o incluso, alguna de sus especies, también por el estiércol, lo que podría explicar la escasez de ejemplares capturados. En relación a la evolución temporal de su densidad, se consiguieron capturar durante todo el año, excepto en los meses de enero y febrero, mostrando un carácter termófilo ya que la mayor concentración de ejemplares se produjo en los meses de verano, coincidiendo con otros autores como Azevedo and Krüger (2013) o Klong-klaew *et al.* (2014). Además, se han capturado en prácticamente todas las zonas de muestreo, lo que indica una amplia distribución de esta familia en toda la geografía extremeña.

5.2 Discusión dípteros productores de miasis.

5.2.1 *Temporalidad.*

La mayoría de los casos de miasis analizados en nuestro estudio se han producido durante los meses de verano, si bien, en mucha menor medida, también se han recogido larvas en heridas en la época de primavera y otoño, no habiendo diagnosticado ninguna miasis en invierno. Esto está relacionado con las épocas de temperaturas más elevadas y, por tanto, con la época en la que hay mayor densidad de dípteros y, coincidiendo, sobre todo, con la mayor actividad de la principal especie productora de miasis en España que es *W. magnifica*. Nuestros resultados coinciden con los de otros autores, que indican que el ciclo anual de este díptero se inicia en abril-mayo y finaliza en octubre-noviembre (Ruiz-Martínez and Cruz-Mira, 1994) o con estudios como los de Snoep *et al.* (2002) en Holanda, que nos indican que el mes con mayor incidencia de miasis es agosto.

Aunque en invierno no se hayan detectado miasis en el estudio realizado, resultó importante realizar una vigilancia sistemática también durante esta estación, ya que en los muestreos realizados con trampas WOT, se detectaron ejemplares adultos de *P. terraenovae*, una especie que ha sido descrita como agente productor de miasis en zonas del norte europeo (Morris and Titchener, 1997). La adaptación de esta especie a bajas temperaturas podría suponer la actuación de la misma sobre posibles heridas en los animales durante los meses de invierno, si bien, como ya se ha indicado, no se encontró ningún animal positivo con miasis durante los meses más fríos. No obstante, también hubo otras especies de mosca que fueron capturadas en épocas frías, como las del género *Calliphora*, que se han descrito como posibles productoras de miasis secundarias.

5.2.2 *Carga parasitaria y número de imagos obtenidos.*

La carga parasitaria media de L3 por foco larvario resultó ser baja, concretamente de 14,9, lo que la sitúa dentro del intervalo de entre 4 y 360 larvas por miasis que nos indican Pérez *et al.* (1997). No obstante, está muy por debajo de las 127 larvas de media por miasis que nos indican estos mismos autores, pudiendo ser debido a que las L3 son ya el último estadio (las que se recolectan en nuestro estudio) y, por tanto, solamente se encuentran en la herida durante unos días y en menor número que el resto de etapas. Además, en muchos casos, las medidas preventivas aplicadas por los ganaderos no son las adecuadas para una protección total frente a las miasis, pero sí que realizan una vigilancia bastante exhaustiva durante la época de mayor incidencia de esta enfermedad, por lo que las miasis de las que tomamos muestras

normalmente tenían pocos días. De hecho, tal y como indican Ruiz-Martínez *et al.* (1992b) el desarrollo post-embionario es de alrededor de 6 días y la tasa de mortalidad en dicho desarrollo larvario es de entorno al 50 % (Ruiz-Martínez, 1990; Ruiz-Martínez *et al.*, 1992b; d; e). Por tanto, el número de L1 y L2 que ha podido llegar a su última fase de desarrollo es escaso.

Como se describió en resultados, hubo una ligera diferencia, aunque no significativa, entre las L3 recogidas en los dos años de estudio, probablemente debida a factores como son la abundancia de dípteros, la climatología o la frecuencia con la que vigilaban las miasis en la zona. Asimismo, llama la atención que, en el año 2009, pese a que las miasis tenían un menor número medio de L3 que en el año 2008, los imagos obtenidos por eclosión de las pupas en el laboratorio fueron más numerosos, hecho que podría haberse debido a que las condiciones de temperatura y humedad relativa del laboratorio donde se produjo la fase de pupación fueron más favorables durante el último año.

5.2.2.1 Número de casos según distribución geográfica.

Debido, entre otras razones, a la facilidad en la recogida de muestras y a la mayor proximidad geográfica del centro laboratorial donde se ha desarrollado esta Tesis (dependencias de la Facultad de Veterinaria de Cáceres), la mayor parte de los casos de miasis analizados se han concentrado en tres áreas principales de Extremadura (las comarcas de “Cáceres”, “Valencia de Alcántara” y “Los Baldíos”). Cabe destacar que los focos larvarios en la zona de “Los Baldíos” tuvieron una carga parasitaria en L3 superior a la de las otras dos zonas principales, pudiendo ser debido a una mayor concentración de dípteros en el medio ambiente por un ecosistema más propicio para éstos, por una mayor carga ganadera en las zonas de recogida de las miasis o bien a que las técnicas ganaderas en esta zona no sean tan apropiadas para la lucha frente a las miasis. Según varios autores (Ruiz-Martínez and Cruz-Mira, 1994), los factores más importantes en cuanto a la temporalidad y aparición de las miasis en el caso de estar producidas por *W. magnifica* (que es el principal productor de miasis en el sur de Europa (Hall 1997)) son los medioambientales y climatológicos.

5.2.2.2 Número de larvas e imagos según hospedador.

El hospedador en el que encontramos un mayor número de casos de miasis fue el ovino (75,05 % de los casos). Este resultado está en perfecta concordancia con un gran número de estudios realizados en esta especie animal a lo largo de todo el mundo (Ruiz-Martínez *et al.*, 1987; Lehrer *et al.*, 1988; Ruiz-Martínez and Leclercq, 1994; Farkas *et al.*, 1997; Giangaspero *et al.*, 2011). El siguiente

hospedador que presenta un mayor número de miasis fue el vacuno (19,65 % de los casos). Esta gran diferencia es debida, entre otras causas, a que las ovejas tienen una piel más frágil (sobre todo en la zona vulvar), así como una morfología que facilita el acúmulo de suciedad en la zona perianal que les hace ser más susceptibles al ataque de los dípteros productores de miasis. Igualmente, hay que tener en cuenta que estos animales normalmente se encuentran en grandes rebaños, lo que hace que el control de éstos sea mucho más complicado y espaciado en el tiempo, provocando que se produzca un mayor desarrollo de estos casos y, por tanto, se facilite la presencia de nuevos dípteros adultos que volverán a cerrar el ciclo biológico.

En relación a la carga parasitaria por hospedador, los resultados son bastante difíciles de interpretar, ya que, en el caso del perro, que fue la especie con la carga media más elevada, solo existieron unos pocos casos y uno de ellos fue muy extremo; en el caso del caballo solamente pudimos analizar un caso y para el jabalí sólo se obtuvieron tres casos. Que este último tenga una carga parasitaria más elevada, puede estar relacionado con la singularidad de ser un animal silvestre y, por tanto, está fuera de todo el control humano y con ello, de los tratamientos frente a esta parasitosis. En el caso de los ovinos, porcinos y vacunos las cargas parasitarias fueron similares, es decir, que una vez que se ha producido la miasis, las diferencias de carga parasitaria entre las especies domésticas resultan prácticamente nulas.

5.2.2.3 Número de larvas por edad y especie de hospedador.

Respecto a la carga parasitaria según la edad del hospedador, podemos observar que la única relación visible se produce en el caso de la oveja, ya que en el resto de especies animales parece que los resultados se encuentran dispersos. Lo que parece claro, es que los ovinos de mayor edad tuvieron una carga parasitaria media normalmente más elevada, mientras que los ovinos más jóvenes mostraron una carga parasitaria más baja, si bien, también se distribuyeron de forma más dispersa. Esto demuestra que la posible inmunidad producida por previos contactos con el parásito no es eficaz para prevenir nuevas infecciones, como ya indicaban otros autores (Sandeman *et al.*, 1986; Eisemann *et al.*, 1990; Tellam, 1996). El sistema inmunitario de los ovinos jóvenes puede ser más variable, aunque normalmente se encuentran en mejor estado para luchar contra la infestación que en el caso de los ovinos de mayor edad.

5.2.2.4 Carga parasitaria según número de focos larvarios y sexo del hospedador.

Si tenemos en cuenta el número de focos larvarios que aparecen por animal, no existían diferencias significativas en relación a la carga parasitaria (L3) entre los animales que tenían 1 ó 2 focos larvarios, si bien, y como era de esperar, tanto la media como la mediana resultó más elevada en el caso de los animales con 2 focos larvarios. Cabe pensar que aquellos animales que presentaron más de un foco larvario sean más débiles o que las estrategias de vigilancia practicadas por el ganadero sean menos eficaces y por ello hay mayor número de L3 recogidas en estos animales. No obstante, es importante mencionar que este tipo de miasis multifocal en un mismo hospedador fue muy escaso en nuestro estudio (2,69 %), tal y como también han indicado autores como Farkas *et al.* (1997), quienes los sitúan en un 0,38 % de los casos.

Como ya se comentó en resultados, tanto en la zona perineal (19,35 L3) como en la zona prepucial (15,43 L3), las cargas parasitarias encontradas fueron más elevadas que en la zona vulvar (13,92 L3). Esta diferencia puede estar debida a una mayor susceptibilidad de los machos a esta parasitosis siendo, según algunos autores (Farkas *et al.*, 1997), hasta cinco veces más frecuentes en machos que en hembras. Estos mismos autores, sitúan una carga parasitaria para las miasis vulvares (incluyendo todos los estadios larvarios), de 141 larvas de media, situándose en un intervalo de entre 37 a 612. Los resultados encontrados en nuestro trabajo fueron muy inferiores. Sin embargo, cabe recordar que, en nuestro caso, solo se recogieron larvas en el tercer estadio, por lo que el contaje queda muy reducido.

Finalmente, y teniendo en cuenta solamente el sexo del hospedador, tampoco se encontraron diferencias significativas entre machos y hembras respecto a la carga parasitaria de L3 que presentan los animales infestados, si bien los machos parece que tuvieron una media y mediana más elevada que las hembras. Este resultado podría estar relacionado con lo que indican Farkas *et al.* (1997), quienes observaron que la prevalencia de miasis en machos alcanza el 74,3 %, mientras que en las hembras es de solo el 16,5 %.

5.2.3 Agente productor de miasis.

De acuerdo a lo que ya indican un gran número de autores (Ruiz-Martínez *et al.*, 1987; Lehrer *et al.*, 1988; Ruiz-Martínez and Leclercq, 1994; Farkas *et al.*, 1997; Hall, 1997; Giangaspero *et al.*, 2011), *W. magnifica* es la principal especie productora de miasis en la cuenca mediterránea, algo que corroboran de un modo

patente nuestros resultados. No obstante, de modo ocasional, también pudimos encontrar otras especies descritas como productoras de miasis secundarias en nuestra zona como son *L. sericata*, la cual es considerada como el principal agente miásico en latitudes medias europeas (Morris and Titchener, 1997), *Ch. albiceps*, de carácter termófilo (Martínez-Sánchez *et al.*, 2002) y productoras de miasis facultativas en el ganado de África y América (González-Mora and Peris, 1988) o también dípteros de la familia Muscidae. *Protophormia terraenovae*, aunque se ha descrito como productora de miasis en el norte de Europa (Zumpt, 1965; Nuorteva, 1971; Morris and Titchener, 1997), en este trabajo no se ha encontrado ningún animal con focos miásicos donde habitara dicha mosca, aunque debemos mantenernos vigilantes a este respecto, ya que esta especie podría producir miasis en épocas de invierno debido a su buena adaptación al frío.

En cuanto a los casos de miasis producidas por 2 ó más especies de mosca en un mismo foco miásico, como ya indicamos, sólo se diagnosticó un caso con respecto al total (0,09 %), siendo éste un resultado similar al de Farkas *et al.* (1997), quienes indican que estas miasis mixtas se producen en el 0,06 % de los casos en ovino, si bien, en nuestro estudio no se diagnosticó ninguna de estas miasis en este hospedador. Si realizamos el análisis por especie de hospedador, este tipo de miasis supusieron el 11,11 % dentro del perro, resultados inferiores a los que detectan Farkas *et al.* (2001) para el ganso y superior al 3 % que describen Hu *et al.* (2013) para el ser humano. Farkas *et al.* (2001), además destacaron que en el 85,71 % de los casos, la especie predominante es *W. magnifica*, ya que las larvas de esta especie son más agresivas, mientras que en nuestro trabajo las especies se encontraban equilibradas. Lo que parece claro es que esta infestación mixta se corresponde con el deplorable estado sanitario del hospedador y de la gran extensión lesional, lo que se correspondería con lo expresado por otros autores (Farkas *et al.*, 1997, 2001) indicando que *L. sericata* se situaría en la zona exterior de la herida actuando de forma oportunista, mientras que *W. magnifica* se situaría en el centro y sería el agente primario.

5.2.4 Viabilidad de las larvas obtenidas.

Si analizamos la viabilidad de las larvas obtenidas en su desarrollo hasta la fase de imagos, observamos que solamente el 21,15 % consiguió su objetivo. De todas las L3 recolectadas, el 49 % consiguió desarrollarse hasta la fase de pupa. Es posible que las condiciones laborales para la eclosión del imago no fueran lo suficientemente óptimas, si bien está demostrado que las pupas son capaces de sobrevivir durante 5 meses entre 0-2 °C (Ruiz-Martínez, 1990; Díaz-López 1993), temperaturas mucho más extremas que las registradas en los laboratorios de

experimentación donde se han desarrollado nuestros experimentos. Otros autores que estudiaron la viabilidad en laboratorio de *L. sericata*, estimaron una viabilidad aproximada del 82 %, muy superior a la registrada en este trabajo (Mai and Amendt, 2012). La baja viabilidad obtenida en nuestro proyecto, podría estar relacionada con el momento de recolección larvaria, ya que no siempre es fácil saber exactamente cuando éstas han llegado al estadio 3, momento en que son viables. Sin embargo en el trabajo de Wall *et al.* (2001) también para *L. sericata*, destacan que cuando la temperatura ambiente supera los 32,5°C, la viabilidad de las larvas cae rápidamente, jugando también un papel importante la humedad relativa para evitar la desecación. Por lo tanto, la temperatura de nuestro laboratorio que en verano no pudo ser controlada, es posible que jugara un papel importante a la hora de obtener una viabilidad tan reducida.

5.2.5 Influencia de las zonas de cultivo.

Como ya se mencionó en el apartado de resultados correspondiente, el número de L3 recolectadas en las miasis de los animales que son criados en zonas con cultivos de secano fue muy inferior a las que se recogieron en las áreas con cultivos de regadío. El mecanismo de este proceso no está muy claro, aunque sí es cierto que uno de los factores limitantes para el desarrollo de las larvas de dípteros necrófagos es la humedad (Rivers *et al.*, 2013). En este sentido, éste sería un factor que podría favorecer el desarrollo de las larvas de miasis en las zonas de regadío. Otros estudios destacan al humedad relativa como un factor positivo para la presencia de dípteros necrófagos (Ferraz *et al.*, 2010; Azevedo and Krüger, 2013).

5.2.6 Localización anatómica de las miasis.

La zona más frecuentemente afectada por lesiones miásicas fue la vulva, seguida del prepucio, con unos resultados claramente parecidos a los de otros autores como Farkas *et al.* (1997). Obviamente, al diferenciar por géneros, el prepucio sería la zona más afectada en machos, seguida de la zona perineal. En este estudio, estas tres zonas sumarían el 80,43 % de las localizaciones donde se han observado miasis. Si unimos, además, las miasis anales y del rabo, por localizarse también en esta área, obtenemos que el 86,39 % de las miasis se localizaron en la zona posterior del animal. Tras consultar con otros autores, la mayoría obtiene resultados similares, como Ruiz-Martínez *et al.* (1987) o como Lehrer *et al.* (1988) quienes nos indican que la zona genital es la más frecuente como localización de miasis; o como Farkas *et al.* (1997) o Snoep *et al.* (2002), quienes sitúan la prevalencia de miasis en esta zona en el 87 % y en el 69,1 % de los casos, respectivamente. Que la región genital se considere como la más sensible a las miasis, está relacionado con que la piel de

esta zona es más frágil, más blanda y más húmeda, permitiendo así un ataque más fácil por parte de los dípteros. Asimismo, un hecho también muy importante es que es una región donde, por su morfología se suelen acumular restos de heces y de orina, lo que provoca que los imagos adultos sean atraídos por el olor que se desprende en dicha zona. Esto último ha llevado a que se desarrollen estrategias de prevención, como el raboneo, que es una técnica muy extendida y aceptada para intentar impedir este acúmulo de suciedad, habiéndose demostrado su eficacia para reducir la prevalencia de miasis (French *et al.*, 1992; Sutherland and Tucker, 2011). Incluso en zonas de una gran cabaña ovina como Australia, se han desarrollado estrategias más extremas como es el “mulesing”, que consiste en la eliminación de tiras de piel de lana alrededor de las nalgas de una oveja para prevenir el ataque de moscas. Sobre el tejido cicatricial ya no va a crecer la lana, lo que va a impedir el acúmulo de suciedad, demostrando su eficacia durante toda la vida del animal (Rothwell *et al.*, 2007). Esta práctica sería especialmente interesante en países con rebaños de ovino de un gran número de cabezas de ganado, en los que el control de las miasis resulta muy complicado o inviable, por lo que en muchos casos estas infecciones pueden ser incluso mortales. En estos casos, esta técnica podría tener su utilidad, si bien hay que tener en cuenta que es difícilmente justificable desde el punto de vista de la bioética, por lo que se están desarrollando otras estrategias menos agresivas para reducir la lana de esta zona (como es el uso de clips) y así reducir el riesgo de miasis en esta localización (Evans *et al.*, 2012; Playford *et al.*, 2012).

Otros autores señalan la zona de la espalda (que en nuestro caso se ha nombrado como costado) como la segunda zona corporal donde se producen un mayor número de miasis, con un 5,7 % de los casos (Snoep *et al.*, 2002). En nuestro estudio, tras la zona genital y perianal, han sido las pezuñas las áreas donde mayor número de focos miásicos se observó, con un 3,40 % de los casos, posiblemente debido a la escasa higiene en el tratamiento de las pezuñas de las explotaciones en el área de estudio. No obstante, al ser tan pequeño el número de miasis encontradas en zonas “no genitales-perianales”, es difícil asignar una tendencia clara a las áreas que difieren de esas zonas, donde se localiza la gran mayoría de las miasis.

5.3 Miasis experimental en ovinos.

5.3.1 Nivel de larvas.

Como ya comentamos, se realizó una infección experimental con L3 de *P. terraenovae* a distintas dosis, en ovejas de raza merina en ambiente controlado. Nuestro estudio mostró que la cantidad de larvas en la lesión apenas difiere entre los lotes infestados a las 48 horas de la infestación y posteriormente, incluso, se apreciaron menos larvas en el grupo que recibió el mayor inóculo. Esta falta de correspondencia entre la dosis inicial de larvas y la cantidad de larvas que siguieron desarrollándose en los días siguientes, podría ser un reflejo de una diferente respuesta del hospedador, ya que una mayor dosis infestante podría inducir una respuesta de hipersensibilidad más rápida e intensa, capaz de reducir el número de larvas que pueden desarrollarse, estando esta hipótesis de acuerdo con los estudios de Sandeman *et al.* (1985, 1986, 1992), si bien estos autores encuentran que en dosis de 50 L1 el porcentaje de larvas recuperado fue muy inferior al de las infecciones con 500 L1 (Sandeman *et al.*, 1986). Otro factor a considerar en este sentido es la competencia entre larvas en el área de la herida, que podría impedir el correcto desarrollo de éstas, y finalmente a su supervivencia. Esta hipótesis se apoya en los resultados de Smith and Wall (1997), quienes encuentran que en infestaciones con más de 300 larvas se incrementa la mortalidad y disminuye el tamaño de éstas, y concuerda también con Pérez *et al.* (1997) que encuentran generalmente un número de larvas menor, con una media de 127 L3 por foco larvario.

5.3.2 Resultados hematológicos.

Nuestros datos sobre la serie roja fueron en general bastante comparables a los valores normales en ovinos (Jain, 1993; Meyer and Harvey, 2004). En cuanto a la densidad de eritrocitos, además de estar entre valores normales, no existió una clara tendencia a lo largo del estudio, ni grandes diferencias entre grupos. No obstante, el lote 1 mostró un cierto descenso inicial y globalmente fueron significativamente inferiores a los valores del lote 3. En cualquier caso, fueron diferencias comparables a la variabilidad inherente al método analítico y la toma de muestras.

Como era previsible, la hemoglobina en sangre mostró una evolución bastante similar, y si bien existieron diferencias significativas entre diferentes lotes, éstas se encontraron desde el primer día, por lo que podemos descartar que se trate de un efecto del reto experimental, aunque el ligero descenso (pero significativo) en los lotes 1 y 2 podría ser un reflejo de la agresión larvaria. En todo caso, este parámetro

Discusión

se encontró también dentro de los valores normales de las referencias antes citadas. También concuerda con estudios como el de Tuygun *et al.* (2009) que observan valores normales de hemoglobina en una persona con una miasis producida por *W. magnifica*.

Aún merecen menos consideración los cambios en los valores de VCM, siempre dentro del rango normal y sin diferencias significativas; la HCM con algunas diferencias entre los lotes del estudio, pero que se mantuvieron durante todo el estudio, por lo que no cabe achacarlas a la infestación experimental, o la CHCM, que mostró cierta tendencia a aumentar, dando algunas diferencias al final de la experiencia, pero dentro del rango normal para el ganado ovino.

Si bien la densidad de glóbulos blancos se mantuvo dentro de valores normales, al analizar la evolución temporal podemos ver un claro pico del número de leucocitos en los grupos infestados en los primeros días de infestación, que también se ha visto en otros ensayos experimentales en ovino como el de Colditz *et al.* (2005), así como en infecciones naturales en el ser humano (Tuygun *et al.*, 2009). Sin embargo, no está claro en nuestras observaciones que se debieran a la infestación larvaria realmente, ya que también se produjo en el lote control con lesión y no se produjo en el lote control sin lesión. También se observan elevaciones posteriores de leucocitos en los lotes infectados que podrían estar relacionadas con una respuesta más tardía, si bien es difícil de confirmar con los resultados y hallazgos obtenidos.

Respecto a la fórmula leucocitaria normal en ovinos aportada por Ramírez (2006), el porcentaje de polimorfonucleares neutrófilos se encontró elevado en todos los grupos, aunque esto ocurrió desde antes de realizar el experimento y en los grupos control. En cuanto a su evolución temporal, existió una clara elevación a partir del día 2 en los grupos infestados, concordando con los hallazgos de Colditz *et al.* (2005), aunque también observamos un repunte del porcentaje de neutrófilos en ambos grupos en el día 30, mientras Colditz *et al.* (2005) lo aprecian los días 11, 13 y 15.

El porcentaje de basófilos fue prácticamente normal en todos los lotes, si bien cabe reseñar un aumento significativo en el lote 1 los días 14, 17 y 21. Colditz *et al.* (2005) también encuentran un aumento del número de basófilos, pero de forma más precoz, entre los días 3 a 15. Que sólo ocurra en el lote 1 este aumento podría estar relacionado la mayor dosis infestante, pero estando dentro de valores considerados normales, y sin más referencias al respecto, esta relación es bastante dudosa.

Los valores de eosinófilos encontrados en el experimento, se hallan cerca del límite superior de la forma leucocitaria de Ramírez (2006). Llama la atención que alrededor del día 21 se produzca un pico de eosinófilos en el lote 1 (significativo respecto al resto de grupos) que concuerda con el aumento observado en miasis humanas (Tuygun *et al.*, 2009). En general, se observa que los eosinófilos tendieron a descender durante el experimento, lo que concuerda con lo que ocurre en el estudio de Colditz *et al.* (2005), pero al menos en nuestro estudio no cabe asociar este descenso a la presencia de las larvas, ya que ocurrió de forma similar en los grupos controles.

El porcentaje de linfocitos en la fórmula leucocitaria fue inferior en todos los lotes al observado por Ramírez (2006) en ovinos sanos, si bien, en cuanto a su número absoluto, los valores se encuentra en torno al margen inferior de los valores normales según Pugh (2005). En cuanto a la evolución temporal, debemos reseñar una tendencia a disminuir el porcentaje de linfocitos, especialmente en el lote 1. Sin embargo, no se han encontrado referencias a que las miasis puedan producir linfopenia.

Finalmente, los monocitos se mantuvieron en porcentajes normales, excepto en el lote 1, a partir del día 21 del experimento. Esto no está descrito en otros estudios, pero pudo ser debido a una respuesta inflamatoria tardía más intensa, ya que se produce en el lote con mayor número de larvas.

La densidad de plaquetas mostró una tendencia significativa al aumento a partir del día 7 en todos los lotes con lesiones de piel, es decir en todos excepto en el lote 3, y por tanto podría estar ligado a la estimulación de la herida y la realización de las biopsias. Las diferencias entre los lotes con larvas en este caso son difíciles de explicar, salvo considerando que, pese a ellas, los parámetros de plaquetas se encontraron dentro del rango normal determinado para el ganado ovino por Meyer and Harvey (2004).

5.3.3 Bioquímica sanguínea.

Respecto a la bioquímica sanguínea, todos los valores de AST en los diferentes lotes se encontraron dentro del rango normal para la especie ovina (Kaneko *et al.*, 1997; Meyer and Harvey, 2004). Además, no vemos una evolución clara de estos parámetros durante todo el estudio. Lo mismo se aplica a la CK, aunque respecto a esta enzima el lote control sin herida mantuvo los valores más bajos. Aunque sin significación estadística, esto podría ser reflejo de un ligero daño muscular, pero en cualquier caso no sería achacable a la presencia de larvas, sino a la lesión primaria, dado que ocurrió igualmente en el lote control con lesión. A diferencia de las

enzimas anteriores, los valores de LDH se encontraban por encima del rango de valores normales descrito por los autores antes citados, aunque sin variaciones reseñables entre o dentro de los lotes. Por tanto, no podemos pensar que esta elevación sea debida al inóculo, ya que sus niveles estaban elevados desde el primer día y apenas cambiaron posteriormente. Dada además la edad de los ovinos, cabría pensar en causas anteriores al estudio estos valores elevados de LDH.

5.3.4 Resultados histológicos.

En cuanto a los hallazgos histológicos, cabía esperar que las larvas agravaran la lesión dérmica inicial, y que esta gravedad estuviera en relación con la dosis inicial, pero los resultados encontrados en general no apoyan esta suposición.

En el grupo control con herida (lote 3b), se observó un menor número de bacterias inicial y un proceso de cicatrización normal, aunque con una cierta cantidad de infiltrado a las 2 semanas.

En cambio, en el lote infectado con menor dosis de L3 (lote 1), se observa inicialmente extensas zonas de necrosis en la lesión, con gran cantidad de bacterias e infiltrado inflamatorio en las tres capas de la piel (con fibroblastos, linfocitos, células plasmáticas, macrófagos, algunos eosinófilos y abundantes neutrófilos) y acaba, sin embargo, con una disminución considerable de la zona ulcerada y con la necrosis, así como la práctica desaparición de elementos bacterianos, reducción del infiltrado inflamatorio, generalmente circunscrito a la dermis y desaparición de las hemorragias.

La evolución en el lote 2 fue similar al anterior, y aunque parte con una mayor extensión de la úlcera, de la necrosis y de las hemorragias que podemos achacar al mayor número de larvas inicial, sin embargo, el grado de restauración de la piel a las dos semanas es mayor. Esto podría deberse a que la mayor cantidad de L1 han podido causar un desbridamiento más efectivo del tejido necrótico, y simultáneamente un efecto multitudinario, limitando el crecimiento y supervivencia posterior, cuando potencialmente puede ser más dañinas, dado el considerable tamaño que puede alcanzar respecto a la L1, lo que también podría haber propiciado una curación más rápida.

En general, esta evolución no encaja con las observaciones en miasis naturales de Pereira *et al.* (2001), Leite *et al.* (2011) y Oryan and Bahrami (2012) que encuentran sobre todo bacterias, gran cantidad de necrosis e infiltrado inflamatorio en estadios más avanzados, sobre el día 12-15 p.i., por lo que conviene analizar con mayor detenimiento los distintos aspectos histológicos, comparando tantos los grupos experimentales como lo observado en miasis naturales.

El nivel de exudado de las heridas parece estar claramente relacionado con la cantidad de larvas que se desarrollaron en la lesión a lo largo del experimento. Aunque el día posterior a la formación de la herida el exudado fue evidente en todos los lotes, en ausencia de larvas, éste se redujo rápidamente, mientras en el lote 1, en el que se desarrollaron más larvas, se produjo un exudado mayor que en el lote 2. Una posible explicación podría ser la reacción inflamatoria que provocó la contaminación bacteriana, sin embargo, nuestros resultados no apoyan estas hipótesis, sino la contraria.

En nuestro estudio se encontraron bacterias sobre todo en los lotes infestados al 4 d.p.i, pero su presencia fue prácticamente nula en todos los grupos al 14 d.p.i, Una posible explicación es la presencia de las proteasas que producen las larvas (Valachova *et al.*, 2014) o que éstas puedan alimentarse directamente de las bacterias, reduciendo así su número (Whitaker *et al.*, 2007). Sin embargo, Pereira *et al.* (2001) encuentran abundantes bacterias desde los 4 a 14 d.p.i, por lo que posiblemente la carga bacteriana final esté muy influenciada por otros factores físicos y biológicos.

Tampoco el nivel de exudado parece estar relacionado con el nivel de necrosis, que se hizo prácticamente nulo al 14 d.p.i. Esto contrasta bastante con lo observado en otros estudios, que mencionan un mayor nivel de necrosis a partir del estadio de L3 (Oryan and Bahrami, 2012), a partir del 12 d.p.i (Pereira *et al.*, 2001) o del 15 d.p.i (Leite *et al.*, 2011). El grado de ulceración siguió una evolución muy similar a la necrosis, siendo más elevado al 4 d.p.i, mientras que en otros estudios como el de Oryan and Bahrami (2012) lo es a partir del estadio de L3. La afección de capas dérmicas, en contra de lo que ocurre en miasis naturales, donde la afección de todas las capas no se producía hasta la ecdisis de L2 a L3 (Oryan and Bahrami, 2012). En nuestro estudio la afección de las capas es máxima en el 4 d.p.i, siendo mayor en las capas externa e interna en los lotes experimentales. Esto probablemente es debido a la acción mecánica de las larvas, sin embargo, al 14 d.p.i solo permanece afectada la capa media en todos ellos, pudiendo estar esto relacionado con una regeneración más lenta de esta capa. Esta discrepancia puede ser debida a que dichos estudios observan el desarrollo de miasis naturales, en el que las larvas inician el daño tisular, mientras en nuestro ensayo las larvas accedían a una lesión previa ya formada manualmente y con disponibilidad inmediata para su alimentación, iniciando en ese mismo momento el desbridamiento del tejido, y por tanto, promoviendo el proceso de regeneración, en cierta medida comparable a la que ocurre cuando se utilizan larvas estériles en biocirugía para la eliminación del tejido necrótico en heridas de difícil curación (Church, 1995). En el lote 2, con una carga parasitaria inicial más elevada, pero con menor desarrollo posterior, la desaparición de la necrosis fue total, mientras el lote 1, con un menor número de

larvas inicial, pero con mejor grado de supervivencia, persistía cierto grado de necrosis en algunos animales. Esto sugiere que el posible efecto de limpieza podría estar más relacionado con la fase de L1, mientras que las L3 seguramente no tienen esta función o incluso pueden tener un efecto mecánico adverso sobre la herida. La reducción de la ulceración también pudo estar relacionado con la liberación de promotores del crecimiento por parte de las larvas, que pudieron estimular la regeneración de la herida (Prete, 1997).

Al analizar la cantidad de infiltrado, vemos que sigue una tendencia similar a la que describen los estudios de Oryan and Bahrami (2012), de Pereira *et al.* (2001) o de Leite *et al.* (2011), en los que como en nuestro caso, se produce una gran cantidad de infiltrados los primeros días del estudio, que posteriormente se reduce a partir del día 12–14. Esto parece más relacionado con la respuesta del organismo al trauma inicial, aunque sin duda la presencia de larvas estimula en gran medida la formación del exudado, como se ha visto. Pese a esto, en el 14 d.p.i prácticamente no hubo diferencias en los lotes experimentales, por lo es razonable pensar que, salvo quizás en los momentos iniciales, las larvas estimularon de forma marcada la presencia de un infiltrado inflamatorio.

El lote 2 mostró el mayor número de macrófagos en todos sus animales al 4 d.p.i, siendo esto comparable observado en los estudios de Oryan and Bahrami (2012), de Pereira *et al.* (2001) o de Leite *et al.* (2011), además persisten al 14 d.p.i en menor número coincidiendo con lo que describen Cabanelas *et al.* (2015) para *Hypoderma*. Esto sugiere que la presencia de estas células se estimuló con una carga larvaria elevada.

No obstante, las células plasmáticas y linfocitos se encontraron en el total de animales de los tres lotes en ambos días. Esto concuerda con estudios de Oryan and Bahrami (2012), de Pereira *et al.* (2001), de Leite *et al.* (2011) o de Cabanelas *et al.* (2015) respecto a la presencia de linfocitos. Sin embargo, estos estudios encuentran células plasmáticas sólo en fases tempranas (Oryan and Bahrami, 2012; Cabanelas *et al.*, 2015) o muy tardías (Pereira *et al.*, 2001). De todas formas, no podemos establecer ninguna relación con la presencia de larvas, ya que se encontraron también en todos los animales del lote control.

La presencia de larvas, sin embargo, sí parece estimular la presencia de eosinófilos, que aparecieron en el lote 2 ya a los 4 d.p.i, y en menor número en ambos grupos infestados en el 14 d.p.i. Un aumento de estas células en torno al 12 d.p.i también se ha observado en los trabajos de Oryan and Bahrami (2012), de Pereira *et al.* (2001) o de Leite *et al.* (2011). En nuestro caso, al ser más precoz e intensa con un mayor número de larvas, sugiere que el estímulo es dosis-

dependiente. Gran cantidad de eosinófilos también se han encontrado en la oestrosis (Tabouret *et al.*, 2003).

Ocurre otro tanto con los mastocitos. De forma similar al estudio de Pereira *et al.* (2001), que detecta estas células sobre todo a partir del día 12, en el lote 1 aumentan tardíamente, pero en el lote 2 se detectaron antes, posiblemente debido al mayor número de larvas inoculadas.

Los neutrófilos siguen una evolución parecida, aunque al 4 d.p.i su porcentaje fue bajo incluso en el lote 2, lo que discrepa con todos los estudios antes citados (Pereira *et al.*, 2001; Leite *et al.*, 2011; Oryan and Bahrami, 2012) que encuentran que los neutrófilos son unas de las primeras células en aparecer en la lesión, quizás a consecuencia de miasis más traumáticas.

La presencia de fibroblastos se encontró en gran medida en todos los grupos con lesión a partir del día 4, indicando que la regeneración tisular comienza desde fases tempranas. Esto concuerda con el trabajo de Oryan and Bahrami (2012) que encuentran fibroblastos ya en el cambio de L1 a L2, aunque otros como Pereira *et al.* (2001) o de Leite *et al.* (2011) solo los observan a partir del 8 d.p.i.

Al margen de los hallazgos sobre el infiltrado inflamatorio, cabe mencionar que la afección de los folículos pilosos ya al 4 d.p.i no fue relevante, dado que se observó también en las heridas del lote control, pero a los 14 días sólo persistía en los ovinos parasitados. Esto concuerda parcialmente con los estudios de Oryan and Bahrami (2012), que sólo detectan esta lesión en fases tardías de la infestación. Otro tanto ocurre con la presencia de hemorragias, que encontramos principalmente al inicio del experimento en todos los lotes y, por tanto, no cabe relacionarlas con la actividad larvaria, pero fueron mayores en el lote 1 al 14 d.p.i, donde al final se encontraban más larvas, por lo que podrían relacionarse las erosiones causadas por las L3, como ya indicaban Oryan and Bahrami (2012), con hemorragias en etapas tardías y Pereira *et al.* (2001), que aprecian esta lesión al 8 d.p.i.

Finalmente, entre los artículos que se han consultado, solo se relata cierto daño muscular en el de Oryan and Bahrami (2012) en etapas tempranas. En nuestros resultados, este daño fue común en todos los animales con lesión, incluidos el lote control, por lo que cabe atribuirlo a la presencia de larvas. En cambio, es llamativo que este daño persistía al 14 d.p.i solo en dicho lote control, pero no en los animales con larvas, lo que podría sugerir que éstas tienen un cierto efecto regenerador sobre la herida.

En suma, observamos en varios aspectos que los efectos de la parasitación larvaria no son totalmente negativos. Esta reducida patogenicidad pudo ser debida al origen de nuestras larvas de *P. terraenovae*, adquiridas comercialmente de una

Discusión

tienda de pesca, que pudieron tener ligeras diferencias genéticas con las del norte de Europa, algo que puede afectar a su capacidad como productoras de miasis, como ya describen Martínez-Sánchez *et al.* (2007) para *L. sericata*. Además, hay numerosas referencias históricas sobre la creencia de que las larvas de moscas pueden ayudar a la recuperación de heridas. Estas observaciones empíricas, especialmente de cirujanos que atendían heridas de guerra, fueron la base para el desarrollo de la actual terapia larvaria, basada en que el desbridamiento del material necrótico y la actividad antibacteriana que ejercen las larvas puede ayudar en la cicatrización de ciertas heridas. Sin embargo, en sus inicios, el empleo de larvas no estériles podía tener consecuencias tan graves como el tétanos y en el ámbito veterinario, especialmente con el ganado ovino, no es posible olvidar el efecto devastador que las miasis cutáneas pueden tener a partir de heridas que de otro modo carecerían de mayor importancia. En general, los resultados de la miasis experimental de la presente memoria, sin causar alteraciones sistémicas de importancia, y alteraciones locales variables, parecen ser un reflejo de esta ambivalencia de las miasis. Esto sin duda dificulta la comprensión de este proceso parasitario, pobremente estudiado. Un mejor entendimiento de los efectos destructivos y regeneradores de las larvas es importante, ya que podría conducirnos tantos a nuevos enfoques en el tratamiento y control de las miasis, como al desarrollo de la larvoterapia, y la terapia regenerativa.

Conclusiones

6 Conclusiones.

1. Se han identificado hasta 22 especies de *Culicoides* en Extremadura, tres de las cuales (*C. longipennis*, *C. accraensis* y *C. atripennis* s.l.) han sido citadas por primera vez en esta región.
2. La especie de *Culicoides* más abundante fue *C. circumscriptus*, con un 23,4 % de las capturas. No obstante, también han sido identificados los principales vectores del virus de la lengua azul en la cuenca mediterránea y centro de Europa, como son *C. imicola* (9,9 %) y *C. obsoletus* s.l. (0,73 %), respectivamente.
3. Se han capturado 7 familias de dípteros necrófagos, siendo Calliphoridae la más abundante con un 76,4 % del total, seguida por Muscidae (15,9 %), Anthomyiidae (3,4 %) y Sarcophagidae (1,9 %). En el lado opuesto, la familia Scathophagidae fue la menos numerosa (0,63 %).
4. Dentro de la familia Calliphoridae, se han identificado hasta 9 especies distintas y un género (*Pollenia* sp.), siendo *Lucilia sericata* y *Calliphora vicina* las más abundantes, con un 41,79 % y un 21,36 % respectivamente. Ambas especies tienen un marcado carácter cosmopolita y antropofílico, mientras que otras especies de dichos géneros como *C. vomitoria*, *L. caesar*, *L. illustris* o *L. ampullacea* prefieren hábitats con mayor vegetación y menos antropizados.
5. Se han encontrado tanto dípteros necrófagos como *Culicoides* durante todos los meses del año. A pesar de que la mayoría de capturas se producen en los meses cálidos, algunas especies como *Calliphora vicina*, *Calliphora vomitoria* o *Culicoides univittatus*, están más adaptados a las bajas temperaturas y mayor humedad y se han identificado también en los meses de invierno.
6. Se ha encontrado por primera vez de forma natural *Protophormia terraenovae* en Extremadura. A pesar de ser una especie autóctona de climas holárticos, se pone de manifiesto que podría estar adaptada a la climatología y al ecosistema de la región. La posible vía de entrada puede haber sido el uso de esta especie como “asticot” en la pesca deportiva, si bien serían necesarios más estudios de análisis genéticos para confirmar esta hipótesis.

Conclusiones

7. La especie ovina fue la más afectada por las miasis en Extremadura, probablemente por las características biomorfológicas de la misma, que favorecen la invasión larvaria en la piel de esta especie.
8. Las cargas parasitarias medias de L3 por foco miásico fueron generalmente bajas, oscilando entre las 11,3 en vacuno y las 51,3 en cánidos, lo que podría indicar la intensa vigilancia practicada sobre los animales para la prevención de las miasis en las explotaciones.
9. En Extremadura, el principal agente productor de miasis cutánea es *Wohlfahrtia magnifica*, con el 97,1 % de los imagos identificados a partir de las L3 recogidas de los focos miásicos. Le siguen en importancia *Lucilia sericata* (2,3 %), *Chrysomya albiceps* (0,3 %) y dípteros de la familia Muscidae (0,3 %).
10. La localización de preferencia de las lesiones miásicas fue la vulva, representando el 67,6 % de las mismas, seguida del prepucio (6,5 %) y la zona perineal (5,9 %).
11. La infestación experimental cutánea de ovinos con L1 de *Protophormia terraenovae* procedentes del asticot para la pesca deportiva, no desencadenó alteraciones significativas ni a nivel hematológico ni de daño tisular. Por tanto, puede confirmarse que estas larvas no tienen la capacidad de provocar miasis traumáticas en las condiciones controladas del estudio.
12. La acción de las L1 de *Protophormia terraenovae* en las lesiones durante la infestación experimental, provocaron una rápida eliminación bacteriana y de tejido necrótico, por lo que podrían ser utilizadas en terapia larvaria controlada, tras su esterilización y control.

Agradecimientos

Agradecimientos.

No podría comenzar de otro modo que dando las gracias a los directores de mi Tesis Doctoral, ya que sin ellos este trabajo no hubiese sido posible. A la Dra. Eva María Frontera Carrión, quien me abrió la puerta de la parasitología desde el momento que me hizo la entrevista para comenzar mi andanza como alumno interno. Además, ella me inició en el mundo de los dípteros, dándome todo su apoyo y contagiándome su entusiasmo por estos “bichitos”. Al Dr. Juan Enrique Pérez Martín, por iniciarme en el mundo de la investigación a través del estudio de la trichinellosis (un parásito por el que siempre guardaré un interés especial). Igualmente, gracias por su paciencia y disponibilidad. Al Dr. Francisco Javier Serrano Aguilera, por transmitirme su pasión por la parasitología, ya fuese dentro del laboratorio o en esas largas conversaciones de las cuales siempre salía reforzado por la complejidad y la belleza de este ámbito de conocimiento que había elegido. Sin el esfuerzo, consejo y ayuda de todos ellos, este estudio no hubiese sido posible.

A mi compañero de fatigas, y sobre todo amigo, Daniel Bravo Barriga, al que conocí en los primeros días de la Licenciatura y con el que espero acabar pronto nuestra formación como doctores. Gracias por las experiencias compartidas y por su apoyo, tanto en los buenos como los malos momentos.

A Francisco Javier Pariente Palomino, por compartir conmigo su conocimiento en la identificación de dípteros necrófagos y por todo el trabajo realizado en la recolección de miasis.

También debo dar mis más sinceras gracias al resto del personal del Área de Parasitología. Al Dr. David Reina Esojo, por su amabilidad y cercanía, y por estar ahí en cada momento que le necesitaba. Al Dr. Luis Carlos Gómez Nieto, por mostrarme en todo momento su apoyo y curiosidad por el trabajo que realizaba y al Dr. Miguel A. Habela Martínez-Estélez por sus sabios consejos.

A cada uno de los miembros del equipo Lehismanceres, a Silvia, Javi, Rubén, Virginia, Adela, Victoria, Isa, José Luis y Jaime, a todos les agradezco el haber tenido su ayuda siempre que la he necesitado y haber hecho el ambiente de trabajo más ameno.

A los técnicos Manuel Gómez Blázquez, por su ayuda en la gestión administrativa, y a David Gragera Cordero, por su implicación en los trampeos de este proyecto y su inestimable ayuda en el laboratorio.

Agradecimientos

Al Dr. José Antonio Gamito Santos y al Dr. Rafael Calero Bernal, por su importante labor como veteranos y ayudarme cuando lo necesité en mi inicio en la formación predoctoral en el Área de Parasitología.

A Alejandro Tovar por su colaboración en el análisis sanguíneo del ovino experimental.

Mi gratitud infinita a todos y cada uno de los alumnos internos y colaboradores que nos ayudaron durante el proceso de trampeo. Sin su trabajo desinteresado este proyecto hubiese sido inviable.

Al Dr. Luis Gómez Gordo por su ayuda y consejo en el trabajo de histopatología en ovino.

Al Dr. Javier Lucientes y a sus becarios Sara, Nacho y Pedro, por acogernos de un modo tan cálido durante nuestra estancia en la Universidad de Zaragoza. Gracias por sus enseñanzas y ayuda en la identificación de dípteros y técnicas de trampeo.

Al Dr. José Marín Sánchez Murillo, así como a Matilde y Mercedes del Laboratorio Regional de Sanidad Animal en Badajoz, por armarse de paciencia en nuestros primeros contactos con la identificación de *Culicoides*.

Al Dr. Santos Rojo y a la Dra. Ana Isabel Martínez Sánchez, por resolver nuestras dudas en la identificación de los dípteros necrófagos.

A Josué, Irene y Natalia, esos amigos que conocí los primeros días de la carrera y que sé que lo serán para siempre. Gracias a ellos puedo tener siempre unas palabras de consuelo cuando más las necesito.

Por supuesto, no puedo finalizar de otro modo que, dando las gracias a mi familia y amigos, con los que sé que puedo contar siempre. Especialmente a mis padres, por sacrificarse siempre por sus hijos, transmitiéndome su integridad y su empatía; no podría imaginarme unos padres mejores. A mis hermanas porque por muy lejos que estemos sé que siempre estarán a mí lado. Y a Esther, o como yo diría, mi compañera de vida. Gracias por todo su apoyo durante este largo proceso que es una Tesis, por compartir los buenos momentos y por reconfortarme en los malos y, sobre todo, gracias por lo que nos queda por vivir. El futuro juntos, se torna más emocionante.

Resumen

Resumen.

Actualmente, procesos medioambientales, como el cambio climático, o ciertas prácticas llevadas a cabo por el hombre, pueden estar influyendo y modificando las especies de dípteros que podemos encontrar en los diferentes ecosistemas. Este hecho tiene suma importancia, ya que no podemos olvidar el papel que éstos juegan como vectores o productores de enfermedades humanas y animales, las cuales, pueden provocar graves pérdidas económicas y sanitarias.

Por este motivo, es importante conocer su población y establecer una vigilancia epidemiológica de los mismos, con el fin último de prevenir y controlar posibles invasiones de dípteros no autóctonos, y controlar la distribución y densidad de los autóctonos.

Para llegar a conseguir estos hitos, en primer lugar nos planteamos elaborar un mapa epidemiológico en Extremadura de los *Culicoides* y dípteros necrófagos presentes en diferentes ecosistemas de la región. Por un lado, se utilizaron trampas del tipo CDC (Control Diseases Center) de luz ultravioleta para optimizar las capturas de dípteros del género *Culicoides*, ya que algunas especies actúan como transmisores de la lengua azul (LA) y otras enfermedades. Tras el análisis de 6601 individuos, se identificaron 22 especies diferentes, destacando como la más abundante *Culicoides circumscriptus* (23,4 %), si bien es de destacar también la alta densidad de *Culicoides imicola*, considerado como uno de los principales vectores de LA en la cuenca mediterránea. En las condiciones climáticas extremeñas, y con las características de nuestros muestreos, los *Culicoides* se localizan en mayor medida en áreas de Badajoz, con respecto a Cáceres, así como en las afueras de las ciudades en relación a los núcleos urbanos. Lo que también parece muy evidente es la alta relación de las densidades de estos dípteros con la temperatura, de tal forma que los meses de verano son los más favorables para su desarrollo, siendo las capturas en invierno prácticamente nulas. Por otro lado, también nos planteamos el objetivo de conocer la entomofauna de dípteros necrófagos de Extremadura, y dentro de ellos, si la especie *Protophormia terraenovae* forma parte de dicha población natural. Para ello, se utilizaron trampas WOT (Wind Oriented Traps) orientadas por el viento. Tras la captura y análisis de 12452 ejemplares, se evidenció que la familia Calliphoridae fue la más frecuente, con un 76,48 % de las capturas, siendo la especie con más presencia *Lucilia sericata* (41,79 %) e identificándose 4 ejemplares de *P. terraenovae*. Este último hallazgo es importante ya que demuestra el asentamiento de esta especie en los ecosistemas naturales de la región extremeña. Es evidente que, dada la alta densidad de los

califóridos en los muestreos realizados, podrían ser considerados como uno de los principales degradadores de la materia en descomposición en Extremadura, justificándose la importancia de los dípteros de esta familia en la entomología forense, así como agente productor de miasis secundarias.

Nuestro siguiente objetivo fue identificar las especies de mosca productoras de miasis en Extremadura y caracterizar esta enfermedad en la región. Para ello, se recogieron muestras de 229 miasis en distintas especies animales, determinando que el principal agente productor fue *Wohlfahrtia magnifica* con un 97,13 % del total de L3 recogidas, seguida de *Lucilia sericata*, *Chrysomia albiceps* y otros dípteros de la familia Muscidae. Se comprobó que las miasis parece que afectan en mayor medida a los machos y a animales de mayor edad. Las cargas parasitarias fueron bajas y la mayor parte de las lesiones miásicas estaban parasitadas por una sola especie de mosca. La vulva fue la localización corporal de preferencia de las lesiones producidas por las L3, debido a la mayor humedad y área reblandecida por las secreciones que se producen en la hembra en este nivel. Estos hallazgos son muy similares a los encontrados en otras partes de nuestro país, y también conlleva importantes problemas económicos y sanitarios a la ganadería afectada en la región extremeña. Creemos que, sin lugar a dudas, habrá que buscar medidas de control y prevención más eficaces, tal y como demandan los propios ganaderos, para reducir el impacto económico y sanitario que estas moscas provocan en dichas explotaciones.

Finalmente, y una vez comprobado el asentamiento de la mosca *Protophormia terraenovae* en condiciones naturales en Extremadura, quisimos determinar si esta especie es capaz de provocar miasis traumáticas en las condiciones climáticas de la región. Para ello, se realizó una infestación experimental con distintas dosis de L1 de esta especie (obtenidas del asticot comercializado en tiendas de pesca) en ovejas merinas, para comprobar la patogenicidad de las mismas en el desarrollo de la posible miasis. Los resultados obtenidos determinaron que, en las condiciones experimentales de este proyecto, las L1 de *P. terraenovae* no provocaron una miasis traumática propiamente dicha, ya que no se produjeron alteraciones patológicas reseñables ni a nivel sistémico ni a nivel local. Más bien, aquellas larvas que fueron capaces de desarrollarse en la zona de la lesión, provocaron una reducción significativa del número de bacterias y del tejido necrótico en esta localización, con lo que estos resultados incitan a pensar en el uso de estas larvas para la larvoterapia animal, previa esterilización y control de cría de las mismas.

Summary

Summary.

Currently, environmental processes such as climate change, or certain man-made practices, may be influencing and modifying the species of dipterans we can find in different ecosystems. This fact is extremely important, since we cannot forget the role they play as vectors or producers of human and animal diseases, which can lead to serious economic and health losses.

For this reason, it is important to know its population and to establish an epidemiological surveillance of them, with the ultimate aim of preventing and controlling possible invasions of non-native dipterans and controlling the distribution and density of the native ones.

In order to reach these milestones, firstly we propose to elaborate an epidemiological map in Extremadura of the *Culicoides* and necrophagous dipterans present in different ecosystems of the region. On the one hand, CDC (Control Diseases Center) traps were used to optimize catches of *Culicoides* biting midges, as some species act as transmitters of blue tongue virus (BTV) and other diseases. After analysis of 6601 individuals, 22 different species were identified, with the most abundant being *Culicoides circumscriptus* (23.4 %), although the high density of *Culicoides imicola*, considered as one of the main vectors of BTV in The Mediterranean basin. Due to the Extremadura's climatic conditions, and to the characteristics of our samples, *Culicoides* biting midges are located to a greater extent in areas of Badajoz than of Cáceres, as well as in the outskirts of cities than in urban centers. What also seems very evident is the high ratio of the densities of these dipterans to the temperature, so that the summer months are the most favourable ones for their development, with the winter catches being practically inexistent. On the other hand, we also set ourselves the objective of knowing the fauna of Extremadura's necrophagous dipterans, and within them, if the *Protophormia terraenovae* species is part of this natural population. WOT (Wind Oriented Traps) were used for this purpose. After the capture and analysis of 12452 specimens, it was evidenced that the Calliphoridae family was the most frequent, with 76.48 % of the catches, being the species with more presence *Lucilia sericata* (41.79 %) and identifying 4 specimens of *P. terraenovae*. This last finding is important as it shows the settlement of this species in the natural ecosystems of the Extremadura region. It is evident that, given the high density of the blowflies in the taken samples, they could be considered as one of the main degraders of decomposing matter in Extremadura, justifying the importance of dipterans of this family in forensic entomology as well as a producer agent of secondary myiasis.

Summary

Our next objective was to identify the species of fly producing myiasis in Extremadura and to characterize this disease in the region. For this, samples of 229 myiasis were collected in different animal species, determining that the main producing agent was *Wohlfahrtia magnifica* with 97.13 % of the total L3 collected, followed by *Lucilia sericata*, *Chrysomia albiceps* and other dipterans of the Muscidae family. It was found that myiasis seems to affect males and older animals to a greater extent. The parasitic loads were low and most of the myiasis were parasitized by a single species of fly. The vulva was the preferred body location of the lesions produced by the L3, due to the higher humidity and softened area generated by the secretions in the female at this level. These findings are very similar to those found in other parts of our country, and also leads to significant economic and health problems for affected cattle breeding in the Extremadura region. We think that, without a doubt, we must seek more effective control and prevention measures, as demanded by the cattle breeders, to reduce the economic and health impact that these flies cause on these farms.

Finally, once confirmed the establishment of the fly *Protophormia terraenovae* in natural conditions in Extremadura, we wanted to determine if this species is able to provoke traumatic myiasis in the climatic conditions of the region. For this, an experimental infestation with different doses of L1 of this species (obtained from the asticot marketed in fishing shops) was carried out in merino sheep, to verify their pathogenic influence in the development of the possible myiasis. The results determined that, in the experimental conditions of this project, the L1 of *P. terraenovae* did not provoke a traumatic myiasis, since pathological alterations were observed neither at the systemic level nor at the local one. Rather than that, those larvae that were able to develop in the lesion area, caused a significant reduction in the number of bacteria and necrotic tissue at this location, so these results suggest the use of these larvae for maggot debridement therapy, prior sterilization and breeding control of the same ones.

Bibliografía

Bibliografía.

- Aak, A., Knudsen, G. K. and Soleng, A.** (2010). Wind tunnel behavioural response and field trapping of the blowfly *Calliphora vicina*. *Medical and veterinary entomology* **24**, 250–257. doi:10.1111/j.1365-2915.2010.00872.x.
- Aak, A., Birkemoe, T. and Knudsen, G. K.** (2011). Efficient Mass Trapping: Catching the Pest, *Calliphora vicina*, (Diptera, Calliphoridae), of Norwegian Stockfish Production. *Journal of Chemical Ecology* **37**, 924–931. doi:10.1007/s10886-011-9997-1.
- Abbott, C. E.** (1937). The necrophilus habit in Coleoptera. *Brooklyn Entomological Society* **32**, 202–204.
- Acevedo, P., Ruiz-Fons, F., Estrada, R., Márquez, A. L., Miranda, M. A., Gortázar, C. and Lucientes, J.** (2010). A broad assessment of factors determining A broad assessment of factors determining *Culicoides imicola* abundance: Modelling the present and forecasting its future in climate change scenarios. *PLoS ONE* **5**, e14236. doi:10.1371/journal.pone.0014236.
- Adams, Z. J. O. and Hall, M. J. R.** (2003). Methods used for the killing and preservation of blowfly larvae, and their effect on post-mortem larval length. *Forensic Science International* **138**, 50–61.
- Ahmetagić, S., Petković, J., Hukić, M., Smriko-Nuhanović, A. and Piljić, D.** (2015). Human West Nile virus infection in Bosnia and Herzegovina. *Medicinski glasnik : official publication of the Medical Association of Zenica-Doboj Canton, Bosnia and Herzegovina* **12**, 47–51.
- Al-Ismaily, M. and Scully, C.** (1995). Oral myiasis: report of two cases. *International journal of paediatric dentistry, the British Paedodontic Society and the International Association of Dentistry for Children* **5**, 177–179.
- Alarcón-Elbal, P. M.** (2015). *Estudio de los dípteros mamófilos del género Culicoides Latreille, 1809 (diptera, ceratopogonidae) potenciales vectores de patógenos al ganado en Castilla-La Mancha. Tesis Doctoral.* Universidad de Zaragoza.
- Alarcón-Elbal, P. M. and Lucientes, J.** (2012). Actualización del catálogo de *Culicoides* Latreille, 1809 (diptera, ceratopogonidae) de España. *Graellsia* **68**, 353–362. doi:10.3989/graellsia.2012.v68.064.
- Alarcón-Elbal, P. M., Estrada, R., Carmona-Salido, V. J., Calvete, C. and Lucientes, J.** (2016). Composición faunística y dinámica poblacional de los *Culicoides* (Diptera : Ceratopogonidae) de Castilla-La Mancha. *Anales de Biología* **38**, 37–61. doi:http://dx.doi.org/10.6018/analesbio.38.04.
- Alba, A., Casal, J. and Domingo, M.** (2004). Possible introduction of bluetongue into the Balearic Islands, Spain, in 2000, via air streams. *The Veterinary record* **155**, 460–461. doi:10.1136/vr.155.15.460.
- Allepuz, A., García-Bocanegra, I., Napp, S., Casal, J., Arenas, A., Saez, M. and González, M. A.** (2010). Monitoring bluetongue disease (BTV-1) epidemic in southern Spain during 2007. *Preventive veterinary medicine* **96**, 263–271. doi:10.1016/j.prevetmed.2010.06.005.

- Allerton, G. R., Gogolewski, R. P., Rugg, D., Plue, R. E., Barrick, R. A. and Eagleson, J. S. (1998). Field trials evaluating ivermectin controlled-release capsules for weaner sheep and for breeding ewes. *Australian veterinary journal* **76**, 39–43.
- Alpar, H. O., Bramwell, W. V., Veronesi, E., Darpel, E. K., Pastoret, P. P. and Mertens, P. (2009). Bluetongue virus vaccines past and present. *Bluetongue*. London: Elsevier 235–264.
- Amazigo, U., Noma, M., Bump, J., Benton, B., Liese, B., Yaméogo, L., Zouré, H. and Seketeli, A. (2006). Onchocerciasis. In *Disease and mortality in Sub-Saharan Africa* (ed. Jamison, D. T.), P. 387. World Bank, Washington, DC.
- Amendt, J., Campobasso, C. P., Gaudry, E., Reiter, C., LeBlanc, H. N. and Hall, M. J. R. (2007). Best practice in forensic entomology, standards and guidelines. *International journal of legal medicine* **121**, 90–104. doi:10.1007/s00414-006-0086-x.
- Ander, M., Meiswinkel, R. and Chirico, J. (2012). Seasonal dynamics of biting midges (Diptera: Ceratopogonidae: *Culicoides*), the potential vectors of bluetongue virus, in Sweden. *Veterinary Parasitology* **184**, 59–67. doi:10.1016/j.vetpar.2011.08.009.
- Anderson, G. S. (1999). Wildlife forensic entomology: determining time of death in two illegally killed black bear cubs. *Journal of forensic sciences* **44**, 856–859.
- Anderson, G. S. (2000). Minimum and maximum development rates of some forensically important Calliphoridae (Diptera). *Journal of forensic sciences* **45**, 824–832.
- Anderson, G. S. (2001). Insect Succession on Carrion and its Relationship to Determining Time of Death. In *The Utility of Arthropods in Legal Investigations* (ed. Byrd, J. H. and Castner, J. L.), pP. 143–177. CRC Press, Boca Raton.
- Aniebo, A. O., Erondu, E. S. and Owen, O. J. (2008). Proximate composition of housefly larvae (*Musca domestica*) meal generated from mixture of cattle blood and wheat bran. *Livestock Research for Rural Development* **20**, 73–81.
- Anónimo (1992). Study on the geographical distribution and seasonal prevalence in Spain during 1990-1991 of different species of the genus *Culicoides* (Family Ceratopogonidae). *Documento científico-técnico restringido, documento VI/650/92: Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación*. Madrid 57.
- Anthony, S. J., Maan, N., Maan, S., Sutton, G., Attoui, H. and Mertens, P. P. C. (2009a). Genetic and phylogenetic analysis of the core proteins VP1, VP3, VP4, VP6 and VP7 of epizootic haemorrhagic disease virus (EHDV). *Virus research* **145**, 187–199. doi:10.1016/j.virusres.2009.07.011.
- Anthony, S. J., Maan, S., Maan, N., Kgosana, L., Bachanek-Bankowska, K., Batten, C., Darpel, K. E., Sutton, G., Attoui, H. and Mertens, P. P. C. (2009b). Genetic and phylogenetic analysis of the outer-coat proteins VP2 and VP5 of epizootic haemorrhagic disease virus (EHDV): comparison of genetic and serological data to characterise the EHDV serogroup. *Virus research* **145**, 200–210. doi:10.1016/j.virusres.2009.07.012.
- Antunes, A. A., Santos, T. D. S., Avelar, R. L., Martins-Neto, E. C., Macedo-Neres, B. and Laureano-Filho, J. R. (2011). Oral and maxillofacial myiasis: a case series and literature review. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics* **112**, 81–85. doi:10.1016/j.tripleo.2011.05.026.

- Anziani, O. S., Guglielmono, A. A. and Schmid, H.** (1998). Efficacy of dicyclanil in the prevention of screwworm infestation (*Cochliomyia hominivorax*) in cattle castration wounds. *Veterinary Parasitology* **76**, 229–232.
- Apperson, C. S. and Yows, D. G.** (1976). Laboratory evaluation of activity of insect growth-regulators against *Culicoides variipennis* (Diptera, Ceratopogonidae). *Mosquito News* **36**, 203–204.
- Archana, M., D'Souza, P. E., Renuka Prasad, C. and Byregowda, S. M.** (2016). Prevalence of different species of *Culicoides* in Bangalore rural and urban districts of South India. *Journal of Parasitic Diseases* **40**, 591–604. doi:10.1007/s12639-014-0544-1.
- Arenas-Montes, A. J.** (2013). *Estudio epidemiológico de lengua azul y enfermedad hemorrágica epizootica en ecosistemas mediterráneos del sur de España [Tesis Doctoral]*. Universidad de Córdoba, Córdoba.
- Arnaldos, I., Romera, E., García, M. D. and Luna, A.** (2001). An initial study on the succession of sarcosaprophagous Diptera (Insecta) on carrion in the southeastern Iberian peninsula. *International journal of legal medicine* **114**, 156–162. doi:10.1007/s004140000146.
- Arnaldos, M. I., García, M. D., Romera, E., Presa, J. J. and Luna, A.** (2005). Estimation of postmortem interval in real cases based on experimentally obtained entomological evidence. *Forensic Science International* **149**, 57–65. doi:10.1016/j.forsciint.2004.04.087.
- Aybar, C. A. V., Juri, M. J. D., De Grosso, M. S. L. and Spinelli, G. R.** (2010). Species diversity and seasonal abundance of *Culicoides* biting midges in northwestern Argentina. *Medical and veterinary entomology* **24**, 95–98. doi:10.1111/j.1365-2915.2009.00846.x.
- Azevedo, R. R. and Krüger, R. F.** (2013). The influence of temperature and humidity on abundance and richness of Calliphoridae (Diptera). *Iheringia. Série Zoologia* **103**, 145–152. doi:10.1590/S0073-47212013000200010.
- Bagshaw, C., Isdell, A. E., Thiruvaiyaru, D. S., Brisbin, I. L. and Sanchez, S.** (2014). Molecular detection of canine parvovirus in flies (Diptera) at open and closed canine facilities in the eastern United States. *Preventive veterinary medicine* **114**, 276–284. doi:10.1016/j.prevetmed.2014.02.005.
- Baldet, T., Delécolle, J.-C., Mathieu, B., de La Rocque, S. and Roger, F.** (2004). Entomological surveillance of bluetongue in France in 2002. *Veterinaria italiana* **40**, 226–231.
- Baldet, T., Delécolle, J. C., Cêtre-Sossah, C., Mathieu, B., Meiswinkel, R. and Gerbier, G.** (2008). Indoor activity of *Culicoides* associated with livestock in the bluetongue virus (BTV) affected region of northern France during autumn 2006. *Preventive veterinary medicine* **87**, 84–97. doi:10.1016/j.prevetmed.2008.06.014.
- Balenghien, T., Cêtre-Sossah, C., Grillet, C., Delécolle, J.-C., Mathieu, B. and Baldet, T.** (2008). Diurnal activity of potential bluetongue vectors in northern Europe. *The Veterinary record* **162**, 323–324.

- Balenghien, T., Pagès, N., Goffredo, M., Carpenter, S., Augot, D., Jacquier, E., Talavera, S., Monaco, F., Depaquit, J., Grillet, C., Pujols, J., Satta, G., Kasbari, M., Setier-Rio, M. L., Izzo, F., Alkan, C., Delécolle, J. C., Quaglia, M., Charrel, R., Polci, A., Bréard, E., Federici, V., Cêtre-Sossah, C. and Garros, C. (2014). The emergence of Schmallenberg virus across *Culicoides* communities and ecosystems in Europe. *Preventive veterinary medicine* **116**, 360–369. doi:10.1016/j.prevetmed.2014.03.007.
- Balseiro, A., Royo, L. J., Gómez Antona, A. and García Marín, J. F. (2015). First Confirmation of Schmallenberg Virus in Cattle in Spain: Tissue Distribution and Pathology. *Transboundary and emerging diseases* **62**, 62–65. doi:10.1111/tbed.12185.
- Barratt-Boyes, S. M. and MacLachlan, N. J. (1994). Dynamics of viral spread in bluetongue virus infected calves. *Veterinary Microbiology* **40**, 361–371. doi:10.1016/0378-1135(94)90123-6.
- Barrett, M. and Trevela, W. (1989). The immune response of the sheep popliteal lymph node to a purified phenoloxidase from larval cuticle of the sheep ectoparasite, *Lucilia cuprina*. *The Journal of parasitology* **75**, 70–75.
- Barrientos, J. A. (ed) (2004). *Curso Práctico de Entomología*. Asociación Española de Entomología & CIBIO Centro Iberoamericano de la Biodiversidad, Alicante - Universitat Autònoma de Barcelona.
- Barroso, F. G., de Haro, C., Sánchez-Muros, M.-J., Venegas, E., Martínez-Sánchez, A. and Pérez-Bañón, C. (2014). The potential of various insect species for use as food for fish. *Aquaculture* **422–423**, 193–201. doi:10.1016/j.aquaculture.2013.12.024.
- Basáñez, M.-G., Pion, S. D. S., Churcher, T. S., Breitling, L. P., Little, M. P. and Boussinesq, M. (2006). River blindness: a success story under threat? *PLoS medicine* **3**, 1454–1460. doi:10.1371/journal.pmed.0030371.
- Batten, C. A., Maan, S., Shaw, A. E., Maan, N. S. and Mertens, P. P. C. (2008). A European field strain of bluetongue virus derived from two parental vaccine strains by genome segment reassortment. *Virus research* **137**, 56–63. doi:10.1016/j.virusres.2008.05.016.
- Baumgartner, D. L. and Greenberg, B. (1985). Distribución and medical ecology of the blow flies (Diptera: Calliphoridae) of Peru. *Annals of the Entomological Society of America* **78**, 565–587.
- Baylis, M. and Rawlings, P. (1998). Modelling the distribution and abundance of *Culicoides imicola* in Morocco and Iberia using climatic data and satellite imagery. *Archives of virology. Supplementum*. **14**, 137–153.
- Baylis, M., el Hasnaoui, H., Bouayoune, H., Touti, J. and Mellor, P. S. (1997). The spatial and seasonal distribution of African horse sickness and its potential *Culicoides* vectors in Morocco. *Medical and veterinary entomology* **11**, 203–212.
- Bellis, G. A., Melville, L. F., Hunt, N. T. and Hearnden, M. N. (2004). Temporal activity of biting midges (Diptera: Ceratopogonidae) on cattle near Darwin, Northern Territory, Australia. *Veterinaria italiana* **40**, 324–328.

- Benecke, M.** (1998). Rechtsmedizinisch angewandte kerb- und spinnentierkundliche Begutachtungen in Europa Eine kurze Übersicht über Ursprünge und den aktuellen Stand der Forschung. *Rechtsmedizin* **8**, 153–155. doi:10.1007/s001940050049.
- Benecke, M.** (2001). A brief history of forensic entomology. *Forensic science international* **120**, 2–14. doi:10.1016/S0379-0738(01)00409-1.
- Benjamini, Y. and Hochberg, Y.** (1995). Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)* **57**, 289–300.
- Bernabeu-Wittel, M., Ruiz-Pérez, M., del Toro, M. D., Aznar, J., Muniain, A., de Ory, F., Domingo, C. and Pachón, J.** (2007). West Nile virus past infections in the general population of Southern Spain. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica* **25**, 561–5.
- Bett, B., Kiunga, P., Gachohi, J., Sindato, C., Mbotha, D., Robinson, T., Lindahl, J. and Grace, D.** (2017). Effects of climate change on the occurrence and distribution of livestock diseases. *Preventive veterinary medicine* **137**, 119–129. doi:10.1016/j.prevetmed.2016.11.019.
- Beveridge, W. I.** (1984). The origin and early history of the Mules operation. *Australian veterinary journal* **61**, 161–163.
- Bharti, M. and Bharti, H.** (2016). Association and impact of ectoparasitic blowflies (Diptera: Calliphoridae) on Himalayan ants of genus *Myrmica*. *Insectes Sociaux* **63**, 477–480. doi:10.1007/s00040-016-0480-4.
- Bisdorff, B. and Wall, R.** (2008). Sheep blowfly strike risk and management in Great Britain: a survey of current practice. *Medical and veterinary entomology* **22**, 303–308. doi:10.1111/j.1365-2915.2008.00756.x.
- Bishop, A. L., Mckenzie, H. J., Barchia, I. M. and Harris, A. M.** (1996). Effect of Temperature Regimes on the Development, Survival and Emergence of *Culicoides brevitarsis* Kieffer (Diptera: Ceratopogonidae) in Bovine Dung. *Australian Journal of Entomology* **35**, 361–368. doi:10.1111/j.1440-6055.1996.tb01419.x.
- Bishop, J. V., Mejia, J. S., Pérez de León, A. A., Tabachnick, W. J. and Titus, R. G.** (2006). Salivary gland extracts of *Culicoides sonorensis* inhibit murine lymphocyte proliferation and no production by macrophages. *The American journal of tropical medicine and hygiene* **75**, 532–536.
- Blackburn, N. K., Searle, L. and Phelps, R. J.** (1985). Viruses isolated from *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) caught at the veterinary research farm, Mazowe, Zimbabwe. *Journal of the Entomological Society of Southern Africa* **48**, 331–336.
- Blackwell, A.** (2001). Recent advances on the ecology and behaviour of *Culicoides* spp. in Scotland and the prospects for control. *Veterinary Bulletin* **71**, 1–8.
- Blackwell, A., Wadhams, L. J. and Mordue, W.** (1997). Electrophysiological and behavioural studies of the biting midge, *Culicoides impunctatus* Goetghebuer (Diptera, Ceratopogonidae): interactions between some plant-derived repellent compounds and a host-odour attractant, 1-octen-3-ol. *Physiological Entomology* **22**, 102–108. doi:10.1111/j.1365-3032.1997.tb01146.x.

- Bofill, D., Domingo, C., Cardeñosa, N., Zaragoza, J., de Ory, F., Minguell, S., Sánchez-Seco, M. P., Domínguez, A. and Tenorio, A.** (2006). Human West Nile virus infection, Catalonia, Spain. *Emerging infectious diseases* **12**, 1163–1164. doi:10.3201/eid1207.060164.
- Bolek, M. G. and Janovy, J.** (2004). Observations on myiasis by the calliphorids, *Bufolucilia silvarum* and *Bufolucilia elongata*, in wood frogs, *Rana sylvatica*, from southeastern Wisconsin. *The Journal of parasitology* **90**, 1169–1171. doi:10.1645/GE-246R.
- Bondari, K. and Sheppard, D. C.** (1981). Soldier fly larvae as feed in commercial fish production. *Aquaculture* **24**, 103–109. doi:10.1016/0044-8486(81)90047-8.
- Bonn, D.** (2000). Maggot therapy: an alternative for wound infection. *Lancet* **356**, 1174. doi:10.1016/S0140-6736(05)72870-1.
- Boorman, J.** (1988). Taxonomic problems in *Culicoides* of southwest Asia, in particular of the Arabian peninsula. *Biosystematics of haematophagous insects* **37**, 271–282.
- Boorman, J., Mellor, P. S. and Scaramozzino, P.** (1996). A new species of *Culicoides* (Diptera, Ceratopogonidae) from southern Italy. *Parassitologia* **38**, 501–503.
- Borkent, A.** (1997). The Ceratopogonidae (Diptera) described by Santos Abreu from the Canary Islands. *Deutsche Entomologische Zeitschrift* **44**, 3–18.
- Bowen, F. L., Fisara, P., Junquera, P., Keevers, D. T., Mahoney, R. H. and Schmid, H. R.** (1999). Long-lasting prevention against blowfly strike using the insect growth regulator dicyclanil. *Australian veterinary journal* **77**, 454–60.
- Bowles, V. M., Carnegie, P. R. and Sandeman, R. M.** (1987). Immunization of sheep against infection with larvae of the blowfly *Lucilia cuprina*. *International journal for parasitology* **17**, 753–758.
- Bowles, V. M., Meeusen, E. N. T., Young, A. R., Andrews, A. E., Nash, A. D. and Brandon, M. R.** (1996). Vaccination of sheep against larvae of the sheep blowfly (*Lucilia cuprina*). *Vaccine* **14**, 1347–1352. doi:10.1016/S0264-410X(96)00052-7.
- Bradley, J. E., Whitworth, J. and Basáñez, M. G.** (2005). Onchocerciasis. In *In Topley and Wilson's microbiology and microbial infections* (ed. Cox, F., Wakelin, D., Gillespie, S., and Despommier, D.).
- Bragg, R. F., Duffy, A. L., DeCecco, F. A., Chung, D. K., Green, M. T., Veir, J. K. and Dow, S. W.** (2012). Clinical evaluation of a single dose of immune plasma for treatment of canine parvovirus infection. *Journal of American Veterinary Medical Association* **240**, 700–704.
- Braverman, Y. and Linley, J. R.** (1993). Effect of Light Trap Height on Catch of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) in Israel. *Journal of Medical Entomology* **30**, 1060–1063. doi:10.1093/jmedent/30.6.1060.
- Braverman, Y. and Linley, J. R.** (1994). Fecundity and proportions of gravid females in populations of bluetongue vector *Culicoides imicola* (Diptera: Ceratopogonidae) and several other species in Israel. *Journal of Medical Entomology* **31**, 838–843.
- Braverman, Y., Galun, R. and Ziv, M.** (1974). Breeding sites of some *Culicoides* species (Diptera, Ceratopogonidae) in Israel. *Mosquito News* **34**, 302–208.
- Broughan, J. M. and Wall, R.** (2006). Control of sheep blowfly strike using fly-traps. *Veterinary Parasitology* **135**, 57–63. doi:10.1016/j.vetpar.2005.08.005.

- Broughan, J. M. and Wall, R.** (2007). Fly abundance and climate as determinants of sheep blowfly strike incidence in southwest England. *Medical and veterinary entomology* **21**, 231–238. doi:10.1111/j.1365-2915.2007.00689.x.
- Bukauskaitė, D., Bernotienė, R., Iezhova, T. A. and Valkiūnas, G.** (2016). Mechanisms of mortality in *Culicoides* biting midges due to *Haemoproteus* infection. *Parasitology* **143**, 1–7. doi:10.1017/S0031182016001426.
- Cabanelas, E., Panadero, R., Fuertes, M., Fernández, M., Benavides, J., López, C., Pérez-Creo, A., Díaz, P., Morrondo, P., Díez-Baños, P. and Pérez, V.** (2015). Histological and immunohistochemical characterization of *Hypoderma lineatum* (Diptera: oestridae) warbles. *Veterinary Parasitology* **212**, 361–367. doi:10.1016/j.vetpar.2015.06.017.
- Cagienard, A., Griot, C., Mellor, P. S., Denison, E. and Stärk, K. D. C.** (2006). Bluetongue vector species of *Culicoides* in Switzerland. *Medical and veterinary entomology* **20**, 239–247.
- Calistri, P., Giovannini, A., Conte, A., Nannini, D., Santucci, U., Patta, C., Rolesu, S. and Caporale, V.** (2004). Bluetongue in Italy: Part I. *Veterinaria italiana* **40**, 243–251.
- Callot, J., Kremer, M., Geiss, J. L., Delecolle, J. C. and Hommel, M.** (1975). Notes d'Entomologie: Localisation nouvelles de *Culicoides* (Diptères, Ceratopogonides). Presence en Espagne de *C.jumineri* Callot et Kremer, *C.submaritimus* Dzshaf., *C.catartei* Clastrier et *C.circumscriptus* Kieffer. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée* **50**, 245–246.
- Calvert, C. C.** (1979). Use of Animal Excreta for Microbial and Insect Protein Synthesis. *J Anim Sci* **48**, 178–192.
- Calvete, C., Calvo, J. H., Calavia, R., Miranda, M. a, Borrás, D., Estrada, R., Lucientes, J., Mañuz, B. and Romero, L.** (2008a). *Culicoides* species and transmission of bluetongue virus in Spain. *The Veterinary record* **162**, 255. doi:10.1136/vr.162.8.255.
- Calvete, C., Estrada, R., Miranda, M. a., Borrás, D., Calvo, J. H. and Lucientes, J.** (2008b). Modelling the distributions and spatial coincidence of bluetongue vectors *Culicoides imicola* and the *Culicoides obsoletus* group throughout the Iberian peninsula. *Medical and veterinary entomology* **22**, 124–134. doi:10.1111/j.1365-2915.2008.00728.x.
- Calvete, C., Estrada, R., Miranda, M. a., Borrás, D., Calvo, J. H. and Lucientes, J.** (2009a). Ecological correlates of bluetongue virus in Spain: Predicted spatial occurrence and its relationship with the observed abundance of the potential *Culicoides spp.* vector. *Veterinary Journal* **182**, 235–243. doi:10.1016/j.tvjl.2008.06.010.
- Calvete, C., Estrada, R., Miranda, M. a., Del Rio, R., Borrás, D., Beldron, F. J., Martínez, A., Calvo, a. J. and Lucientes, J.** (2009b). Entry of bluetongue vector *Culicoides imicola* into livestock premises in Spain. *Medical and veterinary entomology* **23**, 202–208. doi:10.1111/j.1365-2915.2009.00801.x.
- Calvete, C., Estrada, R., Miranda, M. a., Del Rio, R., Borrás, D., Beldron, F. J., Martínez, A., Calvo, a. J. and Lucientes, J.** (2010). Protection of livestock against bluetongue virus vector *Culicoides imicola* using insecticide-treated netting in open areas. *Medical and veterinary entomology* **24**, 169–175. doi:10.1111/j.1365-2915.2009.00858.x.

- Calvo, J. H., Berzal, B., Calvete, C., Miranda, M. ., Estrada, R. and Lucientes, J.** (2012). Host feeding patterns of Host feeding patterns of *Culicoides* species (Diptera: Ceratopogonidae) within the Picos de Europa National Park in northern Spain. *Bulletin of entomological research* **102**, 692–697. doi:10.1017/S0007485312000284.
- Campbell, M. and Kettle, D.** (1979). Abundance and Temporal and Spatial Distribution of *Culicoides brevitaris* Kieffer (Diptera: Ceratopogonidae) on Cattle in South-East Queensland. *Australian Journal of Zoology* **27**, 251. doi:10.1071/ZO9790251.
- Campobasso, C. Pietro, Di Vella, G. and Introna, F.** (2001). Factors affecting decomposition and Diptera colonization. *Forensic Science International* **120**, 18–27. doi:10.1016/S0379-0738(01)00411-X.
- Capela, R., Pena, I. and Kremer, M.** (1992). Contribucao para o conhecimento dos *Culicoides* (Diptera, Ceratopogonidae) existentes em Portugal. *Actas do V Congresso Iberico de Entomologia* 381–386.
- Capela, R., Purse, B. V, Pena, I., Wittman, E. J., Margarita, Y., Capela, M., Romão, L., Mellor, P. S. and Baylis, M.** (2003). Spatial distribution of *Culicoides* species in Portugal in relation to the transmission of African horse sickness and bluetongue viruses. *Medical and veterinary entomology* **17**, 165–177.
- Caracappa, S., Torina, A., Guercio, A., Vitale, F., Calabrò, A., Purpari, G., Ferrantelli, V., Vitale, M. and Mellor, P. S.** (2003). Identification of a novel bluetongue virus vector species of *Culicoides* in Sicily. *The Veterinary record* **153**, 71–74.
- Carmo, R. and Vasconcelos, S.** (2014). First record of the blow fly *Chrysomya megacephala* (Diptera : Calliphoridae) on a southern Atlantic island : implications for disease transmission in a protected environment. *Journal of Vector Ecology* 228–230.
- Carpenter, S., Eyres, K., McEndrick, I., Smith, L., Turner, J., Mordue, W. and Mordue (Luntz), A. J.** (2005). Repellent efficiency of BayRepel against *Culicoides impunctatus* (Diptera: Ceratopogonidae). *Parasitology Research* **95**, 427–429. doi:10.1007/s00436-005-1298-6.
- Carpenter, S., Lunt, H. L., Arav, D., Venter, G. J. and Mellor, P. S.** (2006). Oral Susceptibility to Bluetongue virus of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) from the United Kingdom. *Journal of Medical Entomology* **43**, 73–78. doi:10.1603/0022-2585(2006)043[0073:OSTBVO]2.0.CO;2.
- Carpenter, S., Szmargd, C. and Torr, S.** (2007). Bluetongue and midge control. *The Veterinary record* **161**, 163.
- Carpenter, S., Szmargd, C., Barber, J., Labuschagne, K., Gubbins, S. and Mellor, P.** (2008). An assessment of *Culicoides* surveillance techniques in northern Europe: Have we underestimated a potential bluetongue virus vector? *Journal of Applied Ecology* **45**, 1237–1245. doi:10.1111/j.1365-2664.2008.01511.x.
- Carpenter, S., Wilson, A. and Mellor, P. S.** (2009). *Culicoides* and the emergence of bluetongue virus in northern Europe. *Trends Microbiol* **17**, 172–178. doi:10.1016/j.tim.2009.01.001.
- Castillo, M.** (2002). Estudio de la entomofauna asociada a cadáveres en el Alto Aragón (España). *Monografias S.E.A* **6**, 96.

- Cerovský, V., Zdárek, J., Fucík, V., Monincová, L., Voburka, Z. and Bém, R.** (2010). Lucifensin, the long-sought antimicrobial factor of medicinal maggots of the blowfly *Lucilia sericata*. *Cellular and molecular life sciences : CMLS* **67**, 455–466. doi:10.1007/s00018-009-0194-0.
- Cêtre-Sossah, C., Baldet, T., Delécolle, J.-C., Mathieu, B., Perrin, A., Grillet, C. and Albina, E.** (2004). Molecular detection of *Culicoides spp.* and *Culicoides imicola*, the principal vector of bluetongue (BT) and African horse sickness (AHS) in Africa and Europe. *Veterinary Research* **35**, 325–337. doi:10.1051/vetres:2004015.
- Chan, Q. E., Hussain, M. a. and Milovic, V.** (2012). Eating out of the hand, maggots - Friend or foe? *Journal of Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery* **65**, 1116–1118. doi:10.1016/j.bjps.2012.01.014.
- Chandler, J. A. and Highton, R. B.** (1975). The succession of mosquito species (Diptera, Culicidae) in rice fields in the Kisumu area of Kenya, and their possible control. *Bulletin of entomological research* **65**, 295–302. doi:10.1017/S0007485300005988.
- Cherix, D., Wyss, C. and Pape, T.** (2012). Occurrences of flesh flies (Diptera: Sarcophagidae) on human cadavers in Switzerland, and their importance as forensic indicators. *Forensic Science International* **220**, 158–163. doi:10.1016/j.forsciint.2012.02.016.
- Chernysh, S., Simonenko, P., Braun, A. and Neuster, M.** (1995). Development variability of the antibacterial response in larve and pupae of *Calliphora vicina* (Diptera: Calliphoridae) and *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). *European Journal of Entomology* **92**, 203–209.
- Choe, S., Lee, D., Park, H., Jeon, H. K., Kim, H., Kang, J. H., Jee, C. H. and S.Eom, K.** (2016). Canine wound myiasis caused by *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) in Korea. *Korean Journal of Parasitology* **54**, 667–671. doi:10.3347/kjp.2016.54.5.667.
- Choi, W.-H., Yun, J.-H., Chu, J.-P. and Chu, K.-B.** (2012). Antibacterial effect of extracts of *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) larvae against Gram-negative bacteria. *Entomological Research* **42**, 219–226. doi:10.1111/j.1748-5967.2012.00465.x.
- Church, J.** (1995). Larvatherapy: biosurgery. *European Tissue Repair Society Bulletin* **2**, 109–110.
- Čičková, H., Pastor, B., Kozánek, M., Martínez-Sánchez, A., Rojo, S. and Takáč, P.** (2012). Biodegradation of pig manure by the housefly, *Musca domestica* : a viable ecological strategy for pig manure management. *PloS ONE* **7**, e32798. doi:10.1371/journal.pone.0032798.
- Čičková, H., Newton, G. L., Lacy, R. C. and Kozánek, M.** (2015). The use of fly larvae for organic waste treatment. *Waste management (New York, N.Y.)* **35**, 68–80. doi:10.1016/j.wasman.2014.09.026.
- Cilek, J. E., Kline, D. L. and Hallmon, C. F.** (2003). Evaluation of a novel removal trap system to reduce biting midge (Diptera: Ceratopogonidae) populations in Florida backyards. *Journal of Vector Ecology* **28**, 23–30.
- Colditz, I. G., Watson, D. L., Eisemann, C. H. and Tellam, R. L.** (2002). Production of antibodies to recombinant antigens from *Lucilia cuprina* following cutaneous immunisation of sheep. *Veterinary Parasitology* **104**, 345–350.

Bibliografía

- Colditz, I. G., Walkden-Brown, S. W., Daly, B. L. and Crook, B. J.** (2005). Some physiological responses associated with reduced. *Australian veterinary journal* **83**, 695–699.
- Conte, A., Goffredo, M., Ippoliti, C. and Meiswinkel, R.** (2007). Influence of biotic and abiotic factors on the distribution and abundance of *Culicoides imicola* and the Obsoletus Complex in Italy. *Veterinary Parasitology* **150**, 333–344. doi:10.1016/j.vetpar.2007.09.021.
- Cooper, D. J., Pinnock, D. E. and Were, S. T.** (1985). Bacterial pathogens of the Australian sheep blowfly *Lucilia cuprina*. In *Proceedings of the 4th Australasian Conference on Grassland Invertebrate Ecology*.
- Cordero del Campillo, M. and Rojo, F.** (1999). *Parasitología Veterinaria*. Mc Graw-Hill Interamericana, Madrid.
- Courtenay, M., Church, J. C. and Ryan, T. J.** (2000). Larva therapy in wound management. *Journal of the Royal Society of Medicine* **93**, 72–74.
- Cragg, J. B.** (1955). The natural history of sheep blow flies in Britain. *Annals of Applied Biology* **42**, 197–207.
- Cybinski, D. H.** (1984). Douglas and Tinaroo viruses: two Simbu group arboviruses infecting *Culicoides brevitarsis* and livestock in Australia. *Australian journal of biological sciences* **37**, 91–97.
- Dallavecchia, D. L., da Silva Filho, R. G. and Aguiar, V. M.** (2014). Sterilization of *Chrysomya putoria* (Insecta: Diptera: Calliphoridae) Eggs for Use in Biotherapy. *Journal of Insect Science* **14**, 160–160. doi:10.1093/jisesa/ieu022.
- Dallwitz, R.** (1987). Density Independence of survival in myiasis breeding of *Lucilia cuprina* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae). *Bulletin of entomological research* **77**, 171–176.
- Dandawate, C. N., Rajagopalan, P. K., Pavri, K. M. and Work, T. H.** (1969). Virus isolations from mosquitoes collected in North Arcot district, Madras state, and Chittoor district, Andhra Pradesh between November 1955 and October 1957. *The Indian journal of medical research* **57**, 1420–1426.
- Darpel, K. E., Barber, J., Hope, A., Wilson, A. J., Gubbins, S., Henstock, M., Frost, L., Batten, C., Veronesi, E., Moffat, K., Carpenter, S., Oura, C., Mellor, P. S. and Mertens, P. P. C.** (2016). Using shared needles for subcutaneous inoculation can transmit bluetongue virus mechanically between ruminant hosts. *Scientific Reports* **6**, 20627. doi:10.1038/srep20627.
- Dascălu, L., Ionescu, A. and Rizac, V.** (2007). Weather stations and the data reports from Romania as part of the East-BTNet project. *Veterinaria italiana* **43**, 519–526.
- Davies, L.** (1990). Species composition and larval habitats of blowfly (Calliphoridae) populations in upland areas in England and Wales. *Medical and veterinary entomology* **4**, 61–68.
- Davies, L.** (1999). Seasonal and spatial changes in blowfly production from small and large carcasses at Durham in lowland northeast England. *Medical and veterinary entomology* **13**, 245–251.

- Davies, I., Vellema, P. and Roger, P. (2012). Schmallenberg virus - an emerging novel pathogen. *In Practice* **34**, 598–604. doi:10.1136/inp.e7372.
- De Carvalho, L. M. L., Linhares, A. X. and Badan-Palhares, F. A. (2012). The effect of cocaine on the development rate of immatures and adults of *Chrysomya albiceps* and *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae) and its importance to postmortem interval estimate. *Forensic Science International* **220**, 27–32. doi:10.1016/j.forsciint.2012.01.023.
- De Deken, G., Madder, M., Deblauwe, I., De Clercq, K., Fassotte, C., Losson, B., Haubruge, E. and De Deken, R. (2008). Vector monitoring at Belgian outbreak sites during the bluetongue epidemic of 2006. *Preventive veterinary medicine* **87**, 64–73. doi:10.1016/j.prevetmed.2008.06.006.
- de Diego, A., Sánchez-Cordón, P. and Sánchez-Vizcaíno, J. (2014). Bluetongue in Spain: from the first outbreak to 2012. *Transboundary and emerging diseases* **61**, 1–11. doi:10.1111/tbed.12068.
- De Keyser, R., Cassidy, C., Laban, S., Gopal, P., Pickett, J. A., Reddy, Y. K., Prasad, M., Prasad, G., Chirukandoth, S., Senthilven, K., Carpenter, S. and Logan, J. G. (2017). Insecticidal effects of deltamethrin in laboratory and field populations of *Culicoides* species: how effective are host-contact reduction methods in India? *Parasites & Vectors* **10**, 54. doi:10.1186/s13071-017-1992-0.
- De Liberato, C., Farina, F., Magliano, A., Rombolà, P., Scholl, F., Spallucci, V. and Scaramozzino, P. (2010). Biotic and abiotic factors influencing distribution and abundance of *Culicoides obsoletus* group (Diptera: Ceratopogonidae) in central Italy. *Journal of medical entomology* **47**, 313–318.
- De Prada, J. and Gil Collado, J. (1959). *Culicoides* in Badajoz. *La Medicina tropical* **34**, 417–424.
- De Regge, N., Deblauwe, I., De Deken, R., Vantieghem, P., Madder, M., Geysen, D., Smeets, F., Losson, B., van den Berg, T. and Cay, A. B. (2012). Detection of Schmallenberg virus in different *Culicoides* spp. by real-time RT-PCR. *Transboundary and emerging diseases* **59**, 471–475. doi:10.1111/tbed.12000.
- Del Río, R., Monerris, M., Miquel, M., Borràs, D., Calvete, C., Estrada, R., Lucientes, J. and Miranda, M. a. (2013). Collection of *Culicoides* spp. with four light trap models during different seasons in the Balearic Islands. *Veterinary Parasitology* **195**, 150–156. doi:10.1016/j.vetpar.2013.02.015.
- Del Río, R., Barceló, C., Lucientes, J. and Miranda, M. a. (2014). Detrimental effect of cypermethrin treated nets on *Culicoides* populations (Diptera; Ceratopogonidae) and non-targeted fauna in livestock farms. *Veterinary Parasitology* **199**, 230–234. doi:10.1016/j.vetpar.2013.10.014.
- Del Rio López, R., Miranda, M. a., Paredes-Esquivel, C., Lucientes, J., Calvete, C., Estrada, R. and Venter, G. J. (2012). Recovery rates of bluetongue virus serotypes 1, 2, 4 and 8 Spanish strains from orally infected *Culicoides imicola* in South Africa. *Medical and veterinary entomology* **26**, 162–167. doi:10.1111/j.1365-2915.2011.00990.x.
- Delécolle, J. C. (1985). *Nouvelle contribution à l'étude systématique et iconographique des espèces du genre Culicoides (Diptera: Ceratopogonidae) du Nord-Est de la France*. Thèse Univ. Louis Pasteur, Strasbourg.

Bibliografía

- Delécolle, J. C.** (2002). Ceratopogonidae. In *Catálogo de los Díptera de España Portugal y Andorra (Insecta)* (ed. Carles-Tolrá, M. and Andersen, H.), pP. 26–33. Monografías de la Sociedad Entomológica Aragonesa, Zaragoza.
- Delécolle, J. C. and Ortega, M. D.** (1998). Description d'une espèce nouvelle du genre *Culicoides* originaire d'Espagne, apparentée á *C. fagineus* Edwards, 1939 (Diptera, Ceratopogonidae). *Nouvelle Revue Entomology* **15**, 283–290.
- Delécolle, J. C., Blasco-Zumeta, J. and Rieb, J. P.** (1997). Nouvelle contribution à l'étude des Cératopogonidés d'Espagne. Description de *Homohoelea iberica* n.sp. et redescription de *Palpomyia miki* Goetghebuer, 1934 et de *Culicoides brevifrons* Smatov & Isimbekov, 1971 (Diptera, Nematocera). *Nouvelle Revue Entomology*, **14**, 337–351.
- Demirel-Kaya, F., Orkun, Ö., Çakmak, A., İnkaya, A. Ç., Öcal, M. and Erguven, S.** (2016). A Case of Extensive Wound Myiasis Caused by *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) in a Patient with Maxillary Sinus Squamous Cell Carcinoma, in Turkey. *Journal of arthropod-borne diseases* **10**, 267–70.
- Denno, R. F. and Cothran, W. R.** (1975). Niche Relationships of a Guild of Necrophagous Flies,. *Annals of the Entomological Society of America* **68**, 741–754. doi:10.1093/aesa/68.4.741.
- Denwood, T., Lang, M., Barr, W., Champion, S., Horton, B. and Horton, J.** (1999). The effect of flytrap site on catches in Lucitrap(R) flytraps in a cool temperate climate. *Wool Technology and Sheep Breeding* **47**.
- Deonier, C. C.** (1940). Carcass Temperatures and their Relation to Winter Blowfly Populations and Activity in the Southwest. *Journal of Economic Entomology* **33**, 166–170 .
- Diakakis, N., Papadopoulos, E., Hall, M. J. R. and Desiris, A.** (2006). Post-traumatic complication due to *Wohlfahrtia magnifica* larvae on a horse. *The Veterinary record* **158**, 170–172.
- Diarra, M., Fall, M., Lancelot, R., Diop, A., Fall, A. G., Dicko, A., Seck, M. T., Garros, C., Allène, X., Rakotoarivony, I., Bakhoum, M. T., Bouyer, J. and Guis, H.** (2015). Modelling the Abundances of Two Major *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) Species in the Niayes Area of Senegal. *PLOS ONE* **10**, e0131021. doi:10.1371/journal.pone.0131021.
- Díaz-López, M. and Ruiz-Martínez, I.** (1996). Pupación de la mosca productora de miasis *Wohlfahrtia magnifica* (Schiner, 1862) (Diptera, Sarcophagidae). *Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural*. **92**, 161–165.
- Díaz López, M.** (1993). *Análisis de la evolución de las proteínas solubles durante el ciclo biológico de los dípteros Wohlfahrtia magnifica (Schin.) y Calliphora vicina (Rob.) (Tesis Doctoral)*. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Granada.
- Diener, S., Gutiérrez, F. R., Zurbrügg, C. and Tockner, K.** (2009). Are larvae of the black soldier fly *Hermetia illucens* a financially viable option for organic waste management in Costa Rica? In *ProC. 12th int. waste manag. landfill symp.*, P. Sardinia.

- Diener, S., Zurbrügg, C., Gutiérrez, F. R., Nguyen, D. H., Morel, A., Koottatep, T. and Tockner, K.** (2011a). Black soldier fly larvae for organic waste treatment – prospects and constraints. In *Proceedings WasteSafe 2011*, P. Bangladesh.
- Diener, S., Studt Solano, N. M., Roa Gutiérrez, F., Zurbrügg, C. and Tockner, K.** (2011b). Biological Treatment of Municipal Organic Waste using Black Soldier Fly Larvae. *Waste and Biomass Valorization* **2**, 357–363. doi:10.1007/s12649-011-9079-1.
- Dijkstra, E., van der Ven, I. J. K., Meiswinkel, R., Hölzel, D. R. and Van Rijn, P. A.** (2008). *Culicoides chiopterus* as a potential vector of bluetongue virus in Europe. *The Veterinary record* **162**, 422.
- Dik, B., Yavru, S., Uslu, U., Yapici, O. and Esin, E.** (2012). Determination of *Culicoides species* (Diptera: Ceratopogonidae) as suspect vectors of Epizootic Haemorrhagic Disease and Bluetongue viruses in southern and western Anatolia by RT-PCR. *Revue de Médecine Vétérinaire* **163**, 505–510.
- Djordjevic, M., Brana, R.-D., Marijana, V., Baltic, M., Radislava, T., Ljiljana, J., Marija, V. and Rajkovic, M.** (2008). Effects of substitution of fish meal with fresh and dehydrated larvae of the house fly (*Musca domestica*) on productive performance and health of broilers. *Acta veterinaria* **58**, 357–368. doi:10.2298/AVB0804357D.
- Doherty, R. L. D., Carley, J. G. C., Standfast, H. A. S., Dyce, A. L. D. and Snowdon, W. A. S.** (1972). Virus strains isolated from arthropods during an epizootic of bovine ephemeral fever in Queensland. *Australian veterinary journal* **48**, 81–86. doi:10.1111/j.1751-0813.1972.tb02220.x.
- Driggers, D., O'Connor, R., Kardatzke, J., Stup, J. and Schiefer, B.** (1980). The US Army miniature solid state mosquito light trap. *Mosquito News* **40**, 172–178.
- Droma, E. B., Wilamowski, A., Schnur, H., Yarom, N., Scheuer, E. and Schwartz, E.** (2007). Oral myiasis: a case report and literature review. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics* **103**, 92–96. doi:10.1016/j.tripleo.2005.10.075.
- Du Toit, R. M.** (1944). The Transmission of Blue-Tongue and Horse-Sickness by *Culicoides*. *Onderstepoort Journal of Veterinary Science and Animal Industry* **19**, 7–16.
- Du Toit, R. M.** (1962). The role played by bovines in the transmission of bluetongue in sheep - preliminary communication. *Journal of the South African Veterinary Medical Association* **33**, 483–490.
- Ducheyne, E., Chueca, M. a M., Lucientes, J., Calvete, C., Estrada, R., Boender, G. J., Goossens, E., De Clercq, E. M. and Hendrickx, G.** (2013). Abundance modelling of invasive and indigenous *Culicoides* species in Spain. *Geospatial Health* **8**, 241–254.
- Dunbar, G.** (1944). Notes on the Ngemba tribe of the Central Darling River of Western New South Wales. *Mankind* **3**, 140–148.
- Durán, M.** (2012). *Distribución, abundancia y composición de la comunidad de dípteros hematófagos vectores de enfermedades en Castilla-La Mancha: riesgos para la salud pública y la sanidad animal. Tesis Doctoral.* Universidad de Castilla-La Mancha.
- Dyce, A. L.** (1969). The recognition of nulliparous and parous *Culicoides* (diptera: ceratopogonidae) without dissection. *Australian Journal of Entomology* **8**, 11–15. doi:10.1111/j.1440-6055.1969.tb00727.x.

- Eagleson, J. S., Thompson, D. R., Scott, P. G., Cramer, L. G. and Barrick, R. a. (1993). Field trials to confirm the efficacy of ivermectin jetting fluid for control of blow fly strike in sheep. *Veterinary Parasitology* **51**, 107–112. doi:10.1016/0304-4017(93)90201-W.
- Easton, C. and Feir, D. (1991). Factors Affecting the Oviposition of *Phaenicia sericata* (Meigen) (Diptera: Calliphoridae). *Journal of the Kansas Entomological Society* **64**, 287–294.
- Eby, H. J. and Dendy, W. L. (1978). An attempt to mechanize nutrient recovery from animal waste by the use of house fly larvae. *Transactions of the American Society of Agricultural Engineers* **21**, 395–398.
- Eisemann, C. H., Johnston, L. A. Y., Broadmeadow, M., O’Sullivan, B. M., Donaldson, R. a., Pearson, R. D., Vuocolo, T., Kerr, J. D., Broadmeadow O’Sullivan, M. B. M., Donaldson, R. a., Pearson, R. D., Vuocolo, T., Kerr, J. D., Broadmeadow, M., O’Sullivan, B. M., Donaldson, R. a., Pearson, R. D., Vuocolo, T. and Kerr, J. D. (1990). Acquired resistance of sheep to larvae of *Lucilia cuprina*, assessed in vivo and in vitro. *International journal for parasitology* **20**, 299–305. doi:10.1016/0020-7519(90)90143-B.
- El-Abrak, A., Tabarani, A. and Zro, K. Dossier myiases animals. *Bulletin Epidemiologique Veterinaire (Periodique d’information en epidemiologie et sante animale veterinaires, Royaume du Maroc)* **9**, 1–3.
- El-Moaty, Z. a. and Kheirallah, A. E. M. (2013). Developmental variation of the blow fly *Lucilia sericata* (meigen, 1826) (diptera: Calliphoridae) by different substrate tissue types. *Journal of Asia-Pacific Entomology* **16**, 297–300. doi:10.1016/j.aspen.2013.03.008.
- El Boushy, A. R. (1991). House-fly pupae as poultry manure converters for animal feed: A review. *Bioresource Technology* **38**, 45–49. doi:10.1016/0960-8524(91)90220-E.
- Elbers, A. R. W., Backx, A., Meroc, E., Gerbier, G., Staubach, C., Hendrickx, G., van der Spek, A. and Mintiens, K. (2008). Field observations during the bluetongue serotype 8 epidemic in 2006. I. Detection of first outbreaks and clinical signs in sheep and cattle in Belgium, France and the Netherlands. *Preventive veterinary medicine* **87**, 21–30. doi:10.1016/j.prevetmed.2008.06.004.
- Elbers, A. R. W., Loeffen, W. L. A., Quak, S., de Boer-Luijtz, E., van der Spek, A. N., Bouwstra, R., Maas, R., Spierenburg, M. A. H., de Kluijver, E. P., van Schaik, G. and van der Poel, W. H. M. (2012). Seroprevalence of Schmallenberg virus antibodies among dairy cattle, the Netherlands, winter 2011-2012. *Emerging infectious diseases* **18**, 1065–1071. doi:10.3201/eid1807.120323.
- Elbers, A. R. W., Meiswinkel, R., Weezep, E. van, Oldruitenborgh-Oosterbaan, M. M. S. van and Kooij, E. A. (2013). Schmallenberg Virus in *Culicoides spp.* Biting Midges, the Netherlands, 2011. *Emerging infectious disease journal* **19**, 106. doi:10.3201/eid1901.121054.
- Elder, J. W. and Grover, C. a. (2013). Wound debridement: Lessons learned of when and how to remove “wild” maggots. *Journal of Emergency Medicine* **45**, 585–587. doi:10.1016/j.jemermed.2013.01.022.

- Elkington, R. a. and Mahony, T. J.** (2007). A blowfly strike vaccine requires an understanding of host-pathogen interactions. *Vaccine* **25**, 5133–5145. doi:10.1016/j.vaccine.2007.04.074.
- Erzincioğlu, Y. Z.** (1988). The morphology of the egg of the bird-parasite *Protocalliphora azurea* (Diptera: Calliphoridae). *Medical and veterinary entomology* **2**, 95–97.
- Estrada, R., Carmona, V. J., Alarcón-Elbal, P. M., Miranda, M. A., Borrás, D., Roche, M. L., Tamarit, A., Navarro, J. and Lucientes, J.** (2011). Primera cita de *Culicoides paolae* Boorman, 1996 (Diptera, Ceratopogonidae) para la Península Ibérica y aportaciones sobre su distribución. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa* **49**, 217–221.
- Evans, A. C.** (1936). The physiology of the sheep blowfly *Lucilia sericata* (Meigen). *Transactions of the Entomological Society of London* **85**, 363–377.
- Evans, I.** (2006). National Mulesing Accreditation Manual. In *National Mulesing Accreditation Program*, P. Kondinin Group Inc.
- Evans, I. B., Lawton, P. W., Sergeant, E. and Lloyd, J. B.** (2012). Effect on the breech and tail characteristics of Merino lambs of varying the duration of application of occlusive plastic clips as an alternative to mulesing. *Australian veterinary journal* **90**, 308–314. doi:10.1111/j.1751-0813.2012.00954.x.
- Falconi, C., López-Olvera, J. R. and Gortázar, C.** (2011). BTV infection in wild ruminants, with emphasis on red deer: A review. *Veterinary Microbiology* **151**, 209–219. doi:10.1016/j.vetmic.2011.02.011.
- Farkas, R. and Hall, M. J.** (1998). Prevalence of traumatic myiasis in Hungary: a questionnaire survey of veterinarians. *The Veterinary record* **143**, 440–443.
- Farkas, R., Hall, M. J., Dániel, M. and Börzsönyi, L.** (1996). Efficacy of ivermectin and moxidectin injection against larvae of *Wohlfahrtia magnifica* (Diptera: Sarcophagidae) in sheep. *Parasitology research* **82**, 82–86.
- Farkas, R., Hall, M. J. R. and Kelemen, F.** (1997). Wound myiasis of sheep in Hungary. *Veterinary Parasitology* **69**, 133–144. doi:10.1016/S0304-4017(96)01110-7.
- Farkas, R., Szántó, Z. and Hall, M.** (2001). Traumatic myiasis of geese in Hungary. *Veterinary Parasitology* **95**, 45–52.
- Farkas, R., Hall, M. J. R., Bouzagou, A. K., Lhor, Y. and Khallaayoune, K.** (2009). Traumatic myiasis in dogs caused by *Wohlfahrtia magnifica* and its importance in the epidemiology of wohlfahrtiosis of livestock. *Medical and veterinary entomology* **23 Suppl 1**, 80–85. doi:10.1111/j.1365-2915.2008.00772.x.
- Ferraguti, M., Martínez-de la Puente, J., Ruiz, S., Soriguer, R. and Figuerola, J.** (2013). On the study of the transmission networks of blood parasites from SW Spain: diversity of avian haemosporidians in the biting midge *Culicoides circumscriptus* and wild birds. *Parasites & Vectors* **6**, 1–7. doi:10.1186/1756-3305-6-208.
- Ferrari, G., De Liberato, C., Scavia, G., Lorenzetti, R., Zini, M., Farina, F., Magliano, A., Cardeti, G., Scholl, F. and Guidoni, M.** (2005). Active circulation of bluetongue vaccine virus serotype-2 among unvaccinated cattle in central Italy. *Preventive veterinary medicine* **68**, 103–113.

- Ferraz, A., Gadelha, B. and Aguiar-Coelho, V.** (2010). Climatic and anthropic influence on the abundance and richness of Calliphoridae (Diptera) in a forest fragment in the Tinguá Biological Reserve, RJ, Brazil. *Neotropical entomology* **39**, 476–485.
- Figarola, J. L., Skoda, S. R., Berkebile, D. R. and Foster, J. E.** (2001). Identification of screwworms, *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel) (Diptera: Calliphoridae), with a monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay (MAb-ELISA). *Veterinary Parasitology* **102**, 341–354. doi:10.1016/S0304-4017(01)00538-6.
- Fisher, P., Wall, R. and Ashworth, J. R.** (1998). Attraction of the sheep blowfly, *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) to carrion bait in the field. *Bulletin of entomological research* **88**, 611–616. doi:10.1017/S0007485300054274.
- Flanagan, M. and Johnson, S.** (1995). The effects of vaccination of Merino ewes with an attenuated Australian bluetongue virus serotype 23 at different stages of gestation. *Australian veterinary journal* **72**, 455–457. doi:10.1111/j.1751-0813.1995.tb03488.x.
- Fleischmann, W.** (2004). Maggot Debridement. In *Surgery in Wounds* (ed. Téot, L., Banwell, P. E., and Ziegler, U. E.), pP. 125–128. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg doi:10.1007/978-3-642-59307-9.
- Fleischmann, W., Grassberger, M. and Sherman, R.** (2003). *Maggot therapy. A handbook of Maggot-Assisted wound healing*. 1st ed. Thieme, Stuttgart.
- Förster, M., Klimpel, S. and Sievert, K.** (2009). The house fly (*Musca domestica*) as a potential vector of metazoan parasites caught in a pig-pen in Germany. *Veterinary Parasitology* **160**, 163–167. doi:10.1016/j.vetpar.2008.10.087.
- Foxi, C., Delrio, G., Falchi, G., Marche, M. G., Satta, G. and Ruiu, L.** (2016). Role of different *Culicoides* vectors (Diptera: Ceratopogonidae) in bluetongue virus transmission and overwintering in Sardinia (Italy). *Parasites & Vectors* **9**, 440. doi:10.1186/s13071-016-1733-9.
- Fraenkel, G. and Bhaskaran, G.** (1973). Pupariation and Pupation in Cyclorrhaphous Flies (Diptera): Terminology and Interpretation. *Annals of the Entomological Society of America* **66**, 418–422. doi:10.1093/aesa/66.2.418.
- Fragkou, I. A., Papadopoulos, E., Stavrakakis, S., Mavrogianni, V. S. and Fthenakis, G. C.** (2011). Observations in ovine myiasis in Greece, with special reference to clinical findings and therapeutic considerations. In *Proceedings of the European Conference in Small Ruminant Health Management*, P. Athens.
- Francesconi, F. and Lupi, O.** (2012). Myiasis. *Clinical Microbiology Reviews* **25**, 79–105. doi:10.1128/CMR.00010-11.
- Fremdt, H. and Amendt, J.** (2014). Species composition of forensically important blow flies (Diptera: Calliphoridae) and flesh flies (Diptera: Sarcophagidae) through space and time. *Forensic Science International* **236**, 1–9. doi:10.1016/j.forsciint.2013.12.010.
- French, N. P., Wall, R., Cripps, P. J. and Morgan, K. L.** (1992). Prevalence, regional distribution and control of blowfly strike in England and Wales. *The Veterinary record* **131**, 337–342.

- French, N. P., Wall, R. and Morgan, K. L.** (1994). Ectoparasite control on sheep farms in England and Wales: the method, type and timing of insecticidal treatment. *The Veterinary record* **135**, 35–38.
- Gale, P., Brouwer, A., Ramnial, V., Kelly, L., Kosmider, R., Fooks, A. R. and Snary, E. L.** (2010). Assessing the impact of climate change on vector-borne viruses in the EU through the elicitation of expert opinion. *Epidemiology and Infection* **138**, 214–225. doi:10.1017/S0950268809990367.
- Gallego-Berenguer, J.** (2007). *Manual de Parasitología; Morfología y biología de los parásitos de interés sanitario*. Edicions Universitat de Barcelona, Barcelona.
- Gambles, R. M.** (1949). Bluetongue of sheep in Cyprus. *Journal of Comparative Pathology* **59**, 176–190.
- García-Bocanegra, I., Jaén-Téllez, J. A., Napp, S., Arenas-Montes, A., Fernández-Morente, M., Fernández-Molera, V. and Arenas, A.** (2011). West Nile fever outbreak in horses and humans, Spain, 2010. *Emerging infectious diseases* **17**, 2397–2399. doi:10.3201/eid1712.110651.
- García-Saenz, a., Mccarter, P. and Baylis, M.** (2011). The influence of host number on the attraction of biting midges, *Culicoides spp.*, to light traps. *Medical and veterinary entomology* **25**, 113–115. doi:10.1111/j.1365-2915.2010.00904.x.
- Gerry, A. C. A., Sarto i Monteys, V., Moreno Vidal, J. O., Francino, O. and Mullens, B. a B.** (2009). Biting rates of *Culicoides* midges (Diptera: Ceratopogonidae) on sheep in northeastern Spain in relation to midge capture using UV light and carbon dioxide-baited traps. *Journal of Medical Entomology* **46**, 615–624. doi:10.1603/033.046.0329.
- Getachew, S., Gebre-Michael, T., Erko, B., Balkew, M. and Medhin, G.** (2007). Non-biting cyclorrhaphan flies (Diptera) as carriers of intestinal human parasites in slum areas of Addis Ababa, Ethiopia. *Acta tropica* **103**, 186–194. doi:10.1016/j.actatropica.2007.06.005.
- Giangaspero, A., Traversa, D., Trentini, R., Scala, A. and Otranto, D.** (2011). Traumatic myiasis by *Wohlfahrtia magnifica* in Italy. *Veterinary Parasitology* **175**, 109–112. doi:10.1016/j.vetpar.2010.09.028.
- Giangaspero, A., Brianti, E., Traversa, D. and Hall, M. J. R.** (2014). A retrospective and geographical epidemiological survey of traumatic myiasis in southern Italy. *Medical and veterinary entomology* **28**, 391–397. doi:10.1111/mve.12071.
- Gil-Collado, J.** (1960). *Insectos y Ácaros de los Animales Domésticos*. Salvat Editores, S.A.
- Gil-Collado, J. and Sahuquillo-Herráiz, C.** (1983). Aportaciones al catálogo de *Culicoides* (Diptera, Ceratopogonidae) de España peninsular. *Revista Ibérica de Parasitología* **43**, 109–110.
- Giovannini, A., Conte, A., Calistri, P., Di Francesco, C. and Caporale, V.** (2004). Risk analysis on the introduction into free territories of vaccinated animals from restricted zones. *Veterinaria italiana* **40**, 697.
- Githeko, A. K., Lindsay, S. W., Confalonieri, U. E. and Patz, J. A.** (2000). Climate change and vector-borne diseases: a regional analysis. *Bulletin of the World Health Organization* **78**, 1136–1147.

Bibliografía

- Gnagey, A. and Denlinger, D.** (1984). Photoperiodic induction of pupal diapause in the flesh fly *Sarcophaga crassipalpis*: embryonic sensitivity. *Journal of Comparative Physiology* **154**, 91–96.
- Goffredo, M., Conte, A. and Meiswinkel, R.** (2004). Distribution and abundance of *Culicoides imicola*, *Obsoletus Complex* and *Pulicaris Complex* (Diptera: Ceratopogonidae) in Italy. *Veterinaria italiana* **40**, 270–273.
- Goffredo, M., Monaco, F., Capelli, G., Quaglia, M., Federici, V., Catalani, M., Montarsi, F., Polci, A., Pinoni, C., Calistri, P. and Savini, G.** (2013). Schmallenberg virus in Italy: a retrospective survey in *Culicoides* stored during the bluetongue Italian surveillance program. *Preventive veterinary medicine* **111**, 230–236. doi:10.1016/j.prevetmed.2013.05.014.
- Goffredo, M., Catalani, M., Federici, V., Portanti, O., Marini, V., Mancini, G., Quaglia, M., Santilli, A., Teodori, L. and Savini, G.** (2015). Vector species of *Culicoides* midges implicated in the 2012-2014 Bluetongue epidemics in Italy. *Veterinaria italiana* **51**, 131–138. doi:10.12834/VetIt.771.3854.1.
- Goldarazena, A., Romón, P., Aduriz, G., Balenghien, T., Baldet, T. and Delécolle, J. C.** (2008). First record of *Culicoides imicola*, the main vector of bluetongue virus in Europe, in the Basque Country (northern Spain). *The Veterinary record* **162**, 820–821. doi:10.1136/vr.162.25.820.
- Goller, K. V., Höper, D., Schirmer, H., Mettenleiter, T. C. and Beer, M.** (2012). Schmallenberg virus as possible ancestor of shamonda virus. *Emerging infectious diseases* **18**, 1644–1646.
- Gomez, R. S., Perdigão, P. F., Pimenta, F. J. G. S., Rios Leite, A. C., Tanos de Lacerda, J. C. and Custódio Neto, A. L.** (2003). Oral myiasis by screwworm *Cochliomyia hominivorax*. *The British journal of oral & maxillofacial surgery* **41**, 115–116.
- González, M.** (2014). *El género Culicoides (Diptera: Ceratopogonidae) en el País Vasco, norte de España. Tesis Doctoral.* Universidad del País Vasco.
- González, M. and Goldarazena, A.** (2011). *El género Culicoides en el País Vasco: guía práctica para su identificación y control.* Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco, Vitoria.
- González, M., López, S., Mullens, B. a., Baldet, T. and Goldarazena, A.** (2013). A survey of *Culicoides* developmental sites on a farm in northern Spain, with a brief review of immature habitats of European species. *Veterinary Parasitology* **191**, 81–93. doi:10.1016/j.vetpar.2012.08.025.
- González-Mora, D.** (1989). Los Calliphoridae de España: II: Calliphorini (Díptera). *Eos (Revista Española de Entomología)* **65**, 39–59.
- González-Mora, D. and Peris, S. V.** (1988). Los Calliphoridae de España: I: Rhiniinae y Chrysomyinae (Díptera). *Eos (Revista Española de Entomología)* **64**, 91–139.
- Gordon, P. M., Hepburn, N. C., Williams, A. E. and Bunney, M. H.** (1995). Cutaneous myiasis due to *Dermatobia hominis*: a report of six cases. *The British journal of dermatology* **132**, 811–4.
- Gorla, D. E.** (2002). Variables ambientales registradas por sensores remotos como indicadores de la distribución geográfica de *Triatoma infestans* (Heteroptera: Reduviidae). *Ecología austral* **12**, 117–127.

- Gould, A. R. and Pritchard, L. I.** (1990). Relationships amongst bluetongue viruses revealed by comparisons of capsid and outer coat protein nucleotide sequences. *Virus research* **17**, 31–52. doi:10.1016/0168-1702(90)90078-P.
- Grahan, O.** (1985). Symposium on eradication of the screwworm from the United States and Mexico. *Entomological Society of América* **62**, 68.
- Grassberger, M. and Frank, C.** (2004). Initial study of arthropod succession on pig carrion in a central European urban habitat. *Journal of Medical Entomology* **41**, 511–523.
- Grassberger, M. and Reiter, C.** (2001). Effect of temperature on *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) development with special reference to the isomegalen- and isomorphen-diagram. *Forensic Science International* **120**, 32–36. doi:10.1016/S0379-0738(01)00413-3.
- Grassberger, M. and Reiter, C.** (2002). Effect of temperature on development of the forensically important holarctic blow fly *Protophormia terraenovae* (Robineau-Desvoidy) (Diptera: Calliphoridae). *Forensic Science International* **128**, 177–182. doi:10.1016/S0379-0738(02)00199-8.
- Grassberger, M., Friedrich, E. and Reiter, C.** (2003). The blowfly *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) as a new forensic indicator in Central Europe. *International journal of legal medicine* **117**, 75–81. doi:10.1007/s00414-002-0323-x.
- Greenberg, B.** (1973). Flies through history. In *Flies and Disease* (ed. Greenberg, B.), P. Princeton University Press, Princeton.
- Greenberg, B.** (1990). Behaviour of postfeeding larvae of some Calliphoridae and a muscid (Diptera). *Annals of the Entomological Society of America* **83**, 1210–1214.
- Greenberg, B. and Povolny, D.** (1971). Bionomics of flies. In *Flies and Disease, Vol. 1.* (ed. Greenberg, B.), pP. 57–83. Princeton University Press, Princeton.
- Greene, C. E. and Decaro, N.** (2012). Canine Viral Enteritis. In *Infectious Diseases of the Dog and Cat*, pP. 67–76. Saunders Elsevier, St. Louis.
- Gregor, F. and Povolny, D.** (1961). Resultate stationärer Untersuchungen von synanthropen Fliegen in der Umgebung einer Ortschaft in der Ostslowakei. *Zoologica Listy* **10**, 17–24.
- Grindle, J.** (2001). Economic assessment of the screw-worm fly problem in Malaysia. *IEAE-TCR-00526 International Atomic Energy Agency Technical Report*.
- Gubbins, S., Carpenter, S., Baylis, M., Wood, J. L. N. and Mellor, P. S.** (2008). Assessing the risk of bluetongue to UK livestock: uncertainty and sensitivity analyses of a temperature-dependent model for the basic reproduction number. *Journal of the Royal Society, Interface* **5**, 363–371. doi:10.1098/rsif.2007.1110.
- Guercio, A., Di Marco, P., Manno, C., Di Bella, C., Purpari, G. and Torina, A.** (2010). Ovine catarrhal fever (Bluetongue): analysis of *Culicoides* species in seropositive farms. *Transboundary and emerging diseases* **57**, 15–18. doi:10.1111/j.1865-1682.2010.01122.x.
- Guichard, S., Guis, H., Tran, A., Garros, C., Balenghien, T. and Kriticos, D. J.** (2014). Worldwide niche and future potential distribution of *Culicoides imicola*, a major vector of bluetongue and African horse sickness viruses. *PLoS ONE* **9**, e112491. doi:10.1371/journal.pone.0112491.

Bibliografía

- Guimarães, J. H., Prado, A. P. and X., L. A.** (1978). Three newly introduced blowfly species in Southern Brazil (Diptera: Calliphoridae). *Revista Brasileira de Entomologia* **22**, 53–60.
- Guis, H., Tran, A., Mauny, F., Baldet, T., Barragué, B., Gerbier, G., Viel, J.-F., Roger, F. and de La Rocque, S.** (2007). A multiple fine-scale satellite-derived landscape approach: example of bluetongue modelling in Corsica. *Veterinaria italiana* **43**, 699–707.
- Gunn, A. and Bird, J.** (2011). The ability of the blowflies *Calliphora vomitoria* (Linnaeus), *Calliphora vicina* (Rob-Desvoidy) and *Lucilia sericata* (Meigen) (Diptera: Calliphoridae) and the muscid flies *Muscina stabulans* (Fall) and *Muscina prolapsa* (Harris) (Diptera: Mu. *Forensic Science International* **207**, 198–204. doi:10.1016/j.forsciint.2010.10.008.
- Guse, S. T. and Tieszen, M. E.** (1997). Cutaneous myiasis from *Dermatobia hominis*. *Wilderness & environmental medicine* **8**, 156–60.
- Hadani, A., Rabinsky, R., Shimshoni, A. and Vishinsky, Y.** (1971). Myiasis caused by *Wohlfahrtia magnifica* (Schiner) in sheep on the Golan Heights. *Refuah Veterinarith* **28**, 25–33.
- Hall, M. J. R.** (1995). Trapping the flies that cause myiasis: Their responses to host-stimuli. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* **89**, 333–357.
- Hall, M. J.** (1997). Traumatic myiasis of sheep in Europe: a review. *Parassitologia* **39**, 409–413.
- Hall, M. J. R. and Farkas, R.** (2000). Traumatic myiasis of humans and animals. In *Contributions to a Manual of Palaearctic Diptera* (ed. Papp, L.) and Darvas, B.), pP. 751–768. Science Herald, Budapest.
- Hall, M. and Wall, R.** (1995). Myiasis of humans and domestic animals. *Advances in parasitology* **35**, 257–334.
- Hall, M. J. R., Hutchinson, R. a., Farkas, R., Adams, Z. J. O. and Wyatt, N. P.** (2003). A comparison of Lucitraps?? and sticky targets for sampling the blowfly *Lucilia sericata*. *Medical and veterinary entomology* **17**, 280–287. doi:10.1046/j.1365-2915.2003.00440.x.
- Hannam, P., Khairnar, K., Downey, J., Powis, J., Ralevski, F. and Pillai, D. R.** (2011). Cutaneous myiasis in traveler returning from Ethiopia. *Emerging infectious diseases* **17**, 2385–2386. doi:10.3201/eid1712.1111062.
- Hanski, I.** (1977). An interpolation model of assimilation by larvae of the blowfly *Lucilia illustris* (Calliphoridae) in changing temperaturas. *Oikos* **28**, 187–195.
- Harlow, P. M.** (1956). A study of ovarial development and its relation to adult nutrition in the blowfly (R.D.). *Journal of Experimental Biology* **33**, 777–797.
- Hassan, M. I., Amer, M. S., Hammad, K. M. and Zidan, M. M.** (2016). Antimicrobial activity for excretion and secretion of the greenbottle fly larvae *Lucilia sericata* (Meigen) (Diptera: Calliphoridae). *Journal of the Egyptian Society of Parasitology* **46**, 179–184.
- Hatcher, S., Atkins, K. D. and Thornberry, K. J.** (2009). Breeding plain-bodied fine wools-no problem! *Proccesing of the Associaton for the Advancement of Animal Breeding and Genetic* **18**, 330–333.

- Havelka, P.** (1982). Neue Ceratopogonidenfunde von der Iberischen Halbinsel. *Eos (Revista Española de Entomología)* **58**, 47–134.
- Heath, a. C. G. and Bishop, D. M.** (2006). Flystrike in New Zealand: An overview based on a 16-year study, following the introduction and dispersal of the Australian sheep blowfly, *Lucilia cuprina* Wiedemann (Diptera: Calliphoridae). *Veterinary Parasitology* **137**, 333–344. doi:10.1016/j.vetpar.2006.01.006.
- Hernández-Moreno, S.** (1998). Estudio comparativo de la variación anual de la equitabilidad de las comunidades de Dípteros sinantrópicos en 5 medios de la misma antropobiocenosis. *Actas III Congreso Ibérico de Entomología* 621–628.
- Heymons, R. and von Lengerken, H.** (1931). Studien über die Lebenserscheinungen der Silphini (Coelopt.) VII. *Oiceoptoma thoracica* L. *Zeitschrift für Morphologie und Ökologie der Tiere* **24**, 234–248.
- Hobischak, N. R., VanLaerhoven, S. L. and Anderson, G. S.** (2006). Successional patterns of diversity in insect fauna on carrion in sun and shade in the Boreal Forest Region of Canada near Edmonton, Alberta. *Canadian Entomologist* **138**, 376–383.
- Hoffmann, B., Scheuch, M., Höper, D., Jungblut, R., Holsteg, M., Schirrmeier, H., Eschbaumer, M., Goller, K. V, Wernike, K., Fischer, M., Breithaupt, A., Mettenleiter, T. C. and Beer, M.** (2012). Novel orthobunyavirus in Cattle, Europe, 2011. *Emerging infectious diseases* **18**, 469–472. doi:10.3201/eid1803.111905.
- Holbrook, F. R.** (1986). Exposure of *Culicoides variipennis* (Diptera: Ceratopogonidae) to Hair Clippings to Evaluate Insecticide-impregnated Ear Tags in Cattle. *Journal of Economic Entomology* **79**, 1127–1129. doi:10.1093/jee/79.4.1127.
- Holbrook, F. R. and Mullens, B. A.** (1994). Effects of ivermectin on survival, fecundity, and egg fertility in *Culicoides variipennis* (Diptera: Ceratopogonidae). *Journal of the American Mosquito Control Association* **10**, 70–73.
- Höller, C., Hoffmeister, T. and Christiansen-Weniger, P.** (1990). Eine neue wasserfalle für insekten zur prüfung der attraktivität von semiochemikalien. *Mitteilungen Aus Der Biologischen Bundesanstalt Für Land- Und Forstwirtschaft* 481.
- Hope, F.** (1840). On insects and their larvae occasionally found in the human body. *Transactions of the Royal Entomological Society of London* **2**, 256–271.
- Horton, J., Champion, S. and Horton, B.** (1999). Development of a simple method to assess the number of *Lucilia cuprina* caught in Lucitrap(R) fly traps. *Wool Technology and Sheep Breeding* **47**.
- Hou, L., Shi, Y., Zhai, P. and Le, G.** (2007). Antibacterial activity and in vitro anti-tumor activity of the extract of the larvae of the housefly (*Musca domestica*). *Journal of ethnopharmacology* **111**, 227–231. doi:10.1016/j.jep.2006.11.015.
- Howell, P.** (1962). The isolation and identification of further antigenic types of African horse sickness virus. *Onderstepoort Journal of Veterinary* **29**, 139–149.
- Hoyer, P., Williams, R. R., Lopez, M. and Cabada, M. M.** (2016). Human Nasal Myiasis Caused by *Oestrus ovis* in the Highlands of Cusco, Peru: Report of a Case and Review of the Literature. *Case Reports in Infectious Diseases* **2016**, 1–4. doi:10.1155/2016/2456735.

- Hu, J.-M., Wang, C.-C., Chao, L.-L., Lee, C.-S. and Shih, C.-M. (2013). First report of furuncular myiasis caused by the larva of botfly, *Dermatobia hominis*, in a Taiwanese traveler. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* **3**, 229–231. doi:10.1016/S2221-1691(13)60056-8.
- Hubler, W. R., Rudolph, A. H. and Dougherty, E. F. (1974). Dermal myiasis. *Archives of dermatology* **110**, 109–110.
- Huckett, H. C. and Vockeroth, J. R. (1987). Muscidae. In *Manual of Nearctic Diptera*, pP. 1115–1132. Research Branch Agriculture Canada.
- Hunt, G. J. and Tabachnick, W. J. (1995). Cold storage effects on egg hatch in laboratory-reared *Culicoides variipennis sonorensis* (Diptera: Ceratopogonidae). *Journal of the American Mosquito Control Association* **11**, 335–338.
- Hunter, J. M. (1990). Bot-fly maggot infestation in Latin América. *Geographical Review* **80**, 382–389.
- Hwang, C. and Turner, B. D. (2005). Spatial and temporal variability of necrophagous Diptera from urban to rural areas. *Medical and veterinary entomology* **19**, 379–391. doi:10.1111/j.1365-2915.2005.00583.x.
- Hwang, C., Turner, B. D., Monitoring, D., Monitoring, D., County, C. and County, C. (2005). Spatial and temporal variability of necrophagous Diptera from urban to rural areas. *Medical and veterinary entomology* **19**, 379–391. doi:10.1111/j.1365-2915.2005.00583.x.
- Introna, F., Campobasso, C. P. and Di Fazio, A. (1998). Three case studies in forensic entomology from southern Italy. *Journal of forensic sciences* **43**, 210–214.
- IPCC (2001). *Climate Change 2001: the scientific basis*. Cambridge University Press.
- Ippoliti, C., Gilbert, M., Vanhuyse, S., Goffredo, M., Satta, G., Wolff, E. and Conte, A. (2013). Can landscape metrics help determine the *Culicoides imicola* distribution in Italy? *Geospatial health* **8**, 267. doi:10.4081/gh.2013.72.
- Jacquet, S., Garros, C., Lombaert, E., Walton, C., Restrepo, J., Allene, X., Baldet, T., Cetre-Sossah, C., Chaskopoulou, A., Delecolle, J.-C., Desvars, A., Djerbal, M., Fall, M., Gardes, L., de Garine-Wichatitsky, M., Goffredo, M., Gottlieb, Y., Gueye Fall, A., Kasina, M., Labuschagne, K., Lhor, Y., Lucientes, J., Martin, T., Mathieu, B., Miranda, M., Pages, N., Pereira da Fonseca, I., Ramilo, D. W., Segard, A., Setier-Rio, M.-L., Stachurski, F., Tabbabi, A., Talla Seck, M., Venter, G., Zimba, M., Balenghien, T., Guis, H., Chevillon, C., Bouyer, J. and Huber, K. (2015). Colonization of the Mediterranean basin by the vector biting midge species *Culicoides imicola* : an old story. *Molecular Ecology* **24**, 5707–5725. doi:10.1111/mec.13422.
- Jacquet, S., Huber, K., Pagès, N., Talavera, S., Burgin, L. E., Carpenter, S., Sanders, C., Dicko, A. H., Djerbal, M., Goffredo, M., Lhor, Y., Lucientes, J., Miranda-Chueca, M. a, Pereira Da Fonseca, I., Ramilo, D. W., Setier-Rio, M.-L., Bouyer, J., Chevillon, C., Balenghien, T., Guis, H. and Garros, C. (2016). Range expansion of the Bluetongue vector, *Culicoides imicola*, in continental France likely due to rare wind-transport events. *Scientific reports* **6**, 1–14. doi:10.1038/srep27247.

- Jafari-Shoorijeh, S., Ramin, A. G., Maclachlan, N. J., Osburn, B. I., Tamadon, A., Behzadi, M. A., Mahdavi, M., Araskhani, A., Samani, D., Rezajou, N. and Amin-Pour, A.** (2010). High seroprevalence of bluetongue virus infection in sheep flocks in West Azerbaijan, Iran. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases* **33**, 243–247. doi:10.1016/j.cimid.2008.10.008.
- Jain, N. C.** (1993). *Essentials of veterinary hematology*. Lea & Febiger, Philadelphia.
- James, M.** (1947). The flies that cause myiasis in man. *Department of Agriculture. University of Massachusetts* **49**, 381–397.
- James, P. J.** (2006). Genetic alternatives to mulesing and tail docking in sheep: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture* **46**, 1–18.
- Jamnback, H.** (1963). Further Observations on the Effectiveness of Chemically Treated Screens in Killing Biting Midges, *Culicoides sanguisuga* (Diptera: Ceratopogonidae). *Journal of Economic Entomology* **56**, 719–720. doi:10.1093/jee/56.5.719.
- Jenckel, M., Bréard, E., Schulz, C., Sailleau, C., Viarouge, C., Hoffmann, B., Höper, D., Beer, M. and Zientara, S.** (2015). Complete coding genome sequence of putative novel bluetongue virus serotype 27. *Genome announcements* **3**, 1–2. doi:10.1128/genomeA.00016-15.
- Jennings, D. M. and Mellor, P. S.** (1988). The vector potential of British *Culicoides* species for bluetongue virus. *Veterinary Microbiology* **17**, 1–10.
- Johnson, K. S., Harrison, G. B., Lightowers, M. W., O'Hoy, K. L., Cogle, W. G., Dempster, R. P., Lawrence, S. B., Vinton, J. G., Heath, D. D. and Rickard, M. D.** (1989). Vaccination against ovine cysticercosis using a defined recombinant antigen. *Nature* **338**, 585–587. doi:10.1038/338585a0.
- Johnston, W. and Villeneuve, G.** (1897). *L'application de l'entomologie à la médecine légale par Wyatt Johnston et George Villeneuve*. E. Senécal, Montréal: doi:10.5962/bhl.title.38283.
- Johnston, L. A. Y., Eisemann, C. H., Donaldson, R. A., Pearson, R. D. and Vuocolo, T.** (1992). Retarded growth of *Lucilia cuprina* larvae on sheep and their sera following production of an immune response. *International journal for parasitology* **22**, 187–193. doi:10.1016/0020-7519(92)90100-Y.
- Jones, R. H., Hayes, R. O., Potter, H. W. and Francly, D. B.** (1977). A survey of biting flies attacking equines in three states of the southwestern United States, 1972. *Journal of Medical Entomology* **14**, 441–447.
- Kameke, D., Kampen, H. and Walther, D.** (2017). Activity of *Culicoides* spp. (Diptera: Ceratopogonidae) inside and outside of livestock stables in late winter and spring. *Parasitology research* 1–9. doi:10.1007/s00436-016-5361-2.
- Kampen, H. and Werner, D.** (2010). Three years of bluetongue disease in central Europe with special reference to Germany: what lessons can be learned? *Wiener klinische Wochenschrift* **122 Suppl**, 31–39. doi:10.1007/s00508-010-1435-9.
- Kaneko, J. J., Harvey, J. W. and Bruss, M. L.** (1997). *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5th ed. Academic Press, New York.

- Kaptoul, D., Viladrich, P. F., Domingo, C., Niubó, J., Martínez-Yélamos, S., De Ory, F. and Tenorio, A.** (2007). West Nile virus in Spain: report of the first diagnosed case (in Spain) in a human with aseptic meningitis. *Scandinavian journal of infectious diseases* **39**, 70–71. doi:10.1080/00365540600740553.
- Kaufmann, C., Schaffner, F. and Mathis, A.** (2009). Monitoring of biting midges (*Culicoides spp.*), the potential vectors of the bluetongue virus, in the 12 climatic regions of Switzerland. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde* **151**, 205–213. doi:10.1024/0036-7281.151.5.205.
- Kaufmann, C., Steinmann, I. C., Hegglin, D., Schaffner, F. and Mathis, A.** (2012). Spatio-temporal occurrence of *Culicoides* biting midges in the climatic regions of Switzerland, along with large scale species identification by MALDI-TOF mass spectrometry. *Parasites & Vectors* **5**, 246. doi:10.1186/1756-3305-5-246.
- Kawabata, T., Mitsui, H., Yokota, K., Ishino, K., Oguma, K. and Sano, S.** (2010). Induction of antibacterial activity in larvae of the blowfly *Lucilia sericata* by an infected environment. *Medical and veterinary entomology* **24**, 375–381. doi:10.1111/j.1365-2915.2010.00902.x.
- Kelson, R. V., Colwell, A. E. and McClusky, D. K.** (1980). Studies of *Culicoides occidentalis* at Borax Lake, California. In *Proceedings and papers of the Forty-eighth Annual Conference of the California Mosquito and Vector Control Association, Inc.* [edited by Grant, CD]., pP. 130–135. CMVCA Press.
- Khater, H. F. and Khater, D. F.** (2009). The insecticidal activity of four medicinal plants against the blowfly *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). *International journal of dermatology* **48**, 492–497. doi:10.1111/j.1365-4632.2009.03937.x.
- Khusro, M., Andrew, N. R. and Nicholas, A.** (2012). Insects as poultry feed: a scoping study for poultry production systems in Australia. *World's Poultry Science Journal* **68**, 435–446. doi:10.1017/S0043933912000554.
- Kiel, E., Liebisch, G., Focke, R., Liebisch, A. and Werner, D.** (2009). Monitoring of *Culicoides* at 20 locations in northwest Germany. *Parasitology research* **105**, 351–357. doi:10.1007/s00436-009-1409-x.
- Kirkeby, C., Bødker, R., Stockmarr, A. and Lind, P.** (2013). Spatial abundance and clustering of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) on a local scale. *Parasites & Vectors* **6**, 43. doi:10.1186/1756-3305-6-43.
- Kitano, Y.** (2004). Ibaraki disease in cattle. In *Infectious Diseases of Livestock*, pP. 1221–1226. Oxford University Press, Cape Town.
- Kitaoka, S. and Morii, T.** (1963). Observations on the breeding habitats of some biting midges and seasonal population dynamics in the life cycle of *Culicoides arakawae* in Tokyo and its vicinity. *National Institute of Animal Health Quarterly* **3**, 198–208.
- Kline, D. L., Kelly, J. F. and Ellis, E. A.** (1985). A Nosema-type microsporidian infection in larvae of *Culicoides spp.* from salt marshes in Florida. *Journal of Invertebrate Pathology* **45**, 60–65. doi:10.1016/0022-2011(85)90050-3.
- Klong-klaew, T., Sukontason, K., Ngoen-klan, R., Moophayak, K., Irvine, K. N., Kurahashi, H., Prangkió, C., Sanit, S. and Sukontason, K. L.** (2014). Impact of abiotic factor changes in blowfly, *Achoetandrus rufifacies* (Diptera: Calliphoridae), in northern Thailand. *Parasitology Research* **113**, 1353–1360. doi:10.1007/s00436-014-3774-3.

- Kobayashi, M., Sasaki, T., Saito, N., Tamura, K., Suzuki, K., Watanabe, H. and Agui, N.** (1999). Houseflies: not simple mechanical vectors of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *The American journal of tropical medicine and hygiene* **61**, 625–629.
- Koo, S. I., Currin, T. A., Johnson, M. G., King, E. W. and Turk, D. E.** (1980). The Nutritional Value and Microbial Content of Dried Face Fly Pupae (*Musca autumnalis* (De Geer)) When Fed to Chicks. *Poultry Science* **59**, 2514–2518. doi:10.3382/ps.0592514.
- Kramer, W. L., Jones, R. H., Holbrook, F. R., Walton, T. E. and Calisher, C. H.** (1990). Isolation of arboviruses from *Culicoides* midges (Diptera: Ceratopogonidae) in Colorado during an epizootic of vesicular stomatitis New Jersey. *Journal of Medical Entomology* **27**, 487–493.
- Kulshrestha, P. and Satpathy, D. K.** (2001). Use of beetles in forensic entomology. *Forensic Science International* **120**, 15–17. doi:10.1016/S0379-0738(01)00410-8.
- Kurogi, H., Akiba, K., Inaba, Y. and Matumoto, M.** (1987). Isolation of akabane virus from the biting midge *Culicoides oxystoma* in Japan. *Veterinary Microbiology* **15**, 243–248. doi:10.1016/0378-1135(87)90078-2.
- Larska, M., Lechowski, L., Grochowska, M. and Żmudziński, J. F.** (2013). Detection of the Schmallenberg virus in nulliparous *Culicoides obsoletus/scoticus* complex and *C. punctatus*--the possibility of transovarial virus transmission in the midge population and of a new vector. *Veterinary Microbiology* **166**, 467–473. doi:10.1016/j.vetmic.2013.07.015.
- Latorre, M., Ullate, J. V, Sanchez, J., Calvo, F. and Cisterna, R.** (1993). A case of myiasis due to *Dermatobia hominis*. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology* **12**, 968–989.
- Le Gal, M., Dufour, B., Geoffroy, E., Zanella, G., Rieffel, J., Pouilly, F. and F, M.** (2008). La fièvre catarrhale ovine due au sérotype 8 dans les Ardennes françaises en 2007: taux de morbidité, mortalité, létalité et signes cliniques observés chez les bovines et les ovins. *Annales de Médecine Vétérinaire* **152**, 240–245.
- Lee, V. H.** (1979). Isolation of Viruses from Field Populations of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) in Nigeria. *Journal of Medical Entomology* **16**, 76–79. doi:10.1093/jmedent/16.1.76.
- Lehrer, Z., Lehrer, M. and Verstraeten, C.** (1988). Les myiases causees aux moutons de Roumanie par *Wohlfahrtia magnifica* (Schiner) (Diptera: Sarcophagidae). *Annales de Médecine Vétérinaire* **132**, 475–481.
- Leite, A. C. R., Nascimento, M. F. a, Leite, L. H. R. and Leite, V. H. R.** (2011). Histopathology of experimental myiasis in mice as a result of infestation and experimental implantation of *Dermatobia hominis* larvae. *Journal of Medical Entomology* **48**, 680–686. doi:10.1603/ME10237.
- Lepherd, M. L., Canfield, P. J., Hunt, G. B., Thomson, P. C. and Bosward, K. L.** (2011). Wound healing after mulesing and other options for controlling breech flystrike in Merino lambs: observations on gross and microscopic wound healing. *Australian veterinary journal* **89**, 27–37. doi:10.1111/j.1751-0813.2010.00667.x.
- Levot, G. W.** (2012). Cyromazine resistance detected in Australian sheep blowfly. *Australian veterinary journal* **90**, 433–7. doi:10.1111/j.1751-0813.2012.00984.x.

Bibliografía

- Li, Q., Zheng, L., Cai, H., Garza, E., Yu, Z. and Zhou, S.** (2011a). From organic waste to biodiesel: Black soldier fly, *Hermetia illucens*, makes it feasible. *Fuel* **90**, 1545–1548. doi:10.1016/j.fuel.2010.11.016.
- Li, Q., Zheng, L., Qiu, N., Cai, H., Tomberlin, J. K. and Yu, Z.** (2011b). Bioconversion of dairy manure by black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) for biodiesel and sugar production. *Waste management (New York, N.Y.)* **31**, 1316–1320. doi:10.1016/j.wasman.2011.01.005.
- Lindner, P.** (1919). Zur Fettgewinnung aus Kleintieren. *Z. Tech. Biol* **7**, 213–220.
- Lindsay, S. W. and Birley, M. H.** (1996). Climate change and malaria transmission. *Annals of tropical medicine and parasitology* **90**, 573–88.
- Linley, J. R.** (1985). Biting midges (Diptera: Ceratopogonidae) as vectors of nonviral animal pathogens. *Journal of Medical Entomology* **22**, 589–599.
- Linley, J. R., Evans, F. D. S. and Evans, H. T.** (1970). Seasonal Emergence of *Culicoides furens* (Diptera: Ceratopogonidae) at Vero Beach, Florida. *Annals of the Entomological Society of America* **63**, 1332–1339. doi:10.1093/aesa/63.5.1332.
- Little, M. P., Breitling, L. P., Basáñez, M.-G., Alley, E. S. and Boatman, B. A.** (2004). Association between microfilarial load and excess mortality in onchocerciasis: an epidemiological study. *Lancet* **363**, 1514–1521. doi:10.1016/S0140-6736(04)16151-5.
- Lmimouni, B. E., Baba, N. E., Yahyaoui, A., Khallaayoune, K., Dakkak, A., Sedrati, O. and El Mellouki, W.** (2004). Wound myiasis due to *Wohlfahrtia magnifica*. First human case in Morocco. *Bulletin de la Société de pathologie exotique (1990)* **97**, 235–7.
- Lonsdale, B., Schmid, H. R. and Junquera, P.** (2000). Prevention of blowfly strike on lambs with the insect growth regulator dicyclanil. *The Veterinary record* **147**, 540–544.
- Lucientes, J.** (2014). Efectos del cambio climático en el ciclo de insectos del género *Culicoides*. *Albétar* 20–21.
- Lucientes, J. and Alarcón-Elbal, P. M.** (2016). *Culicoides* biting midges in Spain: A brief overview. *Small Ruminant Research* **142**, 69–71. doi:10.1016/j.smallrumres.2016.01.023.
- Lundström, J. O.** (1999). Mosquito-borne viruses in western Europe: a review. *Journal of vector ecology : journal of the Society for Vector Ecology* **24**, 1–39.
- Lyerly, W. H.** (1983). Cutaneous myiasis: a medical problem not limited to the tropics. Case report. *Military medicine* **148**, 524–526.
- Maan, N. S., Maan, S., Belaganahalli, M. N., Ostlund, E. N., Johnson, D. J., Nomikou, K. and Mertens, P. P. C.** (2012). Identification and differentiation of the twenty six bluetongue virus serotypes by RT-PCR amplification of the serotype-specific genome segment 2. *PloS ONE* **7**, e32601. doi:10.1371/journal.pone.0032601.
- Mackerras, I. M., Fuller, M. E., Austin, K. M. and Lefroy, E. H. B.** (1936). Sheep blowfly investigations. The effect of trapping on the incidence of strike in sheep. *Journal of the Council for Scientific and Industrial Research* 153–162.

- Mackley, J. W. and Brown, H. E.** (1984). Swormlure-4: A New Formulation of the Swormlure-2 Mixture as an Attractant for Adult Screwworms, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Economic Entomology* **77**, 1264–1268. doi:10.1093/jee/77.5.1264.
- Maclachlan, N. J.** (2010). Global implications of the recent emergence of bluetongue virus in Europe. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice* **26**, 163–171,. doi:10.1016/j.cvfa.2009.10.012.
- Maclachlan, N. J.** (2011). Bluetongue: History, global epidemiology, and pathogenesis. *Preventive veterinary medicine* **102**, 107–111. doi:10.1016/j.prevetmed.2011.04.005.
- Maclachlan, N. J. and Mayo, C. E.** (2013). Potential strategies for control of bluetongue, a globally emerging, *Culicoides*-transmitted viral disease of ruminant livestock and wildlife. *Antiviral Research* **99**, 79–90. doi:10.1016/j.antiviral.2013.04.021.
- Maclachlan, N. J. and Osburn, B. I.** (2004). Epizootic haemorrhagic disease of deer. Infectious diseases of livestock. *Infectious Diseases of Livestock* **2**, 1227–1230.
- Maclachlan, N. J. and Osburn, B. I.** (2008). Induced brain lesions in calves infected with bluetongue virus. *The Veterinary record* **162**, 490–491.
- Maclachlan, N. J.** (1994). The pathogenesis and immunology of bluetongue virus infection of ruminants. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases* **17**, 197–206.
- Maclachlan, N. ., Conley, A. . and Kennedy, P. .** (2000). Bluetongue and equine viral arteritis viruses as models of virus-induced fetal injury and abortion. *Animal Reproduction Science* **60–61**, 643–651. doi:10.1016/S0378-4320(00)00105-6.
- Macleod, J. and Donnelly, J.** (1957). Some Ecological Relationships of Natural Populations of Calliphorine Blowflies. *Journal of Animal Ecology* **26**, 135–170. doi:10.2307/1786.
- Magni, P. A., Pazzi, M., Vincenti, M., Alladio, E., Brandimarte, M. and Dadour, I. R.** (2016). Development and validation of a GC–MS method for nicotine detection in *Calliphora vomitoria* (L.) (Diptera: Calliphoridae). *Forensic Science International* **261**, 53–60. doi:10.1016/j.forsciint.2015.11.014.
- Mahal, J. J. and Sperling, J. D.** (2012). Furuncular myiasis from *Dermatobia hominis*: a case of human botfly infestation. *The Journal of emergency medicine* **43**, 618–621. doi:10.1016/j.jemermed.2009.11.030.
- Mai, M. and Amendt, J.** (2012). Effect of different post-feeding intervals on the total time of development of the blowfly *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). *Forensic Science International* **221**, 65–69. doi:10.1016/j.forsciint.2012.04.001.
- Makkar, H. P. S., Tran, G., Heuzé, V. and Ankers, P.** (2014). State-of-the-art on use of insects as animal feed. *Animal Feed Science and Technology* **197**, 1–33. doi:10.1016/j.anifeedsci.2014.07.008.
- Mann, R. W., Bass, W. M. and Meadows, L.** (1990). Time since death and decomposition of the human body: variables and observations in case and experimental field studies. *Journal of forensic sciences* **35**, 103–111.

- Manzano-Agugliaro, F., Sánchez-Muros, M. J., Barroso, F. G., Martínez-Sánchez, A., Rojo, S. and Pérez-Bañón, C.** (2012). Insects for biodiesel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **16**, 3744–3753. doi:10.1016/j.rser.2012.03.017.
- Martínez-de la Puente, J., Merino, S., Tomás, G., Moreno, J., Morales, J., Lobato, E., Talavera, S. and Sarto I Monteys, V.** (2009). Factors affecting *Culicoides* species composition and abundance in avian nests. *Parasitology* **136**, 1033–1041. doi:10.1017/S0031182009006374.
- Martínez-de la Puente, J., Martínez, J., Ferraguti, M., Morales-de la Nuez, A., Castro, N. and Figuerola, J.** (2012). Genetic characterization and molecular identification of the bloodmeal sources of the potential bluetongue vector *Culicoides obsoletus* in the Canary Islands, Spain. *Parasites & Vectors* **5**, 147. doi:10.1186/1756-3305-5-147.
- Martínez-De La Puente, J., Martínez, J., Rivero-De Aguilar, J., Herrero, J. and Merino, S.** (2011). On the specificity of avian blood parasites: Revealing specific and generalist relationships between haemosporidians and biting midges. *Molecular Ecology* **20**, 3275–3287. doi:10.1111/j.1365-294X.2011.05136.x.
- Martínez-Sánchez, A.** (1997). *Ecología de la comunidad de Califóridos (Diptera, Calliphoridae) asociada a un agrosistema de dehesa*. Inedita. Tesis de Licenciatura. Universidad de Alicante.
- Martínez-Sánchez, A.** (2003). *Biología de la comunidad de Dípteros Necrófilos en ecosistemas del sureste de la península Ibérica*. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias de la Universidad de Alicante.
- Martínez-Sánchez, A. I., Rojo, S., Rognes, K. and Marcos García, M. Á.** (1998). Califóridos con interés faunístico en agroecosistemas de dehesa y catálogo de las especies ibéricas de Polleniinae (Diptera: Calliphoridae).
- Martínez-Sánchez, A. I., Rojo Velasco, S. and Marcos García, M. Á.** (2000a). Sarcófagos necrófagos y coprófagos asociados a un agroecosistema de dehesa (Diptera, Sarcophagidae).
- Martínez-Sánchez, A., Rojo, S. and Marcos-García, M. A.** (2000b). Annual and spatial activity of dung flies and carrion in a Mediterranean holm-oak pasture ecosystem. *Medical and Veterinary Entomology* **14**, 56–63. doi:10.1046/j.1365-2915.2000.00205.x.
- Martínez-Sánchez, A., Rognes, K. and Báez, M.** (2002). Calliphoridae. In *Catálogo de los Dípteros de España, Portugal y Andorra* (ed. Carles, M.), Hjorth, T.), and Andersen), pp. 204–205. Monografías de la Sociedad Entomológica Aragonesa, Zaragoza.
- Martínez-Sánchez, A. I., Smith, K. E., Rojo, S., Marcos García, M. Á. and Wall, R.** (2007). Geographic origin affects larval competitive ability in European populations of the blow fly, *Lucilia sericata*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **122**, 93–98. doi:10.1111/j.1570-7458.2006.00497.x.
- Martínez-Sánchez, A., Magaña, C., Toniolo, M., Gobbi, P. and Rojo, S.** (2015). *Protophormia terraenovae* (Robineau-Desvoidy, 1830) (Diptera, Calliphoridae) a new forensic indicator to South-western Europe. *Ciencia Forense* **12**, 141–156.

- Mathieu, B., Cêtre-Sossah, C., Garros, C., Chavernac, D., Balenghien, T., Vignes-Lebbe, R., Ung, V., Candolfi, E. and Delécolle, J. C.** (2010). IIKC: An Interactive Identification Key for female *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) from the West Palearctic region.
- Mathieu, B., Cêtre-Sossah, C., Garros, C., Chavernac, D., Balenghien, T., Carpenter, S., Setier-Rio, M.-L., Vignes-Lebbe, R., Ung, V., Candolfi, E. and Delécolle, J.-C.** (2012). Development and validation of IIKC: an interactive identification key for *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) females from the Western Palaeartic region. *Parasites & Vectors* **5**, 137. doi:10.1186/1756-3305-5-137.
- Matsuo, J., Nakayama, S. and Numata, H.** (1997). Role of the Corpus Allatum in the Control of Adult Diapause in the Blow Fly, *Protophormia terraenovae*. *Journal of insect physiology* **43**, 211–216.
- Mavárez-Cardozo, M. G., Espiona de Ferreira, A. I., Barrios-Ferrer, F. A. and Ferreira-Paz, J. L.** (2005). The Forensic Entomology and the Neotropics. *Cuadernos de Medicina Forense* **11**, 23–33.
- Mayo, C. E., Mullens, B. A., Gerry, A. C., Barker, C. M., Mertens, P. P. C., Maan, S., Maan, N., Gardner, I. A., Guthrie, A. J. and MacLachlan, N. J.** (2012). The combination of abundance and infection rates of *Culicoides sonorensis* estimates risk of subsequent bluetongue virus infection of sentinel cattle on California dairy farms. *Veterinary Parasitology* **187**, 295–301. doi:10.1016/j.vetpar.2012.01.004.
- McCreadie, J. W., Colbo, M. H. and Bennett, G. F.** (1985). The seasonal activity of hematophagous diptera attacking cattle in insular Newfoundland. *The Canadian Entomologist* **117**, 995–1006.
- McGraw, T. a. and Turiansky, G. W.** (2008). Cutaneous myiasis. *Journal of the American Academy of Dermatology* **58**, 907–926. doi:10.1016/j.jaad.2008.03.014.
- McIntosh, M. D., Merritt, R. W., Kolar, R. E. and Kimbirauskas, R. K.** (2011). Effectiveness of wound cleansing treatments on maggot (Diptera, Calliphoridae) mortality. *Forensic Science International* **210**, 12–15. doi:10.1016/j.forsciint.2011.01.028.
- Meana-Mañez, A. and González-Rodríguez, F. J.** (1997). Las Miasis: Patología y efecto de las miasis. *Ovis* **49**, 63–72.
- Megnin, P.** (1894). *La Faune des Cadavres. Applications de l'Entomologie à la Médecine Légale. Encyclopedie Scientifique des Aides-Memoires.* (ed. Masson) and Gauthier-Villars) Paris.
- Mehlhorn, H., Walldorf, V., Klimpel, S., Jahn, B., Jaeger, F., Eschweiler, J., Hoffmann, B. and Beer, M.** (2007). First occurrence of *Culicoides obsoletus*-transmitted Bluetongue virus epidemic in Central Europe. *Parasitology research* **101**, 219–228. doi:10.1007/s00436-007-0519-6.
- Meiswinkel, R., Baylis, M. and Labuschagne, K.** (2000). Stabling and the protection of horses from *Culicoides bolitinos* (Diptera: Ceratopogonidae), a recently identified vector of African horse sickness. *Bulletin of entomological research* **90**, 509–515.
- Meiswinkel, R., Venter, G. J. and Nevill, E. M.** (2004). Vectors: *Culicoides* spp. In *Infectious Diseases of Livestock* (ed. Coetzer, J. A. W.) and Tustin, R. C.), pp. 93–136. Oxford University Press, Oxford.

Bibliografía

- Meiswinkel, R., van Rijn, P., Leijts, P. and Goffredo, M.** (2007). Potential new *Culicoides* vector of bluetongue virus in northern Europe. *The Veterinary record* **161**, 564–565.
- Meiswinkel, R., Baldet, T., de Deken, R., Takken, W., Delécolle, J.-C. and Mellor, P. S.** (2008). The 2006 outbreak of bluetongue in northern Europe--the entomological perspective. *Preventive veterinary medicine* **87**, 55–63. doi:10.1016/j.prevetmed.2008.06.005.
- Mellor, P. S.** (1974). Studies on *Onchocerca cervicalis* Railliet and Henry 1910. 3. Morphological and taxonomic studies on *Onchocerca cervicalis* from British horses. *Journal of helminthology* **48**, 145–153.
- Mellor, P. S. and Boorman, J.** (1995). The transmission and geographical spread of African horse sickness and bluetongue viruses. *Annals of tropical medicine and parasitology* **89**, 1–15.
- Mellor, P. S. and Hamblin, C.** (2004). African horse sickness. *Veterinary Research* **35**, 445–66. doi:10.1051/vetres:2004021.
- Mellor, P. S. and Pitzolis, G.** (1979). Observations on breeding sites and light-trap collections of *Culicoides* during an outbreak of bluetongue in Cyprus. *Bulletin of entomological research* **69**, 229–234. doi:10.1017/S0007485300017697.
- Mellor, P. S. and Wittmann, E. J.** (2002). Bluetongue virus in the mediterranean basin 1998-2001. *Veterinary Journal* **164**, 20–37. doi:10.1053/tvjl.2002.0713.
- Mellor, P. S., Boorman, J. P. T., Wilkinson, P. J. and Martínez-Gómez, F.** (1983). Potential vectors of blue- tongue and African horse sickness viruses in Spain. *Veterinary Record* **112**, 229–230.
- Mellor, P. S., Osborne, R. and Jennings, D. M.** (1984). Isolation of bluetongue and related viruses from *Culicoides* spp. in the Sudan. *The Journal of hygiene* **93**, 621–628.
- Mellor, P. S., Boned, J., Hamblin, C. and Graham, S.** (1990). Isolations of African horse sickness virus from vector insects made during the 1988 epizootic in Spain. *Epidemiology and infection* **105**, 447–454.
- Méroc, E., Poskin, A., Van Loo, H., Quinet, C., Van Driessche, E., Delooz, L., Behaeghel, I., Riocreux, F., Hooyberghs, J., De Regge, N., Caij, A. B., van den Berg, T. and van der Stede, Y.** (2013). Large-scale cross-sectional serological survey of Schmallenberg virus in Belgian cattle at the end of the first vector season. *Transboundary and emerging diseases* **60**, 4–8. doi:10.1111/tbed.12042.
- Mertens, P. P. C.** (1999). Orbiviruses and coltivirus-general features. In *Encyclopedia of Virology* (ed. Webster, R. G. and Granoff, A.), pp. 1043–1061. Academic Press, London.
- Metselaar, D. and Robin, Y.** (1976). Akabane virus isolated in Kenya. *Veterinary Record* **99**, 86.
- Meyer, D. J. and Harvey, J. W.** (2004). *Veterinary laboratory medicine: interpretation & diagnosis*. 2nd ed. Saunders, Philadelphia.
- Miller, B. F., Teotia, J. S. and Thatcher, T. O.** (1974). Digestion of poultry manure by *Musca domestica*. *British Poultry Science* **15**, 231–234.
- Miranda, M. a, Rincón, C. and Borràs, D.** (2004). Seasonal abundance of *Culicoides imicola* and *C. obsoletus* in the Balearic islands. *Veterinaria italiana* **40**, 292–295.

- Monzon, R. B., Sanchez, A. R., Tadiaman, B. M., Najos, O. A., Valencia, E. G., de Rueda, R. R. and Ventura, J. V** (1991). A comparison of the role of *Musca domestica* (Linnaeus) and *Chrysomya megacephala* (Fabricius) as mechanical vectors of helminthic parasites in a typical slum area of Metropolitan Manila. *The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health* **22**, 222–228.
- Morgan, N. O. and Eby, H. J.** (1975). Fly protein production from mechanically mixed animal wastes. *Israel Journal of entomology* **10**, 73–81.
- Morris, M. C.** (2005). Tests on a new bait for flies (Diptera: Calliphoridae) causing cutaneous myiasis (flystrike) in sheep. *New Zealand Journal of Agricultural Research* **48**, 151–156.
- Morris, O. and Titchener, R.** (1997). Blowfly species composition in sheep myiasis in Scotland. *Medical and veterinary entomology* **11**, 253–256.
- Mouchet, J. and Carnevale, P.** (1997). Impact of changes in the environment on vector-transmitted diseases. *Santé (Montrouge, France)* **7**, 263–9.
- Moulin, V., Noordegraaf, C. V., Makoschey, B., van der Sluijs, M., Veronesi, E., Darpel, K., Mertens, P. P. C. and de Smit, H.** (2012). Clinical disease in sheep caused by bluetongue virus serotype 8, and prevention by an inactivated vaccine. *Vaccine* **30**, 2228–2235. doi:10.1016/j.vaccine.2011.11.100.
- Mulhern, T. D.** (1985). New Jersey mechanical trap for mosquito surveys. 1942. *Journal of the American Mosquito Control Association* **1**, 411–418.
- Mullens, B. A. and Rodriguez, J. L.** (1989). Response of *Culicoides variipennis* (Diptera: Ceratopogonidae) to Water Level Fluctuations in Experimental Dairy Wastewater Ponds. *Journal of Medical Entomology* **26**, 566–572. doi:10.1093/jmedent/26.6.566.
- Mullens, B. A. and Schmidtman, E. T.** (1982). The Gonotrophic Cycle of *Culicoides variipennis* (Diptera: Ceratopogonidae) and its Implications in Age-Grading Field Populations in New York State, USA. *Journal of Medical Entomology* **19**, 340–349. doi:10.1093/jmedent/19.3.340.
- Mullens, B. A., Velten, R. K. and Federici, B. A.** (1999). Iridescent virus infection in *Culicoides variipennis sonorensis* and interactions with the mermithid parasite *Heleidomermis magnapapula*. *Journal of invertebrate pathology* **73**, 231–233. doi:10.1006/jipa.1998.4838.
- Mullens, B. A., Gerry, A. C. and Velten, R. K.** (2001). Failure of a permethrin treatment regime to protect cattle against bluetongue virus. *Journal of Medical Entomology* **38**, 760–762.
- Mumcuoglu, K. Y., Miller, J., Mumcuoglu, M., Friger, M. and Tarshis, M.** (2001). Destruction of bacteria in the digestive tract of the maggot of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Medical Entomology* **38**, 161–166.
- Nambu, A., Nakae, S. and Iwakura, Y.** (2006). IL-1beta, but not IL-1alpha, is required for antigen-specific T cell activation and the induction of local inflammation in the delayed-type hypersensitivity responses. *International immunology* **18**, 701–712. doi:10.1093/intimm/dx1007.

- Napp, S., Gubbins, S., Calistri, P., Allepuz, A., Alba, A., García-Bocanegra, I., Giovannini, A. and Casal, J.** (2011). Quantitative assessment of the probability of bluetongue virus overwintering by horizontal transmission: Application to Germany. *Veterinary Research* **42**, 4. doi:10.1186/1297-9716-42-4.
- Napp, S., Allepuz, A., Purse, B. V., Casal, J., García-Bocanegra, I., Burgin, L. E. and Searle, K. R.** (2016). Understanding spatio-temporal variability in the reproduction ratio of the bluetongue (BTV-1) epidemic in Southern Spain (Andalusia) in 2007 using epidemic trees. *PLoS ONE* **11**, e0151151. doi:10.1371/journal.pone.0151151.
- Narladkar, B. W., Shivpuje, P. R. and Harke, P. C.** (2015). Fungal biological control agents for integrated management of *Culicoides spp.* (Diptera: Ceratopogonidae) of livestock using chemical / synthetic pesticides as a single tactic in controlling an important and significant live- stock pests have be. *Veterinary World* **8**,. doi:10.14202/vetworld.2015.156-163.
- NCBI** (2017). Taxonomy Database. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Tree&id=41820&lvl=3&p=mapview&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock>.
- Nedelchev, N. K.** (1988). Distribution and causes of myiasis among farm animals. *Veterinary Sbirka* **86**, 33–35.
- Nevill, E. M.** (1971). Cattle and *Culicoides* biting midges as possible overwintering hosts of bluetongue virus. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*.
- Nevill, E. M.** (1978). The use of cattle to protect sheep from bluetongue infection. *Journal of the South African Veterinary Association* **49**, 129–130.
- Newton, G. L., Booram, C. V., Barker, R. W. and Hale, O. M.** (1977). Dried *Hermetia illucens* larvae meal as a supplement for swine. *Journal of Animal Science* **44**, 395–400.
- Newton, G. L., Sheppard, D. C., Watson, D. W., Burtle, G. J., Dove, C. R., Tomberlin, J. K. and Thelen, E. E.** (2005). The black soldier fly, *Hermetia illucens*, as a manure management/resource recovery tool. In *Symp. State Sci. Anim. Manure Waste Manage.*, P. San Antonio, Texas.
- Nielsen, B. O.** (1993). Cases of human myiasis from Denmark. *Entomologiske Meddelelser* **61**, 81–82.
- Nielsen, S. A., Nielsen, B. O. and Chirico, J.** (2010). Monitoring of biting midges (Diptera: Ceratopogonidae: *Culicoides* Latreille) on farms in Sweden during the emergence of the 2008 epidemic of bluetongue. *Parasitology research* **106**, 1197–1203. doi:10.1007/s00436-010-1791-4.
- Ninio, C., Augot, D., Delecolle, J.-C., Dufour, B. and Depaquit, J.** (2011). Contribution to the knowledge of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) host preferences in France. *Parasitology research* **108**, 657–663. doi:10.1007/s00436-010-2110-9.
- Noad, R. and Roy, P.** (2009). Bluetongue vaccines. *Vaccine* **27 Suppl 4**, D86-9. doi:10.1016/j.vaccine.2009.08.037.
- Nottingham, R. M., Hosking, B. C., Schmid, H. R., Strehlau, G. and Junquera, P.** (2001). Prevention of blowfly strike on coarse and fine woolled sheep with the insect growth regulator dicyclanil. *Australian veterinary journal* **79**, 51–57.

- Noutsis, C. and Millikan, L. E.** (1994). Myiasis. *Dermatologic clinics* **12**, 729–736.
- Novelli, M. R., Haddock, A. and Eveson, J. W.** (1993). Orofacial myiasis. *The British journal of oral & maxillofacial surgery* **31**, 36–37.
- Nuesch, R., Rahm, G., Rudin, W., Steffen, I., Frei, R., Rufli, T. and Zimmerli, W.** (2002). Clustering of bloodstream infections during maggot debridement therapy using contaminated larvae of *Protophormia terraenovae*. *Infection* **30**, 306–309. doi:10.1007/s15010-002-3067-0.
- Nuorteva, P.** (1963). Synanthropy of blowflies (Dipt., Calliphoridae) in Finland. *Suomen Hyönteistieteellinen Aikakauskirja* **29**, 1–49.
- Nuorteva, P.** (1966). Local distribution of blowflies in relation to human settlement in an area around the town of Forssa in South Finland. *Annales Entomologicae Fennici* **32**, 128–137.
- Nuorteva, P.** (1971). Annoying mass occurrence of *Phormia terraenovae* R.-D. (Diptera, Calliphoridae) in the surroundings of a rendering plant in southwestern Finland. *Annales Zoologici Fennici* **8**, 336–339.
- Nuorteva, P.** (1977). Sarcosaprophagous insects as forensic indicators. In *Forensic Medicine: A Study in Trauma and Environmental Hazards, vol. 2* (ed. Tedeschi, C. G., Eckert, W. G., and Tedeschi, L. G.), pP. 1072–1095. Saunders, Philadelphia.
- Nuov, S., Little, D. C. and Yakupitiyage, A.** (1995). Nutrient flows in an integrated pig, maggot and fish production system. *Aquaculture Research* **26**, 601–606. doi:10.1111/j.1365-2109.1995.tb00950.x.
- O'Halloran, B.** (1986). The recommended mules and tail length. In *Agfact A3.2.3 Agdex 431/26*, P. Dept. of Agriculture, Sidney.
- Ogunji, J., Summan Toor, R. U. A., Schulz, C. and Kloas, W.** (2008). Growth performance, nutrient utilization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fed housefly maggot meal (magmeal) diets. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 141–147.
- Omar, A. H.** (1995). Cannibalism and predation behaviour of the blowfly, *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) larvae (Diptera: Calliphoridae). *Journal of the Egyptian Society of Parasitology* **25**, 729–743.
- Ortega, M. D.** (1993). Distribution and frequency of the *Culicoides spp.* (Diptera: Ceratopogonidae) in Andalucía, Spain. In *37th Annual Livestock Insect Workers Conference*, P. 3. Santa Fe.
- Ortega, M., Lloyd, J. and Holbrook, F.** (1997). Seasonal and geographical distribution of *Culicoides imicola* Kieffer (Diptera: Ceratopogonidae) in southwestern Spain. *Journal of the American Mosquito Control Association* **13**, 227–232.
- Ortega, M. D., Mellor, P. S., Rawlings, P. and Pro, M. J.** (1998). The seasonal and geographical distribution of *Culicoides imicola*, *C. pulicaris group* and *C. obsoletus group* biting midges in central and southern Spain. *Archives of virology. Supplementum* **14**, 85–91.
- Ortega, M., Holbrook, F. and Lloyd, J.** (1999). Seasonal distribution and relationship to temperature and precipitation of the most abundant species of *Culicoides* in five provinces of Andalusia, Spain. *Journal of the American Mosquito Control Association* **15**, 391–399.

Bibliografía

- Oryan, a. and Bahrami, S.** (2012). Pathology of natural *Przhevalskiana silenus* infestation in goats. *Tropical Biomedicine* **29**, 524–531.
- Osburn, B. I., de Mattos, C. A., de Mattos, C. C. and MacLachlan, N. J.** (1996). Bluetongue disease and the molecular epidemiology of viruses from the Western United States. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* **19**, 181–190. doi:10.1016/0147-9571(96)00003-3.
- Pagès, N. and Sarto I Monteys, V.** (2005). Differentiation of *Culicoides obsoletus* and *Culicoides scoticus* (Diptera: Ceratopogonidae) based on mitochondrial cytochrome oxidase subunit I. *Journal of Medical Entomology* **42**, 1026–1034.
- Pagès, N., Muñoz-Muñoz, F., Talavera, S., Sarto, V., Lorca, C. and Núñez, J. I.** (2009). Identification of cryptic species of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) in the subgenus *Culicoides* and development of species-specific PCR assays based on barcode regions. *Veterinary Parasitology* **165**, 298–310. doi:10.1016/j.vetpar.2009.07.020.
- Pagès, N., Bréard, E., Urien, C., Talavera, S., Viarouge, C., Lorca-Oro, C., Jouneau, L., Charley, B., Zientara, S., Bensaid, A., Solanes, D., Pujols, J. and Schwartz-Cornil, I.** (2014). *Culicoides* midge bites modulate the host response and impact on bluetongue virus infection in sheep. *PLoS ONE* **9**, e83683. doi:10.1371/journal.pone.0083683.
- Paine, E. O. and Mullens, B. A.** (1994). Distribution, Seasonal Occurrence, and Patterns of Parasitism of *Heleidomermis magnapapula* (Nematoda: Mermithidae), a Parasite of *Culicoides variipennis* (Diptera: Ceratopogonidae) in California. *Environmental Entomology* **23**, 154–160. doi:10.1093/ee/23.1.154.
- Palmer, J.** (2004). The Mulesing debate. *Australian veterinary journal* **82**, 663.
- Palomar, A. M., Portillo, A., Santibáñez, S., García-Álvarez, L., Muñoz-Sanz, A., Márquez, F. J., Romero, L., Eiros, J. M. and Oteo, J. A.** (2017). Molecular (ticks) and serological (humans) study of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in the Iberian Peninsula, 2013–2015. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. doi:10.1016/j.eimc.2017.01.009.
- Papadopoulos, O., Mellor, P. S. and Mertens, P. P. C.** (2009). Bluetongue control strategies. In *Bluetongue*, pP. 429–452. Elsevier, Amsterdam.
- Pape, T.** (1987). The Sarcophagidae (Diptera) of Fennoscandia and Denmark. *Fauna Entomológica Escandinavica* **19**, 1–203.
- Pape, T.** (1996). Catalogue of the Sarcophagidae of the World (Insecta, Diptera). In *Memoirs on Entomology*, (ed. Virendra, K. G.), P. 558. Gainesville, Florida.
- Pariente, F. J., Martínez-Sánchez, A. I., Rojo, S., Bravo, D., Blanco, J., Porcel, S., Reina, D. and Frontera, E.** (2009). Las miasis cutáneas. *Producción Animal* **254**, 33–41.
- Pariente-Palomino, F. J.** (2009). Estudio epidemiológico de las miasis traumáticas en Extremadura. In *Memoria de Investigación del 2º Curso de Doctorado Bienio 2007-2009*, P. Unidad de Parasitología y Enfermedades Parasitarias de la UNEX.
- Parker, F. and Welch, J.** (1991). Field comparisons of attractants for the screwworm fly (Diptera: Calliphoridae) in a tropical dry forest in Costa Rica. *Journal of Economic Entomology* **84**, 1189–1195.

- Parsonson, I. M.** (1990). Pathology and pathogenesis of bluetongue infections. *Current topics in microbiology and immunology* **162**, 119–141.
- Patakakis, M. J.** (2004). *Culicoides imicola* in Greece. *Veterinaria italiana* **40**, 233.
- Patakakis, M. J., Papazahariadou, M., Wilson, A., Mellor, P. S., Frydas, S. and Papadopoulos, O.** (2009). Distribution of *Culicoides* in Greece. *Journal of vector ecology : journal of the Society for Vector Ecology* **34**, 243–251. doi:10.1111/j.1948-7134.2009.00033.x.
- Patra, S., Purkait, R., Basu, R., Konar, M. and Sarkar, D.** (2012). Umbilical myiasis associated with *Staphylococcus aureus* sepsis in a neonate. *Journal of Clinical Neonatology* **1**, 42. doi:10.4103/2249-4847.92229.
- Pavillard, E. R. and Wright, E. A.** (1957). An antibiotic from maggots. *Nature* **180**, 916–917.
- Payne, J. A.** (1965). A summer carrion study of the baby pig *Sus scrofa* Linnaeus. *Ecology* **46**, 592–602.
- Pechter, E. A. and Sherman, R. A.** (1983). Maggot therapy: the surgical metamorphosis. *Plastic and reconstructive surgery* **72**, 567–570.
- Peperkamp, N. H., Lutikholt, S. J., Dijkman, R., Vos, J. H., Junker, K., Greijdenus, S., Roumen, M. P., Garderen, E. van, Meertens, N., Maanen, C. van, Lievaart, K., Wuyckhuise, L. van and Wouda, W.** (2014). Ovine and Bovine Congenital Abnormalities Associated With Intrauterine Infection With Schmallenberg Virus. *Veterinary pathology* **52**, 1057–1066. doi:10.1177/0300985814560231.
- Pereira, M. C. T., Leite, V. H. R. and Leite, a. C. R.** (2001). Experimental skin lesions from larvae of the bot fly *Dermatobia hominis*. *Medical and veterinary entomology* **15**, 22–27. doi:10.1046/j.1365-2915.2001.00273.x.
- Pérez, J., Granados, J. and Ruiz-Martínez, I.** (1997). Las Miasis: Etiología y Biología. *Ovis* **49**, 13–31.
- Pérez, J. M., García-Ballester, J. a., López-Olvera, J. R. and Serrano, E.** (2012). Monitoring bluetongue virus vectors in Andalusia (SW Europe): *Culicoides* species composition and factors affecting capture rates of the biting midge *Culicoides imicola*. *Parasitology research* **111**, 1267–1275. doi:10.1007/s00436-012-2961-3.
- Pérez-Bañón, C., Juan, A., Petanidou, T., Marcos-García, M. A. and Crespo, M. B.** (2003). The reproductive ecology of *Medicago citrina* (Font Quer) Greuter (Leguminosae): a bee-pollinated plant in Mediterranean islands where bees are absent. *Plant Systematics and Evolution* **241**, 29–46. doi:10.1007/s00606-003-0004-3.
- Pérez-Bote, J. L., Roso-Romero, R. and Julián-Pula, H.** (2004). Los hábitos de pesca en Extremadura: implicaciones en la gestión y conservación de la fauna piscícola. *Diputación provincial de Badajoz* **60**, 1241–1254.
- Pérez-Bote, J. L., Vicente Ribera, V. and Santos Almeida, A.** (2012). La comunidad sarcosaprófaga en un entorno periurbano. *Boletín de la Asociación Española de Entomología* **36**, 299–314.
- Peris, S. V.** (1987). La invasión de las especies de *Chrysomya albiceps* en América (Diptera: Calliphoridae). *Graellsia* **43**, 205–210.

- Peris, S. V. and González-Mora, D. (1991). Los Calliphoridae de España, III Luciliini (Diptera). *Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural*. **87**, 187–207.
- Peters, J., De Baets, B., Van doninck, J., Calvete, C., Lucientes, J., De Clercq, E. M., Ducheyne, E. and Verhoest, N. E. C. (2011). Absence reduction in entomological surveillance data to improve niche-based distribution models for *Culicoides imicola*. *Preventive veterinary medicine* **100**, 15–28. doi:10.1016/j.prevetmed.2011.03.004.
- Peters, J., Waegeman, W., Van doninck, J., Ducheyne, E., Calvete, C., Lucientes, J., Verhoest, N. E. C. and De Baets, B. (2014). Predicting spatio-temporal *Culicoides imicola* distributions in Spain based on environmental habitat characteristics and species dispersal. *Ecological Informatics* **22**, 69–80. doi:10.1016/j.ecoinf.2014.05.006.
- Pettersson, E., Bensch, S., Ander, M., Chirico, J., Sigvald, R. and Ignell, R. (2013). Molecular identification of bloodmeals and species composition in *Culicoides* biting midges. *Medical and veterinary entomology* **27**, 104–112. doi:10.1111/j.1365-2915.2012.01038.x.
- Pietrusky, F. and Leo, K. (1929). Über Aasfresser und ihre gerichtsärztliche Bedeutung (On carrion-feeding animals and their forensic relevance for forensic medicine (1929). *Z Desinfektion/Prakt. Desinfektor* **21**, 50–53.
- Pirali Kheirabadi, K., Dehghani Samani, A. and Rajabi Vardanjani, H. (2014). A report on the genital myiasis by *Wohlfahrtia magnifica* in camel herds in southwest of Iran. *Veterinary research forum : an international quarterly journal* **5**, 329–332.
- Playford, M. C., Evans, I., Lloyd, J. B., Lawton, P., Rabiee, A. R. and Lean, I. J. (2012). Multisite randomised controlled trial to evaluate polypropylene clips applied to the breech of lambs as an alternative to mulesing. I: effects on body weight, breech bare area measurements and scores, wrinkle scores and faecal and urine staining. *Australian veterinary journal* **90**, 415–422. doi:10.1111/j.1751-0813.2012.00961.x.
- Pokidov, I. I. and Goncharov, A. P. (1971). Controlling wohlfartiosis in sheeP. *Veterinariia* **7**, 25–31.
- Pont, A. C. (1986). Family Fannidae. In *Catalogue of Palaearctic Diptera*. (ed. Soós, Á. and Papp, L.), P. 345. Amsterdam.
- Porcel-Carreño, S. L. (2007). *Estudio descriptivo de alergia a larvas de Calliphoridae y lombriz de tierra en pescadores de Cáceres. Identificación de especies y caracterización alérgica*. Universidad de Alcalá. Tesis doctoral.
- Porcel-Carreño, S., de la Losa, F. P., Carrión, E. F., Martín, E. R., Cantariño, A. R., González, A. S., Trabado, A. R., Timón, S. J., Arenas, M. A., Velasco, V. M., Martín, M. R. and Arbeiza, J. H. (2009). *Protophormia terraenovae*. A new allergenic species in amateur fishermen of Cáceres, Spain. *Allergologia et immunopathologia* **37**, 68–72.
- Porcel-Carreño, S. L., Pineda de la Losa, F., Frontera-Carrión, E. M., Sánchez-González, A. B., Rodríguez-Martín, E., Jiménez-Timón, S., Alvarado-Arenas, M., de la Hoz-Caballer, B., Dieguez-Pastor, M. C. and Hernández-Arbeiza, F. J. (2013). Allergen profile of *Protophormia terraenovae*, other species of calliphoridae, and *Lumbricus terrestris* in anglers allergic to maggots in Cáceres, Spain. *Journal of investigational allergology & clinical immunology* **23**, 176–182.

- Porter, J. F. (1959). Some effects of screens in retarding entry of the common salt-marsh sand fly *Culicoides furens* (Poey)(Diptera: Heleidae). *Mosquito News* **19**, 159–163.
- Prado e Castro, C., Sousa, J. P., Arnaldos, M. I., Gaspar, J. and Garcia, M. D. (2011). Blowflies (Diptera: Calliphoridae) activity in sun exposed and shaded carrion in Portugal. *Annales de la Société entomologique de France* **47**, 128–139.
- Prado e Castro, C., Szpila, K., Martínez-Sánchez, A., Rego, C., Silva, I., Serrano, A. R. M. and Boieiro, M. (2016). The blowflies of the Madeira archipelago: Species diversity, distribution and identification (Diptera, Calliphoridae s.l.). *ZooKeys* **2016**, 101–123. doi:10.3897/zookeys.634.9262.
- Prete, P. E. (1997). Growth effects of *Phaenicia sericata* larval extracts on fibroblasts: mechanism for wound healing by maggot therapy. *Life sciences* **60**, 505–510.
- Prittie, J. (2004). Canine parvoviral enteritis: a review of diagnosis, management, and prevention. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* **14**, 167–176. doi:10.1111/j.1534-6935.2004.04020.x.
- Pugh, D. (2005). *Clínica de ovinos e caprinos*. Roca. Sao Paulo.
- Purse, B. V., Caracappa, S., Marino, A. M. F., Tatem, A. J., Rogers, D. J., Mellor, P. S., Baylis, M. and Torina, A. (2004). Modelling the distribution of outbreaks and *Culicoides* vectors in Sicily: towards predictive risk maps for Italy. *Veterinaria italiana* **40**, 303–310.
- Purse, B. V., Mellor, P. S., Rogers, D. J., Samuel, A. R., Mertens, P. P. C. and Baylis, M. (2005). Climate change and the recent emergence of bluetongue in Europe. *Nature reviews. Microbiology* **3**, 171–181. doi:10.1038/nrmicro1090.
- Purse, B. V., Nedelchev, N., Georgiev, G., Veleva, E., Boorman, J., Denison, E., Veronesi, E., Carpenter, S., Baylis, M. and Mellor, P. S. (2006). Spatial and temporal distribution of bluetongue and its *Culicoides* vectors in Bulgaria. *Medical and veterinary entomology* **20**, 335–344. doi:10.1111/j.1365-2915.2006.00636.x.
- Purse, B. V., McCormick, B. J. J., Mellor, P. S., Baylis, M., Boorman, J. P. T., Borrás, D., Burgu, I., Capela, R., Caracappa, S., Collantes, F., De Liberato, C., Delgado, J. A., Denison, E., Georgiev, G., Harak, M. EL, De La Rocque, S., LHOR, Y., Lucientes, J., Mangana, O., Miranda, M. A., Nedelchev, N., Nomikou, K., Ozkul, A., Patakakis, M., Pena, I., Scaramozzino, P., Torina, A. and Rogers, D. J. (2007). Incriminating bluetongue virus vectors with climate envelope models. *Journal of Applied Ecology* **44**, 1231–1242. doi:10.1111/j.1365-2664.2007.01342.x.
- Purse, B. V., Brown, H. E., Harrup, L., Mertens, P. P. C. and Rogers, D. J. (2008). Invasion of bluetongue and other orbivirus infections into Europe: the role of biological and climatic processes. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)* **27**, 427–442.
- Purse, B. V., Falconer, D., Sullivan, M. J., Carpenter, S., Mellor, P. S., Piertney, S. B., Mordue Luntz, A. J., Albon, S., Gunn, G. J. and Blackwell, A. (2012). Impacts of climate, host and landscape factors on *Culicoides* species in Scotland. *Medical and veterinary entomology* **26**, 168–177. doi:10.1111/j.1365-2915.2011.00991.x.

- Purse, B. V., Carpenter, S., Venter, G. J., Bellis, G. and Mullens, B. A. (2015). Bionomics of temperate and tropical *Culicoides* midges: knowledge gaps and consequences for transmission of *Culicoides*-borne viruses. *Annual review of entomology* **60**, 373–392. doi:10.1146/annurev-ento-010814-020614.
- Queiroz, M. M. (1996). Temperature requirements of *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819) (Diptera, Calliphoridae) under laboratory conditions. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* **91**, 785–788.
- Raadsma, H. W. (1987). Flystrike control: an overview of management and breeding options. *Wool Technology Sheep Breeding* **35**, 174–185.
- Raadsma, H. W., Gilmour, A. R. and Paxton, W. J. (1989). Fleece rot and body strike in Marino sheep. II Phenotypic and genetic variation in liability to fleece rot following experimental induction. *Australian Journal of Agricultural Research* **40**, 207–220.
- Racloz, V., Venter, G., Griot, C. and Staerk, K. D. C. (2008). Estimating the temporal and spatial risk of bluetongue related to the incursion of infected vectors into Switzerland. *BMC Veterinary Research* **4**, 42. doi:10.1186/1746-6148-4-42.
- Ramírez, L. (2006). Los leucocitos en mamíferos domésticos. *Mundo Pecuário* **2**, 37–39.
- Rawlings, P. (1996). A key, based on wing patterns of biting midges (genus *Culicoides* Latreille - Diptera: Ceratopogonidae) in the Iberian Peninsula, for use in epidemiological studies. *Graellsia* **52**, 57–71. doi:10.3989/graelisia.1996.v52.i0.376.
- Rawlings, P., Pro, M. J., Pena, I., Ortega, M. D. and Capela, R. (1997). Spatial and seasonal distribution of *Culicoides imicola* in Iberia in relation to the transmission of African horse sickness virus. *Medical and veterinary entomology* **11**, 49–57. doi:10.1111/j.1365-2915.1997.tb00289.x.
- Rawlings, P., Snow, W. F., Boorman, J., Denison, E., Hamblin, C. and Mellor, P. S. (1998). *Culicoides* in relation to transmission of African horse sickness virus in The Gambia. *Medical and veterinary entomology* **12**, 155–159.
- Rebêlo, J. M. M., Rodrigues, B. L., Bandeira, M. da C. A., Moraes, J. L. P., Fonteles, R. S. and Pereira, S. R. F. (2016). Detection of *Leishmania amazonensis* and *Leishmania braziliensis* in *Culicoides* (Diptera, Ceratopogonidae) in an endemic area of cutaneous leishmaniasis in the Brazilian Amazonia. *Journal of Vector Ecology* **41**, 303–308. doi:10.1111/jvec.12227.
- Rehbein, S., Corba, J., Pitt, S. R., Varady, M. and Langholff, W. . (1999). Evaluation of the anthelmintic efficacy of an ivermectin controlled-release capsule in lambs under field conditions in Europe. *Small Ruminant Research* **33**, 123–129.
- Rice, P. L. and Gleason, N. (1972). Two cases of myiasis in the United States by the African tumbu fly, *Cordylobia anthropophaga* (Diptera, Calliphoridae). *The American journal of tropical medicine and hygiene* **21**, 62–65.
- Rieb, J. P. (1982). *Contribution à la connaissance de l'écologie et de la biologie des Cératopogonidés (Diptera, Nematocera)*. Thèse d'eta n10. Université Louis Pasteur, UER Vie et terre, Strasbourg.
- Rivers, D. B., Ciarlo, T., Spelman, M. and Brogan, R. (2010). Changes in development and heat shock protein expression in two species of flies (*Sarcophaga bullata* [Diptera: Sarcophagidae] and *Protophormia terraenovae* [Diptera: Calliphoridae]) reared in different sized maggot masses. *Journal of Medical Entomology* **47**, 677–689.

- Rivers, D. B., Yoder, J. a, Jajack, A. J. and Rosselot, A. E.** (2013). Water balance characteristics of pupae developing in different size maggot masses from six species of forensically important flies. *Journal of insect physiology* **59**, 552–559. doi:10.1016/j.jinsphys.2013.03.002.
- Rodrigues Fonseca, D., Zava de Azevedo, I. K., Domingues Canonice, A., Cornélio, S. S., Rodrigues de Oliveira Junior, M. and dos Santos, C. A.** (2007). Miasis buco-maxilo-facial: reporte de un caso. *Acta Odontológica Venezolana* **45**, 565–567.
- Rognes, K.** (1991). Blowflies (Diptera, Calliphoridae) of Fennoscandia and Denmark. *Fauna Entomológica Escandinavica* **24**, 1–272.
- Rognes, K.** (1994). First record of the sheep greenbottle fly *Lucilia cuprina* (Wiedemann, 1830) from Europe (Diptera: Calliphoridae) with additional Spanish records of Calliphoridae, Muscidae and Sarcophagidae. *Eos (Revista Española de Entomología)* **69**, 41–44.
- Romón, P., Higuera, M., Delécolle, J. C., Baldet, T., Aduriz, G., Goldarazena, A., Romon, P., Higuera, M., Delecolle, J. C., Baldet, T., Aduriz, G. and Goldarazena, A.** (2012). Phenology and attraction of potential *Culicoides* vectors of bluetongue virus in Basque Country (northern Spain). *Veterinary Parasitology* **186**, 415–424. doi:10.1016/j.vetpar.2011.11.023.
- Rose, A., Kröckel, U., Bergbauer, R., Geier, M. and Eires, Á. E.** (2006). The BG-Sentinel, a novel mosquito trap for research and surveillance. *Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft für allgem eine und angewandte Entomologie* **15**, 345–348.
- Rosen, S., Horowitz, I., Braverman, Y., Hall, M. J. and Wyatt, N. P.** (1998). Dual infestation of a leopard by *Wohlfahrtia magnifica* and *Lipoptena chalconelaena*. *Medical and veterinary entomology* **12**, 313–314.
- Rothwell, J., Hynd, P., Brownlee, A., Dolling, M. and Williams, S.** (2007). Research into alternatives to mulesing. *Australian veterinary journal* **85**, 94–97. doi:10.1111/j.1751-0813.2007.00116.x.
- Rugg, D., Thompson, D., Gogolewski, R. P., Allerton, G. R., Barrick, R. A. and Eagleson, J. S.** (1998). Efficacy of ivermectin in a controlled-release capsule for the control of breech strike in sheep. *Australian veterinary journal* **76**, 350–354.
- Ruiz-Fons, F., Sánchez-Matamoros, A., Gortázar, C. and Sánchez-Vizcaíno, J. M.** (2014). The role of wildlife in bluetongue virus maintenance in Europe: Lessons learned after the natural infection in Spain. *Virus research* **182**, 50–58. doi:10.1016/j.virusres.2013.12.031.
- Ruiz-Martínez, I.** (1990). *Contribución al conocimiento de diversos aspectos del díptero miasígeno Wohlfahrtia magnifica (Schiner, 1862)*. (ed. Doctorales, S. de T.) Servicio de Publicaciones de la Universidad de Granada.
- Ruiz-Martínez, I.** (1995). The efficacy of ivermectin against the screwworm fly, *Wohlfahrtia magnifica* (Schiner 1862). *Researchs y Reviews in Parasitology* **55**, 185–187.
- Ruiz-Martínez, I. and Cruz-Mira, M.** (1994). Biogeografía de la mosca *Wohlfahrtia magnifica* (Schiner, 1862) en el Sur de España (Díptera: Sarcophagidae). *Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural*. **91**, 123–128.

Bibliografía

- Ruiz-Martínez, I. and Leclercq, M.** (1994). Data on distribution of screw-worm fly *Wohlfahrtia magnifica* (Schiner) in southwestern Europe (Diptera: Sarcophagidae). *Notes Fauniques de Gembloux* **28**, 53–60.
- Ruiz-Martínez, I., Soler-Cruz, M. D., Benítez-Rodríguez, R., Muñoz-Parra, S., Díaz-López, M. and Florido-Navío, A. M.** (1987). Myiasis caused by *Wohlfahrtia magnifica* (Schiner, 1862) (Diptera: Sarcophagidae) in Southern Spain. *Israel Journal of Veterinary Medicine* **43**, 34–42.
- Ruiz-Martínez, I., Soler-Cruz, M. D., Benítez-Rodríguez, R., Pérez-Jiménez, J. M. and Díaz-López, M.** (1989). Postembryonic development of *Wohlfahrtia magnifica* (Schiner, 1862) (Diptera: Sarcophagidae). *The Journal of parasitology* **75**, 531–539.
- Ruiz-Martínez, I., Soler-Cruz, M. D., Díaz-López, M., Pérez-Jiménez, J. and Cruz-Mira, M.** (1992a). Classification of the wohlfahrtioses affecting sheep and goats in southern Spain. *Investigación Agraria y Producción Animal* **7**, 31–45.
- Ruiz-Martínez, I., Soler-Cruz, M. D., Pérez-Jiménez, J. M., Díaz-López, M. and Granados-Torres, J. E.** (1992b). Evaluación de las relaciones con su entorno en el díptero miasígeno *Wohlfahrtia magnifica* (Schiner, 1862) (Diptera: Sarcophagidae) en el sur de España. *Zoologica baetica* **3**, 7–27.
- Ruiz-Martínez, I., Soler, M. D., Diaz, M. and Pérez, J. M.** (1992c). Análisis de la variación en el diseño abdominal de *Wohlfahrtia magnifica* (Schiner, 1862) (Diptera: Sarcophagidae). *Boletín de la Asociación Española de Entomología* **16**, 51–61.
- Ruiz-Martínez, I., Granados-Torres, J. E. and Pérez-Jiménez, J. M.** (1992d). Competencia por el espacio en larvas de la mosca *Wohlfahrtia magnifica* (Schin.) (Diptera: Sarcophagidae). *Buletim da Sociedade Portuguesa de Entomología* **2**, 411–420.
- Ruiz-Martínez, I., Soler, M. D., Pérez, J. M. and Díaz, M.** (1992e). Larval development and mortality rate in the screwworm fly *Wohlfahrtia magnifica* (Schiner, 1862) (Diptera: Sarcophagidae). *Researchs y Reviews in Parasitology* **52**, 27–32.
- Ruiz-Martínez, I., Abellan, M., Valero, A. and González-Castro, J.** (1992f). Miasis furunculosa por *Dermatobia hominis* e importación de miasis humanas tropicales. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica* **10**, 565–566.
- Ruiz-Martínez, I., Abellán-Berrueto, M., Valero-López, A. and González-Castro, J.** (1992g). Furuncular myiasis caused by *Dermatobia hominis* and importation of human tropical myiasis. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica* **10**, 565–566.
- Ruiz-Martínez, I., Pérez-Jiménez, J. M. and Cruz-Mira, M.** (1993a). Epidemiology of wohlfahrtiosis in sheep and goats. *Investigación Agraria y Producción Animal* **8**, 299–311.
- Ruiz-Martínez, I., Soler-Cruz, M. D., Pérez-Jiménez, J. and Díaz-López, M.** (1993b). Miasis genitales por *Wohlfahrtia magnifica* (Schiner, 1862) (Diptera, Sarcophagidae): ¿una hipótesis sobre la teoría de la castración del hospedador? *Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural*. **89**, 51–56.
- Ruiz-Martínez, I., Granados-Torres, J. E. and Pérez-Jiménez, J. M.** (1994). Encuesta epidemiológica sobre las wohlfahrtiosis ovino-caprinas en la Península Ibérica. In *Informe Técnico*, P. 125. Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía, Sevilla.

- Sabanoğlu, B. and Sert, O.** (2010). Determination of calliphoridae (diptera) fauna and seasonal distribution on carrion in ankara province. *Journal of forensic sciences* **55**, 1003–1007. doi:10.1111/j.1556-4029.2010.01366.x.
- Sackett, D., Holmes, P., Abbott, K., Jephcott, S. and Barber, M.** (2006). Assessing the economic cost of endemic disease on the profitability of Australian beef cattle and sheep producers. In *MLA Report AHW.087.*, P. Meat and Livestock, Sidney.
- Saeed, M. F., Li, L., Wang, H., Weaver, S. C. and Barrett, A. D. T.** (2001). Phylogeny of the Simbu serogroup of the genus *Bunyavirus*. *Journal of General Virology* **82**, 2173–2181.
- Safdar, N., Young, D. K. and Andes, D.** (2003). Autochthonous furuncular myiasis in the United States: case report and literature review. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **36**, e73–e80.
- Sahuquillo-Herráiz, C. and Gil-Collado, J.** (1982a). Ceratopogonidae (Diptera nematocera) de Navarra. *Revista de Sanidad e Higiene Pública* **56**, 743–752.
- Sahuquillo-Herráiz, C. and Gil-Collado, J.** (1982b). *Culicoides sahariensis* Kieffer, 1923 (Diptera ceratopogonidae), nueva especie para Europa y España. *Revista Ibérica de Parasitología* **42**, 241–242.
- Salesa, R., Rodríguez-Feijoo, A., Cordon, M. L. and Ortuño, C.** (1991). Miasis por *Oestrus ovis*. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica* **97**, 447–448.
- Saloña Bordas, M. I., Moneo Pellitero, J. and Díaz Martín, B.** (2009). Estudio sobre la distribución de califóridos en la Comunidad Autónoma del País Vasco. *Boletín Asociación Española de Entomología* **33**, 63–89.
- Sánchez-Covisa, A., Rodríguez Rodríguez, J. A. and Pascual Sánchez-Gijón, E.** (1979). Notas sobre Heleidae (Ceratopogonidae) arborícolas de los alrededores de Madrid (Diptera, Nematocera). *Revista Ibérica de Parasitología* **39**, 515–527.
- Sánchez-Matamoros, A., Sánchez-Vizcaíno, J. M., Rodríguez-Prieto, V., Iglesias, E. and Martínez-López, B.** (2014). Identification of Suitable Areas for African Horse Sickness Virus Infections in Spanish Equine Populations. *Transboundary and emerging diseases* **26**, 564–573. doi:10.1111/tbed.12302.
- Sánchez-Murillo, J. M., González-López, M., Juez-Yñáñez, M. J., Lucientes-Curdi, J., Estrada-Peña, R., Talero-Tornero, A., Del Solar-Alarcón, A., Moreno-Muñoz, J., Sanz-Jiménez, C. and Galán-Caballero, L.** (2007). Características del patrón alar de las principales especies del género *Culicoides* Latreille (Diptera: Ceratopogonidae) identificadas en Extremadura (España). *Laboratorio Veterinario Avedila* **42**, 2–12.
- Sánchez-Murillo, J. M., González-López, M., Alarcón-Elbal, P. M., Sanz-Jiménez, C., Delacour-Estrella, S., Ruiz-Arrondo, I., Pinar, R., Galán-Caballero, L., Estrada-Peña, R. and Lucientes-Curdi, J.** (2011). Distribución estacional de *Culicoides imicola*, kieffer, 1913 (diptera : ceratopogonidae), complejo *Culicoides obsoletus* (meigen , 1818) y complejo *Culicoides pulicaris* (linne , 1758) en Extremadura (España). *Laboratorio Veterinario Avedila* **56**, 3–7.
- Sánchez-Murillo, J. M., Alarcón-Elbal, P. M., Martínez Díaz, M. and González López, Matilde Reyes Galán, Aurelia Lucientes, J.** (2012). Primer registro de *Culicoides paolae* Boorman, 1996 (Diptera, Ceratopogonidae) para Extremadura (España). *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa* **51**, 327–328.

- Sánchez-Murillo, J. M., Martínez-Díaz, M. M., González-López, M., Reyes-Galán, A. and Alarcón-Elbal, P. M.** (2013). Primer registro de *Culicoides lupicaris* Downes & Kettle , 1952 (Diptera, Ceratopogonidae) para Extremadura (España). *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa* **53**, 346–348.
- Sánchez-Murillo, J. M., González, M., Martínez Díaz, M. M., Reyes Galán, A. and Alarcón-Elbal, P. M.** (2015). First record of *Culicoides paradoxalis* Ramiro & Delécolle, (2013) Diptera, Ceratopogonidae) in Spain. *Graellsia* **71**, e33.
- Sánchez-Muros, M.-J., Barroso, F. G. and Manzano-Agugliaro, F.** (2014). Insect meal as renewable source of food for animal feeding: a review. *Journal of Cleaner Production* **65**, 16–27. doi:10.1016/j.jclepro.2013.11.068.
- Sandeman, R. M., Dowse, C. a and Carnegie, P. R.** (1985). Initial characterisation of the sheep immune response to infections of *Lucilia cuprina*. *International journal for parasitology* **15**, 181–185. doi:10.1016/0020-7519(85)90085-2.
- Sandeman, R. M., Bowles, V. M., Stacey, I. N. and Carnegie, P. R.** (1986). Acquired resistance in sheep to infection with larvae of the blowfly, *Lucilia cuprina*. *International journal for parasitology* **16**, 69–75. doi:10.1016/0020-7519(86)90067-6.
- Sandeman, R. M., Chandler, R. A., Collins, B. J. and O'Meara, T. J.** (1992). Hypersensitivity responses and repeated infections with *Lucilia cuprina*, the sheep blowfly. *International journal for parasitology* **22**, 1175–1177. doi:10.1016/0020-7519(92)90038-M.
- Sandeman, R. M., Chandler, R. A., Turner, N. and Seaton, D. S.** (1995). Antibody degradation in wound exudates from blowfly infections on sheeP. *International journal for parasitology* **25**, 621–8.
- Sandeman, R. M., Levot, G. W., Heath, A. C. G., James, P. J., Greeff, J. C., Scott, M. J., Batterham, P. and Bowles, V. M.** (2014a). Control of the sheep blowfly in Australia and New Zealand – are we there yet? *International journal for parasitology* **44**, 879–891. doi:10.1016/j.ijpara.2014.08.009.
- Sandeman, R. M., Bowles, V. M. and Colwell, D. D.** (2014b). The immunobiology of myiasis infections--whatever happened to vaccination? *Parasite immunology* **36**, 605–615. doi:10.1111/pim.12128.
- Santiago-Alarcón, D., Havelka, P., Schaefer, H. M. and Segelbacher, G.** (2012). Bloodmeal analysis reveals avian *Plasmodium* infections and broad host preferences of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) vectors. *PloS ONE* **7**, e31098. doi:10.1371/journal.pone.0031098.
- Sarto i Monteys, V. and Saiz-Ardanaz, M.** (2003). *Culicoides* midges in Catalonia (Spain), with special reference to likely bluetongue virus vectors. *Medical and veterinary entomology* **17**, 288–293.
- Sarto i Monteys, V., Ventura, D., Pagès, N., Aranda, C. and Escosa, R.** (2005). Expansion of *Culicoides imicola*, the main bluetongue virus vector in Europe, into Catalonia, Spain. *The Veterinary record* **156**, 415–417.

- Sarto i Monteys, V., Delécolle, J.-C., Moreno-Vidal, J. O. and Pinna, M.** (2009). New records of biting midges of the genus *Culicoides* Latreille (Diptera: Ceratopogonidae) for Spain and Catalonia Autonomous Community (NE Spain), with notes on their biology and veterinary importance. In *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, pP. 714–733.
- Savini, G., Goffredo, M., Monaco, F., Di Gennaro, A., Cafiero, M. A., Baldi, L., de Santis, P., Meiswinkel, R. and Caporale, V.** (2005). Bluetongue virus isolations from midges belonging to the *Obsoletus* complex (*Culicoides*, Diptera: Ceratopogonidae) in Italy. *The Veterinary record* **157**, 133–139.
- Savini, G., Lorusso, A., Paladini, C., Migliaccio, P., Di Gennaro, A., Di Provido, A., Scacchia, M. and Monaco, F.** (2014). Bluetongue serotype 2 and 9 modified live vaccine viruses as causative agents of abortion in livestock: a retrospective analysis in Italy. *Transboundary and emerging diseases* **61**, 69–74. doi:10.1111/tbed.12004.
- Schauff, M. E.** (2001). Collecting and preserving insects and mites techniques and tools. In *Systematic Entomology Laboratory* (ed. Schauff, M. E.), P. National Museum of Natural History, Washington, DC.
- Scheffer, E. G., Venter, G. J., Labuschagne, K., Page, P. C., Mullens, B. a., MacLachlan, N. J., Osterrieder, N. and Guthrie, A. J.** (2012). Comparison of two trapping methods for *Culicoides* biting midges and determination of African horse sickness virus prevalence in midge populations at Onderstepoort, South Africa. *Veterinary Parasitology* **185**, 265–273. doi:10.1016/j.vetpar.2011.09.037.
- Schmid, H. R., van Tulder, G. and Junquera, P.** (1999). Field efficacy of the insect growth regulator dicyclanil for flystrike prevention on lambs. *Veterinary Parasitology* **86**, 147–151.
- Schmidtman, E. T., Jones, C. J. and Gollands, B.** (1980). Comparative host-seeking activity of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) attracted to pastured livestock in central New York state, USA. *Journal of Medical Entomology* **17**, 221–231.
- Scholtz, A. J., Cloete, S. W., Laubscher, J. M. and de Beer, E. F.** (2000). A preliminary evaluation of a sheep blowfly trap in the Western Cape. *Journal of the South African Veterinary Association* **71**, 148–52.
- Schultz, G. and DeLay, P. D.** (1955). Losses in newborn lambs associated with bluetongue vaccination of pregnancy ewes. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **127**, 224.
- Seaquist, E. R., Henry, T. R., Cheong, E. and Theologides, A.** (1983). *Phormia regina* myiasis in a malignant wound. *Minnesota medicine* **66**, 409–10.
- Seblova, V., Sadlova, J., Carpenter, S. and Volf, P.** (2012). Development of *Leishmania* parasites in *Culicoides nubeculosus* (Diptera: Ceratopogonidae) and implications for screening vector competence. *Journal of Medical Entomology* **49**, 967–70.
- Seblova, V., Sadlova, J., Carpenter, S. and Volf, P.** (2014). Speculations on biting midges and other bloodsucking arthropods as alternative vectors of *Leishmania*. *Parasites & Vectors* **7**, 222. doi:10.1186/1756-3305-7-222.
- Seguy, E.** (1928). Etudes sur les mouches parasites. Conopides, Oestrides et Calliphorines de l'Europe occidentale. In *Encyclopédie Entomologique. Tomo I*, pP. 2–247. Paris.

Bibliografía

- Seguy, E.** (1941). Mouches Parasites II. Calliphorines, Sarcophagines et Rhinophorines de l'Europe occidentale et méridionale. In *Encyclopédie Entomologique* (ed. Lechevalier, P.), pP. 213–240.
- Sellers, R. F.** (1992). Weather, *Culicoides*, and the distribution and spread of bluetongue and African horse sickness viruses. In *In Bluetongue, African Horse Sickness, and Related Orbiviruses, Proceedings of the Second International Symposium* (ed. Walton, T. E.) and Osburn, B. I.), pP. 284–290. CRC Press.
- Sellers, R. F., Pedgley, D. E. and Tucker, M. R.** (1977). Possible spread of African horse sickness on the wind. *The Journal of Hygiene* **79**, 279–298. doi:10.1017/S0022172400053109.
- Sherman, R. a** (2000). Wound myiasis in urban and suburban United States. *Archives of internal medicine* **160**, 2004–2014. doi:10.1001/archinte.160.13.2004.
- Sherman, R. A., Tran, J. M. and Sullivan, R.** (1996). Maggot therapy for venous stasis ulcers. *Archives of dermatology* **132**, 254–256.
- Shiga, S.** (2007). Photoperiodic control of reproduction in the blow fly, *Protophormia terraenovae*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* **148**, 341. doi:10.1016/j.cbpb.2007.07.029.
- Shope, R. E., MacNamara, L. G. and Mangold, R.** (1955). Epizzotic Haemorrhagic Disease of deer. *New Jersey Outdoors* 16–21.
- Singh, D. and Bharti, M.** (2001). Further observations on the nocturnal oviposition behaviour of blow flies (Diptera: Calliphoridae). *Forensic Science International* **120**, 124–126. doi:10.1016/S0379-0738(01)00419-4.
- Singh, D. and Bharti, M.** (2008). Some notes on the nocturnal larviposition by two species of *Sarcophaga* (Diptera: Sarcophagidae). *Forensic Science International* **177**, 19–20. doi:10.1016/j.forsciint.2007.08.007.
- Singh, P. and Jerram, E.** (1976). Rearing housefly larvae in polythene bags. *New Zealand Journal of Zoology* **3**, 57–58.
- Singh, B., Crippen, T. L., Zheng, L., Fields, A. T., Yu, Z., Ma, Q., Wood, T. K., Dowd, S. E., Flores, M., Tomberlin, J. K. and Tarone, A. M.** (2015). A metagenomic assessment of the bacteria associated with *Lucilia sericata* and *Lucilia cuprina* (Diptera: Calliphoridae). *Applied microbiology and biotechnology* **99**, 869–883. doi:10.1007/s00253-014-6115-7.
- Siracusa, A., Bettini, P., Bacocoli, R., Severini, C., Verga, A. and Abbritti, G.** (1994). Asthma caused by live fish bait. *The Journal of allergy and clinical immunology* **93**, 424–430.
- Slama, D., Chaker, E., Mathieu, B., Babba, H., Depaquit, J. and Augot, D.** (2014). Biting midges monitoring (Diptera: Ceratopogonidae: *Culicoides* Latreille) in the governate of Monastir (Tunisia): species composition and molecular investigations. *Parasitology research* **113**, 2435–2443. doi:10.1007/s00436-014-3873-1.
- Slama, D., Haouas, N., Mezhoud, H., Babba, H. and Chaker, E.** (2015). Blood Meal Analysis of Blood Meal Analysis of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) in Central Tunisia. *PLoS ONE* **10**, e0120528.

- Smith, K. G. V** (1986). *A Manual of Forensic Entomology*. (ed. London, B. M. Natural H.) Cornell University Press, Ithaca, NY.
- Smith, H. and Mullens, B. A.** (2003). Seasonal activity, size, and parity of *Culicoides occidentalis* (Diptera: Ceratopogonidae) in a coastal southern California salt marsh. *Journal of Medical Entomology* **40**, 352–355.
- Smith, K. E. and Wall, R.** (1997). Asymmetric competition between larvae of the blowflies *Calliphora vicina* and *Lucilia sericata* in carrion. *Ecological Entomology* **22**, 468–474. doi:10.1046/j.1365-2311.1997.00093.x.
- Smith, J. L., Colditz, I. G., Piper, L. R., Sandeman, R. M. and Dominik, S.** (2008). Genetic resistance to growth of *Lucilia cuprina* larvae in Merino sheep. *Australian Journal of Agricultural Research* **48**, 1210–1216.
- Smithburn, K. C., Hughes, T. P., Burke, A. W. and Paul, J. H.** (1940). A neurotropic virus isolated from the blood of a native of Uganda. *American Journal of Tropical Medicine* **20**, 471–472.
- Sneddon, J. and Rollin, B.** (2010). Mulesing and animal ethics. *Journal of Agriculture and Environmental Ethics* **23**, 371–386.
- Snoep, J. J., Sol, J., Sampimon, O. C., Roeters, N., Elbers, a. R. W., Scholten, H. W. and Borgsteede, F. H. M.** (2002). Myiasis in sheep in The Netherlands. *Veterinary Parasitology* **106**, 357–363. doi:10.1016/S0304-4017(02)00088-2.
- Soler-Cruz, M. D.** (2000). El estudio de las miasis en España durante los últimos cien años. *Ars Pharmaceutica* **41**, 19–26.
- Sotiraki, S., Stefanakis, A. and Hall, M. J. R.** (2003). Assessment of cypermethrin and doramectin for controlling wohlfahrtiosis in Crete. *Veterinary Parasitology* **116**, 327–332.
- Sotiraki, S., Stefanakis, a., Hall, M. J. R., Farkas, R. and Graf, J. F.** (2005). Wohlfahrtiosis in sheep and the role of dicyclanil in its prevention. *Veterinary Parasitology* **131**, 107–117. doi:10.1016/j.vetpar.2005.04.026.
- Sotiraki, S., Farkas, R. and Hall, M. J. R.** (2010). Fleshflies in the flesh: Epidemiology, population genetics and control of outbreaks of traumatic myiasis in the Mediterranean Basin. *Veterinary Parasitology* **174**, 12–18. doi:10.1016/j.vetpar.2010.08.010.
- Spindola, A. F., Zheng, L., Tomberlin, J. K. and Thyssen, P. J.** (2017). Attraction and Oviposition of *Lucilia eximia* (Diptera: Calliphoridae) to Resources Colonized by the Invasive Competitor *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Medical Entomology* **54**, 321–328. doi:10.1093/jme/tjw170.
- Spradbery, J. .** (1991). *A Manual for the Diagnosis of Screw-Worm Fly*. CSIRO Division of Entomology, Canberra.
- Spreull, J.** (1905). Malarial Catarrhal Fever (Bluetongue) of Sheep in South Africa. *Journal of Comparative Pathology and Therapeutics* **18**, 321–337. doi:10.1016/S0368-1742(05)80073-6.

Bibliografía

- St-Hilaire, S., Cranfill, K., McGuire, M. A., Mosley, E. E., Tomberlin, J. K., Newton, L., Sealey, W., Sheppard, C. and Irving, S.** (2007). Fish Offal Recycling by the Black Soldier Fly Produces a Foodstuff High in Omega-3 Fatty Acids. *Journal of the World Aquaculture Society* **38**, 309–313. doi:10.1111/j.1749-7345.2007.00101.x.
- St George, T. D. and Muller, M. J.** (1984). The isolation of a bluetongue virus from *Culicoides brevitarsis*. *Australian veterinary journal* **61**, 95.
- St George, T. D., Standfast, H. A. and Cybinski, D. H.** (1978). Isolations of akabane virus from sentinel cattle and *Culicoides brevitarsis*. *Australian veterinary journal* **54**, 558–561.
- Standfast, H. A., Muller, M. J. and Wilson, D. D.** (1984). Mortality of *Culicoides brevitarsis* (Diptera: Ceratopogonidae) Fed on Cattle Treated with Ivermectin. *Journal of Economic Entomology* **77**, 419–421. doi:10.1093/jee/77.2.419.
- Standfast, H. A., Dyce, A. L. and Muller, M. J.** (1985). Vectors of bluetongue virus in Australia. *Progress in clinical and biological research* **178**, 177–186.
- Steinke, S., Lühken, R. and Kiel, E.** (2014). Assessment of the abundance of *Culicoides chiopterus* and *Culicoides dewulfi* in bovine dung: A comparison of larvae extraction techniques and emergence traps. *Veterinary Parasitology* **205**, 255–262. doi:10.1016/j.vetpar.2014.07.030.
- Stewart, M. A.** (1934). The therapeutic behavior of *Lucilia sericata* meig. larvae in osteomyelitis wounds. *Science (New York, N.Y.)* **79**, 459–60. doi:10.1126/science.79.2055.459-a.
- Stoffolano, J. G., Bartley, M. M. and Yin, C. M.** (1990). Male and female *Phormia regina* (Diptera: Calliphoridae) trapped at two different baits in the field. *Annals of the Entomological Society of America* **86**, 603–606.
- Stoffolano, J. G., Li, M.-F., Sutton, J. A. and Yin, C.-M.** (1995). Faeces feeding by adult *Phormia regina* (Diptera: Calliphoridae): impact on reproduction. *Medical and veterinary entomology* **9**, 388–392. doi:10.1111/j.1365-2915.1995.tb00010.x.
- Stokes, J. E., Baylis, M. and Duncan, J. S.** (2016). A freedom from disease study: Schmallenberg virus in the south of England in 2015. *The Veterinary record* **179**, 435. doi:10.1136/vr.103903.
- Strobl, P. G.** (1900). Spanische Dipteren, XI. *Theil, Wiener Entomologische Zeitung* **19**, 169–174.
- Strobl, P. G.** (1906). Spanische Dipteren. II: Beitrag. *Memorias de la Real Sociedad Española de Historia Natural, Tomo III, Memoria 5º (1905)* 271–422.
- Suárez, J. L., Scala, A., Romero, J. A., Paz-Silva, A., Pedreira, J., Arias, M., Díaz, P., Morrondo, P., Díez-Baños, P. and Sánchez-Andrade, R.** (2005). Analysis of the humoral immune response to *Oestrus ovis* in ovine. *Veterinary Parasitology* **134**, 153–8. doi:10.1016/j.vetpar.2005.06.009.
- Sutherland, M. a. and Tucker, C. B.** (2011). The long and short of it: A review of tail docking in farm animals. *Applied Animal Behaviour Science* **135**, 179–191. doi:10.1016/j.applanim.2011.10.015.

- Sutherland, a., Myburgh, J., Steyn, M. and Becker, P. J.** (2013). The effect of body size on the rate of decomposition in a temperate region of South Africa. *Forensic Science International* **231**, 257–262. doi:10.1016/j.forsciint.2013.05.035.
- Sutherst, R. W.** (1998). Implications of global change and climate variability for vector-borne diseases: generic approaches to impact assessments. *International journal for parasitology* **28**, 935–945.
- Suwa, M. and Darvas, B.** (2000). Family Anthomyiidae. In *Manual of Palaearctic Diptera*, pP. 571–616. Foundation for the Publicity of the Hungarian Science Baross, Budapest.
- Tabachnick, W. J.** (1996). *Culicoides variipennis* and bluetongue-virus epidemiology in the United States. *Annual review of entomology* **41**, 23–43. doi:10.1146/annurev.en.41.010196.000323.
- Tabachnick, W. J.** (2004). *Culicoides* and the global epidemiology of bluetongue virus infection. *Veterinaria italiana* **40**, 145–150.
- Tabouret, G., Lacroux, C., Andreoletti, O., Bergeaud, J. P., Hailu-Tolosa, Y., Hoste, H., Prevot, F., Grisez, C., Dorchies, P. and Jacquiet, P.** (2003). Cellular and humoral local immune responses in sheep experimentally infected with *Oestrus ovis* (Diptera: Oestridae). *Veterinary Research* **34**, 231–241. doi:10.1051/vetres:2002070.
- Takken, W. and Knols, B. G.** (2010). Olfaction in vector host interactions. In *Ecology and Control of Vector Borne Diseases. Vol. II*, pP. 217–246.
- Talavera, S., Muñoz-Muñoz, F. and Pagès, N.** (2011). New insights on diversity, morphology and distribution of *Culicoides* Latreille 1809 (Diptera: Ceratopogonidae) from Northeast Spain. *Annales de la Société Entomologique de France* **47**, 214–231.
- Tantawi, T., EL-Kady, E., Greenberg, B. and El-Ghaffar, H.** (1996). Arthropod succession on exposed rabbit carrion in Alexandria, Egypt. *Journal of Medical Entomology* **33**, 566–580.
- Tantawi, T. I., Williams, K. A. and Villet, M. H.** (2010). An accidental but safe and effective use of *Lucilia cuprina* (Diptera: Calliphoridae) in maggot debridement therapy in Alexandria, Egypt. *Journal of Medical Entomology* **47**, 491–494.
- Taylor, W. P.** (1986). The epidemiology of bluetongue. *Revue de Scientifique et Technique-Office International des Epizooties* **5**, 351–356.
- Tellam, R. L.** (1996). The peritrophic membrane. In *The Insect Midgut* (ed. Billingsley, P.) and Lehane, M.), pP. 86–114. Chapman and Hall, London.
- Tellam, R. L. and Bowles, V. M.** (1997). Control of blowfly strike in sheep: Current strategies and future prospects. *International journal for parasitology* **27**, 261–273. doi:10.1016/S0020-7519(96)00174-9.
- Tellam, R. L. and Eisemann, C. H.** (1998). Inhibition of growth of *Lucilia cuprina* larvae using serum from sheep vaccinated with first-instar larval antigens. *International journal for parasitology* **28**, 439–450.
- Tellam, R. L., Eisemann, C. H. and Pearson, R. D.** (1994). Vaccination of sheep with purified serine proteases from the secretory and excretory material of *Lucilia cuprina* larvae. *International journal for parasitology* **24**, 757–764.

Bibliografía

- Ternovoy, V.** (1982). A study of the diapause in *Wohlfahrtia magnifica* (Diptera: Sarcophagidae). *Revista entomológica de la URSS* **58**, 481–487.
- Ternovoy, V. I. and Ruiz-Martínez, I.** (1996). Pupal and pupation strategies in the palearctic screwworm fly *Wohlfahrtia magnifica*. *Veterinariya* **8**, 60–61.
- Teskey, H.** (1981). Morphology and terminology-larvae. In *A Manual of Nearctic Diptera* (ed. Department of agriculture), pP. 65–100. McAlpine, Ottawa.
- Thomas, D. B. and Pruett, J. H.** (1992). Kinetic development and decline of antiscrewworm (Diptera: Calliphoridae) antibodies in serum of infested sheep. *Journal of Medical Entomology* **29**, 870–873.
- Thomas, S., Andrews, A. M., Hay, N. P. and Bourgoise, S.** (1999). The anti-microbial activity of maggot secretions: results of a preliminary study. *Journal of tissue viability* **9**, 127–132.
- Trigg, J. K.** (1996). Evaluation of a eucalyptus-based repellent against *Culicoides impunctatus* (Diptera: Ceratopogonidae) in Scotland. *Journal of the American Mosquito Control Association* **12**, 329–330.
- Tschuor, A. C., Kaufmann, C., Schaffner, F. and Mathis, A.** (2009). Occurrence of biting midges (*Culicoides spp.*) at three different altitudes in an alpine region of Switzerland. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde* **151**, 215–221. doi:10.1024/0036-7281.151.5.215.
- Turchetto, M. and Vanin, S.** (2004). Forensic entomology and climatic change. *Forensic Science International* **146**, 207–209. doi:10.1016/j.forsciint.2004.09.064.
- Tuygun, N., Taylan-Ozkan, A., Tanir, G. and Mumcuoğlu, K. Y.** (2009). Furuncular myiasis in a child caused by *Wohlfahrtia magnifica* (Diptera: Sarcophagidae) associated with eosinophilia. *The Turkish journal of pediatrics* **51**, 279–281.
- UNICEF/WHO** (2009). Diarrhoea: why children are still dying and what can be done. In *Geneva: The United Nations Children's Fund (UNICEF)/World Health Organization (WHO)*, P. 68.
- Urech, R., Green, P. E., Rice, M. J., Brown, G. W., Webb, P., Jordan, D., Wingett, M., Mayer, D. G., Butler, L., Joshua, E., Evans, I., Toohey, L. and Dadour, I. R.** (2009). Suppression of populations of Australian sheep blowfly, *Lucilia cuprina* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae), with a novel blowfly traP. *Australian Journal of Entomology* **48**, 182–188. doi:10.1111/j.1440-6055.2009.00701.x.
- Uslu, U. and Dik, B.** (2010). Chemical characteristics of breeding sites of *Culicoides* species (Diptera: Ceratopogonidae). *Veterinary Parasitology* **169**, 178–84. doi:10.1016/j.vetpar.2009.12.007.
- Valachova, I., Majtan, T., Takac, P. and Majtan, J.** (2014). Identification and characterisation of different proteases in *Lucilia sericata* medicinal maggots involved in maggot debridement therapy. *Journal of Applied Biomedicine* **12**, 171–177. doi:10.1016/j.jab.2014.01.001.
- Valentin, a., Baumann, M. P. O., Schein, E. and Bajanbileg, S.** (1997). Genital myiasis (wohlfahrtiosis) in camel herds of Mongolia. *Veterinary Parasitology* **73**, 335–346. doi:10.1016/S0304-4017(97)00127-1.

- Van den Brom, R., Luttikholt, S. J., Lievaart-Peterson, K., Peperkamp, N. H., Mars, M. H., van der Poel, W. H. and Vellema, P.** (2012). Epizootic of ovine congenital malformations associated with Schmallenberg virus infection. *Tijdschrift voor diergeneeskunde* **137**, 106–111.
- Varani, S., Tassinari, D., Elleri, D., Forti, S., Bernardi, F., Lima, M., Tursini, S., Sambri, V. and Otranto, D.** (2007). A case of furuncular myiasis associated with systemic inflammation. *Parasitology international* **56**, 330–333. doi:10.1016/j.parint.2007.06.002.
- Velásquez, Y., Magaña, C., Martínez-Sánchez, A and Rojo, S.** (2010). Diptera of forensic importance in the Iberian Peninsula: larval identification key. *Medical and veterinary entomology* **24**, 293–308. doi:10.1111/j.1365-2915.2010.00879.x.
- Velásquez, Y., Martínez-Sánchez, A. and Rojo, S.** (2011). A Preliminary Analysis of Early Colonization of Pig Carcasses by Blowflies (Diptera: Calliphoridae) in the Iberian Peninsula. *Pest Technology* **5**, 23–25.
- Velásquez, Y., Gobbi, P. and Martínez Sánchez, Ana Isabel Rojo, S.** (2015). Contribución al conocimiento de los Calliphoridae y Sarcophagidae sarcosaprófagos presentes en un agrosistema del sureste de la Península Ibérica. *Ciencia Forense* **12**, 193–206.
- Velthuis, A. G. J., Saatkamp, H. W., Mourits, M. C. M., de Koeijer, A. A. and Elbers, A. R. W.** (2010). Financial consequences of the Dutch bluetongue serotype 8 epidemics of 2006 and 2007. *Preventive veterinary medicine* **93**, 294–304. doi:10.1016/j.prevetmed.2009.11.007.
- Venter, G. J. and Hermanides, K. G.** (2006). Comparison of black and white light for collecting *Culicoides imicola* and other livestock-associated *Culicoides* species in South Africa. *Veterinary Parasitology* **142**, 383–385. doi:10.1016/j.vetpar.2006.07.015.
- Venter, G. J., Hill, E., Pajor, I. T. and Nevill, E. M.** (1991). The use of a membrane feeding technique to determine the infection rate of *Culicoides imicola* (Diptera, Ceratopogonidae) for 2 bluetongue virus serotypes in South Africa. *The Onderstepoort journal of veterinary research* **58**, 5–9.
- Venter, G. J., Labuschagne, K., Hermanides, K. G., Boikanyo, S. N. B., Majatladi, D. M. and Morey, L.** (2009a). Comparison of the efficiency of five suction light traps under field conditions in South Africa for the collection of *Culicoides* species. *Veterinary Parasitology* **166**, 299–307. doi:10.1016/j.vetpar.2009.08.020.
- Venter, G. J., Hermanides, K. G., Boikanyo, S. N. B., Majatladi, D. M. and Morey, L.** (2009b). The effect of light trap height on the numbers of *Culicoides* midges collected under field conditions in South Africa. *Veterinary Parasitology* **166**, 343–345. doi:10.1016/j.vetpar.2009.09.003.
- Venter, G. J., Labuschagne, K., Boikanyo, S. N. B., Majatladi, D. M. and Morey, L.** (2011). The effect of 1-octen-3-ol and 4-methylphenol on *Culicoides* midge numbers collected with suction light traps in South Africa. *Veterinary Parasitology* **175**, 182–186. doi:10.1016/j.vetpar.2010.09.010.
- Ventura, D., Pagès, N. and Sarto, V.** (2005). Citas nuevas e interesantes de *Culicoides* Latreille, 1809 para Cataluña y la Península Ibérica (Diptera, Nematocera, Ceratopogonidae). *Boletín de la Asociación Española de Entomología* **29**, 75–86.

Bibliografía

- Venturi, F.** (1956). Notulae dipterologicae. X. Specie nuove per l'Italia. *Bollettino della Società Entomologica Italiana* **86**, 56–58.
- Verhoef, F., Venter, G. J. and Weldon, C. W.** (2014). Thermal limits of two biting midges, *Culicoides imicola* Kieffer and *C. bolitinos* Meiswinkel (Diptera: Ceratopogonidae). *Parasites & Vectors* **7**, 384. doi:10.1186/1756-3305-7-384.
- Verwoerd, D. W.** (2012). History of orbivirus research in South Africa. *Journal of the South African Veterinary Association* **83**, 1–6.
- Verwoerd, D. W. and Erasmus, B. J.** (2004). Bluetongue. In *Infectious Diseases of Livestock* (ed. Coetzer, J. A.) and Tustin, R. C.), pp. 1201–1220. Oxford University Press, Cape Town.
- Vogt, W. G., Runko, S. and Starick, N. T.** (1985). A Wind-Oriented Fly Trap for Quantitative Sampling Of Adult *Musca Vetustissima* Walker. *Journal of Australian Entomology Society* **24**, 223–227.
- Votýpka, J., Synek, P. and Svobodová, M.** (2009). Endophagy of biting midges attacking cavity-nesting birds. *Medical and veterinary entomology* **23**, 277–280. doi:10.1111/j.1365-2915.2009.00800.x.
- Walker, A. R. and Davies, F. G.** (1971). A preliminary survey of the epidemiology of bluetongue in Kenya. *The Journal of hygiene* **69**, 47–60.
- Wall, R.** (2012). Ovine cutaneous myiasis: Effects on production and control. *Veterinary Parasitology* **189**, 44–51. doi:10.1016/j.vetpar.2012.03.031.
- Wall, R. L. and Shearer, D.** (2001). *Veterinary Ectoparasites*.
- Wall, R., Green, C. H., French, N. and Morgan, K. L.** (1992). Development of an attractive target for the sheep blowfly *Lucilia sericata*. *Medical and veterinary entomology* **6**, 67–74.
- Wall, R., Pitts, K. M. and Smith, K. E.** (2001). Pre-adult mortality in the blowfly *Lucilia sericata*. *Medical and veterinary entomology* **15**, 328–334.
- Wall, R., Rose, H., Ellse, L. and Morgan, E.** (2011). Livestock ectoparasites: Integrated management in a changing climate. *Veterinary Parasitology* **180**, 82–89. doi:10.1016/j.vetpar.2011.05.030.
- Wang, Y., Li, L., Wang, J., Wang, M., Yang, L., Tao, L., Zhang, Y., Hou, Y., Chu, J. and Hou, Z.** (2016). Development of the green bottle fly *Lucilia illustris* at constant temperatures. *Forensic Science International* **267**, 136–144. doi:10.1016/j.forsciint.2016.07.019.
- Ward, M. P.** (2001). Effectiveness of a synthetic lure to reduce blowfly strike incidence: preliminary observations. *Veterinary Parasitology* **97**, 77–82.
- Ward, M. P. and Farrell, R.** (2003). Sheep blowfly strike reduction using a synthetic lure system. *Preventive veterinary medicine* **59**, 21–26. doi:10.1016/S0167-5877(03)00059-X.
- Wardhaugh, K. G. and Morton, R.** (1990). The incidence of flystrike in sheep in relation to weather conditions, sheep husbandry, and the abundance of the Australian sheep blowfly, *Lucilia cuprina* (Weidemann) (Diptera: Calliphoridae). *Australian Journal of Agricultural Research* **41**, 1155–1167.

- Watson, R. T., Zinyowera, M. C. and Moss, R. H.** (1998). *The regional impacts of climate change: an assessment of vulnerability*. Cambridge University Press.
- Watts, D. M., Burke, D. S., Harrison, B. A., Whitmire, R. E. and Nisalak, A.** (1987). Effect of temperature on the vector efficiency of *Aedes aegypti* for dengue 2 virus. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **36**, 143–152.
- Wayman, J., Nirojogi, V., Walker, A., Sowinski, A. and Walker, M. A.** (2000). The cost effectiveness of larval therapy in venous ulcers. *Journal of tissue viability* **10**, 91–94.
- Weil, G., Simon, R. and Sweader, W.** (1933). A biological, bacteriological and clinical study of larval or maggot therapy in the treatment of acute and chronic pyogenic infections. *The American Journal of Surgery* **19**, 36–43.
- Weiss, D., Carr, D., Kellachan, J., Tan, C., Phillips, M., Bresnitz, E. and Layton, M.** (2001). Clinical findings of West Nile virus infection in hospitalized patients, New York and New Jersey, 2000. *Emerging infectious diseases* **7**, 654–658. doi:10.3201/eid0704.010409.
- Whitaker, I. S., Twine, C., Whitaker, M. J., Welck, M., Brown, C. S. and Shandall, A.** (2007). Larval therapy from antiquity to the present day: mechanisms of action, clinical applications and future potential. *Postgraduate medical journal* **83**, 409–413. doi:10.1136/pgmj.2006.055905.
- Willadsen, P.** (2006). Vaccination against ectoparasites. *Parasitology* **133 Suppl**, S9–S25. doi:10.1017/S0031182006001788.
- Willadsen, P., Riding, G. A., McKenna, R. V., Kemp, D. H., Tellam, R. L., Nielsen, J. N., Lahnstein, J., Cobon, G. S. and Gough, J. M.** (1989). Immunologic control of a parasitic arthropod. Identification of a protective antigen from *Boophilus microplus*. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* **143**, 1346–1351.
- Williams, H. and Richardson, A. M. M.** (1984). Growth energetics in relation to temperature for larvae of four species of necrophagous flies (Diptera: Calliphoridae). *Australian Journal of Ecology* **9**, 141–152.
- Williams, K. and Villet, M.** (2014). Morphological identification of *Lucilia sericata*, *Lucilia cuprina* and their hybrids (Diptera, Calliphoridae). *ZooKeys* **420**, 69–85. doi:10.3897/zookeys.420.7645.
- Williams, C. R., Long, S. A., Webb, C. E., Bitzhenner, M., Geier, M., Russell, R. C. and Ritchie, S. A.** (2007). *Aedes aegypti* population sampling using BG-Sentinel traps in north Queensland Australia: statistical considerations for trap deployment and sampling strategy. *Journal of Medical Entomology* **44**, 345–350.
- Williams, K. A., Wallman, J. F., Lessard, B. D., Kavazos, C. R. J., Mazungula, D. N. and Villet, M. H.** (2017). Nocturnal oviposition behavior of blowflies (Diptera: Calliphoridae) in the southern hemisphere (South Africa and Australia) and its forensic implications. *Forensic Science, Medicine, and Pathology*. doi:10.1007/s12024-017-9861-x.
- Wilson, A. J. and Mellor, P. S.** (2009). Bluetongue in Europe: past, present and future. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* **364**, 2669–2681. doi:10.1098/rstb.2009.0091.

Bibliografía

- Wirth, W. W.** (1980). Bibliography on pathogens of medically important arthropods: 1980 IX. Pathogens of Ceratopogonidae (Midges). *Bulletin of the World Health Organization* **58**, 99–103.
- Wolff, H. and Hansson, C.** (1999). Larval therapy for a leg ulcer with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Acta dermato-venereologica* **79**, 320–321.
- Wooldridge, J., Scrase, L. and Wall, R.** (2007). Flight activity of the blowflies, *Calliphora vomitoria* and *Lucilia sericata*, in the dark. *Forensic Science International* **172**, 94–97. doi:10.1016/j.forsciint.2006.12.011.
- Wright, P. J. and Easton, C. S.** (1996). Natural Incidence of *Lagenidium giganteum* Couch (Oomycetes: Lagenidiales) Infecting the Biting Midge *Culicoides molestus* (Skuse) (Diptera: Ceratopogonidae). *Australian Journal of Entomology* **35**, 131–134. doi:10.1111/j.1440-6055.1996.tb01376.x.
- Wright, C., Brooks, A. and Wall, R.** (2004). Toxicity of the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) to adult females of the blowfly *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). *Pest management science* **60**, 639–644. doi:10.1002/ps.808.
- Yanase, T., Maeda, K., Kato, T., Nyuta, S., Kamata, H., Yamakawa, M. and Tsuda, T.** (2005). The resurgence of Shamonda virus, an African Simbu group virus of the genus *Orthobunyavirus*, in Japan. *Archives of virology* **150**, 361–369. doi:10.1007/s00705-004-0419-3.
- Yehuda, B., Marchaim, U., Glatman, L., Drabkin, V., Chizov-Ginzburg, A. Mumcuoglu, K. Y. and Gelman, A.** (2011). Bioconversion of poultry and fish waste by *Lucilia sericata* and *Sarcophaga carnaria* larvae. *Asian Journal of Water, Environment and Pollution* **8**, 69–75.
- Yoshitomi, A., Sato, A., Suda, T. and Chida, K.** (1997). Nasopharyngeal myiasis during mechanical ventilation. *Nihon Kyōbu Shikkan Gakkai zasshi* **35**, 1352–1355.
- Zheng, L., Li, Q., Zhang, J. and Yu, Z.** (2012). Double the biodiesel yield: Rearing black soldier fly larvae, *Hermetia illucens*, on solid residual fraction of restaurant waste after grease extraction for biodiesel production. *Renewable Energy* **41**, 75–79. doi:10.1016/j.renene.2011.10.004.
- Zientara, S. and Sánchez-Vizcaíno, J. M.** (2013). Control of bluetongue in Europe. *Veterinary Microbiology* **165**, 33–37. doi:10.1016/j.vetmic.2013.01.010.
- Zientara, S., Sailleau, C., Plateau, E., Moulay, S., Mertens, P. P. and Crucièrè, C.** (1998). Molecular epidemiology of African horse sickness virus based on analyses and comparisons of genome segments 7 and 10. *Archives of virology. Supplementum* **14**, 221–234.
- Zientara, S., MacLachlan, N. J., Calistri, P., Sanchez-Vizcaino, J.-M. and Savini, G.** (2010). Bluetongue vaccination in Europe. *Expert review of vaccines* **9**, 989–991. doi:10.1586/erv.10.97.
- Zumpt, F.** (1965). *Myiasis in man and animals in the old world: a Textbook for Physicians, Veterinarians and Zoologists*. Butterworths, London.

