

EXPEDIENTE: **261-2024**

DETECCIÓN DE MOSQUITO TIGRE AEDES ALBOPICTUS EN TRAMPAS DE OVIPOSICIÓN DE NATURALIA NATURALEZA URBANA S.A.

INFORME FINAL

PARTE V – VELILLA DE SAN ANTONIO

23 de diciembre de 2024

Javier Pérez Tris Ana Tello Fierro Raúl Bonal Andrés Francisco J. Cabrero Sañudo Laura Esther Gangoso de la Colina José Francisco Gómez Sánchez

Grupo de Investigación Biología Evolutiva y de la Conservación Departamento de Biodiversidad, Ecología y Evolución - Facultad de Ciencias Biológicas UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

1. RESUMEN EJECUTIVO

Objeto del contrato

El contrato celebrado entre NATURALIA NATURALEZA URBANA S.A. y el equipo investigador que dirige el Profesor D. Javier Pérez Tris del Grupo de Investigación UCM 910577 Biología Evolutiva y de la Conservación, tiene como objeto la prestación de servicios de análisis de tablillas de oviposición adecuadas para el muestreo del mosquito tigre *Aedes albopictus*, para determinar el resultado negativo o positivo del muestreo y, en este caso, hacer una valoración semicuantitativa del número de huevos presentes en cada tablilla.

Resumen de métodos utilizados

Se ha realizado el análisis entomológico de 402 trampas de oviposición recibidas en la UCM, procedentes de muestreos realizados en el término municipal de Velilla de San Antonio. Mediante observación exhaustiva al microscopio estereoscópico se ha determinado la presencia o ausencia de huevos en dichas trampas, utilizando los estándares de calidad del Sistema de Vigilancia de Vectores de la Comunidad de Madrid. La carga de huevos en cada trampa se ha determinado usando una escala semicuantitativa.

Síntesis de resultados

El 13,9% de las muestras analizadas y el 62,1% de los puntos muestreados (29 en total) han resultado positivos para mosquito tigre. Se muestran los principales estadísticos descriptivos de la variación de la frecuencia de resultados positivos y la carga de huevos durante la temporada de muestreo.

Conclusiones principales

Los resultados documentan con fiabilidad la existencia de una población de mosquito tigre establecida en el término municipal de Velilla de San Antonio.

Transferencia de conocimiento

Los resultados de los análisis han sido comunicados a la empresa y a la Consejería de Sanidad de la Comunidad de Madrid, responsable de la vigilancia de vectores con interés en Salud Pública en el ámbito territorial de los trabajos realizados.

2. INTRODUCCIÓN

Antecedentes

El contrato con referencia 261-2024 celebrado entre NATURALIA NATURALEZA URBANA S.A. (en adelante **la empresa**) y el equipo investigador que dirige el Profesor D. Javier Pérez Tris del Grupo de investigación UCM 910577 Biología Evolutiva y de la Conservación, de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Complutense de Madrid (UCM, en adelante **el equipo investigador**), se plantea por el interés de la empresa en procesar con estándares de calidad científica el material derivado de su actividad de seguimiento de poblaciones de mosquito tigre *Aedes albopictus*.

El equipo investigador ofrece servicios de identificación entomológica conforme a los criterios y métodos del **Sistema de Vigilancia de Vectores de la Comunidad de Madrid**, dependiente de su Consejería de Sanidad, a su vez ajustados a las directrices para la vigilancia de mosquitos invasores en Europa (European Centre for Disease Prevention and Control, 2012). El equipo ha asumido la dirección científica de los análisis entomológicos de dicho programa desde 2008. Concretamente, ha ejecutado los trabajos de muestreo e identificación de mosquito tigre desde el establecimiento, bajo su dirección científica, del Programa de vigilancia Entomológica y Control Sanitario-Ambiental de vectores transmisores de arbovirus, responsable a su vez de la red de vigilancia del mosquito tigre en la Comunidad de Madrid. Los resultados descritos en este informe cumplen por tanto el mismo estándar de calidad y son homologables a los que informan los programas de seguimiento de la Consejería de Sanidad de la Comunidad de Madrid.

El Grupo de Investigación UCM 910577 "Biología Evolutiva y de la Conservación" (www.ucm.es/bcv), dirigido por el director técnico de este contrato (Javier Pérez Tris), ha sido evaluado como **EXCELENTE** por la Agencia Estatal de Investigación, que sigue los estándares de evaluación científica de la Unión Europea.

Contenido del informe

Este informe describe el material recibido, su estado de conservación, los métodos de procesamiento utilizados (con descripción de los materiales empleados), los resultados obtenidos, las conclusiones derivadas del estudio y las acciones de transferencia de conocimiento realizadas durante su desarrollo.

Objetivos específicos

El trabajo descrito consiste en el **análisis de tablillas de oviposición** adecuadas para el muestreo del mosquito tigre *Aedes albopictus*, para determinar el resultado negativo o positivo del muestreo y, en este caso, hacer una valoración semicuantitativa del número de huevos presentes en cada tablilla.

Como **aportaciones con valor añadido** a estos trabajos técnicos, se destacan las siguientes:

1. Los resultados de los análisis realizados se interpretan con la experiencia del seguimiento de las poblaciones de mosquito tigre que desarrolla el equipo de investigación para el Sistema de vigilancia de vectores implementado por la Consejería de Sanidad de la Comunidad de Madrid. Es un objetivo específico del contrato que los análisis de las muestras cuenten con el mismo estándar de calidad de dicho programa de vigilancia sanitaria.

2. Los resultados han sido comunicados a dicha Consejería de Sanidad. Esta acción de transferencia de conocimiento hacia otros agentes interesados en el resultado de la investigación tiene como objetivo que los datos de seguimiento de las poblaciones de esta especie de importancia sanitaria (por su capacidad vectorial) y ecológica (por su carácter invasor) puedan ser centralizados por la administración con competencias en su vigilancia en la región.

3. MATERIALES, RECURSOS TÉCNICOS Y METODOLOGÍA

Descripción y procedencia de las muestras analizadas

El material analizado se obtuvo durante los trabajos realizados por la empresa en el término municipal de Velilla de San Antonio. Entre el 24 de abril de 2024 (cuando se colocó la primera trampa) y el 26 de noviembre de 2024 (cuando se retiró la última). Se colocaron trampas en 29 puntos de muestreo diferentes (Figura 1). En cada sesión de muestreo, se dispuso una trampa de oviposición en cada uno de estos puntos. Se colocaron 432 trampas en total a lo largo de la estación, de las que 30 resultaron fallidas debido a contingencias diversas ocurridas durante el muestreo, quedando por tanto 402 trampas operativas (trampas colocadas y recogidas). Considerando las trampas operativas, el esfuerzo efectivo fue de 26,8 \pm 1,4 trampas por muestreo (media \pm sd). Las trampas se recogieron entre 10 y 70 días tras su colocación, en promedio a los 14,8 \pm 2,2 días (media \pm sd).

El 46,3 % de las trampas fueron recogidas transcurridos 14 días desde su colocación, tal y como establece el protocolo para trampas tratadas con larvicida (diflubenzuron 2% según ha comunicado la empresa que ha utilizado en sus muestreos). Aceptando un desvío de hasta dos días desde la duración del muestreo establecido por el protocolo (recogida entre 12 y 16 días), consideramos que el 91,5% de las trampas del estudio se ajustaron al protocolo establecido (Figura 1).

Se han recibido en las instalaciones del grupo de investigación los siguientes **materiales** para su análisis:

| Material | Unidades | Presentación |
|------------------------|----------|--|
| Trampas de oviposición | 402 | Tablillas repartidas en 15 lotes (media ± sd: 26,8 ± 1,4 |
| | | trampas cada lote). |

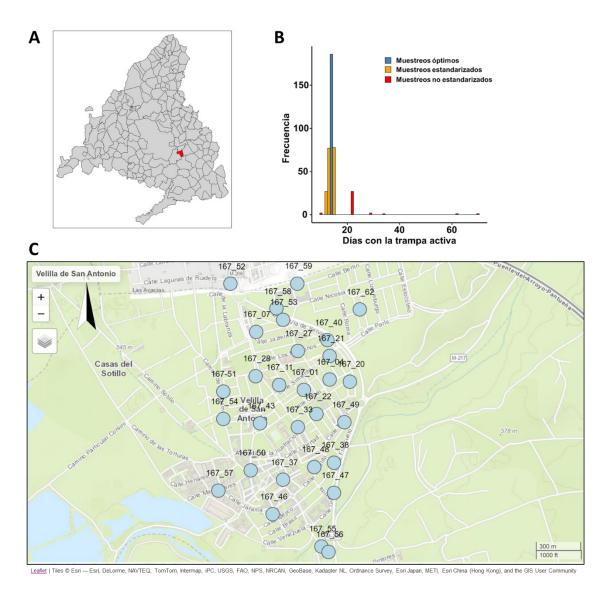


Figura 1. Ubicación del término municipal de Velilla de San Antonio (A) y distribución de los periodos de muestreo de las trampas operativas (B), en días transcurridos entre la colocación y la recogida de cada trampa (C), diferenciando diferentes niveles de estandarización del periodo de muestreo (óptimo: 14 días, estandarizado: dentro del rango aceptable de 12-16 días, no estandarizado: fuera del rango aceptable). El mapa (C) muestra la localización de los puntos de muestreo durante la temporada de 2024.

Estado de conservación de las muestras

Antes de los muestreos, la empresa recibió instrucciones para el **etiquetado y transporte** de las muestras hasta las instalaciones del equipo de investigación. Las muestras fueron transportadas por personal de la propia empresa a los laboratorios del equipo de investigación. En promedio, el tiempo transcurrido entre la retirada de las trampas y su llegada a la UCM fue de 2,6 \pm 2,9 días (rango 1 - 13 días). El 93,5% de las trampas se recibieron en la semana inmediatamente posterior a su recogida en el campo.

De las trampas recibidas, una (0,2%) mostró **defectos de trampeo** (la tablilla se encontró en el suelo), cuyos resultados son difíciles de interpretar. La identidad de las trampas pudo determinarse con fiabilidad en todos de los casos. **No se observaron incidencias** en el

etiquetado o el estado de conservación de ninguna de las muestras. Los problemas encontrados se concretan para cada caso en las tablas de resultados (Anexo I), que fueron enviadas a la empresa a los pocos días de recibirse el material en la UCM, a fin de que su personal contara con información actualizada sobre la evolución de la población sometida a seguimiento y recibiera indicaciones pertinentes sobre las posibilidades de mejora de la cadena de procesado de las muestras previo a su envío a la UCM.

Las tablillas fueron enviadas a la UCM en bolsas individuales con cierre hermético. Las trampas recibidas contenían **tablillas de Tablex** de 100 x 20 x 3 mm aproximadamente (Figura 2), ajustándose a las utilizadas en el Sistema de Vigilancia de Vectores de la Comunidad de Madrid (Melero-Alcíbar et al., 2017).



Figura 2. Modelos de tablilla recibidos para su análisis, todas de Tablex.

Metodología de análisis

El análisis en la UCM consiste en el **estudio entomológico de las muestras recibidas** (tablillas de oviposición recogidas en las ovitrampas y los muestreos larvarios). Todo el material es analizado por personal con más de cinco años de experiencia en las técnicas de análisis utilizadas.

Las tablillas de oviposición recibidas son inspeccionadas exhaustivamente a 20 aumentos, utilizando un microscopio estereoscópico equipado con cámara. En las tablillas se determina la **presencia o ausencia** de huevos de mosquito tigre, que son identificados atendiendo a su morfología, tamaño y ornamentación (Suman et al., 2011), comprobándose, en caso necesario, la **identidad específica** de los huevos encontrados mediante su eclosión en condiciones controladas y el estudio entomológico de las larvas de cuarto estadio (Alarcón-Elbal et al., 2010; European Centre for Disease Prevention and Control, 2012; Rossi & Almirón, 2004). Se cuantifica el **número de huevos presentes en la tablilla en cuatro categorías** coherentes con la presencia de una o varias puestas en la tablilla: ningún huevo (0), pocos huevos (1 – 10 huevos), número moderado de huevos (11 – 30 huevos) o muchos huevos (más de 30 huevos). También se inspecciona exhaustivamente el recipiente en que se recibe cada tablilla, sumándose los huevos detectados allí al total detectado en la tablilla.

Medios materiales

El equipo investigador ha contado para estos trabajos con los laboratorios dotados por el Grupo de Investigación de Biología Evolutiva y de la Conservación en la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Complutense de Madrid. Estos incluyen espacios específicamente equipados para la realización de análisis parasitológicos y de taxonomía, así como para la implementación de técnicas de biología molecular. En conjunto, estas instalaciones proporcionan todos los medios necesarios para la identificación morfológica y genética de animales siguiendo criterios científicos actualizados. Entre los medios disponibles destacan los siguientes:

Laboratorio de microscopía. Incluye equipamiento adquirido específicamente para realizar estudios taxonómicos, y en particular para el análisis entomológico de artrópodos vectores. Entre su instrumental destacan por sus especificaciones técnicas los siguientes equipos:

- Microscopio estereoscópico OLYMPUS modelo SZX16 equipado con cámara digital OLYMPUS CAM-SC30 color profesional para microscopía de luz transmitida y fluorescencia rutinaria.
- Microscopio estereoscópico MOTIC SMZ-171-TLED, equipado con cámara digital MOTICAM S6 y juego de polarización.
- Microscopio LEICA DM 2500/BF, equipado con cámara digital LEICA DFC295 con software para análisis de imágenes y accesorios para microscopía de contraste de interferencia diferencial.

Colecciones de referencia. El equipo de investigación dispone de la Colección de Entomología UCME (https://www.ucm.es/cultura/coleccion-de-entomologia-ucme), dirigida por uno de sus miembros (el Profesor Francisco José Cabrero Sañudo). Esta Colección está registrada con las siglas UCME en la base de datos mundial de colecciones entomológicas "The Insect and Spider Collections of the World" con sede en el Bishop Museum de Hawái, EEUU. Con más de cuatro millones de especímenes, incluidos los ejemplares tipo sobre los que han sido descritas nuevas especies de diferentes grupos de artrópodos, representa un recurso científico de enorme valor. En relación con los objetivos de este contrato, la Colección dispone de una de las colecciones de dípteros más completas de la península Ibérica, con ejemplares de las especies de culícidos más representativas de la Comunidad de Madrid, y decenas de miles de ejemplares de dípteros procesados durante el desarrollo de los trabajos del Sistema de Vigilancia de Vectores de la Comunidad de Madrid. También contiene una nutrida representación de otros grupos de fauna tóxica o con incidencia en salud pública. En conjunto, este recurso garantiza el acceso inmediato a abundante material de comparación para la identificación de especímenes.

Laboratorio de Biología Molecular de Poblaciones y Ecología Molecular. El equipo dispone del instrumental y la experiencia requeridos para la identificación de especímenes animales mediante técnicas moleculares. Los laboratorios equipados por el Grupo de Investigación cuentan con todo el equipamiento necesario para llevar a cabo el diagnóstico molecular de las muestras recibidas, así como el aislamiento y análisis de los ácidos nucleicos de parásitos y virus precedentes de los propios vectores y de los reservorios silvestres y domésticos de estos agentes patógenos.

Laboratorio de modelización ecológica. Equipado con ordenadores y software para el desarrollo de tareas de elevada demanda computacional, como el análisis de datos genómicos o la elaboración de modelos de estructura de poblaciones, distribución de especies con Sistemas de Información Geográfica (GIS), etc., aplicables al análisis de los riesgos de expansión de vectores invasores o de emergencia de enfermedades transmitidas por vectores.

Laboratorio de comportamiento animal. El equipo dispone de instalaciones para el estudio del comportamiento de animales silvestres retenidos temporalmente, incluyendo diferentes especies de artrópodos. Incluye el Centro Interuniversitario para el Estudio de la Fauna Autóctona (gestionado por el grupo de Biología Evolutiva y de la Conservación), aviarios fijos y transportables, terrarios, incubadoras, etc.

4. RESULTADOS

De las 402 trampas operativas recibidas, 56 (13,9 %) arrojaron resultado positivo para mosquito tigre, localizándose dichos resultados en 18 de los puntos muestreados (62,1 % de los puntos; Figura 3). El primer muestreo, con fecha de recogida el 8 de mayo de 2024, no arrojó ningún resultado positivo. El primer positivo se obtuvo en el tercer muestreo, recogido el 5 de junio.

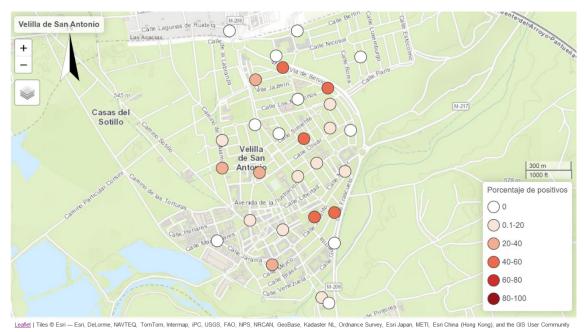


Figura 3. Distribución de los puntos con resultado positivo para mosquito tigre en el término municipal de Velilla de San Antonio durante la temporada de 2024. Los colores indican el porcentaje de ocasiones en que cada punto arrojó un resultado positivo.

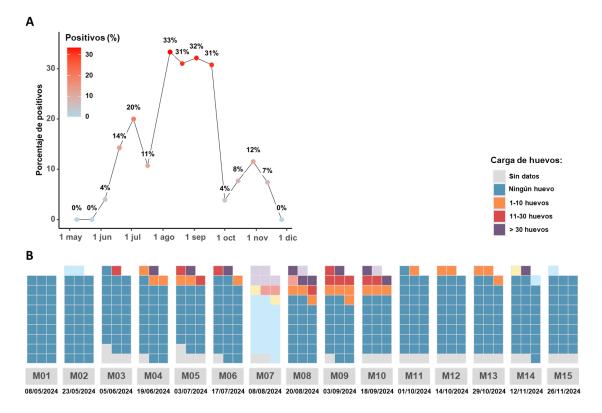


Figura 4. Resultado del seguimiento de la población de mosquito tigre en Velilla de San Antonio durante la temporada de muestreo de 2024. A. Evolución del porcentaje de positividad de las trampas operativas en las fechas en que estas fueron recogidas. B. Distribución de los resultados del análisis de las trampas colocadas en cada muestreo (sin datos si no resultan operativas). La carga de huevos se representa con distintos colores de acuerdo con la leyenda (los casos con tonos pálidos del mismo color representan resultados poco fiables debido a incidencias ocurridas durante el muestreo).

El **porcentaje de positividad** varía a lo largo de la estación, con valores máximos en agosto (33% de trampas positivas el 8 de agosto). A partir de octubre, se observa una reducción de la frecuencia de positivos, siendo todas las trampas negativas en el último muestreo, recogido el 26 de noviembre de 2024 (Figura 4).

5. DISCUSIÓN

El muestreo realizado en Velilla de San Antonio demuestra la presencia de una población de mosquito tigre asentada en esta localidad. La distribución de los resultados positivos es heterogénea, con un 38% de los puntos con resultado negativo durante toda la temporada de muestreo. Se observa variación estacional de la abundancia de mosquito tigre en la localidad, medida mediante el porcentaje de positividad y la carga de huevos en las trampas.

Los muestreos se han desarrollado, en general, conforme al protocolo recomendado y sin incidencias destacables. Existió variación en los tiempos en que las trampas estuvieron activas en el campo, lo cual pudo introducir algún sesgo, incrementando la probabilidad de presencia o la carga de huevos en las trampas que estuvieron activas durante más tiempo. Con los datos disponibles no es posible determinar con fiabilidad la importancia de estos posibles sesgos.

Implicaciones de los resultados obtenidos

La frecuencia y distribución de los resultados positivos, y la abundancia de huevos en las ovitrampas, son compatibles con los siguientes escenarios de riesgo, que **recomiendan reforzar la vigilancia entomológica**:

- Escenario 3 del ECDC: Especie invasora de mosquito ampliamente establecida y con riesgo de expandirse hacia nuevas áreas, según sus Directrices para la Vigilancia de Mosquitos Invasores en Europa (European Centre for Disease Prevention and Control, 2012).
- Escenario 2 del Ministerio de Sanidad: Aedes albopictus establecido, según el Plan Nacional de Prevención, Vigilancia y Control de las Enfermedades Transmitidas por Vectores (Ministerio de Sanidad, 2023).

Propuestas de mejora

Se proponen las siguientes **posibilidades de mejora del protocolo**:

- Para garantizar la reproducibilidad del muestreo y hacer los resultados más fácilmente interpretables en el marco de la vigilancia y control del mosquito tigre en la Comunidad de Madrid, se recomienda recoger las trampas transcurridos exactamente 14 días desde su colocación.
- En los casos en que se encuentren problemas para recoger las trampas (por ejemplo, cuando estas se ubican dentro de viviendas), se recomienda pseudorreplicar el muestreo del mismo punto colocando una segunda trampa en la ubicación adecuada más cercana disponible.

6. CONCLUSIONES

- 1. Los análisis se han desarrollado sin incidencias destacables, por lo que los resultados se consideran **fiables**.
- 2. Se confirma la presencia de una población de mosquito tigre **establecida** en el término municipal de Velilla de San Antonio.
- 3. Las características del muestreo (material utilizado, protocolo de muestreo, transporte y conservación de las trampas) se consideran **adecuadas**, pudiéndose asimilar a las del Sistema de Vigilancia de Vectores de la Comunidad de Madrid.

7. TRANSFERENCIA DE RESULTADOS

A medida que los materiales han sido analizados tras cada muestreo, los resultados han sido comunicados tanto a la empresa como a la Consejería de Sanidad de la Comunidad de Madrid, como agente interesado en el seguimiento de las poblaciones de vectores con interés en Salud Pública.

8. REFERENCIAS

- Alarcón-Elbal, P. M., Delacour Estrella, S., Pinal Prieto, R., Ruiz-Arrondo, I., Muñoz, A., Bengoa, M., Eritja Mathieu, R., & Lucientes, J. (2010). Establecimiento y mantenimiento de una colonia autóctona española de *Aedes (Stegomyia) albopictus* Skuse, 1894, (Diptera, Culicidae) en laboratorio. *Revista Ibero-latinoamericana de parasitología*, 69(2), 140-148.
- European Centre for Disease Prevention and Control. (2012). Guidelines for the surveillance of invasive mosquitoes in Europe. Publications Office. https://data.europa.eu/doi/10.2900/61134
- Melero-Alcíbar, R., Tello, A., Marino, E., & Vázquez, M. Á. (2017). *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera, Culicidae) primera cita para la Comunidad de Madrid, España. *Boletín de la Asociación Española de Entomología*, 41, 515-519.
- Ministerio de Sanidad. (2023). Plan Nacional de Prevención, Vigilancia y Control de las enfermedades transmitidas por vectores. Parte I. Enfermedades transmitidas por Aedes. Parte II: Enfermedades transmitidas por Culex. Ministerio de Sanidad.
- Rossi, G. C., & Almirón, W. R. (2004). Clave ilustrada para la identificación de larvas de mosquitos de interés sanitario encontradas en criaderos artificiales de la Argentina. Estudio Gestalt. https://bicyt.conicet.gov.ar/fichas/produccion/en/292569
- Suman, D. S., Shrivastava, A. R., Pant, S. C., & Parashar, B. D. (2011). Differentiation of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) with egg surface morphology and morphometrics using scanning electron microscopy. *Arthropod Structure & Development*, *40*(5), 479-483. https://doi.org/10.1016/j.asd.2011.04.003

9. ANEXOS

Anexo I. Tabla de resultados completa en formato MS-Excel.

10. DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD TÉCNICA

El presente informe ha sido elaborado por el equipo técnico dirigido por el Profesor Javier Pérez Tris en el marco del contrato de referencia firmado por la UCM y la empresa para el análisis de muestras proporcionadas por esta última, formado por las siguientes personas:

- Raúl Bonal Andrés
- Francisco J. Cabrero Sañudo
- Laura Esther Gangoso de la Colina
- José Francisco Gómez Sánchez
- Ana Tello Fierro
- Javier Pérez Tris

Los resultados se han obtenido siguiendo los protocolos técnicos, normativos y metodológicos previamente acordados entre ambas partes.

El equipo técnico asume la responsabilidad de la correcta ejecución de los análisis y comunicación precisa de los resultados obtenidos, tanto a la empresa como a la Consejería de Sanidad de la Comunidad de Madrid, quedando exento de responsabilidad en la aplicación final de dichos resultados en decisiones de vigilancia, control o cualquier otro ámbito.

El responsable técnico:

Javier Pérez Tris
Catedrático de Universidad
Director del Grupo de Investigación UCM 910577 Biología Evolutiva y de la Conservación
Departamento de Biodiversidad, Ecología y Evolución
Universidad Complutense de Madrid