



Plan de erradicación del gusano canino, *Dirofilaria immitis* en las Islas Galápagos

Carla Andreea CULDA,
Diego Rodolfo PÁEZ-ROSAS
Luis Renato LEÓN VILLALBA
Andrei Daniel MIHALCA
Rommel Lenin VINUEZA

Versión original en Inglés

Traducción: Elisa Hofstede

Diciembre 2023

CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN.....	3
2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	9
3. ESTRATEGIA DE VIGILANCIA DEL GUSANO DEL CORAZÓN Y SUS VECTORES	10
3.1. Vigilancia en perros	10
3.1.1. Vigilancia activa de los perros residentes	10
3.1.2. Vigilancia activa de los perros importados	11
3.1.3. Vigilancia para evaluar la eficacia del tratamiento	11
3.1.4. Identificación de los perros	11
3.1.5. Vigilancia pasiva en perros	11
3.2. Vigilancia en gatos	12
3.2.1. Vigilancia activa de los gatos	12
3.2.2. Vigilancia para evaluar la eficacia del tratamiento	13
3.2.3. Identificación de los gatos	13
3.2.4. Vigilancia pasiva en gatos	13
3.3. Aplicación de la vigilancia	13
3.3.1. Enfoque casa por casa	14
3.3.2. Colaboración con clínicas (veterinarios locales y voluntarios) y campañas de castración de perros	14
3.4. Almacenamiento de los resultados.....	14
3.5. Vigilancia de mosquitos	15
3.5.1. Vigilancia activa de los mosquitos	15
3.5.1.1. Vigilancia de los huevos y de los estadios inmaduros de los mosquitos	16
3.5.1.2. Vigilancia de mosquitos adultos	16
3.6. Vigilancia de lobos marinos y focas	17
4. TRATAMIENTO DE PERROS Y GATOS INFECTADOS	18
4.1. Tratamiento adulticida en perros infectados	18
4.1.1. Tratamiento a base de melarsomina	18
4.1.2. Terapia alternativa: protocolo de muerte lenta o muerte suave	20
4.2. Tratamiento en gatos infectados	20
4.3. Tratamiento microfilaricida en perros infectados	21
5. PREVENCIÓN Y CONTROL	21
5.1. Quimioprevención del gusano del corazón con lactonas macrocíclicas.....	22
5.2. Prevención de picaduras de mosquitos en perros: repelentes y prevención de picaduras mediante prácticas de manejo	23
5.3. Control ambiental de vectores	24
5.3.1. Control de los criaderos	24
5.3.2. Larvicidas	25
5.3.3. Adulticidas	25
5.3.4. Métodos de control biológico	26
6. CONCIENCIACIÓN.....	26
7. DIRECCIÓN FUTURA DE LA INVESTIGACIÓN.....	27
REFERENCIAS	35

1. INTRODUCCIÓN

Las Islas Galápagos son un archipiélago volcánico ubicado en el Océano Pacífico, a unos 1000 km de la costa de Ecuador. El archipiélago consta de 128 islas y está catalogado como parque nacional desde 1959, con el objetivo principal de conservar su fauna, flora y paisaje únicos, tanto en hábitats terrestres como marinos (Jackson, 1993). Actualmente hay cuatro islas habitadas (Isabela, Floreana, Santa Cruz, San Cristóbal) con una población total de 33.042 habitantes (2020) (Carrick, 2022; www.worldwildlife.org). Las fuentes de ingresos más importantes para los residentes son el turismo, la pesca y la agricultura (Jackson, 1993).

El archipiélago fue descubierto en 1535 por Fray Tomás de Berlanga, obispo de Panamá. En 1832 llegaron a Floreana los primeros colonos liderados por el general José Villamil (www.geo.cornell.edu). Junto con los primeros colonos, también se introdujeron perros en las islas (Tabla 1). Los informes históricos indican que muchos perros domésticos escaparon y se volvieron salvajes. Además, la mayoría de los perros domésticos que tenían dueños andaban sueltos (Barnett y Rudd, 1983; Barnett, 1985; Barnett, 1986; Jackson, 1993).

Tabla 1. Presunto año de introducción de perros domésticos en Galápagos (según Barnett, 1985)

Año	Isla	Tipo de perro ¹
1832	Floreana	Con dueño, ferales
1835	Isabela	callejeros, ferales, con dueño
1842	San Cristóbal	con dueño, ferales
Principios del siglo XX	Santa Cruz	ferales, con dueño

¹ con dueño = perros completamente dependientes de los humanos; ferales = perros que no requieren contacto humano, que son completamente salvajes; callejeros= los perros no están permanentemente restringidos o bajo control humano, pero dependen de los humanos (Hughes y Macdonald, 2013; Lessa et al., 2016, Warembourg et al., 2021).

El impacto negativo de los perros callejeros y ferales en la conservación de la vida silvestre es bien conocido. Los efectos incluyen depredación, competencia, reservorio de enfermedades (transmisión de patógenos) e hibridación (Hughes y Macdonald, 2013; Lessa et al., 2016). Estos efectos se amplifican en islas remotas debido a la vulnerabilidad de las especies endémicas a la depredación causada por la falta de mecanismos de defensa (no hubo coevolución con los depredadores naturales), así como a una menor inmunidad innata debido a una diversidad genética reducida y una menor exposición a los parásitos (Barnett 1986; Gompper, 2014).

La transmisión de enfermedades de los perros domésticos a la vida silvestre se ha documentado en todo el mundo, y la mayoría de los riesgos están asociados con el contagio de

patógenos principalmente a otros carnívoros. Solo dos especies de carnívoros silvestres están presentes de forma natural en Galápagos: el lobo fino de Galápagos, *Arctophoca galapagoensis* (GFS), y el lobo marino de Galápagos (GSL), *Zalophus wolfebaeki*, ambos catalogados como en peligro de extinción por la UICN. Esta última especie es el mamífero marino más abundante en el Archipiélago. Con frecuencia se observa a los GSL durmiendo, jugando en las playas o nadando cerca de la orilla, donde pueden estar en contacto con los mosquitos. Debido a que pasan mucho tiempo en las playas de las áreas urbanizadas de Galápagos, también entran en contacto cercano con perros domésticos (Barnett 1986; Dailey, 2005; Leidenberger et al., 2007; Jung et al., 2019). Como consecuencia, entre las amenazas potencialmente importantes para GSL se encuentran los patógenos reservorios de perros domésticos como *Dirofilaria immitis*, *Leishmania donovani*, bacterias transmitidas por pulgas y garrapatas y otros patógenos asociados a los caninos (Trillmich, 2015; Denkinger et al., 2017; Páez-Rosas y Guevara, 2017).

La colonia más grande de GSL reside en la Isla San Cristóbal donde la mayoría de los animales viven en las inmediaciones del área urbana de Puerto Baquerizo Moreno (Salazar, 2002; Denkinger et al., 2015; Riofrío-Lazo et al., 2017). Entre las enfermedades parasitarias demostradas en perros domésticos de Galápagos se encuentra el gusano del corazón canino, *Dirofilaria immitis* (Tabla 2). Además, también se han encontrado larvas del gusano del corazón en los mosquitos vectores (*Aedes taeniorhynchus* y *Culex quinquefasciatus*) (Barnett 1985; Santiago y Merkel, 2018).

Tabla 2. Distribución de *D. immitis* en el Archipiélago de Galápagos en perros domésticos

Islas	Prevalencia (%)	Método	Referencia
San Cristóbal	1.7	Prueba de Knott	Culda et al., 2022
	3.3	PCR	Culda et al., 2025
Floreana	77	Anticuerpo	Barnett, 1985
	87	Prueba de Knott	Barnett, 1985
	14.8	Necropsia	Barnett, 1985
	0	Prueba de Knott	Culda et al., 2025
	0	PCR	Culda et al., 2025
Santa Cruz	0	Antígeno	Díaz et al., 2016
	0	Antígeno	Adams et al., 2016
	6.9	Antígeno	Jiménez et al., 2020
	no proporcionado	PCR	Jiménez et al., 2020
	no proporcionado	Diff-Quik	Jiménez et al., 2020

	0	Prueba de Knott	Culda et al., 2025
	0	PCR	Culda et al., 2025
Isabela	Positivo	Necropsia ¹	Barnett y Rudd, 1985
	34	Antígeno	Levy et al., 2008
	1.9	Prueba de Knott	Culda et al., 2025
	2.4	PCR	Culda et al., 2025

¹ Perros ferales

El gusano del corazón canino, *Dirofilaria immitis* es un nematodo filario transmitido por mosquitos que infecta principalmente a perros domésticos, pero también a otros carnívoros silvestres y domésticos en todo el mundo (Ferasin y Knight, 2005; Furtado et al., 2010; Pachnicke et al., 2015). Un programa similar de eliminación de la enfermedad del gusano del corazón se implementó con éxito en la isla de Linosa, Italia (Brianti et al., 2023).

Se ha reconocido que *D. immitis* es capaz de infectar, inducir signos clínicos o incluso mortalidad en varias especies de pinnípedos, silvestres o en cautiverio, incluyendo recientemente el GSL (Tabla 3).

Tabla 3. Reportes de *Dirofilaria immitis* en pinnípedos

Anfitrión	País	Método diagnóstico	Estado	Referencia
Phocidae				
<i>Vitulina Phoca</i>	Corea del Sur	necropsia	en cautiverio	Kang et al., 2002
	Canadá	prueba de antígenos, qPCR, necropsia	en cautiverio	Alho et al., 2017
	Portugal	qPCR	en cautiverio	Alho et al., 2017
<i>Phoca largha</i>	Corea del Sur	necropsia, PCR	en cautiverio	Jung et al., 2019
<i>Halichoerus grypus</i>	Portugal	prueba de antígenos, prueba de Knott	en cautiverio	Alho et al., 2017
	Canadá	prueba de antígenos, prueba de Knott	en cautiverio	Alho et al., 2017
Otariidae				
<i>Zalophus californianus</i>	Estados Unidos	necropsia	en cautiverio	Blanco, 1975
	Japón	necropsia	en cautiverio	Sato et al., 2002
	Portugal	qPCR	en cautiverio	Alho et al., 2017
	España	-	en cautiverio	Alho et al., 2017
	Bélgica	qPCR	en cautiverio	Alho et al., 2017

	Estados Unidos	frotis	libre	Farriols et al., 2020
<i>Zalophus wolfebaeki</i>	Ecuador (Galápagos - Isla Floreana)	Prueba de Knott	libre	Barnett, 1985
	Ecuador (Galápagos - San Cristóbal)	necropsia, prueba de antígenos, PCR	libre	Gregory et al., 2023
<i>Arctocephalus pusillus pusillus</i>	Portugal	qPCR, necropsia	en cautiverio	Alho et al., 2017
	Reino Unido	Prueba de Knott, qPCR, necropsia	en cautiverio	Alho et al., 2017
	Suecia	prueba de antígenos, prueba de Knott	en cautiverio	Alho et al., 2017
	España	prueba de antígenos, prueba de Knott	en cautiverio	Alho et al., 2017

Para la implementación de un programa de control, la comprensión detallada del ciclo de vida local, así como la ecoepidemiología del parásito son esenciales. *D. immitis* requiere dos componentes clave para establecerse en un área: los hospederos de reservorio (en su mayoría perros domésticos) y los mosquitos vectores (Figura 1). Ambos están presentes en las Galápagos. *D. immitis* tiene un ciclo de vida relativamente largo. Los adultos viven en el corazón derecho y en las arterias pulmonares, donde se reproducen sexualmente. Las hembras liberan larvas L1 (microfilarias) en el torrente sanguíneo. Los perros domésticos y algunos cánidos silvestres pueden desarrollar microfilariemia alta y persistente, lo que les permite servir como reservorios primarios de infección para los mosquitos vectores. Los huéspedes domésticos menos adecuados, como los gatos, los hurones y otros carnívoros silvestres, pueden infectarse, pero la capacidad reproductiva de los adultos es limitada y no se asocia con microfilariemia o, si ésta está presente, los niveles son bajos y a corto plazo y no pueden mantener un foco endémico (Abraham, 1988; Simón et al., 2012; ~~Sociedad Americana del Gusano del Corazón, 2018~~). American Heartworm Society, 2018).

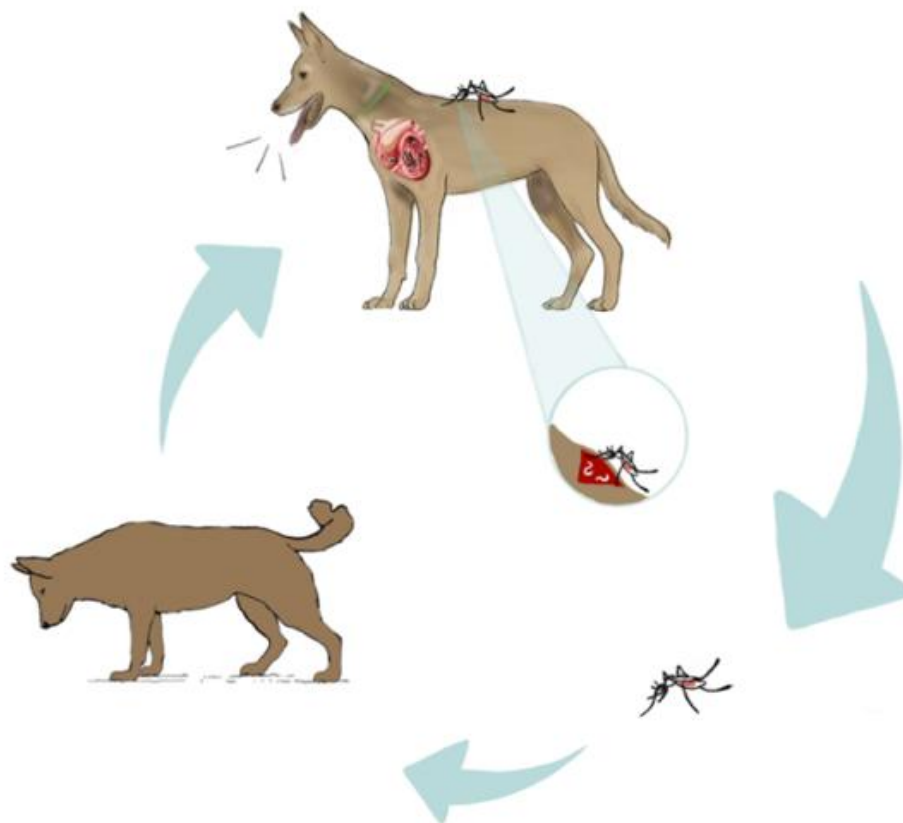


Figura 1. Ciclo de vida de *D. immitis*

Las microfilarias se transfieren a los mosquitos hembra (hospederos intermediarios) cuando se alimentan de huéspedes infectados. La mayoría de las especies permiten el desarrollo de L1 a L3 en los túbulos de Malpighi. Se ha demostrado que varias especies de mosquitos de diferentes géneros (por ejemplo, *Aedes* spp., *Culex* spp., *Anopheles* spp.) son vectores competentes para *D. immitis* (Abraham, 1988; Simón et al., 2012; Pachnicke et al., 2015; AHS, 2018).

Tres especies de mosquitos están presentes en Galápagos (Tabla 4, Figura 2), siendo todas vectores competentes para *D. immitis* (Barnett 1985; Hendrix et al., 1986; Bataille et al., 2009a; Bataille et al., 2009b; Jiménez et al., 2020; León et al., 2022).

Tabla 4. Especies de mosquitos en Galápagos

Año de la colonización	Especies de mosquitos	Estado	Anfitrión preferido	Referencia
Hace 200.000 años	<i>Aedes taeniorhynchus</i>	endémico	Reptiles, mamíferos y aves	Bataille et al., 2009a
				Bataille et al., 2010
				Bataille et al., 2009b

				Leon et al., 2022
				Sinclair, 2023
1990	<i>Aedes aegypti</i>	Especies invasoras	desconocido	Causton et al., 2006
				Asigau et al., 2017
				Asigau y Parker, 2018
				Leon et al., 2022
				Sinclair, 2023
1985	<i>Culex quinquefasciatus</i>	Especies invasoras	desconocido	Whiteman et al., 2005
				Eastwood et al., 2019
				Leon et al., 2022
				Sinclair, 2023

Cuando un mosquito pica a un huésped, el labio (labio inferior) se dobla hacia atrás y estimula la transferencia de las L3 (fase infecciosa) en el huésped definitivo. La temperatura ambiente y las condiciones climáticas determinan el tiempo requerido para desarrollar microfilarias hasta la etapa infecciosa dentro del mosquito (Abraham, 1988; Simón et al., 2012; Pachnicke et al., 2015). Al cabo de unos días, las L4 se desarrollan en el huésped definitivo y viajan entre las fibras musculares a medida que migran hacia la cavidad torácica y mudan a las etapas preadultas antes de llegar a las arterias pulmonares.

Se necesitan al menos seis meses después de la transmisión de *D. immitis* para alcanzar la madurez sexual en el huésped definitivo. Por lo tanto, las microfilarias liberadas en la sangre solo se pueden detectar generalmente entre 7 y 9 meses después de la infección. La mayor densidad de microfilarias en la sangre periférica exhibe una marcada variación diurna coevolutiva correlacionada con los momentos de máxima actividad de los mosquitos vectores. En otros momentos del día, las larvas se concentran en los capilares del parénquima de los órganos internos (Pachnicke et al., 2015).

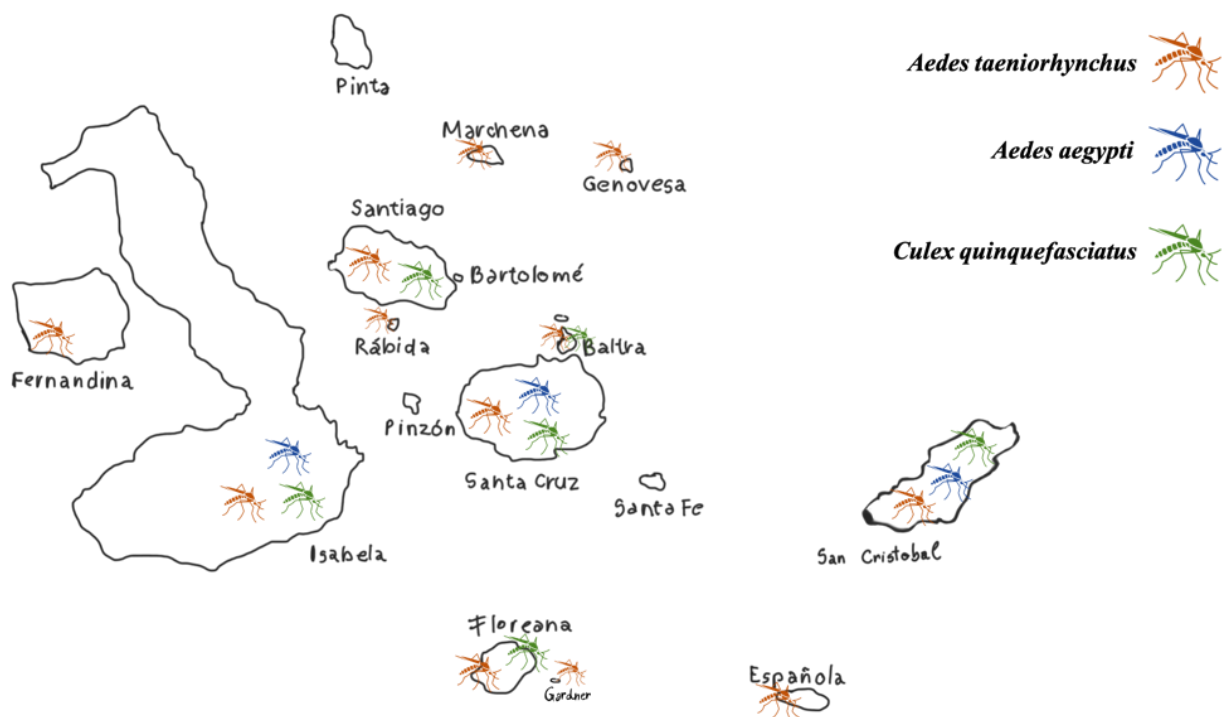


Figura 2. Distribución de las especies de mosquitos en Galápagos

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Como fue revisado por Lymbery et al. (2014), la mayoría de los parásitos exóticos tienden a infectar a los huéspedes endémicos y, debido a la falta de resistencia natural, a volverse más virulentos en estos. Por lo tanto, la interacción ecológica de GSL con tres especies exóticas (i) un parásito multihospedero, *D. immitis*, probablemente co-introducido en Galápagos con su huésped natural, el perro doméstico, (ii) los perros domésticos, y (iii) Un vector de mosquito adecuado (una o varias de las especies nativas o introducidas) y la coexistencia de un ciclo de transmisión funcional para *D. immitis* representan una posible amenaza para su adaptación.

El objetivo general de este documento es proporcionar una base profesional para la erradicación y el control del gusano del corazón invasor, *D. immitis* en Galápagos. Específicamente, el Plan de Erradicación (en adelante, el Plan) presentará:

- (i) estrategia de vigilancia del gusano del corazón y sus vectores;
- (ii) protocolo de tratamiento para carnívoros domésticos residentes infectados;

- (iii) protocolo de prevención para carnívoros domésticos;
- (iv) plan de manejo para el gusano del corazón en perros y gatos callejeros;
- (v) plan de formación y concienciación para propietarios, veterinarios, autoridades de salud pública y de fauna silvestre;

3. ESTRATEGIA DE VIGILANCIA DEL GUSANO DEL CORAZÓN Y SUS VECTORES

3.1. Vigilancia en perros

Para los fines de este Plan, se ha establecido un programa de vigilancia activa (Anexo 2), que tiene como objetivo la identificación sistemática de todos los perros infectados para su posterior tratamiento (ver secciones 4.1. y 4.3.). La vigilancia activa se puede aplicar a las siguientes categorías de perros:

- Perros residentes (con dueño, ferales, callejeros)
- Perros importados

3.1.1. Vigilancia activa de los perros residentes

Como primera fase para la implementación de este programa, todos los perros con una edad superior a 7 meses deben ser examinados para detectar la presencia de *D. immitis* mediante dos métodos de diagnóstico (véase el Anexo 1 para la metodología detallada): la prueba de Knott (para la detección directa de microfilarias) y una prueba rápida de antígeno del gusano del corazón. Todos los perros que den positivo en al menos uno de los dos métodos deben ser tratados (ver secciones 4.1. y 4.3.). En la segunda fase, todos los perros examinados en la primera fase, independientemente de los resultados, deben volver a ser examinados anualmente. Además, todos los perros recién nacidos con una edad superior a 7 meses deben ser examinados durante cada campaña de vigilancia.

3.1.2. Vigilancia activa de los perros importados

Aunque la importación de perros a Galápagos es actualmente ilegal, parece ser una práctica continua. Si se identifican estos perros, es importante que se incluyan en la vigilancia activa inmediatamente después de su importación/identificación.

3.1.3. Vigilancia para evaluar la eficacia del tratamiento

Cada perro que dio positivo en al menos uno de los dos métodos debe volver a realizarse la prueba después del tratamiento para evaluar la eficacia del mismo. El día 120 después del inicio del tratamiento (ver sección 4.1), los perros se volverán a someter a la prueba de Knott para detectar la presencia de microfilarias. Si el perro sigue dando positivo, se le tratará de nuevo con un fármaco microfilaricida (ver sección 4.3.) y se le volverá a realizar la prueba al cabo de cuatro semanas. En cuanto a la prueba de antígenos, se realizará a los 9 meses de la última inyección de melarsomina. Si sigue siendo positivo para el antígeno, el perro será tratado de nuevo con doxiciclina seguida de dos dosis de melarsomina con 24 horas de diferencia (ver sección 4.1.).

3.1.4. Identificación de los perros

Para que la vigilancia sea efectiva y sistemática, es obligatorio que cada perro tenga un microchip. Esto debe estar claramente regulado por la ley y la implementación debe ser reforzada por ABG a través de campañas de concienciación (véase la sección 6).

3.1.5. Vigilancia pasiva en perros

Asimismo, la vigilancia también debe realizarse de forma pasiva y todos los casos confirmados fuera de la vigilancia activa (es decir, clínicas veterinarias) deben notificarse a ABG. La vigilancia pasiva debería ser obligatoria según las normas veterinarias locales.

3.2. Vigilancia en gatos

Los gatos también pueden ser huéspedes adecuados para *D. immitis* (Traversa et al., 2010; Simón et al., 2012; Pennisi et al., 2020). Además, la presencia de gatos en Galápagos es un problema significativo porque la mayoría son callejeros y ferales (Ash 1962; MacLeod et al., 2020). Aunque los gatos pueden infectarse con *D. immitis*, la enfermedad tiene varias características particulares, en comparación con los perros: su diagnóstico es difícil, microfilaremia corta o ausente y resultados clínicos diferentes (American Heartworm Society, 2014). El gato representa uno de los huéspedes menos adecuados para los gusanos del corazón, y la mayoría de los gusanos en los gatos no alcanzan la etapa adulta. Incluso aunque los gatos rara vez albergan gusanos del corazón adultos, aún pueden servir como fuente de infección para los mosquitos durante los cortos períodos de microfilaremia (American Heartworm Society, 2018; Abraham, 1988; Simón et al., 2012). Por lo tanto, es importante incluir a los gatos en los programas de vigilancia.

La vigilancia activa se puede aplicar a las siguientes categorías de gatos:

- Gatos con dueño
- Gatos callejeros
- Gatos ferales

3.2.1. Vigilancia activa de los gatos

A todos los gatos mayores de 6 meses se les debe realizar una prueba de detección de *D. immitis* mediante dos métodos de diagnóstico: microfilaremia (prueba de Knott o filtro miliporo) y serología. Desafortunadamente, la infección por gusano del corazón en los gatos es más difícil de detectar que en los perros. Por lo tanto, es obligatorio incluir tanto las pruebas de detección de antígenos como las de anticuerpos (véase el Anexo 1 para la metodología detallada). En los gatos, el antígeno del gusano del corazón puede detectarse entre 5,5 y 8 meses después de la infección, mientras que los anticuerpos pueden detectarse desde los 2 meses posteriores a la infección. Además, independientemente de los resultados, todos los gatos examinados en la primera fase deben volver a ser examinados anualmente (American Heartworm Society, 2018).

3.2.2. Vigilancia para evaluar la eficacia del tratamiento

Es esencial monitorizar el estado de infección de todos los gatos infectados con una repetición de las pruebas serológicas de 6 a 12 meses después del tratamiento. Este proceso debería ser obligatorio para todos los tipos de estatus, con o sin síntomas clínicos, que reciben terapia adjuvante médica o quirúrgica.

El intervalo entre la repetición de la prueba debe ir seguido de las siguientes circunstancias clínicas:

- Gatos asintomáticos- se les debe volver a realizar pruebas anualmente.
- Gatos con antígenos positivos: se les volverá a realizar las pruebas dentro de 4 a 5 meses para detectar la desaparición de la antigenemia detectable.
- Gatos con antígenos negativos: volver a analizar los anticuerpos es opcional, porque los anticuerpos pueden persistir durante un período indefinido después de que los parásitos desaparezcan.

3.2.3. Identificación de los gatos

Como se ha mencionado anteriormente, es fundamental contar con un proceso de identificación de todos los gatos de las islas mediante un microchip implantado por vía subcutánea.

3.2.4. Vigilancia pasiva en gatos

También se debe realizar una vigilancia pasiva para todos los casos confirmados fuera de la vigilancia activa (es decir, clínicas veterinarias), y los informes deben ser enviados a la ABG. Se recomienda que la vigilancia pasiva sea obligatoria según las regulaciones veterinarias locales.

3.3. Aplicación de la vigilancia

Tomar muestras de los animales puede ser una tarea difícil. El éxito de una vigilancia activa y exhaustiva depende de varios factores, siendo el más importante el cumplimiento por parte de los propietarios y los recursos comprometidos por las autoridades locales. A continuación, brindamos información sobre nuestra experiencia durante una encuesta epidemiológica de

enfermedades caninas en Galápagos, implementada en 2021-2022, así como otros medios de implementación para la vigilancia.

3.3.1. Enfoque casa por casa

Durante la campaña de recogida de muestras de sangre canina puerta a puerta 2021-2022, se informó inicialmente a la población local sobre el objetivo del muestreo. Cada propietario recibió un folleto en español en el que se explicaba el impacto de *D. immitis* en la salud de sus perros y lobos marinos (cómo se transmite el parásito, cómo afecta a la salud de su perro y cómo este parásito puede transmitirse al lobo marino) y las medidas que están en sus manos para reducir y eventualmente eliminar la carga de la enfermedad. Para obtener resultados más precisos, la campaña se llevó a cabo tanto en la parte urbana como en la rural de cada isla habitada. Los resultados están publicados en Culda et al., 2022 y Culda et al., en prensa.

3.3.2. Colaboración con clínicas (veterinarios locales y voluntarios) y campañas de castración de perros

La recolección de sangre también se puede organizar colaborando con veterinarios locales (es decir, clínicas) o campañas de castración (organizadas por varias ONG o autoridades locales).

3.4. Almacenamiento de los resultados

Es esencial que todos los resultados se almacenen en una base de datos. Esta base de datos debe incluir los siguientes campos:

- Ubicación y propiedad (perros y gatos): identificación de la muestra; fecha de muestreo; domicilio/isla; datos de contacto del propietario.
- Información de muestreo: especie (perro/gato); nombre; número de chip; sexo; edad; raza; esterilizado; vivienda.
- Información diagnóstica: resultado de prueba de Knott (+/-); Resultado del antígeno (+/-)
- Información sobre el tratamiento: fecha, producto, dosis

- Información de repetición de la prueba: fecha, resultado de prueba de Knott (+/-); resultado del antígeno (+/-)

3.5. Vigilancia de mosquitos

La vigilancia ambiental incluye el monitoreo de las poblaciones locales de mosquitos y la presencia de *D. immitis* en los vectores. Se trata de una actividad complementaria de la vigilancia epidemiológica. La propagación del gusano del corazón canino está directamente relacionada con la presencia y abundancia de mosquitos, que son altamente estacionales. Los mosquitos hembra adultos se alimentan obligatoriamente de sangre, y los perros se encuentran entre los huéspedes susceptibles (Bataille et al., 2009).

3.5.1. Vigilancia activa de los mosquitos

Una de las cosas más importantes que se deben hacer al implementar la vigilancia entomológica es evaluar la presencia y abundancia de especies de mosquitos en áreas urbanas y rurales seleccionadas de las islas habitadas con el fin de identificar los hábitats potenciales para los mosquitos. Otro aspecto esencial es evaluar la estacionalidad y la variación en abundancia entre la estación cálida y húmeda (enero a junio) y la estación fría y seca (junio a diciembre).

Estos datos pueden ser utilizados para determinar la abundancia y distribución estacional de las tres especies (*Aedes taeniorhynchus*, *Aedes aegypti* y *Culex quinquefasciatus*) en el Archipiélago y aplicar programas de control. La vigilancia de mosquitos también es relevante para el control de otros patógenos transmitidos por mosquitos que se sabe que están presentes en Galápagos (es decir, el virus del dengue, el virus del chikungunya, el virus del Zika, el virus de la fiebre amarilla y, potencialmente, la malaria aviar o el virus del Nilo Occidental) (Asigau y Parker, 2018; León et al., 2022; Sinclair, 2023).

El monitoreo de mosquitos complementa el programa de vigilancia de la enfermedad del gusano del corazón con resultados rápidos y datos para la acción. La vigilancia de mosquitos a largo plazo proporciona datos esenciales para evaluar el riesgo y guiar las operaciones de su control. La eficacia de la vigilancia basada en mosquitos depende del tipo y la calidad de los datos recopilados (por ejemplo, cantidad y tipo de trampas, tiempo y frecuencia de la muestra, procesos

de prueba). Así, estos datos, correlacionados con las temporadas de transmisión, podrían indicar el riesgo de infección animal (www.cdc.gov).

3.5.1.1. Vigilancia de los huevos y de los estadios inmaduros de los mosquitos

La vigilancia de huevos y estadios inmaduros es útil para evaluar las poblaciones de mosquitos y para demostrar el establecimiento de una especie en un área. El primer paso es identificar los hábitats potenciales de desarrollo de mosquitos, es decir, alrededor de casas, cementerios, contenedores y áreas de lavandería u otros sitios que contienen agua. Uno de los métodos de vigilancia de huevos de mosquitos más utilizados y eficientes son las ovitrampas (Organización Mundial de la Salud 2016; Dacko et al., 2020; Asociación Americana de Control de Mosquitos, 2021), mientras que para la vigilancia de las larvas se utilizan los métodos de inmersión de larvas, redes de barrido y contenedores (O'Malley, 1989; Asociación Americana de Control de Mosquitos, 2021).

3.5.1.2. Vigilancia de mosquitos adultos

La vigilancia de mosquitos adultos es una herramienta para evaluar la dinámica poblacional y la distribución de especies de mosquitos adultos en diferentes áreas. Cada isla está compuesta por tres hábitats principales: la zona costera, la zona urbana y las tierras altas (Mena et al., 2020; Escobar-Camacho et al., 2021). En estos hábitats, tres especies de mosquitos están presentes en densidades variables. Después de unos 200,000 años desde su probable presencia en Galápagos, *A. taeniorhynchus* se considera una especie nativa, y algunos registros de recolección indican que tiene una gran área de dispersión (desde los hábitats costeros hasta las tierras altas). Las otras dos especies de mosquitos se consideran especies invasoras en el Archipiélago. Evidencias recientes indican que *C. quinquefasciatus* está presente desde las zonas costeras y urbanas hasta las tierras altas (Asigau et al., 2017). *A. aegypti* es un mosquito diurno que se alimenta durante el día y es común en zonas urbanas (Asigau y Parker, 2018; León et al., 2022; Sinclair, 2023). Dentro de cada hábitat principal, la identificación de posibles microhábitats para los mosquitos es el primer paso en el protocolo de captura. En general, las trampas son la herramienta principal utilizada para la vigilancia de mosquitos.

Se realizarán recogidas entomológicas en las inmediaciones de perros tanto del ámbito urbano como rural. Solo los mosquitos adultos serán atrapados usando trampas BG-Sentinel y trampas de luz en miniatura del CDC. Estas trampas tienen la capacidad de atrapar diferentes especies de mosquitos, y el uso simultáneo de dos tipos de trampas ayuda a obtener datos precisos sobre la distribución y la abundancia de mosquitos en un área.

Se instalarán tres trampas de cada tipo en sitios seleccionados en los microhábitats urbanos y rurales de las islas San Cristóbal, Isabela, Santa Cruz, Baltra y Floreana. También se tendrá en cuenta la ubicación de los casos positivos para el gusano del corazón. Todas las trampas permanecerán instaladas durante la duración de la vigilancia de muestreo (febrero – abril) y (junio – agosto) durante 2 noches por semana. Las trampas se colocarán cerca de una fuente de agua y/o vegetación y estas se activarán en la tarde (al anochecer) y a las 7:00 a.m. se recogerán los mosquitos de cada lugar.

El muestreo constante es fundamental para obtener datos que puedan compararse en el tiempo y el espacio una vez que se haya establecido un tipo de trampa y un sitio que haya demostrado ser exitoso. La recolección, el conteo y la identificación ayudarán a mejorar el conocimiento sobre la distribución real, la abundancia y la estacionalidad de los mosquitos adultos en toda la isla.

3.6. Vigilancia de lobos marinos y focas

Otro objetivo de los esfuerzos de vigilancia es incluir a los mamíferos carnívoros marinos silvestres (lobos marinos de Galápagos - GSL y lobo fino de Galápagos - GFS). En la primera fase, se monitorearán las colonias de GSL y GFS en las islas habitadas, y después de eso, se monitorearán todas las colonias de todo el Archipiélago. Tanto para GSL como para GFS recomendamos una vigilancia pasiva. Esto implica la necropsia obligatoria de todos los individuos encontrados muertos. El objetivo principal será verificar la presencia de *D. immitis* adulto o subadulto en las arterias pulmonares/aurícula derecha del corazón y la presencia de larvas circulantes (es decir, microfilarias) en los tejidos (sangre, bazo e hígado) mediante la detección de ADN de *D. immitis* (utilizando el mismo enfoque de PCR que para la sangre canina - Anexo 1).

4. TRATAMIENTO DE PERROS Y GATOS INFECTADOS

Todos los perros confirmados como infectados (por cualquiera de los dos métodos; véase el Capítulo 3) deben ser tratados, hacerles seguimiento y se debe confirmar cuando estén negativos. Si la infección persiste, se debe continuar con el esquema de tratamiento. Después del tratamiento y la confirmación de negatividad, todos los perros deben ser incluidos en el plan preventivo (ver Capítulo 5).

4.1. Tratamiento adulticida en perros infectados

Los objetivos del tratamiento adulticida son: (1) eliminar los gusanos adultos de las arterias pulmonares y del corazón derecho para mejorar la salud y el bienestar de los perros; (2) eliminar la fuente de microfilarias y, por lo tanto, el huésped como reservorio de infección para los mosquitos.

El tratamiento adulticida se puede abordar mediante varios protocolos, entre los más utilizados se encuentra el protocolo a base de melarsomina recomendado por la AHS. Sin embargo, dado que la melarsomina no está disponible en muchos países (incluido Ecuador/Galápagos), se podrían seguir enfoques alternativos, como el protocolo de muerte lenta (Dantas-Torres et al., 2023).

4.1.1. Tratamiento a base de melarsomina

El clorhidrato de melarsomina es un compuesto representativo que inactiva los sistemas enzimáticos de los parásitos, y parece ser el adulticida de primera línea para el gusano del corazón (Starkey y Blagburn, 2021; Dantas-Torres et al., 2023). Desafortunadamente, la disponibilidad de este medicamento se ha convertido en un verdadero problema para los perros infectados con *D. immitis*, tanto en algunos países tropicales como en países donde no está registrado. La disponibilidad limitada de melarsomina puede tener numerosas consecuencias en todo el mundo, especialmente en los trópicos. Existen varias razones para este problema, como la falta de interés de las empresas farmacéuticas, la falta de incentivos de mercado y los procesos complejos de registro en algunos países (Dantas-Torres et al., 2023).

Tabla 5. Protocolo contra el gusano del corazón recomendado por AHS

DÍA	PROTOCOLO DE TRATAMIENTO
Día 0	ESENCIAL: restricción del ejercicio (para minimizar las complicaciones cardiopulmonares) • Antes de administrar un adulticida, se recomienda la administración de glucocorticoides (Prednisona): ⇒ Primera semana: 0,5 mg/kg (dos veces al día) ⇒ Segunda semana: 0,5 mg/kg (una vez al día) ⇒ Tercera y Cuarta semana: 0,5 mg/kg (cada dos días) • Aplicar un producto tópico canino registrado por la EPA etiquetado para repeler y matar mosquitos (es decir, permetrina, deltametrina)
Día 1-28	Administrar lactona macrocíclica (ivermectina y moxidectina) + doxiciclina: ⇒ 4 semanas para cada compuesto: 10 mg/kg (dos veces al día) ⇒ Vía de administración: oral en forma de comprimidos/cápsulas
Día 30	Aplicar un producto tópico canino registrado por la EPA para repeler y matar mosquitos (es decir, permetrina, deltametrina)
Día 31-60	Un período de espera de un mes después de la administración de lactona macrocíclica y doxiciclina. Pasado este periodo de espera, se inicia el tratamiento con melarsomina
Día 61	Administrar la primera inyección de melarsomina → 2,5 mg/kg por vía intramuscular (en el vientre de la musculatura epaxial) La administración de un analgésico = tramadol o hidrocodona en el momento de la inyección, reduce el dolor muscular asociado a la melarsomina • Prednisona: ⇒ Primera semana: 0,5 mg/kg (dos veces al día) ⇒ Segunda semana: 0,5 mg/kg (una vez al día) ⇒ Tercera y Cuarta semana: 0,5 mg/kg (cada dos días) Disminuir aún más el nivel de actividad: restricción en jaula; uso de correa en el patio
Día 90	Administrar la segunda inyección de melarsomina, 2,5 mg/kg por vía intramuscular (es decir, permetrina, deltametrina)
Día 91	Con 24 horas de diferencia, administrar la tercera inyección de melarsomina, 2,5 mg/kg por vía intramuscular Continuar con la restricción del ejercicio durante 6 a 8 semanas después de las últimas inyecciones de melarsomina
Día 120	Tratamiento de Prevención • Tratamientos preventivos contra el gusano del corazón comercializados actualmente (ivermectina, milbemicina oxima, moxidectina y selamectina)

	○ Los cachorros de hasta 8 semanas de edad deben iniciar la prevención con una lactona macrocíclica (ivermectina o moxidectina) ○ En regiones endémicas, es útil aplicar un repelente de mosquitos / ectoparasiticida
--	--

4.1.2. Terapia alternativa: protocolo de muerte lenta o muerte suave

La administración de doxiciclina puede eliminar la bacteria endosimbionte *Wolbachia* que tiene un papel clave en la patogénesis del gusano del corazón. Por lo tanto, ayuda a reducir y matar el gusano del corazón adulto y, finalmente, a disminuir el riesgo de tromboembolismos pulmonares. Si se combina con la administración mensual de moxidectina, puede matar las microfilarias circulantes (Jacobson y DiGangi, 2021; Brianti et al., 2023; Dantas-Torres et al., 2023). El nivel de actividad del perro debe disminuirse tanto como sea posible durante el protocolo de muerte lenta, preferiblemente hasta que no se detecte ningún antígeno adulto. El protocolo de tratamiento se describe en la Tabla 6.

Tabla 6. Protocolo de muerte lenta o muerte suave (Jacobson y DiGangi, 2021; Brianti et al., 2023; Dantas-Torres et al., 2023)

Hora	PROTOCOLO DE TRATAMIENTO
Día 0-28	Administrar doxiciclina (minociclina) + moxidectina + imidacloprid - 4 semanas de doxiciclina: 10 mg/kg (oral, dos veces al día)
9 meses	- 30 días de moxidectina tópica (2,5 mg/kg) e imidacloprid (10 mg/kg) (una vez al día) - Administración: tópica

Por lo tanto, este protocolo podría ser una opción más segura y confiable para tratar las infecciones por gusano del corazón en perros, en comparación con otros tratamientos basados en lactonas macrocíclicas, especialmente cuando hay problemas de disponibilidad del fármaco o el tratamiento resulta costoso, etc. (Savadelis et al., 2017, Dantas-Torres et al., 2023).

4.2. Tratamiento en gatos infectados

La terapia adulticida (melarsomina) utilizada en perros no es segura ni eficaz para los gatos. Además, este tratamiento tiene un riesgo significativo de tromboembolismo pulmonar y una reacción anafiláctica que se produce cuando los gusanos mueren (American Heartworm Society,

2018; ESCCAP, 2019; Pennisi et al., 2020). La AHS indicó que la melarsomina es tóxica para los gatos, incluso en dosis bajas.

Un tratamiento exitoso para los gatos infectados es la prednisona en dosis decrecientes. Se recomienda comenzar con la primera dosis de 2 mg/kg de peso corporal/día, luego disminuir gradualmente a 0,5 mg/kg cada dos días durante 2 semanas, y luego suspender después de 2 semanas adicionales (American Heartworm Society, 2018; ESCCAP, 2019). En caso de que un gato presente signos clínicos graves, se recomiendan dosis altas de prednisolona oral (1-2 mg/kg de peso corporal, 3 veces al día) (ESCCAP, 2019).

Sin embargo, no se recomienda el tratamiento de los gatos infectados como parte del plan de erradicación, ya que no representan un reservorio importante de infección y su inclusión es un desafío (Brianti et al., 2023).

4.3. Tratamiento microfilaricida en perros infectados

Incluso en ausencia de adultos, después de la terapia adulticida las microfilarias pueden persistir en la sangre de los perros durante varios años (Simón et al., 2012; McCall et al., 2023). Por lo tanto, para eliminar las microfilarias, todos los perros deben ser monitoreados después del tratamiento adulticida para demostrar la ausencia de larvas. Si se encuentran larvas aún circulantes (mediante la prueba de Knott), se debe iniciar una terapia microfilaricida.

La terapia microfilaricida consiste en la administración de moxidectina y milbemicina oxima.

- La moxidectina (2,5 mg/kg) mata las microfilarias circulantes en perros dirofilariamente positivos. Este medicamento se absorbe rápidamente a través de la piel y entra en la circulación inmediatamente. Se acumula especialmente en el tejido lipídico y permanece biológicamente activo durante todo el mes (McCall et al., 2014; Bowman et al., 2015).
- La milbemicina oxima (5 mg/kg) tiene una acción microfilaricida y disminuye gradualmente el número de microfilarias en la sangre circulante. Este medicamento se puede usar una vez al mes durante al menos 6 meses después de la exposición a los mosquitos (www.dvm360.com, 2021).

5. PREVENCIÓN Y CONTROL

5.1. Quimioprevención del gusano del corazón con lactonas macrocíclicas

La prevención de la dirofilariasis en perros debe realizarse de forma rutinaria para reducir el riesgo de infección o reinfección. Las lactonas macrocíclicas (ML) (es decir, ivermectina, milbemicina oxima, moxidectina y selamectina) son los fármacos de elección y son muy eficaces para la quimioprevención de la dirofilariosis (Tablas 7 y 8).

Estos fármacos afectan a la tercera y cuarta etapa de las larvas de *D. immitis*. Además, su efecto filaricida en las larvas precardiáticas (migratorias) se puede lograr de dos maneras: pulsaciones en dosis muy bajas (p. ej., mensualmente) o liberando continuamente pequeñas cantidades durante períodos prolongados (p. ej., seis meses) (American Heartworm Society, 2018).

Todos los perros que resulten negativos para el gusano del corazón (en ambas pruebas, consulte el Capítulo 3) y aquellos que resulten negativos después del tratamiento deben incluirse en el esquema de prevención. La profilaxis contra el gusano del corazón debe administrarse durante todo el año para garantizar la máxima eficacia.

Tabla 7. Administración de lactonas macrocíclicas como prevención del gusano del corazón

Ruta		Intervalo de dosificación	Referencia
Oral	• La ivermectina y la milbemicina oxima están disponibles para administración oral mensual • Administración = Algunos medicamentos son saborizados y masticables • Las unidades de dosis están de acuerdo con los rangos de peso	30 días	American Heartworm Society, 2018
Tópico	• Administración = formulaciones líquidas aplicadas (moxidectina y selamectina)		
Inyectable	• Administración = una dosis única de la formulación de liberación lenta de microesferas lipídicas impregnadas de moxidectina inyectadas por vía subcutánea Brinda protección durante 6 o 12 meses en perros de 6 meses de edad en adelante.	6 o 12 meses	

En los gatos, las medidas preventivas contra las enfermedades del gusano del corazón son: ivermectina oral (24-71 µg/kg), selamectina tópica (6-12 mg/kg), milbemicina oxima oral (2-4 mg/kg) y moxidectina inyectable (1-2 mg/kg).

Tabla 8. Prevención de la dirofilariasis en perros

COMPUESTO	ORAL 	INYECTABLE 	TÓPICO 
Ivermectina	6-12 µg/kg		
Selamecina			6-12 mg/kg
Oxima de milbemicina	0,5-2,5 mg/kg		
Moxidectina	3-6 µg/kg	0,17 mg/kg	2,5-6,25 mg/kg

5.2. Prevención de picaduras de mosquitos en perros: repelentes y prevención de picaduras mediante prácticas de manejo

Las medidas de protección directa que se deben recomendar al dueño del perro incluyen el uso de repelentes y ectoparasiticidas.

Los repelentes tienen la función de inhibir la alimentación de sangre de los mosquitos vectores o de matarlos. Esto se asocia con la transmisión de microfilarias (L1) del perro ó L3 de los mosquitos. Se demostró que un repelente disminuye la probabilidad de que un perro no infectado se infecte o de que un perro con microfilariemia sirva como reservorio para infectar mosquitos (McCall et al., 2017a; American Heartworm Society, 2018).

Los siguientes tipos de productos han demostrado eficacia como **repelente** contra los mosquitos y ofrecen protección contra el gusano del corazón en los perros:

Spot-on: permetrina, espinosad

Collares: permetrina, flumetrina

Los ectoparasiticidas actúan matando a los mosquitos que han entrado en contacto con un animal potencialmente infeccioso o se han alimentado de él. Los mosquitos mueren dentro de los tres días posteriores a la exposición a perros infectados o tratados. Por lo tanto, son incapaces de transmitir los gusanos del corazón. Esta medida hace que el perro tratado deje de ser un reservorio. Además, como beneficio de esta acción, mata a las hembras de los mosquitos, evitando la puesta de huevos y reduciendo la población local de mosquitos (American Heartworm Society, 2018).

Se utilizan tres lactonas macrocíclicas: selamectina, eprinomectina y moxidectina.

5.3. Control ambiental de vectores

Con base en los datos de vigilancia entomológica, se deben desarrollar programas de control de mosquitos. Dichos métodos de control deben dirigirse a las larvas de mosquitos y a los adultos. Los métodos incluyen la eliminación de los hábitats larvarios, el uso de larvicidas y la aplicación de adulticidas (www.cdc.gov).

5.3.1. Control de los criaderos

Todas las especies de mosquitos de Galápagos necesitan agua estancada para completar su ciclo de vida. Por lo tanto, los criaderos deben eliminarse mediante una o más de las siguientes medidas (CDC, VDCI Manejo de mosquitos):

- Recipientes y áreas de lavandería que contengan agua: vaciar y almacenar en seco o cambiar el agua cada pocos días;
- bebedero para pájaros: cambiar el agua semanalmente;
- piscinas: mantenerlas con los productos químicos adecuados; cubrir o drenar si no está en uso;
- retirar las llantas viejas o perforar agujeros de drenaje en las llantas utilizadas para juegos infantiles;
- usar láminas de plástico o lonas utilizadas para cubrir los artículos del jardín: bien estirado para evitar la acumulación de agua;
- bordes poco profundos de los estanques: mantener despejados de plantas y malezas;
- zanjas y tuberías obstruidas: limpiar hierbas, la suciedad y los escombros para que el agua fluya libremente;
- canaletas de lluvia limpias para permitir que el agua fluya libremente;
- almacenar las piscinas infantiles de plástico en el interior o dadas la vuelta cuando no estén en uso;
- reciclar el plástico;

- agujeros de árboles y tocones huecos: llenar con arena o cemento;
- tuberías con fugas y grifos exteriores: reparación;
- mantener la propiedad limpia de vegetación y basura;
- pequeñas áreas de agua que no se pueden drenar: tratar con productos para el control de mosquitos que se venden en tiendas de jardinería.

5.3.2. Larvicidas

Los larvicidas son una clase de insecticidas que controlan eficazmente la propagación de mosquitos tanto en interiores como en exteriores. Este pesticida específico ataca y elimina las larvas y pupas de mosquitos, bloqueando su desarrollo en mosquitos adultos (CDC www.cdc.gov; VDCI Manejo de Mosquitos).

Existen varias presentaciones de larvicidas, como:

- Líquido
- Tabletas
- Pelotillas
- Gránulos
- Briquetas
- Trozos

Aplicar larvicidas en los lugares donde los mosquitos ponen huevos para reducir la población de éstos. Los mosquitos ponen sus huevos en contenedores, fuentes, barriles de lluvia, canaletas, piscinas sin cloro, llantas y agujeros de árboles que contienen agua estancada (CDC www.cdc.gov).

Los larvicidas deben utilizarse en aguas estancadas que: • no se utilicen para el consumo humano; • no se puedan cubrir, vaciar ni quitar (CDC www.cdc.gov).

5.3.3. Adulticidas

Un adulticida es una clase específica de pesticida que se utiliza para erradicar los mosquitos adultos. Estos insecticidas se utilizan en el exterior. Ciertos adulticidas tienen un efecto letal

instantáneo en los mosquitos adultos, mientras que otros tienen un impacto continuo, matando a los insectos durante períodos prolongados (CDC www.cdc.gov).

Los mosquitos suelen descansar al aire libre en áreas como plantas, entre vegetación densa o pastos altos, y también en la parte inferior de las hojas que se encuentran en árboles y arbustos. Además, pueden encontrar refugio debajo de los bordes salientes de las estructuras, como edificios, terrazas y porches, así como en lugares húmedos y sombreados (CDC www.cdc.gov).

5.3.4. Métodos de control biológico

Se han desarrollado técnicas innovadoras y ecológicamente sostenibles para controlar la propagación de mosquitos en este entorno. Las soluciones de biocontrol están dirigidas a diferentes especies de mosquitos. Así, el control biológico asociado con la biología molecular representa un método emergente para el control de mosquitos (CDC; VDCI Mosquito Management; Benelli et al., 2016; Kendie, 2020). Los métodos incluyen:

- Técnica del insecto estéril
- Mosquitos modificados genéticamente
- Mosquitos irradiados
- Mosquitos con *Wolbachia*
- Bacterias mosquitocidas (*Bacillus thuringiensis*, *Bacillus sphaericus*)
- Patógenos virales que causan enfermedades en los mosquitos (los baculovirus, los virus de la poliedrosis citoplasmática y los iridovirus)
- Hongos entomopatógenos (*Lagenidium*, *Coelomomyces* y *Culicinomyces* afectan comúnmente a los mosquitos vectores)

6. CONCIENCIACIÓN

Un aspecto crucial para la implementación de un programa de control exitoso, incluida su sostenibilidad a largo plazo, es la implementación conjunta de un buen programa de sensibilización, tanto entre las partes interesadas (es decir, autoridades, veterinarios, voluntarios, ONG) como entre la sociedad (es decir, dueños de perros y público en general). Dicho programa

debe desarrollarse en colaboración con los científicos sociales y debe estar diseñado específicamente para cada grupo objetivo.

En principio, un programa de sensibilización debe incluir los siguientes principios, objetivos y actividades: (1) educación de las partes interesadas y su formación continua (es decir, desarrollo de capacidades) mediante seminarios y talleres científicos; (2) presentación de los beneficios del programa de control a las autoridades locales; (3) educación de los propietarios para una tenencia responsable (es decir, materiales de comunicación, folletos, a través de los veterinarios locales). El éxito de los programas de conservación requiere el compromiso y la resiliencia local, ya que la tenencia responsable de mascotas es esencial para ayudar a mantener el delicado equilibrio de las islas, y las mascotas deben mantenerse con correa o en los hogares para evitar interacciones con la vida silvestre.

Además, se podrían organizar sesiones informativas en la Agencia de Bioseguridad de Galápagos (ABG) y el Parque Nacional Galápagos (PNB) para seleccionar voluntarios locales que participen en la implementación del plan de acción para el control y, eventualmente, la erradicación de *D. immitis* en el Archipiélago. Dichas campañas deben organizarse periódicamente para mantener la salud de los animales domésticos (perros, gatos) y la sensibilización de los propietarios sobre la enfermedad y sus riesgos para los animales salvajes y domésticos.

7. DIRECCIÓN FUTURA DE LA INVESTIGACIÓN

Estudios recientes sobre el gusano del corazón canino en Galápagos han concluido que la enfermedad está muy extendida en los perros domésticos (Culda et al., 2022; Culda et al., en Prep.), que la deambulación libre de los perros es un factor de riesgo (Culda et al., 2022) y que la infección está presente en los leones marinos (Gregory et al., 2023). Además, nuestros datos no publicados muestran que los mosquitos vectores también son comunes en hábitats cercanos a las colonias de lobos marinos.

Sin embargo, aún se desconocen muchos aspectos, como por ejemplo:

1. El papel de los gatos en el ciclo natural local de *D. immitis*;
2. la verdadera prevalencia de *D. immitis* en lobos marinos de Galápagos en diferentes colonias;
3. el posible papel de los lobos marinos de Galápagos como reservorios de *D. immitis*.

MÉTODOS DE LABORATORIO PARA EL DIAGNÓSTICO *DE LA DIROFILARIA* *IMMITIS*

1. Prueba de Knott modificada

- Guantes de protección
- Tubo de centrifuga de 15 ml
- Añadir **9 ml de formalina al 2%** (que se prepara diluyendo formaldehído 1:50 con agua destilada) a **1 ml de sangre anticoagulada**
- Colocar el pulgar protegido por el guante sobre la parte superior del tubo tapado e inviértalo varias veces para mezclar bien
- Centrifugar durante **5 minutos** a 1000 a **1500 rpm**
- Se debería poder visualizar un **tapón blanquecino** en la **parte inferior del tubo después de girarlo. Desechar el sobrenadante** en el contenedor de residuos peligrosos adecuado.
- Con una pipeta Pasteur de plástico de un solo uso, añadir una gota de **tinte azul de metileno**.
- **Utilizar** la misma **pipeta para mezclar** la mancha con el sedimento. Esperar 10 minutos.
- Añadir una gota de esta mezcla en el centro de una diapositiva. Colocar un cubreobjetos en la parte superior.
- **Examinar** en el microscopio con **un aumento de 10x/20x**.

La cabeza de la microfilaria es ligeramente cónica y la cola recta, larga y delgada (Figura A1, A2; Cuadro A1).

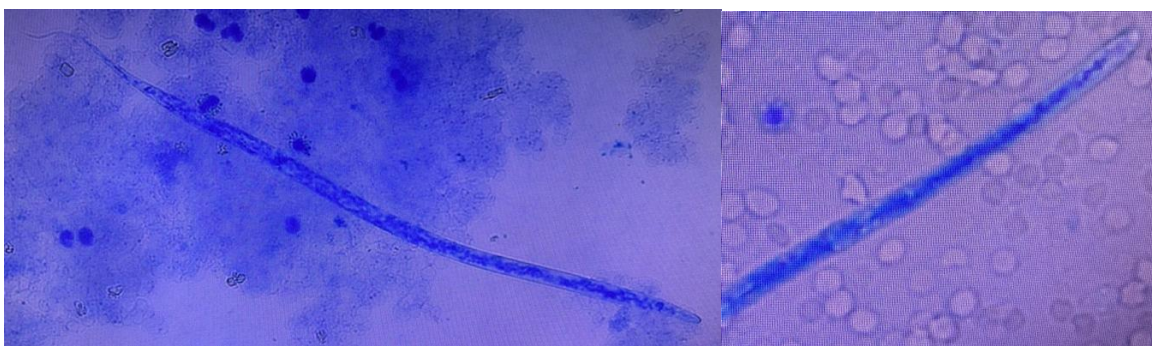


Figura A1. Microfilarias de *Dirofilaria immitis* (Extremo posterior (izquierda) – rectas y delgadas; Extremo anterior (derecho): ligeramente cónico, recto y delgado; los núcleos del extremo anterior están situados a una distancia de la cutícula)

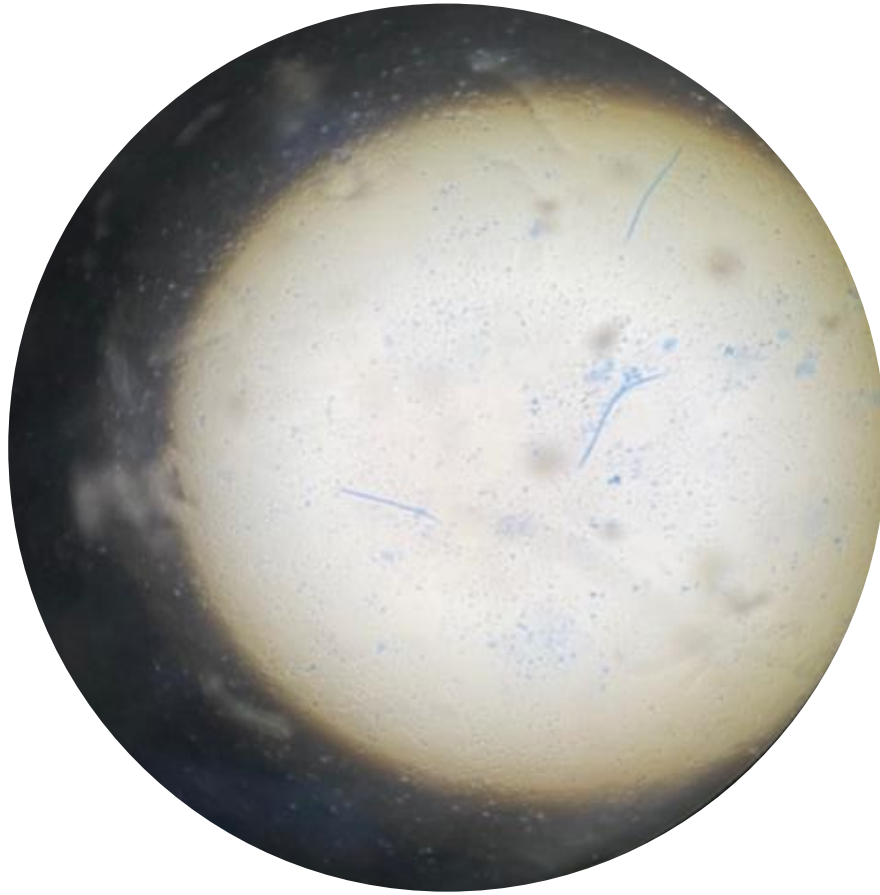


Figura A2. Microfilarias de *Dirofilaria immitis* al microscopio bajo 10x

Tabla A1. Características diferenciales de las microfilarias encontradas en muestras de sangre por el examen de Knott (Traversa et al., 2010)

Especie	Longitud (µm)	Ancho (µm)	Extremo posterior	Extremo anterior
<i>Dirofilaria immitis</i>	220-340	< 6	Recto y fino	Ligeramente cónico
<i>Dirofilaria repens</i>	325-380	> 6 (5-8)	Parecido a un paraguas	Desafilado

<i>Acanthocheilonema reconditum</i>	240-290	4.5-5.5	Con gancho de botón	Romo, con un gancho cefálico prominente
<i>Acanthocheilonema dracunculoides</i>	233-277	4.5-6	redondeado	Frecuentemente curvado

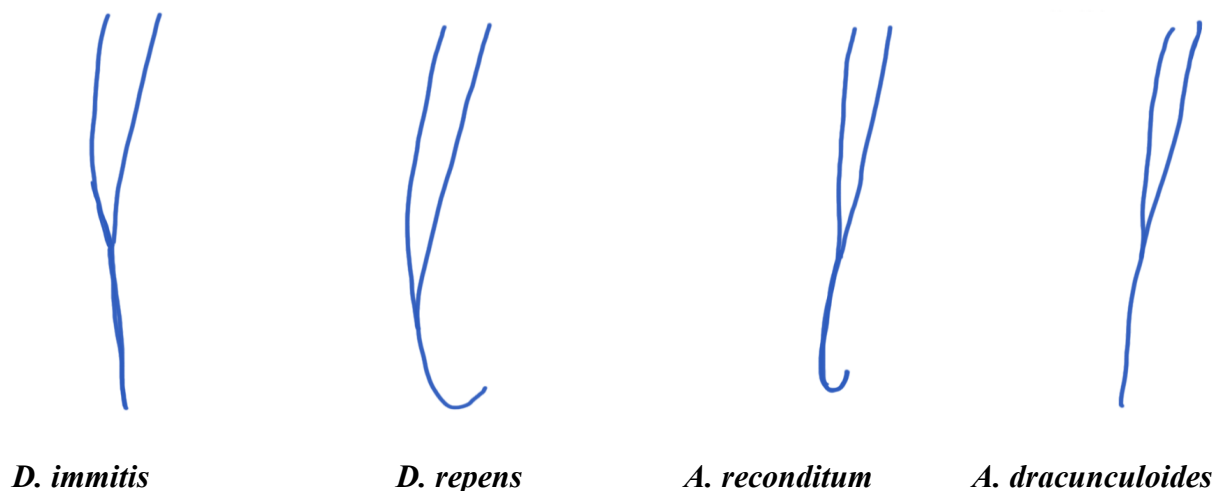


Figura A3. Características de la cola de las cuatro especies de microfilarias

2. Pruebas de antígenos (por AHS)

Las pruebas de antígeno del gusano del corazón están diseñadas para detectar proteínas secretadas por gusanos hembra adultos. La presencia de antígenos en la sangre puede permanecer indetectable hasta unos 9 meses después de la primera infección en los perros afectados. Hay una variedad de pruebas comercialmente disponibles para uso en la clínica. Estas pruebas de antígenos pueden detectar la mayoría de las infecciones "ocultas", que implican la presencia de gusanos adultos, pero no microfilarias circulantes. Por lo tanto, estas pruebas son muy específicas, con una tasa de precisión de casi el 100%.

Las pruebas de antígenos deben realizarse de acuerdo con las instrucciones del fabricante para el kit de prueba.

Los resultados pueden incluir resultados positivos, falsos positivos y falsos negativos. Si el resultado de una prueba es impreciso, es necesario repetir la prueba.

En algún momento, la prueba ELISA se ve limitada por varios factores:

- Relación con el número de gusanos del corazón hembra maduros

- Antigenemia asociada con la muerte reciente de gusanos
- Niveles bajos de antígeno debido a gusanos hembra adultos jóvenes, o solo a unas pocas hembras adultas

Se recomienda precalentar las muestras a una temperatura de 104 °C durante 10 minutos en las situaciones que se muestran en la Tabla A2.

Tabla A2. Situaciones en las que se precalientan las muestras antes de la prueba de antígenos

Tipo de paciente:	Razón
Los perros en zonas endémicas que no están en tratamiento preventivo, especialmente los perros jóvenes	Permite la detección de infecciones antes que el análisis de muestras no tratadas previamente
Perros con un historial inconsistente de uso preventivo	○ Las lactonas macrocíclicas administradas de forma intermitente pueden comenzar a matar a los gusanos adultos, lo que provoca inflamación y formación de complejos inmunológicos. ○ Las microfilarias también tienen menos probabilidades de detectarse en pacientes que han recibido tratamientos preventivos.
Perros infectados por el gusano del corazón tratados recientemente con adulticida o tratados solo con tratamiento preventivo y doxiciclina	La inflamación inducida por los gusanos muertos y moribundos puede conducir a la formación de un complejo inmunológico que enmascara el antígeno, evitando la detección en muestras no calentadas. El antígeno residual se puede detectar con y sin pretratamiento térmico de muestras en perros tratados recientemente por infección por dirofilaria
Perros con microfilarias detectadas pero que son antígenos negativos	Si las microfilarias son <i>D. immitis</i> , es probable que el pretratamiento térmico cambie el resultado a verdadero positivo.
Gatos en zonas endémicas no preventivas	El antígeno bloqueado es muy común en los gatos infectados, especialmente al principio de la infección, cuando la respuesta inmunitaria es más pronunciada.

3. Interpretación de los resultados combinados

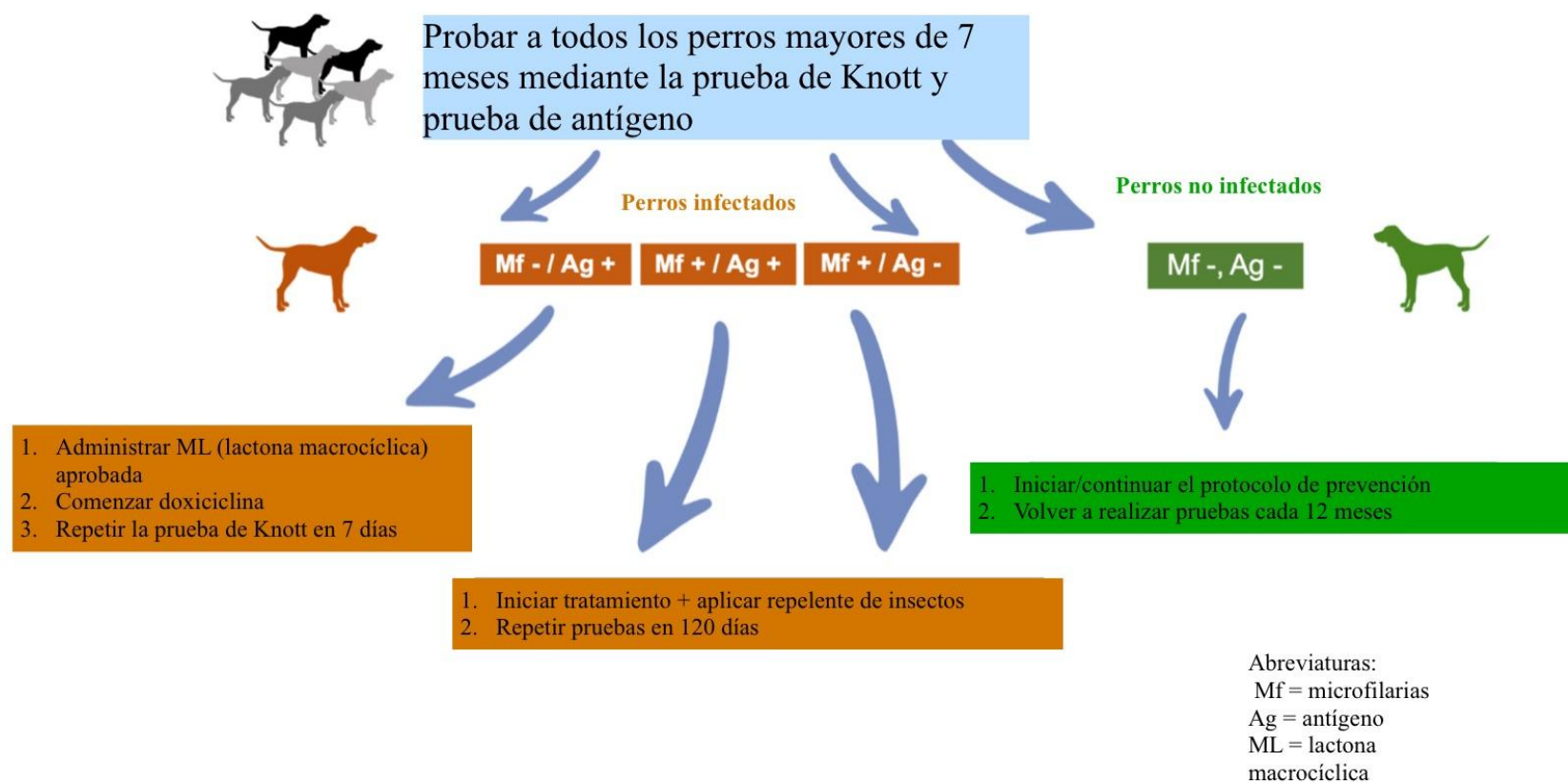
Los resultados de las dos pruebas pueden arrojar varias combinaciones (Tabla A3).

Tabla A3. Interpretación de los resultados

	Antígeno +	Antígeno-
Knott (+)	Dirofilariasis cardíaca Microfilarias presentes	Dirofilariasis cardíaca: Antígenos encerrados dentro de complejos inmunes (¡precalentamiento!), pocas hembras adultas!! Dirofilariasis cardíaca: Adultos ausentes (es decir, después de la terapia adulticida, ¿persistencia de antígenos?)
Knott (-)	Dirofilariasis cardíaca Microfilarias presentes	Solo machos y/o gusanos inmaduros (repetir después de 7 meses) Negativo

4. Métodos de diagnóstico basados en el ADN

El ADN se extraerá de toda la sangre utilizando un kit de extracción comercial. Existen varios protocolos de PCR (específicos o genéricos seguidos de secuenciación) (Casiraghi et al., 2001; Rishniw et al., 2006; Latrofa et al., 2012).



REFERENCIAS

- Abraham D.** 1988. Biology of *Dirofilaria immitis*. *Dirofilariasis*, 29, 46.
- Adams DJ, Rosenberg DE, Yirui H.** 2016. Prevalence of vector-borne diseases in a sample of client-owned dogs on Santa Cruz in the Galápagos Islands: A pilot study. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports* 6: 28–30.
- Alho AM, Marcelino I, Colella V, Flanagan C, Silva N, Correia JJ, Latrofa MS, Otranto D, Madeira de Carvalho L.** 2017. *Dirofilaria immitis* in pinnipeds and a new host record. *Parasites & Vectors* 10:142. American Heartworm Society, 2018.
- American Heartworm Society.** 2014. Current feline guidelines for the prevention, diagnosis, and management of heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection in cats.
- American Mosquito Control Association.** 2021. Best practices for integrated mosquito management. Sacramento, California, USA.
- Ash LR.** 1962. Helminth Parasites of Dogs and Cats in Hawaii. *J. Parasitol. Res.* 48, 63–65.
- Asigau S, Hartman DA, Higashiguchi JM, Parker PG.** 2017. The distribution of mosquitoes across an altitudinal gradient in the Galapagos Islands. *Journal of Vector Ecology* 42(2):243–253
- Asigau S, Parker PG.** 2018. The influence of ecological factors on mosquito abundance and occurrence in Galápagos. *Journal of Vector Ecology*, 43(1), 125-137.
- Asigau S, Parker PG.** 2018. The influence of ecological factors on mosquito abundance and occurrence in Galápagos. *Journal of Vector Ecology*, 43(1), 125-137.
- Atkins C.** 2002. Canine heartworm disease: Current treatment and prevention approaches. In *Proc Waltham/OSU Symp Small Anim Cardiol.*
- Barnett BD, Rudd RL.** 1983. Feral dogs of the Galapagos Islands: impact and control.
- Barnett BD.** 1985. Impact of domestic dog populations in the Galápagos: prevalence and transmission of canine heartworm. In: *Dogs of the Galápagos Islands: Evolution, Ecology, Impact and Control*. University of California, Davis Doctoral dissertation. (Retrieved from University Microfilms International Dissertation Abstracts database. Accession No. 852195).
- Barnett BD.** 1986. Eradication and control of feral and free-ranging dogs in the Galapagos Islands. In *Proceedings of the Vertebrate Pest Conference*, vol. 12, no. 12.
- Bataille A, Cunningham AA, Cedeno V, Cruz M, Eastwood G, Fonseca DM, Causton CE, Azuero R, Loayza J, Martinez JDC, Goodman SJ.** 2009a. Evidence for regular ongoing introductions of mosquito disease vectors into the Galápagos Islands. *Proceeding of the Royal Society of London B – Biological Sciences* 276:3769– 3775.
- Bataille A, Cunningham AA, Cedeno V, Patino L, Constantinou A, Kramer LD, Goodman SJ.** 2009b. Natural colonization and adaptation of a mosquito species in Galápagos and its implications for disease threats to endemic wildlife. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106:10230–10235.
- Bataille A, Cunningham AA, Cruz M, Cedeno V, Goodman SJ.** 2010. Seasonal effects and fine-scale population dynamics of *Aedes taeniorhynchus*, a major disease vector in the Galápagos Islands. *Molecular Ecology* 19:4491–4504.
- Benelli G, Jeffries CL, Walker T.** 2016. Biological control of mosquito vectors: past, present, and future. *Insects*, 7(4), 52.
- Bowman DD, Charles SD, Arther RG, Settje T.** 2015. Laboratory evaluation of the efficacy of 10 % imidacloprid + 2.5 % moxidectin topical solution (Advantage® Multi, Advocate®) for the treatment of *Dirofilaria immitis* circulating microfilariae in dogs. *Parasitol Res.* 114 (Suppl 1):S165-174.

- Brianti E, Napoli E, De Benedetto G, Venco L., Mendoza-Roldan JA, Basile A, Bezerra-Santos MA, Drake JD, Schaper R, Otranto, D.** 2023. Elimination of *Dirofilaria immitis* infection in dogs, Linosa island, Italy, 2020–2022. *Emerging Infectious Diseases*, 29(8), 1559.
- Capelli G, Frangipane di Regalbono A, Simonato G, Cassini R, Cazzin S, Cancrini G, Otranto D, Pietrobelli M.** 2013. Risk of canine and human exposure to *Dirofilaria immitis* infected mosquitoes in endemic areas of Italy. *Parasit Vectors* 7,6:60.
- Carrick O.J.** 2022. Entrepreneurial ecosystems as contested spaces: a case study from the Galapagos islands. *Journal of Entrepreneurship in Emerging Economies*, Vol. ahead-of-print No. ahead-of-print
- Casiraghi M, Anderson TJ, Bandi C, Bazzocchi C, Genchi C.** 2001. A phylogenetic analysis of filarial nematodes: comparison with the phylogeny of *Wolbachia* endosymbionts. *Parasitology* 122:93–103.
- Casiraghi M., Anderson T.J.C., Bandi C., Bazzocchi C., Genchi C.** 2001. A phylogenetic analysis of filarial nematodes: comparison with the phylogeny of *Wolbachia* endosymbionts. *Parasitology*., 122:93–103.
- Causton CE, Peck SB, Sinclair BJ, Roque-Albelo L, Hodgson CJ, Landry B.** 2006. Alien insects: threats and implications for conservation of Galápagos Islands. *Annals of the Entomological Society of America*, 99(1): 121-143.
- Culda CA, Dionnet R, Barbu AC, Cârstolovean AS, Dan T, Grijalva J, Espin P, Vinueza RL, Cruz M, Páez-Rosas D, Leon R, Mihalca AD.** 2022. The Presence of *Dirofilaria immitis* in Domestic Dogs on San Cristobal Island, Galapagos. *Pathogens*, 11(11), 1287.
- Dacko NM, Nava MR, Vitek C, Debboun M.** 2020. Mosquito surveillance. In *Mosquitoes, Communities, and Public Health in Texas* (pp. 221-247). Academic Press.
- Dailey MD.** 2005. *Parasites of Marine Mammals*.
- Denkinger J, Gordillo L, Montero-Serra I, Murillo JC, Guevara N, Hirschfeld M, Fietz K, Rubianes F, Dan M.** 2015. Urban life of Galapagos sea lions (*Zalophus wolfebaeki*) on San Cristobal Island, Ecuador: colony trends and threats. *Journal of Sea Research* 105:10–14.
- Denkinger J, Guevara N, Ayala S, Murillo JC, Hirschfeld M, Montero-Serra I, Fietz K, Goldstein T, Ackermann M, Barragán V, Cabrera F, Chavez C, Dubovi EJ, Martinez J, Trueba G.** 2017. Pup mortality and evidence for pathogen exposure in Galapagos sea lions (*Zalophus wolfebaeki*) on San Cristobal island, Galapagos, Ecuador. *Journal of Wildlife Diseases* 53(3):491-498.
- Diakou A, Soubasis N, Chochlios T, Oikonomidis IL, Tselekis D, Koutinas C, Karaiosif R, Psaralexi E, Tsouloufi TK, Kritsepi-Konstantinou M, Rallis T.** 2019. Canine and feline dirofilariosis in a highly enzootic area: first report of feline dirofilariosis in Greece. *Parasitology research*, 118, 677-682.
- Diaz NM, Mendez GS, Grijalva CJ, Walden HS, Cruz M, Aragon E, Hernandez JA.** 2016. Dog overpopulation and burden of exposure to canine distemper virus and other pathogens on Santa Cruz Island, Galapagos. *Preventive Veterinary Medicine* 123:128–137.
- Eastwood G, Cunningham AA, Kramer LD, Goodman SJ.** 2019. The vector ecology of introduced *Culex quinquefasciatus* populations, and implications for future risk of West Nile virus emergence in the Galápagos archipelago. *Med Vet Entomol* 33(1):44–55.
- Escobar-Camacho D, Rosero P, Castrejón M, Mena CF, Cuesta F.** 2021. Oceanic islands and climate: using a multi-criteria model of drivers of change to select key conservation areas in Galapagos. *Regional Environmental Change*, 21(2), 47.

European Scientific Counsel for Companion Animal Parasites (ESCCAP). 2019. Control of vector-borne diseases in dogs and cats.

Farriols M, Arellano-Carbajal F, Elorriaga-Verplancken FR, Adame-Fernández K, Garrido E, Álvarez- Martínez RC, Bárcenas RT, Flores-Morán AE, Acevedo-Whitehouse K. 2020. Filarial infections in California sea lions vary spatially within the Gulf of California, Mexico. *Parasitology Research*, 119:1281–1290.

Ferasin L, Knight D. 2005. Filarial infections. Shaw SE & Day MJ *Arthropodborne Infectious Diseases of the Dog and Cat*, 51-61.

Furtado AP, Melo FT, Giese EG dos Santos JN. 2010. Morphological redescription of *Dirofilaria immitis*. *Journal of Parasitology*, 96(3), 499-504.

Gingrich E, Scorza A, Clifford E, Olea-Popelka F, Lappin M. 2010. Intestinal parasites of dogs on the Galapagos Islands. *Vet. Parasitol.* 169, 404–407.

Gompper ME. 2014. Free-ranging dogs and wildlife conservation. Oxford University Press.

Gregory TM, Livingston I, Hawkins EC, Loyola A, Cave A, Vaden SL, Deresienski D, Breen M, Riofrío-Lazo M, Lewbart GA, Páez-Rosas D. 2023. *DIROFILARIA IMMITIS* IDENTIFIED IN GALAPAGOS SEA LIONS (*ZALOPHUS WOLLEBAEKI*): A WILDLIFE HEALTH AND CONSERVATION CONCERN. *Journal of Wildlife Diseases*.

Hendrix C, Brunner C, Bellamy L. 1986. Natural transmission of *Dirofilaria immitis* by *Aedes aegypti*. *Journal of the American Mosquito Control Association* 2:48–51.

https://www.heartwormsociety.org/images/pdf/2014_AHS_Feline_Guidelines.pdf

Hughes J, Macdonald DW. 2013. A review of the interactions between free-roaming domestic dogs and wildlife. *Biological Conservation* 157, 341-351.

Jackson MH. 1993. Galápagos: a natural history. University of Calgary press.

Jacobson LS, DiGangi BA. 2021. An accessible alternative to melarsomine: “moxi-doxy” for treatment of adult heartworm infection in dogs. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 702018.

Jimenez IA, Mariño PAV, Stapleton GS, Prieto JB, Bowman DD. 2020. Canine vector-borne disease in domestic dogs on Isla Santa Cruz, Galápagos. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2020.100373>

Jung JY, Kim HJ, Lee K, Choi JG, Kim YH, Lee KK, Kim Y, So BJ, Kang HE, Choi E J. 2019. Co-infection of *Dirofilaria immitis* and Japanese encephalitis virus in a spotted seal (*Phoca*

Kendie FA. 2020. Potential biological control agents against mosquito vector in the case of larvae stage: A review. *World News of Natural Sciences*, 28.

Latrofa M.S., Weigl S., Dantas-Torres F., Annoscia G., Traversa D., Brianti E., Otranto D. 2012. A multiplex PCR for the simultaneous detection of species of filarioids infesting dogs. *Acta tropica*, 122(1), 150-154.

Leidenberge S, Harding K, Härkönen T. 2007. Phocid seals, seal lice and heartworms: a terrestrial host-parasite system conveyed to the marine environment. *Dis. Aquat. Org.* 77, 235–253.

León R, Ortega-Lopez L, Molina C, William F. 2022. Mosquitoes of the Galapagos Islands: The Risk for Arboviruses Transmission and the Need for a Better Vector Surveillance and Control Program. In *Water, Food and Human Health in the Galapagos, Ecuador: "A Little World Within Itself"* (pp. 187-208). Cham: Springer International Publishing.

Lessa I, Guimarães TCS, de Godoy Bergallo H, Cunha A, Vieira, EM. 2016. Domestic dogs in protected areas: a threat to Brazilian mammals? *Natureza & Conservação*, 14(2), 46-56.

Lymbery AJ, Morine M, Kanani HG, Beatty SJ, Morgan DL. 2014. Co-invaders: The effects of alien parasites on native hosts. *International Journal for Parasitology. Parasites and Wildlife* 3:171–177.

MacLeod A, Cooke SC, Trillmich F. 2020. The spatial ecology of invasive feral cats *Felis catus* on San Cristóbal, Galápagos: first insights from GPS collars, *Mammal Research*, 65, 621–628.

Manfredi MT, Di Cerbo A, and Genchi M. 2007. Biology of filarial worms parasitizing dogs and cats, p39–47. In Genchi C, Rinaldi L, and Cringoli G (ed), *Dirofilaria immitis* and *D. repens* in dog and cat and human infections. *Mappe parassitologiche*, vol 8. Università degli Studi di Napoli Federico II, Naples, Italy.

McCall JW, Arther R, Davis W, Seetje T. 2014. Safety and efficacy of 10% imidacloprid+2.5% moxidectin for the treatment of *Dirofilaria immitis* circulating microfilaria in experimentally infected dogs. *Vet Parasitol.* 206 (1-2):86-92.

McCall JW, DiCosty U, Mansour A, Fricks C, McCall S, Dzimiński MT, Carson B. 2023. Inability of *Dirofilaria immitis* infective larvae from mosquitoes fed on blood from microfilaremic dogs during low-dose and short-treatment regimens of doxycycline and ivermectin to complete normal development in heartworm naïve dogs. *Parasites & Vectors*, 16(1), 1-7.

McCall JW, Genchi C, Kramer LH, Guerrero J, and Venco L. 2008. Heartworm disease in animals and humans. *Adv. Parasitol.* 66:193–285.

Medlock J, Balenghien T, Alten B, Versteirt V, Schaffner F. 2018. Field sampling methods for mosquitoes, sandflies, biting midges and ticks. VectorNet project 2014-2018. EFSA supporting publication 2018: EN- 1435. 47 pp. doi:10.2903/sp.efsa.2018.EN-1435.

Mena C, Quiroga D, Walsh SJ. 2020. 21. Threats to sustainability in the Galapagos Islands: a social–ecological perspective. *The Elgar companion to geography, transdisciplinarity and sustainability*, 342.

O'Malley C. 1989. Guidelines for larval surveillance. In *Proceedings of the Seventy-Sixth Annual Meeting of the New Jersey Mosquito Control Association, Inc* (pp. 44-55).

Pachnicke S, Stanneck D, Mencke N. 2015. *Helminths in veterinary practice*, Bayer Animal Health GmbH, Leverkusen.

Páez-Rosas D, Guevara N. 2017. Management strategies and conservation status in populations of Galapagos sea lion (*Zalophus wollebaeki*). In: *Tropical Pinnipeds, Bio-Ecology, Threats and Conservation*. CRC Press/ Taylor & Francis Group.

Pennisi MG, Tasker S, Hartmann K, Belák S, Addie D, Boucraut-Baralon C, Egberink H, Frymus T, Hofmann-Lehmann R, Hosie M, Lloret A, Marsilio F, Thiry E, Truyen U, Möstl K. 2020. Dirofilarioses in cats: European guidelines from the ABCD on prevention and management. *J. Feline Med. Surg.* 22, 442–451.

Pennisi MG, Tasker S, Hartmann K, Belák S, Addie D, Boucraut-Baralon C., Egberink H, Frymus T, Hofmann-Lehmann R, Hosie M, Lloret A, Marsilio F, Marsilio F, Truyen U, Möstl K. 2020. Dirofilarioses in cats: European guidelines from the ABCD on prevention and management. *Journal of feline medicine and surgery*, 22(5), 442-451.

Riofrío-Lazo M, Arreguín-Sánchez, Páez-Rosas D. 2017. Population abundance of the endangered Galapagos sea lion *Zalophus wollebaeki* in the Southeastern Galapagos Archipelago. *PlosOne*.

Rishniw M, Barr SC, Simpson KW, Frongillo MF, Franz M, Dominguez Alpizar JL. 2006. Discrimination between six species of canine microfilariae by a single polymerase chain reaction. *Veterinary Parasitology* 135:303– 314.

Ryan W, Newcomb K. 1995. Prevalence of feline heartworm disease-a global review. Proceedings of the heartworm symposium '95, Auburn, Alabama, USA, 31 March-2nd April, 1995. American Heartworm Society, p 79–86

Salazar S. 2002. Lobos marinos y peleteros. In: Danulat E, Edgar G, editors. Reserva marina de Galápagos. Línea base de la biodiversidad. Charles Darwin Foundation and Servicio Parque Nacional Galápagos, Puerto Ayora p. 260–283.

Santiago-Alarcon D, Merkel J. 2018. New host-parasite relationships by host-switching. In: Parker, P.G. (Ed.), Disease Ecology. Springer International Publishing, Cham, pp. 157–177.

Sato T, Higuchi T, Shibuya H, Ohba S, Nogami S, Shirai W, Watanabe H, Honda S. 2002. Lingual squamous cell carcinoma in a California sea lion (*Zalophus californianus*), Journal of Zoo and Wildlife Medicine 33:367– 70.

Savadelis MD, Ohmes CM, Hostetler JA, Settje TL, Zolynas R, Dzimianski MT, Moorhead A R. 2017. Assessment of parasitological findings in heartworm-infected beagles treated with Advantage Multi® for dogs (10% imidacloprid+ 2.5% moxidectin) and doxycycline. Parasites & vectors, 10(1), 1-7.

Simón F, Siles-Lucas M, Morchón R, González-Miguel J, Mellado I, Carretón E, Montoya-Alonso JA. 2012. Human and Animal Dirofilariasis: The Emergence of a Zoonotic Mosaic. Clinical Microbiology Review 25, 507–544.

Sinclair BJ. 2023. An annotated checklist of the Diptera of the Galápagos Archipelago (Ecuador). Zootaxa, 5283(1), 1-102.

Torres ML, Mena CF. 2018. Understanding Invasive Species in the Galapagos Islands; Springer: Cham, Switzerland.

Traversa D, Aste G, Milillo P, Capelli G, Pampurini F, Tunesi C, Santori D, Paoletti B, Boari A. 2010. Autochthonous foci of canine and feline infections by *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* in central Italy. Vet. Parasitol. 2010, 169, 128–132.

Trillmich F. 2015. *Zalophus wolfebaeki*. The IUCN Red List of Threatened Species 2015: e.T41668A45230540.<https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2015.2.RLTS.T41668A45230540.en>.

Warembourg C, Wera E, Odoch T, Bulu PM, Berger-González M, Alvarez D, Abakar MF, Sousa FM, Silva LC, Alobo G, Bal VD, López Hernandez AL, Madaye E, Meo MS, Naminou A, Roquel P, Hartnack S, Dürr S. 2021. Comparative study of free-roaming domestic dog management and roaming behavior across four countries: Chad, Guatemala, Indonesia, and Uganda. Frontiers in veterinary science, 96.

White GL. 1975. *Dirofilaria immitis* and heartworm disease in the California sea lion. Journal of Zoo Animal Medicine 6:23–24.

Whiteman NK, Whiteman NK, Goodman SJ, Sinclair BJ, Walsh T, Cunningham AA, Kramer LD, Parker PG. 2005. Establishment of the avian disease vector *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 (Diptera: Culicidae) on the Galápagos Islands, Ecuador. Ibis Br. Ornithol. Union 147:844–847.

World Health Organization. 2016. Entomological surveillance for *Aedes* spp. in the context of Zika virus: interim guidance for entomologists (No. WHO/ZIKV/VC/16.2). World Health Organization.

<https://www.worldwildlife.org/places/the-galapagos> as accessed on data 4.08.2023

<http://www.geo.cornell.edu/geology/GalapagosWWW/Discovery.html> on data 4.08.2023

<https://www.cdc.gov/mosquitoes/guidelines/west-nile/surveillance/environmental-surveillance.html> on data 31.07.2023

<https://www.vdci.net/blog/larval-mosquito-surveillance-and-control-methods/> on data 31.07.2023

<https://www.cdc.gov/mosquitoes/pdfs/larvicides-508.pdf> on data 11.09.2023

<https://www.dvm360.com/view/safety-and-efficacy-of-therapies-are-key-to-eliminating-microfilaria> on data 28.10.2023