

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



DETECCIÓN DE *Dirofilaria immitis* EN MOSQUITOS (DIPTERA: CULICIDAE)
EN EL ESTADO DE AGUASCALIENTES

Tesis

Que presenta GUADALUPE FLORES SALAS
como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

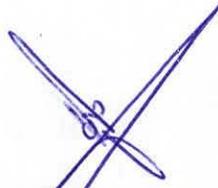
Torreón, Coahuila

Diciembre 2024

DETECCIÓN DE *Dirofilaria immitis* EN MOSQUITOS (DIPTERA: CULICIDAE)
EN EL ESTADO DE AGUASCALIENTES

Tesis

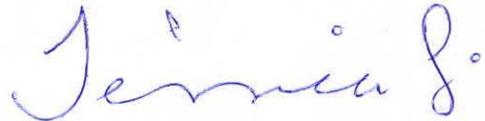
Elaborada por GUADALUPE FLORES SALAS como requisito parcial para
obtener el grado de Maestro en Ciencias en Producción Agropecuaria con la
supervisión y aprobación del Comité de Asesoría



Dr. Aldo Iván Ortega Morales
Director de Tesis



Dr. Francisco Javier Sánchez Ramos
Asesor



Dra. Jéssica María Flores Salas
Asesor



Dr. José Luis Reyes Carrillo
Asesor



Dra. Dalia Ivette Carrillo Moreno
Jefe del Departamento de Postgrado



Dr. Antonio Flores Naveda
Subdirector de Postgrado

AGRADECIMIENTOS

A mis asesores, el Dr. Aldo I. Ortega Morales, por aceptarme para trabajar juntos y auxiliarme con el material biológico; al Dr. José Luis Reyes Carrillo por sus consejos para la realización de este trabajo, por escucharme, motivarme y compartirme de su amplio y valioso conocimiento; y a la Dra. Jéssica María Flores Salas por sus ideas para realizar este proyecto, sus aportes relacionados al tema y su apoyo con el material necesario.

A mi Alma Mater, por recibirme nuevamente con los brazos abiertos, especialmente al programa de posgrado en Ciencias en Producción Agropecuaria por brindarme nuevas herramientas para continuar con mi crecimiento profesional.

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT), por el financiamiento brindado durante este tiempo para la realización de este proyecto y por fomentar la investigación científica en el país.

A mi compañera, Isis Janeth Morales Avitia por ayudarme en las colectas, enseñarme a usar los instrumentos necesarios y por su ayuda con el material biológico.

DEDICATORIAS

A Dios, por permitirme llegar a este momento importante y de superación en mi carrera profesional, por acompañarme en todo momento, por ser mi guía y darme la fortaleza necesaria para afrontar las adversidades.

A mis padres, Mario Flores Reyes y María Salas Nevarez por ser la base de la unión familiar, por su comprensión, cariño, tolerancia y apoyo que me brindaron en este tiempo.

A mis hermanos, Claudia Angélica, Ulises Omar, Jessica María y Emara Monserrat que son una inspiración para seguir adelante, agradezco sus consejos, su amor y su apoyo incondicional.

A Sarabi, mi compañera fiel, te desvelaste tantas noches conmigo cuando hacía trabajos, tú me animabas cada día y tu alegría al verme llegar después de un día agotador me llenaba de felicidad y motivación. No te tocó verme llegar a esta instancia, pero te quedaste en mi corazón para siempre.

A mis compañeros, Óscar Emmanuel Gómez García y Monserrat Pérez Esquivel, gracias por su increíble apoyo, confianza y motivación. Aprender cosas nuevas juntos fue una experiencia maravillosa; nada habría sido igual sin ustedes. Los quiero mucho.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIA	ii
ÍNDICE GENERAL	iii
LISTA DE CUADROS	iv
LISTA DE FIGURAS	v
RESUMEN Y ABSTRACT	vi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Mosquitos (Diptera: Culicidae)	3
2.1.1 Ciclo de vida	3
2.1.2 Transmisión de enfermedades	5
2.1.3 Elección de huésped	6
2.1.4 Control de mosquitos vectores	7
2.1.4.1 Métodos de control mecánicos	9
2.1.4.2 Métodos de control químico	9
2.1.4.3 Métodos de control biológico	9
2.1.4.3.1 Peces larvívoros	10
2.1.4.3.2 Mermítidos	10
2.1.4.3.3 Técnica de los insectos estériles	11
2.1.4.3.4 Técnica de gen letal dominante	11
2.2 Detección molecular de patógenos	12
2.3 <i>Dirofilaria immitis</i>	12
2.3.1 Antecedentes	12
2.3.2 Etiología	13
2.3.3 Ciclo de vida	14
2.3.4 Epidemiología	17
2.3.5 Reservorio	18
2.3.6 Factores de riesgo	19
2.3.7 Patogenia	20
2.3.7.1 Signos	21
2.3.7.2 Diagnóstico	21
2.3.7.3 Tratamiento	21
2.3.8 Prevención y control	22
2.3.9 Zoonosis	23
III. MATERIALES Y MÉTODOS	25
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
V. CONCLUSIONES	41
REFERENCIAS	42

LISTA DE CUADROS

		Pág.
Cuadro 1	Clasificación del nemátodo <i>Dirofilaria immitis</i>	13
Cuadro 2	Especies de mosquitos reportadas vectores de <i>Dirofilaria immitis</i>	15
Cuadro 3	Colectas de mosquitos A y B	37
Cuadro 4	Especies encontradas en ambas colectas señalando con asterisco (*) las especies que se conoce son vectores de <i>Dirofilaria immitis</i> .	37

LISTA DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1	Estadios del ciclo de vida del mosquito en su forma acuática y terrestre	4
Figura 2	Nemátodo macho de <i>Dirofilaria immitis</i>	14
Figura 3	<i>Dirofilaria immitis</i> en corazón canino	16
Figura 4	Ciclo de vida de <i>Dirofilaria immitis</i>	17
Figura 5	Señalización de los sitios de colecta en los municipios de Aguascalientes	26
Figura 6	Captura de mosquitos, colecta "A"	27
Figura 7	Aspirador entomológico	28
Figura 8	Aspirador mecánico y vial de recolección	28
Figura 9	Trampa Shannon	29
Figura 10	Cámara letal	30
Figura 11	Tanque conservador de nitrógeno líquido	31
Figura 12	Cedula de identificación del sitio de colecta	31
Figura 13	Sitio de captura de mosquitos, colecta "B"	32
Figura 14	Sitio de colecta de larvas, colecta "C"	33
Figura 15	Mesa de enfriamiento y clasificación de mosquitos	33
Figura 16	Hembras alimentadas	34
Figura 17	Larvas parasitadas	35
Figura 18	Nemátodo mermítido <i>Strelkovimermis spiculatus</i>	38

RESUMEN

Detección de *Dirofilaria immitis* en mosquitos (Diptera: Culicidae) en el estado de Aguascalientes.

Guadalupe Flores Salas

Para obtener el grado el grado de Maestro en Ciencias en Producción

Agropecuaria

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

Dr. Aldo Iván Ortega Morales

La *Dirofilaria immitis* (*D. immitis*) es un parásito nemátodo que causa la enfermedad de dirofilariasis canina conocida como “gusano del corazón”. Esta enfermedad requiere de un vector hematófago y un huésped definitivo, que vendría a ser el canino, para completar su ciclo de vida. Los mosquitos culícidos son los artrópodos que fungen como vectores de la enfermedad. Los nemátodos adultos residen en las arterias pulmonares y ventrículo derecho del hospedador causando daño cardiopulmonar. El conocimiento de los vectores de la dirofilariosis es crucial para establecer programas de control basados en mosquitos vectores. El objetivo de esta investigación fue determinar la presencia de *D. immitis* en mosquitos (Diptera: Culicidae) en especies reportadas como vectores. Se realizaron dos colectas de mosquitos adultos y una de larvas, se identificaron morfológicamente y se realizó detección molecular por PCR en búsqueda de parásitos. La *D. immitis* no fue detectada en los mosquitos adultos, sin embargo, las larvas se encontraron parasitadas por mermítidos pertenecientes a la especie *Strelkovimermis spiculatus* (Poinar y Camino, 1986). A pesar de no haber encontrado los nemátodos de *D. immitis* que se pretendían, la presencia del mermítido localizado de manera natural en el área del estudio es un hallazgo interesante que brinda un camino para abrir nuevas investigaciones.

Palabras clave: Vector, Gusano del corazón, PCR, Parásito

ABSTRACT

Detection of *Dirofilaria immitis* in mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the state of Aguascalientes.

Guadalupe Flores Salas

Para obtener el grado el grado de Maestro en Ciencias en Producción

Agropecuaria

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

Dr. Aldo Iván Ortega Morales

Dirofilaria immitis (*D. immitis*) is a nematode parasite that causes canine heartworm disease. This disease requires a hematophagous vector and a definitive host, which would be the canine, to complete its life cycle. Culicid mosquitoes are arthropods that act as vectors of the disease. Adult nematodes reside in the pulmonary arteries and right ventricle of the host, causing cardiopulmonary damage. Knowledge of the vectors of dirofilariasis is crucial to establish control programs based on vector mosquitoes. The objective of this research was to determine the presence of *D. immitis* in mosquitoes (Diptera: Culicidae) in species reported as vectors. Two collections of adult mosquitoes and one of larvae were made, they were identified morphologically and molecular detection was performed by PCR in search of parasites. *D. immitis* was not detected in adult mosquitoes, however, larvae were found parasitized by mermithids belonging to the species *Strelkovimermis spiculatus* (Poinar y Camino, 1986). Despite not having found the intended nematodes *D. immitis*, the presence of the mermithid naturally located in the study area is an interesting finding that provides a path to open new investigations.

Keywords: Vector, Heartworm, PCR, Parasite

I. INTRODUCCIÓN

La *Dirofilaria immitis* (*D. immitis*) es un parásito nemátodo filarioide causante de la enfermedad de dirofilariasis canina, ésta es una enfermedad progresiva, crónica y potencialmente mortal (Abdulkadir and Kebede, 2024, Noack *et al.*, 2021).

Este parásito requiere de un artrópodo, que vendría a ser un mosquito competente como vector, y de un huésped definitivo vertebrado, que sería el canino, para desarrollar su ciclo de vida (Scavo *et al.*, 2022).

Los mosquitos son insectos artrópodos dípteros de la familia Culicidae que incluyen a más de 3500 especies distribuidas a lo largo del mundo (Cantillo and Puerta, 2021, Kumar *et al.*, 2024), son capaces de albergar patógenos en su saliva y por lo tanto, ser vectores de diversas enfermedades (Soto and Delang, 2023). Se estima que 98 millones de caninos en Latinoamérica están expuestos a contraer dirofilariasis (MSD-Salud-Animal, 2023).

La prevalencia de *D. immitis* en caninos implica una situación de riesgo para los humanos, ya que el humano es un huésped accidental del nemátodo, por lo que debería de considerarse como un problema de salud pública (Abdulkadir and Kebede, 2024, Noack *et al.*, 2021, Ubleis *et al.*, 2018). La implementación de un sistema de control y monitoreo de vectores, es importante para reducir las poblaciones de mosquitos y disminuir la incidencia de enfermedades que afectan tanto a humanos como animales (Kojin *et al.*, 2022, Perveen *et al.*, 2023, Wooding *et al.*, 2020).

Concientizar a los médicos, veterinarios y propietarios de mascotas sobre las enfermedades transmitidas por mosquitos y contar con una rutina de insecticidas y repelentes apropiados para animales y humanos, es un complemento de utilidad para combatir la tasa de infección (Chable *et al.*, 2018, Ong *et al.*, 2022, Panarese *et al.*, 2023, Prichard, 2021).

La detección molecular llevada a cabo en artrópodos hematófagos para la búsqueda de patógenos es un método eficaz para reconocer y evaluar la

presencia de vectores en una zona determinada, así como para desarrollar medidas de control y reducir la prevalencia de una zoonosis emergente (Prasad *et al.*, 2019, Younes *et al.*, 2021).

El presente trabajo pretende comprobar que diferentes especies de mosquitos podrían haberse convertido en vectores de *D. immitis*. El objetivo de la investigación fue determinar la presencia de *D. immitis* en mosquitos (Diptera: Culicidae) en especies reportadas como vectores. Esta investigación se ve limitada por el número de muestras que se pudieron procesar para su análisis molecular. El alcance al que pretende llegar esta investigación es al de contribuir con la identificación de diversas especies de mosquitos vectores del estado de Aguascalientes y confirmar la presencia de *D. immitis* en la zona.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Mosquitos (Diptera: Culicidae)

Los mosquitos son insectos artrópodos dípteros de la familia Culicidae que incluyen a más de 3500 especies distribuidas a lo largo del mundo (Kumar *et al.*, 2024, Cantillo and Puerta, 2021).

Los mosquitos son capaces de albergar patógenos en su cuerpo, cabeza y saliva, no obstante, para que un mosquito sea considerado vector competente, es decir, que sea capaz de transmitir una enfermedad; es necesario que el patógeno sea detectable en la saliva del mosquito, y para determinar su capacidad vectorial, es necesario establecer estudios de una determinada especie de mosquito para evaluar las tasas de infección, diseminación y transmisión (Soto and Delang, 2023).

La capacidad vectorial hace referencia al número de picaduras de mosquitos potencialmente infecciosas que surgirán eventualmente en el lapso de un día (Flourizel *et al.*, 2024).

2.1.1 Ciclo de vida

El ciclo de vida del mosquito consta de cuatro estadios: huevo, larva, pupa y adulto, de los cuales, los primeros tres se presentan y desarrollan en el agua (Ortega-Morales, 2018). La hembra adulta busca lugares para ovoposición en diversos hábitats, los cuales incluyen huecos de árbol, contenedores artificiales, zanjas, agua clara, agua contaminada con desechos orgánicos, charcas, estanques, cultivos de riego, neumáticos, entre otros (Nebbak *et al.*, 2022, Hillary *et al.*, 2023, Agboli *et al.*, 2021).

Las hembras depositan hasta 300 huevos en la superficie del agua en forma de balsas, el desarrollo desde huevos hasta la eclosión y emergencia de adultos, lleva aproximadamente entre 9 a 20 días, pudiendo variar de acuerdo a la temperatura y la especie de mosquito, una temperatura ideal sería entre los 27 a 30 °C (Metzger *et al.*, 2021, Fuehrer *et al.*, 2021, Agboli *et al.*, 2021).

La primera etapa del ciclo de vida, el huevo, se desarrolla en la superficie del agua, algunos huevecillos de ciertas especies de mosquitos, pueden sobrevivir fuera del agua en una superficie húmeda, la eclosión ocurre cuando se completa el desarrollo embrionario en aproximadamente dos a seis días, dependiendo de la especie; durante la etapa de larva, ocurren cuatro estadios larvales, en donde la larva permanece suspendida en el agua y se alimenta de microorganismos y materia orgánica presentes en el agua, tiene una duración aproximada de siete días variando según la especie; después del cuarto estadio larval, se convierte en pupa, donde ocurre un mayor movimiento, ya no hay alimentación y dura en promedio dos a tres días de acuerdo a la especie; y finalmente emerge el adulto, el cual descansa en la superficie del agua hasta secarse y endurecerse antes de emprender su vuelo e ir en busca de alimento (Harwood and James, 1993, Gallichotte *et al.*, 2021).

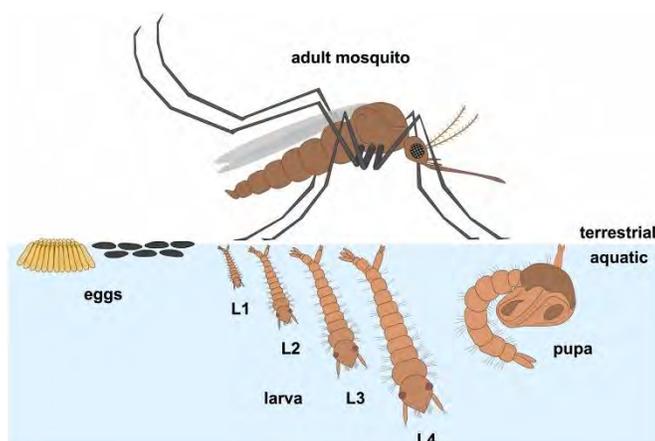


Figura 1. Estadios del ciclo de vida del mosquito en su forma acuática y terrestre (Gallichotte *et al.*, 2021).

La alimentación que ocurre en la fase larval y la temperatura ambiental, además de determinar la supervivencia larval y el tiempo de desarrollo, posteriormente, determinará la capacidad vectorial del mosquito adulto (Lago *et al.*, 2021).

Durante la vida del mosquito hembra, se repite el ciclo gonotrófico, relacionado con la alimentación sanguínea como reserva metabólica para el desarrollo ovárico y la oviposición, al digerir la sangre se recuperan los nutrientes necesarios y se excretan productos que son de desecho, para producir huevos

que resulten viables; este ciclo se ve afectado, de acuerdo a la precipitación o sitios disponibles para la puesta de huevos, lo que se refleja en un aumento en la tasa de alimentación de sangre (Thongsripong *et al.*, 2021, Soto and Delang, 2023, Nebbak *et al.*, 2022).

La hembra grávida que desea ovopositar utiliza señales químicas para detectar un sitio de ovoposición adecuado; las bacterias presentes en plantas, suelo, materia orgánica fermentada y en el agua son atractivos para que la hembra deposite los huevos (Mwingira *et al.*, 2020). Otro factor determinante para elegir un sitio donde depositar los huevos, es la especie de la hembra, pudiendo ser en un ambiente artificial o natural, permanente o temporal (Flourizel *et al.*, 2024). En algunas especies de mosquitos, los huevos son capaces de sobrevivir hasta dos años aunque no se encuentren en agua (Hillary *et al.*, 2023).

Los mosquitos, tanto hembras como machos, ingieren agua y se alimentan de azúcares vegetales presentes en frutas, flores y exudados vegetales de los cuales obtienen nutrientes, carbohidratos, lípidos y proteínas (Melgarejo-Colmenares *et al.*, 2022, Lahondèrea *et al.*, 2020, Gao *et al.*, 2023).

La vida media de los mosquitos machos es de una semana variando según la especie, mientras que las hembras pueden vivir de cuatro a cinco meses según su alimentación y especie, el rango de vuelo máximo en ambos es de 400 metros (Benítez, 2018, Harwood and James, 1993).

2.1.2 Transmisión de enfermedades

La transmisión de enfermedades zoonóticas como la dirofilariasis, y aquellas con relevancia para la salud pública como el dengue, malaria, Zika, fiebre amarilla o chikungunya, son provocadas por mosquitos que funcionan como vectores de dicha enfermedad, es por ello que la implementación de un sistema de control y monitoreo de vectores, es importante para reducir las poblaciones de mosquitos y disminuir la incidencia de enfermedades que afectan tanto a humanos como animales (Wooding *et al.*, 2020, Perveen *et al.*, 2023, Kojin *et al.*, 2022).

Existen factores ambientales relacionados con la distribución geográfica de los mosquitos, como lo son humedad, temperatura, radiación solar y precipitación, sin embargo, debido al calentamiento global, diferentes especies de mosquitos se han trasladado a nuevas zonas geográficas donde anteriormente no habitaban (Cantillo and Puerta, 2021).

Los mosquitos pueden ser trasladados de un lugar a otro por medio de transporte aéreo, terrestre o marítimo, y de esta manera diseminar brotes de enfermedades en lugares donde no se tenía el reporte antes, suponiendo el riesgo de provocar una epidemia (Thilakarathne *et al.*, 2023, Soto and Delang, 2023, Shi *et al.*, 2023).

El aumento de la población, la expansión de las ciudades, los programas ineficientes para el control de plagas y la resistencia que han desarrollado los mosquitos a lo largo de las generaciones, ha provocado una resistencia fenotípica y genética en los mosquitos, desencadenado brotes de enfermedades transmitidas por vectores en la actualidad (Karunaratne and Surendran, 2022, Soto and Delang, 2023)

Durante la picadura del mosquito ocurren ciertos mecanismos, que pueden estimular el desarrollo de una enfermedad causada por un patógeno del que el mosquito es vector; la picadura del artrópodo desencadena picazón y prurito en la zona, promoviendo un rascado por parte del animal o humano y de esta forma se activa una respuesta inflamatoria por parte del organismo, pudiendo diseminar con mayor rapidez el patógeno (Wang *et al.*, 2023).

2.1.3 Elección de huésped

Los mosquitos son guiados mediante sustancias químicas naturales (caimomas) detectadas con su sistema olfativo para detectar lugares de ovoposición, pareja, alimentos azucarados y huéspedes para alimentarse (Wooding *et al.*, 2020, Afify and Potter, 2020).

La elección de un huésped para alimentarse, depende de la calidad nutricional del hospedador, su olor, calor corporal, su microbiota cutánea, su comportamiento defensivo, la disponibilidad del mismo, los beneficios

nutricionales que pueda aportar al artrópodo o la disminución de las defensas del huésped (Swart *et al.*, 2023, Singh *et al.*, 2023, Shi *et al.*, 2023, Hillary *et al.*, 2023, Dormont *et al.*, 2021), en conjunto con el dióxido de carbono (CO₂) liberado por la piel o exhalado por la boca del huésped, el cual, proporciona información a los mosquitos sobre una posible fuente de alimentación, este CO₂ es detectable para los mosquitos a una distancia de 55 a 70 metros (Martinez *et al.*, 2021).

Existen especies de mosquitos que tienen preferencia por huéspedes seleccionados para alimentarse, mientras que otras especies solo presentan una alimentación generalizada y oportunista, en este sentido, es relevante las especies generalistas, ya que tienen una menor probabilidad de transmitir algún tipo de patógeno, siendo que no es frecuente que se alimenten de un mismo huésped de forma consecutiva (Melgarejo-Colmenares *et al.*, 2022).

Un mosquito puede hacer la transferencia de un agente infecciosos por vía salival al alimentarse de un huésped, y a su vez, un humano o animal infectado puede transferir un patógeno por vía sanguínea al ser la fuente de alimentación de un mosquito (Thongsripong *et al.*, 2021).

La saliva del mosquito ha desarrollado componentes que facilitan la alimentación de sangre, contrarrestando la hemostasia en el huésped, además, las hembras poseen proteínas en la saliva únicas que están relacionadas con la transmisión de patógenos (Wang *et al.*, 2023, Onyango *et al.*, 2020, López *et al.*, 2023).

La mayoría de los mosquitos prefieren picar entre el atardecer y el amanecer, por lo que en estas horas pico, se recomienda el uso de métodos adecuados para mantener a los mosquitos alejados y utilizar insecticidas y repelentes (Karunaratne and Surendran, 2022).

2.1.4 Control de mosquitos vectores

La concienciación en la población de las enfermedades transmitidas por mosquitos, tanto a humanos como animales, es el primer paso para brindarle la importancia necesaria a las medidas preventivas y el uso de métodos para el control de mosquitos vectores (Duval *et al.*, 2023).

Actualmente, no existe un tratamiento o vacuna útil para combatir los patógenos causantes de enfermedades en humanos y animales provocadas por mosquitos vectores; fuera de un bajo número de excepciones como la fiebre amarilla, para la cual existe una vacuna y la malaria, que tiene un tratamiento farmacológico; esto deja al control de vectores como la principal herramienta de prevención de enfermedades (Hongmei *et al.*, 2024).

Educar a la población sobre las enfermedades provocadas por la picadura de mosquitos, el uso de repelentes, insecticidas o terapias adecuadas para el control de los mismos, así como recomendaciones y estrategias adecuadas al realizar viajes dentro y fuera del país, son una base adecuada para mantener conciencia y reconocer el impacto de la importancia de mantener sistemas de monitoreo de vectores hematófagos (Velu *et al.*, 2021).

Debido al uso excesivo de insecticidas químicos, los mosquitos han desarrollado mecanismos de resistencia, logrando pasar por cambios fisiológicos y genéticos para incrementar su sistema de defensa (Hongmei *et al.*, 2024).

Dicha resistencia a los productos químicos a promovido que se desarrollen nuevos mecanismos de control alternativos como el control biológico; mediante el uso de peces larvívoros que se alimentan de larvas de mosquitos y de esta manera se evita su desarrollo, la modificación ambiental; con la finalidad de alterar la naturaleza para limitar los sitios de anidación o la utilización de larvicidas biológicos, y la modificación genética del mosquito; en donde se busca modificar a los machos con el objetivo de que su descendencia sea estéril (Munawar *et al.*, 2020, Hadebe *et al.*, 2024).

Es importante identificar las especies de mosquitos para mejorar la vigilancia y control de los mismos, de esta manera, se podrán implementar tratamientos específicos (Hadebe *et al.*, 2024).

El control de mosquitos incluye métodos químicos, mecánicos y biológicos; aunado al conocimiento de la población sobre los métodos del control, ya que la población es un factor clave para prevenir la propagación de mosquitos (Duval *et*

al., 2023), y con ello, ayudar a la erradicación de enfermedades transmitidas por estos artrópodos vectores (Wong *et al.*, 2023).

2.1.4.1 Métodos de control mecánicos

Entre los métodos mecánicos que se recomienda a la población emplear para el control de mosquitos en el hogar, se encuentran mantener las ventanas cerradas durante el tiempo que no sean utilizadas, así mismo la puerta de entrada de la casa, del mismo modo, se invita a la población a no albergar depósitos como macetas o recipientes plásticos donde pueda quedarse el agua estancada al presentarse una lluvia o con la limpieza rutinaria (Duval *et al.*, 2023).

2.1.4.2 Métodos de control químico

Los carbamatos, organofosforados y piretroides sintéticos, son un grupo de insecticidas utilizados en programas de control de mosquitos vectores, utilizados para la pulverización residual en exteriores e interiores, así como en mallas insecticidas de larga duración; al momento de elegir un programa de control, debe considerarse la biología de los mosquitos ya que de esto, dependerá la eficacia del insecticida elegido; entre las desventajas de este método de control se encuentra el uso desmedido de los mismos, que ha ocasionado la resistencia de los artrópodos a ciertos insecticidas, y el daño al medio ambiente provocado por éstos (Wong *et al.*, 2023).

2.1.4.3 Métodos de control biológico

El biocontrol de mosquitos vectores se basa en reducir la población de forma natural por medio de la depredación natural o parasitaria, teniendo la ventaja de no causar daño al medio ambiente (Wong *et al.*, 2023).

Los métodos de depredación natural, resultan eficientes al actuar sobre la fase larvaria del vector, ya que requiere de un medio acuático para desarrollarse, y minimizar la cantidad de larvas que emergen a adultos, ayuda al control de la población de mosquitos y por ende, a la transmisión de enfermedades causadas por éstos (Wong *et al.*, 2023, Flourizel *et al.*, 2024).

2.1.4.3.1 Peces larvívoros

Los peces larvívoros son un método de depredación natural utilizados por tener la facilidad de adaptarse a medios acuáticos artificiales y naturales, se ha demostrado que pueden reducir la población de larvas de un 70 - 90 %, es una alternativa de control ecológica que se recomienda utilizar en estanques, pozos, piscinas, lagos y arrozales; existen 32 géneros pertenecientes a siete familias de peces que han demostrado ser utilizadas eficientemente para el control de larvas, tan solo la familia *Cyprinodontidae* presenta 300 especies de peces (*Flourizel et al.*, 2024).

2.1.4.3.2 Mermítidos

El método de biocontrol parasitario, se basa en nemátodos mermítidos (*Wong et al.*, 2023); los nematodos entomopatógenos albergan un grupo de especies que parasitan y matan larvas de mosquitos, por lo que son considerados un método eficaz de control biológico para poblaciones de mosquitos en su etapa inmadura, ya que estos tienen una movilidad limitada y tienen menos mecanismos de protección que los adultos (*Abagli and Alavo*, 2019, *Dahmana and Mediannikov*, 2020, *Hamed et al.*, 2022).

Los mermítidos se adaptan al ciclo de vida del huésped, tienen una alta tasa reproductiva y de parasitismo, matan a sus huéspedes al emerger y no requieren alimentarse después de hacerlo, al nadar con libertad pueden diseminarse con facilidad y por ende, pueden ser empleados como método de control inmediato o parcial continuo al inocular al parásito en zonas donde se encuentren larvas de mosquitos (*Petersen*, 1973).

El ciclo de vida de los mermítidos se completa en 4 a 6 semanas, e inicia cuando los huevos del parásito eclosionan después de la puesta, entrando a una fase pre-parasítica o juvenil, es una etapa de natación libre donde tienen un promedio de 72 horas de vida para encontrar a un huésped en el agua; una vez que encuentran un huésped adecuado, lo paralizan y penetran la cutícula del mismo, migran a su abdomen en donde maduran y se encargan de las funciones

celulares reguladoras del huésped, una vez que agotan los recursos de nutrientes otorgados por su huésped, finalmente rompen la cutícula del mismo y vuelven a emerger al ambiente en una etapa juvenil post-parasitario, ocasionando la muerte de la larva del mosquito; una vez que emergen, los mermítidos excavan en el suelo donde maduran y se convierten en adultos, copulan y la hembra grávida pone huevos en el suelo, de esta manera, se repite nuevamente el ciclo; las hembras son capaces de producir 2,500 huevos (Elbrense *et al.*, 2022, Ghoneim and Bakr, 2024, Pérez-Pacheco *et al.*, 2020, Petersen, 1973, Trujillo-González *et al.*, 2021, Wong *et al.*, 2023).

Existen más de 25 especies de mermítidos que han demostrado tener eficacia contra mosquitos, entre los mayormente documentados se encuentran: *Romanomermis iyengari*, *Romanomermis culicivorax*, *Diximermis peterseni* y *Strelkovimermis spiculatus* (Wong *et al.*, 2023, Kumar *et al.*, 2023).

El cultivo en laboratorio de mermítidos, resulta una opción eficiente para el control de poblaciones de mosquitos, ya que resulta rentable, tienen autopropagación, y el solo establecimiento de los mismos en una zona determinada, reducirá el porcentaje de mosquitos durante un periodo de tiempo prolongado, además de ser una buena estrategia para zonas inaccesibles donde no se puede dar continuidad a otros métodos de control (Kumar *et al.*, 2023).

2.1.4.3.3 Técnica de los insectos estériles

Es una técnica en la que se esterilizan machos por medio de productos químicos o radiación con la finalidad de producir mutaciones espermáticas, posteriormente estos mosquitos machos se liberan a la naturaleza, al aparearse con las hembras, no producen descendencia, disminuyendo de esta manera la población de mosquitos (Karunaratne and Surendran, 2022).

2.1.4.3.4 Técnica de gen letal dominante

Esta técnica consiste en liberar al medio ambiente mosquitos machos portadores de un gen letal dominante para aparearse con las hembras, la descendencia de

la cópula muere en las etapas inmaduras o bien, se desarrollan hasta convertirse en adultos, pero no son capaces de volar (Karunaratne and Surendran, 2022).

2.2 Detección molecular de patógenos

El enfoque molecular, en particular la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), es tan sensible que puede detectar un mosquito a partir de un pequeño fragmento de su cuerpo, como una pata, lo que lo hace beneficioso porque el resto del cuerpo puede ser utilizado para análisis adicionales, como la identificación de parásitos (Hadebe *et al.*, 2024).

La detección molecular llevada a cabo en artrópodos hematófagos para la búsqueda de patógenos es un método eficaz para reconocer y evaluar la presencia de vectores en una zona determinada, así como para desarrollar medidas de control y reducir la prevalencia de una zoonosis emergente (Younes *et al.*, 2021, Prasad *et al.*, 2019). La prueba de PCR múltiple, es una herramienta de diagnóstico precisa para brindar resultados eficientes sobre la presencia de *D. immitis* en mosquitos (Lau *et al.*, 2024).

2.3 *Dirofilaria immitis*

La dirofilariasis es una enfermedad parasitaria que afecta a caninos, es causada por nemátodos de la especie *Dirofilaria immitis* (*D. immitis*), este es un parásito común en todo el mundo que es transmitido por mosquitos, diversos factores como el cambio climático, variaciones en la dinámica poblacional de vectores, circulación de caninos entre países, la carga de parásitos, la edad del canino, y la respuesta inmune del mismo, ejercen un papel importante en la propagación de la enfermedad (Abdulkadir and Kebede, 2024).

2.3.1 Antecedentes

La primer mención de *D. immitis*, fue expuesta en una carta escrita por el médico y profesor Panthot (1679) enviada al autor de la revista “*Journal des Sçavans*”, en donde describe el hallazgo de 31 vermes en el ventrículo derecho del corazón de una perra. Sin embargo, fue hasta 1856 que Leidy describió y clasificó al nemátodo (Cirer *et al.*, 2019).

Se estima que 98 millones de caninos en Latinoamérica están expuestos a contraer dirofilariasis (MSD-Salud-Animal, 2023). En México, el primer reporte notificado de *D. immitis* fue realizado en 1958 por Schanaas quien indicó haber encontrado dirofilaria en un canino importado de Estados Unidos (Romero, 1990).

2.3.2 Etiología

La *D. immitis* es un parásito nemátodo filarioide (es decir, con forma de hilo) causante de la enfermedad de dirofilariasis canina, ésta es una enfermedad progresiva, crónica y potencialmente mortal (Abdulkadir and Kebede, 2024, Noack et al., 2021).

Cuadro 1 . Clasificación del nemátodo *Dirofilaria immitis* (Global-Biodiversity-Information-Facility, 2024).

Reino	Animalia
Filo	Nematoda
Clase	Chromadorea
Orden	Rhabditida
Familia	Onchocercidae
Género	<i>Dirofilaria Railliet & Henry</i>
Especie	<i>Dirofilaria immitis</i>

La *D. immitis* son nematodos con apariencia filiforme; son delgados, blanquecinos, alargados y los machos tienen el extremo de la cola enrollada; las hembras maduras producen larvas nombradas microfilarias que van directo a circulación sanguínea del huésped (Abdulkadir and Kebede, 2024, Thilakarathne et al., 2023, Abraham, 2018).

Las hembras miden de 1 - 1.3 mm de ancho y de 250 - 310 mm de longitud, mientras que los machos miden de 0.7 – 0.9 mm de ancho y de 120 – 200 mm de longitud y las microfilarias miden de 250 a 300 μm (Abdulkadir and Kebede, 2024, Noack et al., 2021).



Figura 2. Nemátodo macho de *Dirofilaria immitis* (American-Heartworm-Society, 2023).

Los nemátodos infectan insectos artrópodos para desarrollarse y dispersarse a otros huéspedes y de esta manera asegurar su descendencia (Eleftherianos and Heryanto, 2021).

2.3.3 Ciclo de vida

Este parásito requiere de un artrópodo, que vendría a ser un mosquito competente como vector, y de un huésped definitivo vertebrado, que sería el canino, para desarrollar su ciclo de vida (Scavo *et al.*, 2022).

La *D. immitis* tiene un ciclo de vida que se divide en cinco estadios larvarios; en el artrópodo se desarrollan en secuencia las etapas L1, L2 y L3, mientras que en el huésped canino se desarrollan las etapas L4 y L5 (Abdulkadir and Kebede, 2024, Prichard, 2021).

El ciclo de vida inicia cuando el vector hematófago se alimenta de un huésped infectado e ingiere las microfilarias que se encuentran en la circulación sanguínea (Abdulkadir and Kebede, 2024).

Las microfilarias ingeridas por el mosquito, llegan al abdomen pasando del estadio larvario uno (L1) al segundo estadio (L2) y finalmente al tercer estado larvario (L3) en los túbulos de Malpighi del mosquito convirtiéndose en larvas infecciosas, este proceso depende de la temperatura ambiental, considerando una temperatura media ideal de 22 °C y una humedad relativa del 80%; estas larvas L3, migran a través de la hemocele del mosquito hasta llegar a las

glándulas salivales y probóscide del mosquito, una vez ahí, las larvas infectivas L3 aguardan a que el mosquito se alimente de sangre nuevamente y son depositadas en el nuevo huésped a través de la picadura (Wysmołek *et al.*, 2020, Thilakarathne *et al.*, 2023, Riahi *et al.*, 2021, Prasad *et al.*, 2019).

Estas mudas ocurren en el artrópodo en un tiempo de 14 a 20 días, sin embargo, cuanto mayor sea la temperatura en el ambiente, el periodo de muda puede ser más corto (Morchón *et al.*, 2022). Lo que implica que solo los mosquitos en los que se logre desarrollar la etapa infecciosa L3, y la subsecuente migración a la probóscide, son considerados vectores epidemiológicamente competentes de *D. immitis* (Shaikovich *et al.*, 2019, Noack *et al.*, 2021), se conoce que al menos 70 especies de mosquitos, son susceptibles a ser vectores (Panarese *et al.*, 2023).

Especies pertenecientes a los géneros *Aedes*, *Culex*, *Anopheles*, *Coquillettidia*, *Culiseta*, *Mansonia*, *Ochlerotatus* y *Psorophora* han sido reportadas como vectores competentes de *D. immitis* (Noack *et al.*, 2021, Metzger *et al.*, 2021, Konishi, 1990, Cirer *et al.*, 2019).

Cuadro 2. Especies de mosquitos reportadas vectores de *Dirofilaria immitis*. (Morchón *et al.*, 2012, Cancrini *et al.*, 2006, McKay *et al.*, 2013, Ferreira *et al.*, 2015, Alvarado Torres *et al.*, 2019, Shaikovich *et al.*, 2019, Demirci *et al.*, 2021, Riahi *et al.*, 2021, Younes *et al.*, 2021)

<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. ochcaspius</i>	<i>Cq. richiardii</i>	<i>Ms. perturbans</i>
<i>Ae. albopictus</i>	<i>Ae. polynesiensis</i>	<i>Cs. inornata</i>	<i>Oc. caspius</i>
<i>Ae. angustivittatus</i>	<i>Ae. taeniorhynchus</i>	<i>Cx. erraticus</i>	<i>Oc. sollicitans</i>
<i>Ae. cantans</i>	<i>Ae. vexans</i>	<i>Cx. modestus</i>	<i>Oc. taeniorhynchus</i>
<i>Ae. caspius</i> ,	<i>An. maculipennis</i>	<i>Cx. pipiens</i>	<i>Ps. columbiae</i>
<i>Ae. detritus</i>	<i>An. punctipennis</i>	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	<i>Ps. ferox</i>
<i>Ae. geniculatus</i>	<i>An. quadrimaculatus</i>	<i>Cx. theileri</i>	<i>Ps. howardii</i>

Una vez que el mosquito con larvas infectivas se alimenta de un huésped canino, le inocular las larvas en tejido subcutáneo, muscular adiposo o esquelético en donde ocurre una muda de L3 a L4 en donde las larvas se convierten en gusanos preadultos en tres a 12 días posteriores a la picadura, y en los siguientes 99 a

152 días, los parásitos migran al sistema vascular, llegando a arterias pulmonares, tronco pulmonar y parénquima pulmonar y finalmente al ventrículo derecho del corazón, mudando de L4 a L5 convirtiéndose en adultos maduros, las hembras son ovovivíparas y después del apareamiento liberan microfilarias (estado larval L1) al torrente sanguíneo en los siete a nueve meses posteriores a la infección (Abdulkadir and Kebede, 2024, Thilakarathne *et al.*, 2023, Prichard, 2021, Noack *et al.*, 2021, Morchón García *et al.*, 2020, Laidoudi *et al.*, 2019, Fuehrer *et al.*, 2021).

El ciclo de vida del nemátodo, desde microfilaria hasta adulto maduro, encontrándose en condiciones óptimas tiene una duración de 184 a 210 días (Abdulkadir and Kebede, 2024). La *D. immitis* puede llegar a vivir entre cinco y siete años en caninos, y de dos a tres años en felinos (García Rodríguez *et al.*, 2022).

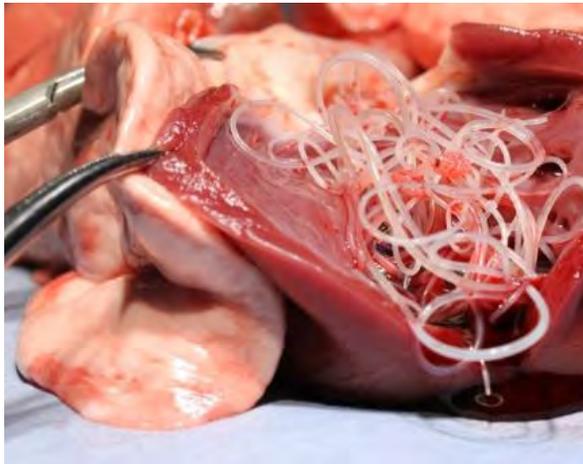


Figura 3. *Dirofilaria immitis* en corazón canino (American-Heartworm-Society, 2023).

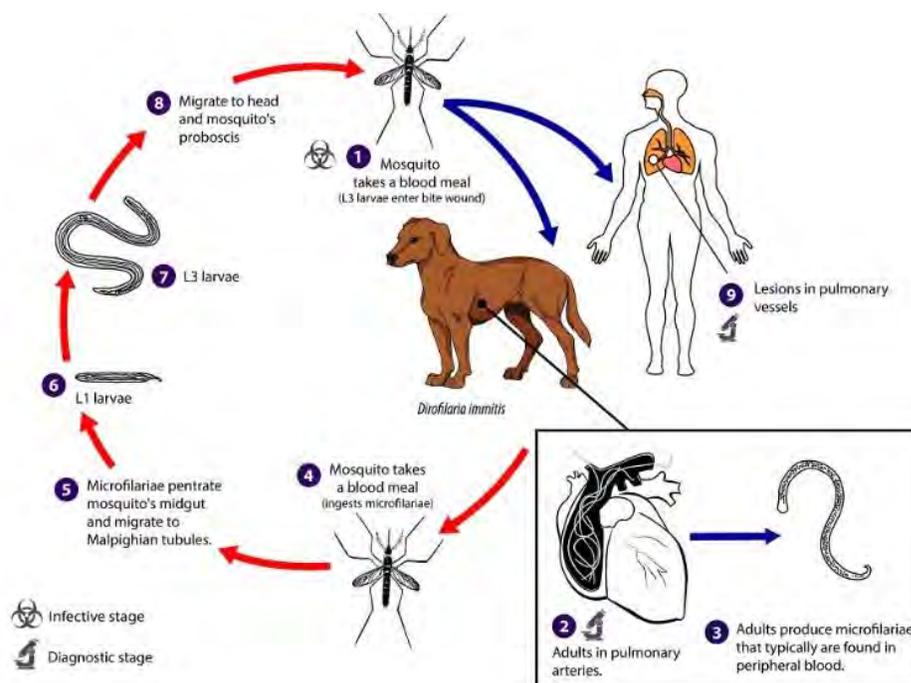


Figura 4. Ciclo de vida de *Dirofilaria immitis* (CDC, 2019).

2.3.4 Epidemiología

Su distribución es cosmopolita, tanto en climas fríos como tropicales, aunado a los cambios climáticos que repercuten en la propagación, adaptación y supervivencia de los mosquitos, que ya no dependen solo de una temporada estacional para su diseminación, influenciando de esta manera la propagación de enfermedades causadas por nemátodos (Abdulkadir and Kebede, 2024, Reyes Climaco *et al.*, 2020, Morchón *et al.*, 2022).

El hecho de que los caninos infectados sean asintomáticos o no presenten signos específicos de la enfermedad en un inicio, hace propicio que la diseminación de la enfermedad aumente (Panarese *et al.*, 2023). Una vez que se ha localizado a un canino infectado, se deben realizar estudios en mosquitos para identificar a la especie que está fungiendo como vector (Nebbak *et al.*, 2022).

Los caninos que deambulan de manera libre en zonas urbanas y rurales, están constantemente expuestos a las picaduras de vectores hematófagos representando una fuente de alimentación de fácil acceso al no contar con un programa de desparasitación para ectoparásitos, convirtiéndose de esta manera

en un foco de propagación para *D. immitis* (Abdulkadir and Kebede, 2024, Panarese *et al.*, 2022).

La transmisión del parásito dependerá del pico de microfilaremia del huésped y de los periodos de actividad del mosquito (Noack *et al.*, 2021).

2.3.5 Reservorio

Los caninos representan el huésped definitivo y reservorio de la *D. immitis*, empero, existe la posibilidad de encontrar al parásito en caninos salvajes como lobos, zorros o coyotes, así como en hurones, felinos salvajes y domésticos y otras especies de animales (Abdulkadir and Kebede, 2024).

En el caso de los caninos, una vez que ocurre la inoculación de la filaria, alrededor del 75 % de los nemátodos llegan a desarrollarse en adultos maduros en un periodo de cuatro a seis meses y son capaces de producir microfilarias durante años mientras las condiciones ambientales resulten ideales (Pennisi *et al.*, 2020, Alvarado Torres *et al.*, 2019).

Un canino adulto puede alojar hasta 250 nematodos en arterias pulmonares, vena cava, aurícula derecha y ventrículo derecho, aunque el promedio es de 50 vermes en un canino de talla mediana (Cirer *et al.*, 2019).

Los felinos pueden infectarse y presentar signos como dificultad para respirar, taquipnea y tos crónica, que después puede evolucionar a vómitos e incluso muerte súbita, siendo esta última, en algunas ocasiones, el único signo clínico (Prichard, 2021, García Rodríguez *et al.*, 2022).

Sin embargo, son considerados huéspedes imperfectos, ya que el sistema inmune del felino elimina las microfilarias y suprime la embriogénesis, por lo que solo un bajo porcentaje de microfilarias alcanzan la madurez sexual, llegándose a encontrar un máximo de seis nemátodos adultos, y raramente ocurre la microfilaremia, ya que para que se presenten las microfilarias, es necesario que se alojen filarias de ambos sexos, y debido al bajo número de gusanos que logran desarrollarse, es poco probable encontrar parásitos de ambos sexos (Pennisi *et al.*, 2020, Morchón *et al.*, 2022, García Rodríguez *et al.*, 2022).

A pesar de ser un huésped imperfecto, la muerte de un único parásito puede provocar una reacción inflamatoria o tromboembolismo pulmonar ocasionando la muerte súbita del felino (Alonso *et al.*, 2022).

2.3.6 Factores de riesgo

La adaptación de los mosquitos al cambio climático, su abundancia, distribución y actividad prolongada en las diferentes estaciones del año, la formación de nuevos lugares de ovoposición, la introducción de nuevas especies de mosquitos, así como el aumento de viajes nacionales e internacionales de caninos infectados y el comercio desmedido de los mismos, son factores clave en la propagación de la dirofilariasis (Pennisi *et al.*, 2020, Ong *et al.*, 2021, Morchón García *et al.*, 2020, McGill *et al.*, 2019, Alonso, 2022).

El aumento de la temperatura reduce el tiempo de muda de larvas en los mosquitos y prolonga su tiempo de actividad anual, haciendo propicio un ambiente idóneo para la transmisión de la enfermedad (Morchón *et al.*, 2022). De igual manera, la precipitación anual también es un factor que influye en el desarrollo de vectores al disponer de numerosos sitios de ovoposición (Dixit *et al.*, 2024).

La dirofilariasis es predisponente en caninos adultos, de raza grande o gigante, de pelo corto y en animales que están expuestos a un entorno rural o no tienen un hogar en el cual refugiarse (Leschnik, 2020).

El nivel socioeconómico bajo es un factor que podría incrementar el riesgo a contraer *D. immitis*, ya que los propietarios no pueden costear una atención veterinaria cotidiana, ni adquirir los productos necesarios para prevenir la enfermedad, además de que sus caninos generalmente están un mayor tiempo al aire libre y por ende, se encuentran expuestos a una cantidad considerable de mosquitos vectores (Beaulieu *et al.*, 2020).

2.3.7 Patogenia

La gravedad de la enfermedad está mediada por el número de parásitos adultos que se encuentran en el huésped, la respuesta inmunitaria que se presenta y el tiempo de la infección (Jitsamai *et al.*, 2021).

El daño de la *D. immitis* ocurre desde la llegada de los nematodos inmaduros en sistema vascular al causar una eosinofilia con infiltrados eosinofílicos y el inicio de signos de una enfermedad respiratoria (Abdulkadir and Kebede, 2024).

Los nemátodos adultos se alojan en el árbol vascular pulmonar caudal y en el ventrículo derecho del corazón provocando una reacción inmunológica dada por el huésped a una igG específica, debido a la liberación de endotoxinas producidas por la bacteria gramnegativa *Wolbachia pipientis* que presenta una endosimbiosis con el parásito presentándose de forma intracelular obligada (Abdulkadir and Kebede, 2024).

Estas bacterias son transmitidas verticalmente de generación en generación de los nemátodos y son responsables de la reproducción, desarrollo y supervivencia de la *D. immitis* (Pennisi *et al.*, 2020, Noack *et al.*, 2021, Morchón García *et al.*, 2020).

El aumento de parásitos en el miocardio y arterias pulmonares, produce una congestión crónica en el lado derecho del corazón provocado por la dificultad circulatoria, hipertensión pulmonar causada por las alteraciones en la estructura de las arterias, embolia pulmonar e insuficiencia cardíaca, pudiendo llegar a presentarse el síndrome de la vena cava al intervenir en el flujo y cierre de la válvula tricúspide produciendo un colapso cardiovascular, agrandamiento de los atrios y ventrículos del corazón como consecuencia de la presencia de los parásitos en el interior; y el corazón también puede presentar fibrosis, edema e isquemia, lo que afectará al hígado y riñón progresivamente (Abdulkadir and Kebede, 2024).

La muerte de las vermes adultas, ya sea de forma natural o por una terapia adulticida, provoca la liberación de antígenos de la bacteria *Wolbachia* y del

parásito, resultando en un aumento de daños pulmonares y vasculares, desencadenando un fallo cardiaco congestivo y la posterior muerte del huésped infectado (Morchón García *et al.*, 2020).

2.3.7.1 Signos

Esta enfermedad no suele presentar signos clínicos específicos cuando los parásitos se presentan en una carga menor, sin embargo, cuando el número de ellos aumenta, y conforme progresa el daño, es posible observar signos específicos de las patologías provocadas (Abdulkadir and Kebede, 2024).

Aunque no son signos específicos de la enfermedad, se suele observar intolerancia al ejercicio, falta de apetito, dificultad para respirar, pérdida de peso, tos leve pero persistente y síncope (Prichard, 2021, Noack *et al.*, 2021, Morchón García *et al.*, 2020).

2.3.7.2 Diagnóstico

Existen diversos métodos de identificación de la enfermedad, los frotis en muestras de sangre de caninos para la detección de microfilarias es el más común y práctico, también se puede realizar análisis de sangre para detectar la presencia de antígenos, pruebas rápidas de ELISA para detectar antígenos de parásitos adultos, radiografía, electrocardiografía, ecocardiografía y pruebas moleculares (Abdulkadir and Kebede, 2024, Rodríguez *et al.*, 2019, Ljubica and Vesna, 2020).

Las microfilarias pueden detectarse en sangre del canino después de 6 meses de la infección, una vez que los gusanos maduraron y se encuentran produciendo microfilarias (Prichard, 2021).

2.3.7.3 Tratamiento

El objetivo del tratamiento para la dirofilariasis es eliminar las diferentes etapas del ciclo de vida del parásito y mejorar las condiciones de vida del huésped procurando la menor cantidad de repercusiones (Ljubica and Vesna, 2020).

Los efectos secundarios de una destrucción masiva de parásitos adultos, es un riesgo a tomar en cuenta al momento de elegir un tratamiento, ya que se puede provocar un tromboembolismo en venas y arterias pulmonares, congestión, hipoxia, una liberación de citoquinas al torrente sanguíneo y por ende, causar un choque, aunado a esto, se debe considerar también eliminar a las bacterias endosimbióticas *Wolbachia*, ya que se puede provocar un choque séptico al liberar las proteínas de la misma (Abdulkadir and Kebede, 2024, Thilakarathne et al., 2023).

Los parásitos adultos se pueden eliminar quirúrgicamente por terapia endovascular, tomando en cuenta que se deberá extraer al parasito completo, debido a que la ruptura del parasito puede ocasionar una reacción anafiláctica por la liberación de antígenos parasitarios y producir la muerte del paciente (Alonso et al., 2022).

2.3.8 Prevención y control

Los nemátodos filariales son parásitos que causan enfermedades en animales y humanos a lo largo del mundo, y contar con una estrategia preventiva es importante para disminuir la incidencia de infección (Wheelerl et al., 2020).

La prevención adecuada es la herramienta más efectiva para combatir la enfermedad, el uso de la profilaxis química durante todo el año en mascotas es un método prioritario en los lugares donde se haya confirmado la presencia de *D. immitis*, así como la aplicación de tratamientos para combatir a mosquitos vectores del parásito en temporada de mayor actividad de los mismos, eliminar sitios ideales para criadero, uso de mosquiteros y repelentes, con la intención de evitar su propagación, supervivencia y por ende, su picadura (Abdulkadir and Kebede, 2024, Maggi and Krämer, 2019, Duval et al., 2023).

Concientizar a los médicos, veterinarios y propietarios de mascotas sobre las enfermedades transmitidas por mosquitos y contar con una rutina de insecticidas y repelentes apropiados para animales y humanos, es un complemento de

utilidad para combatir la tasa de infección (Prichard, 2021, Panarese *et al.*, 2023, Ong *et al.*, 2022, Chable *et al.*, 2018).

La profilaxis química con el uso de antihelmínticos de lactona macrocíclica, está enfocada a eliminar las etapas de desarrollo del parásito en los estadios L3 y L4 los cuales son sensibles, de esta manera, se previene la evolución del parásito adulto en las arterias pulmonares (Prichard, 2021).

Una de las metas para el control y prevención de la *D. immitis* consiste en prestar atención a los caninos desprotegidos y expuestos al reservorio del parásito, ya que representan un riesgo al pasar desapercibidos por no presentar signos clínicos específicos de la enfermedad (Abdulkadir and Kebede, 2024).

2.3.9 Zoonosis

La zoonosis son patógenos transmitidos entre animales y humanos (y viceversa) causantes de enfermedades; debido a que comparten el mismo entorno, es una situación que se presenta con frecuencia (Meseko *et al.*, 2024).

La prevalencia de *D. immitis* en caninos implica una situación de riesgo para los humanos, ya que el humano es un huésped accidental del nemátodo, por lo que debería de considerarse como un problema de salud pública (Abdulkadir and Kebede, 2024, Ubleis *et al.*, 2018, Noack *et al.*, 2021), cuando un mosquito infectado se alimenta de un humano, la microfilaria llega a la vasculatura pulmonar en donde se desarrolla convirtiéndose en adulto juvenil, sin embargo, el ciclo no progresa, ya que los parásitos mueren en la periferia pulmonar causando nódulos pulmonares asintomáticos de carácter benigno, que rara vez son diagnosticados correctamente (Prichard, 2021, Jerše, 2022, García Rodríguez *et al.*, 2022, Chakarova and Mitev, 2020).

Los nódulos se presentan en el parénquima pulmonar como lesiones circunscritas de 1 a 3 cm de diámetro, color amarillo grisáceo y de apariencia redonda, en cuyo interior se encuentra una larva inmadura, calcificada o necrosada, rodeada por fibroblastos que bloquean el lumen arterial (Cirer *et al.*, 2019).

La presencia de estos nódulos pulmonares generalmente no causan síntomas, sin embargo, cuando se llegan a presentar, el paciente reporta fiebre, escalofríos, dolor torácico, tos, fatiga, hemoptisis, síncope, pérdida de peso y dificultad para respirar (Dhanalakshmi, 2024, Cirer *et al.*, 2019). Es un hallazgo observado en las radiografías de tórax, con apariencia de una moneda, y requiere de una intervención quirúrgica para removerlo (Cirer *et al.*, 2019, Chakarova and Mitev, 2020).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El presente estudio se llevó a cabo en los municipios de Aguascalientes, Asientos, Calvillo, Cosío, Pabellón de Arteaga y Rincón de Romos del estado de Aguascalientes, México. El estado de Aguascalientes no cuenta con un estudio sobre su fauna de artrópodos presente, el conocimiento de su entomofauna, se ve limitado a ciertos municipios o localidades, además de que no existen precedentes de búsqueda del nemátodo *D. immitis* (Villegas and Angón, 2021).

Esta región forma parte de la Sierra Madre Occidental, Mesa Central y el Eje Neovolcánico entre las coordenadas 101°53' y 102°52' de longitud oeste y los paralelos 22°27' y 21°28' de latitud norte.

Debido a la variabilidad del ecosistema que presenta el estado, cuenta con climas secos, semisecos y templados dependiendo de la zona en que se encuentre, reportando temperatura media anual de 20 a 22°C, mientras que en la serranía la temperatura se mantiene en un rango de 16 a 18°C; ocurriendo algo similar en cuanto a precipitación anual, prevaleciendo un rango entre 400 y 500 mm y en el territorio de la serranía aumenta hasta los 800 mm (Villegas and Angón, 2021).

Las condiciones que presenta el estado, son propicias para el parásito *D. immitis*, ya que la temperatura media ideal para su desarrollo es de 22°C (Thilakarathne *et al.*, 2023).



Figura 5. Señalización de los municipios de colecta en el estado de Aguascalientes (INEGI, 2020).

Para este trabajo se colectaron mosquitos (Diptera: Culicidae) adultos en dos colectas que se realizaron del nueve al 14 de julio del 2023 durante la temporada seca del estado de Aguascalientes y del 29 al dos de octubre del mismo año, abarcando la temporada de lluvias. Del mismo modo los días 24 y 25 de julio del 2024 se realizó una tercer colecta de estados inmaduros (larvas) de mosquitos provenientes del municipio de Calvillo con la finalidad de analizar mosquitos en estado adulto y larval en búsqueda de parásitos, principalmente *D. immitis*.

Durante la primer colecta, que se nombró como “Colecta A”, se recorrieron los municipios de Cosío, Rincón de Romos, Pabellón de Arteaga, Calvillo, Aguascalientes y Asientos, recorriendo panteones, serranía o sitios alejados por lo general de la mancha urbana.

La búsqueda de especímenes se inició desde las 9 am, y se recorrieron lugares de limitado acceso donde se presentaran las condiciones idóneas para el establecimiento de mosquitos.

El tiempo de duración en un sitio, dependía de la prolificidad de mosquitos en la zona, permaneciendo desde 30 minutos en un solo lugar, hasta cinco horas; en los sitios de serranía es donde el tiempo de colecta se extendía al amanecer (12 am), debido a que los mosquitos alcanzan su periodo máximo de picaduras un poco antes al amanecer y un poco después del atardecer (Karunaratne and Surendran, 2022). Una vez que se localizaba un sitio ideal, y se confirmaba la presencia de especímenes, se realizaban las colectas de especímenes.



Figura 6. Captura de mosquitos, colecta “A”.

Existen distintas técnicas para la captura de mosquitos, que pueden ser aplicadas para coleccionar mosquitos en reposo o vuelo (Lozano and Morales, 2021).

En el presente trabajo se utilizaron aspiradores bucales entomológicos para capturar mosquitos adultos posados en una superficie o picando; el cual consiste en dos extensiones, una es un tubo de acrílico de 25 cm y posee una unión a la siguiente extensión en donde se encuentran tres capas de red fina para solo permitir el paso de aire, está conectado a una manguera de látex de 70 cm de extensión, la cual cuenta con una boquilla de succión que es operada el usuario.



Figura 7. Aspirador entomológico.

De la misma forma, se empleó un aspirador mecánico, el cual consiste en un tubo de PVC de cuatro centímetros de diámetro, cuyo extremo está adaptado para introducir un vial de recolección con malla para permitir que los especímenes permanezcan en el vial. En el otro extremo del tubo se encuentra una extensión de tubo de siete centímetros de ancho donde se localiza un motor que cumple la función de succión mecánica, este motor, es operado por una batería recargable de 12 voltios.



Figura 8. Aspirador mecánico y vial de recolección

Este aspirador fue utilizado para recolectar mosquitos en vuelo, reposo o picando. De igual manera, en los sitios de serranía en el municipio de Calvillo, se estableció una trampa Shannon para incrementar la posibilidad de coleccionar especímenes adultos, la cual está basada en un pabellón formado de tela blanca,

con forma rectangular y sin base, en cada esquina superior tiene cuerda para poder sujetarla en cuatro puntos, de tal forma que quede suspendida a 30 cm del suelo.

Dentro de la misma, se posiciona un colector, de manera que se acumula CO₂ proveniente de la transpiración y exhalación al respirar, por lo que es el principal atrayente (Martinez *et al.*, 2021) para que los artrópodos entren en la trampa y de esta manera sean capturados con el aspirador bucal o el aspirador mecánico.



Figura 9. Trampa Shannon.

Se colectaron mosquitos en vegetación, picando, en llantas, árboles, lechos de agua entre otros sitios. La fauna presente en esta colecta, incluye ovinos, aves, porcinos, caprinos, caninos y felinos.

Los mosquitos recolectados fueron eutanasiados con vapores de cloroformo, el cual ocasiona la muerte de los mismos pero permite preservar su forma, se utilizaron dos métodos; para los especímenes que fueron colectados con el aspirador bucal, se utilizó una cámara letal entomológica la cual consiste en un tubo de vidrio con tapa de corcho y en cuyo fondo contiene pedazos de ligas, algodón y papel filtro, previamente, mediante el uso de una pipeta Pasteur desechable de 10 ml se le introdujeron 7 ml de cloroformo al fondo del tubo en el filtro.

Una vez que se colectaba un mosquito con el aspirador bucal, la extensión de acrílico era introducida al fondo de la cámara letal, en donde los mosquitos morían al cabo de segundos.



Figura 10. Cámara letal.

Para los mosquitos colectados con el aspirador mecánico, se colocó una torunda de algodón infiltrada con cloroformo sobre la superficie de malla del vial de recolección, la muerte de los especímenes ocurría a los pocos segundos de estar bajo los vapores del cloroformo.

Después de que se les quitó la vida a los especímenes se agruparon de acuerdo al sitio y día de colecta. Los especímenes colectados se colocaron en viales criogénicos y se identificaron de acuerdo al número proporcionado por la cedula correspondiente, la cual se llenaba de forma manual en cada sitio de colecta con los datos correspondientes, que incluyen el número de colecta, la fecha, hora, lugar, coordenadas, el tipo de colecta, hospedero, distancia de las casas y la descripción de: terreno, viento, cielo, ambiente y sombra.

Una vez identificados los viales, se almacenaban para su conservación en un tanque conservador de nitrógeno líquido ABS MVE Millennium 2000 XC con capacidad de almacenamiento de 20 litros para conservar la cadena de frío durante su traslado a Torreón, Coahuila.



Figura 11. Tanque conservador de nitrógeno líquido.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO "UNIDAD LAGUNA" DPTO. PARASITOLÓGIA

01. Colecta (est) **GRUPO 1**

02. No. Colecta 05120723-V3	03. Fecha 12-Jul-23	04. LAT 22° 6' 4" N	05. LON 102° 3' 18" W	06. ALT 1980
07. Estado Agua Calientes	08. Municipio Agua Calientes	09. Localidad Villa Juárez	10. Colecta A652323-A	
11. Hora de la día 15:15	12. Tipo de Colecta Fritada Larval	13. Sombra 75 Ausente	14. Dimensiones del Cradero 81. <input type="text"/> cm X 82. <input type="text"/> cm X 83. <input type="text"/> cm Profundidad	15. Tipo de Cradero 84. Permanente 85. Temporal
16. Reposo Domatlar 17. Reposo Rellago 18. Reposo Cuevas 19. Reposo Hueco de árbol 20. Reposo Vegetación 21. Picardo 22. Red 23. Trampa CDC 24. Luz incandescente 25. Luz negra 26. Sin luz 27. Argenteo 28. Trampa Magdon 29. Trampa Shannon 30. Enjambre 31. Posándose 32. Otros	29. Fritada Larval 30. Cianuro 31. Pariana o Calatrava 32. Margen de la Corriente 33. Carote 34. Canal 35. Pazo 36. Mandaral 37. Costera 38. Cant. Artificial 39. Lirio 40. Maranta 41. Separación de Cangrejo 42. Huellas 43. Madrugara Animal 44. Huevo de Roca 45. Huevo de Arbol 46. Huevo de Bambú 47. Axila de Platano 48. Axila de Heliconia 49. Axila de Bromelíacea 50. Axila de Araceae 51. Axila de Pina 52. Hojas Caldas 53. Frutas Caldas 54. Otros	55. Pluviómetro del Cradero 56. pH 57. Soluio 58. Temp.	59. Movimiento del Agua 60. Estacionaria 61. Ligero 62. Moderado 63. Rápido 64. Salinico 65. Dulce 66. Salobre 67. Turboso 68. Limpia 69. Coloreada 70. Turbia 71. Contaminada 72. Vegetación acuática 73. Sub emergente 74. Flotante 75. Emergente 76. Hojarasca 77. Todos los Tipos 78. Cant. Vegetación Acuática 79. Ausente 80. Escasa 81. Abundante 82. Abundante	83. Tipo de Cradero 84. Permanente 85. Temporal 86. Movimiento del Agua 87. Estacionaria 88. Ligero 89. Moderado 90. Rápido 91. Salinico 92. Dulce 93. Salobre 94. Turboso 95. Limpia 96. Coloreada 97. Turbia 98. Contaminada 99. Vegetación acuática 100. Sub emergente 101. Flotante 102. Emergente 103. Hojarasca 104. Todos los Tipos 105. Cant. Vegetación Acuática 106. Ausente 107. Escasa 108. Abundante
34. Limpio 35. Oscuro 36. Niebla 37. Lluvia Ligera 38. Lluvia Fuerte 39. Viento 40. Ausente 41. Ligero 42. Moderado 43. Fuerte 44. Distancia de las casas 20 m	47. Ambiente 48. Urbano 49. Rural 50. Campo de cultivo 51. Cultivos de Laboratorio 52. Fecha de ID 53. Identificador	111. Ventilación 112. Eco Región Tempestad 113. Ventilación 114. Ventilación INEGI 115. Depolladora	116. Observaciones Recepción de animales en grupo	117. Reg. Orabitral
116. Registro Nomenclatural 117. Reg. Orabitral				

Respedero
38. Humano
39. Cabello
40. Cerdos
41. Vaca
42. Burros
43. Aves
44. Otros **Chinos**
Perros
Bonitos

Figura 12. Cedula de identificación del sitio de colecta.

Una vez que los especímenes llegaron al destino, fueron preservados en un ultracongelador horizontal de tres pies Thermo Scientific a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ para evitar la degradación del ADN.

En la segunda colecta, que se le nombró “Colecta B” se recolectaron mosquitos del municipio de Calvillo principalmente en la zona de serranía. La fauna presente en esta colecta, fueron vertebrados propios de la sierra como el lobo, zorro, puma, liebre, coyote, tejón, jabalí, venado cola blanca y aves (INEGI, 2020).



Figura 13. Sitio de captura de mosquitos, colecta “B”.

En el curso de la tercer colecta, a la cual se le otorgó el nombre de “Colecta C”, se recolectaron larvas de mosquitos en el municipio de Calvillo, que se encontraron presentes en huecos de árboles (robles), de una altura aproximada de 1.5 m y cuyos huecos no superaban los 10 cm de profundidad; para colectarlos se utilizó una pipeta y se colocaron en tubos tipo Eppendorf con tapón 1.5 ml con alcohol al 90%, identificados de acuerdo a la cedula correspondiente, para su traslado a Torreón, Coahuila.



Figura 14. Sitio de colecta de larvas, colecta “C”.

La identificación morfológica es el principal método para identificar mosquitos vectores (Hadebe *et al.*, 2024). Para ello se utilizó un estereomicroscopio (SteREO Discovery.V8 Carl Zeiss) para su identificación taxonómica de acuerdo a las claves específicas (Harrison *et al.*, 2016).

Se observó cada mosquito clasificándolos según su cédula de identificación, sexo y especie, con ayuda de una mesa de enfriamiento de laboratorio (BioQuip 1429) para conservar la cadena de frío.

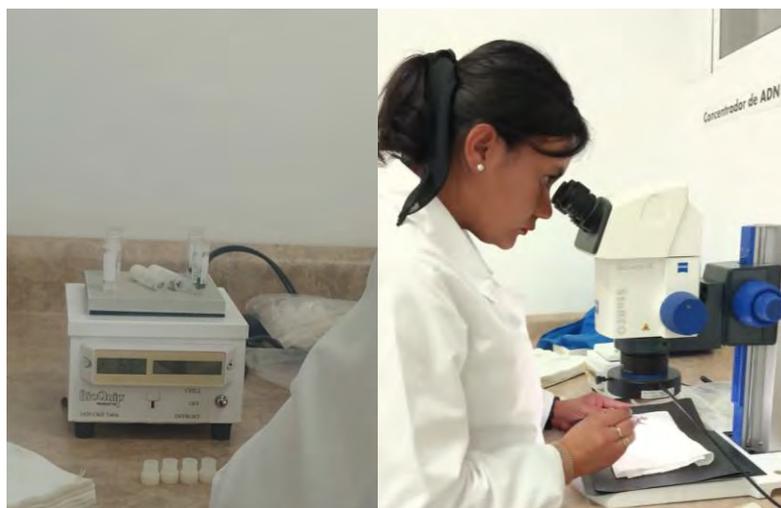


Figura 15. Mesa de enfriamiento y clasificación de mosquitos.

Una vez que se identificaron según su especie y sexo, los especímenes adultos hembras que se encontraron alimentadas fueron colocadas individualmente en viales criogénicos identificados según su cedula.



Figura 16. Hembras alimentadas.

Estas hembras fueron conservadas para su envío al laboratorio Gabe's ubicado en San Antonio, Texas, Estados Unidos. En donde se realizó la extracción del ADN por medio del método DNAzol® (DN127) de acuerdo a las instrucciones del fabricante, consecuentemente por medio de iniciadores genéricos se amplificó el gen ribosomal 12S para detectar nemátodos de 450 pares de bases (pb) 12SR (5'ATTGACGGATG(AG)TTTGTACC3') y 12SF (5'-GTTCCAGAATAATCGGCTA-3') (Alvarado Torres *et al.*, 2019).

Las muestras fueron procesadas por medio de PCR multiplex para detectar *D. immitis* llevado a cabo con la amplificación de la enzima citocromo C oxidasa (COX1) tomando en consideración el segmento amplificado de 170 pb para *D. immitis* y los resultados fueron visualizados en gel de agar al 2 % con electroforesis horizontal.

Las larvas se observaron con ayuda del estereomicroscopio (SteREO Discovery.V8 Carl Zeiss), utilizando un vidrio de reloj con alcohol al 90 % se clasificaron taxonómicamente de acuerdo a las claves de identificación antes mencionadas. Al momento de la identificación, se observaron larvas parasitadas, por lo que se seleccionaron 20 de las mismas para su envío al laboratorio Apha en Londres, Inglaterra para determinar el parásito presente en las muestras.

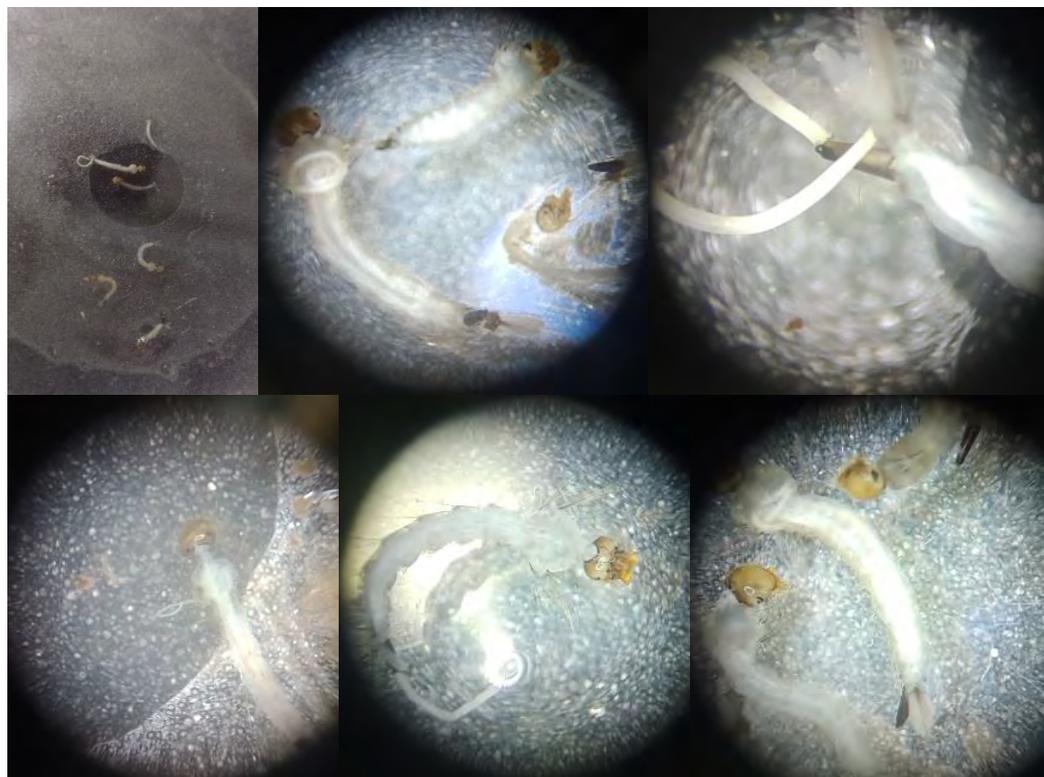


Figura 17. Larvas parasitadas.

El parásito de las larvas se observó con la ayuda de un microscopio estereoscópico (Greenough Ivesta 3) y se identificó molecularmente mediante la amplificación y posterior secuenciación de su ADNr, mediante los cebadores correspondientes para mermítidos 50–AAGGACGAAAGT TAGAGGTTC–30 y 50–GGAAACCTTGTTACGACTTTTA–30, para la amplificación de mtADN de COX1 se utilizaron los cebadores (50–TTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTAT–30) y (50–TAAAGAAAGAACATAATGAAAATG–30) a una temperatura de hibridación de 40 – 50°C, las secuencias del parásito se compararon con las existentes en el Gen Bank utilizando el programa de alineamiento de secuencias BLAST (Altschul et

al., 1990), y con el programa MUSCLE (Edgar, 2004) se compararon las secuencias (Martinet *et al.*, 2023).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las colectas A y B se colectaron un total de 3809 mosquitos adultos, de los cuales 2583 fueron hembras, 66 hembras alimentadas y 1160 fueron machos.

Cuadro 3. Colectas de mosquitos A y B.

COLECTA A		COLECTA B	
Machos	1054	Machos	106
Hembras no alimentadas	2467	Hembras no alimentadas	116
Hembras alimentadas	52	Hembras alimentadas	14
Total de mosquitos	3573	Total de mosquitos	236

Se identificaron un total de 13 especies, en ambas colectas, encontrándose más variedad de las mismas en la colecta B.

Cuadro 4. Especies encontradas en ambas colectas, señalando con asterisco (*) las especies que se conoce son vectores de *D. immitis*.

ESPECIES COLECTA A		ESPECIES COLECTA B	
<i>Aedes aegypti</i> *	1	<i>Aedes epactius</i>	4
<i>Culex erythrothorax</i>	15	<i>Aedes trivittatus</i>	23
<i>Culex nigripalpus</i>	1	<i>Anopheles pseudopunctipennis</i>	4
<i>Culex quinquefasciatus</i> *	2146	<i>Culex erythrothorax</i>	58
<i>Culex stigmatosoma</i>	1382	<i>Culex quinquefasciatus</i> *	54
<i>Culex thriambus</i>	4	<i>Culex stigmatosoma</i>	83
<i>Culiseta inornata</i> *	24	<i>Culex tarsalis</i>	4
		<i>Culiseta particeps</i>	1
		<i>Haemagogus equinus</i>	5

Se analizaron las 66 hembras alimentadas en busca de parásitos, las cuales resultaron negativas a la detección del parásito *D. immitis*.

Las hembras no alimentadas y los machos, no fueron seleccionados para su análisis debido a los costos que implicaba el análisis por PCR.

De las lavas colectadas en la colecta C, se identificó que pertenecían a la especie *Aedes muelleri*, de acuerdo a los resultados obtenidos de la identificación morfológica y genómica del parásito presente en las larvas, se concluyó que se trataba del mermítido *Strelkovimermis spiculatus* (Nematoda: Mermithidae) (Poinar y Camino, 1986).

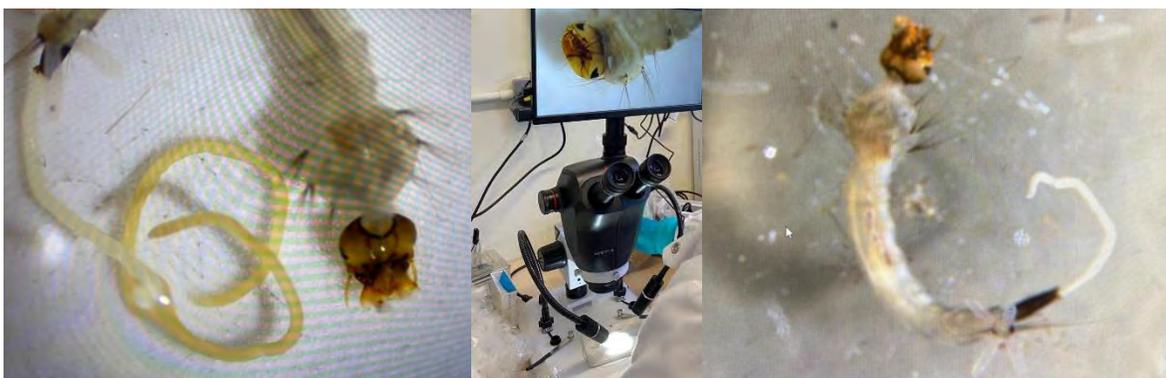


Figura 18. Nemátodo mermítido *Strelkovimermis spiculatus*

Este mermítido es un parasito obligado de larvas de mosquitos, que puede infectar hasta 100 especies distintas, afectando la etapa larval y por lo tanto evitando su desarrollo y posterior emergencia a adulto, tiene un grado de parasitismo elevado, son de fácil manejo y tienen potencial reproductivo eficiente tanto en laboratorio como en cría masiva en el ambiente, es un método de control para el cual no es posible que se desarrolle una resistencia por parte del huésped, no representan una amenaza para otros organismos ni para los humanos, por lo que son seguros para el medio ambiente (Ghoneim and Bakr, 2024).

La etapa larval L1 y L2 de los mosquitos, presenta una susceptibilidad al nematodo, por lo que ocurre una mayor tasa de mortalidad (Abagli and Alavo, 2019).

Se ha reportado la presencia de mermítidos en huecos de árbol, sin embargo, no es algo cotidiano (Petersen, 1973). La distribución de los mermítidos es una cuestión complicada ya que solo se desarrollan en huéspedes larvarios y éstos

mueren antes de emerger del hábitat, por lo que la capacidad de los mermítidos de diseminarse es limitada, y por ello, encontrarlos, es un hallazgo de relevancia (Petersen, 1985).

Los mermítidos empleados como control biológico de plagas, pueden ser distribuidos en su forma preparasítica con una bomba de pulverización manual o aérea al medio ambiente, de igual forma, puede diseminarse su forma posparasitica directamente al suelo húmedo en el medio ambiente (Ghoneim and Bakr, 2024).

El objetivo de este trabajo fue localizar el parásito *D. immitis* en las especies de mosquitos colectadas en el estado de Aguascalientes, ya que no se encontró literatura al respecto del tema en cuestión, se hipotetizaba encontrar el parásito presente en al menos una especie recolectada, ya que la literatura indica que el nemátodo tiene una distribución mundial (Abdulkadir and Kebede, 2024) y debido al cambio climático se ha reducido el ciclo de vida, tanto de los mosquitos como del parásito, por lo que podría ser probable encontrar al parásito (Dixit *et al.*, 2024).

Sin embargo no se encontró *D. immitis* en los mosquitos recolectados, el análisis por medio de PCR, a pesar de ser una técnica diagnostica eficaz para determinar, en este caso un parásito, es sensible a la contaminación de la muestra, pudiendo arrojar falsos positivos o falsos negativos (Ercanbrack *et al.*, 2024, Lau *et al.*, 2024), además, la extracción efectiva del ADN de las muestras, y la conservación criogénica de las mismas, son factores fundamentales para obtener resultados confiables (Khurana *et al.*, 2021).

Otro factor importante a considerar, es el número de mosquitos analizados, ya que la cantidad de hembras alimentadas recolectadas fue menor a la esperada.

El hallazgo de mermítidos presentes en las zonas de colecta del presente trabajo, es un aspecto destacable, ya que los nematodos mermítidos utilizados para el control de vectores, son un importante método de control biológico; existen centros de investigación en México dedicados a la cría de mermítidos para su

producción masiva y posterior aplicación a criaderos artificiales de mosquitos, contribuyendo a reducir vectores de enfermedades que afectan a la salud pública del país (Pérez-Pacheco *et al.*, 2020). Por lo que encontrarlos representa un hecho relevante al haberlos encontrado de forma natural en el medio.

V. CONCLUSIONES

Dirofilaria immitis tiene una distribución cosmopolita, siendo capaz de ser transmitida por más de 80 especies de mosquitos culícidos, en este estudio, no se logró encontrar dicho parásito presente en las hembras colectadas mediante su estudio por PCR, se concluye que el tamaño de las muestras colectadas, y la preservación y almacenamiento de las mismas, fueron factores determinantes para encontrar negativas las muestras, no se descarta la idea de realizar más investigaciones para conocer si el parásito está presente en el estado.

Por otro lado, los nemátodos mermítidos pueden ser utilizados como control biológico de mosquitos vectores y se han reproducido artificialmente en condiciones de laboratorio para después introducirlos y ser probados en campo abierto, el hallazgo de estos parásitos de manera natural y parasitando larvas de mosquitos silvestres, implica un interesante descubrimiento entomológico que abre la puerta a realizar más estudios al respecto, para conocer de qué manera se instaló ahí el parásito y si existen más sitios con las condiciones necesarias para el desarrollo de los mismos.

REFERENCIAS

- ABAGLI, A. & ALAVO, T. 2019. Biocontrol of *Culex quinquefasciatus* using the insect parasitic nematode, *Romanomermis iyengari* (Nematoda: Mermithidae). *Tropical Biomedicine*, 36, 1003-1013.
- ABDULKADIR, M. & KEBEDE, I. A. 2024. A review of canine dirofilariasis and its zoonotic importance. *World Journal of Health and Medicine*, 2, 1-14.
- ABRAHAM, D. 2018. Biology of *Dirofilaria immitis*. In: GROUP, C. P. T. F. (ed.) *Dirofilariasis*.
- AFIFY, A. & POTTER, C. J. 2020. Insect repellents mediate species-specific olfactory behaviours in mosquitoes. *Malaria Journal*, 19, 1-10.
- AGBOLI, E., ZAHOU, J. B. Z., BADOLO, A. & JÖST, H. 2021. Mosquito-associated viruses and their related mosquitoes in west Africa. *Viruses*, 13, 1-28.
- ALONSO, J. A. M. 2022. Estudio de incidencia de *Dirofilaria immitis* en perros y gatos en Extremadura. *Badajoz Veterinaria*, 66-69.
- ALONSO, J. A. M., MORCHÓN, R., RODRÍGUEZ, S. N. G., ESCOLAR, I. R. & CARRETÓN, E. 2022. Dirofilariosis felina: Abordaje clínico y situación actual en España. *ARGOS*, 4-14.
- ALTSCHUL, S. F., GISH, W., MILLER, W., MYERS, E. W. & LIPMAN, D. J. 1990. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 215, 403-410.
- ALVARADO TORRES, H., VIVEROS SANTOS, V., TORRES MONZÓN, J. A., LÓPEZ ORDÓÑEZ, T., TORRES CHABLE, O. M. & CASAS MARTÍNEZ, M. 2019. Detección de *Dirofilaria Immitis* (Spirurida: Onchocercidae) en la comunidad de mosquitos (Diptera: Culicidae) de cementerios de la Región Soconusco, sur de México. *Entomología mexicana*, 6, 490-496.
- AMERICAN-HEARTWORM-SOCIETY 2023. Heartworm Images.
- BEAULIEU, M. R. S., FEDERICO, J. L. & REISKIND, M. H. 2020. Mosquito diversity and dog heartworm prevalence in suburban areas. *Parasites Vectors*, 13, 1-12.
- BENÍTEZ, M. O. P. 2018. Papel de los mosquitos del género *Aedes* en la transmisión de patógenos. *Revista Archivo Médico de Camagüey*, 22, 634-639.
- CANCRINI, G., MAGI, M., GABRIELLI, S., ARISPICI, M., TOLARI, F., DELL'OMODARME, M. & PRATI, M. C. 2006. Natural vectors of dirofilariasis in rural and urban areas of the Tuscan region, central Italy. *Journal of Medical Entomology*, 43, 574-579.
- CANTILLO, J. F. & PUERTA, L. 2021. Mosquitoes: Important sources of allergens in the tropics. *Frontiers in Allergy* 2, 1-11.
- CDC. 2019. *Dirofilariasis* [Online]. Laboratory identification of parasites of public health concern. Available: <https://www.cdc.gov/dpdx/dirofilariasis/index.html> [Accessed 29 2024].
- CHABLE, O. M. T., BAAK, C. M. B., TOLEDO, N. C., BLITVICH, B. J., ARGAEZ, L. G. B., KANTUN, Y. N. A., VERA, C. V. Z., JIMENEZ, G. A., PEREZ, L. G. M., PEREZ, P. M., WILLIAMS, C. I. M. & REJON, J. E. G. 2018.

- Molecular detection of *Dirofilaria immitis* in dogs and mosquitoes in Tabasco, Mexico. *Journal of Vector Borne Diseases*, 55, 151-158.
- CHAKAROVA, B. & MITEV, M. 2020. Human dirofilariasis: Current situation and possibilities for diagnosis. *Trakia Journal of Sciences*, 18, 388-395.
- CIRER, A. I., RODRÍGUEZ, E. B., MANZABA, M. J. & GAVILÁNEZ, M. C. 2019. Actualización clínica-epidemiológica infección humana por *Dirofilaria immitis* y otras filarias zoonóticas. *Journal of Science and Research*, 4, 1-17.
- DAHMANA, H. & MEDIANNIKOV, O. 2020. Mosquito-Borne Diseases Emergence/Resurgence and How to Effectively Control It Biologically. *Pathogens*, 9, 1-26.
- DEMIRCI, B., BEDIR, H., TASCI, G. T. & VATANSEVER, Z. 2021. Potential mosquito vectors of *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* (Spirurida: Onchocercidae) in Aras Valley, Turkey. *Journal of Medical Entomology*, 58, 906–912.
- DHANALAKSHMI, H. 2024. Parasitic zoonoses and one health. *Principles and practices of canine and feline clinical parasitic diseases*. Tanmoy Rana ed.
- DIXIT, B., KUMAR, R., DIXIT, A. K. & SINGH, A. K. 2024. Risk factors associated with parasitic diseases in dogs and cats. *Principles and practices of canine and feline clinical parasitic diseases*. Tanmoy Rana ed.
- DORMONT, L., MULATIER, M., CARRASCO, D. & COHUET, A. 2021. Mosquito Attractants. *Journal of Chemical Ecology*, 47, 351-393.
- DUVAL, P., LEYGONIE, C. A. & MORO, C. V. 2023. A review of knowledge, attitudes and practices regarding mosquitoes and mosquito-borne infectious diseases in nonendemic regions. *Frontiers in Public Health*, 1-12.
- EDGAR, R. C. 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, 32, 1792-1797.
- ELBRENSE, H., SHAMSELDEAN, M., MESHRIFF, W. S. & SEIF, A. I. 2022. The parasitic impact of *Romanomermis iyengari* (Nematoda: Mermithidae) on the survival and biology of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *African Entomology*, 30, 1-6.
- ELEFThERIANOS, I. & HERYANTO, C. 2021. Transcriptomic insights into the insect immune response to nematode infection. *Genes*, 12, 1-11.
- ERCANBRACK, C. W., RAHAL, D. A., CHAUHAN, M. Z., JABBEHDARI, S. & UWAYDAT, S. H. 2024. Utility of pan-bacterial and pan-fungal PCR in endophthalmitis: case report and review of the literature. *Journal of Ophthalmic Inflammation and Infection*, 14, 37.
- FERREIRA, C. A. C., MIXAO, V. D. P., NOVO, M. T. L. M., CALADO, M. M. P., GONCALVES, L. A. P., BELO, S. M. D. & ALMEIDA, A. P. G. D. 2015. First molecular identification of mosquito vectors of *Dirofilaria immitis* in continental Portugal. *Parasites & Vectors*, 8, 1-11.
- FLOURIZEL, I., NAKE, N.-E. & NAOMI, O. 2024. The use of larvivorous fish species to control malaria transmission in africa: A review. *International journal of fisheries and aquaculture research*, 10, 23-43.

- FUEHRER, H. P., MORELLI, S., UNTERKÖFLER, M. S., BAJER, A., LEBL, K. B., SZAREK, D. D., FARKAS, R., GRANDI, G., HEDDERGOTT, M., JOKELAINEN, P., KNIFIC, T., LESCHNIK, M., MITERPÁKOVÁ, M., MODRÝ, D., PETERSEN, H. H., SKÍRNISSON, K., RATAJ, A. V., SCHNYDER, M. & STRUBE, C. 2021. *Dirofilaria* spp. and *Angiostrongylus vasorum*: Current risk of spreading in central and northern Europe. *Pathogens* 10.
- GALLICHOTTE, E. N., DOBOS, K. M., EBEL, G. D., HAGEDORN, M., RASGON, J. L., RICHARDSON, J. H., STEDMAN, T. T. & BARFIELD, J. P. 2021. Towards a method for cryopreservation of mosquito vectors of human pathogens. *Cryobiology*, 99, 1-10.
- GAO, L., YANG, W. & WANG, J. 2023. Implications of mosquito metabolism on vector competence. *Insect Science*, 1-9.
- GARCÍA RODRÍGUEZ, S. N., MATOS RIVERO, J. I., FALCÓN CORDÓN, Y., COSTA RODRÍGUEZ, N., CARRETÓN GÓMEZ, E. & MONTOYA ALONSO, J. A. 2022. Dirofilariosis cardiopulmonar felina: Enfoque clínico para un problema oculto. *Profesión veterinaria*, 16-21.
- GHONEIM, K. & BAKR, R. F. A. 2024. Entomopathogenic nematodes and their symbiotic bacteria as bioagents to combat the mosquito vectors of human diseases in the world: A comprehensive review. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences*, 16, 41-126.
- GLOBAL-BIODIVERSITY-INFORMATION-FACILITY. 2024. *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) Railliet & Henry, 1911 [Online]. Available: <https://www.gbif.org/es/species/5188737> [Accessed 2024].
- HADEBE, M. T., MALGWI, S. A. & OKPEKU, M. 2024. Revolutionizing malaria vector control: The importance of accurate species identification through enhanced molecular capacity. *Microorganisms*, 12.
- HAMED, A. M. R., S.EL-SHERBINI, M. & ABDELTAWAB, M. S. A. 2022. Eco friendly mosquito control strategies: Advantages and disadvantages. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences*, 14, 17-31.
- HARRISON, B., BYRD, B., SITHER, C. & WHITT, P. 2016. *The mosquitoes of the mid-atlantic region: An identification guide*, Cullowhee, NC, Western Carolina University.
- HARWOOD, R. F. & JAMES, M. T. 1993. *Entomología médica y veterinaria*.
- HILLARY, V. E., CEASAR, S. A. & IGNACIMUTHU, S. 2023. Efficacy of plant products in controlling disease vector mosquitoes, a review. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 172, 195-214.
- HONGMEI, L., JIANHAI, Y., JIANPING, C., XIAODAN, H., CHUANHUI, Z., YE, Z., MAOQING, G. & CHUANHUI, Z. 2024. Mosquito Gut Microbiota: A Review. *Pathogens*, 13, 21.
- INEGI. 2020. *Aguascalientes* [Online]. Available: https://cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/ags/territorio/div_municipal.aspx?tema=me&e=01 [Accessed].
- JERŠE, M. 2022. Pulmonary coin lesion caused by *dirofilaria immitis* – A report of two cases with a minireview of the literature. *Polish Journal of Pathology*, 73, 352-358.

- JITSAMAI, W., PIROMKIJ, P., KAMKONG, P., CHUNGPIVAT, S. & Taweethavonsawat, P. 2021. Seasonal distribution and environmental parameters associated with *Brugia pahangi* and *Dirofilaria immitis* in naturally infected dogs in Bangkok and vicinity, Thailand. *Scientific Reports* 11, 1-7.
- KARUNARATNE, S. & SURENDRAN, S. 2022. Mosquito control: A review on the past, present and future strategies. *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*, 50, 277-292.
- KHURANA, S., SINGH, S. & MEWARA, A. 2021. Diagnostic techniques for soil-transmitted helminths – Recent advances. *Research and Reports in Tropical Medicine*, 12, 181-196.
- KOJIN, B. B., COMPTON, A., ADELMAN, Z. N. & TU, Z. 2022. Selective targeting of biting females to control mosquito-borne infectious diseases. *Trends in Parasitology*, 38, 791-804.
- KONISHI, E. 1990. Entomological aspects of human dirofilariasis and *Dirofilaria immitis* infections. *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology*, 2, 88-101.
- KUMAR, A., RANA, T., BHATT, S. & KUMAR, A. 2024. Insecta infestations in dogs and cats. *Principles and practices of canine and feline clinical parasitic diseases*. Tanmoy Rana ed.
- KUMAR, D., NAGAL, P., SIDHU, H. S., RANGA, P., KUMARI, P. J. E. & ECOLOGY 2023. Role of Mermithid Nematodes in the Management of Agricultural and Household Insect Pests: A review. 41, 2890-2899.
- LAGO, L. C., LOPEZ, M. J. R., FIGUEROLA, J. & PUENTE, J. M. D. L. 2021. Implications of diet on mosquito life history traits and pathogen transmission. *Environmental Research*, 195, 1-10.
- LAHONDÈREA, C., VINAUGERA, C., OKUBOA, R. P., WOLFFA, G. H., CHANA, J. K., AKBARIB, O. S. & RIFFELLA, J. A. 2020. The olfactory basis of orchid pollination by mosquitoes. *PNAS* 117, 708 - 716.
- LAI DOUDI, Y., RINGOT, D., GRILLOT, S. W., DAVOUST, B. & MEDIANNIKOV, O. 2019. A cardiac and subcutaneous canine dirofilariosis outbreak in a kennel in central France. *Parasite*, 26, 1 - 8.
- LAU, D. C.-W., POWER, R. I. & SLAPETA, J. 2024. Exploring multiplex qPCR as a diagnostic tool for detecting microfilarial DNA in dogs infected with *Dirofilaria immitis*: A comparative analysis with the modified Knott's test. *Veterinary Parasitology*, 325, 1-6.
- LESCHNIK, M. 2020. Focus on common small animal vector-borne diseases in central and southeastern Europe. *Acta Veterinaria-Beograd* 70, 147-169.
- LJUBICA, S. K. & VESNA, L. 2020. Dog heartworm disease is here to stay: The most important aspects of clinical relevance. *Veterinarski Glasnik* 74, 125-145.
- LÓPEZ, A. M., RADUWAN, H., CHEN, T. Y., TRIGO, S. U., WOLFHARD, D. P. & FIKRIG, E. 2023. Mosquito salivary proteins and arbovirus infection: From viral enhancers to potential targets for vaccines. *Pathogens*, 12, 1-16.
- LOZANO, R. D. & MORALES, F. C. 2021. *Cría de mosquitos Culicidae y evaluación de insecticidas de uso en salud pública*, Cuernavaca, México.

- MAGGI, R. G. & KRÄMER, F. 2019. A review on the occurrence of companion vector-borne diseases in pet animals in Latin America. *Parasites & Vectors*, 12, 1-37.
- MARTINET, J.-P., AATIF, I., DEPAQUIT, J., MARTINET, J.-P., AATIF, I. & DEPAQUIT, J. 2023. Three *Aedes* species infested by mermithids in France. *Parasite - Journal de la Société Française de Parasitologie*, 30.
- MARTINEZ, J., SHOWERING, A., OKE, C., JONES, R. T. & LOGAN, J. G. 2021. Differential attraction in mosquito-human interactions and implications for disease control. *Philosophical Transactions Royal Society*, 376.
- MCGILL, E., BERKE, O., PEREGRINE, A. S. & WEESE, S. 2019. Epidemiology of canine heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection in domestic dogs in Ontario, Canada: Geographic distribution, risk factors and effects of climate. *Geospatial Health*, 14, 17-24.
- MCKAY, T., BIANCO, T., RHODES, L. & BARNETT, S. 2013. Prevalence of *Dirofilaria immitis* (Nematoda: Filarioidea) in mosquitoes from northeast Arkansas, the United States. *Journal of Medical Entomology*, 50, 871-878.
- MELGAREJO-COLMENARES, K., CARDO, M. V. & VEZZANI, D. 2022. Blood feeding habits of mosquitoes: Hardly a bite in South America. *Parasitology Research* 121, 1829-1852.
- MESEKO, C., OCHAI, P. & MAINA, M. 2024. Anthroponoses: humans infecting animals with infectious diseases. *Academia Biology*, 2.
- METZGER, M. E., WEKESA, J. W., KLUH, S., FUJIOKA, K. K., SAVISKAS, R., ARUGAY, A., MCCONNELL, N., NGUYEN, K., KRUEGER, L., HACKER, G. M., HU, R. & KRAMER, V. L. 2021. Detection and establishment of *Aedes notoscriptus* (Diptera: Culicidae) mosquitoes in southern California, United States. *Journal of Medical Entomology*, 59, 67-77.
- MORCHÓN GARCÍA, R., CARRETÓN GÓMEZ, E., BUENO MARÍ, R. & SÁNCHEZ GÓMEZ, D. 2020. Enfermedad parasitaria sanguínea, su transmisión potencial e infección en perros domésticos en Ávila. *Cuadernos Abulenses*, 49, 117-138.
- MORCHÓN, R., ALONSO, J. A. M., ESCOLAR, I. R. & CARRETÓN, E. 2022. What has happened to heartworm disease in Europe in the last 10 years?. *Pathogens*, 11, 1-19.
- MORCHÓN, R., CARRETÓN, E., GONZÁLEZ-MIGUEL, J. & MELLADO-HERNÁNDEZ, I. 2012. Heartworm disease (*Dirofilaria immitis*) and their vectors in Europe - new distribution trends. *Frontiers in Physiology*, 3, 11.
- MSD-SALUD-ANIMAL. 2023. *Dirofilaria immitis* en perros: Una zoonosis presente en todo el mundo. [Online]. Available: [https://www.universodelasaludanimal.com/animales-de-compania/dirofilaria-immitis-en-perros-una-zoonosis-presente-en-todo-el-mundo/#:~:text=El%20n%C3%BAmero%20estimado%20de%20perros,Dirofilaria%20se%20distribuye%20aproximadamente%20en%3A&text=148%20millones%20de%20perros%20en,en%20Latinoam%C3%A9rica%20y%20Europa%20respectivamente](https://www.universodelasaludanimal.com/animales-de-compania/dirofilaria-immitis-en-perros-una-zoonosis-presente-en-todo-el-mundo/#:~:text=El%20n%C3%BAmero%20estimado%20de%20perros,Dirofilaria%20se%20distribuye%20aproximadamente%20en%3A&text=148%20millones%20de%20perros%20en,en%20Latinoam%C3%A9rica%20y%20Europa%20respectivamente.). [Accessed].
- MUNAWAR, K., ALAHMED, A. M. & KHALIL, S. M. S. 2020. Delivery methods for RNAi in mosquito larvae. *Journal of Insect Science*, 20, 8.

- MWINGIRA, V., MBOERA, L. E. G., DICKE, M. & TAKKEN, W. 2020. Exploiting the chemical ecology of mosquito oviposition behavior in mosquito surveillance and control: A review. *Journal of Vector Ecology*, 45, 155-179.
- NEBBAK, A., ALMERAS, L., PAROLA, P. & BITAM, I. 2022. Mosquito vectors (Diptera: Culicidae) and mosquito-borne diseases in north Africa. *Insects*, 13, 1-24.
- NOACK, S., HARRINGTON, J., CARITHERS, D. S., KAMINSKY, R. & SELZER, P. M. 2021. Heartworm disease – Overview, intervention, and industry perspective. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance* 65-89.
- ONG, O. T. W., SKINNER, E. B., JOHNSON, B. J. & OLD, J. M. 2021. Mosquito-borne viruses and non-human vertebrates in Australia: A review. *Viruses*, 13, 1-22.
- ONG, S.-Q., PAUZI, M. B. M. & GAN, K. H. 2022. Text mining in mosquito-borne disease: A systematic review. *Acta Tropica*, 231, 1-7.
- ONYANGO, M. G., CIOTA, A. T. & KRAMER, L. D. 2020. The vector - host - pathogen interface: The next frontier in the battle against mosquito-borne viral diseases? *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10, 1-7.
- ORTEGA-MORALES, A. I. 2018. Los mosquitos. *La biodiversidad en Coahuila*. Coahuila de Zaragoza, México: CONABIO.
- PANARESE, R., IATTA, R., BEUGNET, F. & OTRANTO, D. 2022. Incidence of *Dirofilaria immitis* and *Leishmania infantum* infections in sheltered dogs from Southern Italy. *Transboundary and Emerging Diseases*, 69, 891-894.
- PANARESE, R., MOORE, R., PAGE, A. P., MCDONALD, M., MACDONALD, E. & WEIR, W. 2023. The long-distance relationship between *Dirofilaria* and the UK: Case report and literature review. *Frontiers in Veterinary Science*, 10, 1-7.
- PANTHOT, J. 1679. Extrait d'une lettre écrite de Lyon à l'auteur di Journal par messieur Panthot D. med & professeur aggregé au collège de Lyon, contenant deux observations remarquables. *Journal des Sçavans*, 6, 238-240.
- PENNISI, M. G., TASKER, S., HARTMANN, K., BELÁK, S., ADDIE, D., BARALON, C. B., EGBERINK, H., FRYMUS, T., LEHMANN, R. H., HOSIE, M., LLORET, A., MARSILIO, F., THIRY, E. & MÖSTL, U. T. A. K. 2020. Dirofilarioses in cats european guidelines from the ABCD on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 22, 442-451.
- PÉREZ-PACHECO, R., GRANADOS-ECHEGOYEN, C., RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, C. & PLATZER, E. G. 2020. Establecimiento y Reciclaje de Nematodos *Romanomermis culicivorax* para El Control de Larvas de Mosquitos *Culex quinquefasciatus* en Criaderos Artificiales. *Southwestern Entomologist*, 45, 1009-1024.
- PERVEEN, N., MUHAMMAD, K., MUZAFFAR, S. B., ZAHEER, T., MUNAWAR, N., GAJIC, B., SPARAGANO, O. A., KISHORE, U. & WILLINGHAM, A. L.

2023. Host-pathogen interaction in arthropod vectors: Lessons from viral infections. *Frontiers in Immunology*, 14, 1-11.
- PETERSEN, J. J. 1973. Role of mermithid nematodes in biological control. *Experimental parasitology*, 33, 239-247.
- PETERSEN, J. J. 1985. Nematodes as biological control agents: Part I. Mermithidae. In: BAKER, J. R. & MULLER, R. (eds.) *Advances in Parasitology*. Academic Press.
- PRASAD, H. L. K., RAO, C., LOBO, L., CHAKRAVARTHY, A., PRABHU, S. & SHETTY, K. J. 2019. Dirofilariasis mimicking as a breast tumor: A report of two cases. *Medical Journal of Dr. D.Y. Patil Vidyapeeth*, 12, 550-552.
- PRICHARD, R. K. 2021. Macrocyclic lactone resistance in *Dirofilaria immitis*: risks for prevention of heartworm disease. *International Journal for Parasitology*, 51, 1121-1132.
- REYES CLIMACO, L., ROMERO NUNEZ, C. & HEREDIA CARDENAS, R. 2020. Evaluación de enfermedades transmitidas por vectores en perros de un área de clima Sub-frío de México. *Acta Biológica Colombiana*, 25, 219-224.
- RIahi, S. M., YUSUF, M. A., AZARI-HAMIDIAN, S. & SOLGI, R. 2021. Prevalence of *Dirofilaria immitis* in mosquitoes (Diptera) - Systematic review and meta-analysis. *Journal of Nematology*, 53, 13.
- RODRÍGUEZ, P. R., GONZÁLEZ, E. G., SOTOMAIOR, C. S., BURGOS, B. P., VALLADOLID, G. O., RUIZ, P. H. & COVARRUBIAS, J. P. 2019. Prevalencia de *Dirofilaria immitis* en caninos domésticos de dos municipios del trópico de Guerrero, México. *ABANICO VETERINARIO*, 9, 12-27.
- ROMERO, H. Q. 1990. Filariasis. In: C.V., L. S. A. D. (ed.) *Parasitología*. México.
- SCAVO, N. A., ZECCA, I. B., SOBOTYK, C., SALEH, M. N., LANE, S. K., OLSON, M. F., HAMER, S. A., VEROCAI, G. G. & HAMER, G. L. 2022. High prevalence of canine heartworm, *Dirofilaria immitis*, in pet dogs in south Texas, USA, with evidence of *Aedes aegypti* mosquitoes contributing to transmission. *Parasites & Vectors*, 15, 1-9.
- SHAIKEVICH, E., BOGACHEVA, A. & GANUSHKINA, L. 2019. *Dirofilaria* and *Wolbachia* in mosquitoes (Diptera: Culicidae) in central European Russia and on the Black Sea coast. *Parasite* 26, 1-12.
- SHI, H., YU, X. & CHENG, G. 2023. Impact of the microbiome on mosquito-borne diseases. *Protein Cell*, 14, 743-761.
- SINGH, P., GOYAL, S., GUPTA, S., GARG, S., TIWARI, A., RAJPUT, V., BATES, A. S., GUPTA, A. K. & GUPTA, N. 2023. Combinatorial encoding of odors in the mosquito antennal lobe. *Nature communications*, 14, 1-19.
- SOTO, A. & DELANG, L. 2023. *Culex modestus*: The overlooked mosquito vector. *Parasites & Vectors*, 16, 1-14.
- SWART, M. M. D., BALVERS, C., VERHULST, N. O. & KOENRAADT, C. J. M. 2023. Effects of host blood on mosquito reproduction. *Trends in Parasitology*, 39, 575-585.

- THILAKARATHNE, S. S., YUEN, N. K. Y., HASSAN, M. M., YAHATHUGODA, T. C. & ABDULLAH, S. 2023. Animal and human dirofilariasis in India and Sri Lanka: A systematic review and meta-analysis. *Animals* 13.
- THONGSRIPONG, P., HYMAN, J. M., KAPAN, D. D. & BENNETT, S. N. 2021. Human–mosquito contact: A missing link in our understanding of mosquito-borne disease transmission dynamics. *Annals of the Entomological Society of America*, 114, 397-414.
- TRUJILLO-GONZÁLEZ, A., PÉREZ-PACHECO, R., REALPE, E., GRANADOS-ECHEGOYEN, C., PLATZER, E. G., DONAJÍ ORTIZ-HERNÁNDEZ, Y. & ESPINOSA-RODRÍGUEZ, M. 2021. Effect of Habitat Complexity on Parasitic Efficiency of *Romanomermis iyengari* on Larvae of the Mosquito *Culex quinquefasciatus*. *Southwestern Entomologist*, 46, 657-665.
- UBLEIS, S. S., CUK, C., NAWRATIL, M., BUTTER, J., SCHOENER, E., OBWALLER, A. G., ZECHMEISTER, T., DUSCHER, G. G., RUBEL, F., LEBL, K., ZITTRA, C. & FUEHRER, H. P. 2018. Xenomonitoring of mosquitoes (Diptera: Culicidae) for the presence of filarioid helminths in eastern Austria. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*, 1-6.
- VELU, R. M., KWENDA, G., LIBONDA, L., CHISENGA, C. C., FLAVIEN, B. N., CHILYABANYAMA, O. N., SIMUNYANDI, M., BOSOMPRAH, S., SANDE, N. C., CHANGULA, K., MULEYA, W., MBURU, M. M., MUBEMBA, B., CHITANGA, S., TEMBO, J., BATES, M., KAPATA, N., ORBA, Y., KAJIHARA, M., TAKADA, A., SAWA, H., CHILENGI, R. & SIMULUNDU, E. 2021. Mosquito-borne viral pathogens detected in Zambia: A systematic review. *Pathogens*, 10, 1-15.
- VILLEGAS, H. Á. & ANGÓN, A. C. 2021. *La biodiversidad en Aguascalientes: Estudio de estado.*, Aguascalientes.
- WANG, Z.-Y., NIE, K.-X., NIU, J.-C. & CHENG, G. 2023. Research progress toward the influence of mosquito salivary proteins on the transmission of mosquito-borne viruses. *Insect Science*, 1-11.
- WHEELER, N. J., AIRSI, P. M. & ZAMANIAN, M. 2020. Long-read RNA sequencing of human and animal filarial parasites improves gene models and discovers operons. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 1-22.
- WONG, M. L., ZULZHRIN, Z., VYTHILINGAM, I., LAU, Y. L., SAM, I.-C., FONG, M. Y. & LEE, W.-C. J. F. I. M. 2023. Perspectives of vector management in the control and elimination of vector-borne zoonoses. 14, 1135977.
- WOODING, M., NAUDÉ, Y., ROHWER, E. & BOUWER, M. 2020. Controlling mosquitoes with semiochemicals: a review. *Parasites & Vectors*, 13, 1-20.
- WYSMOŁEK, M. E., DOBRZYNSKI, A., DŁUGOSZ, E., CZOPOWICZ, M., WISNIEWSKI, M., JURKA, P. & KLOCKIEWICZ, M. 2020. Hematological and biochemical changes in dogs naturally infected with *dirofilaria repens*. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, 13-20.
- YOUNES, L., CARDI, H. B., BEDJAOU, S., AYHAN, N., VARLOUD, M., MEDIANNIKOV, O., OTRANTO, D. & DAVOUST, B. 2021. *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* in mosquitoes from Corsica Island, France. *Parasites Vectors*, 14, 1-7.