

TEZĂ DE DOCTORAT

Patogeni transmiși prin vectori la câini în Galapagos în contextul medicina conservaționiste

Doctorand **Carla-Andreea CULDA**

Conducător de doctorat **Prof. dr. Andrei D. MIHALCA,
DipECZM**



ABSTRACT

Colonizarea arhipelagului a început odată cu sosirea piraților și vânătorilor de balene în secolele XVI și XVIII, conducând la aproape dispariția mai multor specii, inclusiv a unor specii de țestoase gigantice; consecință a vânătorii intense (Jackson, 1993; Townsend, 1925; Conrad și Gibbs, 2021; Jimenez et al., 2024). Introducerea animalelor domestice și a speciilor invazive, inclusiv șobolanii negri și șoareci de casă, au agravat și mai mult presiunile antropogenice asupra faunei locale (MacFarland et al., 1974; Smith, 1979; Phillips et al., 2012; Jimenez et al., 2024). Deși impactul direct al speciilor invazive asupra faunei endemice a fost bine documentat, efectele paraziților asociați acestor gazde invazive rămân insuficient explorate. Aceasta reprezintă o zonă critică pentru investigații suplimentare și de asemenea reprezintă o amenințare continuă asupra biodiversității unice a Insulelor Galapagos.

Leul de mare endemic din Galapagos (*Zalophus wollebaeki*), clasificat ca fiind în pericol de dispariție de către IUCN, a înregistrat scăderi semnificative ale populației, în special în coloniile din apropierea așezărilor umane, cum ar fi Puerto Baquerizo Moreno, unde se află cea mai mare populație (Páez-Rosas și Guevara, 2017; Páez-Rosas et al., 2020; Ruiz-Saenz et al., 2023). Prevalența câinilor domestici și a celor care se plimbă liber pe cele patru insule locuite crește riscul transmiterii patogenilor. Deși investigațiile asupra paraziților proveniți de la câini, în Galapagos au fost deestul de limitate, studiile sugerând o diversitate mare de patogeni, ectoparaziți, cum ar fi căpușele, care reprezintă amenințări semnificative asupra animalele domestice, faunei sălbatică și oamenilor. Populația de câini care se plimbă liber este susceptibilă la infestările cu căpușe, fiind posibili rezervori (gazde definitive) pentru o gamă de paraziți și patogeni.

Teza explorează epidemiologia patogenilor transmiși prin intermediul vectorilor la câinii domestici în cadrul Insulelor Galapagos, bazându-se pe liniile evolutive comune ale câinilor domestici (*Canis lupus familiaris*) și leilor de mare din Galapagos (*Z. wollebaeki*). Obiectivul general al studiului a fost de a determina distribuția și prevalența acestor patogeni pe insulele locuite, subliniind potențialul de transmitere al patogenilor către fauna sălbatică. Obiectivele specifice au inclus evaluarea epidemiologiei patogenilor transmiși de vectori la câinii domestici din San Cristobal, Isabela, Santa Cruz și Floreana, înțelegerea ciclului de transmitere al *Dirofilaria immitis* prin identificarea populației de țânțari, evaluarea posibilelor gazde a țânțarilor în habitatele urbane și de coastă, și de asemenea explorarea rolului leilor de mare din Galapagos ca posibile gazde finale pentru *Dirofilaria immitis*.

Capitolul II.1 al tezei demonstrează prezența microfilaremiei *Dirofilaria immitis* în sângele câinilor pe Insula San Cristóbal. Studiile anterioare din alte insule din Galapagos au evaluat prezența anticorpilor sau antigenelor (Barnett, 1985; Levy et al., 2008; Gingrich et al., 2010; Adams et al., 2016; Diaz et al., 2016; Jimenez et al., 2020) sau ADN-ul (Jimenez et al., 2020), însă această lucrare completează datele din literatură prin evaluarea directă a prezenței microfilaremiei în sângele câinilor. Prevalența (1,7%) a fost mai mică decât în Santa Cruz (6,9%) (Jimenez et al., 2020) și Isabela (34%) (Levy et al., 2008), dar mai mare decât în alte insule oceanice (Little et al., 2011; Montoya-Alonso et al., 2011). Studiul a subliniat importanța factorilor climatici (Montarsi et al., 2015; Younes et al., 2021) și a prezenței țânțarilor ca vectori (Meriem-Hind și Mohamed, 2009; Ledesma și Harrington, 2015; Torres și Mena, 2018; Šebesta et al., 2011; Montero-Serra

Vector-borne pathogens of dogs in Galapagos in the context of conservation medicine

et al., 2014) în ciclul biologic endemic. Câini pozitivi au fost localizați în apropierea leilor de mare din Galapagos, ceea ce ridică îngrijorări cu privire la posibila transmitere către această specie pe cale de dispariție. Descoperirea cheie a studiului este prezența microfilarilor, *D. immitis*, la câinii domestici, care reprezintă o sursă potențială de infecție pentru leul de mare din Galapagos datorită proximității lor. Cercetările viitoare ar trebui să examineze prevalența pe alte insule și să investigheze ciclul de transmitere și țânțari ca vectori pentru ajuta la conservarea leului de mare.

Capitolul II.2 din teza extinde datele existente despre patogenii transmiși prin intermediul vectorilor la câini în arhipelagul Galapagos. Prevalența *D. immitis*, *Babesia vogeli* și *Hepatozoon canis* a fost determinată folosind metode moleculare. Prezența *B. vogeli* și *H. canis* la câini este raportată pentru prima dată în insulele Galapagos. Prevalența mai mare a *D. immitis* la câinii mai în vîrstă este susținută de studiile anterioare (Montoya-Alonso et al., 2006; Yaman et al., 2009; Montoya-Alonso et al., 2011). Actualul studiu a subliniat de asemenea rolul potențial al pisicilor ca rezervor neglijat (Gingrich et al., 2010; Torres și Mena, 2018; Ash, 1962; Traversa et al., 2010; Simón et al., 2012; Pennisi et al., 2020). Importanța *D. immitis* pentru medicina conservaționistă a fost subliniată din cauza potențialei sale transmisii către leii de mare din Galapagos. Studiul a oferit de asemenea prima raportare despre *B. vogeli* și *H. canis* în insulele locuite din arhipelag.

Capitolul II.3 evidențiază interacțiunile ecologice cheie dintre țânțari și sursele lor de hrănă. Ciclu de viață al țânțarilor este puternic influențat de climă, habitat și disponibilitatea gazdelor (Thiemann et al., 2011; Simpson et al., 2012; Asigau et al., 2019). *Aedes aegypti* a arătat o preferință din apropierea oamenilor (Causton et al., 2006; Asigau et al., 2017; Asigau et al., 2019), în timp ce *Aedes taeniorhynchus* a preferat habitatele de coastă (Barnett, 1985; Asigau și Parker, 2018; Asigau et al., 2019; Becker et al., 2020). *Culex quinquefasciatus* a demonstrat un comportament de hrănire oportunist, adaptându-se la medii urbane și de mangrove (Zinser et al., 2004; Takken și Verhulst, 2013; Asigau et al., 2019). Modelele de hrănire observate evidențiază rolul crucial al urbanizării în modelarea selecției și disponibilității gazdelor de către țânțari. Această cercetare demonstrează relațiile complexe dintre speciile de țânțari și gazde. Adaptabilitatea lui *C. quinquefasciatus* îmbunătățește rolul său în transmiterea patogenilor. Cercetări suplimentare sunt necesare pentru a înțelege cum aceste dinamici ar putea informa prevenirea sănătății umane și a animalelor.

Capitolul II.4 oferă date epidemiologice noi privind *D. immitis* la pinipede. Studiul a constatat un caz pozitiv de microfilarie, *D. immitis*, la un leu de mare din Galapagos, sugerând că această specie ar putea fi gazdă definitivă pentru acest parazit. Monitorizarea și strategiile de conservare eficiente sunt cruciale.

Pentru a concluziona teza, Capitolul II.5 prezintă prima confirmare moleculară a *A. phagocytophilum* în Galapagos. O prevalență ridicată (20,3%) la câini a fost observată, împreună cu *A. platys*. Studiul sugerează că *Rhipicephalus linnaei* ar putea fi un vector (Šlapeta et al., 2022; Almazán et al., 2024; Teo et al., 2024; Nieto-Cabrales et al., 2024) în vederea transmiterii a *A. phagocytophilum* și *A. platys*, evidențiind răspândirea globală a speciei *Anaplasma* și preocupările de sănătate publică.

Teza a identificat mai multe constatări esențiale: prezența *D. immitis* în câinii domestici indicând un risc pentru leii de mare din Galapagos, care sunt în pericol de dispariție, în special în apropierea populațiilor canine; adaptabilitatea lui *C. quinquefasciatus* ca vector crește riscul de transmitere a patogenilor; iar detectarea

Vector-borne pathogens of dogs in Galapagos in the context of conservation medicine microfilariei de *D. immitis* la leii de mare din Galapagos sugerează posibilul rol ca gazde definitive. Identificarea căpușei, *R. linnaei* ca posibil vector pentru *Anaplasma* spp., *Babesia vogeli* și *Hepatozoon canis* intervine în înțelegerea dinamicii patogenilor transmiși de căpușe în arhipelag.

Având în vedere aceste constatări, cercetările viitoare ar trebui să se concentreze pe dezvoltarea unor strategii de conservare pentru a reduce riscurile de transmitere a patogenilor către fauna sălbatică, endemică. Acest lucru necesită o supraveghere continuă și intervenții specifice. Colaborarea între autoritățile locale, organizațiile de conservare și entitățile de sănătate publică este esențială în vederea dezvoltării unor strategii integrate de control al vectorilor și managementul sănătății faunei sălbatice în acest ecosistem unic și vulnerabil. Această cercetare îmbunătățește înțelegerea asupra dinamicii bolilor zoonotice în Galapagos și subliniază necesitatea unor strategii proactive de conservare.

Referințe

1. Adams, D.J., Rosenberg, D. E., & Yirui, H. (2016). Prevalence of vector-borne diseases in a sample of client-owned dogs on Santa Cruz in the Galápagos Islands: A pilot study. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports* 6: 28–30.
2. Almazán, C., Rodríguez, L. T., Alanazi, A. D., & Šlapeta, J. (2024). American mitogenome reference for the tropical brown dog tick, *Rhipicephalus linnaei* (Audouin, 1826). *Current Research in Parasitology & Vector-Borne Diseases*, 100194.
3. Ash, L.R. (1962). Helminth Parasites of Dogs and Cats in Hawaii. *J. Parasitol. Res.*, 48, 63–65.
4. Asigau, S., Hartman, D. A., Higashiguchi, J. M., & Parker, P. G. (2017). The distribution of mosquitoes across an altitudinal gradient in the Galapagos Islands. *J Vector Ecol.* 42(2):243–253.
5. Asigau, S., Parker, P.G. (2018). The influence of ecological factors on mosquito abundance and occurrence in Galápagos. *J Vector Ecol.* 43:125–137.
6. Asigau, S., Salah, S., Parker, P.G. (2019). Assessing the blood meal hosts of *Culex quinquefasciatus* and *Aedes taeniorhynchus* in Isla Santa Cruz, Galápagos. *Parasites & vectors*. 12, 1-10.
7. Barnett, B. D. (1985). Impact of domestic dog populations in the Galápagos: prevalence and transmission of canine heartworm. In: Dogs of the Galápagos Islands: Evolution, Ecology, Impact and Control. University of California, Davis Doctoral dissertation. (Retrieved from University Microfilms International Dissertation Abstracts database. Accession No. 852195).
8. Becker, N., Petrić, D., Zgomba, M., Boase, C., Madon, M.B., Dahl, C., & Kaiser, A. (2020). *Mosquitoes: identification, ecology and control*. Springer Nature.
9. Causton, C. E., Peck, S. B., Sinclair, B. J., Roque-Albelo, L., Hodgson, C. J., & Landry, B. (2006). Alien insects: threats and implications for conservation of Galápagos Islands. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 99(1): 121-143.
10. Conrad, C., & Gibbs, J. P. (2021). "The era of exploitation: 1535–1959," in Galápagos giant tortoises. biodiversity of world: Conservation from genes to landscapes. Eds. Gibbs, J. P., Cayot L. J., & Tapia, W. A. (Cambridge: Academic Press), 63–81.
11. Diaz, N. M., Mendez, G. S., Grijalva, C. J., Walden, H. S., Cruz, M., Aragon, E., & Hernandez, J. A. (2016). Dog overpopulation and burden of exposure to canine distemper virus and other pathogens on Santa Cruz Island, Galapagos. *Preventive Veterinary Medicine* 123:128–137.
12. Gingrich, E., Scorza, A., Clifford, E., Olea-Popelka, F., & Lappin, M. (2010). Intestinal parasites of dogs on the Galapagos Islands. *Vet Parasitol.* 2010, 169, 404–407.
13. Jackson, M. H. (1993). *Galápagos: a natural history*. University of Calgary press.
14. Jimenez, I. A., Mariño, P. A. V., Stapleton, G. S., Prieto, J. B., & Bowman, D. D. (2020). Canine vector-borne disease in domestic dogs on Isla Santa Cruz, Galápagos. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*.
15. Jimenez, I. A., Vega-Mariño, P. A., Villacres, T., & Houck, E. L. (2024). Review of One Health in the Galapagos Islands (Part 1): historical perspective, invasive species, and emerging infectious diseases. *Front. Conserv. Sci.*, 5:1351707.
16. Ledesma, N., & Harrington, L. (2015). Fine-scale temperature fluctuation and modulation of *Dirofilaria immitis* larval development in *Aedes aegypti*. *Vet. Parasitol.* 209, 93–100.
17. Levy, J. K., Crawford, P. C., Lappin, M. R., Dubovi, E. J., Levy, M. G., Alleman, R., Tucker, S. J., & Clifford, E. L. (2008). Infectious diseases of dogs and cats on Isabela Island, Galápagos. *J. Vet. Intern. Med.* 22, 60–65.
18. Little, S., Braff, J., Place, J., Buch, J., Dewage, B. G., Knupp, A., & Beall, M. (2021). Canine infection with *Dirofilaria immitis*, *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma* spp., and *Ehrlichia* spp. in the United States, 2013–2019. *Parasites Vectors*. 14, 10.

Vector-borne pathogens of dogs in Galapagos in the context of conservation medicine

19. MacFarland, C. G., Villa, J., & Toro, B. (1974). The Galápagos giant tortoises (*Geochelone elephantopus*) part I: status of the surviving populations. *Biol. Conserv.* 6, 118–133.
20. Meriem-Hind, B. M., & Mohamed, M. (2009). Prevalence of canine *Dirofilaria immitis* infection in the city of Algiers, Algeria. *Afr. J. Agric. Res.* 4, 1097–1100.
21. Montarsi, F., Ciocchetta, S., Devine, G., Ravagnan, S., Mutinelli, F., Di Regalbono, A. F., Otranto, D., & Capelli, G. (2015). Development of *Dirofilaria immitis* within the mosquito *Aedes* (Finlaya) koreicus, a new invasive species for Europe. *Parasites Vectors* 2015, 8, 177.
22. Montero-Serra, I., Páez-Rosas, D., Murillo, J., Vegas-Vilarrúbia, T., Fietz, K., & Denkinger, J. (2014). Environment-driven changes in terrestrial habitat use and distribution of the Galapagos sea lion. *Endanger. Species Res.* 24, 9–19.
23. Montoya-Alonso, J. A., Morales, M., Juste, M. C., Banares, A., Simon, F., & Genchi, C. (2006). Seroprevalence of canine heartworm disease (*Dirofilaria immitis*) in Tenerife island: An epidemiological update. *Parasitol. Res.* 100, 103–105.
24. Montoya-Alonso, J., Carretón, E., Corbera, J.A., Juste, M., Mellado, I., Morchón, R., & Simón, F. (2011). Current prevalence of *Dirofilaria immitis* in dogs, cats and humans from the island of Gran Canaria, Spain. *Vet. Parasitol.* 176, 291–294.
25. Páez-Rosas, D., Guevara, N. (2017). Management strategies and conservation status in populations of Galapagos sea lion (*Zalophus wollebaeki*). In: Tropical Pinnipeds, Bio-Ecology, Threats and Conservation. CRC Press/Taylor & Francis Group. pp. 159–175.
26. Páez-Rosas, D., Moreno-Sánchez, X., Tripp-Valdez, A., Elorriaga-Verplacken, F., & Carranco-Narváez, S. (2020). Changes in the Galapagos sea lion diet as a response to El Niño-Southern Oscillation around the Archipelago. *Regional Studies in Marine Science*.
27. Pennisi, M. G., Tasker, S., Hartmann, K., Belák, S., Addie, D., Boucraut-Baralon, C., Egberink, H., Frymus, T., Hofmann-Lehmann, R., Hosie, M., et al. (2020). Dirofilarioses in cats: European guidelines from the ABCD on prevention and management. *J. Feline Med. Surg.* 22, 442–451.
28. Phillips, R. B., Wiedenfeld, D. A., & Snell H. L. 2012. Current status of alien vertebrates in the Galapagos Islands: invasion history, distribution, and potential impacts. *Biological Invasions* 14:461–480.
29. Ruiz-Saenz et al., 2023 Ruiz-Saenz, J., Barragan, V., Grijalva-Rosero, C. J., Diaz, E. A., Páez-Rosas, D. (2023). Sero- conversion in Galapagos Sea Lions (*Zalophus wollebaeki*) confirms the presence of canine distemper virus in rookeries of San Cristóbal Island. *Animals.* 13:3657.
30. Šebesta, O., Gelbic, I., & Peško, J. (2011). Daily and seasonal variation in the activity of potential vector mosquitoes. *Open Life Sci.* 2011, 6, 422–430.
31. Simón, F., Siles-Lucas, M., Morchón, R., González-Miguel, J., Mellado, I., Carretón, E., & Montoya-Alonso, J. A. (2012). Human and animal dirofilariasis: the emergence of a zoonotic mosaic. *Clin Microbiol Rev.* 25, 507–544.
32. Simpson, J. E., Hurtado, P. J., Medlock, J., Molaei, G., Andreadis, T.G., Galvani, A.P., & Diuk-Wasser, M.A. (2012). Vector host-feeding preferences drive transmission of multi-host pathogens: West Nile virus as a model system. *Proc R Soc B Biol Sci.* 279:925–933.
33. Šlapeta, J., Halliday, B., Chandra, S., Alanazi, A.D., & Abdel-Shafy, S. (2022) *Rhipicephalus linnaei* (Audouin, 1826) recognised as the “tropical lineage” of the brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato: Neotype designation, redescription, and establishment of morphological and molecular reference. *Ticks and Tick-borne Diseases.* 13(6), 102024.
34. Smith, G. T. C. (1979). Looking Back on Twenty Years of the Charles Darwin Foundation Vol. 30 (Charles Darwin Foundation. Noticias De Galápagos), 5–13.
35. Takken, W., & Verhulst, N.O. (2013). Host preferences of blood-feeding mosquitoes. *Annu Rev Entomol.*, 58:433–453.
36. Thiemann, T. C., Wheeler, S. S., Barker, C. M., & Reisen, W. K. (2011). Mosquito host selection varies seasonally with host availability and mosquito density. *PLoS Negl Trop Dis.* 5:e1452.
37. Torres and Mena, 2018; Torres, M. D. L., & Mena, C. F. (2018). Understanding invasive species in the Galapagos Islands: from the molecular to the landscape. Social and ecological interactions in the Galapagos Islands.
38. Townsend, C. H. (1925). The Galápagos tortoises in their relation to the whaling industry: A study of old logbooks. *Zoologica* 4, 55–135.
39. Traversa, D., Aste, G., Milillo, P., Capelli, G., Pampurini, F., Tunisi, C., Santori, D., Paoletti, B., & Boari, A. (2010). Autochthonous foci of canine and feline infections by *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* in central Italy. *Vet. Parasitol.* 169, 128–132.
40. Yaman, M., Guzel, M., Koltas, I., Demirkazik, M., Aktas, H. (2009). Prevalence of *Dirofilaria immitis* in dogs from Hatay province, Turkey. *J. Helminthol.* 83, 255–260.
41. Younes, L., Barré-Cardi, H., Bedjaoui, 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, 427.
42. Zinser, M., Ramberg, F., & Willott, E. (2004). *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) as a potential West Nile virus vector in Tucson, Arizona: blood meal analysis indicates feeding on both humans and birds. *J Insect Sci.* 4:20.