



**Marcadores moleculares asociados con mutaciones en el sitio blanco en  
*Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* para vigilancia de la resistencia a  
insecticidas: *Scoping Review***

Fátima Rocío Vázquez Orrego

Tesis de maestría presentada para optar al título de Magíster en Epidemiología

Directora

Lina Marcela Zuluaga Idárraga, Doctor (PhD) en Epidemiología

Codirectora

Nilsa Elizabeth González Brítez, Doctor (PhD) en Parasitología

Universidad de Antioquia

Facultad Nacional de Salud Pública Héctor Abad Gómez

Maestría en Epidemiología

Medellín, Antioquia, Colombia

2021

Cita	Vázquez Orrego (1)
<b>Referencia</b>	(1) Vázquez Orrego F. Marcadores moleculares asociados con mutaciones en el sitio blanco en <i>Aedes aegypti</i> y <i>Aedes albopictus</i> para vigilancia de la resistencia a insecticidas: <i>Scoping Review</i> [Tesis de maestría]. Medellín, Colombia. Universidad de Antioquia; 2021.
<b>Estilo Vancouver/ICMJE (2018)</b>	

---



Maestría en Epidemiología, Cohorte XVIII.



Biblioteca Salud Pública

**Repositorio Institucional:** <http://bibliotecadigital.udea.edu.co>

Universidad de Antioquia - [www.udea.edu.co](http://www.udea.edu.co)

**Rector:** John Jairo Arboleda Céspedes.

**Decano/Director:** José Pablo Escobar Vasco.

**Jefe departamento:** Nelson Armando Agudelo.

El contenido de esta obra corresponde al derecho de expresión de los autores y no compromete el pensamiento institucional de la Universidad de Antioquia ni desata su responsabilidad frente a terceros. Los autores asumen la responsabilidad por los derechos de autor y conexos.

## Resumen

*Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* son los principales vectores transmisores de las arbovirosis en todo el mundo, siendo el dengue la arbovirosis con mayor morbilidad y mortalidad. El uso de insecticidas es una de las principales estrategias para el control del vector, sin embargo, se ha reportado fallas en su eficacia debido a diferentes mecanismos de resistencia. Las mutaciones en el gen codificante son mecanismos de resistencia frecuentes y los marcadores moleculares constituyen herramientas útiles y precisas para monitorear dicha resistencia, aunque no es frecuente su implementación en los programas de control vectorial. En este trabajo se llevó a cabo una revisión de alcance para identificar los marcadores moleculares usados para detectar resistencia a insecticidas en *Ae. aegypti* y *Ae. Albopictus* en América, describir el perfil de resistencia y la aplicación en los programas de control vectorial. Se realizó una búsqueda sistemática de estudios publicados y no publicados durante el periodo 2000-2020. Se incluyeron 69 estudios en esta revisión, provenientes de Brasil (28%), México (23%), Colombia (13%), EE. UU. (10%) y otros (26%). Se identificaron 25 marcadores moleculares asociados con la resistencia a insecticidas siendo F1534C, V1016I, I1011V y I1011M los de uso más frecuente. Se hallaron perfiles genotípicos de resistencia de 13 mutaciones puntuales en el canal del sodio (mutaciones *Kdr*) asociadas con resistencia al DDT y piretroides. Sólo el 6% (4/69) de los estudios se realizaron en el marco de programas de control vectorial.

**Palabras clave:** Resistencia a insecticidas, resistencia al derribo (*Kdr*), marcadores moleculares, revisión de alcance, arbovirosis.

## Abstract

*Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* are the main vectors transmitting arbovirolos worldwide, with dengue being the arbovirolos with the highest morbidity and mortality. The use of insecticides is one of the main strategies for vector control; however, their efficacy has been reported to fail due to different resistance mechanisms. Mutations in the coding gene are frequent resistance mechanisms and molecular markers are useful and accurate tools to monitor such resistance, although their implementation in vector control programs is not frequent. In this work, a scoping review was conducted to identify the molecular markers used to detect insecticide resistance in *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* in the Americas, describe the resistance profile and the application in vector control programs. A systematic search of published and unpublished studies during the period 2000-2020 was conducted. Sixty-nine studies were included in this review, from Brazil (28%), Mexico (23%), Colombia (13%), USA (10%) and others (26%). 25 molecular markers associated with insecticide resistance were identified, with F1534C, V1016I, I1011V and I1011M being the most frequently used. Genotypic resistance profiles of 13 point mutations in the sodium channel (*Kdr mutations*) associated with resistance to DDT and pyrethroids were found. Only 6% (4/69) of the studies were conducted as part of vector control programs.

**Keywords:** Insecticide resistance, Knockdown resistance (*Kdr*), Molecular marker, Scoping Review, Arbovirus.

## 1. Introducción

Las arbovirosis son infecciones virales transmitidas por artrópodos, que casi siempre derivan en enfermedades de gran impacto social y económico, en especial en las regiones tropicales y subtropicales. Sus agentes etiológicos se transmiten a través de la picadura de mosquitos del género *Aedes* (Díptera: Culicidae.), los cuales actúan como vectores que inoculan las partículas virales en el momento de la hematofagia sobre vertebrados. Entre las arbovirosis cuyos agentes etiológicos son transmitidos al humano por el vector *Aedes* se tienen, al dengue, Zika, chikungunya, fiebre amarilla, la encefalitis equina y la encefalitis japonesa (1). El virus del dengue es el agente causal de una de las arbovirosis más comunes (Fiebre dengue) con un estimado de 390 millones de casos anuales en todo el mundo (2,3), siendo la especie *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) el vector primario y *Aedes albopictus* un vector ocasional (2).

En la actualidad no se cuenta con un método efectivo de inmunización para controlar la aparición de dichas arbovirosis en humanos, y la única forma de controlarlas es evitando la propagación e instalación de los vectores en ambientes antrópicos. Una de las estrategias de control se basa en el manejo integrado de vectores, el cual incluye, la aplicación de insecticidas, los programas de erradicación con cobertura universal en varios ecotopos (especialmente en áreas de alto riesgo epidemiológico) y el monitoreo de la resistencia a insecticidas por parte del vector (4).

Los programas de control de arbovirosis han utilizado el control químico, específicamente el uso de insecticidas por más de 60 años (5,6). Inicialmente se utilizaron piretrinas, insecticida de corto efecto de noqueo; posteriormente se introdujeron insecticidas del grupo de los organoclorados, carbamatos y organofosforados. Desde la década de los 90 hubo un cambio hacia el uso de piretroides sintéticos fotoestables, los cuales son los más utilizados en la actualidad (7). Debido a que las intervenciones de control sobre *Aedes sp.*, se han centrado, por más de 60 años, en la utilización de insecticidas, uno de los principales problemas es la generación de resistencia en las poblaciones de este vector (8).

La resistencia puede definirse como la capacidad del insecto-vector de tolerar dosis de un producto a niveles tóxicos, las cuales resultarían letales a la mayoría de los individuos en una población normal de la misma especie (9). Es una característica genética heredable cuya frecuencia incrementa en la población como un resultado directo de la presión de selección con un insecticida, por lo tanto, una población de vectores desarrolla resistencia debido a que el insecticida elimina progresivamente la mayoría de individuos susceptibles mientras permite la sobrevivencia y reproducción de aquellos que poseen algún mecanismo que evite su efecto tóxico (10).

Los principales mecanismos involucrados con la resistencia a insecticidas son el incremento en la actividad o niveles de las enzimas desintoxicantes y reducción en el sitio blanco donde ejerce su acción el insecticida (11). Con respecto a este último mecanismo se han descrito mutaciones no sinónimas en los genes que codifican para los sitios blanco: receptores *GABA*, *AChE* y canal de sodio dependiente de voltaje (12). La resistencia a los insecticidas se presenta en la mayoría de las especies de *Aedes*, con diferentes mecanismos de adaptación, de acuerdo a la presión selectiva y la especie (10).

Los primeros reportes de resistencia en *Ae. aegypti* se dieron en 1960, a insecticidas organofosforados y carbamatos y a lo largo del tiempo se ha observado resistencia a todos los grupos de insecticidas incluyendo los piretroides sintéticos (13). La resistencia a insecticidas en *Aedes sp.* puede presentarse de manera simple, es decir, a un solo insecticida; o compleja, a varios insecticidas al mismo tiempo; esto último dificulta aún más el control de la resistencia. La resistencia compleja puede ser múltiple o cruzada; la primera es la resistencia a varios insecticidas con diferentes modos de acción, y la segunda es la que se presenta cuando el vector puede ser resistente a varios insecticidas del mismo grupo o a insecticidas de diferentes grupos pero con el mismo modo de acción (14). Por ejemplo, el caso de las fosfotriesterasas que brindan resistencia a varios insecticidas del grupo de los organofosforados o el caso de las mutaciones *Kdr* (*Knockdown resistance*) que confieren resistencia al DDT y a piretroides, grupos diferentes de insecticidas (14).

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), la resistencia a insecticidas representa una barrera importante para el control y prevención de las arbovirosis (15). Es por ello, la importancia de identificar las regiones con mayor presencia de vectores resistentes, comprender la fuerza y la dinámica de este fenómeno. Se hace necesario incluir herramientas innovadoras a nivel global para la contención y reversión de la resistencia a insecticidas, lo cual optimizaría los recursos destinados al control de los agentes vectores de estas enfermedades (11).

La resistencia puede ser detectada a través de los bioensayos, pruebas bioquímicas y pruebas moleculares, (11). La Organización Mundial de la Salud (OMS) y el *Center for Diseases Control and Prevention* (CDC), recomiendan dos tipos de bioensayos: ensayos dosis-respuesta y los ensayos con utilización de botella. Los bioensayos dosis – respuesta muestran el porcentaje de mortalidad o derribo que un grupo de insectos experimentan al ser expuestos a un insecticida por un tiempo determinado, ya sea utilizando la técnica de papel de la OMS o la de botellas impregnadas del (CDC) (16).

Los ensayos bioquímicos, permiten observar la resistencia metabólica a través de la cuantificación de niveles o actividad de enzimas detoxificantes (16). Finalmente, los ensayos moleculares, son métodos o técnicas que buscan alteraciones genéticas o mutaciones en el gen, estas alteraciones se expresan como una variante proteica que en última instancia determina el fenotipo resistente. Generalmente se emplea distintos métodos tales como, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, del inglés *polymerase chain reaction*), expresión diferencial, secuenciación masiva, RNA-seq, entre otros., utilizadas desde años anteriores y la técnica de PCR explotada en los años 90, aun cuando actualmente no se dispone de un protocolo estándar establecido para detectar estas alteraciones en el sitio blanco de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* (16,17).

A pesar de que los bioensayos han sido más empleados y llevados con protocolos estandarizados, tienen la limitante de no detectar tempranamente la resistencia, bien por el elevado tamaño muestral requerido o porque la resistencia detectada es a nivel poblacional y no individual (18).

Contrariamente, los ensayos moleculares, posibilitan la detección temprana de las modificaciones que se dan en diferentes genes, las cuales pudieran relacionarse con su dispersión o con el surgimiento de nuevos focos de resistencia a nivel individual, incluso cuando la frecuencia poblacional de las mismas aún es baja y requiere menor número de muestras (19). Por lo antes expuesto, la utilización de marcadores de resistencia facilitaría la toma de decisiones en el marco de un programa de control de vectores y permitiría implementar acciones tempranas de control (18).

En América y Asia, se presentan los mayores registros de resistencia en *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*, principalmente para los dos grupos de insecticidas más utilizados, piretroides y organofosforados. Aunque estos reportes incluyen bioensayos, pruebas bioquímicas y moleculares, se resalta la necesidad de más trabajos de identificación de mutaciones específicas y genes involucrados en la resistencia metabólica y de los sitios blancos (19). Los resultados que incluyan el uso de marcadores de ADN para genes de mutación, en el sitio blanco y la integración de datos genotípicos, junto con datos de las pruebas de rutina (bioensayos), pueden mejorar el seguimiento, vigilancia y monitoreo de la resistencia (7).

El uso de marcadores moleculares ya ha sido utilizado en control de vectores, como *Anopheles sp* y *Culex sp*, y ha contribuido en gran medida al manejo de la resistencia de las poblaciones vectoriales; sin embargo, este uso de herramientas moleculares, tales como los marcadores de resistencia, no se implementan en todos los programas de control de vectores. En el caso del control vectorial de las arbovirosis, son escasos los programas gubernamentales que han implementado el uso de marcadores moleculares para vigilar la resistencia, imposibilitando una caracterización de los tipos de marcadores moleculares usados, los perfiles genéticos para la detección de alteraciones genéticas y el manejo de la resistencia cruzada (19,20).

La implementación de estrategias para monitorear resistencia con herramientas moleculares podría contribuir de manera importante al control de las arbovirosis, pero, requiere el uso de tecnología de punta, además de la adopción en las políticas,

lineamientos y programas de control vectorial a nivel de país y de los territorios afectados. Por ejemplo, en Brasil, la identificación temprana de alelos de resistencia llevó a reemplazar los adulticidas piretroides en todo el país (incluso en áreas donde la resistencia aún no había sido confirmada por bioensayos), por parte del Programa Nacional de control de Dengue (21,22).

El objetivo de esta revisión fue identificar los principales marcadores de ADN usados en América para la detección molecular de la resistencia a insecticidas en *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*, la presencia de mutaciones puntuales en estos y las limitaciones para su implementación en los programas de control químico de las arbovirosis.

Antes de desarrollar la presente revisión, se examinaron previamente fuentes de información como MEDLINE (PubMed), PROSPERO y *Cochrane Database of Systematic Reviews*, y no se identificaron revisiones sistemáticas o revisiones de alcance publicadas previamente o en curso sobre marcadores moleculares indicadores de resistencia.

### **1.1 Preguntas de investigación**

¿Cuáles son los tipos de marcadores moleculares que se han utilizado en la identificación y monitoreo de la resistencia a los grupos de insecticidas en especies de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* en América?

¿Cuáles son los perfiles de resistencia asociados a las mutaciones del sitio blanco más reportados (lugar/tiempo) en poblaciones de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* en América?

¿Cuáles son las limitaciones que reportan los estudios sobre el uso de marcadores moleculares en el marco de los programas de monitoreo de resistencia en *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* para la detección de mutaciones en el sitio blanco en América?

**1.2 Objetivo general:**

Analizar los marcadores moleculares que permitan identificar el perfil de resistencia asociado a mutaciones del sitio blanco en *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* para su aplicación en la vigilancia de resistencia al control químico en América.

**1.2.1 Objetivos específicos:**

- Identificar los marcadores moleculares de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* que han sido utilizados en el monitoreo de la resistencia a insecticidas en América.
- Describir el perfil de resistencia asociado a mutaciones del sitio blanco en especies de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* para los marcadores moleculares de uso frecuente en el monitoreo de la resistencia a insecticidas en América.
- Identificar las limitaciones del uso de los marcadores moleculares de mutaciones del sitio blanco en las especies de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* en la vigilancia de resistencia asociadas a insecticidas en América.

## 2. Metodología

### 2.1 Protocolo y registro

El protocolo se elaboró utilizando los criterios para publicación de revisiones de alcance PRISMA-ScR (23), el Manual para Síntesis de evidencia del *Joanna Briggs Institute* (JBI) (24) para revisiones de alcance y se realizó el registro en *Open Science Framework* (OSF) (<https://osf.io/b7nj6/>), con el siguiente número DOI asignado: [10.17605/OSF.IO/5QVKN](https://doi.org/10.17605/OSF.IO/5QVKN).

### 2.2 Criterios de elegibilidad

Se incluyeron todo tipo de reportes de estudios publicados y no publicados de métodos cuantitativos, con diseños de estudio experimental o diseños observacionales. Específicamente, se incluyeron estudios que utilizaron al menos un marcador molecular de resistencia, en sitios genéticos bien caracterizados y que emplearon ensayos moleculares con mosquitos adultos para la identificación de resistencia a insecticidas (Carbamatos, organofosforados, organoclorados y piretroides).

Para esta revisión de alcance, se excluyeron las revisiones narrativas o sistemáticas, como fuentes primarias para extracción de información. Sin embargo, éstas fueron utilizadas para la identificación de posibles estudios como fuente primaria que cumplieron los criterios de inclusión. Se restringió la inclusión de estudios a los últimos 20 años (2000-2020), en idiomas español, portugués e inglés.

#### 2.2.1 Tipo de población

La población de interés para esta revisión de alcance fueron todos aquellos reportes de estudios sobre el uso de marcadores moleculares, asociados con la resistencia a insecticidas en mosquitos adultos de las especies *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*.

#### 2.2.2 Concepto

Un marcador molecular como un atributo biológico heredable representa la variación a nivel del ADN, tales como mutaciones de sustitución (mutaciones puntuales), reordenamientos (inserciones o deleciones) o los errores en la replicación del ADN repetido en Tándem, y pueden mostrar dos modos de herencia, dominante/recesivo

o codominante, el cual es una herramienta fundamental en la entomología médica como en otras áreas, ya que la misma es una posición física identificable en un cromosoma, cuya herencia puede ser monitoreada .

Se puede entender por marcador de resistencia, aquellos que permiten la identificación de polimorfismos de ADN relacionados con la resistencia a los insecticidas, que puede adoptar dos enfoques principales, el estudio de genes candidatos en función de información o hipótesis preexistente y los estudios que escanean el genoma o transcriptoma en busca de variantes asociadas al fenotipo (25).

Los estudios incluidos en esta revisión reportan el uso de marcadores de ADN para el diagnóstico de la resistencia; las técnicas para determinar las mutaciones de resistencia tales como (PCR), secuenciación, entre otras y los marcadores significativamente asociados con la resistencia como parte de los paneles de selección de genes de resistencia (7,25).

### **2.2.3 Contexto**

Esta revisión incluyó estudios de entornos geográficos, donde los vectores de arbovirus se encuentran mayormente distribuidos. Se estableció como límite geográfico la región de América. Los estudios incluidos refieren aportar herramientas para la implementación de marcadores moleculares de resistencia en los programas de control, monitoreo y vigilancia de la resistencia en *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* a los insecticidas. En la actualidad la resistencia se reconoce como una gran barrera para el control de las arbovirosis, con un incremento y ampliación de su distribución en el mundo (26), afectando a varios continentes y países, entre ellos el continente americano (2).

### **2.3 Fuentes de información**

Para la identificación de estudios potencialmente elegibles, se realizó la búsqueda principal en las siguientes bases de datos electrónicas, desde el año 2000 hasta el año 2021: MEDLINE, Embase, EBSCO. Se complementó con la búsqueda de la literatura en BVS (Información y conocimiento en salud en la Región de América Latina y el Caribe) y Grey Net International (resúmenes de conferencias, tesis,

reportes de casos). Las búsquedas se realizaron en los idiomas considerados de acuerdo con el criterio de elegibilidad. Todas las búsquedas bibliográficas fueron realizadas por el investigador, bajo la supervisión de un asesor bibliotecólogo experimentado y administradas mediante un paquete informático de gestión de referencia Mendeley Desktop, (versión 1.19.4, ©2008-2019 Mendeley Ltd. All rights reserved).

## 2.4 Estrategia de búsqueda

Se buscaron los estudios publicados en las bases de datos MEDLINE, Embase, EBSCO, The Cochrane Library, PubMed, y Scopus, utilizando una combinación de términos para la población y concepto (Tabla S1). No se incluyeron términos de búsqueda para el contexto, con el fin de recoger los estudios a nivel global, posteriormente en la selección de los estudios estos fueron clasificados por región para incluir sólo los de América.

La estrategia de búsqueda principal para la base de datos MEDLINE (PubMed) se realizó de la siguiente manera: **“(“*Aedes*”[MeSH Terms] OR “*Aedes*”[Title/Abstract] OR “mosquito vectors”[MeSH Terms] OR “stegomyia”[Title/Abstract]) AND (“insecticides”[MeSH Terms] OR (“insecticide resistance”[MeSH Terms] OR “insecticide resist\*”[Title/Abstract])) AND ((“english”[Language] OR “portuguese”[Language] OR “spanish”[Language]) AND 2000/01/01:2021/12/31[Date - Publication]) AND (english[Filter] OR portuguese[Filter] OR spanish[Filter])”**

Esta estrategia fue adaptada para las demás bases de datos ya mencionadas previamente. Se utilizaron como filtro la fecha de publicación, considerando solo los estudios publicados desde el 2000, así como como términos definidos que figuraban en los títulos y resúmenes.

## 2.5 Selección de fuentes de evidencia

Todos los datos electrónicos de las fuentes de evidencia identificadas se ingresaron en una plataforma para revisiones sistemáticas en línea *Rayyan QCRI the Systematic Reviews web app* (<https://rayyan.qcri.org/>) (27).

Los duplicados en las bases de datos se eliminaron automáticamente y se utilizó una planilla en Microsoft Excel para la detección y extracción de datos adjuntos. La revisión y selección de los artículos se llevó a cabo por dos revisores, La selección de los estudios se realizó en dos fases, siguiendo los criterios de inclusión preespecificados en el protocolo. En la fase 1, cada revisor evaluó secuencial e independientemente, los títulos y los resúmenes, en los cuales se identificaron los estudios elegibles, que fueron obtenidos en texto completo por medio del software para revisiones sistemática *RayyanQCRI*. Posteriormente, en la fase 2, los mismos dos revisores revisaron los textos completos elegibles, de forma independiente, usando una planilla de Excel, en los cuales se verificaron los criterios de inclusión y exclusión (Tabla S3). Para resolver las inconsistencias que se presentaron entre los dos revisores, en las fases 1 y 2, al culminar cada fase, se llevó a cabo una reunión y anuencia de avance entre ambos revisores. Los artículos de texto completo que quedaron seleccionados pasaron a la fase 3, para extracción de información como se detalla a continuación.

## 2.6 Extracción de datos

Para la extracción de datos, se desarrolló un formulario para recopilar las variables de interés de los estudios seleccionados (Tablas S4, S5 y S6). Para la construcción de este formato, se contemplaron ejemplos de otros artículos y se realizó un consenso entre los investigadores, para definir las variables a considerar, de acuerdo con los objetivos de la revisión.

Durante la fase de extracción, se discutió la modificación del documento entre los investigadores y se aprobaron los ajustes del formato, previo consenso. Un revisor extrajo los datos usando el formulario diseñado y el segundo revisor revisó la información recopilada en las tablas, para verificar datos faltantes e inconsistencias.

## **2.7 Evaluación crítica de las fuentes de evidencia**

Debido a que no se cuenta con un protocolo estándar o herramientas validadas, para la evaluación de la calidad de los ensayos moleculares, no se realizó una evaluación crítica de los estudios incluidos, teniendo en cuenta la dificultad de establecer criterios específicos para este tipo de ensayos, relacionados con la resistencia a insecticidas.

## **2.8 Síntesis de resultados**

Se realizó una síntesis narrativa de los tipos de marcadores moleculares, técnicas y presencia de mutaciones para América. Se realizaron análisis descriptivos, para estimar la frecuencia absoluta y relativa del uso de los marcadores y la presencia de mutaciones entre los estudios incluidos, además, de la frecuencia de reporte de limitaciones para la implementación de estos marcadores en los programas de vigilancia de la resistencia. Complementariamente, se realizó una representación geográfica por país de la frecuencia del perfil genotípico resistente para los marcadores más usados.

## **2.9 Aspectos éticos**

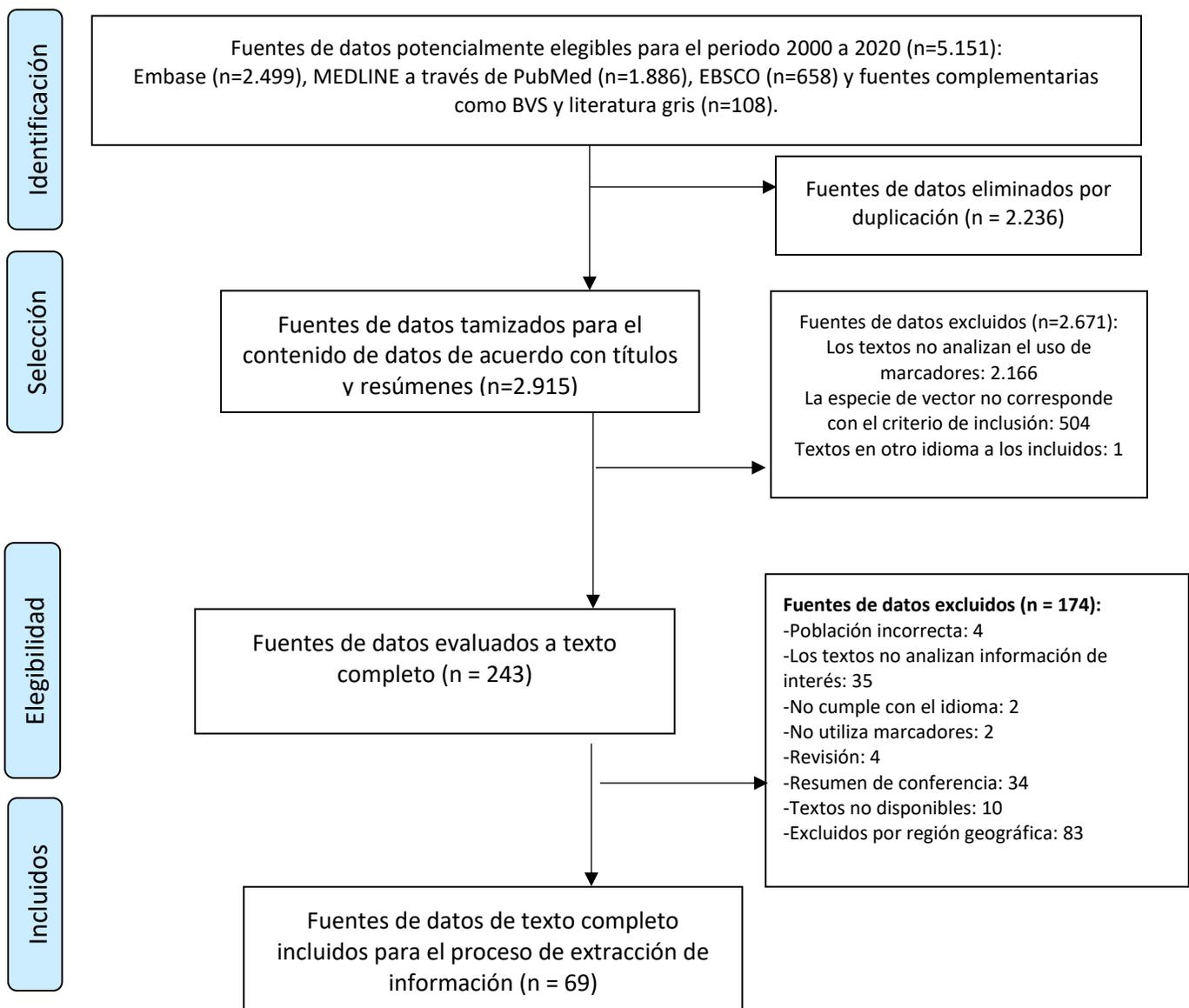
Al tratarse de una propuesta de revisión de alcance con fuentes de datos secundarias, no representó ningún riesgo para una población específica. Se tuvo en cuenta y se respetó la autoría y los datos de los estudios que fueron incluidos. Se evitó la emisión de juicios que vayan en detrimento de los autores de los trabajos seleccionados, en cuanto a calidad de la publicación, la institución y/o región geográfica, considerando los principios de la resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud de Colombia.

### 3. Resultados

#### 3.1 Identificación y selección de estudios

Se identificaron 5.151 estudios elegibles, desde el año 2000 al 2020, a través del uso de 5 bases de datos. Después de la eliminación de duplicados, quedaron 2.915 artículos para la selección de títulos y resúmenes, de los cuales se excluyeron 2.671 registros (fase 1). Se revisaron 243 textos completos (fase 2) de los cuales 69 cumplieron con los criterios de elegibilidad y fueron seleccionados para la extracción de datos (Figura 1).

**Figura 1.** Diagrama de flujo del proceso de identificación y selección de los estudios de acuerdo con la guía PRISMA



La distribución geográfica de los estudios incluidos en esta revisión fue 30% (21/69) para Norteamérica (México y EE. UU.), 4% (3/69) Centroamérica (Panamá, Costa Rica y Puerto Rico), 55% (38/69) Suramérica (Brasil, Colombia, Venezuela, Guayana Francesa, Ecuador, Perú) y 11% (8/69) para las islas del Caribe (Martinica, Islas Caimán, Cuba, Jamaica y Haití). Así mismo, el 93% (64/69) de los estudios incluidos se realizaron en *Ae. aegypti*, 4% (3/69) en *Ae. albopictus* y 3% (2/69) en ambas especies.

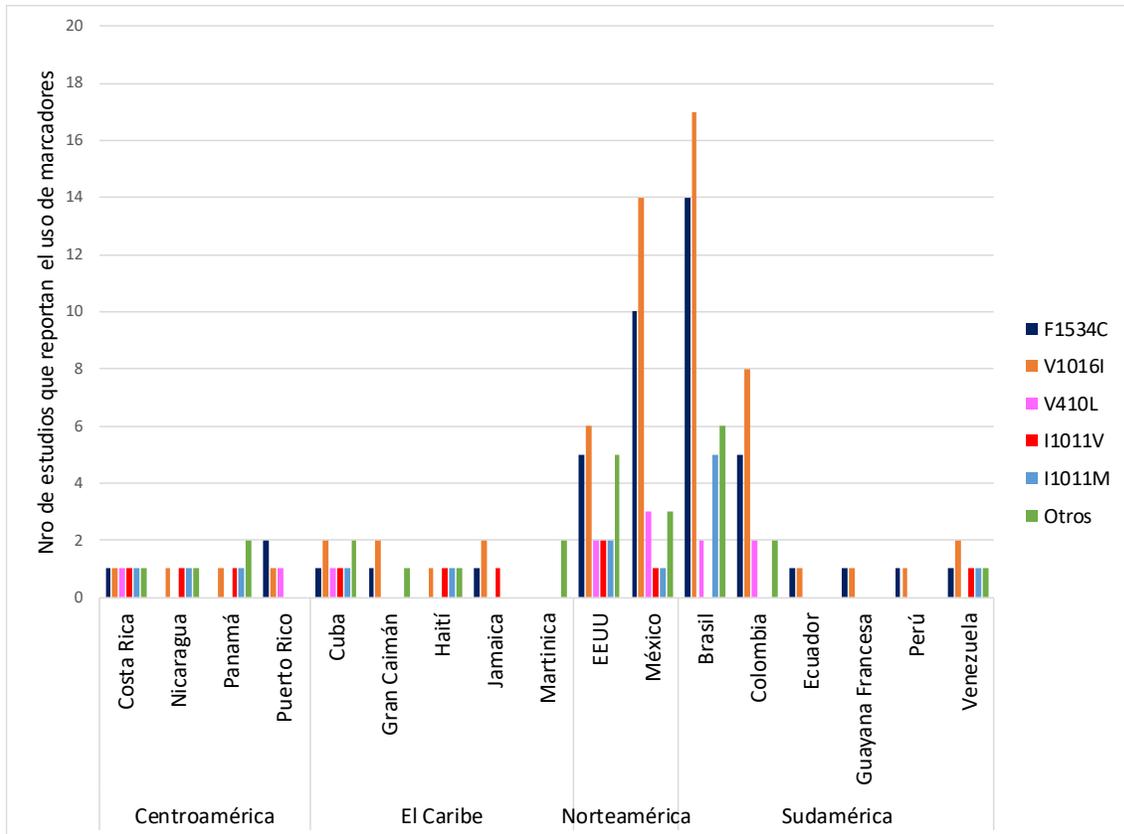
### **3.2 Marcadores de resistencia identificados**

En los 69 estudios incluidos, se identificó el uso de 25 marcadores de resistencia o mutaciones en el sitio blanco asociadas a la resistencia a insecticidas en *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* para el periodo de 2000 a 2020 (Tabla S7).

Todos los estudios se centraron en el análisis de mutaciones específicas de las regiones genómicas, que codifican los segmentos IIS6 y/o IIS6 del canal de sodio, dependiente del voltaje (principal sitio blanco de insecticidas) denominadas mutaciones *Kdr*, no encontrándose el uso de marcadores moleculares para la identificación de mutaciones en los genes que codifican para otros sitios blancos tales como receptores gamma aminobutíricos (*GABA*) y acetilcolinesterasa (*AChE*).

En la figura 2, se presenta la frecuencia por país de los marcadores moleculares utilizados para América. Siendo los más reportados para la detección de alteraciones genómicas V1016I y F1534C, seguidos de V410L, I1011V y I1011M. Los países con mayor número de estudios empleando estos marcadores fueron Brasil, México, Colombia y Estados Unidos.

**Figura 2.** Frecuencia de marcadores moleculares reportados en estudios en América para el periodo 2000 - 2020, asociados con la identificación de resistencia a insecticidas en *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*.



Se observó, además que, para la determinación de las mutaciones asociadas con la resistencia, depende de la técnica de ensayo utilizada para la identificación de estas variaciones (Tabla S7). Estas secuencias son muy variables y se debe a sustituciones de aminoácidos, incluso para las mutaciones de un mismo sitio de interés. Un ejemplo está en el sitio 1016 en el cual se presenta una transición de G/T en la segunda posición, la cual codifica un reemplazo de glicina (Gly1016) y una transición de A/G en la primera posición, la cual codifica un reemplazo de isoleucina (Iso1016).

Se reportaron 10 técnicas de ensayos moleculares para la aplicación de marcadores moleculares en la identificación de mutaciones puntuales, estas fueron: AS-PCR, Genotipado TaqMan, Secuenciación de Sanger, PCR semianidada, RT-PCR, PCR

convencional, Ensayo HOLA, Tetraplex y PCR multiplex, sin embargo, de todas estas técnicas la más reportada por los estudios fue el ensayo simple AS-PCR.

### **3.3 Distribución geográfica del perfil genotípico de resistencia**

Los 69 estudios incluidos en esta revisión abordaron investigaciones en 651 localidades ubicadas en 17 países de América. En la tabla S8 se describen los genotipos reportados en cada estudio, considerando, además el momento de colecta y la realización de bioensayos de resistencia previo a la identificación de mutaciones puntuales, mediante marcadores moleculares en las poblaciones naturales de mosquitos.

Entre los marcadores más reportados, se encuentran aquellos que se refieren a la identificación de la resistencia de mutaciones puntuales para *Val1016Ile* (62/69), de esos 62 estudios, se reportaron para el perfil genotípico susceptible (57/62), heterocigoto (55/62), y resistente (62/62), principalmente en Brasil, México, Colombia y EE. UU., países donde se evidencia la mayor cantidad de estudios usando marcadores moleculares. Para el marcador *Phe1534Cys* reportado en 50 estudios se registró la presencia del perfil resistente (50/50) y heterocigoto (44/50) en las poblaciones de mosquitos analizadas. Para el caso del marcador *Ile1011Met* de los 15 estudios que reportaron su utilización, se registró la presencia del perfil resistente en (15/15) y heterocigoto en (8/15) y finalmente para el marcador *Ile1011Val* se registró perfil resistente (9/9) y heterocigoto (2/9), reportados para Norteamérica, Centroamérica y el Caribe (Tabla 1). En cuanto a los otros tipos de mutaciones puntuales como el *1534Leu*, *1534Ser*, *1558Cys*, *419Leu*, *410Leu*, *915Lys*, *723Thr* y *989Tyr*, se refieren a polimorfismos de un solo nucleótido muy poco estudiados.

En la tabla 1 se observa la distribución de los perfiles genotípicos de resistencia identificados en las poblaciones de mosquitos de los estudios incluidos para los cuatro marcadores más reportados por país y número de localidades involucradas. En las figuras S9 y S10 se resume la información por país del perfil genotípico (presencia de los genotipos homocigoto resistente y heterocigoto) para las cuatro mutaciones más reportadas en poblaciones adultas de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*,

en el que se puede observar la presencia del perfil heterocigoto distribuido ampliamente para las mutaciones *Phe1534Cys*, *Val1016Ile*, *Ile1011Val* e *Ile1011Met*, sin embargo, para las mutaciones *Ile1011Val* e *Ile1011Met*, la presencia del perfil heterocigoto no se reportó para todos los estudios que utilizaron estos marcadores para la búsqueda de resistencia, en comparación con *Phe1534Cys* y *Val1016Ile*.

**Tabla 1.** Perfiles genotípicos de resistencia a insecticidas identificados en los estudios incluidos con los marcadores más reportados en las poblaciones de mosquitos analizadas. Homocigoto susceptible (HS), Heterocigoto (H), Homocigoto Resistente (HR).

País	MARCADORES MAS REPORTADOS											
	<i>Phe1534Cys</i>			<i>Val1016Ile</i>			<i>Ile1011Val</i>			<i>Ile1011Met</i>		
	Numero de artículos	Número de localidades	Perfil genotípico	Numero de artículos	Número de localidades	Perfil genotípico	Numero de artículos	Número de localidades	Perfil genotípico	Numero de artículos	Número de localidades	Perfil genotípico
Brasil	17	192	HS/H/HR	20	192	HS/H/HR	0	0	HS	6	64	HS/H/HR
Colombia	6	26	HS/H/HR	8	26	HS/H/HR	0	0		0	0	
Costa Rica	1	1	HR	1	1	HR	1	1	HR	1	1	HR
Cuba	2	5	HR	2	5	HR	1	2	HR	1	1	HR
Ecuador	1	4	HR	1	4	HS/H/HR	0	0		0	0	
EEUU	7	15	HS/H/HR	6	15	HS/H/HR	1	6	HS/H/HR	1	6	HS/H/HR
Guayana Francesa	0			1	1	HS/H/HR	0	0		0	0	
Haití	0			1	1	HS/H/HR	1	1	HS/H/HR	1	1	HR
Isla Gran Caimán	2	3	HR	2	3	HS/H/HR	0	0		0	0	
Jamaica	1	6	HR	2	6	HS/H/HR	0	0		0	0	
Martinica	0			1	11	HS/H/HR	0	0		0	0	
México	12	33	HS/H/HR	14	33	HS/H/HR	1	11	HR	1	11	HS/H/HR
Nicaragua	0			1	1	HR	1	1	HR	1	1	HR
Panamá	0			1	1	HS/HR	1	1	HS/HR	2	2	HS/H/HR
Perú	1	5	HR	1	5	HS/H/HR	0	0		0	0	
Puerto Rico	2	8	H/HR	1	4	HS/H/HR	0	0		0	0	
Venezuela	1	5	HR	2	13	HS/H/HR	1	5	HR	1	9	HS/H/HR

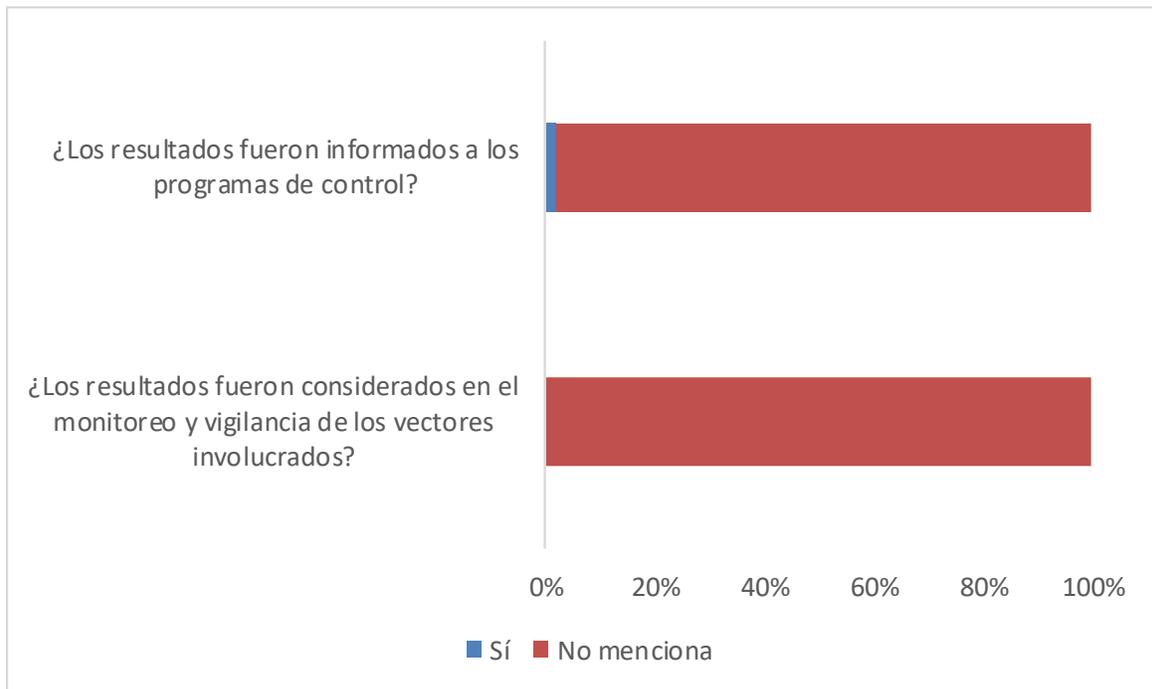
### 3.4 Uso de los marcadores en los programas de control vectorial

De los 69 estudios incluidos en esta revisión, 6% (4/65) se realizaron en el marco de un programa de control de vectores, aunque estos no proporcionaron más información al respecto. Solo 3% (2/69) de los estudios incluidos, mencionan limitaciones asociadas al uso de los marcadores moleculares para la identificación de resistencia en las poblaciones de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* (28,29) (Figuras 3 y 4).

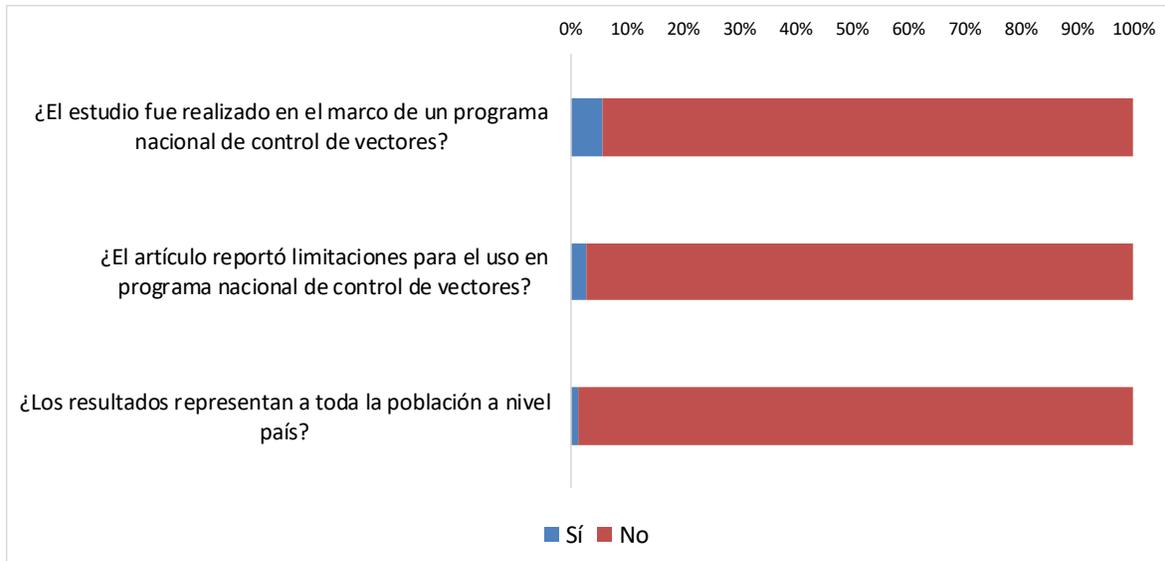
Principalmente aquellos estudios que se relacionan con los programas nacionales de algunos países han reportado su asociación con la etapa de recolección de las

muestras de las poblaciones de mosquitos. Sin embargo, estos países no brindaron información acerca de los resultados obtenidos, indicando si los mismos fueron considerados por las entidades encargadas de los programas o en su defecto acerca de la implicancia en la adopción y cambio de estrategias para el control vectorial. Por otra parte, es importante destacar que solo 1% (1/69) de los registros, menciona que los datos analizados pueden representar a toda la población nacional.

**Figura 3.** Frecuencia de la relación del uso de marcadores de resistencia en el marco de programas de control de vectores de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*.



**Figura 4.** Frecuencia de la relación del uso de marcadores de resistencia en el marco de programas de control de vectores de *Ae. aegypti* y *Ae. Albopictus* en los países incluidos en la revisión.



#### 4. Discusión

De los 25 marcadores identificados en los estudios evaluados, se encontró que los marcadores de resistencia con mayor evidencia utilizados para la detección de mutaciones fueron los marcadores F1534C y V1016I. La caracterización molecular de la resistencia al derribo proporciona un método para identificar compuestos de control de insectos que tienen una actividad intacta o incluso mejorada contra insectos resistentes al derribo. Sin embargo, poco se sabe sobre las formas de resistencia al derribo causadas por mutaciones en los genes de acción de los insecticidas. En este sentido, los ensayos moleculares proporcionan un enfoque experimental para la determinación del perfil de resistencia de otros sitios implicados con esta característica, lo que a su vez puede sugerir tácticas específicas de manejo de la resistencia que implican la rotación o el uso secuencial de los insecticidas involucrados en el control vectorial (25,30,31). Todo lo mencionado resalta la necesidad de más estudios sobre marcadores para los reguladores de los genes clave de resistencia al sitio objetivo y su aplicación en programas de control de vectores.

Como una acción importante para vigilar la resistencia de las poblaciones de vectores a los insecticidas, los programas de control vectorial en cada país deben definir cuales marcadores de resistencia utilizar, para monitorizar sus poblaciones de vectores, con base a la disponibilidad de recursos, infraestructura y los reportes previos sobre del perfil fenotípico y genotípico de estos marcadores en el contexto en el cual se van a aplicar. El presente trabajo abordó una revisión de la evidencia disponible sobre los marcadores de resistencia reportados en los países de América durante los últimos 20 años. Este trabajo constituye un primer reporte relacionado al tema, lo cual lo convierte en un insumo valioso para los programas de control vectorial en los países de América, que pretendan implementar como herramienta, acciones de vigilancia molecular enfocadas a la detección de la resistencia a insecticidas.

En esta revisión solo se encontraron marcadores para la identificación de sitios genómicos de *Kdr*. Uno de los mecanismos de resistencia más importante a los

plaguicidas es la resistencia al derribo (*Kdr*), descrita por primera vez en las moscas domesticas (32). Este mecanismo de resistencia ha sido documentado a nivel mundial en un gran número de artrópodos, tanto de interés agrícola como sanitaria relevante (33). Se ha observado que particularmente el DDT y los piretroides ocasionan el fenotipo *Kdr*. Ambos son insecticidas químicos comunes y frecuentemente utilizados para el control de poblaciones de vectores en los programas nacionales y por la comunidad, en su forma comercial (34). Basados en este enfoque, se puede explicar por qué todos los estudios que se incluyen en esta revisión conducen a la identificación de las alteraciones del canal del sodio y no a otros sitios genómicos.

Las secuencias blanco, identificadas para los marcadores reportados, se mostraron variables en función de las distintas técnicas de ensayo utilizadas. En más detalle, las secuencias que revelan polimorfismos de un solo nucleótido, indicadoras de resistencia, resultó ser a su vez muy variable (sustitución de un solo nucleótido; sustituciones de aminoácidos, incluso para las mutaciones de un mismo sitio de interés) (35). Lo aconsejable es el uso de marcadores cuyas secuencias son más conocidas y estudiadas, ya que se dispone de una gama más amplia de las mismas en comparación con aquellos marcadores menos reportados.

Los resultados revelaron que en 20 años (2000 a 2020) se reportaron un número considerable de marcadores moleculares indicadores de resistencia, los cuales han ido variando en el tiempo. La evolución en la identificación de nuevos marcadores moleculares se ha visto afectada, probablemente, por la dificultad para identificar genes candidatos que se correlacionen positivamente con la resistencia a insecticidas (36). Si bien se han identificado varios sitios alterados que podrían estar implicados con la resistencia, aún se siguen estudiando aquellos polimorfismos con implicancia confirmada en la resistencia, como la mutación *Cys1534* e *Ile1016*, ambos correlacionados positivamente con el fenotipo resistente a través de experimentos y ensayos moleculares. Los demás marcadores reportados, requieren de más estudios de asociación con el fenotipo resistente (37–41).

En esta revisión fue común encontrar la utilización de la técnica simple de *AS-PCR* en la identificación de la resistencia. Si bien se identificaron otras técnicas altamente sensibles (secuenciación, genotipado TaqMan, *RT-PCR*) para la identificación de mutaciones puntuales, muchas de estas son costosas para implementarlas en programas nacionales con recursos e infraestructuras limitadas (42,43). El ensayo *AS-PCR* ha demostrado ser una técnica de alto nivel de rendimiento en la determinación de mutaciones y de bajo costo, por tratarse de una técnica mucho más sencilla, además de ser un ensayo altamente sensible en la identificación de resistencia (25,44). Por esta razón, se debería de fomentar el uso y la implementación de este ensayo en programas de control de vectores en América. Esta técnica, no solo identifica mutaciones puntuales en el canal de sodio sensible al voltaje, como la causa de la resistencia a la eliminación, sino que también proporcionan información sobre los mecanismos moleculares subyacentes a la sensibilidad reducida de los sitios blanco de los insecticidas.

El hecho de que los marcadores más reportados, hayan sido aquellos que identifican mutaciones puntuales para Val1016Ile, Phe1534Cys, Ile1011Val e Ile1011Met, pareciera indicar que estas mutaciones podrían encontrarse en franco avance y fijación desde Norteamérica a Suramérica, aun cuando los resultados de esta revisión no permiten asegurar que están presentes en un 100% de las poblaciones de cada región. La presencia de estas mutaciones en los distintos países de América es predominante, e indica que estos alelos *Kdr*, fueron posiblemente los primeros en extenderse a lo largo de los diversos países de América (45,46). Esta afirmación podría explicar el mayor número de artículos usando marcadores específicos para las mutaciones de resistencia ya mencionadas anteriormente.

La presencia en el mayor número de estudios de los genotipos homocigoto resistente y heterocigotos citados en las revisiones del presente trabajo, respectivamente para marcadores F1534C y V1016I, en el continente americano, nos hace pensar que ambas mutaciones, aunque no nuevas, se han venido fijando ampliamente en poblaciones naturales, particularmente en Brasil, México, Colombia

y Estados Unidos. (47–50). Es probable que la presencia de estos alelos *Kdr* comparado con los demás sitios de mutaciones, refleje que existe variabilidad genética en las poblaciones de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* que colonizan el continente y podrán a futuro ser en consecuencia, indicadores de flujos génicos en diferentes ecotopos y corredores.

A pesar de un número creciente de estudios sobre los mecanismos de resistencia a insecticidas, como la mutación *Kdr* y el uso de marcadores para su genotipificación, estos trabajos se han limitado a grupos de investigadores que documentan cambios en las frecuencias de los alelos de resistencia en las poblaciones de mosquitos (51). De acuerdo con Moyes (7), es necesario la aplicación de estrategias integradas para el monitoreo de la resistencia, así como implementar nuevas herramientas como el uso de marcadores y estandarizar las técnicas ya existentes para la toma de decisiones pragmáticas. Esto resalta la importancia de monitorear no solo los sitios *Kdr* actualmente conocidos mediante técnicas de genotipado directo, sino también las estrategias de secuenciación de genes completos a partir de especímenes con fenotipo resistente por bioensayos.

Si bien la presencia de mutaciones que se asocian con la expresión de la resistencia presentan limitaciones con relación a si estos se encuentran significativamente asociados con la resistencia, hay evidencia de estudios que demuestran que la resistencia al derribo está vinculada genéticamente a los genes del canal del sodio y a las mutaciones descritas en esta revisión (36,51), sin embargo, para la implementación del uso de marcadores y ensayos moleculares en los programas de control de vectores, se requiere de personal capacitado, una infraestructura adecuada, se debe de tener en cuenta el contexto de cada país y contar con las herramientas necesarias para llevar a cabo un estudio de tal amplitud.

Estos resultados fueron una aproximación que hasta ahora no se había registrado en la literatura acerca de la evidencia de la información, que permita detectar si estos estudios se integran a los programas de control y así mismo que se puedan reconocer las posibles limitaciones que se han presentado con la utilización de herramientas moleculares para la identificación de la resistencia a los insecticidas.

De acuerdo con Hemingway (52), el monitoreo de la resistencia debería de simplificarse, sin embargo por la falta de recursos y capacidad tecnológica de muchos países, esto no ha sido posible. Ciertas mutaciones, que confieren resistencia a los sitios blancos (por ejemplo; *Kdr*, *AChE* y *GABA*) se pueden identificar fácilmente con ensayos de *PCR* simples, pero el desafío principal es la disponibilidad de marcadores de ADN confiables para la gama de genes de resistencia (51). De esta forma queda determinada la necesidad de realizar acciones precisas basadas en el perfil genotípico, así como la obtención de recursos e infraestructura acorde al contexto de cada país.

#### **4.1 Limitaciones**

Como limitaciones de esta revisión, no fue posible evaluar la calidad de las fuentes de evidencia debido a que no se contó con una herramienta de evaluación estandarizada para métodos moleculares. Varios textos (10/243) contienen información de propiedad exclusiva y no están disponibles públicamente, además de aquellos resúmenes que no se lograron obtener en texto completo a pesar de haber contactado con los autores. Como tal, es probable que la revisión esté generalizada a estudios que estén disponibles públicamente.

## 5. Conclusión

Se identificó una colección de 25 marcadores moleculares asociados con la resistencia a insecticidas en las poblaciones de mosquitos *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* en América, y la detección de perfiles genotípicos de resistencia de 13 mutaciones puntuales en el canal del sodio para ambas especies, todas mutaciones *Kdr*. Los marcadores moleculares F1534C, V1016I, I1011V y I1011M resultaron ser los de uso frecuente para la identificación de resistencia asociada a mutaciones *Kdr* en mosquitos *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*, sin embargo, son escasos los reportes de su aplicación en los programas de control vectorial para la vigilancia de la resistencia. Se reportó mayor frecuencia de genotipos resistentes con los marcadores *Val1016Ile* y *Phe1534Cys*, por lo cual se sugiere su implementación en el monitoreo de la resistencia de *Ae. aegypti* frente a los insecticidas piretroides. Por otra parte, se destaca la necesidad de acciones precisas basadas en el perfil genotípico, como un marco preventivo para contener la diseminación de la resistencia antes de que esta característica se vuelva un importante problema para el control de la transmisión de las arbovirosis a partir de las poblaciones naturales de mosquitos vectores.

### 1. Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

### 2. Contribuciones de los participantes de la revisión

Fátima Vázquez (FV), Lina Zuluaga (LZ) Nilsa González (NG) concibieron el estudio y revisaron el protocolo. FV realizó la búsqueda de los estudios en las bases de datos y elaboró los formularios. Paola Ramírez (PR) y Ester Avendaño (EA), contribuyeron en el asesoramiento y verificación de la estrategia de búsqueda. FV y Leslie Álvarez (LA) realizaron la selección de los estudios y la extracción de la información. FV resumió, codificó, analizó e interpretó los datos y preparó el manuscrito. Natalia Ríos (NR), contribuyó en los ajustes de escritura. Daniel Aquino (DA), contribuyó en la asesoría de las normas de referenciación bibliográfica. LZ, NG y LA contribuyeron a la discusión de los resultados y revisaron el manuscrito.

### **1. Financiamiento**

Este informe es una investigación independiente respaldada por una beca para cursar estudios de Maestría en Epidemiología en el marco del convenio entre la Universidad de Antioquía y el Programa Especial de Investigación y Capacitación en Enfermedades Tropicales (*TDR: Tropical Disease Research*). Los financiadores no influyeron en los resultados de esta investigación.

### **2. Disponibilidad de los datos e información de contacto**

Para ampliar la información recopilada para esta revisión, puede contactarse al autor principal, Fátima Rocío Vázquez Orrego, con la siguiente información de contacto: [fatima.vazquez@udea.edu.co](mailto:fatima.vazquez@udea.edu.co), Facultad Nacional de Salud Pública, Universidad de Antioquia.

### 3. Referencias

1. OMS. Respuesta mundial para el control de vectores – enfoque integrado para el control de las enfermedades de transmisión vectorial. 2017;4. Available from: [http://www.who.int/malaria/areas/vector\\_control/Draft-WHO-GVCR-2017-2030-esp.pdf](http://www.who.int/malaria/areas/vector_control/Draft-WHO-GVCR-2017-2030-esp.pdf)
2. Consorcio del paludismo - Enfermedades arbovirales (Páginas) [Internet]. [cited 2021 Feb 7]. Available from: <https://www.malariaconsortium.org/pages/arboviral-diseases.htm>
3. Espinal MA, Andrus JK, Jauregui B, Waterman SH, Morens DM, Santos JI, et al. Emerging and reemerging aedes-transmitted arbovirus infections in the region of the americas: Implications for health policy [Internet]. Vol. 109, American Journal of Public Health. 2019 [cited 2021 Feb 7]. p. 387–92. Available from: <https://doi.org/10.2105/AJPH.2018.304849>
4. Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud - OMS. Plan De Acción Sobre Entomología y Control de Vectores 2018-2023. 70 Sesión del Com Reg la OMS para las Américas. 2019;26.
5. Organización Mundial de la Salud. Respuesta mundial para el control de vectores 2017 - 2030 [Internet]. Organización mundial de la Salud 2017 p. 64–70. Available from: [https://www.who.int/malaria/areas/vector\\_control/Draft-WHO-GVCR-2017-2030-esp.pdf](https://www.who.int/malaria/areas/vector_control/Draft-WHO-GVCR-2017-2030-esp.pdf)
6. WHO | Global Strategy for dengue prevention and control, 2012–2020 [Internet]. WHO World Health Organization; 2015. Available from: <https://www.who.int/denguecontrol/9789241504034/en/>
7. Moyes CL, Vontas J, Martins AJ, Ng LC, Koou SY, Dusfour I, et al. Contemporary status of insecticide resistance in the major Aedes vectors of arboviruses infecting humans. PLoS Negl Trop Dis [Internet]. 2017 Jul 20 [cited 2021 Feb 8];11(7):e0005625. Available from: </pmc/articles/PMC5518996/?report=abstract>
8. García C, García L, Espinosa-Carreón L, César L. Abundancia y distribución de Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) y dispersión del dengue en guasave sinaloa, méxico. Rev Biol Trop. 2011;59(4):1609–19.
9. Insecticides WHOEC on, Organization WH. Expert Committee on Insecticides : seventh report [of a meeting held in Geneva from 10 to 17 July 1956] [Internet]. Geneva PP - Geneva: World Health Organization; 1957. (World Health Organization technical report series ; no. 125). Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/40380>
10. Resistance | Insecticide Resistance Action Commiee (IRAC ) [Internet]. [cited 2021 Jan 18]. Available from: <https://irac-online.org/about/resistance/>
11. FONSECA I, QUINOÑES ML. Inseclicide resistance in mosquitoes (Diptera:

- Culicidae): mechanisms, detection and monitoring in public health. *Rev Colomb Entomol* [Internet]. 2005 [cited 2021 Feb 16];31(2):107–15. Available from: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-04882005000200001](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-04882005000200001)
12. Assogba BS, Milesi P, Djogbénou LS, Berthomieu A, Makoundou P, Baba-Moussa LS, et al. The ace-1 Locus Is Amplified in All Resistant *Anopheles gambiae* Mosquitoes: Fitness Consequences of Homogeneous and Heterogeneous Duplications. *PLoS Biol* [Internet]. 2016 Dec 5 [cited 2021 Feb 16];14(12). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27918584/>
  13. Fox I, Garcia-Moll I. Multi-resistant *aedes aegypti* in Puerto Rico and Virgin Islands. *Science* (80- ) [Internet]. 1961 [cited 2021 Feb 12];133(3453):646–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13701097/>
  14. de la Cruz-Gallardo CM, Rodríguez-Pérez C, Ocaña-Zurita FJ. Susceptibilidad y resistencia a insecticida en mosquito transmisor del dengue. *Salud en Tabasco* [Internet]. 2014 Feb 15;20(2):54–9. Available from: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=48735406005>
  15. WHO. OMS | La resistencia a los insecticidas [Internet]. WHO. World Health Organization; 2020 [cited 2021 Jan 18]. Available from: [https://www.who.int/malaria/areas/vector\\_control/insecticide\\_resistance/es/](https://www.who.int/malaria/areas/vector_control/insecticide_resistance/es/)
  16. Flores AE. Detección de resistencia a insecticidas en mosquitos con énfasis en *Aedes aegypti*. *Artrópodos y Salud*. 2016;1(2):21–36.
  17. Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SJ, Higuchi R, Horn GT, et al. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* (80- ). 1988;239(4839):487–91.
  18. Sierra I. Estudios moleculares de la resistencia a insecticidas en triatomíneos. *Univ Nac La Plata* [Internet]. 2018 [cited 2021 Feb 16]; Available from: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/99192>
  19. Corbel V, Durot C, Achee NL, Chandre F, Coulibaly MB, David JP, et al. Second WIN International Conference on “integrated approaches and innovative tools for combating insecticide resistance in vectors of arboviruses”, October 2018, Singapore. *Parasites and Vectors* [Internet]. 2019 Jul 3 [cited 2021 Jan 18];12(1):331. Available from: <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-019-3591-8>
  20. Auteri M, Russa F La, Blanda V, Torina A. Insecticide Resistance Associated with *kdr* Mutations in *Aedes albopictus* : An Update on Worldwide Evidences. *Biomed Res Int*. 2018;2018:10.
  21. Bellinato DF, Viana-Medeiros PF, Araújo SC, Martins AJ, Lima JBP, Valle D. Resistance status to the insecticides temephos, deltamethrin, and diflubenzuron in Brazilian *aedes aegypti* populations. *Biomed Res Int* [Internet]. 2016 [cited 2021 Mar 6];2016:1–12. Available from:

<http://www.hindawi.com/journals/bmri/2016/8603263/>

22. Linss JGB, Brito LP, Garcia GA, Araki AS, Bruno RV, Lima JBP, et al. Distribution and dissemination of the Val1016Ile and Phe1534Cys Kdr mutations in *Aedes aegypti* Brazilian natural populations. *Parasites and Vectors* [Internet]. 2014 Jan 15 [cited 2021 Mar 6];7(1):25. Available from: <http://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/1756-3305-7-25>
23. Tricco AC, Lillie E, Zarin W, O'Brien KK, Colquhoun H, Levac D, et al. PRISMA extension for scoping reviews (PRISMA-ScR): Checklist and explanation [Internet]. Vol. 169, *Annals of Internal Medicine*. American College of Physicians; 2018 [cited 2021 Feb 17]. p. 467–73. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30178033/>
24. Peters M, Godfrey C, Mclnerney P, Munn Z, Trico A, Khalil H. Chapter 11: Scoping Reviews. In: *JBIManual for Evidence Synthesis*. JBI; 2020.
25. Donnelly MJ, Isaacs AT, Weetman D. Identification, Validation, and Application of Molecular Diagnostics for Insecticide Resistance in Malaria Vectors [Internet]. Vol. 32, *Trends in Parasitology*. Elsevier Ltd; 2016 [cited 2021 Jan 25]. p. 197–206. Available from: </pmc/articles/PMC4767538/?report=abstract>
26. Corbel V, Achee NL, Chandre F, Coulibaly MB, Dusfour I, Fonseca DM, et al. Tracking Insecticide Resistance in Mosquito Vectors of Arboviruses: The Worldwide Insecticide resistance Network (WIN). *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2016 Dec 1 [cited 2021 Feb 9];10(12). Available from: </pmc/articles/PMC5131894/>
27. Ouzzani M, Hammady H, Fedorowicz Z, Elmagarmid A. Rayyan---a web and mobile app for systematic reviews. *Syst Rev* [Internet]. 2016;5(1):210. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s13643-016-0384-4>
28. Batista E. Evolução de mutações no gene do canal de sódio associadas à resistência tipo Kdr em populações de *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* do Estado de São Paulo. 2012.
29. Aguirre-Obando OA, Martins AJ, Navarro-Silva MA. First report of the Phe1534Cys kdr mutation in natural populations of *Aedes albopictus* from Brazil. *Parasites and Vectors* [Internet]. 2017 Mar 27 [cited 2021 Aug 8];10(1). Available from: </pmc/articles/PMC5369189/>
30. Chapadense FGG, Fernandes EKK, Lima JBP, Martins AJ, Silva LC, da Rocha WT, et al. Phenotypic and genotypic profile of pyrethroid resistance in populations of the mosquito *aedes aegypti* from Goiânia, Central West Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2015;48(5):607–9.
31. Cornel AJ, Holeman J, Nieman CC, Lee Y, Smith C, Amorino M, et al. Surveillance, insecticide resistance and control of an invasive *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) population in California. *F1000Research* [Internet]. 2016

- Aug 5 [cited 2021 Aug 7];5:194. Available from: [/pmc/articles/PMC4857756/](#)
32. Kasai S, Sun H, Scott JG. Diversity of knockdown resistance alleles in a single house fly population facilitates adaptation to pyrethroid insecticides. *Insect Mol Biol* [Internet]. 2017 Feb 1 [cited 2021 Oct 7];26(1):13–24. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/imb.12267>
  33. Corbel V, Fonseca DM, Weetman D, Pinto J, Achee NL, Chandre F, et al. International workshop on insecticide resistance in vectors of arboviruses, December 2016, Rio de Janeiro, Brazil. *Parasites and Vectors* [Internet]. 2017 Jun 2 [cited 2021 Feb 8];10(1):278. Available from: <http://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-017-2224-3>
  34. Organización Panamericana de la Salud. Documento operativo de aplicación del manejo integrado de vectores adaptado al contexto de las Américas [Internet]. 2019. 1–68 p. Available from: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/51760>
  35. Saavedra-Rodriguez K, Urdaneta-Marquez L, Rajatileka S, Moulton M, Flores AE, Fernandez-Salas I, et al. A mutation in the voltage-gated sodium channel gene associated with pyrethroid resistance in Latin American *Aedes aegypti*. *Insect Mol Biol* [Internet]. 2007 Dec 1 [cited 2021 Aug 6];16(6):785–98. Available from: <https://aplicacionesbiblioteca.udea.edu.co:2303/doi/full/10.1111/j.1365-2583.2007.00774.x>
  36. Donnelly MJ, Corbel V, Weetman D, Wilding CS, Williamson MS, Black IV WC. Does *kdr* genotype predict insecticide-resistance phenotype in mosquitoes? *Trends Parasitol*. 2009 May 1;25(5):213–9.
  37. Epelboin Y, Wang L, Gianetto QG, Choumet V, Gaborit P, Issaly J, et al. CYP450 core involvement in multiple resistance strains of *Aedes aegypti* from French Guiana highlighted by proteomics, molecular and biochemical studies. *PLoS One* [Internet]. 2021 Jan 1 [cited 2021 Aug 9];16(1 January). Available from: [/pmc/articles/PMC7799788/](#)
  38. Thornton J, Gomes B, Ayres C, Reimer L. Insecticide resistance selection and reversal in two strains of *Aedes aegypti*. *Wellcome Open Res* [Internet]. 2020 Dec 16;5:183. Available from: <https://wellcomeopenresearch.org/articles/5-183/v2>
  39. Itokawa K, Furutani S, Takaoka A, Maekawa Y, Sawabe K, Komagata O, et al. A first, naturally occurring substitution at the second pyrethroid receptor of voltage-gated sodium channel of *Aedes aegypti*. *Pest Manag Sci* [Internet]. 2021 Jun 1 [cited 2021 Aug 8];77(6):2887–93. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ps.6324>
  40. Ferraz Lopes TB, Amaro TR, Silva BP, Cyrino Zequi JA, Vilas-Bôas GT, Navarro da Silva MA, et al. Genetic study in *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti*

- (Linnaeus, 1762) from Londrina (Paraná State, Brazil): An approach to population structure and pyrethroid resistance. *Rev Bras Entomol* [Internet]. 2021 Mar 1 [cited 2021 Aug 8];65(1):2021. Available from: <http://www.scielo.br/j/rbent/a/5ntrf6bXv9XvGXnQbSkynDh/?lang=en>
41. Rodríguez MM, Ruiz A, Piedra L, Gutierrez G, Rey J, Cruz M, et al. Multiple insecticide resistance in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Boyeros municipality, Cuba and associated mechanisms. *Acta Trop*. 2020 Dec 1;212:105680.
  42. Bass C, Nikou D, Donnelly MJ, Williamson MS, Ranson H, Ball A, et al. Detection of knockdown resistance (kdr) mutations in *Anopheles gambiae*: A comparison of two new high-throughput assays with existing methods. *Malar J* [Internet]. 2007 [cited 2021 Oct 11];6:111. Available from: </pmc/articles/PMC1971715/>
  43. Yanola J, Somboon P, Walton C, Nachaiwieng W, Somwang P, Prapanthadara L. High-throughput assays for detection of the F1534C mutation in the voltage-gated sodium channel gene in permethrin-resistant *Aedes aegypti* and the distribution of this mutation throughout Thailand. *Trop Med Int Heal* [Internet]. 2011 Apr 1 [cited 2021 Oct 11];16(4):501–9. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-3156.2011.02725.x>
  44. Stenhouse SA, Plernsub S, Yanola J, Lumjuan N, Dantrakool A, Choochote W, et al. Detection of the V1016G mutation in the voltage-gated sodium channel gene of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) by allele-specific PCR assay, and its distribution and effect on deltamethrin resistance in Thailand. *Parasites and Vectors* [Internet]. 2013;6(1):1. Available from: *Parasites & Vectors*
  45. Melo Costa M, Campos KB, Brito LP, Roux E, Melo Rodovalho C, Bellinato DF, et al. Kdr genotyping in *Aedes aegypti* from Brazil on a nation-wide scale from 2017 to 2018. *Sci Rep* [Internet]. 2020;10(1):1–12. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-70029-7>
  46. Kawada H, Higa Y, Komagata O, Kasai S, Tomita T, Nguyen TY, et al. Widespread distribution of a newly found point mutation in voltage-gated sodium channel in pyrethroid-resistant *Aedes aegypti* populations in Vietnam. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2009 Oct [cited 2021 Oct 7];3(10). Available from: </pmc/articles/PMC2754656/>
  47. Dolabella SS, Santos RLC, Silva MCN, Steffler LM, Ribolla PEM, Cavalcanti SCH, et al. Detection and Distribution of V1016Ikdr Mutation in the Voltage-Gated Sodium Channel Gene in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Populations from Sergipe State, Northeast Brazil. *J Med Entomol*. 2016 Jul 1;53(4):967–71.
  48. García GP, Flores AE, Fernández-Salas I, Saavedra-Rodríguez K, Reyes-Solis G, Lozano-Fuentes S, et al. Recent rapid rise of a permethrin knock

- down resistance allele in *Aedes aegypti* in México. *PLoS Negl Trop Dis*. 2009;3(10).
49. Lopez-Monroy B, Gutierrez-Rodriguez SM, Villanueva-Segura OK, Ponce-Garcia G, Morales-Forcada F, Alvarez LC, et al. Frequency and intensity of pyrethroid resistance through the CDC bottle bioassay and their association with the frequency of *kdr* mutations in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Mexico. *Pest Manag Sci*. 2018;74(9):2176–84.
  50. Cantillo-Barraza O, Medina M, Granada Y, Muñoz C, Valverde C, Cely F, et al. Susceptibility to insecticides and natural infection in *aedes aegypti*: An initiative to improve the mosquito control actions in Boyacá, Colombia. *Ann Glob Heal* [Internet]. 2020 [cited 2021 Aug 6];86(1):1–9. Available from: [/pmc/articles/PMC7427689/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37427689/)
  51. Lynd A, Weetman D, Barbosa S, Egyir Yawson A, Mitchell S, Pinto J, et al. Field, genetic, and modeling approaches show strong positive selection acting upon an insecticide resistance mutation in *anopheles gambiae* s.s. *Mol Biol Evol* [Internet]. 2010 May [cited 2021 Sep 25];27(5):1117–25. Available from: [/pmc/articles/PMC2877529/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/202877529/)
  52. Hemingway J, Vontas J, Poupardin R, Raman J, Lines J, Schwabe C, et al. Country-level operational implementation of the Global Plan for Insecticide Resistance Management. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2013 Jun 4 [cited 2021 Sep 20];110(23):9397–402. Available from: <https://www.pnas.org/content/110/23/9397>
  53. Rahman RU, Cosme LV, Costa MM, Carrara L, Lima JBP, Martins AJ. Insecticide resistance and genetic structure of *aedes aegypti* populations from rio de Janeiro state, Brazil. *PLoS Negl Trop Dis*. 2021;15(2):1–25.
  54. Hayd RLN, Carrara L, De Melo Lima J, De Almeida NCV, Lima JBP, Martins AJ. Evaluation of resistance to pyrethroid and organophosphate adulticides and *kdr* genotyping in *Aedes aegypti* populations from Roraima, the northernmost Brazilian State. *Parasites and Vectors* [Internet]. 2020;13(1):1–9. Available from: <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04127-w>
  55. Macoris M de L, Martins AJ, Andrighetti MTM, Lima JBP, Valle D. Pyrethroid resistance persists after ten years without usage against *Aedes aegypti* in governmental campaigns: Lessons from São Paulo State, Brazil. *PLoS Negl Trop Dis*. 2018;12(3):1–18.
  56. Ryan SJ, Mundis SJ, Aguirre A, Lippi CA, Beltrán E, Heras F, et al. Seasonal and geographic variation in insecticide resistance in *Aedes aegypti* in southern Ecuador. *PLoS Negl Trop Dis*. 2019;13(6):1–18.
  57. Pinto J, Palomino M, Mendoza-Uribe L, Sinti C, Liebman KA, Lenhart A. Susceptibility to insecticides and resistance mechanisms in three populations of *Aedes aegypti* from Peru. *Parasites and Vectors* [Internet]. 2019;12(1):1–11. Available from: <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3739-6>

58. Devine GJ, Vazquez-Prokopec GM, Bibiano-Marín W, Pavia-Ruz N, Che-Mendoza A, Medina-Barreiro A, et al. The entomological impact of passive metofluthrin emanators against indoor aedes aegypti: A randomized field trial. *PLoS Negl Trop Dis*. 2021;15(1):1–19.
59. Deming R, Manrique-Saide P, Medina Barreiro A, Cardeña EUK, Che-Mendoza A, Jones B, et al. Spatial variation of insecticide resistance in the dengue vector *Aedes aegypti* presents unique vector control challenges. *Parasites and Vectors* [Internet]. 2016 Feb 4 [cited 2021 Aug 6];9(1):67. Available from: /pmc/articles/PMC4743324/
60. Garcia G de A, David MR, Martins A de J, Maciel-de-Freitas R, Linss JGB, Araújo SC, et al. The impact of insecticide applications on the dynamics of resistance: The case of four *Aedes aegypti* populations from different Brazilian regions. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2018 Feb 12 [cited 2021 Aug 6];12(2). Available from: /pmc/articles/PMC5833288/
61. Pareja-Loaiza PX, Santacoloma Varon L, Rey Vega G, Gómez-Camargo D, Maestre-Serrano R, Lenhart A. Mechanisms associated with pyrethroid resistance in populations of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from the Caribbean coast of Colombia. Samy AM, editor. *PLoS One* [Internet]. 2020 Oct 6;15(10):e0228695. Available from: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0228695>
62. Vera-Maloof FZ, Saavedra-Rodriguez K, Penilla-Navarro RP, Rodriguez-Ramirez AD, Dzul F, Manrique-Saide P, et al. Loss of pyrethroid resistance in newly established laboratory colonies of aedes aegypti. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2020;14(3):1–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0007753>
63. Grossman MK, Rodriguez J, Barreiro AM, Lenhart A, Manrique-Saide P, Vazquez-Prokopec GM. Fine-scale spatial and temporal dynamics of kdr haplotypes in *Aedes aegypti* from Mexico. *Parasites and Vectors*. 2019;12(1):1–12.
64. Estep AS, Sanscrainte ND, Waits CM, Bernard SJ, Lloyd AM, Lucas KJ, et al. Quantification of permethrin resistance and kdr alleles in Florida strains of *Aedes aegypti* (L.) and *Aedes albopictus* (Skuse). *PLoS Negl Trop Dis*. 2018;12(10):1–17.
65. Brito LP, Carrara L, Freitas RM De, Lima JBP, Martins AJ. Levels of Resistance to Pyrethroid among Distinct kdr Alleles in *Aedes aegypti* Laboratory Lines and Frequency of kdr Alleles in 27 Natural Populations from Rio de Janeiro, Brazil. *Biomed Res Int*. 2018;2018.
66. Viana-Medeiros PF, Bellinato DF, Valle D. Laboratory selection of *Aedes aegypti* field populations with the organophosphate malathion: Negative impacts on resistance to deltamethrin and to the organophosphate temephos. *PLoS Negl Trop Dis*. 2018;12(8):1–20.

67. Linss JGB, Brito LP, Garcia GA, Araki AS, Bruno RV, Lima JBP, et al. Distribution and dissemination of the Val1016Ile and Phe1534Cys Kdr mutations in *Aedes aegypti* Brazilian natural populations. *Parasites and Vectors* [Internet]. 2014 Jan 15 [cited 2021 Mar 6];7(1):25. Available from: <http://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/1756-3305-7-25>
68. Alvarez LC, Ponce G, Saavedra-Rodriguez K, Lopez B, Flores AE. Frequency of V1016I and F1534C mutations in the voltage-gated sodium channel gene in *Aedes aegypti* in Venezuela. *Pest Manag Sci*. 2015;71(6):863–9.
69. Maestre-Serrano R, Pareja-Loaiza P, Gomez Camargo D, Ponce-García G, Flores AE. Co-occurrence of V1016I and F1534C mutations in the voltage-gated sodium channel and resistance to pyrethroids in *Aedes aegypti* (L.) from the Colombian Caribbean region. *Pest Manag Sci* [Internet]. 2019 Jun 1 [cited 2021 Aug 8];75(6):1681–8. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ps.5287>
70. Contreras-Perera Y, Ponce-Garcia G, Villanueva-Segura K, Lopez-Monroy B, Rodríguez-Sanchez IP, Lenhart A, et al. Impact of deltamethrin selection on kdr mutations and insecticide detoxifying enzymes in *Aedes aegypti* from Mexico. *Parasites and Vectors* [Internet]. 2020 May 6 [cited 2021 Aug 7];13(1):1–22. Available from: <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-020-04093-3>
71. Aponte A, Penilla RP, Rodríguez AD, Ocampo CB. Mechanisms of pyrethroid resistance in *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* from Colombia. *Acta Trop* [Internet]. 2019 Mar 1 [cited 2021 Aug 6];191:146–54. Available from: </pmc/articles/PMC6447284/>
72. Villanueva OK, Ponce G, Lopez B, Gutierrez SM, Iram P, Reyes G, et al. Effect of photoperiod on permethrin resistance in *Aedes aegypti*. *J Am Mosq Control Assoc*. 2016;32(4):308–14.
73. Ponce-García G, Del Río-Galvan S, Barrera R, Saavedra-Rodriguez K, Villanueva-Segura K, Felix G, et al. Knockdown resistance mutations in *aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) From puerto rico. *J Med Entomol*. 2016;53(6):1410–4.
74. Bona ACD, Chitolina RF, Fermino ML, De Castro Poncio L, Weiss A, Lima JBP, et al. Larval application of sodium channel homologous dsRNA restores pyrethroid insecticide susceptibility in a resistant adult mosquito population. *Parasites and Vectors* [Internet]. 2016;9(1):1–14. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s13071-016-1634-y>
75. Saavedra-Rodriguez K, Beaty M, Lozano-Fuentes S, Denham S, Garcia-Rejon J, Reyes-Solis G, et al. Local evolution of pyrethroid resistance offsets gene flow among *aedes aegypti* collections in Yucatan State, Mexico. *Am J Trop Med Hyg*. 2015;92(1):201–9.

76. Viana-Medeiros PF, Bellinato DF, Martins AJ, Valle D. Insecticide resistance, associated mechanisms and fitness aspects in two Brazilian *Stegomyia aegypti* (= *Aedes aegypti*) populations. *Med Vet Entomol.* 2017;31(4):340–50.
77. Francis S, Saavedra-Rodriguez K, Perera R, Paine M, Black WC, Delgoda R. Correction: Insecticide resistance to permethrin and malathion and associated mechanisms in *Aedes aegypti* mosquitoes from St. Andrew Jamaica (PLoS ONE (2017) 12:6 (e0179673) DOI: 10.1371/journal.pone.0179673. *PLoS One.* 2017;12(8):1–13.
78. Granada Y, Mejía-Jaramillo AM, Strode C, Triana-Chavez O. A point mutation V419I in the sodium channel gene from natural populations of *Aedes aegypti* is involved in resistance to  $\lambda$ -cyhalothrin in Colombia. *Insects* [Internet]. 2018 Mar 1 [cited 2021 Aug 6];9(1). Available from: /pmc/articles/PMC5872288/
79. Chen TY, Smartt CT, Shin D. Permethrin resistance in *aedes aegypti* affects aspects of vectorial capacity. *Insects* [Internet]. 2021 Jan 1 [cited 2021 Aug 6];12(1):1–12. Available from: /pmc/articles/PMC7830706/
80. Fan Y, O'grady P, Yoshimizu M, Ponlawat A, Kaufmanid PE, Scott JG. Evidence for both sequential mutations and recombination in the evolution of *kdr* alleles in *aedes Aegypti*. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2020 Apr 1 [cited 2021 Aug 6];14(4):1–22. Available from: <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0008154>
81. De Araújo AP, Paiva MHS, Cabral AM, Cavalcanti AEHD, Pessoa LFF, Diniz DFA, et al. Screening *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Populations from Pernambuco, Brazil for Resistance to Temephos, Diflubenzuron, and Cypermethrin and Characterization of Potential Resistance Mechanisms. *J Insect Sci* [Internet]. 2019 Jun 8 [cited 2021 Aug 8];19(3). Available from: /pmc/articles/PMC6556078/
82. Villanueva-Segura K, Ponce-Garcia G, Lopez-Monroy B, Mora-Jasso E, Perales L, Gonzalez-Santillan FJ, et al. Multiplex PCR for simultaneous genotyping of *kdr* mutations V410L, V1016I and F1534C in *Aedes aegypti* (L.). *Parasit Vectors* [Internet]. 2020 Jun 25 [cited 2021 Aug 6];13(1):325. Available from: <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-020-04193-0>
83. Arévalo-Cortés A, Mejia-Jaramillo AM, Granada Y, Coatsworth H, Lowenberger C, Triana-Chavez O. The midgut microbiota of colombian *aedes aegypti* populations with different levels of resistance to the insecticide lambda-cyhalothrin. *Insects* [Internet]. 2020 Sep 1 [cited 2021 Aug 6];11(9):1–19. Available from: /pmc/articles/PMC7565445/
84. Dolabella SS, Santos RLC, Silva MCN, Steffler LM, Ribolla PEM, Cavalcanti SCH, et al. Detection and Distribution of V1016Ikdr Mutation in the Voltage-Gated Sodium Channel Gene in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Populations from Sergipe State, Northeast Brazil. *J Med Entomol.* 2016 Jul

- 1;53(4):967–71.
85. Siller Q, Ponce G, Lozano S, Flores AE. Update on the frequency of ile1016 mutation in voltage-gated sodium channel gene of aedes aegypti in Mexico. *J Am Mosq Control Assoc.* 2011;27(4):357–62.
  86. Lima EP, Paiva MHS, De Arújo AP, Da Silva ÉVG, Da Silva UM, De Oliveira LN, et al. Insecticide resistance in *Aedes aegypti* populations from Ceará, Brazil. *Parasites and Vectors.* 2011;4(1):1–12.
  87. Martins AJ, Lima JBP, Peixoto AA, Valle D. Frequency of Val1016Ile mutation in the voltage-gated sodium channel gene of *Aedes aegypti* Brazilian populations. *Trop Med Int Heal.* 2009;14(11):1351–5.
  88. Francisid S, Campbell T, McKenzie S, Wright D, Crawford J, Hamiltonid T, et al. Screening of insecticide resistance in aedes aegypti populations collected from parishes in eastern jamaica. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2020 Jul 27 [cited 2021 Aug 6];14(7):1–18. Available from: <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0008490>
  89. Mcallister JC, Godsey MS, Scott ML. Pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from Port-au-Prince, Haiti. *J Vector Ecol* [Internet]. 2012 Dec [cited 2021 Aug 6];37(2):325–32. Available from: </pmc/articles/PMC4562397/>
  90. Scott ML, Hribar LJ, Leal AL, McAllister JC. Characterization of pyrethroid resistance mechanisms in aedes aegypti from the Florida keys. *Am J Trop Med Hyg* [Internet]. 2021 Mar 1 [cited 2021 Aug 7];104(3):1111–22. Available from: </pmc/articles/PMC7941856/>
  91. Aguirre-Obando OA, Dalla Bona AC, Duque L JE, Navarro-Silva MA. Insecticide resistance and genetic variability in natural populations of *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (Diptera: Culicidae) from Colombia. *Zoologia* [Internet]. 2015 [cited 2021 Aug 7];32(1):14–22. Available from: <http://www.scielo.br/j/zool/a/ThLFFRYvkMdWRkVnrf5Sccv/?lang=en>
  92. Maestre-Serrano R, Gomez-Camargo D, Ponce-Garcia G, Flores AE. Susceptibility to insecticides and resistance mechanisms in *Aedes aegypti* from the Colombian Caribbean Region. *Pestic Biochem Physiol.* 2014 Nov 1;116:63–73.
  93. Aponte HA. Resistencia a insecticidas: mecanissmos metabólicos y mutaciones puntuales del sitio blanco de los piretroides, en poblaciones de *Aedes aegypti* del estado de Guerrero [Internet]. Instituto Nacional de Salud Pública; 2011. Available from: <https://catalogoinsp.mx/files/tes/51165.pdf>
  94. Harris AF, Rajatileka S, Ranson H. Pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* from Grand Cayman. *Am J Trop Med Hyg* [Internet]. 2010 Aug [cited 2021 Aug 8];83(2):277–84. Available from: </pmc/articles/PMC2911171/>
  95. Aponte HA, Penilla RP, Dzul-Manzanilla F, Che-Mendoza A, López AD, Solis

- F, et al. The pyrethroid resistance status and mechanisms in *Aedes aegypti* from the Guerrero state, Mexico. *Pestic Biochem Physiol*. 2013 Oct 1;107(2):226–34.
96. Mack LK, Kelly ET, Lee Y, Brisco KK, Shen KV, Zahid A, et al. Frequency of sodium channel genotypes and association with pyrethrum knockdown time in populations of Californian *Aedes aegypti*. *Parasites and Vectors* [Internet]. 2021 Dec 1 [cited 2021 Aug 8];14(1). Available from: </pmc/articles/PMC7936502/>
97. Cosme LV, Gloria-Soriaid A, Caccone A, Powell JR, Martins AJ. Evolution of *kdr* haplotypes in worldwide populations of *Aedes Aegypti*: Independent origins of the F1534C *kdr* mutation. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2020 Apr 1 [cited 2021 Aug 8];14(4):1–18. Available from: <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0008219>
98. Tancredi A, Papandrea D, Marconcini M, Carballar-Lejarazu R, Casas-Martinez M, Lo E, et al. Tracing temporal and geographic distribution of resistance to pyrethroids in the arboviral vector *Aedes albopictus*. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2020 Jun 1 [cited 2021 Aug 8];14(6):1–17. Available from: </pmc/articles/PMC7332087/>
99. Atencia MC, Perez MJ, Jaramillo MC, Caldera SM, Cochero S, Bejarano EE, et al. First report of the F1534C mutation associated with cross-resistance to DDT and pyrethroids in *Aedes aegypti* from Colombia. *Biomedica* [Internet]. 2016 [cited 2021 Aug 8];36(3):432–7. Available from: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-41572016000300012&lng=en&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-41572016000300012&lng=en&nrm=iso&tlng=es)
100. Bowman NM, Akialis K, Cave G, Barrera R, Apperson CS, Meshnick SR. Pyrethroid insecticides maintain repellent effect on knock-down resistant populations of *Aedes aegypti* mosquitoes. *PLoS One* [Internet]. 2018 May 1 [cited 2021 Aug 8];13(5):e0196410. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0196410>
101. Murcia O, Henríquez B, Castro A, Koo S, Young J, Márquez R, et al. Presence of the point mutations Val1016Gly in the voltage-gated sodium channel detected in a single mosquito from Panama. *Parasit Vectors* [Internet]. 2019 Jan 28 [cited 2021 Aug 8];12(1):62. Available from: <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-019-3309-y>
102. Kandel Y, Vulcan J, Rodriguez SD, Moore E, Chung HN, Mitra S, et al. Widespread insecticide resistance in *Aedes aegypti* L. From New Mexico, U.S.A. *PLoS One* [Internet]. 2019 Feb 1 [cited 2021 Aug 8];14(2):e0212693. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0212693>
103. Haddi K, Tomé HVV, Du Y, Valbon WR, Nomura Y, Martins GF, et al. Detection of a new pyrethroid resistance mutation (V410L) in the sodium

- channel of *Aedes aegypti*: A potential challenge for mosquito control. *Sci Rep* [Internet]. 2017 Apr 19 [cited 2021 Aug 8];7(April):1–9. Available from: [/pmc/articles/PMC5396194/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28347326/)
104. Marcombe S, Mathieu RB, Pocquet N, Riaz MA, Poupardin R, Sélidor S, et al. Insecticide resistance in the dengue vector *Aedes aegypti* from Martinique: Distribution, mechanisms and relations with environmental factors. *PLoS One* [Internet]. 2012 Feb 21 [cited 2021 Aug 9];7(2):e30989. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0030989>
  105. Brengues C, Hawkes NJJ, Chandre F, McCarroll L, Duchon S, Guillet P, et al. Pyrethroid and DDT cross-resistance in *Aedes aegypti* is correlated with novel mutations in the voltage-gated sodium channel gene. *Med Vet Entomol* [Internet]. 2003 Mar 1 [cited 2021 Aug 9];17(1):87–94. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1046/j.1365-2915.2003.00412.x>
  106. Hincapie AA, Manzanilla FD, Navarro PP, Mendoza AC, Lopez A, Solis F, et al. Insecticide resistance mechanisms in *Aedes aegypti* populations from localities with high dengue transmission risk in Guerrero, Mexico. *Trop Med Int Heal*. 2011;
  107. Martins AJ, Lins RMMDA, Linss JGB, Peixoto AA, Valle D. Voltage-gated sodium channel polymorphism and metabolic resistance in pyrethroid-resistant *Aedes aegypti* from Brazil. *Am J Trop Med Hyg*. 2009;81(1):108–15.
  108. Aguirre-Obando OA, Martins AJ, Navarro-Silva MA, Villanueva OK, Ponce G, Lopez B, et al. First report of the Phe1534Cys *kdr* mutation in natural populations of *Aedes albopictus* from Brazil. *Parasites and Vectors* [Internet]. 2017 Mar 27 [cited 2021 Aug 8];10(1):1–11. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28347326>

## 4. Anexos

### 4.1 Anexo 1

Inicialmente se realizaron búsquedas independientes para los términos definidos en la población y en el concepto, para lo cual se emplearon términos Mesh y términos amplios, los cuales fueron combinados con el operador booleano “OR”. Se definió la mejor estrategia para la población y para el concepto y se combinaron con el operador “AND”, con la combinación de operadores de truncamiento [(),””,\*], obteniendo así resultados más pertinentes.

**Tabla 2.** *Términos índices seleccionados para la estrategia de búsqueda de las fuentes de evidencia.*

Términos índices	Población: Mosquitos Adultos del género <i>Aedes</i>			Concepto: Mutaciones en el sitio blanco asociado con resistencia a insecticidas		
	Inglés	Español	Portugués	Inglés	Español	Portugués
MeSH term	<i>Ae.des</i>	<i>Ae.des</i>	<i>Ae.des</i>	Insecticides	insecticidas	inseticidas
	Mosquito vectors	mosquitos vectores	mosquitos vetores	Insecticide resistance	Resistencia a insecticidas	resistência a inseticidas
Free-text term [tiab]	<i>Ae.des</i> <i>Ae.gypti</i>	<i>Ae.des</i> <i>Ae.gypti</i>	<i>Ae.des</i> <i>Ae.gypti</i>	Resistance	Resistencia	Resistência
	<i>Ae.des albopictus</i>	<i>Ae.des albopictus</i>	<i>Ae.des albopictus</i>	Resist*	Resistirse*	Resistir*
	<i>Ae. gypti</i>	<i>Ae. gypti</i>	<i>Ae. gypti</i>	Molecular target	Diana molecular	molecular
	<i>Ae. albopictus</i>	<i>Ae. albopictus</i>	<i>Ae. albopictus</i>	DNA markers	marcadores de ADN	marcadores de DNA
	<i>Stegomyia</i>	<i>Stegomyia</i>	<i>Stegomyia</i>	Molecular Markers	Marcadores moleculares	Marcadores moleculares











4.7 Anexo 7

**Tabla 8.** Marcadores moleculares identificados para el análisis de la resistencia a insecticidas de las especies *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* en los estudios incluidos.

Nro.	Secuencias blanco como marcadores genéticos de resistencia	Nombre del marcador	País	Referencia
1	<b>F1534C SNP-F:</b> CGAGACCAACATCTACATGTACCT; <b>F1534C SNP-R:</b> GATGATGACACCGATGAACAGATTC; <b>probePhe*</b> : (FAM-ACGACCCGAAGATGA-NFQ); <b>probeCys<sup>Kdr</sup></b> : (VIC-AACGACCCGCAGATGA-NFQ) <b>*Ae_1534_M:</b> (ACGACCCGCAGATGA)	Phe1534Cys	Brasil	(38,53–55)
	<b>F1534C-SNP-F-:</b> (GATGATGACACCGATGAACAGATC); <b>F1534C-SNP-R-:</b> (CGAGACCAACATCTAGTACCT); <b>F1534-PV:</b> (AACGACCCGAAGATGA); <b>C1534-PF:</b> (ACGACCCGCAGATGA)		Guyana Francesa	(37)
	<b>1534 Phe+ (for):</b> (TCTACTTTGTGTTCTTCATCATATT); <b>1534 Cys Kdr (for):</b> (TCTACTTTGTGTTCTTCATCATGTG); <b>*1534 comom (rev):</b> (TCTGCTCGTTGAAGTTGTCGAT) <b>*1534r:</b> (TCTGCTCTTCGTGAAGT)		Jamaica, Ecuador, Perú, Brasil, México, Colombia, EEUU	(29,30,40,49,56– 77)
	<b>Ext_1534F:</b> GGAGAACTACACGTGGGAGAAC; <b>Ext_1534R:</b> CGCCACTGAAATTGAGAATAGC; <b>R_1534WT:</b> GCGTGAAGAACGACCCGA; <b>R_1534Mut:</b> GCGTGAAGAACGACCCGC		EEUU, Cuba, Colombia, Puerto Rico, Costa Rica	(78–80)
	<b>IIP_F:</b> (5'-GGTGAACCTCACCGACTTC-3 '); <b>IIS_R:</b> (5'-GGACGCAATCTGGCTTGTTA-3 ')		Brasil	(81)
	<b>c1534-f:</b> (GCGTACCTGTGTCTGTTCCA) <b>c1534r:</b> (GGCTTCTTCGAGCCCATCTT) <b>Ae.1534Fr:</b> (GCGTGAAGAACGACCCGA) <b>Ae.1534Ff:</b> (CCTCTACTTTGTGTTCTTCATCATCTG)		México	(82)
	<b>1534For:</b> (TCGCGAGACCAACATCTACATG), <b>Phe:</b> (VIC-AACGACCCGAAGATGA-NFQ); <b>1534Rev:</b> (GATGATGACACCGATGAACAGATTC), <b>Cys:</b> (FAM-ACGACCCGCAGATGA-NFQ)		Brasil	(45)
2	<b>V1016I SNP-F:</b> CGTGCTAACCGACAAATTGTTTCC; <b>V1016I SNP-R:</b> GACAAAAGCAAGGCTAAGAAAAGGT; <b>probeVal*</b> : (VIC-CCGCACAGATACTTA-NFQ); <b>probelle<sup>Kdr</sup></b> : (FAM-CCCGCACAGGTACTTA-NFQ)	Val1016Ile	Brasil	(45,53–55)
	<b>Ext_1016F:</b> GCCACCGTAGTGATAGGAAATC; <b>Ext_1016R:</b> CGGGTTAAGTTTCGTTTAGTAGC; <b>F_1016Wt:</b> GTTTCCCACTCGCACAGGT; <b>F_1016Mut:</b> GTTTCCCACTCGCACAGA		Colombia, EEUU	(50,78,79,83)
	<b>Val1016F:</b> ACAAATTGTTTCCCACCCGCACCCGG; <b>Ile1016F:</b> ACAAATTGTTTCCCACCCGCACTGA; <b>*Val1016f:</b> ((5'CGGGCAGGGCGGCGGGGGTTCGACGCCAC') <b>*Ile1016R:</b> TGATGAACCSGAATTGGACAAAAGC; <b>*Ile1016r:</b> (GGATGAACCSAAATTGGACAAAAGC); <b>*1016 comom (rev)</b> (GGATGAACCSAAATTGGACAAAAGC)		México, EEUU, Brasil, Puerto Rico, Venezuela, Panamá, costa Rica, Nicaragua, Cuba, Jamaica, Perú, Colombia, Cuba,	(28,30,31,35,41,4 8,49,57– 65,67,68,70– 77,82,84–92)

	<p><b>V1016lb_F:</b> (CGTGCTAACCGACAAATTGTTTCC);  <b>V1016lb_R:</b> (CGAAATTGGACAAAAGCAAGGCTAA);  <b>V1016lb_V:</b> (CGCACAGGTACTTAAC);  <b>V1016lb_M:</b> (CGCACAGATACTTAAC)</p>		Brasil y Gran Caimán	(38)
	<p><b>Val1016dtc:</b> (GCAAGGCTAAGAAAAGTTAAGTAC);  <b>Ile1016dtc:</b> (GCAAGGCTAAGAAAAGTTAAGTAT);  <b>Ile1016rpt:</b> (CTGTGCGAGTGGGAAACAAT)</p>		Gran Caimán, México	(93–95)
	<p><b>Secuencia:</b>(GTTTCGTTTCGTTGTCGGCCGTCGGTGCCGACAGCG AGGATGAACCGAAATTGGACAAAAGCAAGGCTAAGAAAAGTT AAGTA[C/T]CTGTGCGNGTGGGAAACAATTTGTCGGTTAGCACG AT);  <b>1st-PCR primer:</b> ACGTTGGATGACCGACAAATTGTTTCCCAC;  <b>2nd-PCR primer:</b> ACGTTGGATGGCGAGGATGAACCGAAATTG</p>		EEUU	(96)
	<p><b>V1016I SNP-F-:</b> (GCTAACCGACAAATTGTTTCCC);  <b>V1016I SNP-R-:</b> (CAGCGAGGATGAACCGAAAT);  <b>V1016-PV:</b> (CACAGGTACTTAACCTTTT);  <b>I1016-PF:</b> (CACAGATACTTAACCTTTTC)</p>		Guyana Francesa	(37)
3	<p><b>AaSCF9:</b> (TATCTGCCTTTTCGTCTAATGACCC)  <b>AaSCR10:</b> (TTCCTCGGCGGCCTCTTC)  <b>410com-F:</b> (TATCTGCCTTTTCGTCTAATGACCC)  <b>V410-R:</b> (GACAATGGCCAAGATCAAATTGAC)  <b>410L-R:</b> (GACAATGGCCAAGATCAAATTAATA)</p>	Val410Leu	EEUU, Cuba, Colombia, Puerto Rico, Costa Rica	(80)
	<p><b>V410f:</b> ([LongGCTail] ATCTTCTTGGGTTTCGTTCTACCGTG)  <b>L410f:</b> ([ShortGCTail] ATCTTCTTGGGTTTCGTTCTACCAT)  <b>410r:</b> (TTCTTCTCGGCGGCCTCTT)</p>		México, Colombia	(58,61,70,82)
	<p><b>410For:</b> (GTGGCACATGCTCTTCTTCATT),  <b>Val:</b> VIC-(TCGTTCTACCTTGAAATT)-NFQ;  <b>410Rev:</b> (GGCGACAATGGCCAAGATC),  <b>Leu:</b> FAM-(TTCGTTCTACCTTTTAAATT)-NFQ)</p>	V410L(AN2XA9 W)	Brasil	(45)
	<p><b>Secuencia:</b>  (CTGGAGTTCGTGCTACGACATGGCGACAATGGCCAAGATCAAA TTTA[C/A]AAGGTAGAACGAACCCAAGAAGATAATCACAATGAAG AAGAGCATGTGCCACGGTCCAGCTGATCGTAACACCTGTTTTG CACACCACGAAGAGTTGGT);  <b>1st-PCR primer:</b> (ACGTTGGATGGCACATGCTCTTCTTCATTG);  <b>2nd-PCR primer:</b> (ACGTTGGATGACATGGCGACAATGGCCAAG)</p>	V410L	Brasil	(96)
4	<p><b>Val1011f:</b> (ATTGTATGCTTGTGGGTGACG);  <b>Iso1011r:</b> (GCGGGCTACTTACTACTAGATTTCCAAT);  <b>Val1011r:</b> (GCGGGCAGGGCGGGCGGGGGCGGGGCCTACTTACTACTAGAT TTCCGAC)</p>	Ile1011Val	Venezuela, Panamá, costa Rica, Nicaragua, Cuba, México, EEUU, Jamaica, Haití	(35,88–90)
5	<p><b>Met1011f:</b> (5'-GTCCTGTATTCCGTTCTTTT-3 ');  <b>Iso1011r:</b> (5' - [cola larga] TACTTACTACTAGATTTGCC-3 ');  <b>Met1011r:</b> (5' - [cola corta] TACTTACTACTAGATTTACT)</p>	Ile1011Met	Venezuela, Panamá, costa Rica, Nicaragua, Cuba, México, EEUU, Brasil, Haití	(28,35,65,86,89,90)
6	<p><b>5para6:</b> (CGGGTATTATGCGGCGAGTG);  <b>3para3:</b> (TGGACAAAAGCAAGGCTAAG)</p>	para (segmento IIS6)	Brasil	(97)
7	<p><b>AegNaVfor8:</b> (GTGGGAAAGCAGCCGATTCGC);  <b>AegNaVrev6:</b> (TGTTGAACCCGATGAAC)</p>	AegNaV (Segmento IIS6)	Brasil	(97)

8	<b>AegSCF10:</b> (GTGTTACGATCAGCTGGACC); <b>AegSCR10:</b> (AAGCGCTTCTCTCCGGC)	AegSC (dominio I, posición 410)	China, Tailandia, Isla Reunión, México, Grecia, norte y sur de Italia	(98)
9	<b>NaV2021-Fw:</b> (5'GACAATGTGGATCGCTTCCCG-3 '); <b>NaV2021-Rev:</b> (5'-GCACGGACGCAATCTGGC-3 ')	NaV2021 (982, Ile1011Met, 1014 y 1016).	Brasil	(81)
10	<b>V419L-F:</b> GATTCTCCAGAACTCCACC; <b>V419L-R:</b> TCAATGGATTTGGGTGACAA; <b>F_419Wt:</b> CTTGGGTTCTGTTCTACCTTG; <b>F_419Mut:</b> CTTGGGTTCTGTTCTACCTTT	Val419Leu	Colombia	(50,78)
11	<b>GlyI016f:</b> (5'-ACCGACAAATTGTTTCCC-3 '); <b>Vall016r:</b> (5' - [cola corta]AGCAAGGCTAAGAAAAGGTTAATTA-3 '); <b>GlyI016r:</b> (5' - [cola larga] AGCAAGGCTAAGAAAAGGTTAACTC-3 ')	Val1016Gly	Venezuela, Panamá, costa Rica, Nicaragua, Cuba, México, EEUU, Guyana Francesa, Haití	(35,89,90)
12	<b>AAex31P:</b> (TCGCGGGAGGTAAGTTATTG); <b>AAex31Q:</b> (GTTGATGTGCGATGGAAATG) <b>AAex31wt:</b> (CCTCTACTTTGTGTTCTTCATCATCTT) <b>AAex31mut:</b> (GCGTGAAGAACGACCCGC)	AAe.x31	Colombia, México, Gran Caimán	(94,95,99)
13	<b>Ae2021aF</b> (ATTGTATGCTTGTGGGTG); <b>Ae2021aR</b> (GCGTTGGCGATGTTG)	Ae2021a		
14	<b>Secuencia:</b> (AAGATGAAGATGATGATACACAGGACGAAGGTCAGATTACCGA GAGCGCCCACCGTGC GGCCCATGATCGA[G/T]ATCAGCAAGTTT AGCGTTGGCCACGATTTGCTAGTTTGAACACTCT); <b>1st-PCR primer:</b> ACGTTGGATGCAGGACGAAGGTCAGATTAC; <b>2nd-PCR primer:</b> ACGTTGGATGAATCGTGGCCAACGCTAAAC	T915K	EEUU	(96)
15	<b>Secuencia:</b> (GGGCTCGATGAAAGGATTGTCGTTGTGTTTTATTTTGCCAGCTT CNTCTGTACAGTCTTGTGACATATCCTGTAAAAATAGAAGAGAA TTGGATGTA AATT; <b>1st-PCR primer:</b> ACGTTGGATGACCTTTCATATCTACTACGG); <b>2nd-PCR primer:</b> ACGTTGGATGAACACAACGACAATCCTTTC	S723T	EEUU	(96)
16	<b>KasaiKdrAegSCF20:</b> (5'GACAATGTGGATCGCTTCCC-3'); <b>KasaidrAegSCR21:</b> (5'GCAATCTGGCTTGTTAACTTG-3') <b>KasaiKdrAegSCF7:</b> (5'-GAGAACTCGCCGATGAACTT-3'); <b>KasaiKdrAegSCR7:</b> (5'GACGACGAAATCGAACAGGT-3')	KasaiKdrAe.gSC		
17	<b>AaSCF7:</b> (GAGAACTCGCCGATGAACTT); <b>AaSCR7:</b> (GACGACGAAATCGAACAGGT); <b>AaSCR8:</b> (TAGCTTTCAGCGGCTTCTTC) <b>*1534r:</b> (5' TCTGCTCGTTGAAGTTGTGCAT 3')	AaSC(Dominio III, 1534)	EEUU, Brasil, Panamá	(39,100,101)
	<b>AaSCF20:</b> (GACAATGTGGATCGCTTCCC); <b>AaSCR21:</b> (GCAATCTGGCTTGTTAACTTG); <b>AaSCF3:</b> (GTGGAACCTCACCGACTTCA); <b>*AaSCR22:</b> (TTCACGAACTTGAGCGCGTTG) <b>*AaSCF6:</b> (CGACTTGATCCAGTTGGAGA) <b>*989r:</b> (5' TGCCGACAGCGAGGATGAACC 3')	AaSC(Dominio II)	EEUU, Brasil, Panamá, Cuba, Colombia, Puerto Rico, Costa Rica	(39,80,100-102)
	<b>AaSCF1:</b> (AGACAATGTGGATCGCTTCC); <b>AaSCR4:</b> (GGACGCAATCTGGCTTGTTA)	AaSC (Dominio II, segmento 6, Ser989, Ile1011, Leu1014, Val1016)	Panamá	(101)

18	<b>E6-:</b> (GGGTAATCTCGCTGCATTGAG) <b>E8-R:</b> (ACCCGACGAGTTCCACAAAGAG) <b>E20-F:</b> (GACAATGTGGATCGCTTCCC) <b>E21-R:</b> (GCAATCTGGCTTGTTAACTTG) <b>E31-:</b> (CTCGTTCTTAGCGATCTCATCG) <b>E32-R:</b> (CAGACATCCGCCGATCGTGAAG) <b>E31-F1:</b> (CAAGAGCGGGCTGGACGATGTG)	Sin especificar	Cuba, Colombia, Puerto Rico, Costa Rica	(80)
20	<b>Ae410F1:</b> 5'-TTACGATCAGCTGGACCGTG-3' <b>Ae410F2:</b> 5'-ATCAGCTGGACCGTGGCA-3' <b>Ae410R1:</b> 5'-TTCCTCGGCCGGCCTCTTC-3' <b>(* Ae434R3:</b> (5'-CTTCTTCTCGGCCGCCCTC-3')	Ae.410	EEUU, Brasil, Panamá, Cuba, Colombia, Puerto Rico, Costa Rica	(39,103)
21	<b>Ae.1534F1:</b> 5'-CGCGAGACCAACATCTACAT-3' <b>Ae.1534R2:</b> 5'-CTTTCAGCGGCTTCTTCGAG-3' <b>Ae.1534R1:</b> 5'-AGGCCGTGGAATAGCTTTC-3'	Ae.1534	Brasil	(103)
22	<b>1763f:</b> (5' TCGAGAAGTACTTCGTGTCG 3'); <b>1763r:</b> (5' AACAGCAGGATCATGCTCTG 3')	D1763Y	EEUU	(102)
23	<b>Aed3:</b> (5' ACTACATCGAGAATGTGGATCG 3'); <b>Aed2A:</b> (5' TTGTTGGTGTCGTTGTCGGCCGTCGG 3')	Aed	Martinica	(104)
24	<b>AegF1:</b> (5'-AACTTACTCATTTCATCATGG-3'); <b>AegRev:</b> (5'-TGCCGACAGCGAGGATGAACC-3')	Aeg	Brasil, Martinica	(105)
25	<b>La referencia no especifica la secuencia del marcador</b>	F1558C	Colombia	

### 4.8 Anexo 8

**Tabla 9.** Perfil genotípico de resistencia asociadas a mutaciones del sitio blanco en *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*. Nota: Perfiles homocigotos susceptibles: 1016 (V/V; Val/Val); 1534 (F/F; Phe/Phe); 1011 (Ile/Ile, I/I); 410 (Val/Val, V/V); 419 (Val/Val, V/V), 989 (Ser/Ser), 1558(Phe/Phe). Perfiles heterocigotos: 1016 (V/I; Val/Ile); 1534 (F/C; Phe/Cys); 1011 (Ile/Val, Ile/Met, I/V, I/M); 410 (Val/Leu, V/L); 419 (Val/Leu, V/L), 989 (Ser/Tyr), 1558(Phe/Cys). Perfiles homocigotos resistentes: 1016 (I/I; Ile/Ile); 1534 (C/C; Cys/Cys); 1011 (Val/Val, Met/Met, V/V, M/M); 410 (Leu/Leu, L/L); 419 (Leu/Leu, L/L), 989 (Tyr/Tyr), 1558(Cys/Cys).

Nro.	Ref.	Especie del género <i>Aedes</i>	País	Nro. de sitios analizados	Año de colecta	Pruebas de bioensayo	Mutación detectada	Genotipos detectados
1	(55)	<i>Ae. aegypti</i>	Brasil	7	2003-2013	OMS	Cys1534	F/F; F/C; C/C
							Ile1016	V/V; V/I; I/I
2	(49)	<i>Ae. aegypti</i>	México	12	2014	CDC	Cys1534	F/F; F/C; C/C
							Ile1016	V/V; V/I; I/I
3	(78)	<i>Ae. aegypti</i>	Colombia	3	2013-2014	OMS	Cys1534	F/F; F/C; C/C
							Ile1016	V/V; V/I; I/I
							Leu419	V/V; V/L; L/L
4	(83)	<i>Ae. aegypti</i>	Colombia	6	2016-2017	OMS	Ile1016	V/V; V/I
5	(31)	<i>Ae. aegypti</i>	EEUU	18	2013	CDC	Ile1016	V/I
6	(53)	<i>Ae. aegypti</i>	Brasil	6	2010	OMS – CDCD	Ile1016	V/V; I/I
							Cys1534	F/F; C/C
7	(50)	<i>Ae. aegypti</i>	Colombia	6	2017	CDC	Ile1016	V/V; V/I; I/I
							Cys1558	F/C; C/C
							Leu419	V/V; V/L; L/L
8	(96)	<i>Ae. aegypti</i>	EEUU	5	2018	CDC	Cys1534	F/C; C/C
							Ile1016	V/V; V/I; I/I
							Lys915	T/K; K/K
							Thr723	S/S; S/T; T/T
9	(90)	<i>Ae. aegypti</i>	EEUU	6	2010	CDC	Leu410	V/V; V/L; L/L
							Ile1016	I/I; I/V; V/V
							Gly1016	V/V
							Val1011	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
10	(79)	<i>Ae. aegypti</i>	EEUU	1	2015	CDC	Met1011	Ile/Ile; Ile/Met; Met/Met
							Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
							Cys1534	Phe/Phe; Phe/Cys; Cys/Cys

11	(40)	<i>Ae. aegypti</i>	Brasil	5	2017	No reporta	Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
							Cys1534	Phe/Phe; Phe/Cys; Cys/Cys
12	(28)	<i>Ae. aegypti</i>	Brasil	5	2001-2011	No reporta	Val1016Ile	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
							Ile1011Met	Ile/Ile; Ile/Met; Met/Met
13	(69)	<i>Ae. aegypti</i>	Colombia	9	2010-2011	CDC	Val1016Ile	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
							Phe1534Cys	Phe/Phe; Phe/Cys; Cys/Cys
14	(72)	<i>Ae. aegypti</i>	México	4	2012	Botella, no aclara si es método del CDC	Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
							Cys1534	Phe/Phe; Phe/Cys; Cys/Cys
15	(73)	<i>Ae. aegypti</i>	Puerto Rico	8	2013	CDC	Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
							Cys1534	Phe/Phe; Phe/Cys; Cys/Cys
16	(99)	<i>Ae. aegypti</i>	Colombia	2	No especifica	OMS	Phe1534Cys	Phe/Phe; Phe/Cys; Cys/Cys
17	(74)	<i>Ae. aegypti</i>	Brasil	Cepa de laboratorio	No menciona colecta	CDC	Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
							Cys1534	Phe/Phe; Phe/Cys; Cys/Cys
18	(84)	<i>Ae. aegypti</i>	Brasil	7	2011-2012	No reporta	Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
19	(30)	<i>Ae. aegypti</i>	Brasil	3	2013	OMS	Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
							Cys1534	Phe/Phe; Phe/Cys; Cys/Cys
20	(75)	<i>Ae. aegypti</i>	México	8	2010-2011	No reporta	Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
							Cys1534	Phe/Phe; Phe/Cys; Cys/Cys
21	(104)	<i>Ae. aegypti</i>	Martinica	9	2009	OMS	Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
22	(85)	<i>Ae. aegypti</i>	México	17	2007, 2009	No reporta	Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
23	(106)	<i>Ae. aegypti</i>	México	6	2009-2010	OMS	Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
							Cys1534	Phe/Phe; Phe/Cys; Cys/Cys
24	(86)	<i>Ae. aegypti</i>	Brasil	3	2 meses	OMS	Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
							Met1011	Ile/Ile; Ile/Met; Met/Met
25	(94)	<i>Ae. aegypti</i>	Gran Caimán	3	3 meses	OMS	Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
							Cys1534	Phe/Phe; Phe/Cys; Cys/Cys
26	(87)	<i>Ae. aegypti</i>	Brasil	12	2003-2008 excepto 2005	CDC	Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile

27	(48)	<i>Ae. aegypti</i>	México	61	2006-2009	CDC	Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
	(107)	<i>Ae. aegypti</i>	Brasil	3	No menciona colecta	CDC	Met1011	Ile/Ile; Ile/Met; Met/Met
28	(35)	<i>Ae. aegypti</i>	Venezuela, Panamá, costa Rica, Nicaragua, Cuba, México, EEUU	32	No menciona	No reporta	Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
							Gly1016	
							Met1011	Met/Met
							Val1011	Val/Val
29	(88)	<i>Ae. aegypti</i>	Jamaica	8	2018	No reporta	Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
30	(70)	<i>Ae. aegypti</i>	México	6	2014	CDC	L410	V/V; V/L; L/L
							Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
							Cys1534	Phe/Phe; Phe/Cys; Cys/Cys
31	(76)	<i>Ae. aegypti</i>	Brasil	2	2012-2013	OMS	Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
							Cys1534	Phe/Phe; Phe/Cys; Cys/Cys
32	(82)	<i>Ae. aegypti</i>	México	6	2018	No reporta	L410	Val/Val; Val/Leu; Leu/Leu
							Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
							Phe1534Cys	Phe/Phe; Phe/Cys; Cys/Cys
33	(102)	<i>Ae. aegypti</i>	EEUU	10	2017	CDC	Cys1534	Phe/Phe; Phe/Cys; Cys/Cys
34	(37)	<i>Ae. aegypti</i>	Guayana Francesa	NE	2015	OMS	Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
							Cys1534	Phe/Phe; Phe/Cys; Cys/Cys
35	(77)	<i>Ae. aegypti</i>	Jamaica	5	2015	CDC	Cys1534	Cys/Cys
							Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
36	(56)	<i>Ae. aegypti</i>	Ecuador	4	2017	CDC	Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
							Cys1534	Phe/Phe; Phe/Cys; Cys/Cys
37	(45)	<i>Ae. aegypti</i>	Brasil	123	2017-2018	No reporta	Ile1016	Ile/Ile
							Cys1534	Cys/Cys
							L410	Leu/Leu
38	(57)	<i>Ae. aegypti</i>	Perú	3	2014	OMS	Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
							Cys1534	Phe/Phe; Phe/Cys; Cys/Cys

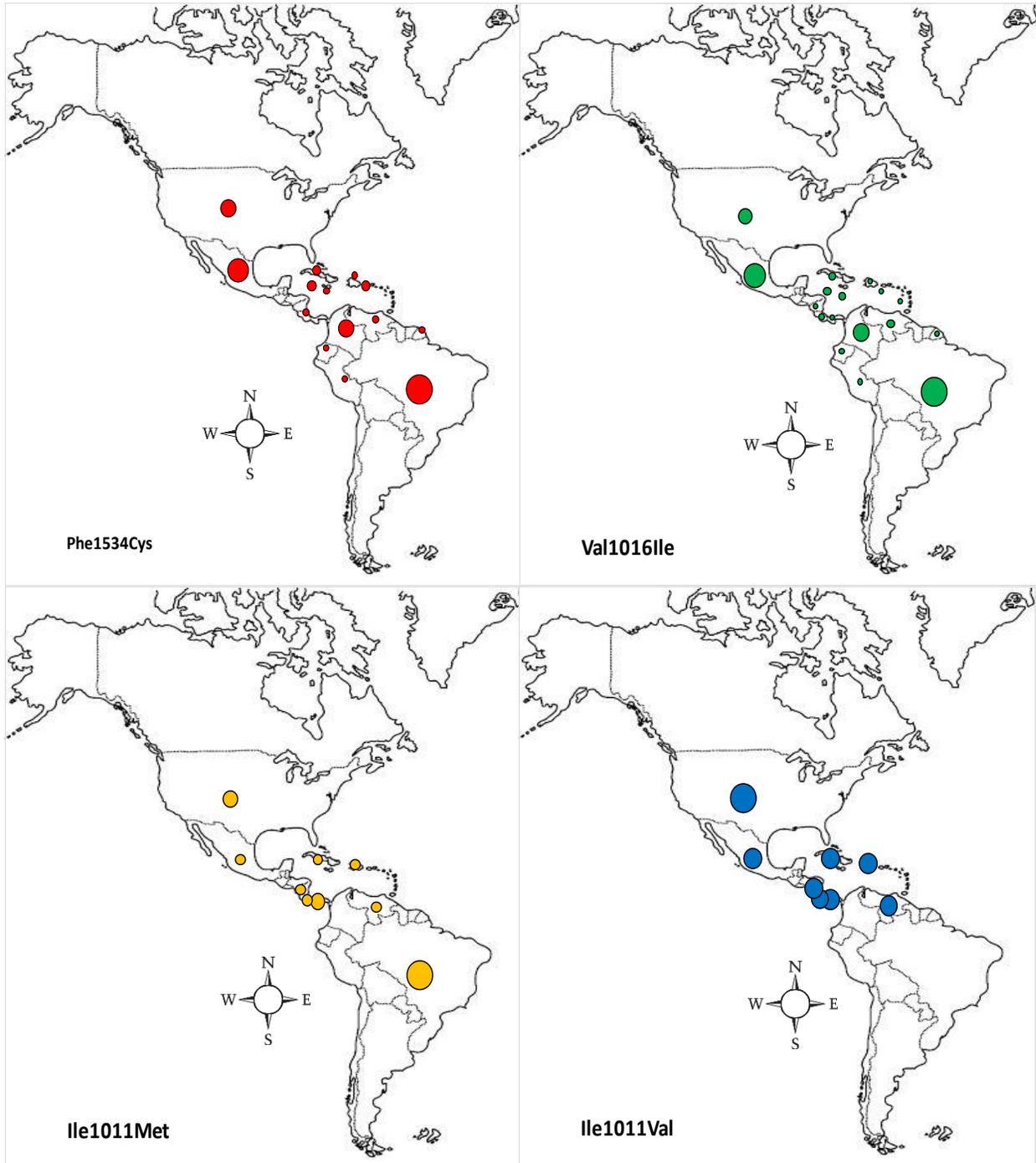
39	(58)	<i>Ae. aegypti</i>	México	1	2018	CDC	Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
							Cys1534	Phe/Phe; Phe/Cys; Cys/Cys
							L410	Val/Val; Val/Leu; Leu/Leu
40	(39)	<i>Ae. aegypti</i>	Brasil	1	2016	OMS	L410	Val/Val; Val/Leu; Leu/Leu
							Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
							Cys1534	Phe/Phe; Phe/Cys; Cys/Cys
41	(54)	<i>Ae. aegypti</i>	Brasil	4	2016-2018	OMS	Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
							Cys1534	Phe/Phe; Phe/Cys; Cys/Cys
42	(59)	<i>Ae. aegypti</i>	México	5	2013	CDC	Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
							Cys1534	Phe/Phe; Phe/Cys; Cys/Cys
43	(60)	<i>Ae. aegypti</i>	Brasil	4	2009-2010	OMS	Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
							Cys1534	Phe/Phe; Phe/Cys; Cys/Cys
							Met1011	Ile/Ile; Ile/Met; Met/Met
44	(61)	<i>Ae. aegypti</i>	Colombia	6	No especifica	CDC – OMS	Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
							Cys1534	Phe/Phe; Phe/Cys; Cys/Cys
							L410	Val/Val; Val/Leu; Leu/Leu
45	(62)	<i>Ae. aegypti</i>	México	8	2014	No especifica	Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
							Cys1534	Phe/Phe; Phe/Cys; Cys/Cys
46	(101)	<i>Ae. aegypti</i> , <i>Ae. albopictus</i>	Panamá	5	2015	No reporta	Gly1016	Val/Val; Val/Gly; Gly/Gly
							Met1011	Ile/Ile; Ile/Met; Met/Met
47	(42)	<i>Ae. aegypti</i>	Cuba	5	2017	OMS	Ile1016	Ile/Ile
							Cys1534	Cys/Cys
48	(110)	<i>Ae. albopictus</i>	Brasil	8	2017	No reporta	Phe1534Cys	Phe/Cys
49	(100)	<i>Ae. aegypti</i>	EEUU	2	2008, 2016	No reporta	Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
							Cys1534	Phe/Phe; Phe/Cys; Cys/Cys
50	(63)	<i>Ae. aegypti</i>	México	1	2014-2015	No reporta	Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
							Cys1534	Phe/Phe; Phe/Cys; Cys/Cys

51	(66)	<i>Ae. aegypti</i>	EEUU	17	2016-2017	OMS	Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
							Cys1534	Phe/Phe; Phe/Cys; Cys/Cys
52	(67)	<i>Ae. aegypti</i>	Brasil	27	No especifica	CDC	Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
							Cys1534	Phe/Phe; Phe/Cys; Cys/Cys
53	(91)	<i>Ae. aegypti</i>	Colombia	3	2011	OMS	Ile1016	Val/Val; Val/Ile
54	(92)	<i>Ae. aegypti</i>	Colombia	9	2010-2012	OMS – CDC	Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
55	(66)	<i>Ae. aegypti</i>	Brasil	2	2012-2013	OMS	Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
							Cys1534	Phe/Phe; Phe/Cys; Cys/Cys
56	(22)	<i>Ae. aegypti</i>	Brasil	30	No especifica	No reporta	Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
							Cys1534	Phe/Phe; Phe/Cys; Cys/Cys
57	(73)	<i>Ae. aegypti</i>	Colombia	6	2014-2015	CDC	Ile1016	Val/Val; Ile/Ile
							Cys1534	Phe/Phe; Phe/Cys; Cys/Cys
58	(103)	<i>Ae. aegypti</i>	Brasil	11	No especifica	OMS	Leu410	Val/Val; Val/Leu; Leu/Leu
							Cys1534	Phe/Phe; Phe/Cys; Cys/Cys
59	(68)	<i>Ae. aegypti</i>	Venezuela	5	2008, 2010, 2012	CDC	Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
							Cys1534	Phe/Phe; Phe/Cys; Cys/Cys
61	(95)	<i>Ae. aegypti</i>	México	6	2009-2010	OMS	Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
							Cys1534	Phe/Phe; Phe/Cys; Cys/Cys
62	(81)	<i>Ae. aegypti</i>	Brasil	16	2009-2012	CDC	Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
							Cys1534	Phe/Phe; Phe/Cys
							Met1011	Ile/Ile; Ile/Met
63	(38)	<i>Ae. aegypti</i>	Brasil y Gran Caimán	2	2004 y 2008	OMS	Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
							Cys1534	Phe/Phe; Phe/Cys; Cys/Cys
64	(98)	<i>Ae. albopictus</i>	México	12	2011 y 2018	No reporta	Leu410	Val/Val; Val/Leu
							Tyr989	Ser/Ser; Ser/Tyr
							Leu1534	Phe/Phe; Phe/Leu

65	(89)	<i>Ae. aegypti</i> , <i>Ae. albopictus</i>	Haití	2	2010	CDC	Ile1016	Val/Val; Val/Ile; Ile/Ile
							Gly1016	Val/Val
							Val1011	Ile/Val; Val/Val
							Met1011	Ile/Ile; Ile/Met; Met/Met
66	(97)	<i>Ae. aegypti</i>	Brasil y otros países	Menciona base de segmentos no sitios	No especifica	No reporta	Met1011	Met/Met
							Ile1016	Ile/Ile
67	(80)	<i>Ae. aegypti</i>	EE. UU., Cuba, Colombia, Puerto Rico, Costa Rica	13 para américa	1952-1990-2016-2017(EE. UU.), 2016-2017(Col), 2012(PR), 2001(CR)	No reporta	Cys1534	Sin especificar, además de los resistentes
							Leu410	
68	671403087	<i>Ae. albopictus</i>	EE. UU.	4 para américa	2011-2014	No para poblaciones de EE. UU.	Ser1534	Phe/Phe; Phe/Ser
69	(105)	<i>Ae. aegypti</i>	Brasil, Martinica	2 para américa	1995-1998	OMS	No se especifica correctamente	NA

#### 4.9 Anexo 9

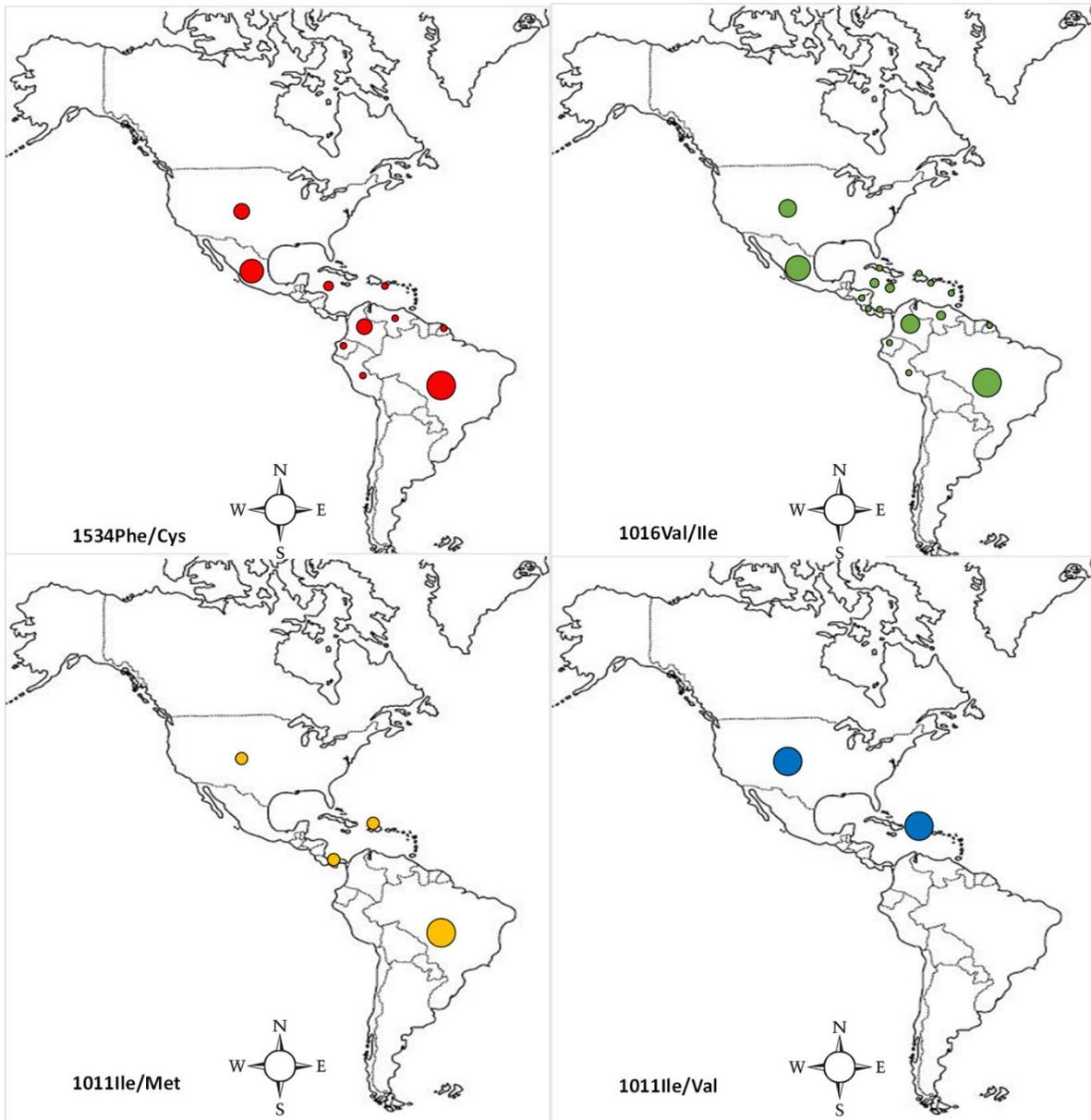
**Figura 5.** Distribución geográfica de las mutaciones detectadas relacionadas con la resistencia a insecticidas.



*Nota:* Los círculos representan la cantidad de estudios que reportan la presencia de alelos homocigotos resistentes para los cuatro marcadores de resistencia más reportados desde el año 2000 hasta 2020 en poblaciones de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*: Phe1534Cys (a), Val1016Ile (b), Ile1011Met (c) y Ile1011Val (d)

**4.10 Anexo 10**

**Figura 6.** Distribución geográfica de las mutaciones detectadas relacionadas con la resistencia a insecticidas .



*Nota:* Los círculos representan la cantidad de estudios que reportan la presencia de alelos heterocigotos para los cuatro marcadores de resistencia más reportados desde el año 2000 hasta 2020 en poblaciones de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*: Phe1534Cys (a), Val1016Ile (b), Ile1011Met (c) y Ile1011Val (d)