

Dominancia de alelos silvestres de mutaciones *kdr* del dominio II del VGSC de *Aedes aegypti* de Culiacán, Sinaloa, México

Félix-Alcalá Praxedis¹, Camacho-Ureta Elisa A.², Becerril-Camacho Delia M.², Durán-Pérez Sergio A.³, Apodaca-Medina Annete I.²

¹ Licenciatura en Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Occidente, Unidad Regional Culiacán, Boulevard Lola Beltrán S/N, 4 de Marzo, C.P. 80054 Culiacán, Sinaloa, México.

² Unidad de Investigaciones en Biotecnología Biomédica, Universidad Autónoma de Occidente, Unidad Regional Culiacán, Boulevard Lola Beltrán S/N, 4 de Marzo, C.P. 80054 Culiacán, Sinaloa, México.

³ Posgrado en Biotecnología, Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, Boulevard Universitarios S/N, Ciudad Universitaria, C.P. 80013, Culiacán, Sinaloa, México.

Correspondencia: annete.apodaca@uadeo.mx

Área Temática: Ciencias Biomédicas

Recibido: 28 noviembre, 2024

Aceptado: 26 diciembre, 2024

Publicado: 27 enero de 2025

Cita: Félix-Alcalá P, Camacho-Ureta EA, Becerril-Camacho DM, Durán-Pérez SA y Apodaca-Medina AI. 2025. Dominancia de alelos silvestres de mutaciones *kdr* del dominio II del VGSC de *Aedes aegypti* de Culiacán, Sinaloa, México. Bioc Scientia 1(1). <https://doi.org/10.63622/RBS.2402>



Copyright: © 2025 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY-NC) license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).

Resumen: *Aedes aegypti* es el principal vector de arbovirus como el Dengue. Actualmente, las estrategias para disminuir la población vectorial se basan en el uso de insecticidas como los organofosforados, organoclorados, carbamatos y piretroides los cuales han contribuido a disminuir la población vectorial, sin embargo, *A. aegypti* ha desarrollado resistencia a compuestos como la permetrina y la deltametrina la cual se ha asociado con la presencia de polimorfismos (SNP) en el gen del canal de sodio dependiente de voltaje (VGSC), conocidos como mutaciones *kdr*, las cuales bloquean la acción de los piretroides en el canal de sodio. En este estudio se genotificaron las mutaciones *kdr* L982W, S989P, A1007G e I1011M/V, mediante secuenciación. Los resultados muestran que la población de *A. aegypti* analizada presenta un genotipo silvestre para las mutaciones mencionadas, sugiriendo que en nuestra población debe haber otras mutaciones *kdr* en distintos dominios que estén confiriendo resistencia a *A. aegypti*.

Palabras clave: *Aedes aegypti*, *kdr*, VGSC, resistencia, piretroides.

Abstract: *Aedes aegypti* is the primary vector of arboviruses such as Dengue. Currently, strategies to reduce the vector population are based on the use of insecticides such as organophosphates, organochlorines, carbamates, and pyrethroids, which have contributed to reducing the vector population. However, *A. aegypti* has developed resistance to compounds like permethrin and deltamethrin, which has been associated with the presence of polymorphisms (SNPs) in the voltage-gated sodium channel (VGSC) gene, known as *kdr* mutations, which block the action of pyrethroids on the sodium channel. In this study, the *kdr* mutations L982W, S989P, A1007G, and I1011M/V were genotyped through sequencing. The results show that the analyzed *A. aegypti* population exhibits a wild-type genotype for the mentioned mutations, suggesting that other *kdr* mutations in different domains may be present in our population, conferring resistance to *A. aegypti*.

Keywords: *Aedes aegypti*, *kdr*, VGSC, resistance, pyrethroids.

INTRODUCCIÓN

El mosquito *A. aegypti* es el principal vector de diversas enfermedades arbovirales como el Dengue, el cual actualmente representa un problema severo de salud pública a nivel mundial, (Rubio-Palis et al., 2023) con una estimación de 390 millones de casos al año (Bhatt et al., 2013). Particularmente, en la región de Las Américas hasta la semana epidemiológica 49 del 2024, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha reportado 6, 649, 645 casos confirmados con 7, 466 defunciones (PLISA, 2024).

México es un país endémico de dengue, en donde la Dirección General de Epidemiología (DGE) a través del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SINAVE) ha reportado 120, 931 casos, de los cuales 54, 530 son dengue con signos de alarma (DCSA) más dengue grave (DG), con 362 defunciones hasta la semana epidemiológica 49 del 2024. Los estados con mayor tasa de incidencia son Colima, Nayarit, Morelos y Baja California Sur, mientras que el estado de Sinaloa se encuentra en el décimo lugar, con 4, 646 casos confirmados, de los cuales 2,745 son DCSA+DG, con 18 defunciones (SINAVE, 2024).

Con la finalidad de disminuir los casos de las virosis transmitidas por *Ae. aegypti*, la OMS ha planteado diversas estrategias para el control vectorial, dentro de las que destaca el uso de distintos insecticidas como los carbamatos, organofosforados, organoclorados y los piretroides (Bonnet et al., 2020). En particular, los insecticidas piretroides han sido ampliamente utilizados a nivel mundial para el control de *Aedes* spp., sin embargo, *A. aegypti* ha desarrollado resistencia a insecticidas derivados de los piretroides como la permetrina (piretroide de tipo I) y la deltametrina (piretroide de tipo II), esto mediante mecanismos relacionados con la presencia de mutaciones puntuales en el gen que codifica para el canal de sodio dependiente de voltaje (VGSC), llamadas mutaciones *knockdown resistance* (*kdr*) (Chen et al., 2020).

El VGSC está conformado por cuatro dominios (I-IV) unidos entre sí de forma intracitoplasmática mediante un *linker* y posee un extremo amino y carboxilo terminal; cada uno de los dominios está compuesto por 6 segmentos transmembranales (S1-S6) (Figura 2) (Uemura et al., 2024).

A nivel molecular, los insecticidas piretroides interfieren en los canales de sodio en la membrana de las neuronas del mosquito y producen una alteración en el estado abierto-cerrado del canal y por tanto en el transporte de los iones de sodio (Devine y cols, 2008). Esto produce una entrada de iones constante hacia la neurona y la consecuente despolarización permanente lo que provoca el derribo del mosquito (Bradberry y cols, 2005; Hołyńska-Iwan y Szewczyk-Golec, 2020). Sin embargo, diversos autores han reportado que los moscos han desarrollado resistencia al derribo ante la aplicación de piretroides (Moyes et al., 2017; Amelia-Yap et al., 2018; Akhir et al., 2022), esto por diversos mecanismos dentro de los que destaca la presencia de mutaciones *kdr* (Silver et al., 2014; Zhou et al., 2019, Chen et al., 2020; Wuliandari et al., 2020; Naw et al., 2020).

Hasta el momento, se han evidenciado 22 mutaciones *kdr* en los cuatro dominios del VGSC de mosquitos del género *Aedes* (Figura 2E) (Uemura et al., 2024), las cuales se han asociado con la resistencia a insecticidas piretroides (Pareja-Loaiza et al., 2020). De estas mutaciones reportadas, cinco se encuentran dentro del segmento 6 (S6) del dominio II: L982W, S989P, A1007G, I1011M/V y V1016G/I (Bregues et al., 2003; Saavedra-Rodríguez et al., 2007; Islami et al., 2018), siendo las mutaciones S989P y V1016G/I las más estudiadas del dominio II y asociadas con el fenotipo de resistencia a insecticidas piretroides (Chen et al., 2020 y Naw et al., 2020). No obstante, las mutaciones L982W (Bregues et al., 2003), S989P (Islami et al., 2018), A1007G (Akhir et al., 2022) así como la I1011M/V (Saavedra-Rodríguez et al., 2007) del S6 del dominio II también han sido reportadas y asociadas al fenotipo resistente; sin embargo, existe poca evidencia que las asocie con la resistencia a insecticidas piretroides.

En México, se han evaluado las mutaciones V1016G/I en los estados de Nuevo León y Yucatán (López-Monroy et al., 2018), así como en Chiapas (Solis-Santoyo et al., 2021), encontrando frecuencias alélicas variadas y asociando la presencia de dicha mutación con el fenotipo resistente. Debido a que en un estudio reciente de nuestro grupo de investigación (datos no publicados) evidenciamos la resistencia de *A. aegypti* a insecticidas piretroides, así como la presencia de la mutación V1016I y a que actualmente, en la región Noroeste de México se carece de información que evidencie la presencia de las mutaciones *kdr* L982W, S989P, A1007G e I1011M/V del dominio II del VGSC, nos planteamos analizar la presencia de estas, con la finalidad de contribuir a dilucidar los mecanismos genéticos implicados en la resistencia a insecticidas que impide el control de tan importante vector.

Obtención de muestras de *A. aegypti* y extracción de ADN

Se seleccionaron 21 ejemplares de *A. aegypti* con fenotipo resistente a insecticidas piretroides que se analizaron mediante un bioensayo de resistencia en el año 2020 en la ciudad de Culiacán, Sinaloa (datos no publicados). Los especímenes se mantuvieron congelados a -70 °C hasta el momento de la extracción de ADN, la cual se llevó a cabo de manera individual mediante el método de sales.

Brevemente, cada mosco se maceró en un tubo de 1.5 mL con 500 µL de Buffer Salino de Fosfatos 10X (PBS 10X) con ayuda de un pistilo macerador, seguido de una agitación en vórtex durante 10 segundos. El macerado se centrifugó a 13,000 rpm durante 1 minuto. La pastilla se disolvió en 400 µL de solución de lisis (0.4M NaCl (Sigma), 10mM tris-HCl (Bio-Rad), pH 8 y 2Mm EDTA (Bio-Rad) pH 8) y 40 µL de SDS (Bio-Rad) al 20%. Adicionalmente, se agregaron 15 µL de proteinasa K (Promega) a 10 mg mL⁻¹.

La muestra se incubó a 55 °C durante toda la noche. Posteriormente se agregaron 300 µL de NaCl 6M a 60 °C y se agitó vigorosamente en vórtex 30 s, seguido de una centrifugación a 13,000 rpm durante 20 min. El sobrenadante se transfirió

a un tubo de 1.5 mL y se le agregó un volumen igual de isopropanol frío homogenizando suavemente mediante inversión. Las muestras se centrifugaron a 13,000 rpm durante 20 min y se descartó el sobrenadante.

La pastilla se lavó con etanol frío al 80%, mezclando 4 veces por inversiones suaves, seguido de una centrifugación a 13,000 rpm durante 5 minutos. La pastilla se secó a temperatura ambiente durante 1 hora. Posteriormente se homogenizó con 50 µL de agua libre de nucleasas (Promega). El ADN recuperado se incubó a 55 °C por una hora, y se almacenó a -70 °C hasta su uso. Todas las muestras de ADN fueron cuantificadas empleando un Nanodrop Lite® (Thermo Fisher Scientific).

Amplificación y purificación del segmento 6 del dominio II del VGSC

Para amplificar el segmento 6 del dominio II del VGSC se realizó una PCR punto final siguiendo las especificaciones descritas por Leong et al. Brevemente, cada amplificación se realizó en un volumen final de 50 µL empleando el kit *Go-Taq® Green Master Mix* (Promega, USA), del cual se utilizaron 25 µL del Mix de PCR y 15 µL de agua libre de nucleasas; 2.5 µL de cada oligo a una concentración de 10 pmol, sentido (5'-GGT GGA ACT TCA CCG ACT TC-3') y antisentido (5'-GGA CGC AAT CTG GCT TGT TA-3') (Leong et al., 2019), como templado se añadieron 10 ng de ADN de *A. aegypti* y agua libre de nucleasas como control negativo de reacción. El protocolo de PCR comenzó con un precalentamiento a 95 °C por 2 min, seguidos por 35 ciclos a 95 °C por 30 s, 63 °C por 30 s, 72 °C por 30 s y 72 °C por 2 min como extensión final. Los productos de PCR fueron visualizados mediante electroforesis en geles de agarosa al 1.5% en tampón TAE (40 mM Tris pH 7.6, 20 mM ácido acético, 1 mM EDTA a pH 8) a 100 volts por 1 h; pre-teñidos con *Safe-Red™* y observados en un transiluminador de luz UV (Mini-UV, Bio-Rad). El tamaño del producto amplificado fue de ~581 pb.

La purificación de los fragmentos amplificados se llevó a cabo empleando el kit *Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System* (Promega, USA) siguiendo las especificaciones del fabricante. Para comprobar la purificación se llevaron a cabo electroforesis en geles de agarosa al 1.5% pre-teñidos con *Safe-Red™* (abm, Canadá) y observados en un transiluminador de luz UV (Mini-UV, Bio-Rad). Las muestras fueron almacenadas a -20 °C hasta ser enviadas a *MacroGen Korea* para su secuenciación.

Análisis de las secuencias

Las secuencias se sometieron a un análisis de identidad mediante un BLAST en la base de datos del *GenBank* del *Nacional Center of Biotechnology Information* (NCBI). Una vez confirmado que las secuencias obtenidas eran de la especie *A. aegypti*, se procedió al depurado y armado de las secuencias consenso de las 21 muestras a partir de las secuencias sentido y reversa complementaria. Las 21 secuencias consenso obtenidas se alinearon con las secuencias de referencia (*GenBank*: OK236520.2 y LC557556.1) las cuales tienen un genotipo silvestre para las

mutaciones *kdr* analizadas en este estudio empleando el programa *CLC Sequence Viewer 8.0* de QIAGEN.

Para la obtención de las secuencias de aminoácidos se llevó a cabo la traducción de las secuencias obtenidas en el estudio y se compararon con la secuencia de aminoácidos generada a partir de la secuencia de referencia del genoma completo de la cepa Liverpool (cepa silvestre) (*GenBank*: CH477310.1) empleando el programa *CLC Sequence Viewer 8.0* de QIAGEN. Una vez realizados los alineamientos, se analizaron para identificar los aminoácidos en las posiciones 982, 989, 1007 y 1011. Para llevar a cabo la identificación de heterocigotos, se realizó la búsqueda de señales dobles en los electroferogramas de los alelos de interés mediante el programa *Unipro UGENE*.

Se obtuvieron 21 fragmentos de 581 pb del segmento 6 del dominio II del gen *VGSC* purificados. A partir de estos fragmentos, se generaron 21 secuencias cuyos alineamientos mostraron un 100% de identidad con dos secuencias registradas en el *GenBank* (números de acceso: OK236520.2 y LC557556.1) de la especie *A. aegypti* (Figura 1A).

El análisis de las secuencias evidenció que los especímenes de *A. aegypti* evaluados presentan un genotipo silvestre para las mutaciones *kdr* L982W, S989P, A1007G e I1011M/V, debido a que en las secuencias nucleotídicas se encontraron los tripletes TTA, TCC, GCC y ATA, al igual que en la secuencia de referencia del genoma completo de la cepa Liverpool (cepa silvestre) registrada en el *GenBank* (número de acceso: CH477310.1), los cuales codifican para los aminoácidos Leucina, Serina, Alanina e Isoleucina, en las posiciones 982, 989, 1007 y 1011, respectivamente (Figura 1B).

Al realizar el análisis detallado de los electroferogramas de las 21 secuencias obtenidas, se evidenció que los alelos 982 (Figura 2A), 989 (Figura 2B), 1007 (Figura 2C) y 1011 (Figura 2D) presentaban un genotipo homocigoto silvestre, al presentar una señal sencilla en las bases nucleotídicas correspondientes a las mutaciones *kdr*. Estos hallazgos evidencian que la población de *A. aegypti* de Culiacán Sinaloa, analizada en este estudio no es portadora de las mutaciones *kdr* L982W, S989P, A1007G e I1011M/V. El desarrollo de resistencia a insecticidas piretroides por parte de *A. aegypti* ha dificultado tener un control sobre el vector, permitiendo así la transmisión de arbovirus como el dengue, el cual representa un serio problema de salud a nivel mundial (Sumita et al., 2023), por ello diversos investigadores se han enfocado en dilucidar los mecanismos implicados en la resistencia a insecticidas adquirida por *A. aegypti* ante la exposición prolongada a dichos agentes químicos.

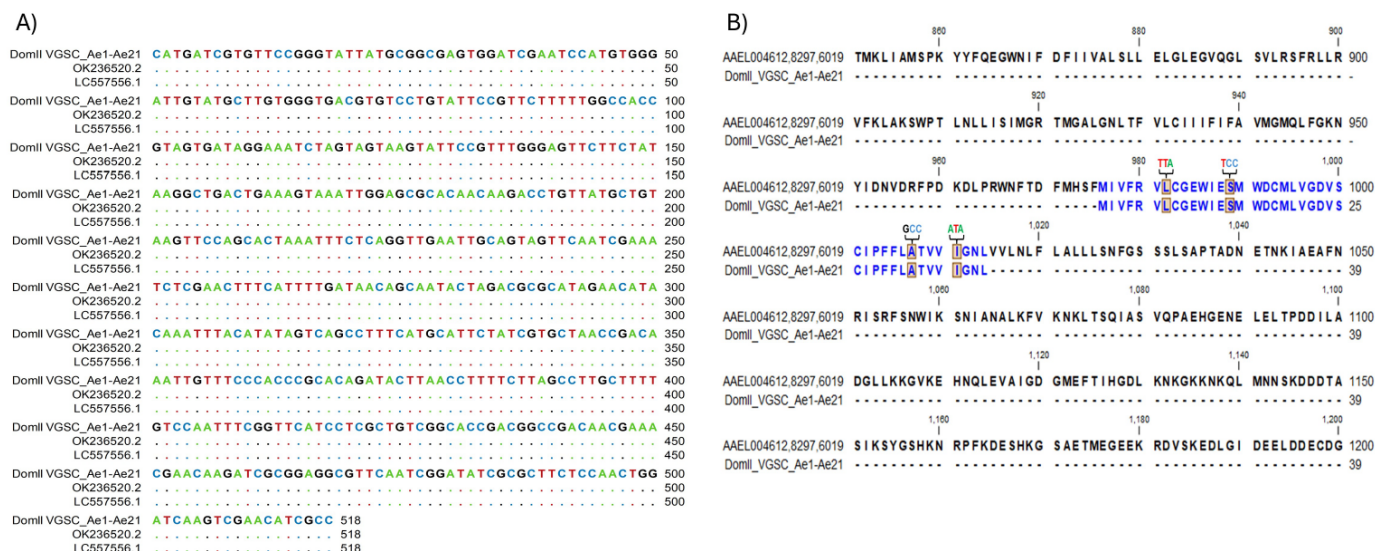


Figura 1. Secuencias nucleotídicas y aminoácidas del segmento 6 del Dominio II del VGSC de *A. aegypti* resistentes a piretroides.

A) Secuencias nucleotídicas. Se observa un 100% de identidad en el alineamiento de la secuencia consenso de 518 pb de las 21 secuencias obtenidas de las muestras Ae1-Ae21 comparadas con las secuencias de referencia con genotipo silvestre (GenBank: OK236520.2 y LC557556.1). B) Secuencias aminoácidas. Se puede observar que las posiciones 982, 989, 1007 y 1011 corresponden a los aminoácidos leucina (L), serina (S), alanina (A) e isoleucina (I), codificados por los codones TTA, TCC, GCC y ATA respectivamente, evidenciando un genotipo silvestre en todas las muestras evaluadas. El alineamiento fue realizado con la secuencia de aminoácidos predicha a partir de la secuencia nucleotídica consenso de las muestras Ae1-Ae21 y la secuencia de aminoácidos proveniente de la secuencia de referencia del genoma completo de la cepa Liverpool (cepa silvestre) (GenBank: CH477310.1), con los segmentos AAEL004612, AAEL008297 y AAEL006090 (Vector-Base). Alineamientos realizados con el programa CLC sequence viewer de QIAGEN.

Uno de estos mecanismos es la presencia de mutaciones *kdr* en el gen *VGSC*, las cuales se han relacionado con la resistencia a insecticidas piretroides como permetrina y deltametrina. Se ha descrito que las principales mutaciones relacionadas con el fenotipo resistente son la S989P, V1016G/I, F1534C, y recientemente la V410L (Tokponnon et al., 2024). Sin embargo, se han reportado otras mutaciones *kdr* que se asocian al fenotipo resistente en diversas partes del mundo, como las que se describen para el segmento 6 del dominio II del gen *VGSC* y que se analizaron en este estudio: L982W, A1007G e I1011M/V.

La genotipificación de dichas posiciones en *A. aegypti* capturados en Culiacán, Sinaloa, evidencia que la población analizada presenta un genotipo silvestre en todos los alelos evaluados, a pesar de tener un fenotipo resistente a insecticidas piretroides. En un estudio realizado en Arabia Saudita, se evidenció que al igual que en nuestra población, *A. aegypti* no presentó la mutación L982W (Mashlawi et al., 2022). Estos hallazgos discrepan de lo reportado en Vietnam, en donde obtuvieron una frecuencia alélica del 59.2% para el alelo mutado W982, encontrando una correlación positiva entre la susceptibilidad y la frecuencia de dicho alelo (Kawada et al., 2023).

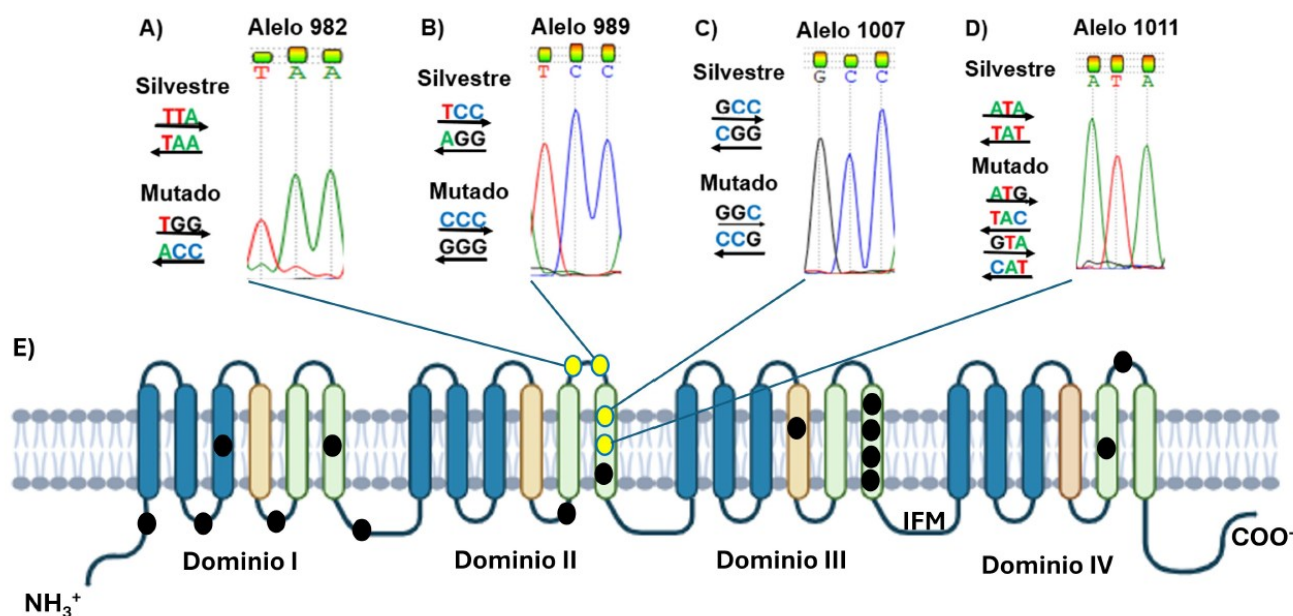


Figura 2. Genotipificación de mutaciones *kdr* L982W, S989P, A1007G e I1011M/V y estructura del VGSC. Se muestra una imagen representativa de cada alelo analizado en los 21 electroferogramas obtenidos para las muestras Ae1-Ae21. Los electroferogramas de los alelos A) 982, B) 989, C) 1007 y D) 1011 mostraron que todas las secuencias correspondían al genotipo homocigoto silvestre, al evidenciar una sola señal en el electroferograma en las bases de interés. Electroferogramas analizados en el programa Unipro UGENE. E) Estructura del VGSC y posición de las mutaciones *kdr*. El VGSC está conformado por cuatro dominios (I-IV) unidos entre sí de forma intracitoplasmática con un extremo amino y uno carboxilo terminal; cada uno de los dominios está compuesto por 6 segmentos transmembranales (S1-S6). Los segmentos S1, S2 y S3 (azul) presentan principalmente cargas negativas, mientras que el dominio S4 (amarillo) tiene función de sensor de voltaje gracias a los aminoácidos de carga positiva que posee, y los segmentos S5 y S6 (verde) forman el poro del canal. Entre el dominio III y IV está una secuencia aminoacídica llamada IFM que funge como puerta de inactivación que bloquea el poro del canal (Wakeling et al., 2012). Las mutaciones *kdr* que se han reportado para *A. aegypti* se encuentran representadas con un círculo en cada segmento, los círculos de color amarillo son las posiciones de las mutaciones evaluadas en este estudio. Figura modificada de Saavedra-Rodríguez et al., 2018 adaptada en BioRender.

Diversos investigadores han evidenciado la presencia de la mutación S989P sola o en presencia de otras mutaciones como V1016G y F1534C en países como Malasia (Leong et al., 2019; Akhir et al., 2022), Nigeria (Fagbohun et al., 2022), Arabia Saudita (Mashlawi et al., 2022), Mauritania (Ould-Lemrabott et al., 2023), Irán (Enayati et al., 2024), entre otros, todos con distintas frecuencias de los alelos mutados. A diferencia de los estudios anteriores, en nuestra población se evidenció un genotipo silvestre para la mutación S989P en todos los ejemplares de *A. aegypti* evaluados, tal como lo reportado en Vietnam en 2018 (Nguyen et al., 2018).

La mutación A1007G ha sido reportada en países como Malasia donde se encontró en pequeñas proporciones de su población en combinación con las mutaciones S989P, V1016G y F1534C, y fue relacionada con la resistencia a insecticidas piretroides (Zuharah y Sufian, 2021 y Akhir et al., 2022); asimismo, ha sido reportada en Vietnam en combinación con la mutación P1558C (Nguyen et al., 2018). Por el contrario, en las muestras evaluadas en nuestro estudio, se encontró el genotipo silvestre para la posición 1007. En cuanto a la mutación I1011M/V ha sido reportada en algunos países como México, en donde se encontraron frecuencias variadas, por ejemplo, 0.188 en la población de Huehuetán y 0.193 en Huixtla,

ambas ubicadas en el estado de Chiapas (Saavedra-Rodríguez et al 2007). Sin embargo, en este estudio, no encontramos alelos mutados para la posición 1011, por lo que la población evaluada se mantiene silvestre para dicha mutación, lo que es similar a lo reportado en Vietnam, en donde no encuentran alelos mutados para dicha posición (Kawada et al, 2009).

Como hemos evidenciado en este estudio, nuestra población de *A. aegypti* mantiene un genotipo silvestre para las mutaciones *kdr* L982W, S989P, A1007G e I1011M/V, a pesar de presentar resistencia a los insecticidas piretroides permethrina y deltametrina, esto nos indica que seguramente la población vectorial presenta otras mutaciones asociadas con la resistencia que no han sido evaluadas en este estudio, como la V410L, V1016G/I y F1534C. Por ello, es pertinente, analizar los dominios I, III y IV del VGSC en futuras investigaciones para contribuir con estudios que ayuden a dilucidar los mecanismos implicados en el desarrollo de la resistencia en *A. aegypti* y así implementar mejores técnicas de control vectorial disminuir la epidemia de dengue a nivel mundial.

Los resultados del análisis de secuencias revelaron una dominancia completa del genotipo silvestre para las mutaciones L982W, S989P, A1007G y I1011M/V del gen *VGSC* en la población resistente a insecticidas piretroides de Culiacán, Sinaloa; demostrando que la presencia de estas mutaciones *kdr* no está asociada con la resistencia a insecticidas piretroides en los ejemplares de *A. aegypti* evaluados.

Conflicto de interés

Los autores no tienen conflictos de intereses que declarar.

REFERENCIAS

- Akhir M, Wajidi M, Lavoué S, Azzam G, Jaafar I, Awang N, Ishak I. 2022. Knockdown resistance (*kdr*) gene of *Aedes aegypti* in Malaysia with the Discovery of a novel regional specific point mutation A1007G. *Parasites & Vectors*. <https://doi.org/10.1186/s13071-022-05192-z>
- Amelia-Yap Z. H., Chen C. D., Sofian-Azirun M. and Low, V. L. 2018. Pyrethroid resistance in the dengue vector *Aedes aegypti* in Southeast Asia: Present situation and prospects for management. *Parasites and Vectors*. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2899-0>
- Bhatt S, Gething PW, Brady OJ, Messina JP, Farlow AW, Moyes CL. 2013. The global distribution and burden of dengue. *Nature*. <https://doi.org/10.1590/0074-02760220210>
- Bradberry, S, Cage, S. A., Proudfoot, A. T., and Allister Vale, J. 2005. Poisoning due to pyrethroids (Review Article). *Toxicol Rev. National Poisons Information Service (Birmingham Centre)*. <https://doi.org/10.2165/00139709-200524020-00003>
- Brengues C, Hawkes NJ, Chandre F, McCarroll L, Duchon S, Guillet P, Manguin S, Morgan JC, Hemingway J. 2003. Pyrethroid and DDT crossresistance in *Aedes aegypti* is correlated with novel mutations in the voltage-gated sodium channel gene. *Medical and Veterinary Entomology*. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2915.2003.00412.x>
- Bonnet E, Fournet F, Ouedraogo S, Dabiré R, Ridde V. 2020. Impact of a community-based intervention on *Aedes aegypti* and its spatial distribution in Ouagadougou, Burkina Faso. *Infect Dis Poverty*. <https://doi.org/10.1186/s40249-020-00675-6>
- Chen M, Du Y, Nomura Y, Zhorov B, Dong K. 2020. Chronology of sodium channel mutations associated with pyrethroid resistance in *Aedes aegypti*. *Arch Insect Biochem Physiol*. <https://doi.org/10.1002%2Farch.21686>
- Enayati A, Valadan R, Bagherzadeh M, et al. 2024. Kdr genotyping and the first report of V410L and V1016I *kdr* mutations in voltage-gated sodium channel gene in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Iran. *Parasites & Vectors*. <https://doi.org/10.1186/s13071-024-06123-w>
- Fagbohun IK, Oyeniyi TA, Idowu ET, et al. 2022. Detection and Co-occurrence of *kdr* (F1534C and S989P) Mutations in Multiple Insecticides Resistant *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Nigeria. *Entomological Society of America*. <https://doi.org/10.1093/jme/tjac114>
- Holýńska-Iwan I, Szewczyk-Golec K. 2020. Pyrethroids: How They Affect Human and Animal Health? *Medicina* (Kaunas). <https://doi.org/10.3390/medicina56110582>
- Ishak IH, Kamgang B, Ibrahim SS, Riveron JM, Irving H, Wondji CS. 2017. Pyrethroid Resistance in Malaysian Populations of Dengue Vector *Aedes aegypti* is Mediated by CYP9 Family of Cytochrome P450 Genes. *Neglected Tropical Diseases*. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005302>
- Islami S, Hidayati APN, Wibowo H, Syafruddin D. 2018. The role of Voltage-Gated sodium channel (VGSC) gene mutations in the resistance of *Aedes aegypti* L. to pyrethroid permethrin in Palembang and Jakarta, Indonesia. *Preprints*. <https://doi.org/10.20944/preprints201803.0070.v1>

- Jacobs E, Chrissian C, Rankin-Turner S, Wear M, Camacho E, Broderick C. J, McMeniman C. J, Stark R. E, Casadevall A. 2023. Curricular profiling of insecticide resistant *Aedes aegypti*. *Scientific Reports*. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-36926-3>
- Kawada H, Higa Y, Komagata O, Kasai S, Tomita T, Thi Yen N, Loan LL, Sánchez RAP, Takagi M. 2009. Widespread Distribution of a Newly Found Point Mutation in Voltage-Gated Sodium Channel in Pyrethroid-Resistant *Aedes aegypti* Populations in Vietnam. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000527>
- Kawada H, Higa Y, Kasai S. 2023. Reconsideration of importance of the point mutation L982W in the voltage-sensitive sodium channel of the pyrethroid resistant *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) in Vietnam. *PLoS ONE*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0285883>
- Leong CS, Vythilingam I, Liew JWK, Wong ML, Wan-Yusoff WS, Lau YL. 2019. Enzymatic and molecular characterization of insecticide resistance mechanisms in field populations of *Aedes aegypti* from Selangor, Malaysia. *Parasites and Vectors*. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3472-1>
- López-Monroy, B., Gutierrez-Rodriguez, S. M., Villanueva-Segura, O. K., Ponce-Garcia, G., Morales-Forcada, F., Alvarez, L. C., & Flores, A. E. (2018). 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 Management Science*. <https://doi.org/10.1002/ps.4916>
- Mashlawi AM, Al-Nazawi AM, Noureldin E. M, et al. 2022. Molecular analysis of knockdown resistance (*kdr*) mutations in the voltage-gated sodium channel gene of *Aedes aegypti* populations from Saudi Arabia. *Parasites and Vectors*. <https://doi.org/10.1186/s13071-022-05525-y>
- Moyes C. L., Vontas J., Martins A. J., Ng L. C., Koou S. Y., Dusfour, I. y Weetman, D. 2017. Contemporary status of insecticide resistance in the major *Aedes* vectors of arboviruses infecting humans. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005625>
- Naw H, Su M, Võ T, Lê, H, Kang, J, et al. 2020. Overall Prevalence and Distribution of Knockdown Resistance (*kdr*) Mutations in *Aedes aegypti* from Mandalay Region, Myanmar. *The Korean journal of parasitology*. <https://doi.org/10.3347/kjp.2020.58.6.709>
- Nguyen TKL, Nguyen THN, Nguyen TH, Nguyen HH, Nguyen THB. 2018. Two novel mutations in the voltage-gated sodium channel associated with knockdown resistance (*kdr*) in the dengue vector *Aedes aegypti* in Vietnam. *Journal of Vector Ecology*. <https://doi.org/10.1111/jvec.12298>
- Ould Lemrabott MA, Briolant S, Gomez N, Basco L, Ould Mohamed Salem Boukhary, A. 2023. First report of *kdr* mutations in the voltage-gated sodium channel gene in the arbovirus vector, *Aedes aegypti*, from Nouakchott, Mauritania. *Parasites and Vectors*. <https://doi.org/10.1186/s13071-023-06066-8>
- Pareja-Loaiza PX, Varon LS, Vega GR, Gómez-Camargo D, Maestre-Serrano R, Lenhart A. 2020. Mechanisms associated with pyrethroid resistance in populations of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from the Caribbean Coast of Colombia. *PLoS One*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0228695>
- PLISA. (2024) Organización Panamericana de la Salud. Organización Mundial de la Salud. <https://www3.paho.org/data/index.php/es/temas/indicadores-dengue.html>
- Rasli R, Lee HL, Ahmad NW, Friki SFF, Ali R, Muhamed KA, Hadi AA, Liu Q, Meng FX. 2018. Susceptibility Status and Resistance Mechanisms in Permethrin-Selected, Laboratory Susceptible and Field-Collected *Aedes aegypti* from Malaysia. *Insects*. <http://dx.doi.org/10.3390/insects9020043>
- Rubio-Palis Y, Dzuris N, Sandi C, Rita Lucrecia Vizcaino-Cabarrus RL, Corredor-Medina C, González JA, Lenhart AE. 2023. Insecticide resistance levels and associated mechanisms in three *Aedes aegypti* populations from Venezuela. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. <https://doi.org/10.1590/0074-02760220210>
- Saavedra-Rodriguez K, Urdaneta-Marquez L, Rajatileka S, et al. 2007. A mutation in the voltage-gated sodium channel gene associated with pyrethroid resistance in Latin American *Aedes aegypti*. *Insect Molecular Biology*. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2583.2007.00774.x>
- Saavedra-Rodriguez K, Maloof FV, Campbell CL, Garcia-Rejon J, Lenhart A, Penilla P, Rodriguez A, Sandoval AA, Flores AE, Ponce G, Lozano S, Black WC 4th. Parallel evolution of *vgsc* mutations at domains IS6, IIS6 and IIIS6 in pyrethroid resistant *Aedes aegypti* from Mexico. *Sci Rep*. 2018 Apr 30;8(1):6747. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25222-0>
- Sene NM, Mavridis K, Ndiaye EH, et al. 2021. Insecticide resistance status and mechanisms in *Aedes aegypti* populations from Senegal. *Neglected Tropical Diseases*. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009393>
- Silver, K., Du, Y., Nomura, Y., Oliveira, E., Salgado, V., Zhorov, B., Dong, K. (2014) Voltage-Gated Sodium Channels as Insecticide Targets. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417010-0.00005-7>
- Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SINAVE), Secretaria de Salud de México. 2024. Panorama Epidemiológico de Dengue 2024, Semana epidemiológica 49. Gobierno de México. <https://www.gob.mx/salud/documentos/panoramaepidemiologico-de-dengue-2024>
- Solis-Santoyo, F., Rodriguez, A. D., Penilla-Navarro, R. P., Sanchez, D., Castillo-Vera, A., Lopez-Solis, A. D., Vazquez-Lopez, E. D., Lozano, S., Black, W. C., & Saavedra-Rodriguez, K. (2021). Insecticide resistance in *Aedes aegypti* from Tapachula, Mexico: Spatial variation and response to historical insecticide use. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009746>
- Tokponnon TF, Ossè R, Zoukifilou SD, Amos G, Festus H, Idayath G, Sidick A, Messenger LA, Akogbeto M. 2024. Insecticide Resistance in *Aedes aegypti* Mosquitoes: Possible Detection of *kdr* F1534C, S989P, and V1016G Triple Mutation in Benin, West Africa. *Insects*. <https://doi.org/10.3390/insects15040295>
- Uemura N, Itokawa K, Komagata O, Kasai S. 2024. Recent advances in the study of knockdown resistance mutations in *Aedes* mosquitoes with a focus on several remarkable mutations. *Current Opinion in Insect Science*. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2024.101178>
- Sumitha MK, Kalimuthu M, Senthil MK, Paramasivan R, Kumar A, Gupta B. 2023. Status of insecticide resistance in the dengue vector *Aedes aegypti* in India: A review. *J Vector Borne Dis*. <https://doi.org/10.4103/0972-9062.361174>
- Wakeling, E., Neal, A., Atchison, W. 2012 Pyrethroids and Their Effects on Ion Channels. IntechOpen. <http://dx.doi.org/10.5772/50330>
- Wuliandari, J., Hoffmann, A., Tantowijoyo, W., Endersby-Harshman, N. 2020. Frequency of *kdr* mutations in the voltage-sensitive sodium channel (*Vssc*) gene in *Aedes aegypti* from Yogyakarta and implications for Wolbachia-infected mosquito trials. *Parasites & Vectors*. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04304-x>
- Zhou X, Yang C, Liu N, Li M, Tong, Y. 2019. Knockdown resistance (*kdr*) mutations within seventeen field populations of *Aedes albopictus* from Beijing China: first report of a novel V1016G mutation and evolutionary origins of *kdr* haplotypes. *Parasites Vectors* 12, 1-18. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3423-x>
- Zuharah WF, Sufian M. 2021. The discovery of a novel knockdown resistance (*kdr*) mutation A1007G on *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Malaysia. *Scientific Reports*. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84669-w>