



UNIVERSIDAD METROPOLITANA DE CIENCIAS DE LA EDUCACIÓN  
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS  
INSTITUTO DE ENTOMOLOGÍA



# Origen de la introducción de la población de *Aedes aegypti* (Linnaeus) (Diptera: Culicidae) y su establecimiento en la Región de Arica y Parinacota, Chile

TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE MAGÍSTER EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN  
ENTOMOLOGÍA

Por:

Carolina Andrea Reyes Valenzuela

Director de Tesis

Christian Raúl González Aravena

SANTIAGO – CHILE

Abril 2024

**INSTITUTO DE ENTOMOLOGÍA UMCE**  
**INFORME DE APROBACIÓN**  
**TESIS DE MAGÍSTER**

Se informa al Instituto de Entomología que la Tesis de Magíster presentada por el candidato,

Carolina Andrea Reyes Valenzuela

Ha sido aprobada por la comisión de evaluación de la tesis como requisito para optar al Grado de Magíster en Ciencias con Mención en Entomología en el examen de Defensa de Tesis rendido el día 29, de mes abril del año 2024

**Director de Tesis:**

Nombre

Calificación:

Firma:

**Comisión evaluadora de Tesis:**

Nombre

Calificación:

Firma:

Carlos P. Muñoz Ramírez

Nombre

Calificación:

Firma:

Mauricio Canals Lambarri



### IDENTIFICACIÓN DE TESIS/INVESTIGACIÓN

Título de la tesis: Origen de la introducción de la población de *Aedes aegypti* (Linnaeus) (Diptera: Culicidae) y su establecimiento en la Región de Arica y Parinacota, Chile.

Fecha:

Facultad: Ciencias Básicas.

Departamento: Instituto de Entomología.

Programa: Magíster en Ciencias con Mención en Entomología.

Grado: Magíster en Ciencias con Mención en Entomología.

Profesor Director de Tesis: Christian Raúl González Aravena

### AUTORIZACIÓN

Se autoriza la reproducción total o parcial de este trabajo de investigación para fines académicos por cualquier medio o procedimiento, siempre que se haga la referencia bibliográfica que acredite el presente trabajo y sus autores/as, y a su vez el alojamiento de éste en el repositorio institucional SIBUMCE del sistema de bibliotecas UMCE.

  
Carolina Andrea Reyes Valenzuela

Santiago de Chile, 29 de abril, 2024.

## ÍNDICE

	Pag.
RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
I. FORMULACIÓN GENERAL DE LA INVESTIGACIÓN.....	3
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	7
III. HIPÓTESIS.....	8
IV. OBJETIVOS.....	9
V. CAPÍTULO 1.....	10
VI. ANEXOS .....	36



## RESUMEN

El mosquito *Aedes aegypti* presenta una amplia distribución, preferentemente en zonas tropicales y subtropicales del planeta. Es el principal vector de arbovirus que causan serios problemas de salud pública. Variados estudios, especialmente utilizando genes mitocondriales, han evidenciado la variabilidad genética interpoblacional de esta especie en el mundo, información relevante a la hora de mejorar las estrategias de control de mosquitos vectores de importancia médica. El objetivo de este estudio fue determinar el origen y posibles heteromorfismos genéticos de la población de *Ae. aegypti* detectada en la ciudad de Arica el 2016 después de 50 años de ausencia, y de los hallazgos posteriores. Se secuenciaron y analizaron los genes mitocondriales COI y ND4 de 21 muestras de *Ae. aegypti*, adultos y larvas, recolectados en 12 puntos de la ciudad, entre los años 2016 y 2022 en Arica. El análisis filogenético de secuencias COI/ND4 concatenadas (1089pb), se compararon con secuencias de *Ae. aegypti* de distribución mundial. Los resultados indicaron que la mayoría de las muestras de Arica pertenecen al mismo linaje originario de África occidental que circula en América. El resultado del segundo análisis mostró que 10 de las 12 secuencias de COI (542pb) se agruparon con las secuencias americanas y se obtuvo un 100% de identidad con las poblaciones de Bolivia, haplotipo 3 de Colombia y Martinica, excepto dos muestras de Arica 2019 que agruparon con las secuencias de Rapa Nui, Guatemala, Perú, Polinesia Francesa, Puerto Rico, Taiwán y Uruguay. Estos resultados sugieren que los hallazgos heterogéneos de *Ae. aegypti* en Arica en el periodo estudiado corresponderían a una constante reintroducción de ejemplares provenientes de países vecinos, principalmente desde Bolivia, y su permanente tránsito terrestre desde y hacia la región de Arica con fines comerciales, estrechamente relacionadas al puerto marítimo de la ciudad. Ante este escenario, Arica y Parinacota se encuentra en una situación de riesgo permanente de reingresos, de desarrollo esporádico de *Ae. aegypti*, así como también, de la instalación del ciclo de transmisión de enfermedades transmitidas por este vector.

Palabras clave: *Aedes aegypti*, Chile, filogenia, genes mitocondriales (COI, ND4), Mosquitos.

## ABSTRACT

The *Aedes aegypti* mosquito is widely distributed, preferring tropical and subtropical areas of the planet. It is the main vector of arboviruses which cause serious public health problems. Several genetic studies, including those using mitochondrial genes, have showcased the interpopulation genetic variability of this species in the world, information that is relevant for improving control strategies of mosquito vectors of medical concern. The aim of this study was to determine the origin and possible genetic heteromorphisms of the *Ae. aegypti* population detected in the city of Arica in 2016 after 50 years of absence, and subsequent findings. The mitochondrial COI and ND4 genes of 21 samples of *Ae. aegypti*, adults and larvae, collected in 12 points of the city, between 2016 and 2022 in Arica, were sequenced and analyzed. Phylogenetic analysis of concatenated COI/ND4 sequences (1089bp) compared with globally distributed *Ae. aegypti* sequences indicated that most of the Arica samples belong to the same lineage originating from West Africa now circulating in America. The result of the second analysis showed that 10 of the 12 COI sequences (542bp) clustered with American sequences and 100% identity was obtained with populations from Bolivia, haplotype 3 from Colombia and Martinique. The two remaining sequences from Arica 2019 clustered with sequences from Rapa Nui, Guatemala, Peru, French Polynesia, Puerto Rico, Taiwan and Uruguay. These results suggest that the finding of two different lineages of *Ae. aegypti* in Arica, in the period studied, represent a constant reintroduction of specimens from neighboring countries, mainly Bolivia, and their permanent land transit to and from the Arica region for commercial purposes, closely related to the city's seaport. Given this scenario, Arica and Parinacota are at permanent risk of reintroductions, sporadic development of *Ae. aegypti*, as well as the installation of the transmission cycle of diseases transmitted by this vector.

Key words: *Aedes aegypti*, Chile, phylogeny, mitochondrial genes (COI, ND4), Mosquitoes.

## I. FORMULACIÓN GENERAL DE LA INVESTIGACIÓN

Los mosquitos (Diptera: Culicidae) son insectos holometábolos, que presentan estadios de desarrollo de huevo, cuatro fases larvales, pupa y adulto. Esta familia se encuentra presente en regiones templadas y tropicales del mundo, incluidas zonas más allá del Círculo Polar Ártico e incluye 3.593 especies existentes clasificadas en dos subfamilias y 117 géneros (Harbach et al. 2016). La subfamilia Anophelinae tiene siete géneros (Foster et al. 2017), y Culicinae, que es la mayor subfamilia de mosquitos, contiene 3.097 especies en 110 géneros, agrupados en 11 tribus. Esta subfamilia incluye los géneros *Aedes* Linnaeus, 1762 y *Culex* Linnaeus, 1758 (Harbach et al. 2016).

El huevo del mosquito es una estructura altamente especializada, adaptada a su disposición en el agua, en contenedores sobre el agua, en plantas sobre el agua, o en suelos sujetos a inundaciones. Como característica de los huevos de la tribu Aedini, la estructura del corion es diferente y altamente desarrollada, pudiendo experimentar retrasos en la eclosión, diapausa, pasando un período de tiempo significativo separado del agua (Savage & Strickman 2004; Wilkerson et al. 2021).

Las larvas de los mosquitos ocupan una amplia variedad de hábitats acuáticos de aguas estancadas donde se alimentan de partículas en suspensión. Algunas especies, de los géneros *Toxorhynchites* Theobald, 1901, *Psorophora* Robineau-Desvoidy, 1827 y *Culex*, presentan larvas depredadoras obligatorias o facultativas que capturan y se alimentan de los estadios inmaduros de otros mosquitos mediante cepillos bucales modificados o mandíbulas y maxilas de agarre (Augier et al. 2003). Algunas larvas recurren al carroñeo o al canibalismo cuando escasea el alimento. Las larvas de la mayoría de los mosquitos obtienen oxígeno de la atmósfera saliendo a la superficie del agua (Foster & Walker 2019). Presentan una cabeza globosa con cepillos bucales y antenas desarrolladas, tórax bulboso más ancho que la cabeza y el abdomen, papilas anales posteriores y con un par de espiráculos respiratorios en el segmento VIII (subfamilia Anophelinae) o en el extremo de un sifón alargado (subfamilia Culicinae), cerca del extremo del abdomen. Los mosquitos se identifican normalmente, y de forma más fiable, como larvas de último (cuarto) estadio y adultos (Foster & Walker 2019).

Los culícidos adultos se caracterizan por presentar el cuerpo y sus apéndices alargados y

delgados con presencia de escamas en el cuerpo y apéndices. Las piezas bucales (mandíbulas, maxilas y labio, entre otras) elongadas y son un atributo característico de la familia (Wood & Borkent, 1989). Los mosquitos poseen una variedad de mecanismos para sobrevivir a condiciones adversas, estos mecanismos van desde diapausa, altamente programada y controlada hormonalmente resultando en el desarrollo de una sola generación por año, enlentecimiento del desarrollo, a mecanismos mixtos. La latencia puede ocurrir en cualquier etapa excepto en la pupa, siendo de hasta un año en los huevos de *Aedes sp.* constituyéndose en el mecanismo de sobrevivencia más eficiente para lograr su dispersión (Wilkerson et al. 2021).

Variadas adaptaciones observadas en larvas y adultos se encuentran relacionadas con la alimentación. Aunque son flexibles en la selección de alimentos las larvas presentan claras preferencias por algunos alimentos, así como también en los tipos de fuentes de azúcar y en los huéspedes seleccionados para la hematofagia, en el caso de los adultos. Sólo la hembra presenta el hábito hematófago pudiendo absorber el doble de su peso en sangre en el transcurso de unos minutos, característica que acerca a estos insectos al contacto íntimo, por ejemplo, con los humanos resultando muchas veces en la transmisión de enfermedades (Ribeiro 2000; Wilkerson et al. 2021).

La mayoría de las especies de mosquitos de importancia médica, se han adaptado a desarrollar sus actividades biológicas cerca de los humanos y han empleado, por ejemplo, las migraciones humanas para colonizar nuevos territorios (Medlock et al. 2015). *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762), *Aedes albopictus* (Skuse 1894), *Culex pipiens* (Linnaeus 1758) y *Culex quinquefasciatus* (Say 1863) son los ejemplos más claros de especies que, mediante la intervención humana, han establecido una distribución mundial (Wilkerson et al. 2021). La adaptación a los ambientes antrópicos conduce, casi invariablemente, a la preferencia por la fuente de sangre más disponible, los humanos (Lwande et al., 2020). Algunas especies de mosquitos son invasores de relevancia médica, debido a su conexión con la transmisión de patógenos causantes de enfermedades a los humanos y los animales (Lounibos 2002; Wilkerson et al. 2021). Los patógenos originarios de huéspedes no humanos (generalmente otros primates) ingresan luego en el ciclo de transmisión humano-mosquito, pudiendo tener importantes consecuencias para la salud pública (Gloria-Soria et al. 2016). Las infecciones víricas transmitidas por mosquitos son responsables de un grado significativo de morbilidad y mortalidad en todo el mundo debido a las graves enfermedades

que causan (Suesdek 2019; Wu et al. 2019; Trammell & Goodman 2021).

El mosquito *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Diptera: Culicidae: Aedini) (Figuras 1 y 2) se caracteriza por vivir cerca al ser humano, ya sea dentro de los domicilios o en sus alrededores, siendo los principales sitios de cría los depósitos de agua limpia, asociados al uso humano (Lwande et al., 2020). Posterior al consumo de sangre, los huevos son colocados por la hembra de manera individual, por encima del nivel del agua en las paredes del recipiente o estanque. A partir de esto el huevo completa su desarrollo embrionario en 48 horas si se presentan las condiciones de temperatura y humedad relativa óptimas (Wilkerson et al. 2021).

**Figura 1.** Adulto hembra de *Aedes aegypti*, vista lateral



**Figura 2.** Larva de 4° estadio de *Aedes aegypti* en vista lateral.



*Aedes aegypti* se distribuye, en gran parte de los ecosistemas tropicales y subtropicales del planeta, siendo, en estos ambientes, el principal vector de arbovirus causantes de enfermedades tales como: fiebre amarilla, dengue, zika y chikungunya que afectan al hombre (Souza-Neto et al. 2019; Iwamura et al. 2020). Se trata de una especie originaria del África subsahariana que abandonó este continente, durante los siglos XV y XVI, debido al traslado de esclavos hacia Europa y América (Brown et al. 2014). En su continente de origen, *Ae. aegypti* se comportaba como una especie silvestre, asociada a los huecos en los troncos de los árboles, que se alimentaba preferentemente de primates donde coevolucionaron, junto a los virus, antes de expandir su distribución a gran parte del planeta (Lounibos 1981; Powell 2018). Después de 400-550 años de

presencia en el “Nuevo Mundo” se ha adaptado a distintas condiciones medioambientales y se transformó en una especie exclusivamente antropofílica (Brown et al., 2014). La rápida expansión, desde su salida desde África Oeste, ha sido ampliamente documentada, estimándose que alrededor de 1800 invadió la región Mediterránea (Schaffner & Mathis, 2014) y, vía Canal de Suez, Asia en 1870 (Carey, 1971), para posteriormente llegar a Australia (1887) (Powell et al., 2018). En la actualidad y durante el próximo siglo, se espera que *Ae. aegypti* continúe ampliando su distribución impulsada en parte por el cambio climático global, a medida que los hábitats que antes eran inhóspitos se vuelvan favorables (Laporta et al., 2023), tal como el aumento de la distribución de *Aedes aegypti* proyectado por Alanis et. al, 2017 para Chile, indicando que podría llegar hasta Valdivia.

*Aedes aegypti* vector del virus del dengue causa una de las enfermedades con tasas de incidencia más altas en la salud pública mundial y particularmente en las Américas (Collao et al., 2015; Wu et al., 2019). Además, el Dengue es la segunda enfermedad vectorial más mortal después de la Malaria (Dueñas et al., 2017), siendo ambas transmitidas por mosquitos. El Dengue está presente en más de 100 países y su incidencia se ha incrementado sostenidamente en los últimos 50 años (Guzmán & Harris, 2015; Roy et al., 2021). El mosquito *Ae. aegypti* es el principal vector de los cuatro serotipos del dengue (DENV1-4) (Hosseini et al., 2018). En todo el mundo, aproximadamente 2500 millones de personas están en riesgo de contraer esta enfermedad y se estima que se producen más de 400 millones de casos nuevos de dengue (FD) cada año (Roy et al., 2021), 500.000 de ellos de la forma más grave de la enfermedad conocida como dengue Hemorrágico, la cual presenta una tasa de mortalidad de hasta al 5% (Wilder-Smith et al., 2019). Hasta el momento hay entre dos y tres vacunas de buena efectividad, las más conocidas Sanofi-Pasteur y Takeda 003, la primera con una efectividad de 83% para hospitalizaciones, indicada para países endémicos donde existen contactos previos con Dengue y la segunda con una efectividad del 61% para contagio y 84% para hospitalizaciones (Reyes-Cadenga, 2020), sin embargo, estas aún no son utilizadas de forma masiva. Esto último, sumado a que no existen fármacos específicos, el control de vectores y la vigilancia entomológica siguen siendo las principales estrategias en la lucha contra el virus del dengue (Jeiczon et al., 2015; Roy et al., 2021).

En América del Sur, la distribución histórica de *Ae. aegypti* abarcó gran parte del continente, encontrándose también presente, hasta el año 1961, en el norte de Chile, entre las ciudades de

Arica (18°28'S / 70°18'O) y Caldera (27°03'S / 70°49'O). Ese mismo año la Organización Panamericana de la Salud (OPS) declaró al país libre de la especie (San Martín et al., 2010). Hasta 1961, en gran parte de las ciudades y poblados del norte de Chile se registraba una alta infestación domiciliaria llegando, por ejemplo, al 45,2% en la localidad de Taltal (Región de Antofagasta) (Neghme et al., 1953). Por lo anterior, y en todo el continente, se implementaron diversas estrategias de control, preferentemente químicas, para luchar contra este vector. Sin embargo, en 1980 casi todos los países de Sudamérica habían sido reinfestados, excepto Chile (Carbajo et al., 2019; Rubio et al., 2020). Ahora bien, inesperadamente, dado que la principal preocupación de las autoridades de la salud era el norte de Chile continental, en el año 2000 se detectó el ingreso, por primera vez, de *Ae. aegypti* en Rapa Nui. Dos años después, el 13 de marzo de 2002, se confirmó el primer caso autóctono de dengue en la Isla (Olea, 2003), el que podría haberse producido a partir de viajeros infectados provenientes de la Polinesia, ya que en Tahití y Hawai, circuló el virus en el año 2001 (Cáceres et al., 2008; Canals et al., 2012). Posteriormente, en abril del 2016, se confirma la reintroducción de *Ae. aegypti* en Chile continental en la ciudad de Arica, Región de Arica y Parinacota (González et al., 2016).

La Región de Arica y Parinacota al ser una región bifronteriza y mantener una constante e importante interacción con sus países vecinos, principalmente a través de la actividad comercial terrestre-marítima, y un elevado flujo de camiones que transitan con su carga desde y hacia el puerto marítimo de Arica. La región presenta una multiplicidad de culturas y costumbres en su variada población, que se concentra en un 98% en la ciudad de Arica y el resto en las comunas rurales, como Camarones, Putre y General Lagos (Luebert & Pliscoff, 2006).

## I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La situación de América en cuanto a circulación de arbovirosis se ha mantenido en alza desde 2019, el 2023 fue el año de mayor registro de casos, con un total de 4.569.464. Recientemente la Organización Panamericana de la Salud alerta sobre el aumento exponencial de casos de dengue en América, con un total de casos notificados, entre las primeras 17 semanas epidemiológicas del 2024, tres veces mayor en comparación al mismo periodo del 2023, durante estas mismas semanas Brasil presentó casi 5 millones de casos notificados, Argentina 315.000 y Perú con alrededor de 155.000 casos, en Bolivia se reportaron alrededor de 25.000 (OPS 2024). A

nivel nacional, a la misma fecha, se han confirmado 137 casos de dengue importados y 97 autóctonos de la Isla de Pascua (OPS 2024). Lo anteriormente señalado, se traduce en un panorama epidemiológico internacional, que refleja una situación de riesgo permanente para Chile de transmisión autóctona en la Región de Arica y Parinacota, principalmente de dengue, enfermedad presente tanto en Bolivia como en Perú, países que tienen un elevado contacto cultural y comercial con la región. El actual flujo migratorio que experimenta la ciudad de Arica, parte del cual escapa a los mecanismos regulares de control, incrementa la posibilidad de ingreso de personas capaces de introducir alguna de las arbovirosis antes citadas, con el consiguiente riesgo de desencadenar un ciclo de transmisión vectorial de la enfermedad específica del caso.

Desde el reingreso de *Aedes aegypti* a Chile continental y según los datos obtenidos del análisis de muestras recibidas de la Región de Arica y Parinacota, en el Laboratorio de Entomología del Instituto de Salud Pública de Chile (ISP), se han detectado hallazgos urbanos de *Ae. aegypti* en la ciudad de Arica, circunscritos al intervalo entre los meses de octubre a abril, durante los años 2016, 2018, 2019, 2020, 2021 y 2022. En relación con esta información y la detección de *Ae. aegypti* en la ciudad de Arica, enmarcada en un área de hiperaridez, clima costero desértico nuboso y con una alta interacción poblacional comercial con los países limítrofes, surgen algunas preguntas: ¿Cuál es el origen de la población de *Ae. aegypti* detectada el año 2016 en la Región de Arica y Parinacota a más de 50 años de su erradicación?, ¿Son las poblaciones de *Ae. aegypti*, detectadas entre los años 2016 al 2022, correspondientes a múltiples introducciones o al establecimiento de una población adaptada a las condiciones bióticas de la Región?

En Chile, debido a su reciente reintroducción, la estructura genética de la población, la filogeografía y la biología del vector *Ae. aegypti* son desconocidas. Sin embargo, dada la importancia sanitaria del conocimiento de distintos atributos biológicos y genéticos relacionados con el origen, la relación filogenética, linajes, estructura de la población, dinámica de la población, así como la competencia del vector dentro de las poblaciones, son fundamentales para mejorar las estrategias de vigilancia y control de mosquitos contribuyendo a predecir la progresiva dispersión y reinvasión en las áreas de riesgo del país.

### III. HIPÓTESIS

H1: La detección del vector *Aedes aegypti* en la ciudad de Arica, desde el año 2016 y

posteriores, corresponde a un evento único de introducción desde una región de un país limítrofe en donde existen registros de su presencia, donde los hallazgos periódicos detectados en los meses de verano de los años siguientes, corresponden a remanentes de la población original ingresada en el año 2016.

H2: La población de *Aedes aegypti* en Arica, representa múltiples eventos de re-introducción, en distintos años, desde áreas aledañas.

#### **IV. OBJETIVOS**

##### **1. Objetivo General**

Determinar el origen de la población del mosquito *Aedes aegypti* detectada en la ciudad de Arica durante el año 2016, y años posteriores, y si ésta corresponde a un único evento de introducción o introducciones sucesivas.

##### **2. Objetivos específicos**

- Obtener datos genéticos poblacionales de *Ae. aegypti* de la región de Arica y Parinacota y complementarlos con la información disponible en el GenBank de poblaciones de países fronterizos.
- Determinar si existe variabilidad genética entre las poblaciones de *Ae. aegypti* detectadas en los años 2016 al 2022.
- Evaluar si las poblaciones identificadas en los diferentes años corresponden a una o múltiples introducciones o al establecimiento de una población en la ciudad de Arica.

## V. CAPÍTULO 1

### ***Aedes aegypti* (Linnaeus) (Diptera: Culicidae) en la Región de Arica y Parinacota, Chile: origen de la población y su establecimiento en una zona de hiperáridez.**

**CAROLINA REYES<sup>1</sup>, JORGE FERNANDEZ<sup>1</sup>, ANDRÉS CASTILLO<sup>1</sup>, MARIELA GUAJARDO<sup>1</sup>, LARA VALDERRAMA<sup>1</sup>, LORENA LLANOS<sup>1</sup>, XIMENA MUÑOZ<sup>2</sup>, CHRISTIAN R. GONZÁLEZ<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Subdepartamento de Genómica y Genética Molecular, Instituto de Salud Pública de Chile, Santiago, Chile.

<sup>2</sup> Laboratorio de Salud Ambiental. Secretaría Regional Ministerial de Salud Región de Arica y Parinacota, Chile.

<sup>3</sup> Instituto de Entomología, Universidad Metropolitana de Ciencias de la Educación, Facultad de Ciencias Básicas, Santiago, Chile.

#### **Resumen**

El mosquito *Aedes aegypti* presenta una amplia distribución, preferentemente en zonas tropicales y subtropicales del planeta. Es el principal vector de arbovirus que causan serios problemas de salud pública. Variados estudios, especialmente utilizando genes mitocondriales, han evidenciado la variabilidad genética interpoblacional de esta especie en el mundo, información relevante a la hora de mejorar las estrategias de control de mosquitos vectores de importancia médica. El objetivo de este estudio fue determinar el origen y posibles heteromorfismos genéticos de la población de *Ae. aegypti* detectada en la ciudad de Arica el 2016 después de 50 años de ausencia, y de los hallazgos posteriores. Se secuenciaron y analizaron los genes mitocondriales COI y ND4 de 21 muestras de *Ae. aegypti*, adultos y larvas, recolectados en 12 puntos de la ciudad, entre los años 2016 y 2022 en Arica. El análisis filogenético de secuencias COI/ND4 concatenadas (1089pb), se compararon con secuencias de *Ae. aegypti* de distribución mundial indicaron que la mayoría de las muestras de Arica pertenecen al mismo linaje originario de África occidental que circula en América. El resultado del segundo análisis mostró que 10 de las 12 secuencias de COI (542pb) se agruparon con las secuencias americanas y se obtuvo un 100% de identidad con las poblaciones de

Bolivia, haplotipo 3 de Colombia y Martinica, excepto dos muestras de Arica 2019 que agruparon con las secuencias de Rapa Nui, Guatemala, Perú, Polinesia Francesa, Puerto Rico, Taiwán y Uruguay. Estos resultados sugieren que los hallazgos heterogéneos de *Ae. aegypti* en Arica en el periodo estudiado corresponderían a una constante reintroducción de ejemplares provenientes de países vecinos, principalmente desde Bolivia, y su permanente tránsito terrestre desde y hacia la región de Arica con fines comerciales, estrechamente relacionadas al puerto marítimo de la ciudad. Ante este escenario, Arica y Parinacota se encuentra en una situación riesgo permanente de reingresos, desarrollo esporádico de *Ae. aegypti*, así como también, de la instalación del ciclo de transmisión de enfermedades transmitidas por este vector.

**Palabras clave:** Chile, Filogenia, Genes COI y ND4, Haplotipos, Mosquitos.

## Introducción

Algunas especies de mosquitos se comportan como insectos invasores de gran relevancia, en salud pública, debido a su conexión con la transmisión de patógenos causantes de enfermedades a los humanos y los animales (Lounibos, 2002; Pérez, 2018). La mayoría de las especies de mosquitos de importancia médica se han adaptado a desarrollar sus actividades biológicas cerca de los humanos y han empleado las migraciones humanas, entre otros factores, para colonizar nuevos territorios. La adaptación a los hábitats humanos conduce, casi invariablemente, a la preferencia por la fuente de sangre más disponible, los humanos (Medlock et al., 2015). Los patógenos originarios de huéspedes no humanos (generalmente otros primates), ingresan luego en el ciclo de transmisión humano-mosquito pudiendo tener importantes consecuencias para la salud pública (Gloria-Soria et al., 2016).

*Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) se distribuye, preferentemente, en gran parte de los ecosistemas tropicales y subtropicales del planeta siendo, en estos ambientes, el principal vector de los arbovirus causantes de enfermedades tales como Fiebre Amarilla, Dengue, Zika y Chikungunya que afectan al hombre (Souza-Neto et al., 2019; Iwamura et al., 2020). Se trata de una especie originaria del África subsahariana que abandonó este continente, durante los siglos XV y XVI, debido al traslado de esclavos hacia Europa y América (Brown et al., 2014). En su continente de origen, *Ae. aegypti* se comportaba como una especie silvestre, que se alimentaba

preferentemente de primates donde coevolucionaron, junto a los virus, antes de expandir su distribución a gran parte del planeta (Lounibos, 1981; Powell, 2018). Después de 400-550 años de presencia en el “Nuevo Mundo” se adaptó a diversas condiciones medioambientales transformándose en una especie principalmente antropofílica (Brown et al., 2014; Lwande et al., 2020). La rápida expansión, de su salida desde África Oeste, ha sido bien documentada, estimándose que alrededor de 1800 invadió la región Mediterránea (Schaffner & Mathis, 2014) y, vía Canal de Suez, Asia (1870) (Carey, 1971), para posteriormente llegar a Australia (1887) (Powell et al., 2018). Hoy en día su distribución se encuentra en estrecha asociación a los hábitats humanos en la mayoría de los ecosistemas tropicales y subtropicales. Sin embargo, la especie también se ha detectado en zonas semiáridas como Arizona, donde se ha introducido a pesar de que la aridez puede ser un factor limitante clave (Walker et al., 2011).

El virus del dengue es el agente causal de uno de los principales problemas de salud pública en los países tropicales y subtropicales del planeta y es la segunda enfermedad vectorial más mortal después de la Malaria (Kularatne & Dalugama, 2022). Esta enfermedad está presente en más de 100 países y su incidencia se ha incrementado sostenidamente en los últimos 50 años (Guzmán & Harris, 2015; Hosseini et al., 2018; Martínez de Cuellar, 2021).

*Aedes aegypti* es el principal vector de los cuatro serotipos del dengue (DENV1-4) (Hosseini et al., 2018). En todo el mundo, aproximadamente, 2.500 millones de personas están en riesgo de contraer esta enfermedad. Se estima que se producen más de 400 millones de casos nuevos de dengue (FD) cada año (Roy et al., 2021), incluyendo hasta 500.000 casos de la forma más grave de la enfermedad, el Dengue Hemorrágico, la cual presenta una tasa de mortalidad de hasta al 5% (Wilder-Smith et al., 2019). Hasta el momento, aunque se dispone de dos vacunas para la prevención del dengue estas no son de uso masivo (Reyes-Cadenga, 2020), sumado a que no hay fármacos específicos para el tratamiento de esta enfermedad, el control vectorial y la vigilancia entomológica siguen siendo las principales estrategias en la lucha contra el virus del dengue (Jeiczon et al., 2015).

En América del Sur, la distribución histórica de *Ae. aegypti* abarcó gran parte del continente, encontrándose también presente, hasta el año 1961, en el norte de Chile, entre las ciudades de Arica (18°28'28"S / 70°17'52"O) y Caldera (27°8'32.28"S / 70°41'1"O), cuando la Organización Panamericana de la Salud (OPS) declaró al país libre de la especie (San Martín et al., 2010). En gran

parte de las ciudades y poblados del norte de Chile, se registraba una alta infestación domiciliaria llegando, por ejemplo, al 45,2% en la localidad de Taltal (Región de Antofagasta) (Neghme et al., 1953). Por lo anterior, y en todo el continente, se implementaron diversas estrategias de control, preferentemente químicas, para luchar contra este vector. Sin embargo, en 1980 casi todos los países de Sudamérica habían sido reinfestados, excepto Chile (Carbajo et al., 2019; Rubio et al., 2020). Ahora bien, inesperadamente, dado que la principal preocupación de las autoridades de la salud era el norte de Chile continental, en el año 2000 se detectó el ingreso, por primera vez, en Rapa Nui. Dos años después, el 13 de marzo de 2002, se confirmó el primer caso autóctono de dengue en la isla (Olea, 2003), el que podría haberse producido a partir de viajeros infectados provenientes de la Polinesia, ya que en Tahití y Hawai, circuló el virus en el año 2001 (Cáceres et al., 2008; Canals et al., 2012). Posteriormente, en abril del 2016, se confirma la reintroducción de *Ae. aegypti* en Chile continental en la ciudad de Arica, Región de Arica y Parinacota (González et al. 2016).

En Chile, debido a su reciente reintroducción, la estructura genética de la población, dinámica de ingreso al país y biología del vector *Ae. aegypti* son desconocidas. Sin embargo, dada su importancia sanitaria, el conocimiento de distintos atributos biológicos y genéticos relacionados con el origen, la relación filogenética, linajes, estructura de la población, dinámica de la población, así como la competencia del vector dentro de las poblaciones, son fundamentales para mejorar las estrategias de vigilancia y control de mosquitos contribuyendo a predecir la progresiva dispersión y reinvasión en las áreas de riesgo del país.

Los genes mitocondriales han demostrado ser una herramienta útil para entender la diferenciación genética de poblaciones y el estudio del flujo génico en varios organismos incluidos los insectos. Entre los principales marcadores mitocondriales usados para el estudio de poblaciones de *Ae. aegypti*, se encuentran el gen mitocondrial ND4 (NADH dehydrogenase subunit 4), y el gen COX1 (cytochrome C oxidase subunit I). A esto se suma, la disponibilidad de secuencias nucleotídicas homólogas de poblaciones del mosquito de distintos países en los bancos de datos (GenBank, BOLD y EMBL), información que facilita y robustece este tipo de estudios (Atencia et al. 2018).

Desde el reingreso de *Ae. aegypti* a Chile continental, y según los datos obtenidos por el Laboratorio de Entomología del Instituto de Salud Pública de Chile (ISP), del análisis de muestras

recibidas de la Región de Arica y Parinacota, se han detectado hallazgos urbanos de *Ae. aegypti* en Arica circunscritos al intervalo entre los meses de octubre a abril, durante los años 2016, 2018, 2019, 2020, 2021 y 2022. En relación con esta información, el objetivo del trabajo es determinar el origen de la población de *Ae. aegypti* detectada en Arica el año 2016 y si los múltiples hallazgos detectados en la región, entre los años 2016 al 2022, corresponden a reintroducciones o al establecimiento de la población.

## **Material y Métodos**

### **Área de estudio**

La Región de Arica y Parinacota se ubica en el extremo norte de Chile (Figura 1). Posee una superficie de 16.873,30 kilómetros cuadrados. Según el Censo 2017 la población es de 226.068 habitantes. Esta región se caracteriza por un clima donde predomina la escasez de precipitaciones, convirtiéndose en un paisaje de extrema aridez y poca vegetación. Su hidrografía presenta regímenes pequeños y esporádicos. La capital regional es la ciudad de Arica la cual presenta una constante interacción con sus países vecinos Perú y Bolivia principalmente a través de la actividad comercial. La ciudad de Arica presenta un clima desértico costero nuboso, el cual se localiza en toda la costa de la región, con abundantes nieblas matinales, o "camanchacas", originadas principalmente por la influencia de la corriente fría de Humboldt, presentando una temperatura media anual de 18,8°C, con precipitaciones anuales inferiores a 3 mm en la costa (Luebert & Pliscoff, 2006).

**Figura 1.** Mapa Sudamérica, Chile, Región de Arica y Parinacota.



### **Colecta e identificación mosquitos.**

Se colectaron *Ae. aegypti* entre el 2016 y el 2022 en la ciudad de Arica. Las muestras consisten en larvas obtenidas desde criaderos domiciliarios artificiales, y adultos desde el interior de los domicilios. Las larvas se almacenaron en alcohol a 70% y los adultos se sacrificaron en frío a  $-20^{\circ}\text{C}$  por 2 horas y almacenaron individualmente secos en tubos Eppendorf de 2 ml. Los ejemplares fueron enviados al Laboratorio de Referencia de Entomología del Instituto de Salud Pública de Chile (LREISP). La identificación se realizó utilizando las claves de Darsie (1985) y Rueda (2004). De las muestras obtenidas, se seleccionaron 21 correspondientes a 12 puntos de muestreo, 10 adultos y 11 larvas (Tabla 1) las que fueron trasladadas al Laboratorio de Genética Molecular del Instituto

de Salud Pública de Chile (LGMISP), para efectuar los análisis genéticos.

### **Extracción de ADN, amplificación por PCR y secuenciación.**

Un total de 42 muestras de ADN, de larvas y adultos de *Ae. aegypti*, colectadas en Arica (21), Iquique (3), Rapa Nui (9), Bolivia (4) y Perú (5) fueron utilizados para amplificar una región de alrededor de 700 pb y de 350 pb de los genes mitocondriales COI y ND4, respectivamente. Se extrajo ADN genómico desde ejemplares completos de larvas y adultos utilizando el kit comercial DNeasy Blood and Tissue (QIAGEN, GmbH, Hilden, Alemania), de acuerdo a las instrucciones del fabricante (Tabla 1). El gen COI fue amplificado con los primers COI-FOR (5'-TGTAATTGTAACAGCTCATGCA-3') y COI-REV (5'-AATGATCATAGAAGGGCTGGAC-3') publicados por Seixas et al. (2013). El gen ND4 fue amplificado con los primers ND4-FOR- (5'-ATTGCCTAAGGCTCATGTAG-3'), y ND4-REV- (5'-TCGG CTCCTAGTCGTTTCAT-3) publicados por Seixas et al. (2013) siguiendo las siguientes condiciones: desnaturalización inicial a 95°C por x 3 min, 40 ciclos de desnaturalización a 95°C por 30 s, alineamiento a 55°C por 30 s, extensión a 72°C por 30 s, finalmente 1 ciclo de extensión a 72°C por 7 min. En todos los casos se contó con una muestra de ADN de *Ae. aegypti* (proveniente de Rapa Nui) previamente confirmada, como control positivo y, como control negativo la mezcla de reacción sin ADN.

Los productos fueron separados por electroforesis en gel de agarosa al 2%. El tamaño de las bandas fue comparado con el marcador *100bp DNA Ladder* (Invitrogen Life Technologies). En todos los casos se fotografiaron los geles con el sistema de fotodocumentación BIO-RAD 583 gel dryer. Los productos de PCR generados se purificaron usando polietilenglicol 8000, y posteriormente se secuenciaron utilizando el secuenciador ABI 3500 (Applied Biosystems).

### **Identificaciones moleculares y análisis filogenético**

Las secuencias obtenidas fueron comparadas con la base de datos del GenBank a través de la herramienta BLAST (NCBI, USA) (Altschut et al., 1990) para realizar la comprobación de la identificación de cada muestra. Las secuencias fueron editadas con el programa Bioedit Sequence Alignment Editor versión 7.2.5 (Hall, 1999) y alineadas con el algoritmo de Mafft. Se realizó el análisis de distancia genética (p-distance) entre individuos de *Ae. aegypti* mediante el programa Mega versión 6 (Tamura et al., 2021). Los árboles iniciales para la búsqueda heurística se

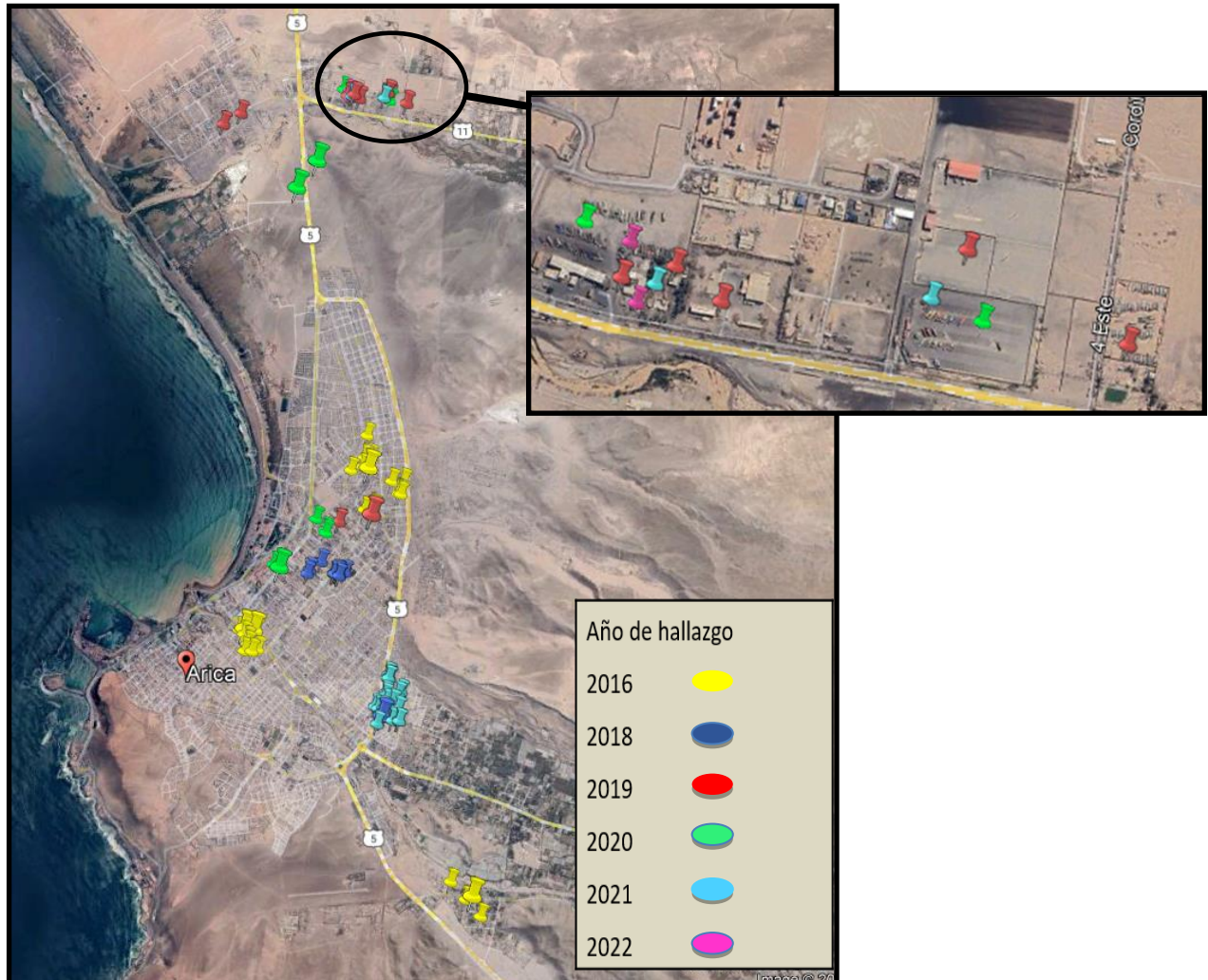
obtuvieron automáticamente aplicando los algoritmos Neighbor-Joining y BioNJ a una matriz de distancias por pares estimadas utilizando el enfoque de Máxima Verosimilitud Compuesta (MCL), y luego seleccionando la topología con un valor de probabilidad logarítmica superior. Se utilizó una distribución Gamma discreta para modelar las diferencias de tasas evolutivas entre sitios (5 categorías (+G, parámetro = 0,1000)). Los árboles se dibujaron a escala y las longitudes de las ramas se midieron en función del número de sustituciones por sitio. Los análisis evolutivos se realizaron en MEGA6 (Tamura et al., 2021).

## **Resultados**

### **Análisis de base de datos histórica ISP (Figura 2)**

En las bases de datos del Instituto de Salud Pública de Chile (ISP), se examinó la información de las muestras históricas de huevos, larvas, pupas y adultos, ingresadas e informadas como positivas a *Ae. aegypti*, correspondiente a los años 2016, 2018, 2019, 2020, 2021 y 2022. Los datos muestran una repetición histórica de los puntos de hallazgos, así como también, la reiterada temporalidad de estos, todos detectados entre octubre y abril. El año 2016 se identifican 31 puntos con muestras positivas de *Ae. aegypti*, presentando focos tanto en el centro de la ciudad, como en los primeros kilómetros de las rutas de ingreso hacia los Valles de Lluta ( $18^{\circ}23'53.57''$  S /  $70^{\circ}17'30.77''$  O) y de Azapa ( $18^{\circ}30'36.47''$  S /  $70^{\circ}16'10.00''$  O), ambas zonas semi rurales. El año 2017 no se presentaron muestras positivas colectadas en esta región. Durante el año 2018, se detectó en 12 puntos de la ciudad circunscritos en un área urbana de  $0,1 \text{ km}^2$  en los meses de marzo y abril. El año 2019 fue detectado en 8 puntos, 7 de ellos entre enero y mayo, todos ubicados en la entrada del Valle de Lluta en parqueaderos de camiones de ruta internacional y, en diciembre, se detectaron huevos en el centro de la ciudad en un patio de contenedores. El año 2020 se detectaron 6 puntos positivos entre enero y abril, dos en los parqueaderos de Lluta y 4 ubicados en el centro de la ciudad dentro de un perímetro aproximado de 2 km a la redonda. En el año 2021 se detectaron 23 puntos positivos, dos en los parqueaderos de Lluta durante el mes de diciembre y 21 entre marzo y abril, en un sector urbano residencial de  $0,2 \text{ km}^2$  y de alta densidad poblacional. Durante enero del año 2022 se identificó una hembra y huevos en uno de los parqueaderos del Valle de Lluta.

**Figura 2.** Puntos de hallazgos de *Aedes aegypti* entre el 2016-2022 en la Ciudad de Arica. Región de Arica y Parinacota, Chile.



**Amplificación mediante PCR y secuenciación de una región de los genes COI y ND4 del ADN mitocondrial de *Aedes aegypti* (Tabla 1).**

De las 42 muestras analizadas, 37 de ellas fueron amplificadas y secuenciadas para los genes COI y ND4, en cinco de las 42 muestras iniciales no se obtuvo ningún producto de PCR (Tabla 1). Para el gen COI, en 16 muestras, se obtuvo una secuencia nucleotídica de alrededor de 800 pb y en 21 muestras una secuencia nucleotídica de alrededor de 540 pb. El gen ND4 fue amplificado en 21

muestras de las que se obtuvo una secuencia nucleotídica de alrededor de 350 pb (Tabla 1). En las secuencias nucleotídicas obtenidas de una región del gen COI y ND4, no se observaron deleciones, inserciones y codones de término.

**Tabla 1.** Muestras de *Aedes aegypti*, amplificadas y secuenciadas en Laboratorio de Genética Molecular ISP (N/D = No determinado).

País	Unidad territorial	Año de colecta	N° muestra secuencia genética	Estadio	COI	ND4
Chile	Arica	2016	2016-CUL-279-Lv-Arica	Larva	542 pb	350 pb
Chile	Arica	2016	2016-CUL-280-Lv-Arica	Larva	542 pb	350 pb
Chile	Arica	2016	2016-CUL-282-Lv-Arica	Larva	542 pb	350 pb
Chile	Arica	2016	2016-CUL-594b-Lv-Arica	Larva	798 pb	350 pb
Chile	Arica	2016	2016-CUL-594d-Lv-Arica	Larva	N/D	N/D
Chile	Arica	2016	2016-CUL-597-Ad-Arica	Adulto	823 pb	350 pb
Chile	Arica	2018	2018-CUL-534-Ad-Arica	Adulto	828 pb	350 pb
Chile	Arica	2018	2018-CUL-618-Lv-Arica	Larva	549 pb	N/D
Chile	Arica	2018	2018-CUL-888-Ad-Arica	Adulto	828 pb	350 pb
Chile	Arica	2018	2018-CUL-606-Ad-Arica	Adulto	542 pb	N/D
Chile	Arica	2019	2019-CUL-400-1-Lv-Arica	Larva	822 pb	350 pb
Chile	Arica	2019	2019-CUL-400-2-Lv-Arica	Larva	N/D	N/D
Chile	Arica	2019	2019-CUL-400-3-Lv-Arica	Larva	828 pb	350 pb
Chile	Arica	2019	2019-CUL-400-4-Lv-Arica	Larva	828 pb	350 pb
Chile	Arica	2019	2019-OVI-4256-Lv-Arica	Larva	542 pb	N/D
Chile	Arica	2020	2020-CUL-267-Ad-Arica	Adulto	828 pb	350 pb
Chile	Arica	2020	2020-CUL-687-Ad-Arica	Adulto	828 pb	350 pb
Chile	Arica	2021	2021-CUL-309-Ad-Arica	Adulto	828 pb	350 pb
Chile	Arica	2021	2021-CUL-351-Ad-Arica	Adulto	828 pb	350 pb
Chile	Arica	2021	2021-CUL-387-Ad-Arica	Adulto	807 pb	N/D
Chile	Arica	2022	2022-CUL-315-Ad-Arica	Adulto	828 pb	350 pb
Chile	Iquique	2019	2019-CUL-783-Lv-Iquique	Larva	542 pb	N/D

Chile	Iquique	2019	2019-CUL-879-Lv-Iquique	Larva	539 pb	N/D
Chile	Iquique	2019	2019-CUL-783-B-Lv-Iquique	Larva	543 pb	N/D
Chile	RapaNui	2016	2016-CUL-30A-Lv-RapaNui	Larva	542 pb	350 pb
Chile	RapaNui	2016	2016-CUL-30B-Lv-Rapanui	Larva	542 pb	350 pb
Chile	RapaNui	2016	2016-CUL-16-A-Lv-RapaNui	Larva	542 pb	N/D
Chile	RapaNui	2017	2017-CUL-59-A-Lv-RapaNui	Larva	542 pb	N/D
Chile	RapaNui	2018	2018-CUL-773A-Lv-RapaNui	Larva	N/D	N/D
Chile	RapaNui	2018	2018-CUL-773B-Lv-RapaNui	Larva	N/D	N/D
Chile	RapaNui	2019	2019-CUL-3306-Lv-RapaNui	Larva	542 pb	N/D
Chile	RapaNui	2021	2021-CUL-844-Lv-RapaNui	Larva	542 pb	N/D
Chile	RapaNui	2021	2021-CUL-847-Lv-RapaNui	Larva	N/D	N/D
Bolivia	Santa Cruz	2018	2018-BOL-2	Adulto	542 pb	N/D
Bolivia	Santa Cruz	2018	2018-BOL-3	Adulto	800 pb	350 pb
Bolivia	Santa Cruz	2018	2018-BOL-4	Adulto	805 pb	350 pb
Bolivia	Santa Cruz	2018	2018-BOL-5	Adulto	542 pb	N/D
Perú	S/I	2018	2018-PER-55	Adulto	675 pb	350 pb
Perú	Jaen	2018	2018-PER-69	Adulto	826 pb	350 pb
Perú	S/I	2018	2018-PER-30.12	Adulto	542 pb	N/D
Perú	S/I	2018	2018-PER-30.13	Adulto	542 pb	N/D
Perú	S/I	2018	2018-PER-30.19	Adulto	542 pb	N/D

### **Análisis filogenéticos.**

Para evaluar la relación filogenética entre las poblaciones detectadas en Arica, para cada año de este estudio, se seleccionaron 12 muestras que presentaban secuencias más completas de la región del gen COI y que además presentaban amplificación del gen ND4 (2016-CUL-594b-Lv-Arica, 2016-CUL-597-Ad-Arica, 2018-CUL-534-Ad-Arica, 2018-CUL-888-Ad-Arica, 2019-CUL-400-1-Lv-Arica, 2019-CUL-400-3-Lv-Arica, 2019-CUL-400-4-Lv-Arica, 2020-CUL-267-Ad-Arica, 2020-CUL-687-Ad-Arica, 2021-CUL-309-Ad-Arica, 2021-CUL-351-Ad-Arica, 2022-CUL-315-Ad-Arica,) (Tabla 1). Las secuencias nucleotídicas de los genes COI y ND4 correspondientes a estas 12 muestras, fueron concatenadas formando un producto de alrededor de 1089 pb. Estas secuencias concatenadas,

junto con 2 muestras de Bolivia y una de Perú, fueron comparadas con 18 secuencias concatenadas obtenidas desde especímenes provenientes de Latinoamérica, América del Norte, Asia y África, desde la base de datos GenBank (Tabla 2), estas secuencias fueron seleccionadas para representar distintas regiones geográficas.

**Tabla 2.** Secuencias de la región COI y ND4 de *Aedes aegypti* de Latinoamérica, América del Norte, Asia y África, obtenidas de la base de datos del GenBank (N/A= Secuencia no disponible).

País	COI	ND4
Argentina	MN298988.1	N/A
Bolivia H1	JQ926676	JQ926705
Bolivia H7	JQ926682	N/A
Brasil	JQ926703.1	JQ926718.1
Brasil	AJ970974.1	N/A
Brasil	AJ970961.1	N/A
Camboya	JQ926688.1	JQ926722.1
Camerún	JQ926702.1	JQ926716.1
Costa de Marfil	JQ926695.1	JQ926710.1
Costa de Marfil	JQ926693.1	JQ926709.1
Colombia H2	KM203141.1	N/A
Colombia H3	KM203142.1	KM203251.1
Colombia H28	KM203167.1	KM203276.1
Colombia 70	KM203209	KM203318
Colombia 33	KM203169	KM203378
Ecuador	MK890440.1	N/A
French Polynesia	AJ970972.1	N/A
Guinea	JQ926700.1	JQ926717.1
Martinique	JQ926697.1	JQ926712.1
México	JQ926698.1	JQ926713.1
Perú	MN299016.1	N/A
Puerto Rico	MN299008.1	N/A
Rapa Nui	HQ991719	N/A

Rapa Nui	HQ991718	N/A
Tanzania	JQ926704.1	JQ926715.1
Tailandia	JQ926692.1	JQ926720.1
Uruguay	MN299009.1	N/A
Uruguay	MN299012.1	N/A
USA	JQ926684.1	JQ926725.1
Venezuela	JQ926701.1	JQ926726.1
Vietnam	JQ926685.1	JQ926723.1

El primer análisis filogenético, utilizando las secuencias concatenadas de los genes COI/ND4, mostró la presencia de 3 grupos o poblaciones, denominados como A, B y C (Figura 3). En el grupo A se observa que, 10 de las 12 muestras de Arica, se relacionan con 3 muestras de *Ae. aegypti* de Bolivia, 4 de Colombia, y 1 de Martinica. Las 10 muestras de Arica presentaron una secuencia nucleotídica 100 % idéntica entre ellas y, a su vez, mostraron un 100% de identidad con 3 muestras del GenBank de Colombia, Haplotipo 3 (KM203142.1), Martinica (JQ926697.1) y Bolivia (JQ926676). Las 2 muestras de Bolivia (2018-BOL-3 y 2018-BOL-4), procesadas en este estudio, tuvieron 100% similitud con las mismas 10 muestras de Chile y también con las de Colombia, Bolivia y Martinica obtenidas del GenBank. El grupo B reunió muestras de Asia (Tailandia), Brasil y México las cuales presentaron una identidad entre 98.9% a 99.1% con respecto al grupo A. Para el segmento analizado, el grupo B presenta 7 cambios de nucleótidos en las siguientes posiciones, 183 (A↔G); 195 (A↔G); 216 (T↔C); 320 (A↔G); 606 (T↔C); 669 (G↔A); 714 (T↔C) con respecto a grupo A, no obstante, ninguno de ellos produce un cambio de aminoácidos (cambios sinónimos). En el grupo C, se observan muestras de Asia, África y América, así como también 2 muestras de Arica del año 2019. En este árbol filogenético de secuencias concatenadas de las regiones COI y ND4, se identificaron 2 linajes mitocondriales que se encuentran circulando en América, donde *Ae. aegypti* es endémico. El linaje 1, clado que incluye a los Grupos A y B (Figura 3), incluye las muestras de América (Bolivia, Brasil, Colombia, Martinica y México), Asia y 10 de las muestras de Arica. El linaje 2, clado del grupo C (Figura 3), que reúne muestras de Asia, África y América y sólo dos muestras de Arica (año 2019).

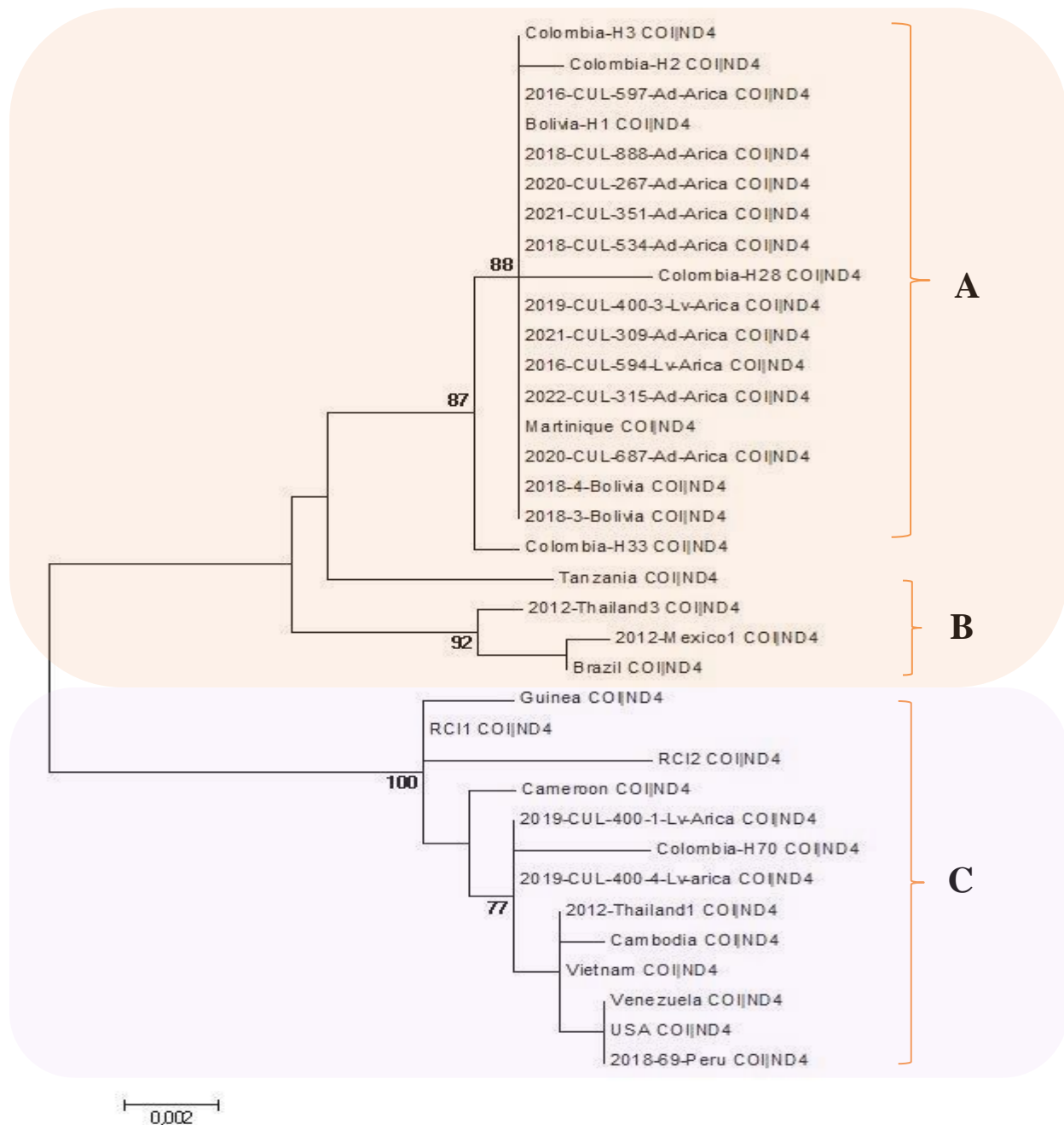
A su vez, las secuencias de las muestras de Arica, del grupo A, tienen una identidad entre 97.8% y

un 99.0 % con el grupo C. Al analizar los genes COI y ND4, el grupo A posee 24 sitios polimórficos, 14 en la región del gen COI en las posiciones 33, 99, 102, 111, 183, 195, 216, 345, 366, 444, 495, 501, 525, 712 y, 10 en el gen ND4 en las posiciones 12, 18, 69, 129, 138, 186, 231, 264, 273, 309 con respecto a la mayoría de las secuencias nucleotídicas de las muestras del grupo B.

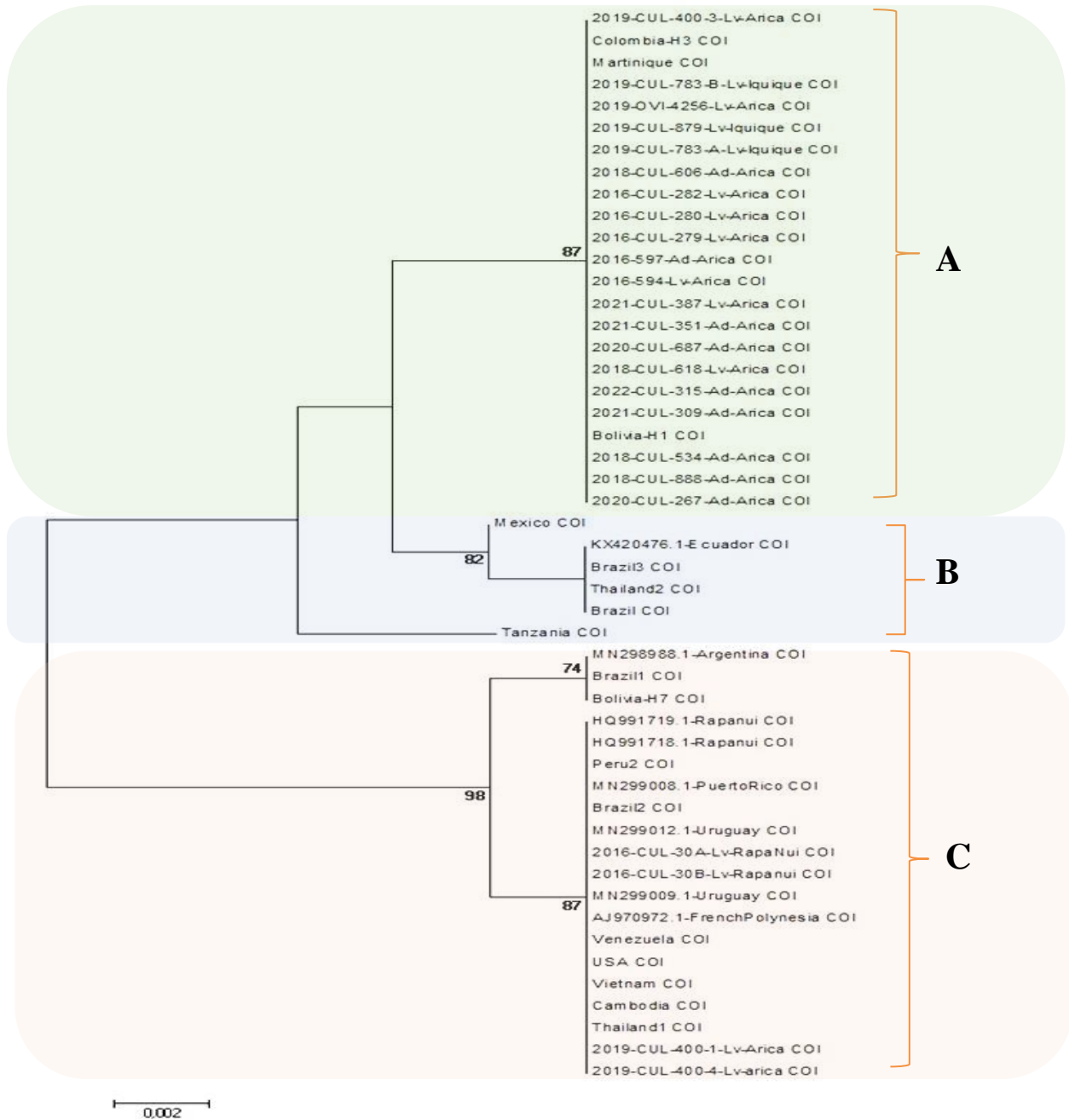
En los sitios polimórficos de COI se encontraron 7 transiciones C↔T en las posiciones 99, 102, 216, 366, 501, 525, 712 y 7 transiciones A↔G en las posiciones 33, 111, 183, 195, 345, 444, 495. Estos cambios de nucleótidos produjeron 3 cambios de aminoácidos en los condones M11I, M37I y I148M. En los sitios polimórficos de ND4 se encontraron 9 transiciones C↔T en las posiciones 11, 15, 18, 69, 129, 138, 186, 231, 273 y 1 transición A↔G en la posición 264.

Cuando se comparó los nodos del árbol COI/ND4 (Figura 3) con el de solo COI (Figura 4), se puede observar un soporte alto de los nodos (88%) lo que respalda los clados generados correspondiente a los grupos A, B y C. Al comparar los nodos en los árboles con los genes COI y ND4, en forma individual, se observan grupos similares con un soporte de los nodos sobre el 70% (Figura 1S y 2S).

En las muestras donde se obtuvo un tamaño de gen COI de alrededor de 542 pb, se realizó un segundo análisis filogenético (Figura 4), utilizando solamente muestras de Latinoamérica obtenidas desde el GenBank (Tabla 2) y muestras de Arica (19), Iquique (3) y de Rapa Nui (6) (Tabla 1). Con este segundo análisis filogenético se observan también 3 grupos donde, las muestras de Arica, se agrupan de manera concordante a lo obtenido en el primer análisis. En el grupo A se reunieron 17 de las 19 muestras de Arica, junto a las muestras del haplotipo 3 de Colombia y el haplotipo 1 de Bolivia; así como también las 4 muestras de Bolivia secuenciadas en Chile (data no mostrado). El grupo B lo constituyen secuencias de las muestras de Ecuador (MK890440.1) y Brasil (AJ970974.1). El grupo C se encuentra constituido principalmente por 2 ramas, una de ellas conformada por 2 muestras de Arica, muestras de Rapa Nui, Guatemala, Perú, Polinesia Francesa, Puerto Rico, Taiwán y Uruguay. En el grupo A, la secuencia de COI de las muestras de Arica, tiene un 100% identidad con las secuencias del haplotipo 3 de Colombia, Martinica y el haplotipo 1 de Bolivia. En cambio, las muestras de Arica 2019-cul-400-1\_Lv\_Arica y 2019-cul-400-4\_Lv\_Arica, del grupo C, tienen un 97.7% y 97.9%, respectivamente, de identidad con las muestras de Arica del grupo A. Cabe destacar que los 3 grupos tienen un soporte de los nodos sobre (74%).



**Figura 3.** Análisis filogenético de secuencias concatenadas de 1089 pb de una región del gen COI y ND4, utilizando el método de Máxima Verosimilitud, inferido utilizando el modelo de Hasegawa-Kishino-Yano.



**Figura 4.** Análisis filogenético de una región de 491 pb del gen COI, utilizando el método de máxima verosimilitud, inferido utilizando el método Hasegawa-Kishino-Yano.

## Discusión

En el año 1961, la Organización Panamericana de la Salud (OPS), certificó la erradicación de *Ae. aegypti* de Chile (San Martín et al., 2010). Sin embargo, en 1980 casi todos los países de América Central y del Sur, habían vuelto a infestarse (Jaimes-Dueñez et al., 2015). Hasta inicios del 2016, Chile continental, permanecía libre del vector. Ahora bien, en abril del 2016 se confirmó el hallazgo de *Ae. aegypti* en Arica, región de Arica y Parinacota (González et al., 2016).

Las poblaciones de *Ae. aegypti* presentan un ciclo biológico modulado por variables climáticas, ecológicas y antrópicas, características que podrían influir en cambios intermitentes a lo largo del tiempo en cuanto a su abundancia y diversidad genética, pudiendo afectar con ello su potencial evolutivo (Cadavid et al., 2015). Carlassara et al. (2024), indican que *Ae. aegypti* es capaz de adaptarse a las temperaturas de su entorno local y optimizar así, su desempeño para transmitir patógenos, razón por la cual es importante implementar estudios a nivel local de las características biológicas y genéticas para evaluar, eficientemente, las medidas de control. Sin embargo, a pesar de lo anteriormente señalado, no existen, en el país, estudios que aborden estas temáticas con el fin de entregar herramientas para optimizar la lucha contra el vector.

En las últimas décadas *Ae. aegypti* ha comenzado a restablecerse en extensas áreas de Latinoamérica, como por ejemplo en Argentina (Rossi et al., 2006), Estados Unidos (Walker et al., 2011) y Perú (Guagliardo et al., 2014), entre otros. Su distribución, se ve influenciada por la acción de factores meteorológicos, demográficos y medioambientales, tales como la temperatura, las precipitaciones y la población. Sin embargo, su expansión también se ha evidenciado en climas templados alcanzando, por ejemplo, hasta los 40°44'S en Argentina (Rubio et al., 2020), áridos, como la costa de Ecuador y Perú (Martín et al., 2021), e hiperáridos, como la ciudad de Arica emplazada en el Desierto de Atacama (Gómez-Silva & Batista-García 2022), donde las medias anuales de precipitaciones, en los últimos treinta años, bordean los 2,1 mm (INE 2023) y *Ae. aegypti* ha sido detectado de manera permanente (2016-2023), aunque en baja abundancia, desde su reingreso en el año 2016.

Al analizar las secuencias de los genes COI y ND4, de las 21 muestras de *Ae. aegypti* estudiadas, los resultados globales sugieren que, la ciudad de Arica, ha sufrido múltiples ingresos del vector. Sin embargo, dado el bajo número de hallazgos, durante el periodo de estudio, 81 puntos positivos, el escaso número de ejemplares disponibles para análisis y la periodicidad heterogénea de hallazgos,

circunscrita principalmente a los meses de verano, apuntaría a que la población de mosquitos aún no logra las adaptaciones fisiológicas y conductuales necesarias para su establecimiento en esta zona.

La presencia en nuestros resultados de los dos linajes que se encuentran circulando en Sudamérica son concordantes con los publicados por Paupy et al., (2012) en Bolivia, Jaimes-Dueñez et al., (2015) en Colombia y Brites et al., (2022) en Paraguay. Bracco et al. (2007) destacan la importancia epidemiológica de los linajes, indicando que, diferentes poblaciones de *Ae. aegypti* pueden presentar una clara susceptibilidad a las infecciones de algunos arbovirus como el virus del Dengue, así como también, a los insecticidas los que podrían responder de manera diferente a las medidas de control de vectores cuando éstos se utilizan.

Al analizar los genes COI y ND4, entre las 42 muestras analizadas, se reconoció la presencia de 2 haplotipos (Figura 3), resultados que muestran una baja diversidad genética. A diferencia de nuestros resultados en relación al número de haplotipos, Yañez et al. (2013), en Perú, donde secuenciaron el gen ND4 de 51 especímenes de 11 regiones, reconociendo dos linajes y 5 haplotipos; por otra parte, Cadavid et al. (2015), en un estudio realizado en 3 ciudades de Colombia, analizando los genes COI y ND4, de 341 ejemplares, identificaron 160 haplotipos y al analizar el COI de 255 ejemplares de Colombia identifican 33 haplotipos, así como también Escobar et al. (2022) que identifican 3 haplotipos en 4 ciudades de Honduras y Carroza et al. (2016) 2 haplotipos en Argentina con secuencias de ND4, en todos los estudios mencionados se identifican dos linajes. En el caso del continente asiático, Sri Lanka, Dharmarathne et al. (2020) se observaron 20 haplotipos, en las 19 localidades. El bajo número de haplotipos, identificado en las poblaciones del norte de Chile, podría sugerir que estas se encuentran influenciadas por una zona hiperárida, de escasa o nula pluviometría, factores ambientales desfavorables para la reproducción de *Ae. aegypti*. Así mismo, dadas las características de permanente flujo terrestre de países limítrofes, con la ciudad de Arica, y la similitud de filogenética con las muestras de Bolivia es factible decir que existe un constante ingreso del vector principalmente desde Bolivia, así como también de otros países de la región. Según lo indicado por Jaimes-Dueñez et al., 2015, otro punto importante que podría explicar este bajo número de haplotipos es que, la población estudiada proveniente probablemente de Bolivia, se encuentre sometida a una selección debido al uso excesivo de intervenciones químicas con adulticidas generando presiones de selección sobre haplotipos

resistentes, reduciendo la variabilidad genética de *Ae. aegypti* en la zona donde el número de fumigaciones reportadas es más frecuente, versus una zona donde el uso de insecticidas químicos es poco común, sin embargo, es poco probable que esta teoría explique por sí sola la detección de solo dos haplotipos en Arica. Dado que no se dispone de información sobre que haplotipos se encuentran circulando en Bolivia, es posible hipotizar que sean los mismos dos identificados en este estudio.

En el análisis del gen COI de 540 pb el haplotipo 1 (Figura 4), agrupa muestras obtenidas en todos los hallazgos entre 2016 y 2022. Este resultado, basado en la potencial diapausa que presentan los huevos de esta especie en ambiente de desecación, podría sugerir la presencia de una única población que se ha mantenido en el tiempo, no obstante, al tomar en cuenta otros factores, como la marcada temporalidad de los hallazgos, la hiperaridez y la casi nula pluviometría anual de la zona y la baja densidad poblacional, esta interpretación pierde sustento, pudiendo ser interpretada como una dinámica de fuente–sumidero, teoría que requeriría de un estudio ecológico específico. Arica y Parinacota es una región bifronteriza que mantiene una constante e importante interacción con sus países vecinos a través de la actividad comercial terrestre-marítima, manteniendo un elevado flujo de camiones que transitan con su carga desde y hacia el puerto marítimo de Arica con períodos de aparcamiento de varios días (Vicuña & Rojas 2015). Esta información territorial, sumada a los resultados filogenéticos y a las características biológicas del vector, particularmente a la resistencia de sus huevos a la sequía, nos indica que el escenario más probable sea que este vector, ha ingresado por migración pasiva, durante el periodo de estudio, desde la misma zona geográfica, específicamente Bolivia, evidenciando con esto que existe un reingreso sistemático de *Ae. aegypti* desde este país, hacia Arica, desde donde además provendría el primer hallazgo el año 2016.

El haplotipo 2, que incluye dos muestras de Arica del año 2019 (grupo C) (Figura 4), pertenecientes a un mismo punto de colecta en un sector de caseríos ubicado cerca de la desembocadura del Río Lluta. Estas muestras pertenecen al linaje 2, clado del grupo C, que reúne muestras de Asia, África y América (Argentina, Bolivia, Brasil, Perú, Puerto Rico, RapaNui, Uruguay, Venezuela), linaje que circula en Latinoamérica y en otras partes del mundo (Cadavid et al., 2015), resultado que muestra el ingreso desde otros países a esta región y, dado los datos epidemiológicos del constante ingreso de camiones por la ruta internacional demuestra el riesgo constante de múltiples ingresos de *Ae.*

*aegypti* a la región.

Para el grupo A, se identificaron 14 cambios de nucleótidos con transiciones C↔T y A↔G en la región del gen COI, los que produjeron 3 cambios en los aminoácidos en los condones M11I, M37I y I148M, si bien desconocemos el efecto que estas mutaciones podrían tener en la síntesis de proteínas, se puede inferir que podrían representar cambios estocásticos sin importancia en la adecuación biológica, así como también, podrían relacionarse por ejemplo, con la capacidad de desarrollo frente a cambios en las condiciones climáticas, hábitos de oviposición de las hembras y la resistencia a la desecación de sus huevos, todo ello puede llevar a cambios en las densidades y en la diversidad genética de las poblaciones, lo que afectaría su potencial para responder al control químico, a la infección por el virus y a su dispersión (Cadavid et al., 2015; Monsalve et al., 2021).

El análisis de COI y ND4 no permitió, por sí solo, diferenciar o separar poblaciones entre las muestras analizadas, dado que las 10 muestras de Arica ubicadas en el clado del grupo A presentan 100% de similitud genética para el segmento COI-ND4 (1089pb) analizado. Se han descrito diversas técnicas para evaluar la introducción y reintroducción de *Ae. aegypti*, dentro de las cuales se destaca el estudio de los genes COI y ND4 presentes en el ADN mitocondrial (Yoman et al., 2021) y recientemente se han descritos estudios mediante microsatélites en 12 locus (Gloria-Soria et al., 2016; Yoman et al., 2021) y el análisis de SNPs (single nucleotide polymorphisms) en el genoma del vector (Kotsakiosi et al., 2018). Una de las dificultades para utilizar estos dos últimos marcadores, radica en que no se dispone de información de comparación de resultados, dado que no existen bases de datos públicas para este tipo de datos, son técnicas de mayor valor y además que se requiere contar con un alto número de ejemplares. Los estudios genéticos en los genes COI y ND4 han permitido identificar polimorfismos en las secuencias nucleotídicas de *Ae. aegypti*, estudios en países de la región han descrito múltiples haplotipos (Paupy et al., 2012; Jaimes-Dueñez et al., 2015; Escobar et al., 2022). A esto, se suma la disponibilidad de secuencias nucleotídicas de *Ae. aegypti* de distintos países, en los bancos de datos (GenBank, BOLD y EMBL), información que facilita este tipo de estudios (Atencia et al., 2018). Sin embargo, hay que destacar que existen un bajo número de secuencias en las bases (GenBank, BOLD y EMBL) de países limítrofes como Bolivia y Perú, lo cual es fundamental para realizar el análisis filogenético comparativo de las secuencias nucleotídicas de dichos genes.

A partir de los resultados de este estudio se hace indispensable la permanencia de la vigilancia entomológica de *Ae. aegypti* realizada en la región de Arica y Parinacota, teniendo en cuenta las características de riesgo de reintroducciones sistemáticas desde Bolivia y otros países vecinos, la alta probabilidad de asentamiento de la población de este vector, la distribución histórica y las características comerciales de permanente tránsito desde países vecinos con un amplio historial de hallazgos de *Ae. aegypti*. Estos antecedentes, sumados a la reciente alerta sanitaria reportada por la Organización Panamericana de la Salud (OPS, 2024), en relación al aumento exponencial de casos de Dengue en América Latina y el Caribe, favorecida por la combinación del fenómeno El Niño y el cambio climático, es de suma importancia, para la salud pública de nuestro país, continuar realizando estudios relacionados a la biología y la genética de *Ae. aegypti* en esta región.

## Referencias

- Alaniz, A., Bacigalupo, A., & Cattán, P. (2017).** Zika: Probabilidad de establecimiento de su vector, *Aedes aegypti*, en Chile. *Revista chilena de infectología*, 34(6), 553-556.
- Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., & Lipman, D.J. (1990).** Basic local alignment search tool. *Journal of molecular biology*, 215(3), 403–410.
- Atencia, M., Pérez, M., Caldera, S., Jaramillo, M., & Bejarano, E. (2018).** Variabilidad genética de *Aedes aegypti* en el departamento de Sucre, Colombia, mediante el análisis de la secuencia de nucleótidos del gen mitocondrial ND4. *Biomédica Revista Nacional de Salud*. 38(2):267-76.
- Augier, L. M., Dantur Juri, M. J., & Molina, G. A. (2003).** Redescipción de la larva y la pupa de *Toxorhynchites (Lynchiella) guadeloupensis* (Diptera: Culicidae). *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 62(1-2), 99-106.
- Beovides, Y., Fregene, M., Alves, A., Gutiérrez, J., Buitrago, C., Marin, J., Milián, M., Rodríguez, S., Cruz, J., Ruiz, E., Guerra, D., Toledo, H., Roca, O., Albert, J., García, J., & Oliva, M. (2006).** Análisis de diversidad genética mediante microsatélites (SSR) en cultivares del germoplasma cubano de yuca. *Bioteología Vegetal*, 6 (1), 10-11.
- Brítez, S., Herrera, L., Ferreira, M. Rolón, L., Ruiz, V. & González-Brítez, N. (2022).** Diversidad genética de *Aedes aegypti* en el eje transfronterizo del alto centro Paraná en Paraguay. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 39(2), 170-177.
- Brown, J.E., Evans, B.R., Zheng, W., Obas, V., Barrera-Martinez, L., Egizi, A., Zhao, H., Caccone, A., & Powell, J.R. (2014).** Human impacts have shaped historical and recent evolution in *Aedes aegypti*, the dengue and yellow fever mosquito. *Evolution*, 68(2), 514–525
- Cáceres, C., Yung, V., Araya, P., Tognarelli, J., Villagra, E., Vera, L., & Fernández, J. (2008).**

Complete nucleotide sequence analysis of a Dengue-1 virus isolated on Easter Island, Chile. *Archives of virology*, 153(10), 1967–1970. <https://doi.org/10.1007/s00705-008-0200-0>.

**Cadavid, J.M., Rúa, G., Campo, O., Bedoya, G., & Rojas, W. (2015).** Cambios genéticos temporales y microgeográficos de *Aedes aegypti* en Medellín, Colombia. *Biomédica*, 35(1), 53-61. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v35i1.2343>

**Caldera, S., Jaramillo, M., Cochero, S., Pérez-Doria, A., & Bejarano E. (2013).** Diferencias genéticas entre poblaciones de *Aedes aegypti* de municipios del norte de Colombia, con baja y alta incidencia de dengue. *Biomédica Revista del Instituto Nacional de Salud*,33(Sup1), 89-8.

**Canals, M., González, C.R., Canals, A., & Figueroa, D. (2012).** Dinámica epidemiológica del dengue en Isla de Pascua. *Revista Chilena de Infectología*, 29 (4), 388–394.

**Carbajo, A.E., Cardo, M.V., & Vezzani, D. (2019).** Past, present and future of *Aedes aegypti* in its South American southern distribution fringe: What do temperature and population tell us?. *Acta tropica*, 190, 149–156. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.11.017>

**Carey, D.E. (1971).** Chikungunya and dengue: a case of mistaken identity?. *Journal of the history of medicine and allied sciences*, 26 (3), 243–262.

**Carrozza, M., Rubio-Palis, Y., & Herrera, F. (2016).** Estructura genética del *Aedes aegypti* latinoamericano. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental* , 56 (1), 53-62.

**Foster, P.G., de Oliveira, T.M. P., Bergo, E.S., Conn, J.E., Sant'Ana, D.C., Nagaki, S.S., Nihei, S., Lamas, C.E., González, C.R., Moreira, C.C., & Sallum, M.A.M. (2017).** Phylogeny of Anophelinae using mitochondrial protein coding genes. *Royal Society open science*, 4(11), 170758.

**Foster, W.A & ED Walker. (2019).** Mosquitoes (Culicidae). *Medical and Veterinary Entomology*. Cap. 15, pp. 261-325

**Gloria-Soria, A., Ayala, D., Bheecarry, A. , Calderon-Arguedas, O., Chadee, D.D., Chiappero, M., Coetzee, M., Elahee, K.B., Fernandez-Salas, I., Kamal , H.A., Kamgang, B., Khater, E.I., Kramer, L.D., Kramer, V., Lopez-Solis, A., Lutomiah, J., Martins, A., Jr, Micieli, M.V., Paupy, C., Ponlawat, A., & Powell, J.R. (2016).** Global genetic diversity of *Aedes aegypti*. *Molecular ecology*, 25 (21), 5377–5395.

**González, C.R., Henry, A., Reyes, C., Aylwin, M.P., Escobar, D., Fernández, J. & Saldarriaga-Córdoba, M. (2016).** Reintroduction of the invasive mosquito *Aedes aegypti* (Linnaeus) (Diptera: Culicidae) in northern Chile. *IDESIA Chile*, 34 (4), 49–53.

**Guagliardo, S. A., Barboza, J. L., Morrison, A. C., Astete, H., Vazquez-Prokopec, G., & Kitron, U. (2014).** Patterns of geographic expansion of *Aedes aegypti* in the Peruvian Amazon. *PLoS neglected tropical diseases*, 8(8), e3033. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003033>

**Gutaker, R.M., Reiter, E., Furtwängler, A., Schuenemann, V.J., & Burbano, H.A. (2017).** Extraction of ultrashort DNA molecules from herbarium specimens. *BioTechniques*, 62(2), 76–79.

<https://doi.org/10.2144/000114517>

**Guzmán, M.G., & Harris, E. (2015).** Dengue. *Lancet* (London, England), 385 (9966), 453–465.

**Hall, T., A. (1999).** BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*. 41:95-98.

**Harbach, R.E., Culverwell, C.L., & Kitching, I.J. (2016).** Phylogeny of the nominotypical subgenus of *Culex* (Diptera: Culicidae): Insights from analyses of anatomical data into interspecific relationships and species groups in an unresolved tree. *Systematics and Biodiversity*, 15(4), 1–11.

**Hosseini, S., Oliva-Ramírez, J., Vázquez-Villegas, P., Rodríguez-García, A., Muñoz-Soto, R.B., Aghamohammadi, N., & Martínez-Chapa, S.O. (2018).** Dengue Fever: A Worldwide Threat An Overview of the Infection Process, Environmental Factors for a Global Outbreak, Diagnostic Platforms and Vaccine Developments. *Current topics in medicinal chemistry*, 18(18), 1531–1549.

**Iwamura, T., Guzman-Holst, A., & Murray, K.A. (2020).** Accelerating invasion potential of disease vector *Aedes aegypti* under climate change. *Nature communications*, 11 (1), 2130.

**Jaimes-Dueñez, J., Arboleda, S., Triana-Chávez, O., & Gómez-Palacio, A. (2015).** Spatio-temporal distribution of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) mitochondrial lineages in cities with distinct dengue incidence rates suggests complex population dynamics of the dengue vector in Colombia. *PLoS neglected tropical diseases*, 9(4), e0003553.

**Korlevic, P., McAlister, E., Mayho, M., Makunin, A., Flicek, P., & Lawniczak, M. (2021).** A Minimally Morphologically Destructive Approach for DNA Retrieval and Whole-Genome Shotgun Sequencing of Pinned Historic Dipteran Vector Species. *Genome Biology and Evolution*. 13(10), evab226

**Kotsakiozi, P., Gloria-Soria, A., Schaffner, F., Robert, V. & Powel, J. (2018).** *Aedes aegypti* in the Black Sea: recent introduction or ancient remnant?. *Parasites & vectors*, 11, 396.

**Kularatne, S.A., & Dalugama, C. (2022).** Dengue infection: Global importance, immunopathology and management. *Clinical medicine* (London, England), 22(1), 9–13. <https://doi.org/10.7861/clinmed.2021-0791>

**Laporta, G. Z., Potter, A. M., Oliveira, J. F. A., Bourke, B. P., Pecor, D. B., & Linton, Y. M. (2023).** Global Distribution of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in a Climate Change Scenario of Regional Rivalry. *Insects*, 14(1), 49. <https://doi.org/10.3390/insects14010049>

**Lounibos, L.P. (1981).** Habitat segregation among African treehole mosquitoes. *Ecological Entomology*, 6, 129–154.

**Lounibos, L.P. (2002).** Invasions by insect vectors of human disease. *Annual review of entomology*, 47, 233–266. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.47.091201.145206>

**Luebert, F. & Plischoff, P. (2006).** Sinopsis bioclimática y vegetacional de Chile. Editorial

Universitaria. 316pp.

**Lwande, O.W., Obanda, V., Lindström, A., Ahlm, C., Evander, M., Näslund, J., & Bucht, G. (2020).** Globe-Trotting *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*: Risk Factors for Arbovirus Pandemics. *Vector borne and zoonotic diseases*, 20(2), 71–81 · <https://doi.org/10.1089/vbz.2019.2486>

**Martin, J. L., Lippi, C. A., Stewart-Ibarra, A. M., Ayala, E. B., Mordecai, E. A., Sippy, R., Heras, F. H., Blackburn, J. K., & Ryan, S. J. (2021).** Household and climate factors influence *Aedes aegypti* presence in the arid city of Huaquillas, Ecuador. *PLoS neglected tropical diseases*, 15(11), e0009931. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009931>

**Martinez de Cuellar, C. (2021).** Dengue, una historia inacaba. *Pediatría (Asunción)*, 48(2), 92-94. <https://doi.org/10.31698/ped.48022021001>

**Medlock, J.M., Hansford, K.M., Versteirt, V., Cull, B., Kampen, H., Fontenille, D., Hendrickx, G., Zeller, H., Van Bortel, W., & Schaffner, F. (2015).** An entomological review of invasive mosquitoes in Europe. *Bulletin of entomological research*, 105(6), 637–663. <https://doi.org/10.1017/S0007485315000103>

**Neghme, A., Albi, H., & Gutiérrez, J. (1953).** Campaña de erradicación del *Aedes aegypti* en Chile. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, 34 (3), 205-20

**Olea, P. (2003).** Primer caso de dengue autóctono atendido en el Hospital de Enfermedades Infecciosas Dr. Lucio Cordova. *Revista Chilena de Infectología*, 20 (2), 129–132.

**OPS. (2024).** Alerta Epidemiológica Aumento de casos de dengue en la Región de las Américas - 16 de febrero del 2024.

**Pérez Benítez, María Obdulia. (2018).** Papel de los mosquitos del género *Aedes* en la transmisión de patógenos. *Revista Archivo Médico de Camagüey*, 22(5), 634-639.

**Powell, J.R. (2018).** Mosquito-Borne Human Viral Diseases: Why *Aedes aegypti*?. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 98(6), 1563–1565. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.17-0866>

**Powell, J.R., Gloria-Soria, A., & Kotsakiozi, P. (2018).** Recent History of *Aedes aegypti*: Vector Genomics and Epidemiology Records. *Bioscience*, 68(11), 854–860. <https://doi.org/10.1093/biosci/biy119>

**Prosser, S.W.J., deWaard, J.R., Miller, S.E. & Hebert, P.D.N. (2016).** DNA barcodes from century-old type specimens using next-generation sequencing. *Molecular ecology resources*, 16(2), 487-497. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12474>

**Rey, J.R. & Lounibos, P. (2015).** Ecología de *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* en América y transmisión de enfermedades. *Biomédica*, 35 (2), 177-185.

**Reyes-Cadenga A. (2020).** Vacuna Dengue. *Acta Pedriatica México*. Marzo-abril; 41(2) 99-104.

**Ribeiro, J.M.C. (2000).** Blood-feeding in mosquitoes: Probing time and salivary gland anti-haemostatic activities in representatives of three genera (*Aedes*, *Anopheles*, *Culex*). *Medical and Veterinary Entomology*, 14(2), 142–148. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2915.2000.00227.x>

**Rossi, G., C., Lestani, E., A., & D'Oria, J. M. (2006).** Nuevos registros y distribución de mosquitos de la Argentina (Diptera: Culicidae). *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 65(3-4), 51-56.

**Roy, S.K., & Bhattacharjee, S. (2021).** Dengue virus: epidemiology, biology, and disease etiology. *Canadian journal of microbiology*, 67(10), 687–702.

**Rubio, A., Cardo, M.V., Vezzani, D., & Carbajo, A.E. (2020).** *Aedes aegypti* spreading in South America: new coldest and southernmost records. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 115, e190496. <https://doi.org/10.1590/0074-02760190496>

**Savage, H.M. & Strickman, D. 2004.** The genus and subgenus categories within Culicidae and placement of *Ochlerotatus* as a subgenus of *Aedes*. *Journal of American Mosquito Control Association*, 20: 208-214

**Salles, T.S., da Encarnação Sá-Guimarães, T., de Alvarenga, E. S. L., Guimarães-Ribeiro, V., de Meneses, M. D. F., de Castro-Salles, P. F., Dos Santos, C. R., do Amaral Melo, A. C., Soares, M. R., Ferreira, D. F., & Moreira, M. F. (2018).** History, epidemiology and diagnostics of dengue in the American and Brazilian contexts: a review. *Parasites & vectors*, 11(1), 264. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2830-8>

**San Martín, J.L., Brathwaite, O., Zambrano, B., Solórzano, J. O., Bouckenooghe, A., Dayan, G. H., & Guzmán, M. G. (2010).** The epidemiology of dengue in the Americas over the last three decades: a worrisome reality. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 82(1), 128–135. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2010.09-0346>

**Santos, D., Ribeiro, G., Cabral, A., & Sperança, M. (2018).** A non-destructive enzymatic method to extract DNA from arthropod specimens: Implications for morphological and molecular studies. *PLoS One*, 13(2), e0192200. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192200>

**Schaffner, F., & Mathis, A. (2014).** Dengue and dengue vectors in the WHO European region: past, present, and scenarios for the future. *The Lancet. Infectious diseases*, 14(12), 1271–1280. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)70834-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70834-5)

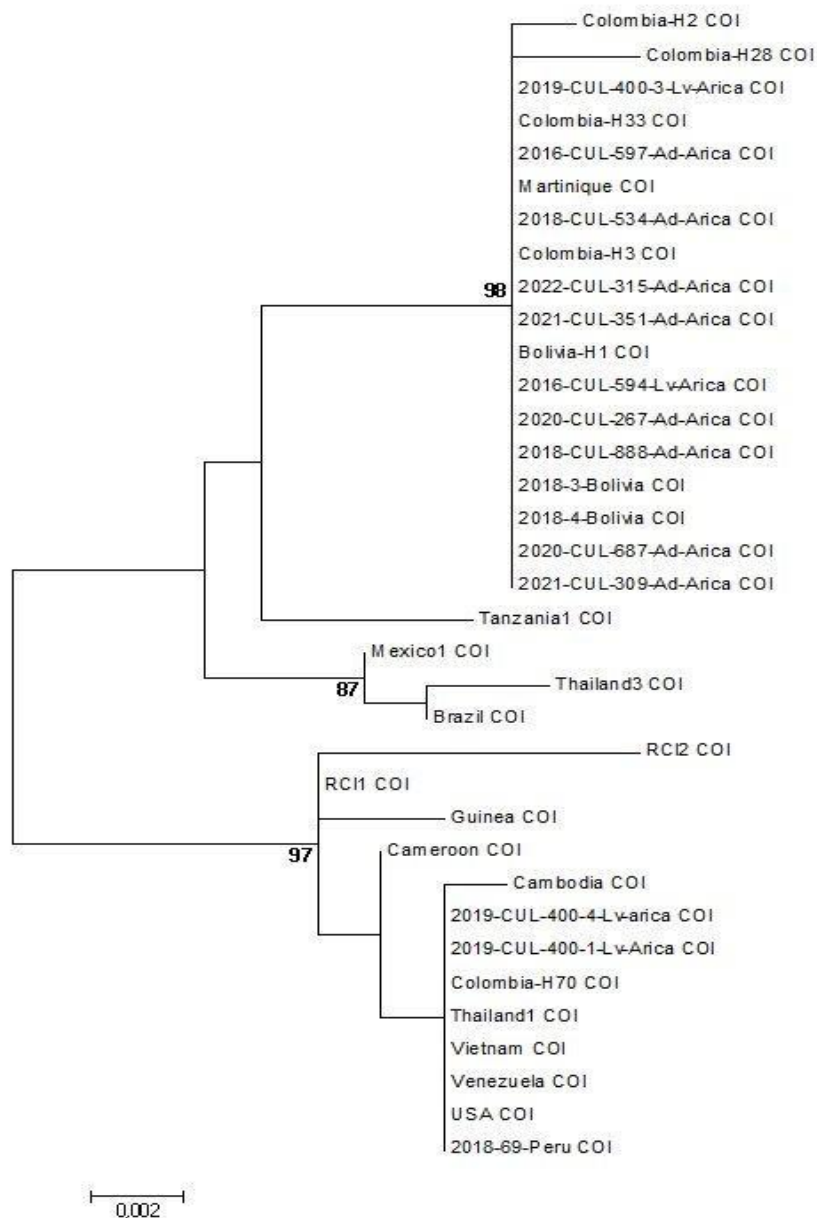
**Seixas, G., Salgueiro, P., Clara Silva, A., Campos, M., Spenassatto, C., Reyes-Lugo, M., Novo, M., Ribolla, P., Pinto, J., & Sousa, C. (2013).** *Aedes aegypti* on Madeira Island (Portugal): genetic variation of a recently introduced dengue vector. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 108 (Suppl. I), 3-10. <https://doi.org/10.1590/0074-0276130386>

**Seixas, G., Salgueiro, P., Bronzato-Badial, A., Gonçalves, Y., Reyes-Lugo M., Gordicho, V., Ribolla, P., Viveiros, B., Silva, A., Pinto, J., & Sousa, C. (2019).** Origin and expansion of the mosquito *Aedes aegypti* in Madeira Island (Portugal). *Scientifics Report*, 9, 2241. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-38373-x>

- Souza-Neto, J.A., Powell, J.R., & Bonizzoni, M. (2019).** *Aedes aegypti* vector competence studies: A review. Infection, genetics and evolution, 67, 191–209. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.11.009>
- Suesdek, L. (2019).** Microevolution of medically important mosquitoes. Acta Tropica. 191, 162-171pp. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.12.013>.
- Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021).** MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. Molecular Biology & Evolution, 38(7), 3022-3027. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
- Trammell, C.E., Goodman, A.G. (2021).** Host Factors That Control Mosquito-Borne Viral Infections in Humans and Their Vector. Viruses, 13, 748. <https://doi.org/10.3390/v13050748>
- Vicuña, J., & Rojas, T. 2015.** Migración en Arica y Parinacota: Panoramas y tendencias de una región fronteriza. Ediciones Universidad Alberto Hurtado. 224pp.
- Walker, K. R., Joy, T. K., Eilers-Kirk, C., & Ramberg, F. B. (2011).** Human and environmental factors affecting *Aedes aegypti* distribution in an arid urban environment. Journal of the American Mosquito Control Association, 27(2), 135-141.
- Wilder-Smith, A., Ooi, E. E., Horstick, O., & Wills, B. (2019).** Dengue. Lancet (London, England), 393(10169), 350–363.
- Wilkerson, R., Linton, Y-M, & Strickman D. (2021).** Mosquitoes of the World. Johns Hopkins University Press. Vol 1. 1308 pp.
- Wood, D.M. & Borkent, A. (1989).** Phylogeny and classification of the Nematocera (Chapter) 114, pp. 1333–1370. In: Manual of Nearctic Diptera, Volume 3.
- Wu, P., Yu, X., Wang, P., Cheng, G. (2019).** Arbovirus lifecycle in mosquito: acquisition, propagation and transmission. Expert Reviews in Molecular Medicine.;21:e1. doi:10.1017/erm.2018.6
- Yáñez, P., Mamani, E., Valle, J., García, MP., León, W., Villaseca, P., Torres, D., Cabezas, C. (2013).** Variabilidad genética del *Aedes aegypti* determinada mediante el análisis del gen mitocondrial Nd4 en once áreas endémicas para dengue en el Perú. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica, 30(2), 246-250.

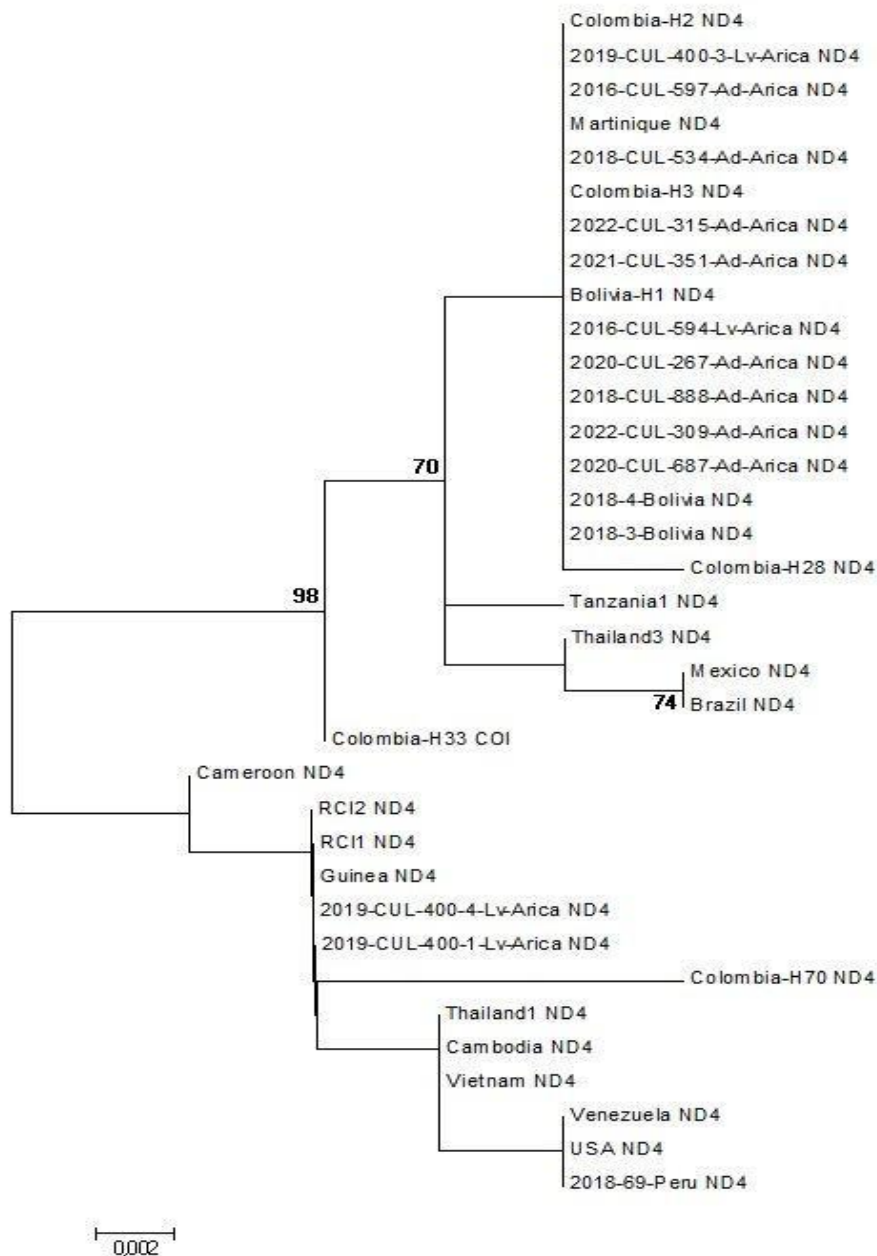
## Anexos

### Anexo 1



Anexo 1. Análisis filogenético de una región de 761 pb del gen COI, mediante el método de máxima verosimilitud, se infirió utilizando el método de Máxima Verosimilitud basado en el modelo de 3 parámetros de Tamura. Los árboles iniciales para la búsqueda heurística se obtuvieron automáticamente aplicando los algoritmos Neighbor-Join y BioNJ a una matriz de distancias por pares estimadas utilizando el enfoque de Máxima Verosimilitud Compuesta (MCL), y luego seleccionando la topología con un valor de probabilidad logarítmica superior. Se utilizó una distribución Gamma discreta para modelar las diferencias de tasas evolutivas entre sitios (5 categorías (+G, parámetro = 0,1000)). El árbol está dibujado a escala y las longitudes de las ramas se miden en función del número de sustituciones por sitio. Los análisis evolutivos se realizaron en MEGA6.

## Anexo 2



Anexo 2. Análisis filogenético de una región de 328 pb del gen ND4, utilizando el método de máxima verosimilitud, fue inferido utilizando el método de Máxima Verosimilitud basado en el modelo Hasegawa-Kishino-Yano. Los árboles iniciales para la búsqueda heurística se obtuvieron automáticamente aplicando los algoritmos Neighbor-Join y BioNJ a una matriz de distancias estimadas por pares, utilizando el enfoque de Máxima Verosimilitud Compuesta (MCL), y luego seleccionando la topología con un valor de probabilidad logarítmica superior. Se utilizó una distribución Gamma discreta para modelar las diferencias de tasas evolutivas entre sitios (5 categorías (+G, parámetro = 0,1000)). El árbol está dibujado a escala y las longitudes de las ramas se miden en función del número de sustituciones por sitio. Los análisis evolutivos se realizaron en MEGA6.

### Anexo 3

Tabla 4a. Sitios variables de nucleótidos en haplotipos identificados en un segmento de 763 nucleótidos del gen mitocondrial COI de *Aedes aegypti*.

	Posiciones													
H	33	99	102	111	183	195	216	345	366	444	495	501	525	712
H1	G	T	C	G	A	A	T	G	C	A	G	C	C	T
H2	A	C	T	A	G	G	C	A	T	G	A	T	T	C

Tabla 4b. Sitios variables de nucleótidos en haplotipos identificados en un segmento de 320 pb nucleótidos del gen mitocondrial ND4 de *Aedes aegypti*.

	Posiciones									
H	12	18	69	129	138	186	231	264	273	309
H1	C	C	C	T	C	C	C	G	C	T
H2	T	T	T	C	T	T	T	A	T	Y