Journal of Insect Science, 2026, 26(5), ieag110
DOI: https://doi.org/10.1093/jisesa/ieag110
Research

Diversidad genética y presencia de mutaciones asociadas a la resistencia a la permetrina en una población de piojos de la cabeza (*Pediculus humanus capitis*)

*Julia Rivero, Antonio Zurita, Cristina Cutillas, Angela M. García-Sánchez y Rocío Callejón**

Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla, Sevilla, España

*Autor para correspondencia. Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla, C/ Profesor García González 2, 41012 Sevilla, España (correo electrónico: agarcia77@us.es).

Editor de sección: Jeffrey Davis

Los piojos humanos de la cabeza (*Pediculus humanus capitis* De Geer, 1767) continúan siendo un problema de salud pública, debido principalmente a su amplia resistencia a los pediculicidas utilizados habitualmente. En este estudio se evaluaron la diversidad genética y la resistencia a la permetrina en piojos de la cabeza recogidos de personas en Sevilla, España.

Se recogieron un total de 402 piojos, de los cuales se seleccionaron 27 ejemplares para realizar análisis morfológicos, moleculares y filogenéticos detallados. La caracterización molecular basada en marcadores mitocondriales (*cox1*, *cob* y 12S) reveló un patrón específico de diversidad genética, identificándose dos clados distintos (A y B), con una baja similitud de secuencia entre ellos y predominio del clado B en la población muestreada.

Los análisis de morfometría geométrica revelaron diferencias significativas en el tamaño global entre los clados A y B, siendo los piojos del clado B los ejemplares de mayor tamaño. Todos los piojos analizados presentaban tres mutaciones (M815I, T917I y L920F) en el gen del canal de sodio sensible al voltaje (VSSC), lo que indica la fijación de alelos asociados a la resistencia a la permetrina.

Estos resultados proporcionan evidencias preliminares de la presencia de mutaciones asociadas a la resistencia a la permetrina en los piojos de la cabeza de Sevilla y ponen de manifiesto la necesidad de realizar estudios de mayor tamaño para determinar su frecuencia y relevancia epidemiológica. Además, este estudio representa la primera caracterización molecular de los piojos de la cabeza en esta región y respalda el uso

combinado de enfoques morfométricos y moleculares para comprender mejor la diversidad y los patrones de resistencia de los piojos.

Palabras clave: piojos de la cabeza, *Pediculus humanus capitis*, resistencia a insecticidas, permetrina.

Introducción

Pediculus humanus, conocido comúnmente como piojo humano, comprende dos ecotipos de una única especie y ha constituido durante mucho tiempo un importante problema de salud pública: el piojo del cuerpo (*P. humanus humanus*), que reside en la ropa e infesta principalmente a personas en condiciones de pobreza y con higiene inadecuada, mientras que el piojo de la cabeza (*P. humanus capitis*) vive en el cuero cabelludo y se encuentra en todo el mundo, independientemente de los niveles de higiene (Light et al. 2008a, Weisbroth 2024). Ambos ecotipos son ectoparásitos hematófagos obligados que han mantenido una estrecha asociación evolutiva con los seres humanos durante millones de años (Reed et al. 2004).

La infestación humana por estos piojos causa pediculosis, caracterizada por síntomas como picor intenso (prurito), erupciones cutáneas (urticaria) y, en raras ocasiones, anemia (Ouarti et al. 2023).

Existen diversas opciones terapéuticas para la pediculosis de la cabeza, incluidos productos insecticidas (p. ej., permetrina e ivermectina), productos de acción física (p. ej., dimeticona) y la eliminación mecánica mediante peinado en húmedo. Las recomendaciones terapéuticas actuales varían entre países y deben tener en cuenta los patrones locales de resistencia a los insecticidas (Meister y Ochsendorf 2016, Leung et al. 2022).

La resistencia a la permetrina, denominada resistencia al derribo (*knockdown resistance*, kdr), está causada por tres mutaciones puntuales en el gen que codifica la subunidad α del canal de sodio, responsable de la despolarización de las células nerviosas (Dong 2007). Esta resistencia da lugar a las sustituciones de aminoácidos M815I, T917I y L920F en la subunidad α del canal de sodio sensible al voltaje (VSSC), ortóloga de *para* (Lee et al. 2003). Diversos autores han informado de que estas mutaciones suelen aparecer conjuntamente como un haplotipo resistente (Clark 2010).

Un metaanálisis reciente estimó que la prevalencia mundial de resistencia a los piretroides en los piojos de la cabeza era del 59 %, mientras que la resistencia a la permetrina alcanzaba el 65 % (Abbasi et al. 2023). Se han comunicado frecuencias elevadas de resistencia en numerosos países, especialmente en regiones donde la permetrina se ha utilizado ampliamente durante varias décadas.

Asimismo, se han realizado diversos estudios filogenéticos de los piojos humanos utilizando ADN mitocondrial, centrados principalmente en los genes 12S, *cob* y *cox1*. Estos estudios han revelado que *P. humanus* se divide en seis subclados, o haplogrupos, cada uno con una distribución geográfica característica (A–F). Los piojos de la cabeza, a diferencia de los piojos del cuerpo, que están confinados a los clados A y D, incluyen toda la gama de clados genéticamente diversos (Ashfaq et al. 2015, Amanzougaghene et al. 2016, 2017, 2019, Hammoud et al. 2021). A pesar de la diversificación de los clados y de su distribución geográfica, los ecotipos de *P. humanus* son morfológica y biológicamente casi idénticos (Light et al. 2008b).

Comprender la diversidad genética y la resistencia a insecticidas de *P. humanus* es fundamental para mejorar el manejo de la pediculosis en todo el mundo. La caracterización molecular de las poblaciones de piojos proporciona información valiosa sobre la estructura de las poblaciones, los patrones de propagación y la aparición de resistencia, apoyando así los programas de vigilancia y el desarrollo de recomendaciones terapéuticas eficaces.

El objetivo de este estudio fue caracterizar la diversidad genética de las poblaciones de piojos de la cabeza de Sevilla, España, y evaluar la prevalencia de mutaciones asociadas a la resistencia a la permetrina.

Materiales y métodos

Recogida de muestras

Entre octubre y noviembre de 2023 se recogieron un total de 402 piojos de la cabeza de 22 personas que acudían a centros especializados en eliminación de piojos en Sevilla, España. La población estudiada estaba formada por 19 mujeres y 3 hombres, con edades comprendidas desde niños hasta adultos, siendo los niños la mayoría de los participantes.

El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité de Ética en la Investigación de la Universidad de Sevilla (SICEIA ID: 2026-0800). Antes de la recogida de muestras se obtuvo el consentimiento informado por escrito de todos los participantes adultos o de los padres o tutores legales de los menores. Se registró información epidemiológica, incluida la edad, el color del cabello, la frecuencia de lavado del cabello y el uso previo de productos pediculicidas, mediante un cuestionario estandarizado.

El número de piojos recogidos varió entre las personas examinadas. Además de los piojos adultos recogidos, también se identificaron ninfas en distintas fases de desarrollo. Los piojos de la cabeza recogidos se almacenaron individualmente en tubos Eppendorf, uno por piojo, sin conservantes, y se congelaron a −20 °C hasta su posterior análisis.

Para los análisis, se recogieron piojos de cada hospedador con la intención de obtener un macho y una hembra por persona. Sin embargo, esto no siempre fue posible, ya que

algunos hospedadores albergaban un único piojo o ejemplares del mismo sexo, dando lugar a un total de 27 piojos (14 machos y 13 hembras). Primero se realizaron análisis morfológicos y biométricos de los ejemplares, seguidos de estudios moleculares.

Análisis morfológico y morfométrico

Para el análisis morfológico, los ejemplares completos se examinaron al microscopio óptico para su clasificación específica y se montaron en portaobjetos con solución salina. Los piojos montados se examinaron nuevamente para realizar un análisis morfológico más detallado utilizando un microscopio BX61 (Olympus, Tokio, Japón), y se sometieron a procesos de captura de imágenes mediante el software de adquisición de imágenes cellSens Standard versión 4.2 (Olympus, Tokio, Japón).

Las imágenes de medición de cada piojo se obtuvieron utilizando el software de análisis de imágenes Image-PRO v11 (Media Cybernetics, Rockville, MD, EE. UU.). Se determinaron estadísticas descriptivas univariantes (medias aritméticas, desviaciones estándar y coeficientes de variación) para todos los parámetros. Los datos se sometieron a un ANOVA de una vía (análisis de la varianza) para el análisis estadístico de los parámetros. Los resultados se consideraron estadísticamente significativos cuando $P < 0,05$. El análisis estadístico se realizó utilizando Microsoft Excel 365. Además, se compararon las características biométricas de los piojos y los parámetros más significativos se utilizaron para el estudio morfométrico.

Los datos morfométricos se exploraron mediante análisis multivariante en tres mediciones (Área global, anchura de la tibia y longitud de la garra tarsal) mediante análisis de componentes principales (PCA), una técnica destinada a resumir la mayor parte de la variación de un conjunto de datos multivariante en unas pocas dimensiones (Rohlf y Marcus 1993, Dujardin y Le Pont 2004). Los análisis se realizaron utilizando BAC v.2 (Dujardin 2002).

En cuanto a las mediciones de las patas del piojo, se seleccionó el primer par de patas, concretamente la pata delantera derecha, porque sus articulaciones eran claramente identificables y generalmente estaba mejor posicionada en los ejemplares montados para la fotografía, lo que facilitaba la estandarización de las imágenes para el análisis morfométrico geométrico.

Extracción de ADN

Para el análisis molecular, antes de la extracción del ADN, cada piojo se descongeló y se homogeneizó individualmente utilizando un TissueLyser III (Qiagen, Hilden, Alemania) para garantizar la completa disgregación de los tejidos. El ADN genómico total se aisló utilizando el kit DNeasy Blood and Tissue Kit (Qiagen), siguiendo las instrucciones del fabricante. La calidad del ADN extraído se evaluó mediante electroforesis en gel de agarosa al 0,8 %, teñido con SYBR Safe.

Identificación del piojo mediante ensayos de PCR y secuenciación

Los marcadores moleculares utilizados fueron *cox1*, *cob* y 12S de ADN mitocondrial. Se amplificaron mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizando un termociclador (Eppendorf AG, Hamburgo, Alemania).

El volumen final de reacción utilizado para el análisis por PCR fue de 50 µl, incluidos 25 µl de GoTaq G2 Green Master Mix (Promega, Madison, WI, EE. UU.), 5 µl de cada cebador (10 µM), 5 µl de ADN molde y agua sin nucleasas hasta completar 50 µl. La información detallada sobre los cebadores utilizados se encuentra en la Tabla 1.

Para *cox1*, *cob* y 12S, el perfil de ciclos térmicos incluyó una etapa inicial de incubación a 94 °C, 35 ciclos de 1 min a 94 °C, 30 s a 55–56 °C y 1 min a 72 °C, seguidos de una etapa final de extensión de 5 min a 72 °C (Raoult et al. 2008, Amanzougaghene et al. 2019).

Tabla 1. Cebadores utilizados para amplificar regiones de ADN

Marcador molecular	Cebador	Secuencia (5′ a 3′)	Tamaño (pares de bases)	Referencia
cox1	cox1F	5′GGAGTGAGTTCGATTTTAG3′	286	Amanzougaghene et al. 2019
cox1	cox1R	5′GTGCTGAGGAAAGAAAGTC3′		
Cob	cytbF1	5′GAGCGACTGTAATTACTAATC3′	272	Raoult et al. 2008
Cob	cytbR1	5′CAACAAAATTATCCGGGTCC3′		
12S	12SF	5′CAGCACTAGCGGTCATACAT3′	566	Amanzougaghene et al. 2019
12S	12SR	5′AATGACGGGCGATATGTAC3′		
Gen de la subunidad α del VSSC	5HL-QS	5′ATTTTGCGTTTGGGACTGCTGTT3′	752	Kwon et al. 2008
Gen de la subunidad α del VSSC	3HL-QS	5′CCATCTGGGAAGTTCTTTATCCA3′		

Análisis molecular y filogenético

Para ensamblar y editar las secuencias, las lecturas directa e inversa se analizaron mediante Multiple Sequence Alignment utilizando CLUSTALW, generándose una secuencia consenso para cada ejemplar. Las secuencias resultantes se compararon con las disponibles en la base de datos GenBank del National Center for Biotechnology Information (NCBI) mediante el algoritmo BLASTn para la identificación de especies. Todas las secuencias obtenidas se enviaron posteriormente a la base de datos GenBank del NCBI.

Para evaluar la diversidad de clados en los piojos humanos, las secuencias de piojos de la cabeza obtenidas para todos los marcadores moleculares de este estudio (*cox1*, *cob* y 12S) se combinaron y compararon con secuencias de *P. humanus* de todo el mundo procedentes de estudios anteriores y obtenidas de la base de datos GenBank (Archivo suplementario 1: Tabla S1).

Además, para analizar la similitud entre todas las secuencias de marcadores de *P. humanus* obtenidas en este estudio y las de otras especies de *Pediculus*, las diferencias de nucleótidos por secuencia se analizaron mediante la función Compute Pairwise Distances, utilizando el método del número de diferencias en MEGA X v10.1.8 (Kumar et al. 2018).

Los árboles filogenéticos se infirieron utilizando datos de nucleótidos mediante dos métodos: máxima verosimilitud (ML) e inferencia bayesiana (BI). Los árboles ML se generaron mediante el paquete PHYML (Guindon y Gascuel 2003), mientras que los árboles BI se produjeron con MrBayes v.3.2.6 (Ronquist y Huelsenbeck 2003). El mejor modelo de sustitución para el conjunto de datos se determinó mediante jModelTest (Posada 2008), de acuerdo con el criterio de información de Akaike (AIC) (Huelsenbeck y Rannala 1997, Posada y Buckley 2004).

Para los análisis que implicaron la concatenación de tres marcadores mitocondriales (*cox1*, *cob* y 12S), los números de acceso de las secuencias utilizados para la reconstrucción del árbol filogenético se indican en el Archivo suplementario 1: Tabla S1. Los análisis BI se dividieron por gen, con modelos para cada gen seleccionados mediante jModelTest. Las inferencias ML emplearon el modelo GTR+G+I (modelo generalizado de reversibilidad temporal con variación de la tasa distribuida gamma y una proporción de sitios invariantes) para todos los marcadores. El apoyo a la topología se evaluó mediante *bootstrap* (opción heurística) con 1000 réplicas (Felsenstein 1985).

Todos los marcadores se analizaron mediante MrBayes (v.3.2.6). Los análisis BI utilizaron nst = 6 con tasas invgamma. La desviación estándar de las frecuencias de división se monitorizó para confirmar la convergencia, con cadenas muestreadas cada 500 generaciones durante un total de 10 millones de generaciones. Se descartaron las primeras 1.000.000 de generaciones como *burn-in*, basándose en las evaluaciones de

verosimilitud logarítmica. Las probabilidades posteriores bayesianas (BPP) se calcularon y convirtieron en porcentajes para el apoyo de los clados.

Análisis de la resistencia

Para analizar la resistencia de los piojos a la permetrina se utilizó el gen parcial de la subunidad α del VSSC. La información detallada sobre los cebadores utilizados se encuentra en la Tabla 1.

Para amplificar este gen parcial, el perfil de ciclos térmicos comprendió una etapa de incubación a 95 °C, 35 ciclos de 30 s a 95 °C, 30 s a 63 °C y 1 min 30 s a 68 °C, seguidos de una extensión final de 5 min a 68 °C (Kwon et al. 2008).

Los productos de PCR se analizaron en geles de agarosa al 2 %, preparados con tampón Tris-Borato-EDTA (TBE) y teñidos con SYBR Safe. Los productos amplificados se purificaron utilizando el Wizard SV Gel and PCR Clean-Up System Kit (Promega, Madison, WI, EE. UU.). Posteriormente se siguió el mismo procedimiento de secuenciación y análisis descrito anteriormente para los marcadores mitocondriales hasta obtener las secuencias y compararlas con las disponibles en las bases de datos GenBank.

Resultados

Análisis morfométrico

Las pruebas estadísticas mostraron varias mediciones significativas para los análisis morfométricos posteriores. Por tanto, se utilizaron los siguientes parámetros: Área global, anchura de la tibia y longitud de la garra tarsal (Tabla 2; Fig. 1). El Área global se definió como el área de todo el artrópodo (cabeza, tórax y abdomen), excluidas las patas.

Tras la identificación morfológica y molecular, se obtuvieron dos grupos distintos: 9 ejemplares del clado A (cuatro machos y cinco hembras) y 18 ejemplares del clado B (diez machos y ocho hembras), que se midieron según 17 parámetros diferentes (Tabla 2).

Además, solo un hospedador presentó una infestación mixta, con dos piojos recogidos del mismo individuo: una hembra perteneciente al clado A y un macho perteneciente al clado B. En todos los demás hospedadores, todos los piojos recogidos pertenecían al mismo clado mitocondrial, A o B.

En conjunto, los datos morfométricos revelaron diferencias entre los ejemplares de ambos clados, ya que las mediciones corporales globales y específicas, como el área y la

longitud del abdomen, tendían a mostrar valores superiores en los individuos del clado B, como evidencian los valores medios indicados en la Tabla 2.

Además, estos resultados se compararon con los obtenidos mediante PCA, consistente en la regresión de cada carácter por separado sobre el primer componente principal (PC1) dentro de cada grupo, que constituye una estimación multivariante del tamaño. El PCA realizado con las variables de *P. humanus* adultos machos y hembras de los clados A y B mostró una correlación significativa con PC1, que contribuyó en un 86 % a la variación global.

Los mapas resultantes (Fig. 2) ilustran claramente las diferencias de tamaño global entre las poblaciones analizadas, incluido un mayor tamaño en las hembras de *P. humanus* del clado B.

En el mapa factorial pueden observarse dos áreas distintas: los machos se sitúan a la izquierda y las hembras a la derecha, lo que concuerda con el hecho de que las hembras de estos insectos presentan características morfológicas de mayor tamaño que los machos. Concretamente, las hembras del clado B son los ejemplares de mayor tamaño de todos los estudiados.

Cada comunidad posee su propia identidad morfológica, respaldada por el hecho de que las áreas están bien definidas y existe una ausencia de grandes regiones de solapamiento.

Análisis molecular y filogenético

Para el análisis molecular, se amplificaron y secuenciaron secuencias parciales de los genes mitocondriales *cox1*, *cob* y 12S de 27 individuos. Todos los datos de secuencias de nucleótidos generados en este estudio se han depositado en las bases de datos GenBank, EMBL y DDBJ (Archivo suplementario 2: Tabla S2). Además, los alineamientos se realizaron utilizando las secuencias obtenidas en el presente estudio, junto con las recuperadas de GenBank y los grupos externos empleados.

El alineamiento múltiple de 80 secuencias de nucleótidos de 12S dio lugar a un conjunto de datos compuesto por 566 caracteres. Para *cox1*, se incluyeron 84 taxones en el análisis, lo que dio lugar a un conjunto de datos compuesto por 286 caracteres. Asimismo, se analizaron 132 taxones para *cob*, con un conjunto de datos de 272 caracteres.

Los análisis filogenéticos se realizaron individualmente para cada marcador analizado (datos no mostrados) y mediante la concatenación de estos marcadores (Fig. 3). Todos los árboles revelaron seis clados, o grupos distintos, etiquetados de A a F.

Después de analizar las secuencias obtenidas, estas se agruparon en dos clados diferentes: unas en el clado A y otras en el clado B; sin embargo, la mayoría de las

secuencias obtenidas se agruparon en el clado B. Del mismo modo, el clado A estaba más estrechamente relacionado con el clado D que con los demás clados. Por otro lado, el clado B estaba más estrechamente relacionado con el clado F (Fig. 3).

En el árbol concatenado, no todas las relaciones filogenéticas estaban fuertemente respaldadas, aunque sí estaban bien respaldadas en los árboles individuales (datos no mostrados).

Tabla 2. Datos biométricos de machos y hembras de los clados A y B de *P. humanus* recogidos en Sevilla (España)

Machos

Estructuras medidas	Clado A MAX	MIN	Media	DE	CV	Clado B MAX	MIN	Media	DE	CV
Área (µm²)	883883	641620	765228	98960	13	1032332	735902	874207	118214	14
Redondez	2,43	2,21	2,33	0,11	5	2,33	2,15	2,21	0,05	2
Circularidad	0,28	0,25	0,27	0,02	6	0,29	0,26	0,27	0,01	3
Perímetro (µm)	4957	4428	4717	225	5	5308	4478	4919	325	7
Longitud (µm)	1994	1796	1911	90	5	2169	1841	2009	125	6
Anchura (µm)	534	423	461	50	11	578	400	481	57	12
Área de la cabeza (µm²)	98375	77228	86373	9000	10	94111	63747	80662	8535	11
Redondez de la cabeza	1,33	1,29	1,31	0,02	2	1,40	1,10	1,26	0,09	7
Circularidad de la cabeza	0,67	0,60	0,63	0,03	5	0,86	0,64	0,74	0,08	11
Perímetro de la cabeza (µm)	1273	1137	1189	60	5	1229	937	1126	81	7
Longitud de la cabeza (µm)	406	377	388	13	3	391	294	352	34	10
Anchura de la cabeza (µm)	308	283	294	12	4	317	252	283	18	6

Estructuras medidas	Clado A MAX	MIN	Media	DE	CV	Clado B MAX	MIN	Media	DE	CV
Longitud del tórax (µm)	504	469	485	14	3	600	385	515	67	13
Longitud del abdomen (µm)	1106	944	1036	78	8	1273	970	1134	96	8
Longitud de la tibia (µm)	380	302	338	32	10	393	303	356	29	8
Anchura de la tibia (µm)	136	106	123	13	10	156	122	142	11	8
Longitud de la garra tarsal (µm)	204	166	184	21	11	206	165	191	13	7

Hembras

Estructuras medidas	Clado A MAX	MIN	Media	DE	CV	Clado B MAX	MIN	Media	DE	CV
Área (µm²)	1588139	971394	1158574	245693	21	2429893	1285064	1714855	366129	21
Redondez	2,52	2,21	2,33	0,12	5	2,72	2,47	2,55	0,08	3
Circularidad	0,30	0,26	0,28	0,02	6	0,30	0,27	0,28	0,01	4
Perímetro (µm)	6641	5535	5790	478	8	8850	6340	7383	838	11
Longitud (µm)	2610	2161	2284	185	8	3236	2448	2771	273	10
Anchura (µm)	641	374	493	99	20	626	532	573	38	7
Área de la cabeza (µm²)	104863	80307	92498	10500	11	119415	89757	104446	10812	10
Redondez de la cabeza	1,23	1,09	1,17	0,06	5	1,30	1,21	1,25	0,03	3
Circularidad de la cabeza	0,83	0,68	0,75	0,05	7	0,79	0,65	0,71	0,05	7

Estructuras medidas	Clado A MAX	MIN	Media	DE	CV	Clado B MAX	MIN	Media	DE	CV
Perímetro de la cabeza (μm)	1255	1049	1166	78	7	1379	1175	1277	68	5
Longitud de la cabeza (μm)	421	336	380	38	10	472	353	417	43	10
Anchura de la cabeza (μm)	341	266	311	30	10	352	316	334	14	4
Longitud del tórax (μm)	555	443	500	46	9	592	361	524	75	14
Longitud del abdomen (μm)	1682	1231	1373	180	13	2226	1540	1819	277	15
Longitud de la tibia (μm)	400	213	332	74	22	401	231	322	51	16
Anchura de la tibia (μm)	130	103	117	10	9	133	101	114	11	10
Longitud de la garra tarsal (μm)	175	151	160	10	6	185	138	162	20	12

MAX = máximo, Media = media aritmética, MIN = mínimo, DE = desviación estándar, CV = coeficiente de variación (porcentaje convertido).

Las diferencias significativas entre ambos grupos de machos ($P < 0,05$) se indican en el documento original. La redondez se calcula como: (perímetro de la cabeza²)/(4 × π × área de la cabeza). La circularidad se calcula como la proporción del área del piojo respecto a un círculo cuyo diámetro es igual al Feret máximo del piojo.

El análisis de la similitud entre las secuencias 12S, excluyendo el grupo externo, reveló la menor similitud entre los grupos C y F de *P. humanus*, así como entre los grupos C y D (92,05 %). De las secuencias obtenidas en el presente estudio, la menor similitud se encontró con las del grupo C de *P. humanus* (92,23 %), mientras que la mayor similitud se observó con las secuencias de los grupos A y B de *P. humanus* (100 %) (Archivo suplementario 3: Tabla S3).

Al analizar la similitud entre las secuencias de *cox1*, excluyendo el grupo externo, la menor similitud se observó entre los grupos A y B de *P. humanus* (90,21 %). Además, al comparar nuestras secuencias con el resto de las secuencias analizadas, la menor similitud también se produjo con el grupo A de *P. humanus* (90,56 %). Sin embargo, la mayor similitud también se observó con las secuencias de los grupos A y B (100 %) (Archivo suplementario 4: Tabla S4).

Al analizar las secuencias de *cob*, excluyendo el grupo externo, la menor similitud se detectó entre los grupos B y E de *P. humanus*, así como entre los grupos E y F (86,76 %). Al comparar nuestras secuencias con las demás secuencias analizadas, la menor similitud también se observó con el grupo E de *P. humanus* (87,50 %). Además, la mayor similitud se encontró con los grupos A y B (100 %) (Archivo suplementario 5: Tabla S5).

Detección de resistencia

Las PCR permitieron amplificar fragmentos parciales de *kdr* de las 27 muestras de piojos de la cabeza. Los 27 piojos analizados presentaron la misma secuencia de nucleótidos y fueron positivos para los tres sitios de mutación diferentes encontrados dentro del gen analizado (Fig. 4). Los datos de secuencia de nucleótidos generados en este estudio se han depositado en las bases de datos GenBank, EMBL y DDBJ (PV784700).

En el análisis molecular realizado identificamos tres mutaciones clave en el gen VSSC de 27 ejemplares adultos de *P. humanus* asociadas a la resistencia a los piretroides. La mutación M815I implica la sustitución de metionina (M) por isoleucina (I) en la posición 815. La mutación T917I sustituye treonina (T) por isoleucina (I) en la posición 917. Por último, la mutación L920F implica la sustitución de leucina (L) por fenilalanina (F) en la posición 920. Estas mutaciones se encontraron en el 100 % de los ejemplares, lo que indica un mecanismo de resistencia ampliamente extendido en la población estudiada.

Fig. 1. Comparación morfológica de *P. humanus* pertenecientes a los clados A (fila superior) y B (fila inferior). De izquierda a derecha, los paneles muestran la cabeza, el artrópodo completo en vista dorsal y la pata con la garra tarsal. Las barras de escala se indican en cada panel.

Discusión

La infestación por piojos de la cabeza sigue siendo una afección parasitaria común en todo el mundo, que afecta a personas de todas las edades y de diversas regiones geográficas. A pesar de la disponibilidad de varias opciones terapéuticas, el manejo eficaz continúa siendo difícil debido a factores como la resistencia a los insecticidas, los fracasos terapéuticos y la reinfestación.

En este estudio realizamos un análisis de una población de piojos de la cabeza de Sevilla, España, una región en la que previamente no se habían comunicado datos genéticos ni datos sobre resistencia a la permetrina.

Para evaluar estas relaciones filogenéticas, seleccionamos tres marcadores mitocondriales: *cox1*, *cob* y ARNr 12S. Los marcadores mitocondriales se utilizan ampliamente para la filogeografía de insectos y la asignación de clados debido a que su evolución generalmente rápida, su herencia materna y su pequeño tamaño poblacional efectivo pueden revelar linajes evolutivos y la estructura histórica de las poblaciones (Dong et al. 2021).

Sin embargo, el ADNmt no debe considerarse universalmente no recombinante en *Pediculus*: su genoma mitocondrial está fragmentado en 18 cromosomas minicirculares y se ha documentado recombinación entre minicromosomas (Shao et al. 2009, Shao y Barker 2011). No obstante, estos loci proporcionan un marco establecido para la identificación mundial de clados mitocondriales en *P. humanus* (Light et al. 2008a, Amanzougaghene et al. 2019).

En nuestros análisis, los árboles de cada gen resolvieron los seis clados mitocondriales principales de *P. humanus* (A–F) con topologías generales congruentes. El apoyo para los nodos intermedios fue menor en los árboles de un solo gen, posiblemente debido al número limitado de sitios informativos para la parsimonia en los alineamientos más cortos de *cox1* (286 pb) y *cob* (272 pb). El alineamiento más largo de 12S (566 pb) mostró una mayor estabilidad topológica, mientras que *cox1* y *cob* captaron una mayor divergencia de nucleótidos entre clados, alcanzando el 9,79 % y el 13,24 %, respectivamente.

La concatenación de los tres marcadores (Fig. 3) incrementó la señal filogenética y mejoró el apoyo mediante *bootstrap* y probabilidad posterior en los principales linajes. Este patrón concuerda con estudios comparativos de *Pediculus* que muestran que conjuntos de datos mitocondriales más extensos son notablemente más informativos que secuencias parciales cortas, aunque los fragmentos parciales de *cox1* y *cob* todavía pueden asignar los piojos a los principales clados (Xiong et al. 2014).

Los análisis de identidad por pares respaldaron además la estructura genética de la población de Sevilla: las secuencias asignadas a los clados A y B mostraron una identidad del 100 % con sus respectivas referencias, mientras que las comparaciones con clados más distantes, incluidos E y F, alcanzaron una divergencia del 13,24 %. En conjunto, estos resultados muestran que el conjunto de marcadores conservó suficiente señal para discriminar los linajes mitocondriales representados en este conjunto de datos.

Según los resultados obtenidos, los piojos humanos de la cabeza se clasifican en seis clados mitocondriales (A–F), cada uno con una distribución geográfica característica (Light et al. 2008a, Boyd y Reed 2012, Ashfaq et al. 2015, Amanzougaghene et al. 2019, Hammoud et al. 2022).

En el presente estudio, el análisis filogenético basado en marcadores mitocondriales identificó dos clados, A y B, entre los piojos recogidos, siendo el clado B el linaje predominante. Este patrón es coherente con estudios anteriores realizados en Europa, incluida Francia, donde también se han descrito ambos clados A y B, aunque el clado A era más prevalente en esas poblaciones (Ashfaq et al. 2015, Amanzougaghene et al. 2016, 2019, Candy et al. 2018).

Solo un hospedador presentó una infestación mixta, con una hembra perteneciente al clado A y un macho perteneciente al clado B. En todos los demás hospedadores, todos los piojos analizados pertenecían exclusivamente a un único clado mitocondrial.

Esta infestación mixta aislada es compatible con una coinfestación posterior a la exposición a más de una fuente de transmisión donde los clados A y B aparecen de forma simpátrica. También sitúa piojos de ambos clados en el mismo hospedador y, por tanto, crea una oportunidad para el apareamiento entre clados.

Los estudios de genética de poblaciones moleculares han descrito los clados A y B en simpatría y patrones de marcadores nucleares compatibles con recombinación, respaldando la inferencia de que los clados mitocondriales no constituyen linajes reproductivamente aislados (Boutellis et al. 2015). También se ha comunicado evidencia similar de recombinación entre los clados mitocondriales A y C (Veracx et al. 2013).

Dado que el ADNmt se hereda por vía materna, la descendencia de una hembra del clado A conservaría su linaje mitocondrial aunque los genes nucleares fueran heredados de ambos progenitores.

Además, no se detectaron piojos pertenecientes al clado F en las muestras analizadas. Sin embargo, no se registraron los antecedentes demográficos de los participantes; por tanto, no pueden extraerse conclusiones sobre la ausencia de este clado en la población estudiada.

Por otro lado, las diferencias morfológicas entre los piojos son sutiles y normalmente solo pueden discernirse mediante análisis de función discriminante (Reed et al. 2004), con algunos rasgos destacados, como la longitud corporal y la longitud de la tibia de las patas medias, que ayudan a distinguir los piojos de la cabeza de los piojos del cuerpo (Busvine 1978).

En el presente estudio, la morfometría geométrica permitió diferenciar con éxito los ejemplares de *P. humanus* pertenecientes a los clados A y B. Sin embargo, estos resultados deben interpretarse con cautela debido al número limitado de ejemplares adultos, especialmente del clado A, que puede no representar plenamente la variabilidad morfológica dentro de cada clado.

Además, no puede descartarse que factores como la resistencia a los insecticidas hayan contribuido a la variación morfológica observada. Se necesitan estudios futuros que

incluyan tamaños de muestra mayores y más equilibrados para confirmar estos hallazgos y estudiar más a fondo la relación entre el linaje mitocondrial, la resistencia a los insecticidas y la morfología.

Fig. 2. Mapa factorial correspondiente a ejemplares adultos machos y hembras de *P. humanus* de los clados A y B. Las muestras se proyectan sobre el primer y segundo componente principal: PC1 (86 %) y PC2 (11 %). Cada grupo está representado por su perímetro.

Fig. 3. Árbol filogenético de especies de *Pediculus* basado en el análisis combinado de 12S, *cox1* y *cob*, inferido mediante inferencia bayesiana. Los valores de *bootstrap* de máxima verosimilitud de los clados aparecen en primer lugar, seguidos de las probabilidades posteriores bayesianas, respectivamente, para frecuencias de clado superiores al 60 %.

La aplicación de insecticidas sigue siendo una estrategia fundamental para controlar y prevenir las infestaciones por piojos. Sin embargo, el uso frecuente de estas sustancias químicas ha contribuido al desarrollo de resistencia (Fu et al. 2022). Como consecuencia, la eficacia de muchos insecticidas ha disminuido debido al aumento de poblaciones de piojos resistentes, lo que en parte ha provocado un incremento de las infestaciones por piojos de la cabeza en diversas regiones (Durand et al. 2012).

Aunque la permetrina continúa utilizándose ampliamente en algunos países, incluida España, las recomendaciones de tratamiento de primera línea para la pediculosis capitis varían internacionalmente según las directrices nacionales y los patrones locales de resistencia (Brownell et al. 2020).

Los piojos desarrollan resistencia mediante múltiples mecanismos, incluidos el *kdr* frente a la permetrina y la resistencia al malatión mediante una actividad elevada de las carboxilesterasas (Durand et al. 2012, Kwon et al. 2014).

La resistencia de los piojos de la cabeza a los piretroides está vinculada principalmente al *kdr* y se asocia con tres mutaciones puntuales (M815I, T917I y L920F) en la subunidad α del VSSC (Roca-Acevedo et al. 2019, Larkin et al. 2020).

La mutación M815I se encuentra en el bucle extracelular IIS1-2 del VSSC y contribuye a reducir la sensibilidad a los piretroides; la mutación T917I es una conocida mutación *kdr* que disminuye significativamente la eficacia de los piretroides al modificar el sitio diana. Por último, la mutación L920F contribuye adicionalmente a la resistencia al modificar la estructura del canal de sodio (Firooziyan et al. 2017).

En nuestro estudio se empleó una secuencia parcial del gen de la subunidad α del VSSC para detectar mutaciones asociadas a la resistencia a la permetrina en una población de 27 piojos de la cabeza. Todos los ejemplares analizados presentaban las tres mutaciones previamente relacionadas con la resistencia a los piretroides.

Estos hallazgos proporcionan evidencia de la presencia de alelos asociados a la resistencia en piojos de la cabeza recogidos en Sevilla y sugieren que la presión selectiva ejercida por los tratamientos basados en piretroides puede haber contribuido a su persistencia en esta población.

Sin embargo, dado el tamaño limitado de la muestra, estos resultados no deben interpretarse como una estimación de la frecuencia de las mutaciones en la población más amplia de piojos de la cabeza.

En comparación, se han comunicado patrones similares de resistencia a los piretroides en otros países. Se han detectado frecuencias elevadas de las mutaciones M815I, T917I y L920F en poblaciones de piojos de la cabeza de Irán y Turquía, mientras que en Argentina se han comunicado frecuencias ligeramente inferiores (Karakuş et al. 2020, Ghavami et al. 2023, Toloza et al. 2024).

En contraste, Tailandia mostró una prevalencia notablemente inferior de la mutación T917I (31 %) (Brownell et al. 2020). En conjunto, estos hallazgos indican que las mutaciones *kdr* están ampliamente distribuidas por todo el mundo, aunque su prevalencia varía considerablemente entre regiones, lo que pone de relieve la importancia de la vigilancia local para orientar las estrategias terapéuticas.

Además, se han identificado nuevas mutaciones, como K794E, F815I y N818D, que afectan a otras posiciones de aminoácidos (Khaligh et al. 2021). También se ha observado resistencia a la ivermectina, relacionada con tres mutaciones no sinónimas (A251V, H272R y S46P) en el gen GluCl (Amanzougaghene et al. 2018).

Conclusiones

Este estudio proporciona la primera caracterización molecular y morfométrica de los piojos de la cabeza (*P. h. capitis*) de la zona de estudio de Sevilla (España).

Nuestro análisis filogenético identificó dos linajes mitocondriales distintos, los clados A y B, siendo el clado B el linaje predominante entre las muestras analizadas.

Además, los alelos asociados a la resistencia *kdr* (M815I, T917I y L920F) se detectaron en todos los piojos analizados para el gen VSSC, proporcionando evidencia de la presencia de mutaciones asociadas a la resistencia a la permetrina en los piojos de la cabeza de esta población.

Aunque estos hallazgos se basan en un número limitado de muestras, ponen de manifiesto la importancia de mantener la vigilancia de la resistencia a los insecticidas en las poblaciones locales de piojos de la cabeza y proporcionan datos moleculares de referencia para futuros estudios.

Por último, las diferencias morfométricas significativas encontradas entre los clados validan la utilidad de la morfometría geométrica como herramienta complementaria a los métodos moleculares para los estudios poblacionales.

Estos conocimientos integrados son esenciales para desarrollar programas de control más eficaces y basados en la evidencia con el fin de gestionar las infestaciones por piojos de la cabeza y vigilar su impacto en la salud pública.

Agradecimientos

Deseamos agradecer al personal de los centros KIDS & NITS de Sevilla y Granada, y a Rosario Montero Guzmán, por su valiosa colaboración y apoyo durante todo este estudio.

Contribuciones de los autores

Julia Rivero: Conceptualización [igual], análisis formal [igual], investigación [igual], metodología [igual], visualización [igual], redacción del borrador original [igual], revisión y edición [igual].

Antonio Zurita: Conceptualización [igual], metodología [igual].

Cristina Cutillas: Supervisión [igual], revisión y edición [igual].

Angela M. García-Sánchez: Análisis formal [igual], investigación [igual], metodología [igual], visualización [igual], redacción del borrador original [igual], revisión y edición [igual].

Rocío Callejón: Conceptualización [igual], análisis formal [igual], investigación [igual], administración del proyecto [igual], supervisión [igual], visualización [igual], revisión y edición [igual].

Declaración ética

Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética en la Investigación de la Universidad de Sevilla (SICEIA ID: 2026-0800), y se obtuvo el consentimiento informado por escrito de los

padres o tutores legales, así como el asentimiento de los niños participantes, cuando correspondía.

Material suplementario

El material suplementario está disponible en línea en *Journal of Insect Science*.

Financiación

Esta investigación no recibió ninguna subvención específica de organismos de financiación de los sectores público, comercial o sin ánimo de lucro.

Conflictos de intereses

Ninguno declarado.

Referencias

Abbasi E, Daliri S, Yazdani Z, et al. 2023. Evaluación de la resistencia de los piojos humanos de la cabeza a los insecticidas piretroides: estudio de metaanálisis. *Heliyon* 9:e17219. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e17219

Amanzougaghene N, Fenollar F, Davoust B, et al. 2019. Diversidad mitocondrial y análisis filogeográfico de *Pediculus humanus* revela un nuevo clado amazónico «F». *Infect. Genet. Evol.* 70:1–8. https://doi.org/10.1016/j.meegid.2019.02.006

Amanzougaghene N, Fenollar F, Diatta G, et al. 2018. Mutaciones en *GluCl* asociadas con piojos de la cabeza resistentes a la ivermectina en condiciones de campo en Senegal. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 52:593–598. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2018.07.005

Amanzougaghene N, Fenollar F, Sangaré AK, et al. 2017. Detección de patógenos bacterianos, incluidas posibles nuevas especies, en piojos humanos de la cabeza de Mali. *PLoS One.* 12:e0184621. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184621

Amanzougaghene N, Mumcuoglu KY, Fenollar F, et al. 2016. La elevada diversidad genética antigua de los piojos humanos, *Pediculus humanus*, de Israel revela nuevos conocimientos sobre el origen de los piojos del clado B. *PLoS One.* 11:e0164659. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0164659

Ashfaq M, Prosser S, Nasir S, et al. 2015. Alta diversidad y rápida diversificación en el piojo de la cabeza, *Pediculus humanus* (Pediculidae: Phthiraptera). *Sci. Rep.* 5:14188. https://doi.org/10.1038/srep14188

Boutellis A, Bitam I, Fekir K, et al. 2015. Evidencia de que los piojos de la cabeza de los clados A y B viven en simpatría y se recombinan en Argelia. *Med. Vet. Entomol.* 29:94–98. https://doi.org/10.1111/mve.12058

Boyd BM, Reed DL. 2012. Taxonomía de los piojos y sus bacterias endosimbiontes en la era posgenómica. *Clin. Microbiol. Infect.* 18:324–331. https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2012.03782.x. PMID: 22429457.

Brownell N, Sunantaraporn S, Phadungsaksawasdi K, et al. 2020. Presencia de las mutaciones de resistencia al derribo (*knockdown resistance*, kdr) en los piojos de la cabeza (*Pediculus humanus capitis*) recogidos de niños de escuelas primarias de Tailandia. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 14:e0008955. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008955

Busvine JR. 1978. Evidencia procedente de infestaciones dobles sobre el estatus específico de los piojos humanos de la cabeza y del cuerpo (Anoplura). *Syst. Entomol.* 3:1–8. https://doi.org/10.1111/j.1365-3113.1978.tb00383.x

Candy K, Amanzougaghene N, Izri A, et al. 2018. Estudio molecular de los piojos de la cabeza y del cuerpo, *Pediculus humanus*, en Francia. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 18:243–251. https://doi.org/10.1089/vbz.2017.2206

Clark JM. 2010. Resistencia a la permetrina debida a mutaciones del gen *knockdown* prevalentes en poblaciones de piojos humanos de la cabeza. *TODJ.* 4:63–68. https://doi.org/10.2174/1874372201004030063

Dong K. 2007. Canales de sodio de insectos y resistencia a insecticidas. *Invert. Neurosci.* 7:17–30. https://doi.org/10.1007/s10158-006-0036-9

Dong Z, Wang Y, Li C, et al. 2021. ADN mitocondrial como marcador molecular en ecología de insectos: estado actual y perspectivas futuras. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 114:470–476. https://doi.org/10.1093/aesa/saab020

Dujardin JP, Le Pont F. 2004. Variación geográfica de las propiedades métricas dentro de los flebótomos neotropicales. *Infect. Genet. Evol.* 4:353–359. https://doi.org/10.1016/j.meegid.2004.05.001

Dujardin JP. 2002. Software BAC. Institut de Recherches pour le Développement (IRD), Francia. http://www.fsf.org/copyleft/gpl.html

Durand R, Bouvresse S, Berdjane Z, et al. 2012. Resistencia a insecticidas en piojos de la cabeza: aspectos clínicos, parasitológicos y genéticos. *Clin. Microbiol. Infect.* 18:338–344. https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2012.03806.x

Felsenstein J. 1985. Límites de confianza en filogenias: un enfoque mediante *bootstrap*. *Evolution* 39:783–791. https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1985.tb00420.x. PMID: 28561359.

Firooziyan S, Sadaghianifar A, Taghilou B, et al. 2017. Identificación de nuevas mutaciones del canal de sodio dependiente de voltaje en piojos humanos de la cabeza y del cuerpo (Phthiraptera: Pediculidae). *J. Med. Entomol.* 54:1337–1343. https://doi.org/10.1093/jme/tjx107

Fu YT, Yao C, Deng YP, et al. 2022. Pediculosis humana, un problema mundial de salud pública. *Infect. Dis. Poverty.* 11:58. https://doi.org/10.1186/s40249-022-00986-w

Ghavami MB, Panahi S, Nabati SM, et al. 2023. Estudio exhaustivo de la resistencia a la permetrina en poblaciones de piojos humanos de la cabeza del noroeste de Irán: monitorización ex vivo y molecular de alelos de resistencia al derribo. *Parasit. Vectors.* 16:57. https://doi.org/10.1186/s13071-023-05652-0

Guindon S, Gascuel O. 2003. Un algoritmo simple, rápido y preciso para estimar grandes filogenias mediante máxima verosimilitud. *Syst. Biol.* 52:696–704. https://doi.org/10.1080/10635150390235520. PMID: 14530136.

Hammoud A, Louni M, Baldé MC, et al. 2021. Caracterización molecular y diversidad genética del haplogrupo E de piojos humanos en Guinea, África occidental. *Microorganisms* 9:257. https://doi.org/10.3390/microorganisms9020257

Hammoud A, Louni M, Missé D, et al. 2022. Relación filogenética entre el endosimbionte «Candidatus Riesia pediculicola» y su hospedador, el piojo humano. *Parasit. Vectors.* 15:73. https://doi.org/10.1186/s13071-022-05203-z

Huelsenbeck JP, Rannala B. 1997. Los métodos filogenéticos alcanzan la madurez: comprobación de hipótesis en un contexto evolutivo. *Science* 276:227–232. https://doi.org/10.1126/science.276.5310. PMID: 9092465.

Karakuş M, Atıcı T, Karabela ŞN, et al. 2020. Detección de resistencia a la permetrina y agrupamiento filogenético de piojos turcos de la cabeza (*Pediculus humanus capitis*; De Geer, 1767). *Acta Trop.* 204:105362. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105362

Khaligh FG, Djadid ND, Farmani M, et al. 2021. Monitorización molecular de la resistencia al derribo en poblaciones de piojos de la cabeza (Phthiraptera: Pediculidae) en Irán. *J. Med. Entomol.* 58:2321–2329. https://doi.org/10.1093/jme/tjab101

Kumar S, Stecher G, Li M, et al. 2018. MEGA X: análisis de genética evolutiva molecular entre plataformas informáticas. *Mol. Biol. Evol.* 35:1547–1549. https://doi.org/10.1093/molbev/msy096

Kwon DH, Kim JH, Kim YH, et al. 2014. Identificación y caracterización de una esterasa implicada en la resistencia al malatión en el piojo de la cabeza *Pediculus humanus capitis*. *Pestic. Biochem. Physiol.* 112:13–18. https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2014.05.006

Kwon DH, Yoon KS, Strycharz JP, et al. 2008. Determinación de la frecuencia de alelos de resistencia a la permetrina en poblaciones humanas de piojos de la cabeza mediante secuenciación cuantitativa. *J. Med. Entomol.* 45:912–920. https://doi.org/10.1603/0022-2585(2008)45[912:DOPRAF

Larkin K, Rodriguez CA, Jamani S, et al. 2020. Primera evidencia de mutaciones asociadas con la resistencia a los piretroides en piojos de la cabeza (Phthiraptera: Pediculidae) de Honduras. *Parasit. Vectors.* 13:312. https://doi.org/10.1186/s13071-020-04183-2

Lee SH, Gao JR, Yoon KS, et al. 2003. Mutaciones del canal de sodio asociadas con la resistencia al derribo en el piojo humano de la cabeza, *Pediculus capitis* (De Geer). *Pestic. Biochem. Physiol.* 75:79–91. https://doi.org/10.1016/S0048-3575(03)00018-X

Leung AK, Lam JM, Leong KF, et al. 2022. Pediatría: cómo tratar la pediculosis capitis. *DIC.* 11:1–15. https://doi.org/10.7573/dic.2021-11-3

Light JE, Allen JM, Long LM, et al. 2008a. Distribución geográfica y orígenes de los piojos humanos de la cabeza (*Pediculus humanus capitis*) basados en datos mitocondriales. *J. Parasitol.* 94:1275–1281. https://doi.org/10.1645/GE-1618.1

Light JE, Toups MA, Reed DL. 2008b. ¿Qué hay en un nombre?: estatus taxonómico de los piojos humanos de la cabeza y del cuerpo. *Mol. Phylogenet. Evol.* 47:1203–1216. https://doi.org/10.1016/j.ympev.2008.03.014

Meister L, Ochsendorf F. 2016. Piojos de la cabeza. *Dtsch. Arztebl. Int.* 113:763–772. https://doi.org/10.3238/arztebl.2016.0763

Ouarti B, Mbogning Fonkou DM, Houhamdi L, et al. 2023. Piojos y enfermedades transmitidas por piojos en seres humanos en África: revisión narrativa. *Acta Trop.* 237:106709. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2022.106709

Posada D. 2008. jModelTest: promediación de modelos filogenéticos. *Mol. Biol. Evol.* 25:1253–1256. https://doi.org/10.1093/molbev/msn083. PMID: 18397919.

Posada D, Buckley TR. 2004. Selección y promediación de modelos en filogenética: ventajas del criterio de información de Akaike y de los enfoques bayesianos frente a las

pruebas de razón de verosimilitudes. *Syst. Biol.* 53:793–808. https://doi.org/10.1080/10635150490522304. PMID: 15545256.

Raoult D, Reed DL, Dittmar K, et al. 2008. Identificación molecular de piojos de momias precolombinas. *J. Infect. Dis.* 197:535–543. https://doi.org/10.1086/526520

Reed DL, Smith VS, Hammond SL, et al. 2004. El análisis genético de los piojos respalda el contacto directo entre seres humanos modernos y arcaicos. *PLoS Biol.* 2:e340. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0020340

Roca-Acevedo G, Del Solar Kupfer CP, Dressel Roa P, et al. 2019. Primera determinación de alelos de resistencia al derribo de los piretroides en piojos humanos de la cabeza (Phthiraptera: Pediculidae) de Chile. *J. Med. Entomol.* 56:1698–1703. https://doi.org/10.1093/jme/tjz101

Rohlf JF, Marcus LF. 1993. Una revolución en la morfometría. *Trends Ecol. Evol.* 8:129–132. https://doi.org/10.1016/0169-5347(93)90024-J

Ronquist F, Huelsenbeck JP. 2003. MrBayes 3: inferencia filogenética bayesiana mediante modelos mixtos. *Bioinformatics* 19:1572–1574. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg180. PMID: 12912839.

Shao R, Barker SC. 2011. Minicromosomas mitocondriales quiméricos del piojo humano del cuerpo, *Pediculus humanus*: evidencia de recombinación homóloga y no homóloga. *Gene* 473:36–43. https://doi.org/10.1016/j.gene.2010.11.002

Shao R, Kirkness EF, Barker SC. 2009. El cromosoma mitocondrial único típico de los animales ha evolucionado hasta convertirse en 18 minicromosomas en el piojo humano del cuerpo, *Pediculus humanus*. *Genome Res.* 19:904–912. https://doi.org/10.1101/gr.083188.108

Toloza AC, Ascunce MS, Reed DL. 2024. Medición de la variación genética local en piojos de la cabeza resistentes a la permetrina (Phthiraptera: Pediculidae) de Buenos Aires, Argentina. *J. Med. Entomol.* 61:984–994. https://doi.org/10.1093/jme/tjae048

Veracx A, Boutellis A, Raoult D. 2013. Eventos de recombinación genética entre piojos de los clados A y C en simpatría en África. *J. Med. Entomol.* 50:1165–1168. https://doi.org/10.1603/me13028. PMID: 24180123

Weisbroth SH. 2024. El uso de conejos para propagar piojos humanos con fines de investigación. *Comp. Med.* 74:135–141. https://doi.org/10.1603/me13028

Xiong H, Campelo D, Pollack RJ, et al. 2014. La secuenciación de segunda generación de regiones codificantes mitocondriales completas (~15,4 kb) ofrece posibilidades para el

estudio de la filogenia y taxonomía de los piojos del cuerpo y de la cabeza humanos. *Med. Vet. Entomol.* 28 Suppl 1:40–50. https://doi.org/10.1111/mve.12076

© Los autores, 2026. Publicado por Oxford University Press en nombre de la Entomological Society of America.

Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de la Licencia Creative Commons Attribution, que permite la reutilización, distribución y reproducción sin restricciones en cualquier medio, siempre que se cite adecuadamente el trabajo original.

Journal of Insect Science 2026, 26(5) 1–10.

DOI: https://doi.org/10.1093/jisesa/ieag110