"OPTIMIZACIÓN DE PROCEDIMIENTOS DE IRRADIACIÓN Y MANEJO PARA LA LIBERACIÓN DE MACHOS ADULTOS DE *AEDES AEGYPTI* (DIPTERA: CULICIDAE) EN PROGRAMAS DE CONTROL CON LA TÉCNICA DEL INSECTO ESTERIL (TIE)."

CARRERA: ESPECIALIZACIÓN EN RADIOQUÍMICA Y APLICACIONES NUCLEARES

Alumno: Lic. Pichorito, Lucas
Director: Lic. García Alba, Marianela
Co-director: Ing. Agr. Benavides, Luciano

Resumen 2
1-Introducción 4
Biología de la especie 9
2-Hipótesis 13
3-Objetivos 15
4- Materiales y Métodos 16
4.1. Cría de colonias de Aedes aegypti 16
4.2. Separación sexual y preparación de adultos para irradiación 16
4.3. Enfriamiento y transferencia 19
4.4. Irradiación de adultos 24
4.5. Justificación del diseño experimental y selección de dosis 26
4.6. Acoplamiento y evaluación reproductiva 26
4.7. Ensayos experimentales 30
4.8. Análisis estadístico 31
5-Resultados 32
5.1. Curva de dosis- respuesta 32
5.2. Evaluación de doble fondo en el proceso de enfriamiento 35
5.3. Evaluación de enfriamiento y marcado 36
5.4.Comparación entre equipos de radiación 39
6-Discusión 42
6.1.Curva dosis–respuesta en machos adultos de *Aedes aegypti* 42
6.2. Evaluación del doble fondo en el proceso de enfriamiento 44
6.3.Efecto del enfriamiento y marcado fluorescente en machos estériles 46
6.4. Comparación entre equipos de radiación Gammacell y PISI 47
7.Conclusión general del trabajo 49
8. Referencias Bibliográficas 51

Optimización de procedimientos de irradiación y manejo para la liberación de machos adultos de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) en programas de control con la Técnica del Insecto Estéril (TIE).

Resumen

El mosquito *Aedes aegypti* es el principal vector de enfermedades virales emergentes como dengue, zika y chikungunya, cuya expansión en América Latina y, particularmente, en Argentina, representa un desafío creciente para la salud pública. Ante la limitada eficacia de métodos tradicionales de control, la Técnica del Insecto Estéril (TIE) se consolida como una estrategia innovadora, específica y ambientalmente amigable para reducir las poblaciones de mosquitos mediante la liberación de machos estériles que, al aparearse con hembras silvestres, no generan descendencia viable.

El objetivo general de este trabajo fue evaluar diferentes tratamientos de irradiación y condiciones logísticas de manejo, enfriamiento y marcado de machos adultos de *Ae. aegypti*, con el fin de optimizar un protocolo aplicable a una futura planta de producción en el contexto nacional.

Se llevaron a cabo cuatro ensayos experimentales bajo condiciones controladas de laboratorio. El primer ensayo analizó el efecto de distintas dosis de irradiación sobre la fertilidad y fecundidad. El segundo evaluó la incorporación de un doble fondo plástico en los frascos de emergencia para reducir las pérdidas producidas por la manipulación necesaria para el armado de las muestras para irradiar. El tercero analizó el impacto del marcado fluorescente sobre la calidad reproductiva. El cuarto comparó la eficacia de dos equipos de radiación (Gammacell y PISI) en la esterilización. En todos los casos, se midieron los parámetros de fecundidad (número de huevos por hembra) y fertilidad (porcentaje de eclosión), aplicando análisis estadísticos como ANOVA y pruebas post hoc.

Los resultados indican que dosis entre 60 y 70 Gy logran esterilidad >99 % sin afectar significativamente la fecundidad. El agregado del doble fondo plástico en los frascos de emergencia logró reducir las pérdidas de machos adultos. El marcado no compromete la eficacia, y el irradiador PISI mostró desempeño comparable al Gammacell. Estos hallazgos validan la viabilidad operativa y técnica del protocolo desarrollado.

En conclusión, se confirma la factibilidad de aplicar la TIE con irradiación en estado adulto, optimizando recursos y logística, y abriendo el camino para su implementación en programas piloto en Argentina

1- Introducción

Las enfermedades producidas por arbovirosis han adquirido creciente importancia en la agenda sanitaria mundial, en particular las propagadas por vectores como mosquitos del género *Aedes*. El dengue, el zika, la chikungunya y la fiebre amarilla urbana han mostrado un avance alarmante, tanto en términos de incidencia como de expansión geográfica. Esta situación se ve agravada por factores como el cambio climático, la urbanización acelerada y la adaptación ecológica de los vectores a entornos urbanos (WHO, 2017; Bhatt et al., 2013).

El principal vector, *Ae. aegypti*, ha demostrado una gran adaptación ecológica, encontrando condiciones ideales para su reproducción en áreas urbanas densamente pobladas y con deficiencias en el saneamiento ambiental. A escala global, se estima que el dengue afecta a cerca de 390 millones de personas anualmente en más de 120 países (Imagen 1) (WHO, 2023). En Argentina, esta enfermedad ha dejado de ser esporádica para producir al menos brotes casi todos los años, alcanzando picos con más de 50.000 casos autóctonos confirmados en 2023 (Ministerio de Salud de Argentina, 2024) (Imagen 2 y 3).

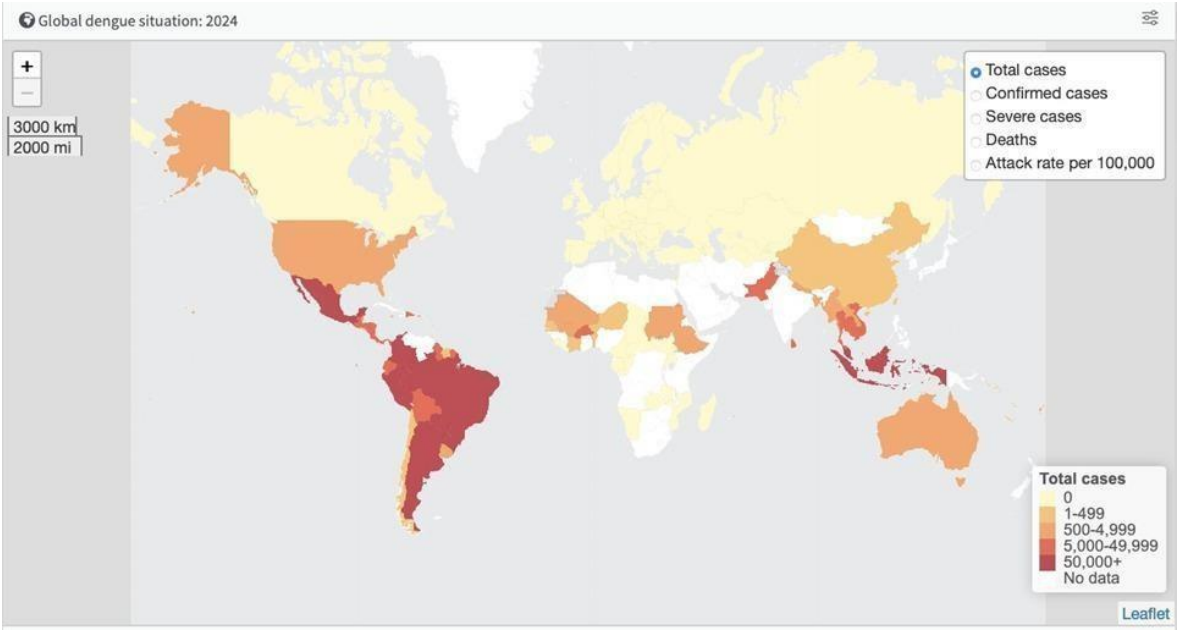


Imagen 1: Distribución de Dengue a nivel mundial en el año 2024. Organización Mundial de la Salud. (OMS)



Imagen 2: Casos de dengue por semana epidemiológica (2010-2025). Boletín Epidemiológico Nacional nro.765. Año 2025

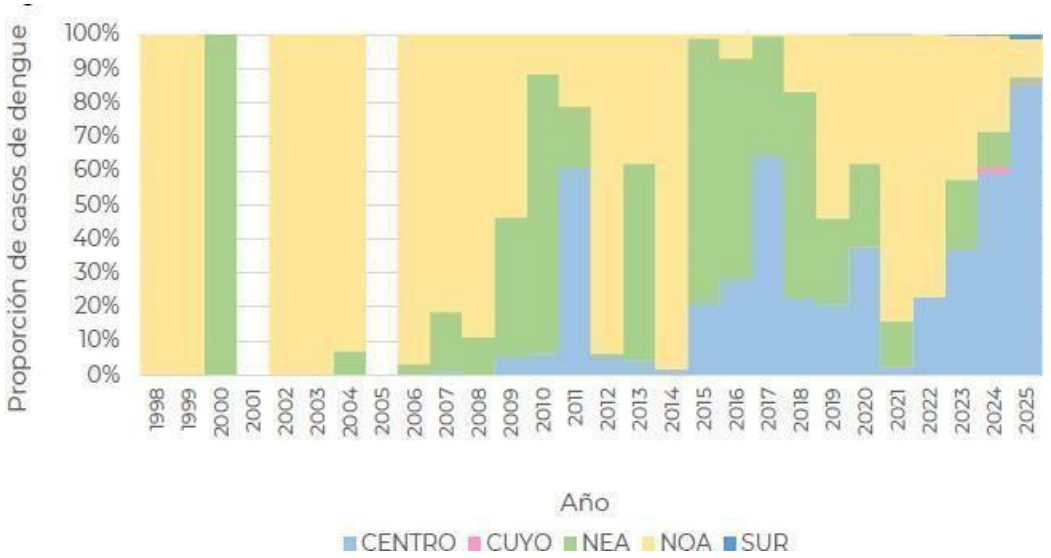


Imagen 3: Distribución porcentual por región de casos de dengue desde la reemergencia. Argentina. Año 1998-2025. Boletín Epidemiológico Nacional nro.765.Año 2025

El uso intensivo y prolongado de productos químicos, como piretroides y organofosforados, supone un aumento de la resistencia a insecticidas en poblaciones de *Ae. aegypti*, ejerciendo una fuerte presión de selección, dando lugar a cepas que reducen drásticamente la eficacia de las fumigaciones dentro del control vectorial tradicional (Rivero et al., 2010). A esto se suma la escasez de nuevas moléculas insecticidas disponibles en el mercado, lo cual limita las opciones para mantener el control mediante métodos químicos convencionales. Esto ha impulsado el desarrollo de enfoques alternativos que, lejos de generar resistencia o impactos negativos sobre el ambiente, ofrezcan soluciones efectivas y sostenibles.

Frente a este escenario, la Organización Mundial de la Salud (OMS) elaboró en 2017 el documento "Global Vector Control Response 2017–2030", una estrategia que establece un marco integral para reducir la carga de enfermedades transmitidas por vectores. Esta propuesta se estructura en torno a cuatro pilares fundamentales: el fortalecimiento de capacidades institucionales para la respuesta rápida ante brotes; la integración de tecnologías innovadoras y herramientas genéticas; la participación comunitaria activa en el control vectorial; y la inversión en investigación aplicada y mejora del entorno. Este enfoque tiene como objetivo no solo mitigar los brotes, sino también implementar soluciones sostenibles que enfrenten los desafíos técnicos, sociales y ambientales vinculados al control de vectores (WHO, 2022).

Dentro de las tecnologías emergentes destacan, la Técnica del Insecto Incompatible donde se infecta artificialmente con la bacteria endosimbiótica del género *Wolbachia,* la cual interfieren con el desarrollo embrionario de los huevos impidiendo su eclosión y la Técnica del Insecto Estéril (TIE), que consiste en la cría masiva de machos del vector, su esterilización mediante radiación ionizante y su posterior liberación en el ambiente. Al copular con hembras silvestres, éstas no producirán descendencia viable, lo que lleva a una reducción progresiva de la población mediante liberaciones sucesivas. Ambas tecnologías se alinean con los principios del manejo integrado de vectores, al ofrecer métodos biológicos que

actúan sin generar resistencia y con bajo impacto ambiental (Dyck et al., 2021; Benedict & Robinson, 2003). La TIE ha demostrado ser efectiva en el control de plagas agrícolas como Cochliomyia hominivorax y Ceratitis capitata aplicadas con éxito desde la década de 1950 (Dyck et al., 2021). A partir de estas experiencias, la técnica ha sido adaptada al control de vectores de interés en salud pública. En países como China, Brasil, México y Cuba, se han desarrollado programas piloto que han demostrado reducciones significativas en las densidades vectoriales y en la transmisión de arbovirus (Benedict & Robinson, 2003; Dyck et al., 2021). Hay que tener en cuenta que en países como China y México se realizan métodos combinados con la TIE. Estos antecedentes confirman la viabilidad técnica y operativa de la TIE, su eficacia en contextos urbanos y su aceptación social como parte de estrategias comunitarias de control.

La irradiación es un paso crucial en la TIE, mediante la que los machos criados son esterilizados sin comprometer su capacidad para sobrevivir, volar y copular. Las fuentes de radiación ionizante utilizadas son rayos gamma de cobalto-60, rayos X o de haces de electrones (FAO/OIEA, 2020; Dyck, Hendrichs, & Robinson, 2021), las que afectan principalmente a las células germinales en división, provocando roturas en el ADN que impiden la formación de cigotos viables tras la fecundación. Este efecto se explica por la ley universal de la radiobiología, propuesta por Bergonié y Tribondeau en 1906, que establece que "la radiosensibilidad de una célula es proporcional a su tasa de división e inversamente proporcional a su grado de diferenciación", lo cual aplica directamente, sobre espermatogonios y espermatocitos —células precursoras de los espermatozoides—de Ae. aegypti, que presentan alta tasa de proliferación y baja diferenciación, convirtiéndolas en blancos primarios de la acción radiológica. La irradiación induce mutaciones letales en estas células, provocando aberraciones cromosómicas y roturas en el ADN de los espermatozoides, lo que impide el desarrollo de embriones viables tras la fecundación (Yamada, Maiga, Kraupa, et al., 2022). A diferencia de los insecticidas, la radiación no mata al mosquito ni altera sustancialmente su comportamiento, siempre que se utilicen dosis adecuadas que respeten la integridad somática del insecto. La correcta selección de la dosis implica considerar los efectos somáticos como reducción de longevidad o vigor —producto de daños indirectos sobre células epiteliales del intestino, musculares o nerviosas— (Yamada,

Balestrino, & Bouyer, 2023). De esta manera, el objetivo es asegurar que los machos estériles conserven una alta capacidad de competencia sexual en su entorno natural, exhibiendo un comportamiento similar al de los machos silvestres. (Tussey et al., 2023). (Imagen4)

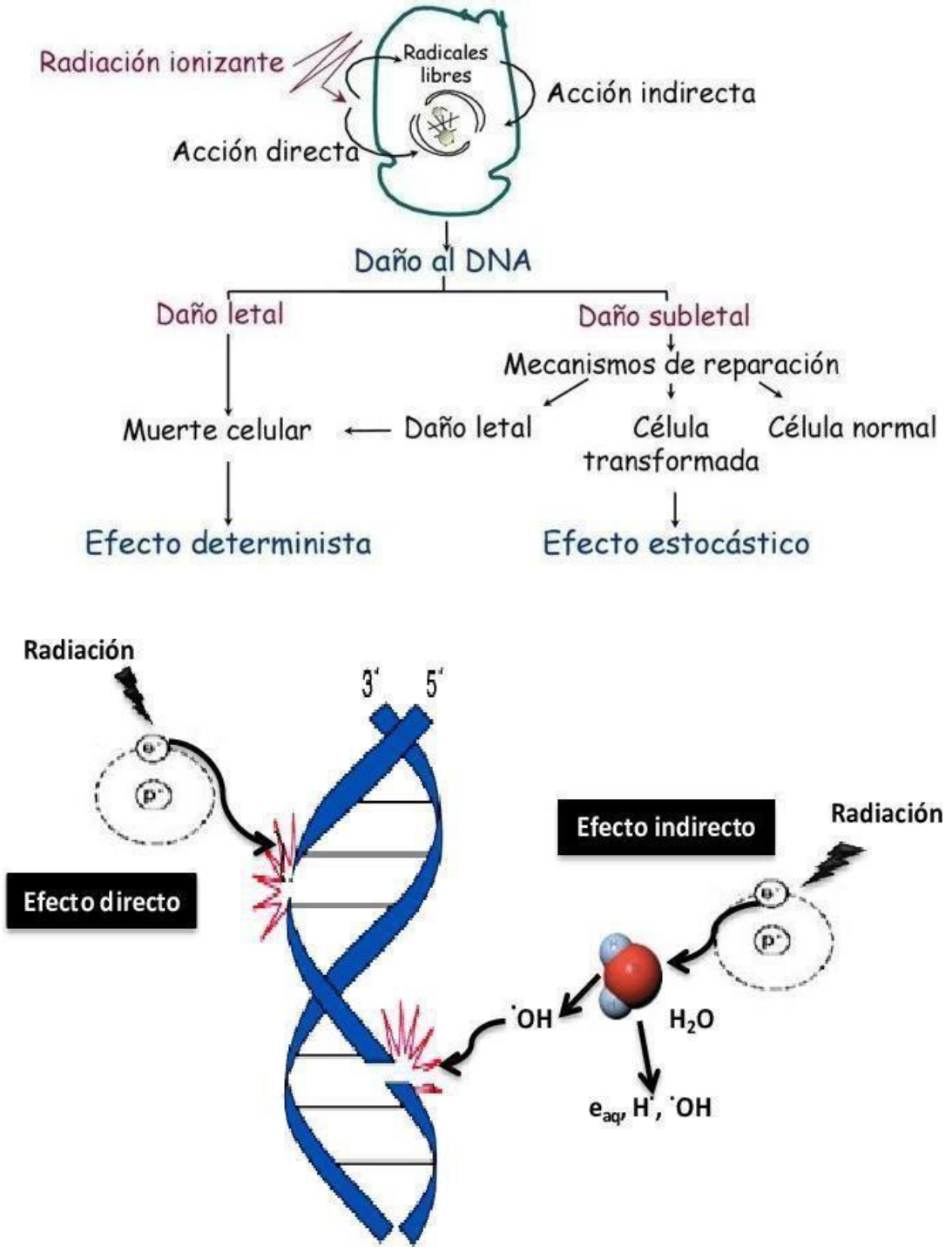


Imagen 4: efectos de la radiación sobre las células.

En Argentina, el desarrollo de esta estrategia ha sido liderado por la Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA) desde 2016, a través del Centro Atómico Ezeiza donde se encuentra el grupo de investigación de control ecológico de mosquitos que posee una planta piloto de producción de machos estériles de *Ae. aegypti*, con capacidad para producir un gran número de mosquitos bajo condiciones controladas. Los machos son separados mediante sexado mecánico, enfriados, marcados y posteriormente irradiados en la Planta de Irradiación Semi Industrial (PISI), donde se aplican dosis estandarizadas de radiación gamma. Se han llevado a cabo ensayos de liberación en el partido de Ezeiza. Estos estudios, realizados en cooperación con el Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA), constituyen experiencias pioneras en la región y sientan las bases para futuras implementaciones operativas a gran escala.

Biología de la especie

Aedes aegypti es un mosquito pequeño (3–4 mm), de color oscuro y con patrones blancos distintivos en el tórax y las patas, fácilmente reconocibles. Las hembras, de comportamiento fuertemente antropofílico, requieren de proteínas presentes en la sangre para completar el desarrollo de sus huevos. Presentan un ciclo de vida completo (Imagen 5), que incluye las fases de huevo, larva, pupa y adulto; con una duración de apenas una semana, alcanza la fase adulta bajo condiciones climáticas favorables (Clements, 1992). Este vector presenta hábitos diurnos, se reproduce en pequeños reservorios artificiales de agua limpia, y tiene una capacidad de dispersión limitada — aproximadamente entre 100 y 200 metros— lo que permite una intervención focalizada y efectiva, como la que propone la Técnica del Insecto Estéril (TIE) (WHO, 2017; Bhatt et al., 2013).

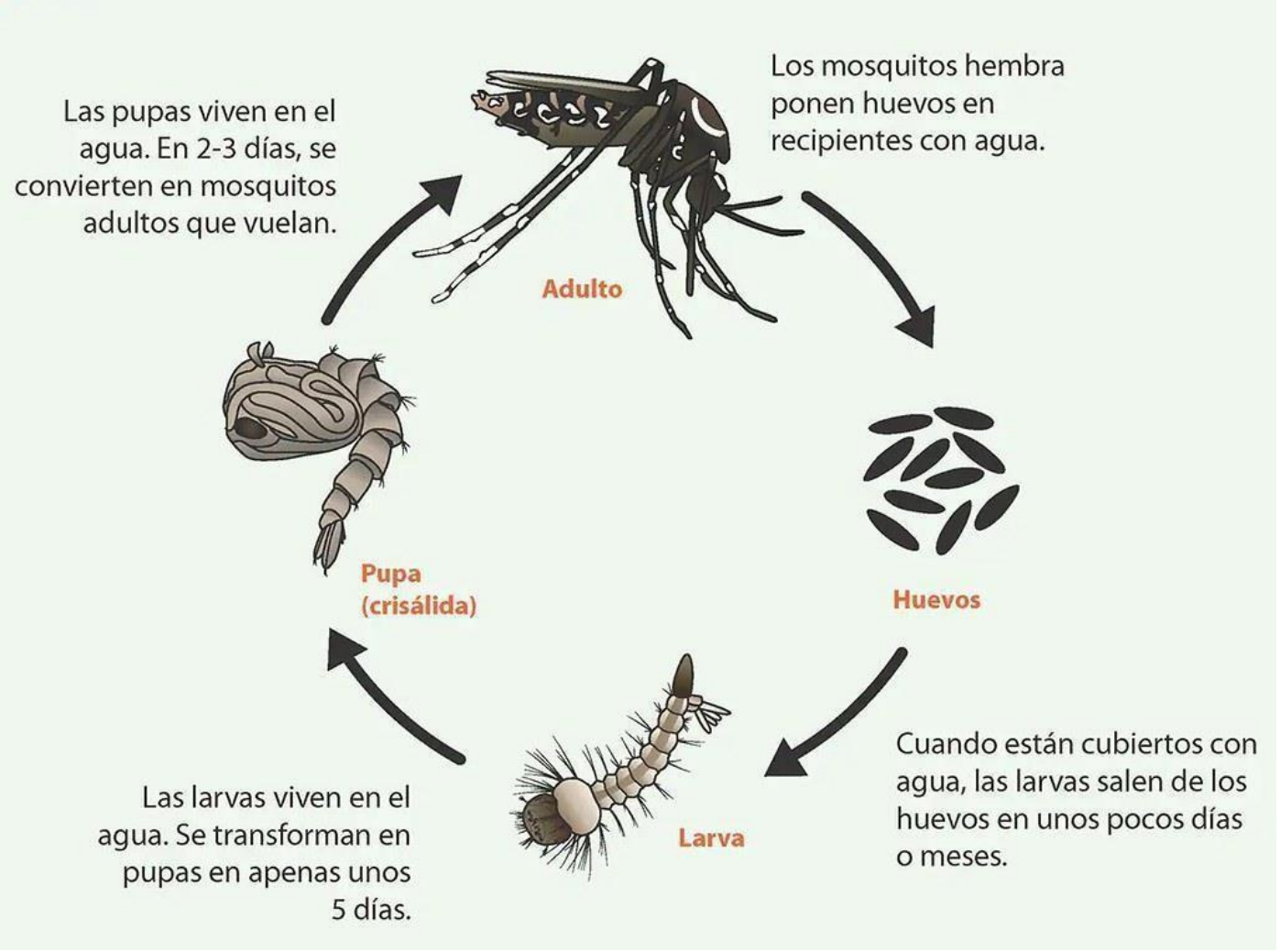
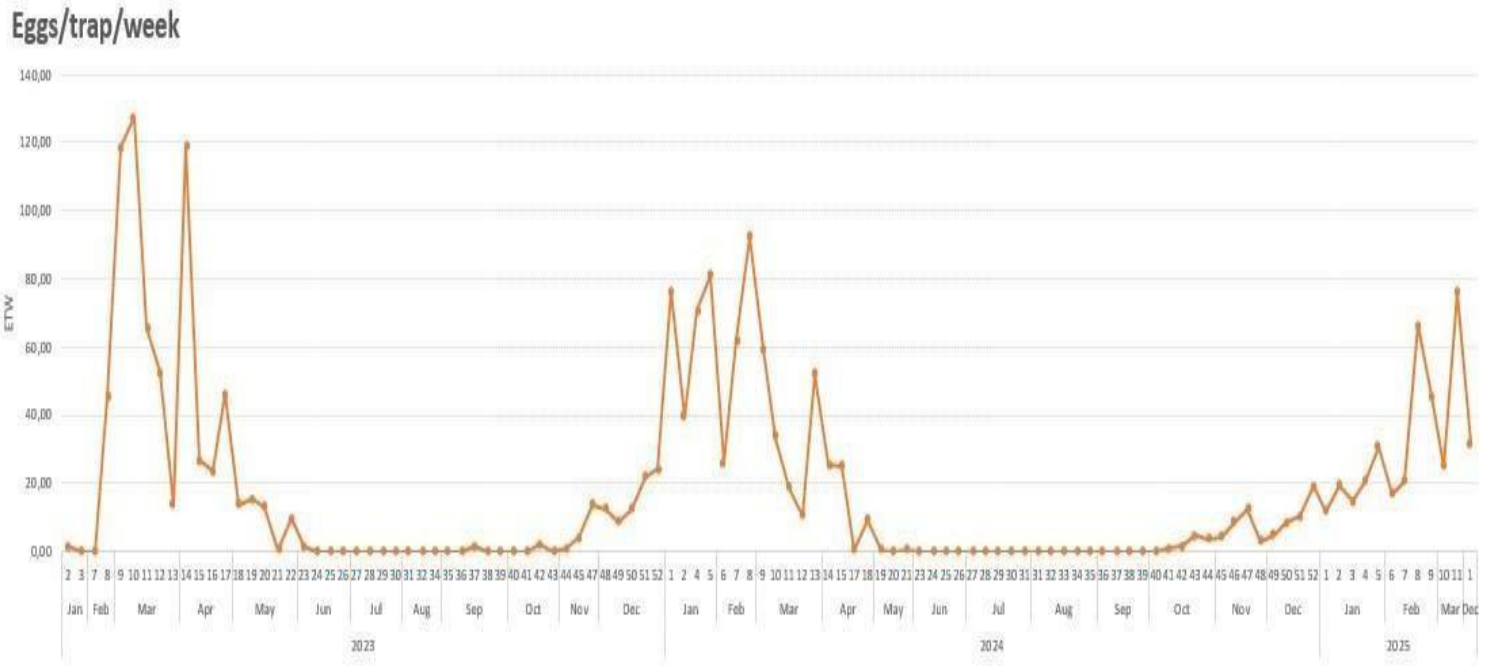


Imagen 5: ciclo de vida del *Aedes aegypty.* Ministerio de Salud de la Nación.2021

La conjunción entre las características ecológicas y reproductivas de *Ae. aegypti* y los principios de la TIE hacen de esta técnica una herramienta ideal para su control. Su baja dispersión permite liberar machos en zonas específicas con alta eficacia, su reproducción rápida permite observar impactos poblacionales en corto plazo, y su asociación con entornos urbanos permite una planificación territorial estratégica. La clave del éxito radica en liberar machos estériles que mantengan una capacidad de cópula igual, en el mejor de los casos, pero nunca superior a la de los machos silvestres, lo cual exige procesos de cría e irradiación bien ajustados. (Imagen 6).

A)



B)

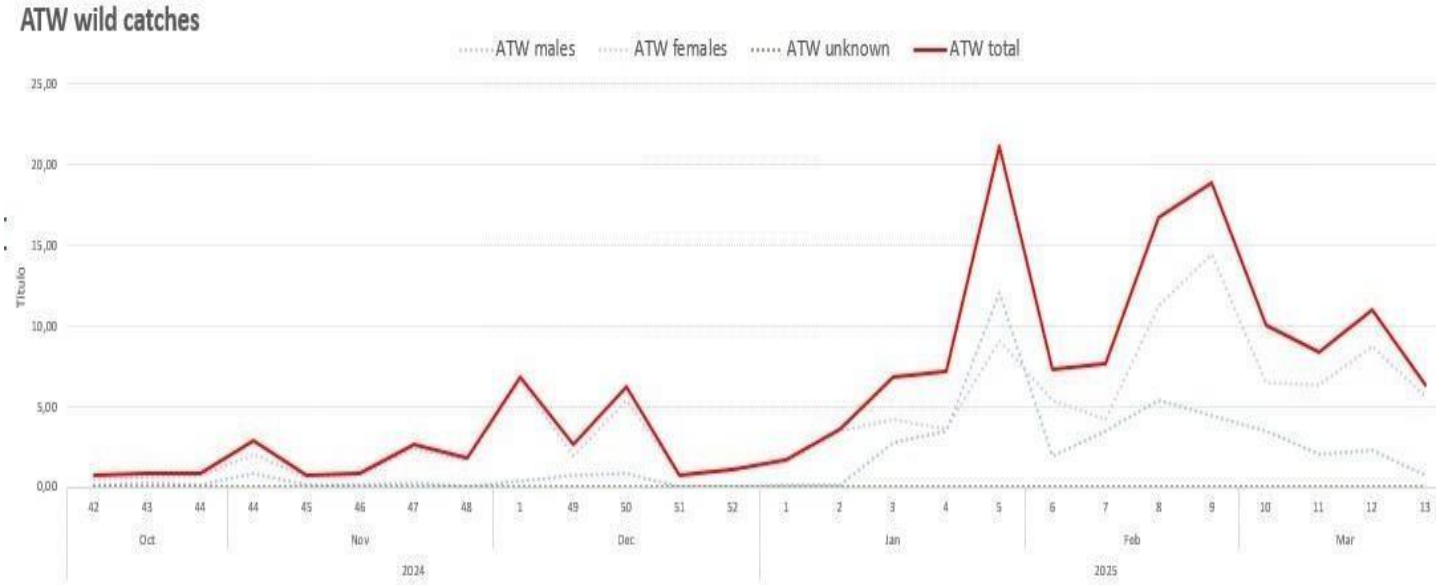


Imagen 6: Distribución poblacional temporal de *Ae. aegypti* en un barrio de Ezeiza provincia de Buenos Aires durante los años 2023- 2025. A) huevos colectados por trampa por semana (egg-trap-week) B) adultos colectados por trampa por semana (ATW wild catches) entre octubre de 2024 y marzo de 2025 (Garcia Alba et al., 2025)

Si bien tradicionalmente la irradiación se ha aplicado en la fase pupal por motivos de logística, estudios recientes como el de Tussey et al. (2023) demostraron que irradiar en estadio adulto ofrece ventajas considerables como son aquellas relacionadas al uso de agua para la irradiación en estado de pupa, lo cual hace que el efecto de la radiación se vea intensificado por el daño indirecto en el ADN y otras estructuras celulares, producto de la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) debida a la radiólisis del agua. En adultos, la absorción de la dosis es más uniforme y se minimizan daños físicos que pueden afectar la calidad del insecto. Además, se preserva mejor la capacidad de vuelo y comportamiento reproductivo, elementos esenciales para la eficacia en campo. Por ello, la irradiación de adultos se considera una innovación clave para optimizar la implementación de la TIE.

2- Hipótesis

2.1-Hipótesis general

La aplicación de distintas combinaciones de dosis de irradiación, procedimientos de marcado y manipulación logística sobre machos adultos de *Ae. aegypti* permite reducir significativamente la fertilidad sin afectar la fecundidad, lo que las convierte en estrategias viables para su implementación en programas de control poblacional mediante la Técnica del Insecto Estéril (TIE).

2.2-Hipótesis específicas

1. Efecto de la dosis de irradiación

Dosis crecientes de radiación gamma aplicadas a machos adultos de *Ae. aegypti* reducen de manera significativa el porcentaje de eclosión de huevos (fertilidad), sin afectar de forma significativa la cantidad de huevos depositados por hembra (fecundidad).

2. Efecto del enfriamiento y del marcado fluorescente

El procedimiento de enfriamiento y el marcado con pigmentos fluorescentes no afectan significativamente la capacidad reproductiva (fecundidad y fertilidad) de los machos adultos de *Ae. aegypti* en comparación con controles no marcados y no irradiados.

3. Comparación entre fuentes de irradiación

Las fuentes de radiación gamma Gammacell y PISI, aplicadas a dosis equivalentes, inducen niveles similares de esterilidad en machos adultos de *Ae. aegypti*, sin diferencias significativas en la fecundidad de las hembras con las que copulan.

4. Selección de tratamientos óptimos

Existen combinaciones de tratamiento (por ejemplo, 60 o 65 Gy con o sin marcado) que permiten alcanzar alta fecundidad, con fertilidad residual cercana a cero, lo que las convierte en opciones óptimas para programas TIE.

5. Impacto del doble fondo durante el enfriamiento

La incorporación de un doble fondo plástico en los frascos de emergencia reduce de forma significativa la pérdida de individuos adultos durante el proceso de enfriamiento previo a la irradiación, en comparación con frascos sin este dispositivo.

3- Objetivos

3.1-Objetivo general

Evaluar el efecto de distintas dosis de irradiación, marcado y manipulación sobre la fertilidad y fecundidad de *Ae. aegypti*, con el propósito de identificar combinaciones eficaces para su implementación en programas de control poblacional mediante la Técnica del Insecto Estéril (TIE).

3.2-Objetivos específicos

1. Determinar el efecto de diferentes dosis de irradiación sobre el porcentaje de eclosión y la fecundidad de los insectos tratados para la confección de una curva de dosis respuesta.
2. Evaluar el impacto biológico del enfriamiento y marcado y cómo esto afecta la capacidad reproductiva (número de huevos por hembra) y la fertilidad de las hembras.
3. Comparar la eficacia de dos fuentes de radiación (Gammacell vs. PISI) en términos de esterilidad inducida y conservación de la fecundidad.
4. Identificar los tratamientos que logren mantener una alta fecundidad con baja fertilidad, como criterio clave para la aplicación de la TIE.
5. Establecer criterios comparativos de selección de tratamientos basados en la relación entre eficacia biológica, viabilidad operativa y aplicabilidad en estrategias de control vectorial.
6. Evaluar la eficacia del uso de un doble fondo plástico dentro de los frascos de emergencia como medida preventiva para reducir la mortalidad de machos adultos de *Ae. aegypti* durante el procedimiento de enfriamiento previo a la irradiación.

4- Materiales y Métodos

4.1. Cría de colonias de *Ae. aegypti*

La cría de *Ae. aegypti* se llevó a cabo siguiendo los lineamientos del manual técnico de la FAO/OIEA "*Guidelines for Routine Colony Maintenance of Aedes Mosquito Species*" (Versión 1.0, 2021). La colonia utilizada provino del Centro Atómico Ezeiza (CNEA), correspondiente al Barrio 1, filial F10–F12, y fue mantenida bajo condiciones ambientales controladas: temperatura de 27 ± 1 °C, humedad relativa del 70–80 % y fotoperiodo 12:12 (Luz: oscuridad).

La única modificación respecto del protocolo original fue la dieta larval, cuya composición específica (Alimento para carpas King yu) fue proporcionada por personal técnico del proyecto y utilizada de manera consistente en todas las cohortes criadas.

4.2. Separación sexual y preparación de adultos para irradiación

La separación de sexos se realizó en estadio de pupa mediante un separador mecánico (Imagen 7), aprovechando el dimorfismo sexual característico de la especie: las pupas de las hembras presentan mayor tamaño corporal y quedan retenidas en el dispositivo, mientras que las de los machos, más pequeñas, atraviesan el canal. Esta clasificación inicial fue verificada bajo lupa estereoscópica observando características morfológicas diferenciales tales como la forma y orientación de la aleta anal. Solo se seleccionaron machos confirmados. (Imagen8).



Imagen 7: Separador manual

Posteriormente, se colocaron aproximadamente 1000 pupas macho en frascos plásticos de 3 litros con 50–100 mL de agua para facilitar la emergencia (Imagen 9). A las 24 horas se ofreció un algodón humedecido con solución azucarada al 10 % para alimentación de los adultos. A las 48 hs. se retiraron exuvias mediante drenaje y se secó el interior del frasco con una lámpara de sodio durante 1–2horas.

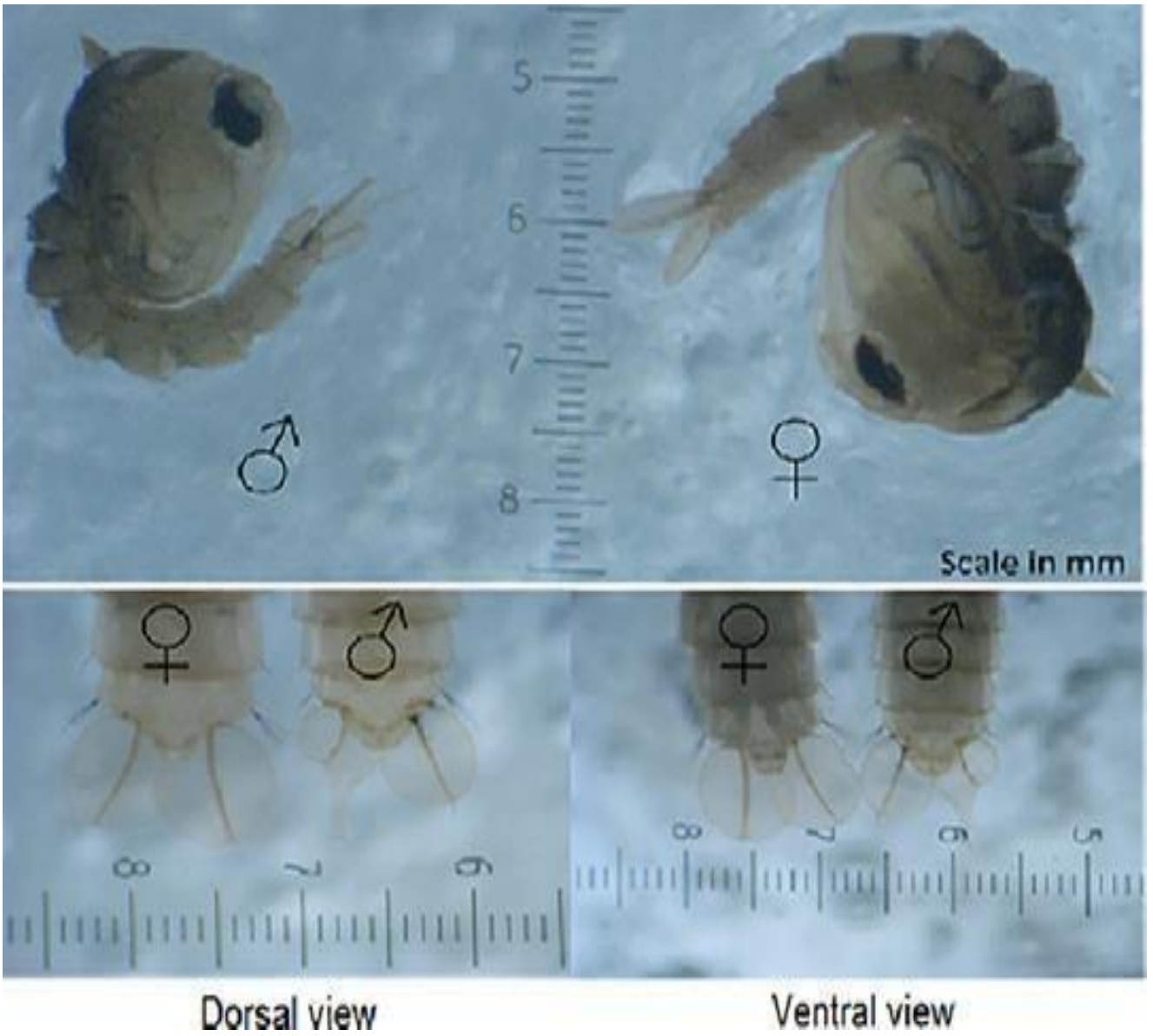


Imagen 8: Dimorfismo sexual en estado de pupa. (Carvalho et al., 2014).





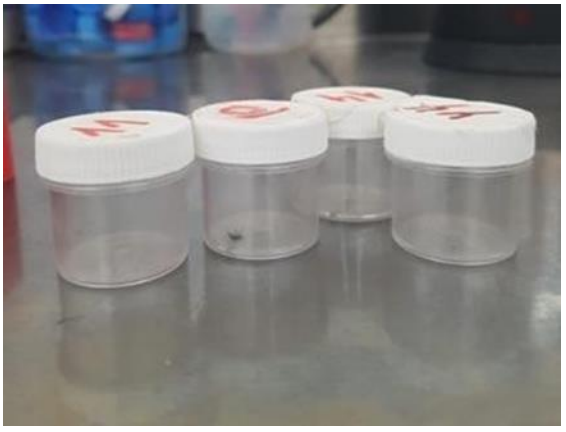
Imagen 9: frascos de emergencia.

4.3. Enfriamiento y transferencia

Los frascos fueron colocados en una heladera industrial a 4–8 °C durante 10–15 minutos para facilitar la inmovilización de los adultos (Imagen 10). Luego, los mosquitos se transfirieron cuidadosamente a canisters (Imagen 11), que fueron montados en gradillas e introducidos en una conservadora con geles fríos (Imagen 12), manteniendo una temperatura constante de 6–8 °C hasta su irradiación.



Imagen 10: Heladera tipo industrial



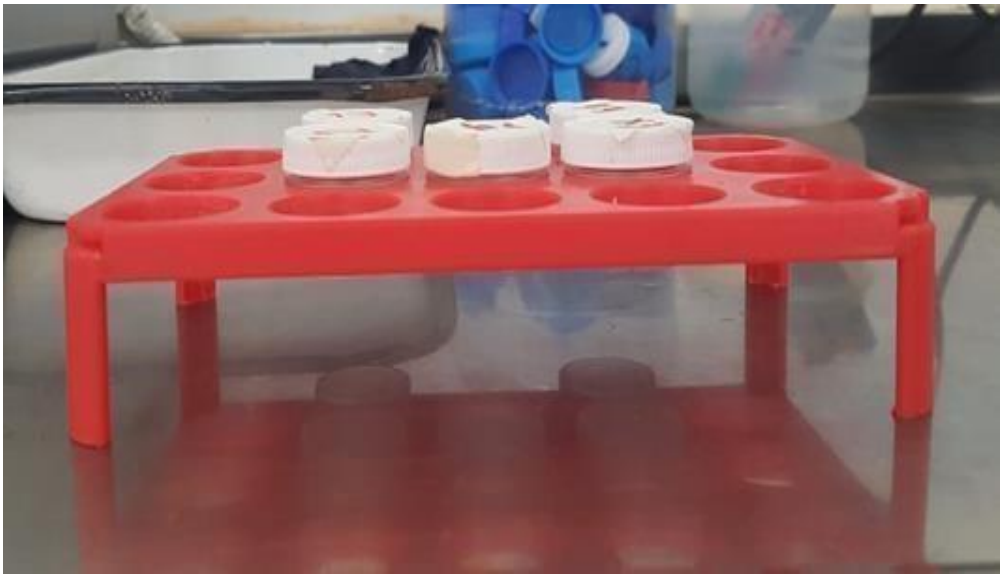


Imagen 11: Canister de irradiación.

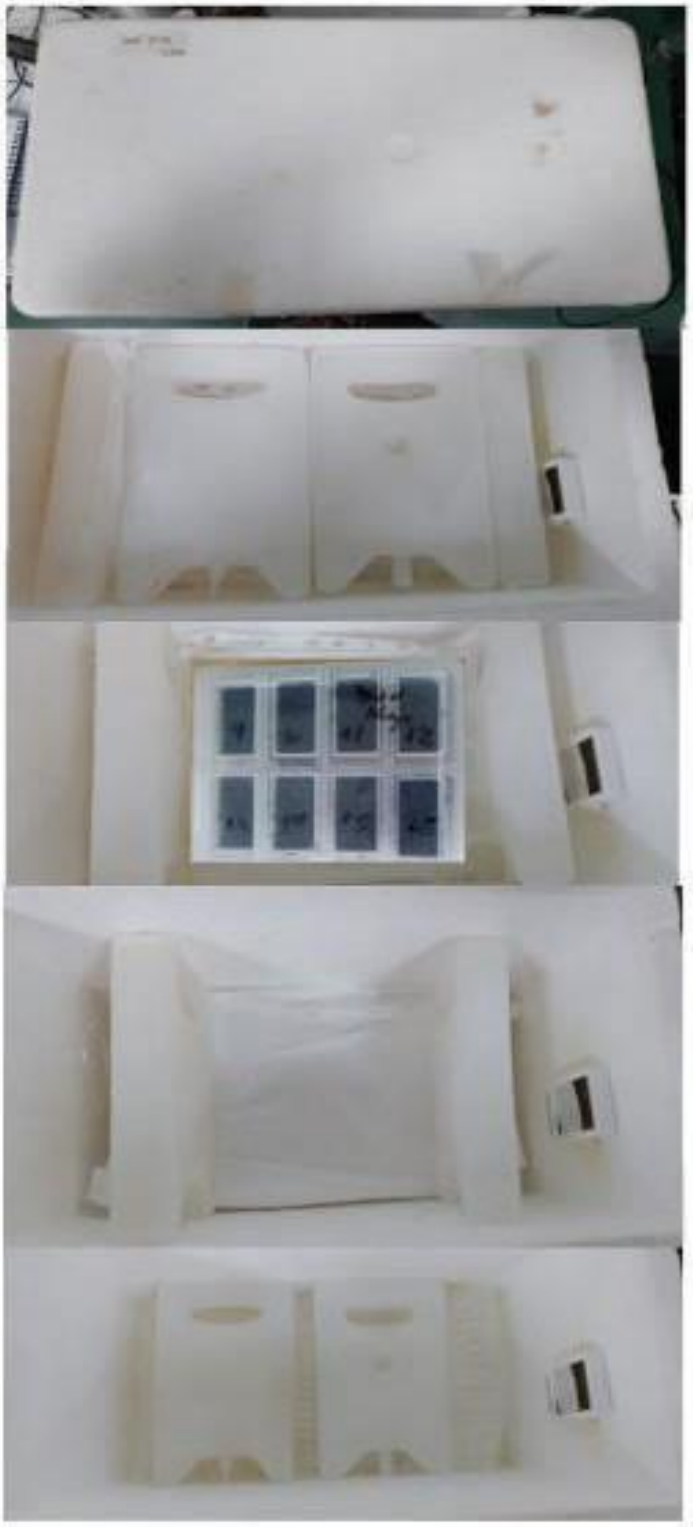
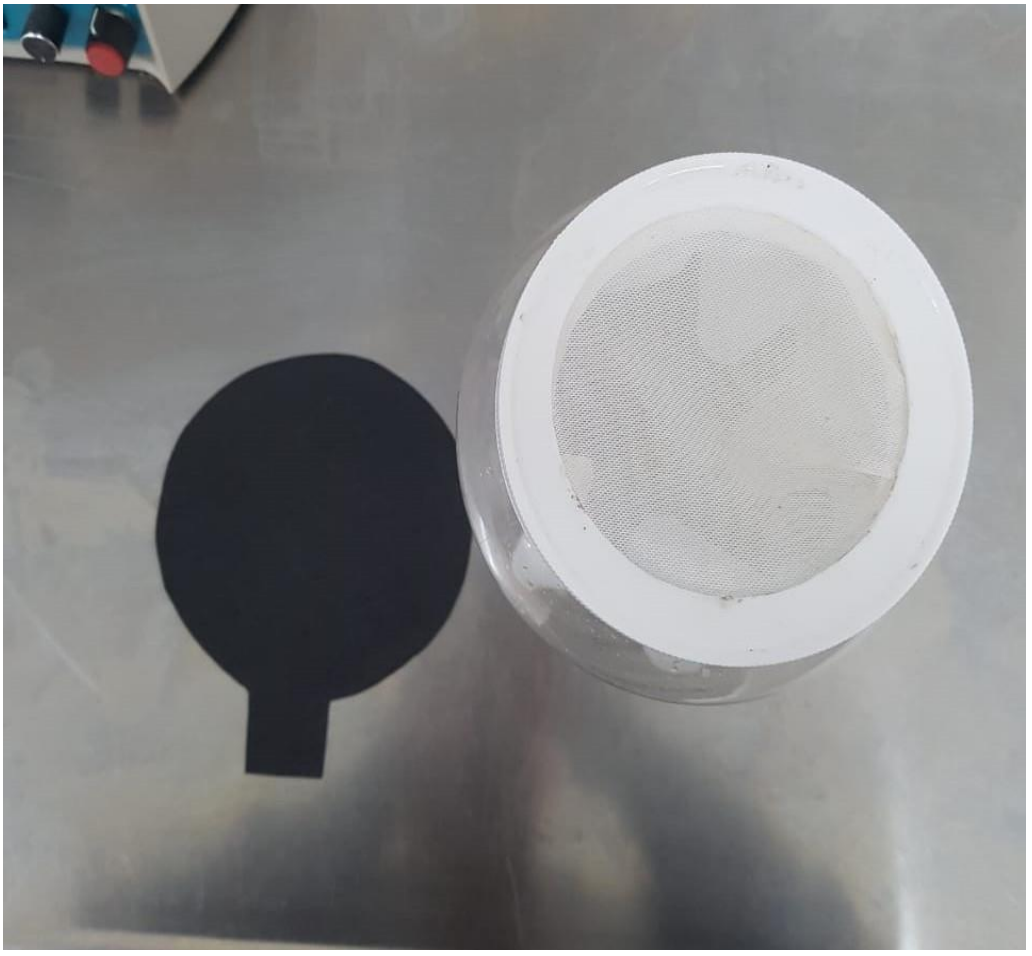


Imagen 12: Conservadora con geles fríos.

Durante este proceso se observaron pérdidas por adherencia al fondo del frasco debido a humedad residual y acumulación de exuvias. Para minimizar estas pérdidas se incorporó un doble fondo plástico removible que actuó como plataforma elevada (Imagen 13), evitando el contacto directo con las superficies húmedas. Esta mejora fue incorporada como parte del protocolo y evaluada en un ensayo específico



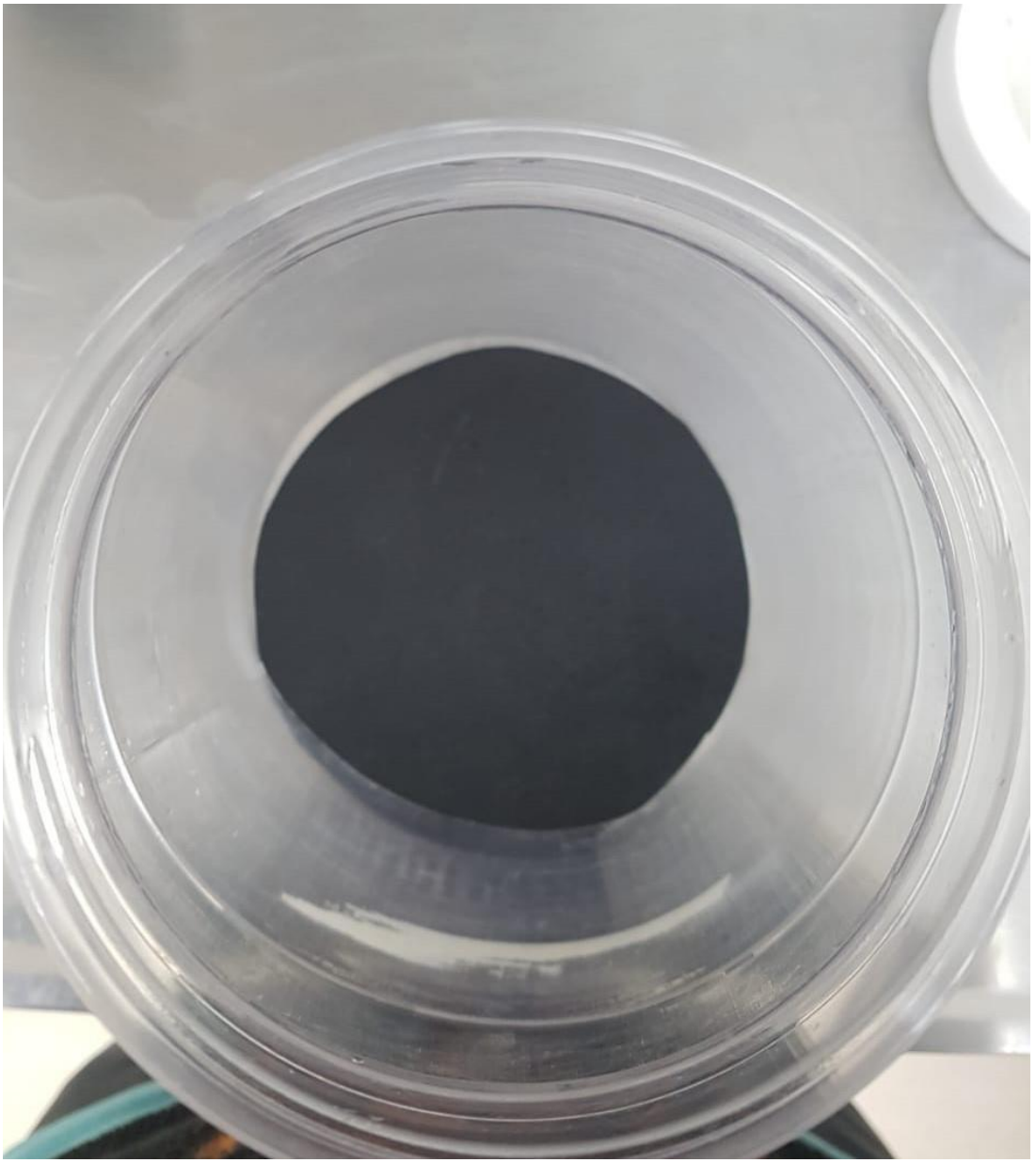


Imagen 13. Doble fondo plástico, que funciona como plataforma elevada.

4.4. Irradiación de adultos

La irradiación se realizó utilizando los equipos Gammacell 220 (Imagen 14) y PISI (Imagen 15), ambos ubicados en el Centro Atómico Ezeiza. Se aplicaron dosis de 40, 50, 60, 65 y 70 Gy (15 Gy/min) según el objetivo que se evaluó en cada ensayo. Los parámetros de dosimetría se establecieron con dosímetros de alanina calibrados en el Laboratorio de Altas Dosis (CNEA).



Imagen 14: Equipo Gammacell junto a sus operadores

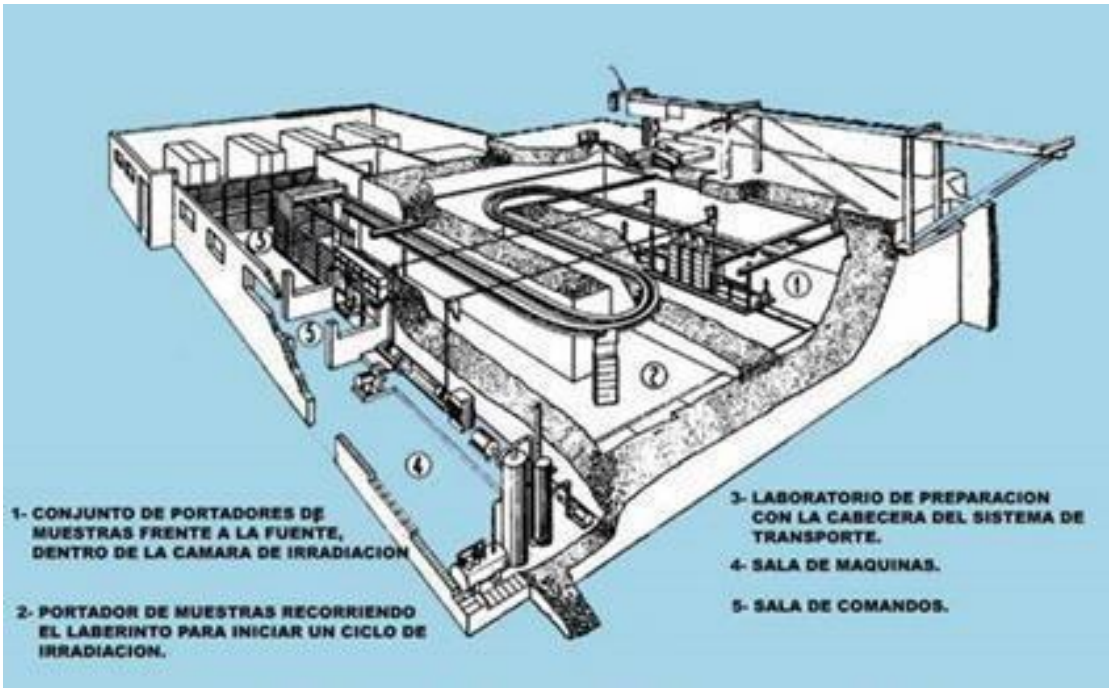




Imagen 15: Planta de Irradiación Semi Industrial.(PISI)

4.5. Justificación del diseño experimental y selección de dosis

Se establecieron controles (0 Gy y 0 Gy + frío) para evaluar el efecto del enfriamiento sobre la calidad reproductiva. Una vez comprobado que el frío no afectaba negativamente, se evaluaron dosis crecientes (40–70 Gy), elegidas en función de antecedentes sobre irradiación en pupas y adultos. Posteriormente, se diseñaron ensayos para evaluar mejoras logísticas, como el uso del doble fondo y el impacto del marcado.

4.6. Acoplamiento y evaluación reproductiva

Tras la irradiación, los machos de cada tratamiento fueron colocados en jaulas de 15 × 15 cm (Imagen 16) con hembras vírgenes (proporción 1 macho: 3 hembras). Se les suministró solución azucarada al 10 % durante 48 h para permitir la cópula. Luego se retiraron los machos y se inició alimentación con sangre bovina mediante sistema Hemotek (Imagen 17) durante 1–2 h diarias durante 3 días consecutivos.

Después de la alimentación, se colocaron ovitrampas (Imagen 18) por una semana. Los papeles con huevos (Imagen 19) fueron secados al aire para promover la embriogénesis por 48 h y luego colocados en solución de levadura (0,18 g/L) durante 24 h para inducir la eclosión. Se contabilizaron huevos totales, eclosionados y no eclosionados.



Imagen 16: Jaulas en donde fueron colocados machos irradiados y hembras vírgenes, para que se produzca la cópula.



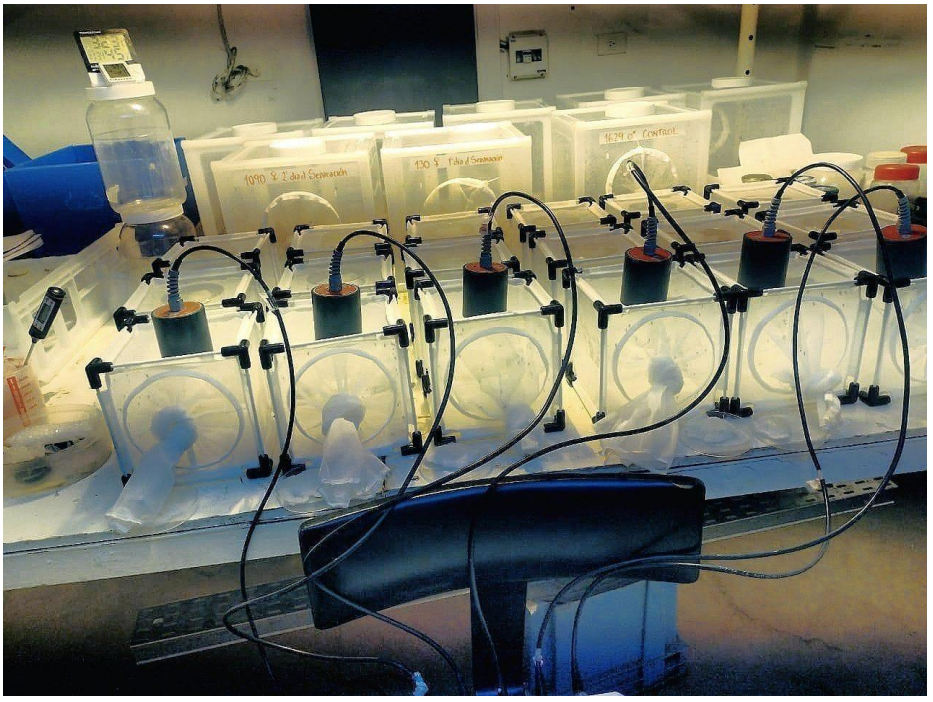


Imagen 17: Sistema de alimentación con sangre (Hemotek)



Imagen 18: ovitrampas con papeles donde oviponen las hembras de mosquitos.

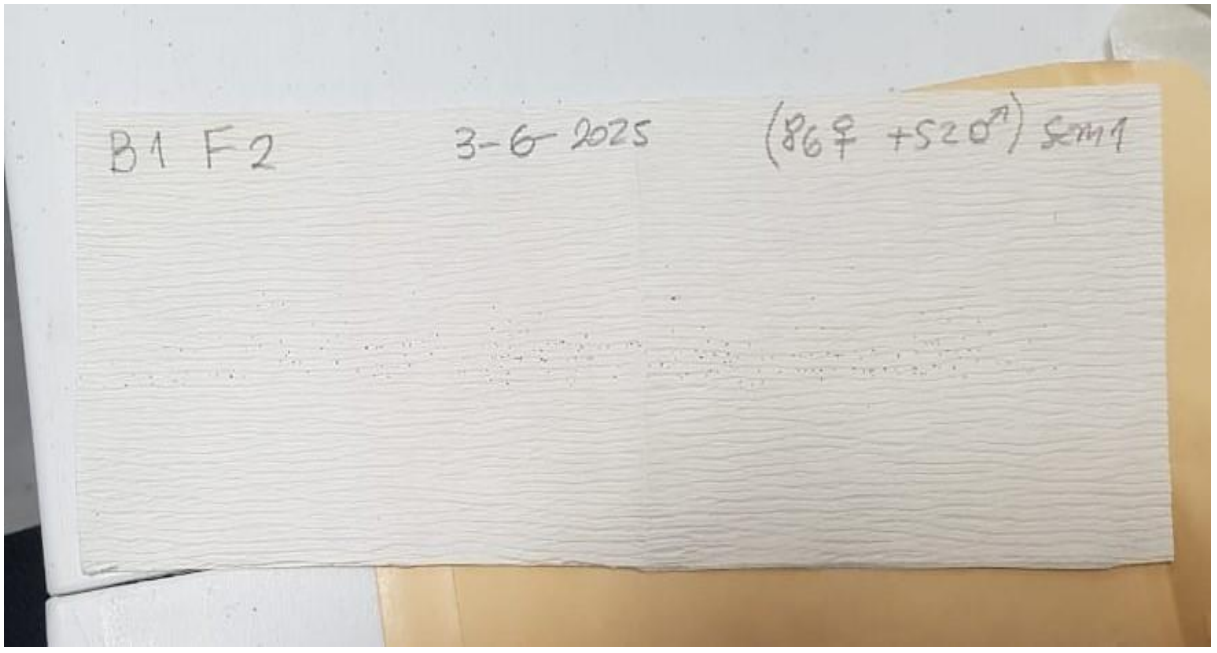


Imagen 19: papeles de oviposición con huevos

4.7. Ensayos experimentales

Ensayo 1 – Curva dosis–respuesta en adultos machos de *Aedes aegypti*

Objetivo: Evaluar el efecto de distintas dosis (0, 40, 50, 60, 70 Gy) sobre fertilidad y fecundidad.

Diseño: Se realizaron apareamientos controlados entre 20 machos provenientes de los distintos tratamientos (6 tratamientos) y 60 hembras vírgenes siguiendo el procedimiento descrito en la sección 4.6. Esto se realizó por triplicado para cada tratamiento. El total de ejemplares utilizados fue de 360 machos y 1080 hembras.

Evaluaciones: Huevos por hembra y % de eclosión.

Ensayo 2 –Evaluación del doble fondo

Objetivo: Determinar si el doble fondo reduce la pérdida de adultos por enfriamiento. Diseño: Para evaluar el efecto producido por la incorporación del doble fondo, se realizó un ensayo en el cual se utilizaron dos tratamientos: un control utilizando el procedimiento habitual y otro con la incorporación de la mejora, realizándose un total de 7 réplicas para el tratamiento tradicional y 8 para la mejora.

Evaluación: Número de individuos recuperados del frasco post-enfriamiento (perdida).

Ensayo 3 – Efecto del marcado fluorescente

Objetivo: Evaluar si el marcado afecta la calidad reproductiva de los machos irradiados. Diseño: Se realizaron apareamientos controlados entre 10 machos provenientes de los distintos tratamientos (4 tratamientos) y 30 hembras vírgenes siguiendo el procedimiento descrito en la sección 4.6. Esto se realizó por cuadruplicado para cada tratamiento. El total de ejemplares utilizados fue de 160 machos y 480 hembras. Para el marcado de los machos se utilizó colorante tipo fluoresceína (0.0125 gr por cada 1000 individuos) siguiendo el protocolo establecido por el personal dentro del laboratorio.

Evaluaciones: Huevos por hembra y % de eclosión.

Ensayo 4 – Comparación entre equipos de radiación

Objetivo: Comparar eficacia entre Gammacell y PISI con 65 y 70Gy.

Diseño: Se realizaron apareamientos controlados entre 20 machos provenientes de los distintos tratamientos (6 tratamientos) y 60 hembras vírgenes siguiendo el procedimiento descrito en la sección 4.6. Esto se realizó por triplicado para cada tratamiento. El total de ejemplares utilizados fue de 360 machos y 1080 hembras.

Evaluaciones: Huevos por hembra y % de eclosión.

4.8. Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con el software R (v4.0.4). Se verificaron los supuestos de normalidad (Shapiro-Wilk) y homogeneidad de varianzas (Levene). Para variables que cumplieron ambos criterios, se aplicó ANOVA seguido de prueba post hoc de Tukey para comparaciones múltiples. En los casos donde no se cumplían los supuestos paramétricos, se utilizaron pruebas no paramétricas como Kruskal-Wallis para comparaciones de más de dos grupos y Mann-Whitney para comparaciones entre dos tratamientos los cuales no tienen un número de réplicas balanceadas.

Para cada variable (fecundidad y fertilidad) se reportaron los valores medios, desviaciones estándar y niveles de significancia estadística ($p < 0.05$). Los gráficos de cajas y barras se utilizaron para representar la distribución de los datos y facilitar la visualización de las diferencias entre tratamientos.

5. Resultados

5.1. Curva de dosis- respuesta

Se evaluaron seis tratamientos para determinar el porcentaje de eclosión y la cantidad de huevos por hembra en mosquitos *Aedes*. (Tabla 1) Respecto a la cantidad de huevos por hembra, los tratamientos con mayores promedios fueron el de 40 Gy (11,1) y el de 60 Gy (11,2), mientras que el tratamiento 2 que es 0 Gy + enfriamiento presentó un valor de 4.9 y el tratamiento 6 que es 70 Gy, un valor intermedio(6.1). (Gráfico 1A) El porcentaje de eclosión mostró valores altos en el tratamiento 2 que es 0 Gy +enfriamiento (85,6%) y en menor medida en el control (tratamiento 1: 54,46%), mientras que disminuyó progresivamente con el aumento de la dosis de irradiación, alcanzando los valores más bajos en los tratamientos 5 de 60 Gy (0,17%) y 6 de 70 Gy (0,02%) (Gráfico 1B). Los tratamientos también mostraron distintas variaciones en la dispersión de los datos, con desviaciones estándar más altas en los tratamientos control, 40 Gy y 50 Gy. En conjunto, el gráfico evidencia una **clara reducción en la eclosión asociada al aumento de la dosis de irradiación**.

Tratamiento	Descripción	Número de Huevos por Hembra	Porcentaje de Eclosión
1	Control (0Gy)	3.8 ± 4.1	54.5 ± 47.2
2	0Gy + Frío	4.9 ± 3.7	85.6 ± 11.2
3	40 Gy	11.1 ± 5.6	6.1 ± 3.8
4	50 Gy	8.7 ± 5.9	2.1 ± 1.2
5	60 Gy	11.2 ± 4.7	0.2 ± 0.3
6	70 Gy	6.1 ± 2.9	0.2 ± 0.4

Tabla 1- Tabla resumen. Las columnas de la tabla son de izquierda a derecha: tratamiento, media ± desvío estándar, del número de huevos colocados por las hembras y el porcentaje de eclosión de los mismos.

Gráfico 1A

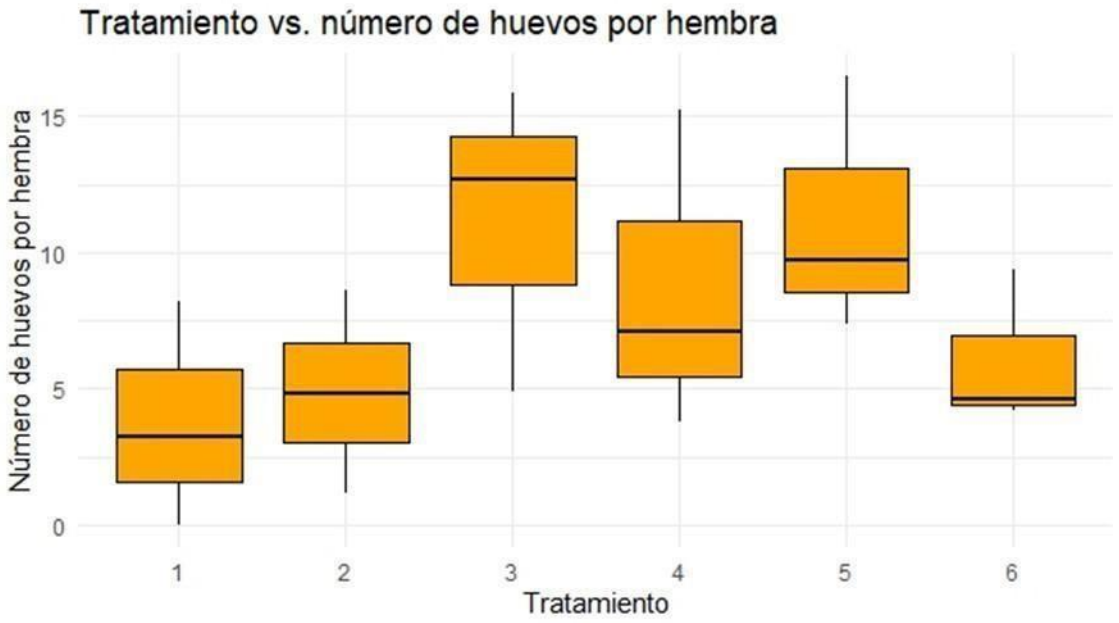


Gráfico 1B

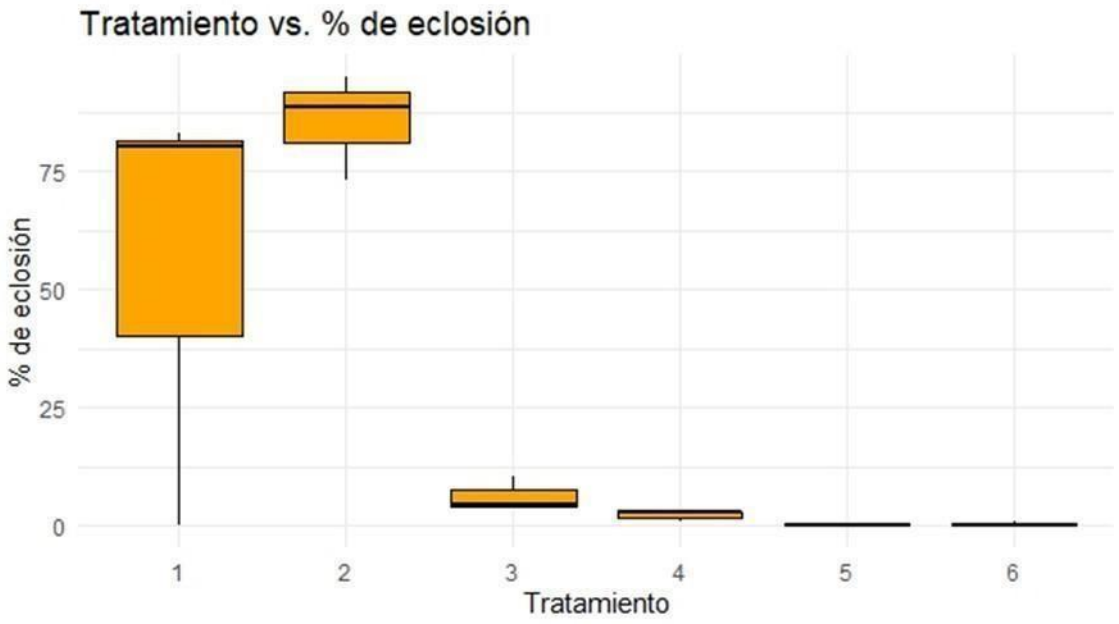


Gráfico 1: A) Número de huevos por hembra, B) % de Eclosión de huevos vs los distintos tratamientos. (Media ± SD). Tratamiento 1: control; Tratamiento 2: 0 Gy + enfriamiento; Tratamiento 3: 40 Gy; Tratamiento 4: 50 Gy; Tratamiento 5: 60 Gy; Tratamiento 6: 70 Gy.

Comparación de tratamientos: ANOVA y Tukey

Debido al incumplimiento del supuesto de normalidad de los residuos en la variable número de huevos y % de eclosión (Shapiro-Wilk p = 0.00012), se aplicó para la evaluación de estos parámetros el test no paramétrico de Kruskal-Wallis. No se detectaron diferencias significativas en el número de huevos colocados por las hembras entre los distintos tratamientos. (p = 0.243). El porcentaje de eclosión mostró diferencias significativas (χ^2 = 12.212, p = 0.032), se observaron diferencias significativas entre el porcentaje de eclosión de los huevos provenientes de los machos no irradiados y enfriados con respecto a los huevos provenientes de cópulas entre machos irradiados y hembras control independientemente de la dosis utilizada.

Comparación de tratamientos 3 a 6

En el marco de este ensayo, se identificaron los tratamientos 3, 4, 5 y 6 (40, 50,60 y 70 Gy, respectivamente) con **baja fertilidad** (bajo % de eclosión) sin diferencias significativas en fecundidad general entre ellos. Para mejorar esta selección, y poder determinar la dosis adecuada para llevar a cabo las próximas irradiaciones, se realizó una comparación post-hoc (Tukey HSD) **restringida a estos cuatro tratamientos**, cuyos resultados fueron los expresados en la Tabla 2.

Tratamiento	Dosis	Media ± SD	Significancia
3	40 Gy	6.13 ± 3.79	A
4	50Gy	2.11 ± 1.18	Ab
5	60Gy	0.17 ± 0.30	B
6	70 Gy	0.22 ± 0.39	B

Tabla 2: Resultado de la prueba Tukey. Curva de dosis-respuesta. En la tabla se presentan las medias ±SD. Letras distintas significan diferencias significativas. F=12.212, p = 0.032

5.2. Evaluación de doble fondo en el proceso de enfriamiento

Este ensayo tuvo como objetivo evaluar el efecto de la incorporación de un doble fondo plástico removible en los frascos de emergencia para reducir las pérdidas de adultos tras el proceso de enfriamiento y armado de muestras para irradiar.

Se compararon dos tratamientos:

Tratamiento 1 (T1): frascos sin doble fondo (control)
Tratamiento 2 (T2): frascos con doble fondo plástico incorporado

La variable registrada fue el número de individuos que quedaron adheridos al frasco (perdida) tras el proceso de enfriamiento y traspaso a los canister de irradiación. Los datos obtenidos fueron de tipo discreto y los tamaños muestrales entre tratamientos no fueron iguales, por lo que se aplicó el test no paramétrico de Mann-Whitney U (Wilcoxon Rank Sum Test con corrección por continuidad) para evaluar diferencias entre grupos.

El resultado del análisis fue: W=4851, p=0,0398 (Gráfico 2)

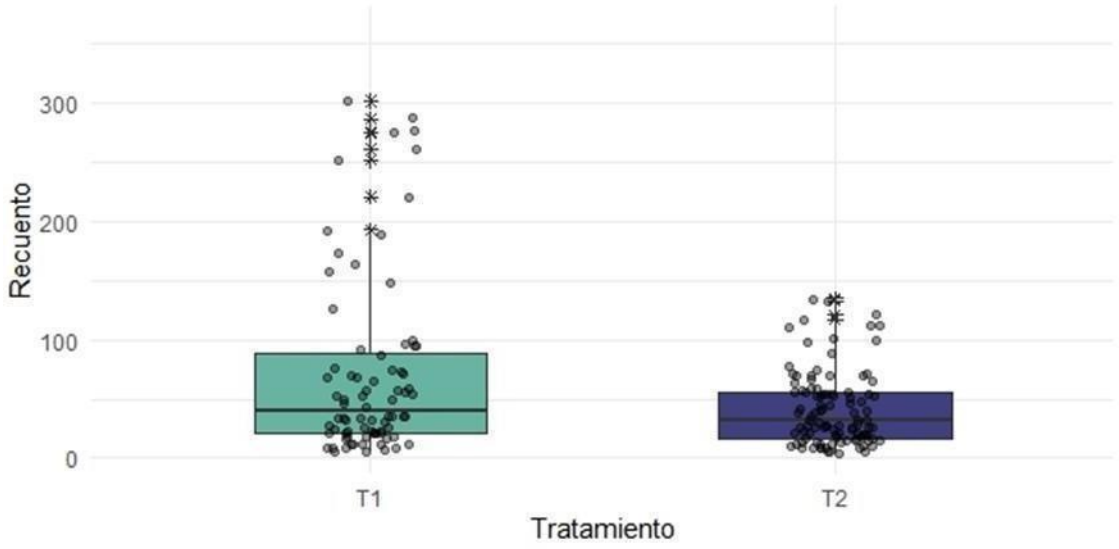


Gráfico 2: Gráfico box-plot de comparación de recuento de adultos adheridos al frasco (perdida) luego del proceso de enfriamiento, de la manera tradicional (T 1: sin fondo) y con la incorporación del doble fondo (T 2).Test de Mann-Whitney (W=4851,p=0,0398)

5.3. Evaluación de enfriamiento y marcado

La tabla 3 presenta los resultados de cuatro tratamientos aplicados a mosquitos, evaluando el porcentaje de eclosión y el número de huevos por hembra. En cuanto al número de huevos por hembra, los valores más altos corresponden al **tratamiento 1 que es control (14,41)** y al **tratamiento 4 que es 65 Gy marcados (12,93)**, seguidos de cerca por el **tratamiento 3 que es 65 Gy sin marcar (11,96)**, mientras que el **tratamiento 2 (0 Gy + frío + marcado)** muestra el valor más bajo (9,54). Las desviaciones estándar indican que hubo mayor dispersión en el número de huevos en el tratamiento 1 (control). (Gráfico 3A)

El **tratamiento 1 (control)** y el **tratamiento 2 (0 Gy + frío + marcado)** muestran medias de eclosión elevadas (76,72% y 77,97%, respectivamente), con alta variabilidad en el control. En cambio, los tratamientos con **65 Gy** muestran eclosión casi nula, tanto en **no marcados (tratamiento 3)** como en **marcados (tratamiento 4)**, con medias de 0,25 % y 0,74 % respectivamente. (Gráfico 3B)

Tratamiento	Descripción	Número de Huevos por Hembra	Porcentaje de Eclosión
1	Control (0Gy)	14.41 ± 7.07	76.72 ± 10.58
2	0Gy + Frío + marcado.	8.54 ± 4.75	77.97 ± 16.96
3	65 Gy sin marcar.	11.97± 4.75	0.25 ± 0.20
4	65 Gy marcados.	13.30 ± 1.36	0.74 ± 0.62

Tabla 3- Tabla resumen. Las columnas de la tabla son de izquierda a derecha: tratamiento, media ± desvío estándar, del número de huevos colocados por las hembras y el porcentaje de eclosión de los mismos.

Gráfico 3A

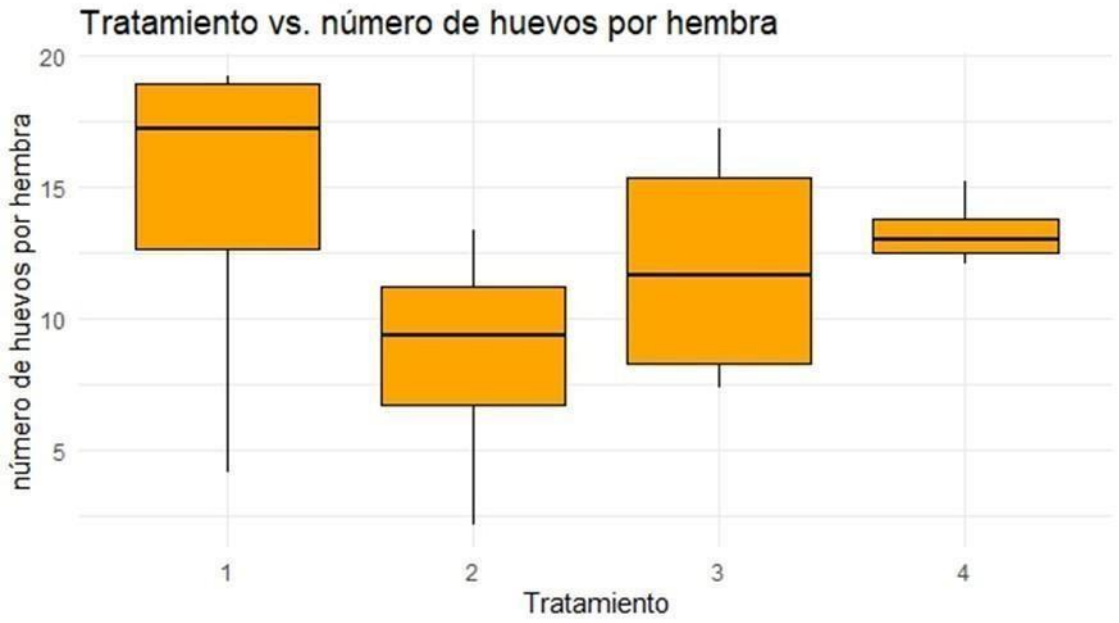


Gráfico 3B

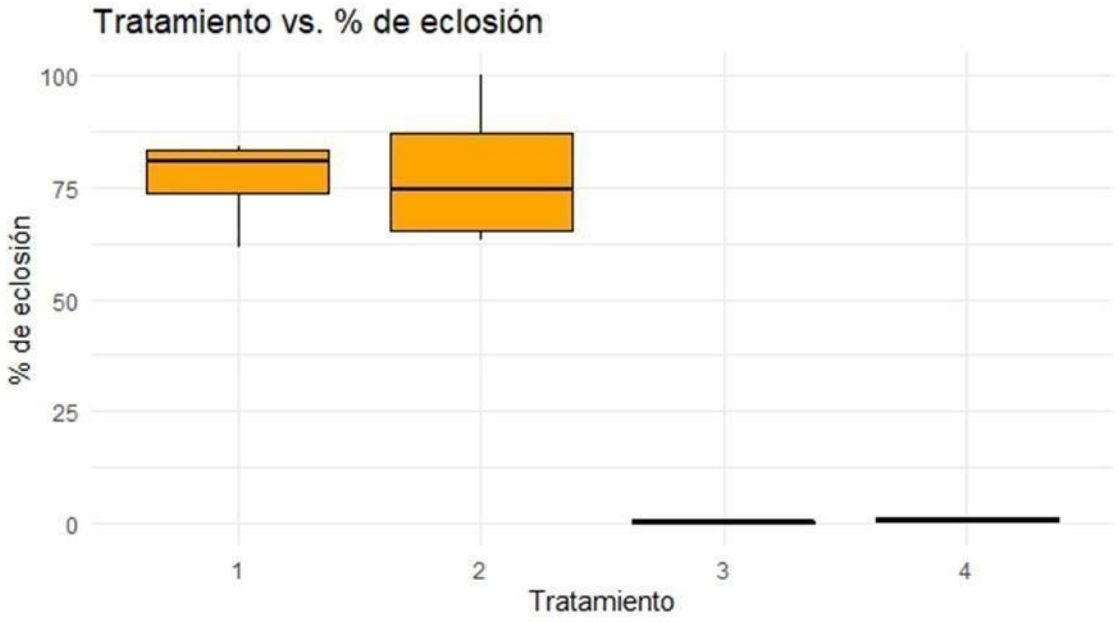


Gráfico 3: A) Número de huevos por hembra, B) % de Eclosión de huevos vs los distintos tratamientos. (Media ± SD). Tratamiento 1: control; Tratamiento 2: 0 Gy + Frío + marcado; Tratamiento 3: 65 Gy sin marcar; Tratamiento 4: 65 Gy marcados.

Comparación de tratamientos: ANOVA y Tukey

Este ensayo cumplió con los supuestos de normalidad (Shapiro-Wilk p = 0.060) y homogeneidad de varianzas (Levene p = 0.48), por lo que se utilizó ANOVA seguido de prueba de Tukey. El número de huevos colocados por las hembras no varió significativamente. (F = 1.069, p = 0.399).

El porcentaje de eclosión se analizó mediante un ANOVA y reveló diferencias altamente significativas (F = 78.79, p= 3.65e-08). (Tabla 4). Las diferencias significativas se deben al efecto producido por la irradiación y no debido al marcado de los machos.

Tratamiento	Dosis	Media ± SD	Significancia
1	**control (0 Gy)**	**76.72 ± 10.57**	**a**
2	**0 Gy + frío + marcado**	**77.97 ± 16.95**	**a**
3	**65 Gy sin marcar**	**0.25 ± 0.28**	**b**
4	**65 Gy marcados**	**0.74 ± 0.79**	**b**

.

Tabla 4: resultado de la prueba Tukey. Evaluación de enfriamiento y marcado. En la tabla se presentan las medias ±SD. Letras distintas significan diferencias significativas. (F = 78.79, p < < 0.01)

5.4. Comparación entre equipos de irradiación

La tabla 5 presenta los resultados de seis tratamientos aplicados a los mosquitos, evaluando el porcentaje de eclosión y el número de huevos por hembra. En cuanto al número de huevos por hembra, los controles tanto de Gammacell como de PISI presentaron los valores más altos, 14.1 y 17.8 respectivamente, los tratamientos que fueron irradiados a 65 Gy presentaron valores intermedios (65 Gy Gammacell: 13.2 y 65 Gy PISI: 10.2) y los tratamientos irradiados a 70 Gy presentaron valores de 6.1 en el caso del Gammacell y 11.6 en el caso del irradiado en la PISI. (Gráfico 4 A)

Respecto al porcentaje de eclosión que presentaron estos huevos los valores más altos fueron los referidos a los controles (91.57 en Gammacell y 76.3 en PISI) y en el caso de los tratamientos irradiados todos tuvieron valores por debajo del 1 %**.** (Gráfico 4 B)

Tratamiento	**Descripción**	**Número de Huevos por Hembra**	**Porcentaje de eclosión**
1	**Control Gammacell**	**14.1 ± 5.1**	**91.6 ± 1.6**
2	**65 Gy Gammacell**	**13.2 ± 11.0**	**0.9 ± 0.5**
3	**70 Gy Gammacell**	**6.1± 2.9**	**0.2 ± 0.4**
4	**Control PISI**	**17.8± 2.0**	**76.3 ± 12.9**
5	**65 Gy PISI**	**10.2 ± 3.9**	**0.3 ± 0.2**
6	**70 Gy PISI**	**11.6 ± 4.6**	**0.002 ± 0.003**

Tabla 5-Tabla resumen. Las columnas de la tabla son de izquierda a derecha: tratamiento, media ± desvío estándar, del número de huevos colocados por las hembras y el porcentaje de eclosión de los mismos.

Gráfico 4A

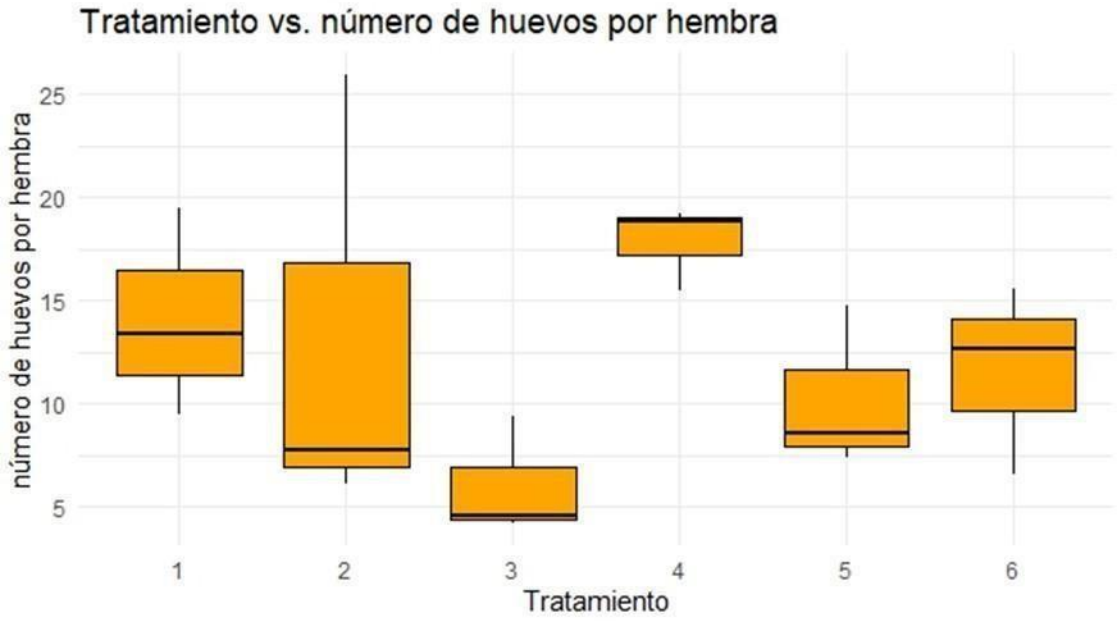


Gráfico 4B

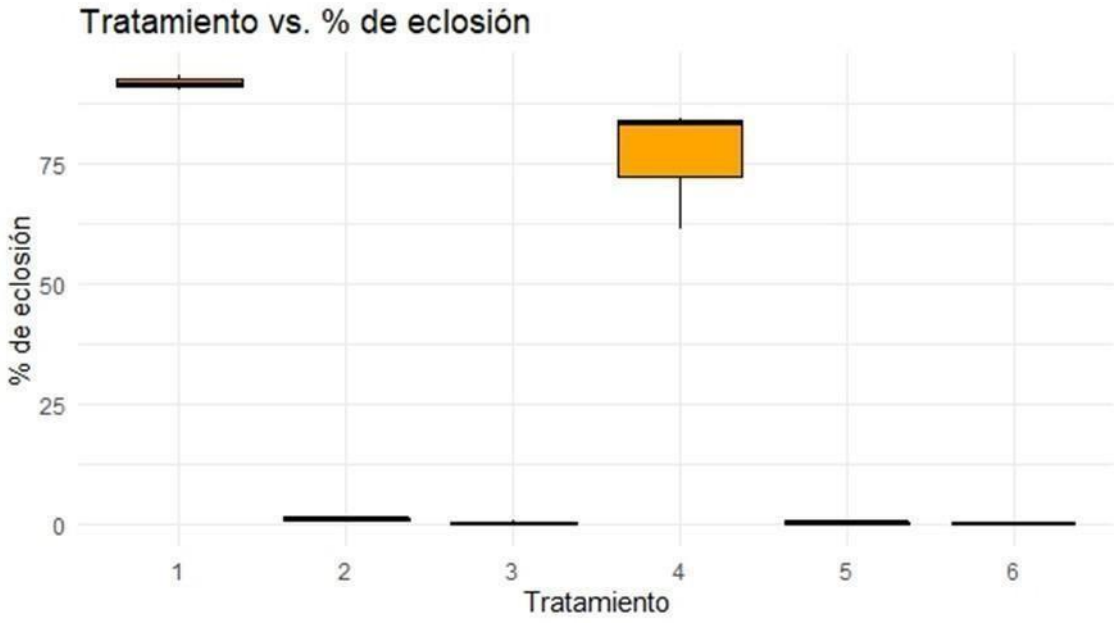


Gráfico 4: A) Número de huevos por hembra, B) % de Eclosión de huevos vs los distintos tratamientos. (Media ± SD). Tratamiento 1: control Gammacell; Tratamiento 2:65 Gy Gammacell; Tratamiento 3:70 Gy Gammacell; Tratamiento 4: control PISI; Tratamiento 5: 65 Gy PISI; Tratamiento 6: 70 Gy PISI.

Comparación de tratamientos: ANOVA y Tukey

Ambas variables analizadas en este ensayo cumplieron los supuestos de homogeneidad de varianzas y normalidad. . (Shapiro-Wilk p = 0.056; Levene p = 0.48). El número de huevos por hembra no mostro diferencias significativas entre tratamientos. (F = 1.449, p = 0.277). En cambio el porcentaje de eclosión varía significativamente entre Tratamientos (F = 200, $p << 0.01$). (Tabla 6).

Se observaron diferencias entre el porcentaje de eclosión de los controles y los tratamientos irradiados independientemente del equipamiento y dosis utilizada.

.

Tratamiento	Dosis	Media ± SD	Significancia
1	control Gammacell	91.56 ± 1.55	A
2	65 Gy Gammacell	0.87 ± 0.55	B
3	70 Gy Gammacell	0.22 ± 0.39	B
4	control PISI	76.30 ± 12.91	A
5	65 Gy PISI	0.27 ± 0.24	B
6	70 Gy PISI	0.001 ± 0.002	B

Tabla 6: Resultado de la prueba Tukey. Comparación entre equipos de irradiación. En la tabla se presentan las medias ± SD. Letras distintas significan diferencias significativas. (F = 200, p < < 0.01).

6. Discusión

6.1. Curva dosis–respuesta en machos adultos de *Aedes aegypti*

Los resultados de este ensayo confirman que la irradiación de machos adultos de *Ae. aegypti* con dosis de 60 y 70 Gy logra inducir niveles de esterilidad superiores al 99 %, sin comprometer significativamente la capacidad de fecundar a las hembras ni reducir el número de huevos producidos. Estas características son esenciales para el éxito de la TIE, que depende de liberar machos que, aunque estériles, mantengan su competitividad sexual y su capacidad de inducir oviposición en hembras vírgenes.

El análisis de los datos reveló una disminución progresiva y significativa del porcentaje de eclosión conforme aumentó la dosis, con valores inferiores al 1 % a partir de 50 Gy. En particular, las dosis de 60 Gy (tratamiento 5) y 70 Gy (tratamiento 6) fueron las más efectivas, logrando casi esterilidad total. Este patrón es congruente con lo documentado por Bimbilé Somda et al. (2022) y Yamada et al. (2023), quienes destacan que dosis superiores a 60 Gy en adultos generan niveles de infertilidad adecuados para programas de control poblacional, sin alterar en exceso la fisiología del insecto.

Por su parte, la fecundidad permaneció estable entre los tratamientos irradiados, con valores similares a los del grupo control. Esto sugiere que los machos estériles irradiados mantienen intactas sus habilidades de cópula y de transferencia de esperma, lo cual es coherente con los hallazgos de Dyck et al. (2021), quienes resaltan la importancia de preservar la fecundidad como indicador indirecto de competitividad sexual.

Desde el punto de vista operativo, estos resultados respaldan la elección de irradiar adultos, opción que ofrece ventajas sobre la irradiación en pupas en términos de sincronización, control del proceso y flexibilidad logística (Tussey et al., 2023). Además, al mantenerse la fecundidad, se evita la generación de señales comportamentales o fisiológicas que podrían llevar a las hembras a rechazar a los machos estériles.

En conclusión, este ensayo permite recomendar las dosis de 60 y 70 Gy como las más apropiadas para la implementación de la TIE en adultos de *Ae. aegypti*, garantizando altos niveles de esterilidad sin pérdida de fecundidad.

6.2. Evaluación del doble fondo en el proceso de enfriamiento

El segundo ensayo abordó un aspecto logístico clave en la manipulación de machos adultos de *Ae. aegypti* dentro de programas de Técnica del Insecto Estéril (TIE): la reducción de la mortalidad asociada al proceso de enfriamiento previo a la irradiación. En este contexto, se evaluó la incorporación de un disco plástico como doble fondo en los frascos de emergencia, con el objetivo de evitar el contacto directo de los insectos con superficies frías y húmedas minimizando la pérdida de individuos durante la transferencia a los canisters de irradiación.

Los resultados obtenidos evidenciaron una reducción significativa en la pérdida de mosquitos al utilizar el doble fondo. El análisis estadístico mediante el test no paramétrico de Mann-Whitney U arrojó un valor de p = 0,0398, lo que indica una diferencia estadísticamente significativa entre el grupo control (sin doble fondo) y el tratamiento experimental (con doble fondo). Además, se estimó una **mejora relativa del 25 % en la recuperación de individuos** con el uso del doble fondo, calculada a partir de las medianas observadas en el gráfico de resultados (T1 ≈ 60, T2 ≈ 45) mediante la fórmula de cambio porcentual:

$$(T2-T1 \ / \ T1)\times 100 = (60-45 \ / \ 60) \times 100 = -25\%$$

Esta diferencia operacional representa una **reducción del 25 % en la pérdida de mosquitos** durante el proceso de enfriamiento, lo que refuerza la utilidad del doble fondo como una medida preventiva de bajo costo, fácil implementación y alto impacto.

El diseño simple del disco plástico permitió evitar que los machos quedaran atrapados o lesionados durante el enfriamiento, facilitando su recuperación y traslado. Esta solución es especialmente relevante considerando que los machos adultos presentan fragilidad estructural y elevada susceptibilidad al estrés físico, como lo señalan estudios previos sobre manejo post-emergencia y transporte (Yamada et al.,2023; FAO/OIEA, 2020).

Desde una perspectiva operativa, la introducción de este accesorio permite estandarizar condiciones internas dentro del frasco, evitando gradientes térmicos o zonas de condensación que puedan comprometer la supervivencia. Además, su uso complementa de forma efectiva otros procedimientos logísticos adoptados en este trabajo, como el enfriamiento controlado (4–8 °C) y el uso de conservadoras con geles fríos, contribuyendo a una cadena de manejo más robusta y reproducible.

En programas TIE de escala piloto o industrial, donde cada cohorte de machos cuenta, y la eficiencia de proceso es crucial, este tipo de mejoras incrementales puede marcar la diferencia entre una operación viable y una costosa o ineficaz. Por tanto, se recomienda incorporar el doble fondo como parte del protocolo estándar de manipulación de adultos, y explorar variantes en materiales, tamaños o texturas para seguir optimizando esta herramienta.

En conclusión, el uso del doble fondo demostró ser una intervención simple pero eficaz para mejorar la supervivencia de machos adultos durante el enfriamiento, aumentando la eficiencia operativa sin comprometer la calidad biológica de los insectos estériles. Esta innovación logística fortalece la preparación técnica del sistema y contribuye a consolidar un protocolo aplicable en entornos reales de implementación.

6.3. Efecto del enfriamiento y marcado fluorescente en machos estériles

Este tercer ensayo evaluó el impacto del marcado con colorantes fluorescentes y del proceso de enfriamiento previo a la irradiación sobre la fecundidad y fertilidad de los mosquitos, dos variables críticas para la calidad del insecto estéril.

Los resultados indican que ni el enfriamiento ni el marcado afectan significativamente la eficacia biológica de los machos irradiados. Los tratamientos irradiados (T3: 65 Gy sin marcar, y T4: 65 Gy marcado) lograron fertilidad prácticamente nula (<1 %), al igual que en el primer ensayo. Además, ambos tratamientos conservaron niveles adecuados de fecundidad, lo cual es crucial para asegurar que los machos estériles inducen la oviposición de manera normal. Esto concuerda con los hallazgos de Dyck et al. (2021), que destacan la tolerancia de los insectos adultos al manejo físico y a tratamientos de marcado, siempre que se respeten ciertos parámetros operativos.

Por otro lado, el tratamiento T2 (marcado sin irradiación) mostró fertilidad elevada (>75 %), similar al control (T1), lo que demuestra que el colorante no genera efectos biológicos por sí solo, ni interfiere con la capacidad copulatoria o reproductiva de los insectos. Este dato es importante para el monitoreo en campo mediante captura de individuos marcados, sin temor a inducir efectos indeseados.

Desde el punto de vista técnico, este ensayo valida la incorporación del marcado fluorescente en los protocolos operativos de la TIE, ya que no compromete la competitividad ni la esterilidad. También demuestra que el enfriamiento aplicado durante el proceso de manejo (4–8 °C, por menos de 15 minutos) es una herramienta viable para facilitar la manipulación sin inducir estrés letal ni alteraciones fisiológicas relevantes, en línea con lo reportado por Yamada et al. (2023).

En síntesis, se confirma que la combinación de irradiación con 65 Gy, enfriamiento y marcado es operativamente segura, biológicamente efectiva y compatible con los requerimientos de calidad para programas piloto de TIE.

6.4. Comparación entre irradiadores Gammacell y PISI

Este ensayo comparó la eficacia de dos fuentes de radiación gamma el equipo Gammacell 220 y la Planta de Irradiación Semi Industrial (PISI) aplicadas a dosis de 65 y 70 Gy sobre machos adultos. Ambos sistemas lograron niveles de esterilidad superiores al 99 %, con tasas de eclosión reducidas a menos del 1 % en todos los tratamientos irradiados. No se observaron diferencias significativas en la eficacia esterilizante entre los dos equipos, lo que valida su equivalencia técnica bajo condiciones de operación controladas.

Desde el punto de vista reproductivo, todos los tratamientos conservaron niveles aceptables de fecundidad, indicando que la irradiación no afectó la capacidad de los machos para inducir la oviposición en hembras. Estos resultados concuerdan con estudios previos que señalan que distintos sistemas de irradiación pueden ser igualmente efectivos, siempre que se mantenga la dosis, la tasa de exposición y la geometría de carga adecuadas (Yamada, Balestrino, & Bouyer, 2023).

No obstante, existen diferencias logísticas importantes entre ambos equipos. El Gammacell es un equipo de radiación gamma autoblindado de menor escala, diseñado para procesar volúmenes reducidos —hasta aproximadamente 1.000 individuos por ciclo— y es ideal para ensayos de laboratorio o irradiaciones de baja escala. Su tamaño compacto y diseño cerrado permiten que pueda ser operado por diversas instituciones en instalaciones con licencias estándar, lo que lo convierte en una herramienta versátil para fines académicos o de investigación aplicada.

Por su parte, la PISI es una instalación de mayor complejidad y escala, diseñada específicamente para irradiación en volúmenes operativos de hasta 30.000 individuos por ciclo. Al tratarse de una planta de irradiación semi-industrial ubicada también en el Centro Atómico Ezeiza, cuenta con infraestructura más robusta, mayor personal operativo y capacidad logística adecuada para responder a las necesidades de programas piloto o implementaciones reales de TIE en campo. Esta diferencia de escala constituye su principal ventaja frente al Gammacell.

En términos de dosis, no se evidenció una mejora significativa al incrementar de 65 a 70 Gy, lo que sugiere que la dosis de 65 Gy es suficiente para alcanzar los objetivos de la técnica, manteniendo una alta competitividad de los machos y reduciendo los riesgos de daño somático innecesario (Tussey et al., 2023; Yamada et al., 2022).

En conclusión, ambos equipos demostraron ser técnicamente viables para inducir esterilidad efectiva en Aedes aegypti. La elección entre uno u otro dependerá del contexto operativo: mientras el Gammacell ofrece una alternativa accesible y adaptable para fines institucionales o de investigación, la PISI proporciona una solución escalable y robusta para intervenciones operativas a gran escala en el marco de programas nacionales de control vectorial.

7. Conclusión general del trabajo

El presente trabajo permitió evaluar de manera integral la eficacia biológica y operativa de distintas estrategias de irradiación, marcado y manipulación de machos adultos de *Ae. aegypti*, con el objetivo de optimizar un protocolo aplicable a la TIE en el contexto nacional. Los resultados obtenidos en los cuatro ensayos experimentales no solo respondieron satisfactoriamente al objetivo general propuesto, sino que también permitieron validar cada uno de los objetivos específicos mediante datos concretos, análisis estadístico riguroso y criterios técnicos sólidos.

En primer lugar, se comprobó que la irradiación de adultos con dosis de **60 y 70 Gy** logra reducir la fertilidad a niveles inferiores al 1 %, sin comprometer la fecundidad, lo cual responde al **objetivo específico de determinar la relación entre dosis y eficacia reproductiva**. La curva dosis–respuesta mostró que a partir de 50 Gy ya se alcanzan niveles aceptables de esterilidad, y que no es necesario incrementar la dosis más allá de 70 Gy, alineándose con parámetros internacionales.

Respecto al **impacto del enfriamiento y del marcado con pigmentos fluorescentes**, los ensayos demostraron que ambos procedimientos son compatibles con la TIE. No se observaron diferencias significativas ni en fertilidad ni en fecundidad entre tratamientos irradiados con y sin marcado, cumpliendo así con el **objetivo de evaluar posibles efectos adversos sobre la calidad reproductiva**. Este hallazgo respalda el uso rutinario del marcado como herramienta de seguimiento sin sacrificar eficacia biológica.

En cuanto a la **comparación entre irradiadores**, los tratamientos realizados con Gammacell y PISI mostraron resultados equivalentes en términos de esterilidad inducida y fecundidad mantenida. Se constató que **ambos equipos son técnicamente viables** para la aplicación de la TIE en adultos, cumpliendo con el **objetivo de comparar fuentes de radiación gamma** bajo condiciones normalizadas. Además, se identificó que PISI, posee la capacidad de irradiar volúmenes mayores que el equipo autoblindado en el mismo tiempo.

También se logró identificar un conjunto de **tratamientos óptimos** (por ejemplo, irradiación a 60 o 65 Gy, con o sin marcado), que combinan **alta fecundidad con fertilidad nula o mínima**, lo que responde directamente al **objetivo de seleccionar combinaciones eficaces para programas TIE**. Estos tratamientos permiten maximizar la competitividad de los machos estériles sin comprometer la calidad de cópula ni la viabilidad logística.

Por último, se evaluó el uso de un **doble fondo en los frascos de emergencia**, confirmando su efectividad para reducir pérdidas durante el enfriamiento. Esta mejora logística se alinea con el **objetivo de evaluar estrategias para reducir mortalidad operativa**, y representa una innovación concreta que mejora la eficiencia sin agregar complejidad técnica.

En síntesis, el trabajo confirma que la **irradiación en estado adulto**, complementada con procedimientos logísticos adecuados y tecnologías accesibles, permite alcanzar los niveles de calidad, esterilidad y rendimiento requeridos para la aplicación efectiva de la TIE en *Ae. aegypti*. Los resultados sientan las bases para avanzar hacia **ensayos piloto en condiciones de campo**, integrando estas estrategias dentro de programas de control vectorial sostenibles, escalables y adaptados a la realidad epidemiológica argentina.

8. Referencias Bibliográficas

Barredo, E., & DeGennaro, M. (2020). Behavioral research on Aedes aegypti mosquitoes. Insects, 11(9), 547

Benedict, M. Q., & Robinson, A. S. (2003). The first releases of transgenic mosquitoes: An argument for the sterile insect technique. Trends in Parasitology, 19(8), 349–355.

Bhatt, S., Gething, P. W., Brady, O. J., Messina, J. P., Farlow, A. W., Moyes, C. L., & Hay, S. I. (2013). The global distribution and burden of dengue. Nature, 496(7446),504–507.

Bimbilé Somda, N. S., Yamada, H., Damiens, D., Mamai, W., Maiga, H., & Bouyer, J. (2022). Response of male adult Aedes mosquitoes to gamma radiation in different nitrogen environments. Parasites & Vectors, 15(1), 1–11.

Carvalho, D. O., Nimmo, D., Naish, N., McKemey, A. R., Gray, P., Wilke, A. B. B., Marrelli, M. T., Virginio, J. F., Alphey, L., & Capurro, M. L. (2014). Producción masiva de *Aedes aegypti genéticamente modificados para liberaciones en campo en Brasil. Revista Panamericana de Salud Pública, 36(2), 82–89.**

Clements, A. N. (1992). The biology of mosquitoes: Volume 1. Chapman & Hall.

Consoli, R. A. G. B., & Oliveira, R. L. (1994). Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. Fiocruz.

Dyck, V. A., Hendrichs, J., & Robinson, A. S. (Eds.). (2021). Sterile insect technique: Principles and practice in area-wide integrated pest management (2nd ed.). CRC Press.

FAO/IAEA. (2021). *Guidelines for Routine Colony Maintenance of Aedes Mosquito Species* (Version 1.0). Food and Agriculture Organization of the United Nations & International Atomic Energy Agency.

FAO/OIEA. (2020). Guidance framework for testing the sterile insect technique as a vector control tool against Aedes-borne diseases.

García Alba, M., Ávalos, A. N., Palma Rocha Vailati, G., Allejes Redín, B., Pichorito, L., Benvenuto, M., Ibarra, C., Bozzo, A., Sproviero, C., Huertas, M. P., Veliz, F., Zuleta, C., Dieguez, J. P., Bocaccio, G., Benavides, L., & Malter Terrada, M. (2025). *Desarrollo e implementación de la Técnica del Insecto Estéril, como herramienta complementaria en el manejo integrado del Aedes aegypti* Agenda Ambiental. Comisión Nacional de Energía Atómica – Instituto Dan Beninson – Secretaría de Ambiente y Construcción Comunitaria, Municipio de Ezeiza.

Gubler, D. J. (1998). The global pandemic of dengue/dengue hemorrhagic fever: Current status and prospects for the future. Annals of the Academy of Medicine, Singapore, 27(2), 227–234.

Kraemer, M. U. G., et al. (2015). The global distribution of the arbovirus vectors Aedes aegypti and Ae. albopictus. eLife, 4, e08347.

Marquereau, L., et al. (2024). Upscaling irradiation protocols of Aedes albopictus pupae within an SIT programme in Reunion Island. Scientific Reports, 14, 4581.

Ministerio de Salud de la Nación. (2024). Boletín Epidemiológico Nacional – Semana Epidemiológica 14. Dirección de Epidemiología, Subsecretaría de Estrategias Sanitarias.

Ministerio de Salud de la Nación. (2025). Boletín Epidemiológico Nacional – Semana Epidemiológica 14. Dirección de Epidemiología, Subsecretaría de Estrategias Sanitarias.

Rivero, A., et al. (2010). Insecticide control of vector-borne diseases: When is insecticide resistance a problem? PLoS Pathogens, 6(8), e1001000.

Ross, P. A., Axford, J. K., Richardson, K. M., Endersby-Harshman, N. M., & Hoffmann, A. A. (2017). Maintaining Aedes aegypti mosquitoes infected with Wolbachia. Journal of Visualized Experiments, 126, e56124.

Rueda, L. M. (2004). Pictorial keys for the identification of mosquitoes (Diptera: Culicidae) associated with dengue virus transmission. Walter Reed Army Institute of Research.

Tussey, B., Johnson, L., Dobson, S. L., & Harris, A. F. (2023). Gamma irradiation of adult Aedes aegypti mosquitoes for Sterile Insect Technique programs: Impacts on fertility and male competitiveness. Acta Tropica, 242, 106854.

WHO. (2023). Global arbovirus initiative: Working to address the increasing threat of arboviral diseases worldwide

World Health Organization (WHO). (2017). Global vector control response 2017–2030. Geneva: World Health Organization.

World Health Organization (WHO). (2022). Global Vector Control Response 2017–2030: Monitoring and evaluation framework. Geneva: World Health Organization.

Yamada, H., Maiga, H., Kraupa, C., Mamai, W., Bimbilé Somda, N. S., & Bouyer, J. (2022). Radiation dose-rate is a neglected critical parameter in insect dose–response studies. Scientific Reports, 12, 11283.

Yamada, H., Balestrino, F., Damiens, D., & Bouyer, J. (2023). Effects of chilling and anoxia on the irradiation dose–response in adult Aedes mosquitoes. Parasites & Vectors, 16(1), 115.

Yamada, H., Balestrino, F., & Bouyer, J. (2023). Radiation dose-fractionation in adult *Aedes aegypti* mosquitoes. Insects, 14(8), 666.

Yamada, H., Balestrino, F., & Bouyer, J. (2023). Suitability of Raycell MK2 Blood X- ray Irradiator for the Use in the Sterile Insect Technique. Insects, 14(9), 741.

Yamada, H., Balestrino, F., & Bouyer, J. (2023). Sterilizing insects with X-rays or gamma rays – which irradiator to select? Insects, 14(10), 827.

Yamada, H., & Bouyer, J. (2020). The role of oxygen depletion and subsequent radioprotective effects during irradiation of mosquito pupae in water. Parasites & Vectors, 13, 555.

Yamany, A. S., Adham, F. K., & Abdel-Gaber, R. (2024). Morphological description of the pupa of Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) using a scanning electron microscope. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 76(1), 43–54.