



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

DEPARTAMENTO DE ENERGIA NUCLEAR

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES

ALINE TAIANE DE MACEDO PINTO

**EFEITO BIOLÓGICO DA RADIAÇÃO GAMA APLICADA PARA ESTERILIZAÇÃO  
DE MOSQUITOS MACHOS DE *Aedes aegypti* EM DIFERENTES ESTÁGIOS DE  
DESENVOLVIMENTO**

Recife

2025

ALINE TAIANE DE MACEDO PINTO

**EFEITO BIOLÓGICO DA RADIAÇÃO GAMA APLICADA PARA ESTERILIZAÇÃO  
DE MOSQUITOS MACHOS DE *Aedes aegypti* EM DIFERENTES ESTÁGIOS DE  
DESENVOLVIMENTO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Tecnologia e Geociências, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Tecnologias Energéticas e Nucleares.

Orientadora: Dr<sup>a</sup> Viviane Khoury Asfora

Coorientador: Dr<sup>o</sup> Jair Virginio

Recife  
2025

.Catalogação de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Pinto, Aline Taiane de Macedo.

Efeito biológico da radiação gama aplicada para esterilização de mosquitos machos de *Aedes aegypti* em diferentes estágios de desenvolvimento / Aline Taiane de Macedo Pinto. - Recife, 2025.  
94f.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Tecnologia e Geociências, Pos-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares, 2025.

Orientação: Drª Viviane Khoury Asfora.

Coorientação: Drº Jair Virginio.

1. *Aedes aegypti*; 2. Técnica do Inseto Estéril; 3. Radiação gama; 4. Dose-resposta; 5. Controle de vetores; 6. Qualidade biológica. I. Asfora, Viviane Khoury. II. Virginio, Jair. III. Título.

UFPE-Biblioteca Central

ALINE TAIANE DE MACEDO PINTO

**EFEITO BIOLÓGICO DA RADIAÇÃO GAMA APLICADA PARA ESTERILIZAÇÃO  
DE MOSQUITOS MACHOS DE *Aedes aegypti* EM DIFERENTES ESTÁGIOS DE  
DESENVOLVIMENTO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Tecnologia e Geociências, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Tecnologias Energéticas e Nucleares.

Aprovado em: 29/08/2025.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Viviane Khoury Asfora (Orientadora)

Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

---

Dr. Jair Fernandes Virginio (Coorientador)

Biofábrica Moscamed Brasil

---

Prof. Dr. Vinicius Saito Monteiro de Barros (Examinador Interno)

Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

---

Dr. Danilo de Oliveira Carvalho (Examinador Externo)

Universidade da Florida, Gainesville USA

---

Dra. Poliana Lemos (Examinadora externa)

Ministério da Saúde

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pela força, sabedoria e luz que me sustentaram em cada etapa desta jornada acadêmica e pessoal.

À minha mãe, Luzinete Maria de Macedo pelo amor incondicional, apoio constante e por ser meu alicerce em todos os momentos.

À minha família, pelo apoio incondicional, incentivo permanente e compreensão durante toda a trajetória do mestrado.

À memória da professora Helen Jamil Khoury, por ter aceitado o desafio de me orientar nesta pesquisa e por sua dedicação incansável à ciência. Sua contribuição permanecerá eternizada não apenas neste trabalho, mas também no legado científico que deixou e nas vidas que inspirou.

Ao Dr. Jair Virginio, meu coorientador e presidente da Moscamed Brasil, pelo apoio incondicional, pela paciência constante e pelo suporte fundamental à execução desta pesquisa.

À professora Viviane Asfora, pela generosidade e pelo compromisso em assumir a orientação, garantindo a continuidade e qualidade deste estudo.

Ao Dr. Danilo Carvalho, pela amizade, pelo apoio técnico e pelas trocas que tornaram possível a realização desta pesquisa.

À Dra. Maylen Gomes, minha maior incentivadora, referência acadêmica e pessoal, que me encorajou a acreditar no meu potencial e a seguir a vida científica com coragem e determinação.

A Moscamed Brasil, pelo apoio financeiro e técnico essencial, sem o qual este trabalho não teria sido viável.

Aos colegas da Moscamed, em especial Nilton, Mirian e Bianca, pelo apoio incondicional, parceria e dedicação em cada etapa dos experimentos.

Aos colegas do Grupo GDOIN, pelo acolhimento e amizade durante o mestrado, com especial gratidão a Lucas e Arícia, cuja presença foi fundamental em minha caminhada.

Aos professores e colegas do DEN, pelas contribuições valiosas à minha formação acadêmica e científica.

## RESUMO

A dengue constitui uma das principais arboviroses globais, com expansão geográfica contínua impulsionada por fatores climáticos e socioambientais. No Brasil, surtos epidêmicos recorrentes evidenciam a necessidade de estratégias inovadoras para controle de *Aedes aegypti*. A Técnica do Inseto Estéril (TIE) emerge como alternativa sustentável, espécie-específica e ambientalmente segura para supressão populacional, com aplicação bem-sucedida em programas internacionais. Sua eficácia fundamenta-se na aplicação de doses precisas de radiação ionizante que induzem esterilidade sem comprometer a competitividade sexual dos machos. Este estudo avaliou os efeitos da radiação gama na esterilização de machos de *Aedes aegypti* em diferentes estágios ontogenéticos: pupas (condições submersa, percolada e seca) e adultos. Pupas e adultos foram submetidos a doses de 0-70 Gy, avaliando-se emergência, mortalidade, longevidade, esterilidade, capacidade de voo e competitividade sexual. A condição de hidratação pupal influenciou significativamente a radiosensibilidade, sendo a condição de pupas secas a que apresentou maior responsividade. A dose de 50 Gy em pupas secas produziu 99,8% de esterilidade, 87,5% de emergência e 48,82% de capacidade de voo. A irradiação de adultos (60 Gy) resultou em 99,9% de esterilidade e competitividade sexual superior ( $C=0,87$ ) comparada às pupas secas ( $C=0,51$ ). A longevidade média foi 27,4 dias (adultos) versus 25,1 dias (pupas secas). Os resultados demonstram superioridade da irradiação de adultos, mantendo alta esterilidade e qualidade biológica adequada. Este trabalho fornece base científica para protocolos otimizados da TIE no controle de *Aedes aegypti*, consolidando sua aplicação no manejo integrado de vetores.

**Palavras-chave:** *Aedes aegypti*; Técnica do Inseto Estéril; radiação gama; dose-resposta; controle de vetores; qualidade biológica.

## ABSTRACT

Dengue is one of the most significant arboviral diseases worldwide, with continuous geographic expansion driven by climatic and socio-environmental factors. In Brazil, recurrent epidemic outbreaks highlight the need for innovative strategies to control *Aedes aegypti*. The Sterile Insect Technique (SIT) emerges as a sustainable, species-specific, and environmentally safe alternative for population suppression, with successful applications in international programs. Its effectiveness relies on the use of precise doses of ionizing radiation that induce sterility without compromising the sexual competitiveness of males. This study evaluated the effects of gamma radiation on the sterilization of *Aedes aegypti* males at different ontogenetic stages: pupae (submerged, percolated, and dry conditions) and adults. Pupae and adults were exposed to doses ranging from 0 to 70 Gy, assessing emergence, mortality, longevity, sterility, flight ability, and sexual competitiveness. Pupal hydration status significantly influenced radiosensitivity, with dry pupae showing greater responsiveness. A dose of 50 Gy in dry pupae yielded 99.8% sterility, 87.5% emergence, and 48.82% flight ability. Adult irradiation (60 Gy) resulted in 99.9% sterility and higher sexual competitiveness ( $C = 0.87$ ) compared to dry pupae ( $C = 0.51$ ). Mean longevity was 27.4 days (adults) versus 25.1 days (dry pupae). The results demonstrate the superiority of adult irradiation, maintaining high sterility and adequate biological quality. This work provides a scientific basis for optimized SIT protocols for *Aedes aegypti* control, reinforcing its application in integrated vector management.

**Keywords:** *Aedes aegypti*; Sterile Insect Technique; gamma radiation; dose-response; vector control; biological quality.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Distribuição geográfica dos casos de dengue notificados à OMS em 2024.....	21
Figura 2 - Estágios de desenvolvimento do mosquito <i>Aedes aegypti</i> . ....	24
Figura 3 - Figura ilustrando o efeito da técnica do inseto estéril ao logo do tempo....	28
Figura 4 - Exemplificação dos efeitos diretos e indiretos de fontes radio ionizantes em células eucarióticas. ....	33
Figura 5- Fluxograma do ciclo de criação de insetos em laboratório, ilustrando as etapas sequenciais desde a produção de ovos até a obtenção de adultos destinados à reprodução ou experimentação. ....	37
Figura 6 - Gaiola de PVC utilizada para produção de ovos.....	38
Figura 7 - Sistema de oviposição para coleta de ovos de <i>Aedes aegypti</i> . (A) Recipientes plásticos com água e papel filtro nas bordas internas como substrato de oviposição. (B) Presença de ovos aderidos ao papel filtro após o período de postura. ....	38
Figura 8 - Processo de coleta e armazenamento dos ovos: (A) ovos aderidos às tiras de oviposição, (B) remoção com escova, (C) ovos secos prontos para armazenamento.....	40
Figura 9 - Recipientes de vidro preparados para eclosão dos ovos.....	41
Figura 10 - Bandejas utilizadas para criação larval de Ae. Aegypti.....	42
Figura 11 - Separador de pupas por sexo: (A) vista geral do separador de pupas modelo Moscamed, (B) Gradiente trifásico de pupas formado durante o processo de separação com diferenciação de pupas macho, pupas fêmeas e larvas. ....	44
Figura 12 - Dosadores calibrados utilizados para quantificação das pupas. ....	45
Figura 13 - Irradiador de Cobalto-60 utilizado para a esterilização de mosquitos. ....	46
Figura 14 - Dispositivo de irradiação desenvolvido pela Moscamed Brasil para volumes maiores de mosquitos. (A) Torre de sustentação acoplada à base circular; (B) Gaveta retangular para organização dos recipientes; (C) Mini cubos para acondicionamento de mosquitos na fase de pupa; (D) Mini cubos para acondicionamento de mosquitos na fase de adulto.....	47
Figura 15 - Dosimetria realizada para verificação da dose recebida pelos mosquitos durante a irradiação.....	48
Figura 16 - Pupas de <i>Aedes aegypti</i> submetidas a três diferentes condições de hidratação para avaliação da eficácia de esterilização.....	49

Figura 17 - Procedimento de remoção de água das pupas de <i>Aedes aegypti</i> para a condição diferentes condições de hidratação de pupas secas. (A) Peneira utilizada para remoção do excesso de água; (B) Bandeja forrada com papel toalha para secagem; (C) Pupas secas após remoção do excesso de água. ....	50
Figura 18- Sistema de irradiação para esterilização de pupas de <i>Aedes aegypti</i> . Gavetas de acrílico contendo cubos com pupas posicionadas no protótipo de irradiação e inseridas na câmara do equipamento Gammacell. ....	51
Figura 19 - Procedimento utilizado para testes de esterilidade. A) Gaiolas utilizadas para cópulas de machos estéreis com fêmeas férteis. B) Procedimento de alimentação sanguínea de fêmeas. C) Tudo Falcon utilizado como “mini gaiola” para postura individual de fêmeas.....	54
Figura 20 - Procedimento utilizado para a esterilização de adultos de <i>Aedes aegypti</i> . A) Protótipo de acrílico com gavetas. B) Cubo de acrílico utilizado para acondicionar os mosquitos durante a irradiação. C) Protótipo acondicionado no centro da câmara de irradiação.....	56
Figura 21 - Dispositivo utilizado para avaliar a capacidade de voo dos mosquitos (Flight ability device); A) orifício de 1 cm para acondicionamento dos mosquitos; B) tubos de acrílico com 25 cm de altura e 8 mm de diâmetro interno; C) Ventilador cooler (12V) inserido na parte superior da caixa de contenção; D) caixa de acrílico para contenção dos mosquitos. Protótipo II. ....	59
Figura 22 - Curva de isodose do irradiador GammaCell 220 mostrando a distribuição das taxas de dose em função da posição dentro da câmara de irradiação. As curvas representam linhas de igual taxa de dose (em % da dose máxima) distribuídas no volume útil do equipamento. Dimensões em relação ao centro da câmara, com valores expressos em centímetros. ....	63
Figura 23 - Porcentagem média de mortalidade de pupas de <i>Aedes aegypti</i> irradiadas sob diferentes condições de hidratação (seca, água percolada e submersa). Os valores representam a média ± erro padrão (EP) e intervalo de confiança de 95%. este de Dunn pós-hoc (Bonferroni) indicou menor mortalidade na condição seca em relação às demais ( $p < 0,05$ ), sem diferença entre percolada e submersa.....	66
Figura 24 - Taxa média de emergência de adultos de <i>Aedes aegypti</i> provenientes de pupas irradiadas sob diferentes condições de hidratação (seca, percolada e submersa). Os valores representam a média ± erro padrão (EP) e intervalo de confiança de 95%.	

Teste de Dunn pós-hoc (Bonferroni) indicou maior emergência na condição seca em relação às demais ( $p < 0,05$ ), sem diferença entre percolada e submersa.....	67
Figura 25 – Curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier de machos de <i>Aedes aegypti</i> irradiados na fase de pupa sob diferentes doses de radiação gama. (A) Pupas submersas; (B) pupas percoladas; (C) pupas secas. Diferenças significativas entre tratamentos foram detectadas em determinados períodos de observação (teste do qui-quadrado, $p < 0,05$ ).....	69
Figura 26 - Taxa de esterilidade de fêmeas de <i>Ae. aegypti</i> copuladas com machos irradiados na fase de pupa sob diferentes condições de hidratação e doses de radiação. Os box plots mostram a mediana, quartis e valores extremos para cada tratamento. Os pontos individuais representam valores atípicos (outliers). .....	72
Figura 27 - Curvas de esterilidade para machos de <i>Ae. aegypti</i> irradiados na fase de pupa em diferentes condições de hidratação. As linhas representam as taxas de esterilidade em função da dose de radiação aplicada (Gy). As áreas sombreadas representam os intervalos de confiança. A linha vertical tracejada indica a dose de aproximadamente 40 Gy, correspondente ao limiar de 95% de esterilidade para pupas secas.....	75
Figura 28 - Esterilidade de ovos provenientes de fêmeas de <i>Ae. aegypti</i> copuladas com machos irradiados na fase adulta em diferentes idades pós-emergência (24h em vermelho e 48h em azul) e doses de radiação (0-70 Gy). Os box plots mostram a mediana, quartis e valores extremos para cada tratamento. Os pontos individuais representam os outliers.....	76
Figura 29 - Taxa de escape de machos irradiados na fase de pupas e adultos com diferentes doses de irradiação. Os boxplots mostram a mediana, quartis e valores extremos para cada tratamento. Os pontos individuais representam os outliers. ....	79
Figura 30 - Curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier de machos irradiados na fase de pupa (secas) e adultos (24-48h). (teste do qui-quadrado, $p < 0,05$ ).....	81
Figura 31 - (A) Proporção de ovos que eclodiram ( $\pm$ EP) em gaiolas que continham uma proporção de 1:1:1 de machos virgens férteis, fêmeas virgens e machos virgens estéreis irradiados como pupas ou adultos. (B) Distribuição posterior e valores estimados de C para machos estéreis irradiados como pupas ou adultos.....	82

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1– Regime de alimentação aplicado às larvas de <i>Aedes aegypti</i> durante seis dias consecutivos, com quantidades e frequências padronizadas. ....	43
Tabela 2 - Resultados da estimativa de dose da alanina. Medias mais ou menos desvio padrão. ....	64
Tabela 3 – Fecundidade média ( $\pm$ desvio padrão) de fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> copuladas com machos irradiados na fase de pupas em diferentes condições de hidratação e doses de radiação gama. Os dados apresentam o número de fêmeas avaliadas, total de ovos produzidos e fecundidade média para cada tratamento nas condições submersas, percoladas e secas. ....	71
Tabela 4 - Taxa média de escape ( $\pm$ erro padrão, EP) de machos de <i>Aedes aegypti</i> irradiados na fase de pupa (seca) e adultos (24-48h), submetidos a diferentes doses de radiação gama (0–70 Gy). ....	78

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACS – Agentes Comunitários de Saúde  
ACE – Agentes de Combate às Endemias  
BMB – Biofábrica Moscamed Brasil  
CDC – *Centers for Disease Control and Prevention*  
CHIKV – Vírus Chikungunya  
cm – centímetro  
DENV – Vírus Dengue  
DEN – Departamento de Energia Nuclear  
DNA – Ácido desoxirribonucleico  
DSB – Quebra dupla na fita de DNA (*Double Strand Break*)  
EDLs – Estações disseminadoras de larvicidas  
EP – Erro padrão  
EPR – *Electron Paramagnetic Resonance*  
FAO – *Food and Agriculture Organization*  
g – grama  
Gy – Gray: unidade de dose absorvida de radiação ionizante (1 Gy = 1 J/kg)  
h – hora  
IAEA – *International Atomic Energy Agency*  
IC – Intervalo de confiança  
IAM – Instituto Aggeu Magalhães  
J – joule  
LET – *Linear Energy Transfer* (Transferência Linear de Energia)  
L – litro  
m – metro  
mL – mililitro  
mm – milímetro  
MeV – Megaelétron-volt: unidade de energia usada em radiação ionizante  
min – minuto  
OMS – Organização Mundial da Saúde  
OPAS – Organização Pan-Americana da Saúde  
PET – Polietileno tereftalato  
PMMA – Polimetilmetacrilato

PNCD – Programa Nacional de Controle da Dengue  
PVC – Policloreto de vinila  
SIT – *Sterile Insect Technique*  
SSB – Quebra simples na fita de DNA (*Single Strand Break*)  
TIE – Técnica do Inseto Estéril  
UFPE – Universidade Federal de Pernambuco  
UR – Umidade relativa  
YFV – Vírus da Febre Amarela  
ZIKV – Vírus Zika

## Sumário

1 INTRODUÇÃO .....	17
2. Revisão Bibliográfica .....	20
2.1 Impacto das arboviroses .....	20
2.2 Anatomia e reprodução de <i>Aedes aegypti</i> .....	22
2.3 Métodos para controlde de <i>Aedes aegypti</i> no Brasil .....	24
2.4 Técnica do inseto Estéril (TIE).....	27
2.4.1 Conceitos e aplicações.....	27
2.4.2 Efeitos Biológicos das irradiações ionizantes .....	31
2.4.3 Fatores que afetam a esterilização de mosquitos .....	35
3 METODOLOGIA.....	36
3.1 local de estudo .....	36
3.2 Material Biológico .....	36
3.2.1 Origem dos insetos e manutenção das colônias .....	36
3.2.2 Criação dos mosquitos .....	37
3.2.2.1 Produção de ovos.....	37
3.2.2.2 Criação Larval .....	40
3.2.2.3 Separação e Sexagem de Pupas.....	43
3.3 Esterilização dos insetos .....	45
3.3.1 Dosimetria .....	47
3.4 Avaliação do efeito da dose na radiosensibilidade de pupas irradiadas em diferentes condições.....	48
3.4.1 Mortalidade de pupas durante irradiação e emergênciade adultos.....	51
3.4.2 Sobrevidência de adultos .....	52
3.4.3 Estabelecimento da curva dose-resposta.....	53
3.5 Determinação da curva dose-resposta para esterilização de mosquitos irradiados na fase adulta.....	55
3.6 Comparação da qualidade de machos estéreis irradiados em pupas e adultos ..	57
3.6.1 Habilidade de voo .....	57
3.6.2 Curva de sobrevidência .....	59
3.6.3 Competitividade sexual .....	60
3.7 Análise estatística.....	60
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	62
4.1 Dosimetria .....	62

4.2 Avaliação do efeito da dose na radiosensibilidade de pupas irradiadas em diferentes condições.....	65
4.2.1 Mortalidade de pupas durante irradiação e emergência de adultos. ....	65
4.2.2 Sobrevida .....	68
4.2.3. Avaliação de Fecundidade e esterilidade .....	70
4.3 Determinação da curva dose-resposta para esterilização de mosquitos irradiados na fase adulta.....	75
4.4 Comparação da qualidade de machos estéreis irradiados em pupas e adultos..	77
4.4.1 Habilidade de voo.....	77
4.4.2 Curva de sobrevida e curva de esterilidade. ....	80
4.4.3 Competitividade sexual .....	81
5 CONCLUSÕES .....	85
REFERÊNCIAS .....	86

## 1 INTRODUÇÃO

Arbovírus (de “*Arthropod Borne Viruses*”) é o termo utilizado para definir espécies de vírus que realizam parte do seu ciclo de replicação no interior de artrópodes, sendo capazes de causar doenças em hospedeiros vertebrados. Os arbovírus podem ser transmitidos a humanos por diversas espécies de artrópodes, por exemplo, mosquitos dos géneros: *Aedes* (*Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*) e *Culex* (*Culex quinquefasciatus* ou outros culicídeos que possuam o hábito hematofágico) (Lopes; Nozawa; Lonhares *et al.*, 2014).

Cerca de 140 arbovírus são conhecidos por infectarem humanos, sendo que as manifestações por esses vírus podem variar desde formas assintomáticas até casos fulminantes. As pessoas infectadas frequentemente apresentam sintomas que caracterizam a doença como febril e sistêmica, podendo evoluir para quadros hemorrágicos e doença neurológica invasiva. Anteriormente, as doenças emergentes provocadas por arbovírus eram consideradas controladas ou de pouca importância. Contudo, nas últimas décadas tem-se observado um aumento significativo no número de casos relacionados a infecções por esses arbovírus (Vasilakis; Gubler, 2016).

As arboviroses representam um desafio contínuo à saúde pública em escala global, afetando milhões de pessoas anualmente, sobretudo em regiões tropicais e subtropicais, onde fatores climáticos e socioambientais favorecem a proliferação de vetores. Estima-se que aproximadamente 5,66 bilhões de pessoas vivam em áreas com condições propícias para transmissão de dengue, chikungunya e Zika, correspondendo a cerca de 73 % da população mundial (Lim *et al.*, 2025). No caso da chikungunya, calcula-se a ocorrência de 35,3 milhões de infecções anuais, resultando em cerca de 17,7 milhões de casos sintomáticos, 848 mil com sequelas crônicas e aproximadamente 3.700 óbitos (Dos Santos *et al.*, 2025).

No Brasil, a situação epidemiológica das arboviroses é particularmente relevante. Em 2015, o país já havia enfrentado uma grande epidemia de dengue, com aproximadamente 2 milhões de casos e mais de 900 óbitos, configurando-se, à época, como o maior surto registrado no território nacional (Brasil, 2016; Teixeira *et al.*, 2013). No mesmo período, ocorreu a introdução e rápida disseminação do vírus Zika, resultando em cerca de 1,5 milhão de infecções e mais de 3.500 casos confirmados da Síndrome Congênita do Vírus Zika (SCZ), associados à infecção materna entre abril de

2015 e novembro de 2016 (OMS, 2016; Brasil, 2016). Ainda em 2016, foram notificados cerca de 200 mil casos de Zika, incluindo três óbitos e aumento expressivo de síndromes neurológicas, como a de Guillain–Barré (Brasil, 2016). Contudo, em 2024, o Brasil enfrentou a maior epidemia de dengue de sua história, com mais de 6,6 milhões de casos prováveis, mais de 6 mil óbitos e uma incidência superior a 3.200 casos por 100 mil habitantes, superando amplamente os registros anteriores e evidenciando a necessidade urgente de aprimoramento das estratégias de vigilância e controle vetorial (Brasil, 2025; OMS, 2025).

A letalidade por dengue permanece relevante no território nacional, com o registro de mais de seis mil mortes em 2024 (Brasil, 2025). Já a infecção materna por ZIKV no Brasil foi associada a mais de 4.000 casos de SCZ (Brasil, 2025). Apesar do desenvolvimento de vacinas específicas para a dengue e avanços em pesquisa para chikungunya e zika, ainda não há imunização universalmente disponível ou tratamentos antivirais eficazes. Assim, as ações de controle vetorial permanecem como a principal medida preventiva, visando reduzir a densidade populacional de *Aedes aegypti* e, consequentemente, minimizar ou interromper a transmissão viral.

Diante dos desafios do controle vetorial e do cenário de surtos e epidemias destas arboviroses, agravado pela expansão destes arbovírus em todo o mundo, é imprescindível o estudo e a adoção de estratégias específicas, com investimentos em métodos adequados, que resultem em ações efetivas e sustentáveis das redes de vigilância (Zara *et al.*, 2016). Várias tecnologias com diferentes mecanismos de ação têm sido desenvolvidas e apontadas como opções para complementar o controle integrado de *Ae. aegypti*. Uma dessas tecnologias é a Técnica do Inseto Estéril (TIE), sendo considerada como uma eficiente ferramenta no controle de diversos insetos-praga ao redor do mundo (Hendrichs *et al.*, 2002). O uso de insetos estéreis para controlar ou erradicar uma população de insetos, é considerada uma iniciativa revolucionária na entomologia moderna (Dyck *et al.*, 2021).

A TIE por irradiação caracteriza-se como um método de controle populacional ambientalmente seguro, específico e eficaz, integrado ao manejo integrado de pragas em larga escala. Fundamenta-se no princípio do controle autocida: machos são produzidos em massa em laboratório e esterilizados por radiação ionizante, como raios X ou raios gama provenientes de radioisótopos, de forma a induzir danos letais ao material genético dos espermatozoides, sem impedir que os machos copulem com

fêmeas selvagens. Essas fêmeas acasalam, mas não geram descendentes viáveis, reduzindo a taxa reprodutiva da população-alvo (Hendrichs *et al.*, 2002; Dyck *et al.*, 2021).

Diversos programas-piloto, sobretudo em *Aedes aegypti*, confirmaram a eficácia da TIE em cenários reais: na Itália, Cuba, Espanha e Estados Unidos, observou-se redução significativa da densidade de ovos e índices de infestação após liberações de machos irradiados (Belini *et al.*, 2013; Gato *et al.*, 2021; Tur *et al.*, 2021; Carvalho *et al.*, 2022, Morreale *et al.*, 2025). No Brasil, destacam-se iniciativas relevantes conduzidas em Fernando de Noronha e no município do Recife, Estado de Pernambuco. Nesta última localidade, foi desenvolvido o projeto operacional intitulado “Pesquisa e Inovação para Aplicação da Técnica do Inseto Estéril Associada à Técnica do Inseto Incompatível no Controle do Vetor *Aedes aegypti*”, executado com o apoio do Ministério da Saúde do Brasil (Contrato nº 003/2018, Acordo nº 861452/2017) e da Agência Internacional de Energia Atômica (International Atomic Energy Agency – IAEA). Durante o período de execução, foram liberados semanalmente cerca de 500 mil machos estéreis, resultando em indução de esterilidade em fêmeas selvagens de aproximadamente 30% e redução de até 51% na população adulta de *Aedes aegypti* (FLORENCIO, 2017; MACEDO *et al.*, 2025, em submissão)<sup>1</sup>. O uso operacional da TIE por irradiação para o controle de mosquitos implica diferentes desafios científicos para implementar esta tecnologia, assim como para aumentar a relação custo-efetividade dos programas. Entre os desafios podemos citar a necessidade de estabelecer qual a melhor dose a ser aplicada e qual o melhor estágio de maturidade do inseto para esterilização, sem comprometer a qualidade e o desempenho dos insetos liberados.

Considerando que a radiação é um componente-chave dessa tecnologia, é necessário dar uma atenção especial ao processo de esterilização em que o objetivo é atingir de forma confiável a esterilidade quase total, mantendo o nível de dano somático o mais baixo possível (Helinski *et al.*, 2009; Yamada *et al.*, 2019). Compreender a biologia durante a exposição à radiação dos culicídeos e os fatores que podem alterar o estabelecimento da curva dose-resposta é crucial para desenvolver protocolos de irradiação padronizados para assim produzir machos estéril de alta qualidade.

---

<sup>1</sup> Informação fornecida pelos autores. Manuscrito submetido para publicação no periódico *Infectious Diseases of Poverty*.

Dessa forma, este estudo avaliou os efeitos da radiação gama sobre a esterilização de machos de *Aedes aegypti* em diferentes estágios de desenvolvimento biológico, buscando estabelecer parâmetros que assegurassem a eficiência e a padronização do processo. As análises contemplaram a influência da dose e das condições de hidratação das pupas na radiosensibilidade, a resposta dos adultos irradiados e a comparação entre o desempenho de machos esterilizados em ambos os estágios. Os resultados obtidos contribuem para o aperfeiçoamento dos protocolos de irradiação e para o fortalecimento da base técnico-científica necessária à aplicação da Técnica do Inseto Estéril como estratégia de controle populacional de *Aedes aegypti* em larga escala.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

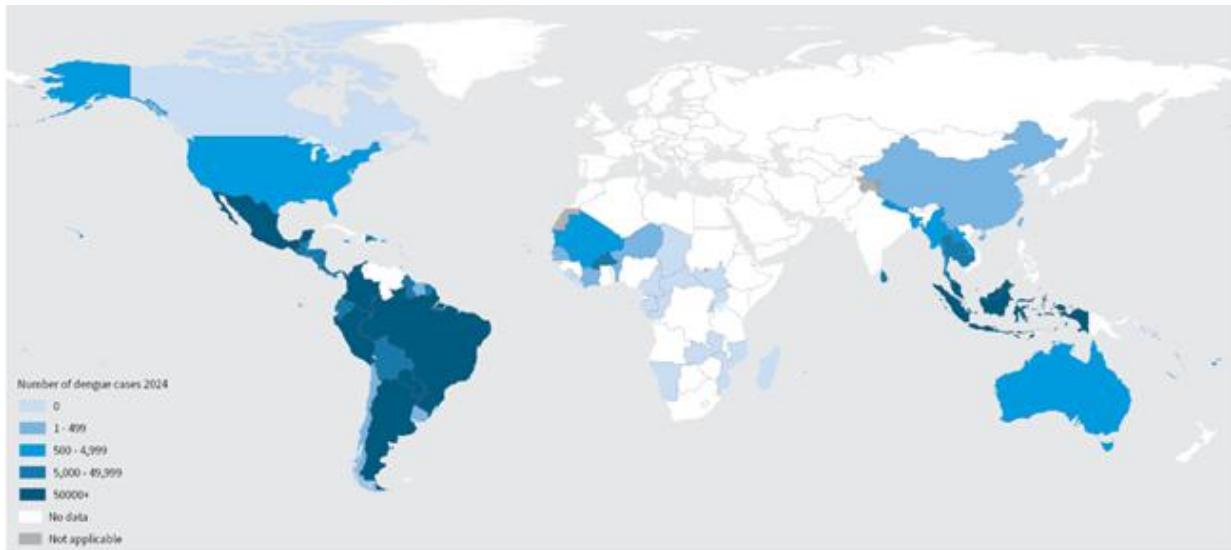
### 2.1 IMPACTO DAS ARBOVIROSES

Os arbovírus transmitidos por culicídeos do gênero *Aedes*, especialmente fêmeas de *Ae. aegypti*, incluem vírus chikungunya (CHIKV), vírus dengue (DENV e seus quatro sorotipos), vírus da febre amarela (YFV) e vírus Zika (ZIKV), e suas infecções e enfermidades representam um significativo fardo para a saúde pública mundial (PAIXÃO, TEIXEIRA E RODRIGUES, 2018). Entre essas, a dengue chama a atenção como o problema crescente e urgente nas últimas décadas, em que se observou um aumento significativo não apenas no número de casos anualmente notificados em todas as regiões monitoradas pela Organização Mundial da Saúde (OMS).

A OMS atualmente estima que entre 100 e 400 milhões de infecções ocorram anualmente por todos os sorotipos de DENV (DENV1-4), com cinquenta por cento da população mundial vivendo onde a dengue é uma ameaça (OMS, 2024). Até o presente momento, cerca de 4 bilhões de pessoas estão sob risco de serem infectadas, mas esse número pode aumentar para 5 bilhões de pessoas em breve (OMS, 2024).

A dengue é atualmente o arbovírus com maior relevância mundial, presente em mais de 125 países (OMS, 2024; Andrioli; Busato; Lutinski, 2020; Messina *et al.*, 2019) (Figura 1). Nas Américas, a dengue é transmitida principalmente pelas fêmeas da espécie *Aedes aegypti* e é endêmica em muitos países.

Figura 1 – Distribuição geográfica dos casos de dengue notificados à OMS em 2024.



Fonte: Adaptado de Organização Mundial da Saúde (2024).

Em 2025, até a 33<sup>a</sup> semana epidemiológica, foram registrados 1.618.413 casos prováveis de dengue no Brasil (Brasil, 2025a), valor correspondente a uma redução de aproximadamente 70% em relação ao mesmo período de 2024, apesar de representar um aumento de 12% em comparação à média dos últimos cinco anos. Essa queda reflete o impacto das ações intensificadas de controle vetorial e profilaxia instituídas desde o surto de 2024, incluindo eliminação de criadouros, aplicação focalizada de inseticidas, vigilância epidemiológica reforçada e campanhas de mobilização social (OPAS, 2024; Wilder-Smith *et al.*, 2017).

A série histórica contextualiza o cenário recente: em 2024, o Brasil acumulou cerca de 6,6 milhões de casos prováveis de dengue (Brasil, 2024). Já em 2022, foram notificados aproximadamente 1,45 milhão de casos prováveis de dengue, indicando que 2024 foi atípico, marcando um patamar inédito em magnitude (Brasil, 2022). No panorama regional das Américas, o ano de 2024 foi caracterizado por uma epidemia de dengue sem precedentes, com mais de 13 milhões de casos notificados em toda a região. O Brasil concentrou a maior parte desses registros, ultrapassando 10 milhões de casos prováveis, configurando o maior surto já documentado desde o início dos registros sistemáticos na década de 1980 (OPAS/OMS, 2024).

Assim, a redução drástica observada em 2025, embora ainda acima da média quinquenal, sugere um importante efeito das intervenções sanitárias intensificadas

após o surto de 2024. Contudo, a persistência de fatores determinantes ambientais e socioeconômicos impede a complacência. As mudanças climáticas continuam favorecendo a expansão geográfica e o prolongamento da temporada de transmissão ao alterar regimes de temperatura e precipitação (Caminade *et al.*, 2017). Adicionalmente, a urbanização sem planejamento e a infraestrutura sanitária inadequada continuam a favorecer a proliferação do *Aedes aegypti*, contribuindo para a manutenção da transmissão (Hotez, 2016).

Nesse contexto, é fundamental que as medidas de controle permaneçam estruturadas, abrangendo vigilância epidemiológica contínua, educação e mobilização comunitária, inovação em controle vetorial e desenvolvimento de vacinas (Wilder-Smith *et al.*, 2017).

## 2.2 ANATOMIA E REPRODUÇÃO DE *Ae. aegypti*

A espécie *Ae. aegypti*, também conhecida como mosquito da dengue, é membro da família *Culicidae* e foi registrada pela primeira vez em 1762 no Egito. Embora inicialmente encontrado na África, sua presença global está intimamente associada à atividade humana e urbana., possivelmente chegando ao Brasil durante o período colonial por meio do transporte de escravizados (Consoli; Lourenço-de-oliveira, 1994; Zara *et al.*, 2016).

A espécie *Ae. aegypti* é amplamente distribuída em regiões tropicais e subtropicais do planeta, devido às condições climáticas favoráveis ao seu ciclo biológico, incluindo temperaturas elevadas e alta umidade relativa (OPAS, 2004). Apesar dessa predominância, registros indicam sua ocorrência em áreas de elevada altitude, como determinadas regiões do México e da Índia, evidenciando sua capacidade adaptativa frente a diferentes condições ambientais (OPAS, 2004). A sobrevivência e a proliferação deste vetor estão intimamente associadas a ambientes urbanos desordenados, caracterizados por insuficiência de infraestrutura, saneamento básico e gestão de resíduos sólidos, bem como pela ausência de políticas públicas de controle vetorial (Natal, 2002; Coelho, 2008; Zara *et al.*, 2016).

Além disso, *Ae. aegypti* apresenta comportamentos adaptativos que favorecem sua reprodução e manutenção em áreas habitadas pelo ser humano, como o

sinantropismo, que descreve sua convivência próxima às populações humanas, e a antropofilia, caracterizada pela preferência por se alimentar de sangue humano (Cristophers, 1960; Coelho, 2008). Essas características, aliadas à oviposição preferencial em recipientes artificiais contendo água limpa ou levemente turva, ampliam a capacidade de colonização do mosquito em ambientes domésticos e periurbanos (Gubler, 2011; Zara *et al.*, 2016). Tal combinação de fatores torna o controle da espécie particularmente desafiador, exigindo estratégias integradas que considerem não apenas aspectos entomológicos, mas também determinantes sociais, econômicos e ambientais.

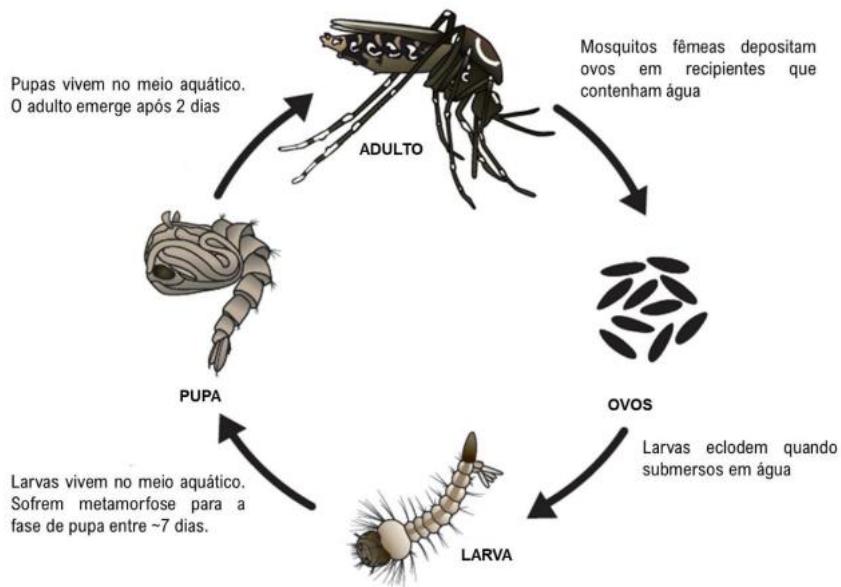
Mosquitos culicídeos se reproduzem de forma geral em criadouros naturais, como flores ornamentais que aculem água, cavidades e ocos de árvores, assim como em internódios de bambu. Algumas espécies como *Ae. aegypti*, têm a capacidade de se desenvolverem em criadouros artificiais, como recipientes de diversos materiais que acumulem água a céu aberto, como garrafas PET, pneus, tanques e caixas d'água, basicamente qualquer tipo de reservatório que acumule água com pouco material orgânico e sem movimentação/agitação (Consoli; Oliveira, 1994; Forattini, 2002).

As fêmeas de *Ae. aegypti* podem se alimentar de sangue várias vezes durante um ciclo gonadotrófico, aumentando sua capacidade de disseminar vírus na população (Consoli; Lourenço-de-oliveira, 1994; Natal, 2002). Os estágios imaturos são exclusivamente aquáticos, com os ovos depositados nas paredes dos criadouros a linha d'água. Os ovos são alongados, com cerca de 1 mm de comprimento, e as fêmeas os colocam individualmente e os distribuem em diferentes criadouros para evitar competição entre as larvas (Harrington; Edman, 2001).

Os ovos de *Aedes* têm uma característica única chamada "quiescência", sendo eles resistentes à dessecação e se mantêm viáveis por longos períodos (mais de 300 dias) esperando por condições adequadas de eclosão, ou seja, presença de água no criadouro (Consoli; Lourenço-de-oliveira, 1994; Forattini, 2002).

Na fase larval, *Aedes* passa por quatro estadios (L1 a L4) cuja duração é influenciada por condições ambientais, alimentação e densidade de larvas no criadouro. Após o quarto estadio, a larva se torna uma pupa, onde a metamorfose para a fase adulta ocorre entre dois a três dias, variando conforme fatores bióticos e abióticos (Consoli; Lourenço-de-oliveira, 1994; Forattini, 2002) (Figura 2).

Figura 2 - Estágios de desenvolvimento do mosquito *Ae. aegypti*.



Fonte: Adaptado de Centers For Disease Control and Prevention-CDC (2009).

### 2.3 MÉTODOS PARA CONTROLE DE AEDES AEGYPTI NO BRASIL

A reintrodução de *Ae. aegypti* no Brasil ocorreu em 1976, após o país enfrentar uma introdução seguida de expansão do vetor, facilitado pelas condições socioambientais favoráveis da época. Porém, nas décadas de 1940 e 1950, durante as campanhas para controlar a febre amarela, a espécie foi tida como erradicada do território nacional (FUNASA, 2001).

A primeira epidemia por dengue ocorreu em 1982 em Roraima, levando a esforços irregulares e pontuais de controle de *Ae. aegypti*. Em 1986, o sorotipo 1 do vírus dengue (DENV-1) foi introduzido no Rio de Janeiro, espalhando-se rapidamente para outros estados. A incidência aumentou com a introdução do sorotipo 2 (DENV-2), indicando uma iminente epidemia de dengue e um aumento significativo nas formas graves de dengue. Para combater essa situação, foi lançado o Programa de Erradicação do *Aedes aegypti* (PEAa) em 1996 (BRAGA; VALLE, 2007).

Apesar dos esforços das entidades governamentais de saúde, o objetivo inicial do Programa de Erradicação do *Aedes aegypti* (PEAa) não foi alcançado, e a situação epidemiológica tornou-se ainda mais preocupante. A expansão territorial do vetor foi

acompanhada por um aumento expressivo no número de casos de dengue registrados nos anos subsequentes (Braga; Valle, 2007; Zara et al., 2016). Cinco anos após a implantação do PEAa, foi instituído o Plano de Intensificação das Ações de Controle da Dengue (PIACD), que, embora mantivesse a meta de reduzir a infestação do vetor, representou uma mudança conceitual importante: substituiu-se a perspectiva de erradicação pela de controle, reconhecendo-se a complexidade biológica e operacional envolvida na eliminação completa da espécie. Essa reorientação estratégica refletiu o amadurecimento das políticas públicas diante da persistência e adaptação do *Ae. aegypti* em ambientes urbanos.

Em 2002, foi elaborado o Plano Nacional de Controle da Dengue (PNCD), implementado em colaboração com a comunidade e o estado, ambos responsáveis pela execução do controle integrado do vetor (Brasil, 2002; Braga; Valle, 2007; Figueiro, 2010; Zara et al., 2016). O PNCD tinha como principal objetivo reduzir a incidência de dengue e suas complicações letais, focando na diminuição da infestação por *Ae. aegypti*. Suas metas incluem: (1) reduzir o índice de infestação predial para menos de 1% em cidades prioritárias; (2) diminuir em 50% o número de casos de 2003 em relação a 2002, mantendo uma redução adicional de 25% a cada ano; e (3) reduzir a letalidade da febre hemorrágica da dengue para menos de 1% (Fundação Nacional de saúde, 2002; Pessanha et al, 2009).

A implementação de novas estratégias no manejo integrado é fundamental para a sustentabilidade das ações de vigilância e para a adaptação aos cenários epidêmicos do Brasil (Araújo et al., 2015; Zara et al., 2016). Em resposta à epidemia de Zika e à declaração de Emergência em Saúde Pública de Importância Internacional (ESPII) pela OMS, o Brasil organizou a "Reunião Internacional para Implementação de Novas Alternativas para o Controle de *Aedes aegypti*" em 2016, coordenada pelo PNCD (Vale, 2016). Durante esse evento, foram avaliadas tecnologias alternativas de controle vetorial, divididas em três categorias: (a) "Abordagens recomendadas para inclusão imediata no PNCD"; (b) "Abordagens para inclusão imediata no PNCD em situações especiais"; e (c) "Tecnologias potencialmente promissoras". Esta última categoria inclui ferramentas que não podem ser incorporadas imediatamente devido a questões de custo-benefício, escalonamento ou necessidade de ajustes operacionais significativos, incluindo tecnologias de controle autocida ou genético (Vale, 2016).

Em 2025, o Ministério da Saúde publicou as *Diretrizes Nacionais de Prevenção e Controle de Arboviroses*, documento que consolida um novo marco conceitual para o manejo integrado de vetores no Brasil, incorporando tecnologias inovadoras e abordagens baseadas em risco territorial (Brasil, 2025b). Mais do que instituir um programa, as diretrizes promovem uma mudança de paradigma nas ações de vigilância e controle, orientando as intervenções de acordo com as características epidemiológicas, ambientais e sociais de cada território.

É importante reconhecer que existem alternativas eficazes que, quando aplicadas em contextos específicos e de forma combinada, demonstram potencial significativo e de impacto no controle das arboviroses urbanas (Zara *et al.*, 2016). É crucial entender que as populações com acesso limitado a serviços de saneamento e que vivem em condições socioeconômicas desfavoráveis, muitas vezes em áreas vulneráveis à violência urbana e com serviços de saúde inadequados, têm maior risco de adoecer por dengue e outras doenças transmitidas pelo *Aedes aegypti* (Mota *et al.*, 2019; Almeida, Cota e Rodrigues, 2020). Da mesma forma, comunidades indígenas que habitam áreas de proteção ambiental, onde o uso de inseticidas não é recomendado, podem se beneficiar da adoção de tecnologias alternativas de controle vetorial (Brasil 2025b).

As intervenções contra doenças vetoriais requerem ações intersetoriais além da saúde. A Coordenação-Geral de Vigilância de Arboviroses, com especialistas e gestores estaduais e municipais de saúde, promove debates sobre vigilância e controle baseados em pesquisas e evidências científicas sobre novas estratégias entomológicas (Brasil, 2025b).

Assim, o Plano de Ação para Redução da Dengue e outras Arboviroses exige adaptações às particularidades locais e necessita do envolvimento da população, da articulação entre diferentes setores governamentais, tanto dentro quanto fora da saúde, e, especialmente, da participação dos Agentes Comunitários de Saúde (ACS) e de Combate às Endemias (ACE) para alcançar os objetivos estabelecidos (Brasil 2025b).

A implementação de mudanças no controle vetorial e na vigilância entomológica representa um desafio significativo. Contudo, a busca por alternativas inovadoras se torna urgente devido à gravidade e ao impacto epidemiológico das arboviroses no cenário nacional (Honório *et al.*, 2017). O plano já inclui várias tecnologias promissoras

para o controle de vetores, abrangendo métodos biológicos e de monitoramento inteligente (Brasil 2025b).

Entre as tecnologias disponíveis, foram incorporadas no Programa Nacional de Controle da Dengue: a estratificação de risco; uso do *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti), como inseticida biológico para o controle de larvas de *Aedes* spp o uso de estações disseminadoras de larvicidas (EDLs); a utilização de mosquitos com a bactéria *Wolbachia* e de mosquitos estéreis irradiados (TIE por irradiação), para substituição e supressão das populações selvagens de *Ae. aegypti*, respectivamente (Brasil 2025b).

## 2.4 TÉCNICA DO INSETO ESTÉRIL (TIE)

### 2.4.1 Conceitos e aplicações

O conceito da Técnica do Inseto Estéril (TIE) foi desenvolvido por Edward F. Knipling e aplicado pela primeira vez na década de 1950 para o controle populacional da mosca-das-bicheiras *Cochliomyia hominivorax* (Knipling et al., 1959). Desde então, a técnica tem sido amplamente empregada como componente do manejo integrado de pragas em áreas extensas, demonstrando eficácia na supressão, contenção, prevenção da (re)introdução e até erradicação local de populações de insetos de relevância agrícola e médica (Bourtzis; Vreysen, 2021).

A TIE baseia-se na liberação sistemática de machos esterilizados por radiação ionizante, os quais competem por fêmeas selvagens, resultando em acasalamentos inférteis e na redução gradual da população ao longo das gerações. Trata-se de uma abordagem genética, espécie-específica e ambientalmente segura, que pode ser integrada de forma complementar a outras estratégias de manejo integrado. Sua implementação bem-sucedida requer conhecimento aprofundado da bioecologia da espécie-alvo e adaptação dos procedimentos logísticos e operacionais às condições locais, garantindo viabilidade técnica e custo-efetividade (Hendrichs et al., 2002; Dyck et al., 2021). A Figura 3 ilustra esse princípio, evidenciando o efeito cumulativo das liberações contínuas de machos estéreis de *Aedes aegypti* sobre a população selvagem. À medida que esses machos copulam com fêmeas férteis, ocorre uma redução progressiva da taxa de reprodução, refletindo o fundamento autocida da técnica, cuja eficiência depende da proporção de machos estéreis liberados e da frequência das liberações em campo.

Figura 3 - Figura ilustrando o efeito da técnica do inseto estéril ao longo do tempo.



Fonte: Brasil (2025b).

A esterilização de machos pode ser realizada por várias técnicas, incluindo quimioesterilização, radiação ionizante e incompatibilidade citoplasmática com o uso de mosquitos infectados por *Wolbachia* (Becker *et al.*, 2003, Calvitti *et al.*, 2015). A TIE é um método ambientalmente seguro para o controle populacional de insetos. É uma técnica espécie-específica, que não afeta o ambiente utilizando a própria espécie para reduzir a taxa de natalidade populacional (Knipling, 1959; Knipling *et al.*, 1968). A TIE envolve a criação em massa e liberação de centenas de milhares de machos esterilizados de boa qualidade na área de interesse. Os machos estéreis acasalam com fêmeas selvagens que posteriormente depositam ovos inférteis, diminuindo gradualmente as taxas de reprodução da população selvagem. Portanto, a TIE exige liberações sistemáticas e contínuas, para promover a supressão populacional existente na área alvo (Vreysen *et al.*, 2021).

A TIE tem alcançado êxito no controle de diversas espécies de pragas, incluindo mosca-das-frutas, mosca tsé-tsé, mosca-da-bicheira, traças e mariposas. Recentemente, foram iniciados projetos-piloto para controlar culicídeos em vários países da América Latina e do Caribe, dentre eles o Brasil, como destacado por Vreysen e colaboradores (2021). Pode-se apontar como benefício dessa tecnologia a

redução significativa nas perdas de produção agrícola e pecuária, além da proteção dessas indústrias ao prevenir a introdução de pragas (Vreysen *et al.*, 2021). Adicionalmente, permite a isenção de restrições quarentenárias para a exportação de frutas e vegetais para mercados exigentes, contribuindo para o fortalecimento econômico. Além disso, a TIE gera empregos direta e indiretamente relacionados ao setor de interesse (agropecuária e saúde), reduzindo consideravelmente os custos de produção. Isso preserva o ambiente, diminuindo o uso de inseticidas químicos, mas também protege a saúde humana (Vreysen *et al.*, 2021).

Recentemente, a TIE tem ganhado destaque como uma ferramenta eficaz para suprimir espécies de culicídeos transmissores de patógenos humanos importantes, como *Ae. aegypti* e *Aedes albopictus* (Bouyer *et al.*, 2020). Em um estudo realizado por Bond *et al.* (2021), usando culicídeos coletados na região de Chiapas, foi investigado o efeito da irradiação na competitividade de acasalamento de machos de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* em condições de laboratório e de campo. Os resultados demonstraram que os machos estéreis de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* mantiveram sua competitividade mesmo após serem irradiados com doses de 50 Gy e 40 Gy, respectivamente. Esses machos estéreis induziram até 88% de esterilidade em campo. Nos últimos anos, houve um aumento significativo no interesse, desenvolvimento e teste da TIE em campo contra populações de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* em diversas partes do mundo. Tur *et al.* (2021) descrevem os procedimentos operacionais atuais e os parâmetros de controle de qualidade de uma instalação de criação em média escala, que produziu mais de 15 milhões de machos estéreis irradiados para liberação durante dois anos (2018-2020). Além disso, Gato e colaboradores (2021) apresentam resultados de um teste de campo da TIE contra *Ae. aegypti* em duas áreas urbanas de Havana, Cuba. Ao longo de 20 semanas, mais de 1,2 milhão de machos estéreis foram soltos em uma área habitada de cerca de 50 hectares. Esses machos estéreis demonstraram alta competitividade, induzindo níveis elevados de esterilidade e suprimindo completamente a população-alvo, como indicado pelos índices de ovitrampa e pelo número médio de ovos por armadilha (Gato *et al.*, 2021).

No Brasil, a primeira aplicação piloto da TIE para *Aedes aegypti* foi conduzida na Vila da Praia da Conceição, em Fernando de Noronha (PE), entre dezembro de 2015 e dezembro de 2016, pelo Instituto Aggeu Magalhães – Fiocruz (IAM/Fiocruz-PE), com apoio da Secretaria de Saúde local e da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

O projeto utilizou pupas irradiadas com fonte de cobalto-60 (40 Gy até a 18<sup>a</sup> soltura, e posteriormente 50 Gy), totalizando cerca de 51–52 liberações ao longo de um ano. Os resultados mostraram picos de inviabilidade de ovos próximos a 80% e redução de aproximadamente 46% na densidade de ovos na área tratada, frente a 27% na área controle (Florencio, 2017).

O projeto de maior escala foi implementado em Recife (PE), no bairro de Brasília Teimosa, tendo o bairro do Pina como controle. Coordenado pela Moscamed Brasil, em parceria com o Departamento de Energia Nuclear da UFPE e apoio financeiro da IAEA, e Ministério da Saúde do Brasil, o estudo liberou mais de 37 milhões de machos estéreis produzidos em Juazeiro - BA e irradiados como adultos (65 Gy) por radiação gama (Macedo *et al.*, 2025 submetido para publicação).

A intervenção foi realizada em duas fases: na primeira (outubro/2020 – julho/2021), com liberações semanais, obteve-se razão estéril: silvestre média de 5,14 e esterilidade induzida de 18,4%, resultando em reduções significativas na taxa de eclosão (-11%) e na abundância de fêmeas (-18%). Na segunda fase (julho/2021 – abril/2022), com duas liberações semanais, a razão estéril: silvestre aumentou para 13,45 e a esterilidade induzida para 30%, com reduções significativas de 39% no número de ovos/armadilha/dia, 33% na taxa de eclosão e 51% na abundância de fêmeas (MACEDO *et al.*, 2025 submetido para publicação). Mesmo com desafios logísticos relacionados ao transporte aéreo (~700 km), a intensificação da frequência de liberação potencializou significativamente o impacto da TIE na área tratada.

A TIE por irradiação foi recentemente incorporada às Novas Diretrizes Nacionais de Prevenção e Controle das Arboviroses Urbanas no Brasil, publicadas em maio de 2025 (Brasil, 2025), representando um marco significativo na diversificação das estratégias de controle vetorial do país. Esta incorporação reflete o reconhecimento oficial da TIE como ferramenta biotecnológica complementar às metodologias convencionais, estabelecendo protocolos específicos para sua implementação em territórios com características epidemiológicas e entomológicas particulares. Conforme estabelecido nas diretrizes nacionais, a utilização da técnica é recomendada prioritariamente para territórios que possuam, predominantemente, vetores da espécie *Aedes aegypti*, considerando fatores como densidade populacional vetorial, padrões de resistência a inseticidas, características ambientais e aspectos socioeconômicos locais. Esta recomendação enfatiza a necessidade de estudos entomológicos prévios para

caracterização da população-alvo e estabelecimento de parâmetros operacionais adequados (Brasil, 2025).

#### **2.4.2 Efeitos Biológicos das irradiações ionizantes**

A irradiação ionizante constitui um fenômeno físico caracterizado pela capacidade de determinadas radiações em remover elétrons de átomos, produzindo íons. Esse processo fundamental, conforme descrito por Turner (2007), ocorre quando a energia da radiação incidente excede a energia de ligação dos elétrons nos orbitais atômicos, geralmente na ordem de alguns elétron-volts (eV). A compreensão desse mecanismo possui aplicações essenciais em diversas áreas, incluindo o controle biológico de insetos vetores por meio da TIE.

De acordo com Podgorsak (2016), as principais formas de radiação ionizante utilizadas em aplicações biológicas incluem as radiações eletromagnéticas (raios X e raios gama) e as radiações particuladas (partículas alfa, beta e nêutrons). Os raios gama, em particular, são amplamente empregados na TIE devido a sua alta penetrabilidade e eficiência na indução de alterações biológicas, principalmente cromossômicas (Drzymała, 2001).

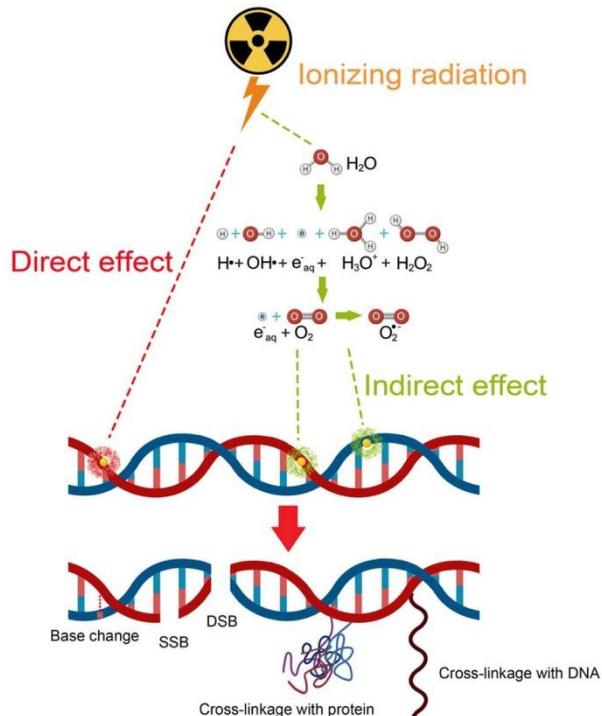
Hall e Giaccia (2018) destacam que estas radiações, originadas principalmente de fontes de Cobalto 60, possuem energia na faixa de 1,17 MeV e 1,33 MeV, valores substancialmente superiores às energias de ligação eletrônica típicas. O processo de ionização pode ocorrer através de dois mecanismos principais: efeito fotoelétrico e efeito Compton. Attix (2008) explica que no efeito fotoelétrico, predominante em baixas energias, o fóton incidente transfere toda sua energia para um elétron orbital, ejetando-o do átomo. No efeito Compton, mais relevante para as energias típicas dos raios gama, ocorre uma interação parcial, onde o fóton transfere parte de sua energia ao elétron e é espalhado com energia reduzida.

A interação da radiação ionizante com a matéria biológica resulta em uma cascata de eventos físico-químicos que ocorrem em diferentes escalas temporais. Segundo Azzam et al. (2012), o processo inicial de ionização ocorre em aproximadamente  $10^{-15}$  s, seguido pela fase físico-química, na qual há formação de radicais livres por meio da radiólise da água — componente que representa cerca de

70–80 % da estrutura celular. Conforme descrito por Goodhead (2006), Biral (2002) e D’Ippolito e Medeiros (2005), os danos biológicos podem ser classificados como diretos ou indiretos. Os danos diretos resultam da ionização de moléculas biologicamente importantes, principalmente DNA e proteínas, enquanto os danos indiretos, que correspondem a cerca de 70 % dos efeitos biológicos, decorrem da ação de radicais livres — especialmente o radical hidroxila ( $\text{OH}^\bullet$ ), altamente reativo e com curta difusão no meio celular (SOROKO et al., 2024).

No contexto do material genético, Ward (1988) descreve que a radiação ionizante pode causar quebras simples (Single Strand Breaks – SSB) e duplas (Double Strand Breaks – DSB) nas fitas de DNA, além de alterações nas bases nitrogenadas, ligações cruzadas DNA-proteína e danos oxidativos aos nucleotídeos. Rothkamm e Löbrich (2003) destacam que as DSBs representam as lesões mais críticas para a indução de esterilidade, por serem de difícil reparo pelos mecanismos celulares endógenos. A Figura 4 ilustra esses mecanismos, diferenciando os efeitos diretos e indiretos da radiação ionizante sobre o DNA, bem como os principais tipos de danos estruturais resultantes desse processo.

Figura 4 - Exemplificação dos efeitos diretos e indiretos de fontes radioionizantes em células eucarióticas.



Fonte: Alanazi *et al.*, 2023.

Os danos gerados pela exposição a fontes radioativas seguem uma relação dose-dependente, a qual é medida em Grays, onde 1 Gy corresponde à absorção de 1 Joule de energia por quilograma de matéria. Os efeitos das radiações ionizantes podem ser classificados como somáticos ou hereditários, sendo que efeitos hereditários se manifestam, sobretudo, nos descendentes do indivíduo irradiado, enquanto efeitos somáticos ocorrem no próprio indivíduo exposto à radiação (Baeyens, 2023).

Na aplicação da TIE, o conhecimento sobre os efeitos biológicos da radiação é fundamental para definir doses que garantam a esterilidade sem comprometer excessivamente a viabilidade dos machos liberados. Considerando a probabilidade de ocorrência, os efeitos somáticos da radiação podem ser classificados em determinísticos e estocásticos (Segreto *et al.*, 2000). Os determinísticos ocorrem após exposição a altas doses em um curto intervalo de tempo, havendo um limiar de dose absorvida para sua manifestação, cuja gravidade aumenta proporcionalmente à dose (Navarro *et al.*, 2008). Nessa categoria, incluem-se as reações teciduais decorrentes

de doses elevadas, com morte celular como um dos principais desfechos, variando conforme o tipo de radiação e o tecido irradiado (Segreto *et al.*, 2000). Já os efeitos estocásticos não apresentam limiar definido, sendo a probabilidade de ocorrência proporcional à dose absorvida, embora a gravidade permaneça independente desta. Tais efeitos, que podem incluir alterações genéticas ou hereditárias, manifestam-se após longos períodos de latência e são mais evidentes em células germinativas, especialmente nos estágios iniciais da espermatoogênese (espermatócitos e espermatogônias), que são altamente radiosensíveis (Biral, 2002; D'ippolito; Medeiros, 2005). No entanto, em mosquitos, a determinação e mensuração de efeitos estocásticos é particularmente complexa, devido ao seu curto ciclo de vida e à dificuldade de estabelecer uma relação causal clara entre a radiação e efeitos tardios.

Estudos realizados por Mladenov *et al.* (2016) indicam que a eficácia biológica da radiação ionizante é influenciada por diversos fatores, incluindo a Transferência Linear de Energia (LET), taxa de dose, fracionamento da dose, condições ambientais durante a irradiação e estágio de desenvolvimento do organismo. Na aplicação específica para a TIE, a otimização destes parâmetros é crucial para alcançar o equilíbrio entre a máxima indução efetiva de esterilidade e a manutenção da viabilidade e competitividade dos insetos tratados com a menor dose possível (Santivasi; Xia, 2014).

A quantificação precisa da dose absorvida é realizada através de sistemas dosimétricos, incluindo dosímetros físicos, químicos e termoluminescentes (Dewerd; Kissick, 2014). O controle de qualidade do processo de irradiação envolve a verificação regular da calibração das fontes, uniformidade da dose, reprodutibilidade das condições e documentação rigorosa do processo, seguindo protocolos internacionais estabelecidos pela IAEA (IAEA, 2020). A compreensão detalhada dos princípios físicos e biológicos da irradiação ionizante permite a otimização contínua dos protocolos da TIE, contribuindo para sua eficácia como ferramenta de controle vetorial.

Os avanços na tecnologia de irradiação e na compreensão dos mecanismos moleculares de resposta à radiação, como documentado por Santivasi e Xia (2014), continuam expandindo as possibilidades de aplicação desta técnica no controle de pragas e vetores de doenças.

### 2.4.3 Fatores que afetam a esterilização de mosquitos

O sucesso da TIE depende da liberação de machos estéreis em grandes quantidades no campo, com a indução de altos níveis de esterilidade na população-alvo. Para isso, é essencial dispor de protocolos de irradiação confiáveis, capazes de garantir esterilidade elevada e consistente, sem comprometer a qualidade biológica dos insetos liberados (Yamada *et al.*, 2022).

Embora os níveis esperados de esterilidade possam ser alcançados com doses conhecidas, fatores biológicos e físicos influenciam a resposta dos mosquitos à radiação. Entre os fatores biológicos, destacam-se o estágio de vida, o sexo e a idade do inseto, enquanto fatores físicos incluem condições atmosféricas e características do ambiente de irradiação (Helinski *et al.*, 2006; Balestrino *et al.*, 2010; Yamada *et al.*, 2014; Ernawan *et al.*, 2021; Tussey *et al.*, 2023).

Recentemente, estudos têm investigado os efeitos de múltiplos fatores sobre a esterilização, incluindo origem geográfica da cepa, idade e tamanho das pupas, condições atmosféricas, além dos impactos do resfriamento e da anóxia durante a irradiação, com o objetivo de estabelecer protocolos padronizados para pupas (Yamada *et al.*, 2019, 2020, 2022; FAO/IAEA, 2019). Entretanto, padronizar a irradiação de pupas apresenta desafios operacionais significativos, principalmente em programas de larga escala. A idade da pupa é um fator crítico, uma vez que pupas mais jovens são mais sensíveis à radiação e podem ter sua qualidade comprometida se expostas a doses elevadas, enquanto pupas mais velhas irradiadas com doses ajustadas para pupas jovens recebem subdosagem, resultando em machos parcialmente férteis e prejudicando a eficácia da TIE (Balestrino *et al.*, 2010; Yamada *et al.*, 2019, 2022).

Na prática, restringir o grupo de pupas a um intervalo etário máximo de 16 horas é difícil; pupas com até 30 horas após a pupação são comuns. Além disso, a sincronização necessária para viabilizar coleta, sexagem e irradiação durante o período diurno adiciona complexidade operacional (FAO/IAEA, 2020; Yamada *et al.*, 2022). Outro desafio é o controle das condições atmosféricas durante a irradiação. Em grandes lotes de pupas, é necessário mantê-las imersas em água para evitar compressão, mas a hipóxia resultante reduz a eficácia da radiação e aumenta o estresse fisiológico, comprometendo a qualidade biológica dos machos produzidos.

Em comparação, a irradiação de adultos apresenta vantagens e limitações distintas. Irradiar adultos elimina o problema da hipóxia e permite maior uniformidade na absorção da dose, mas requer manejo mais delicado e condições de contenção rigorosas, aumentando o estresse dos insetos (Yamada *et al.*, 2022).

Apesar dessas evidências, estudos comparativos entre a irradiação de pupas e adultos ainda são limitados, especialmente em contextos de aplicação operacional da TIE. A influência de variáveis experimentais e operacionais evidencia a necessidade de aprofundar investigações sobre qual estágio é mais eficiente e economicamente viável para a esterilização de mosquitos vetores.

### **3 METODOLOGIA**

#### **3.1 LOCAL DE ESTUDO**

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Entomologia da Biofabrica Moscamed Brasil (BMB) situada em Juazeiro (BA), e nos laboratórios do Departamento de Energia Nuclear (DEN) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) localizado em Recife (PE).

#### **3.2 MATERIAL BIOLÓGICO**

##### **3.2.1 Origem dos insetos e manutenção das colônias**

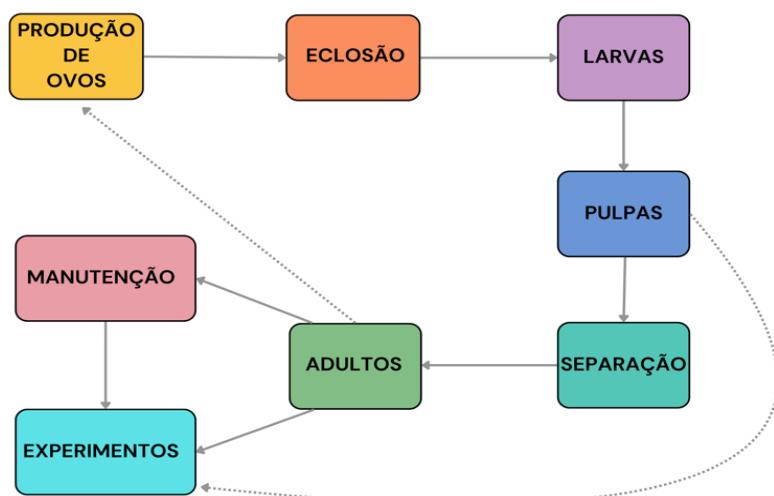
No presente estudo foi utilizada uma colônia de *Ae. aegypti*, linhagem MBR-001, originária de ovos coletados no distrito de Carnaíba do Sertão, município de Juazeiro (BA). A coleta de material biológico (ovos) para a colonização e domesticação da linhagem ocorreu em 2022, com a utilização de armadilhas do tipo ovitrampa instaladas no distrito. As coletas foram realizadas semanalmente (no primeiro trimestre de 2022).

O material coletado foi mantido sob condições controladas no insetário da BMB ( $27\pm1^\circ\text{C}$ , UR de  $70\pm10\%$  e *fotoperíodo* de 12 h). Para a multiplicação da linhagem seguiu-se o protocolo de criação utilizado na Biofabrica Moscamed Brasil, adaptado de Carvalho *et al.* (2014).

### 3.2.2 Criações dos mosquitos

O ciclo de criação e manutenção da colônia segue um protocolo padronizado que se inicia com a produção de ovos, os quais passam pela etapa de eclosão, originando as larvas. Estas se desenvolvem até o estágio de pupas, que são então submetidas ao processo de separação. A partir daí, obtêm-se adultos, que podem ser direcionados para manutenção, visando a reprodução e continuidade da colônia, ou para a realização de experimentos. O fluxograma apresentado na figura 5, ilustra de forma sequencial essas etapas.

Figura 5 - Fluxograma do ciclo de criação de insetos em laboratório, ilustrando as etapas sequenciais desde a produção de ovos até a obtenção de adultos destinados à reprodução ou experimentação.



Fonte: Autora (2025).

#### 3.2.2.1 Produção de ovos

Para a produção de ovos, foram utilizadas pupas fêmeas e pupas machos na proporção de 3:1. Os culicídeos foram alocados em recipientes plásticos e mantidos em gaiolas cilíndricas de PVC com dimensões padronizadas (30 cm de altura e 30 cm Ø), conforme ilustrado na Figura 5, que apresenta o modelo utilizado para o

acondicionamento dos adultos e a observação do comportamento reprodutivo da espécie.

Figura 6 - Gaiola de PVC utilizada para produção de ovos.



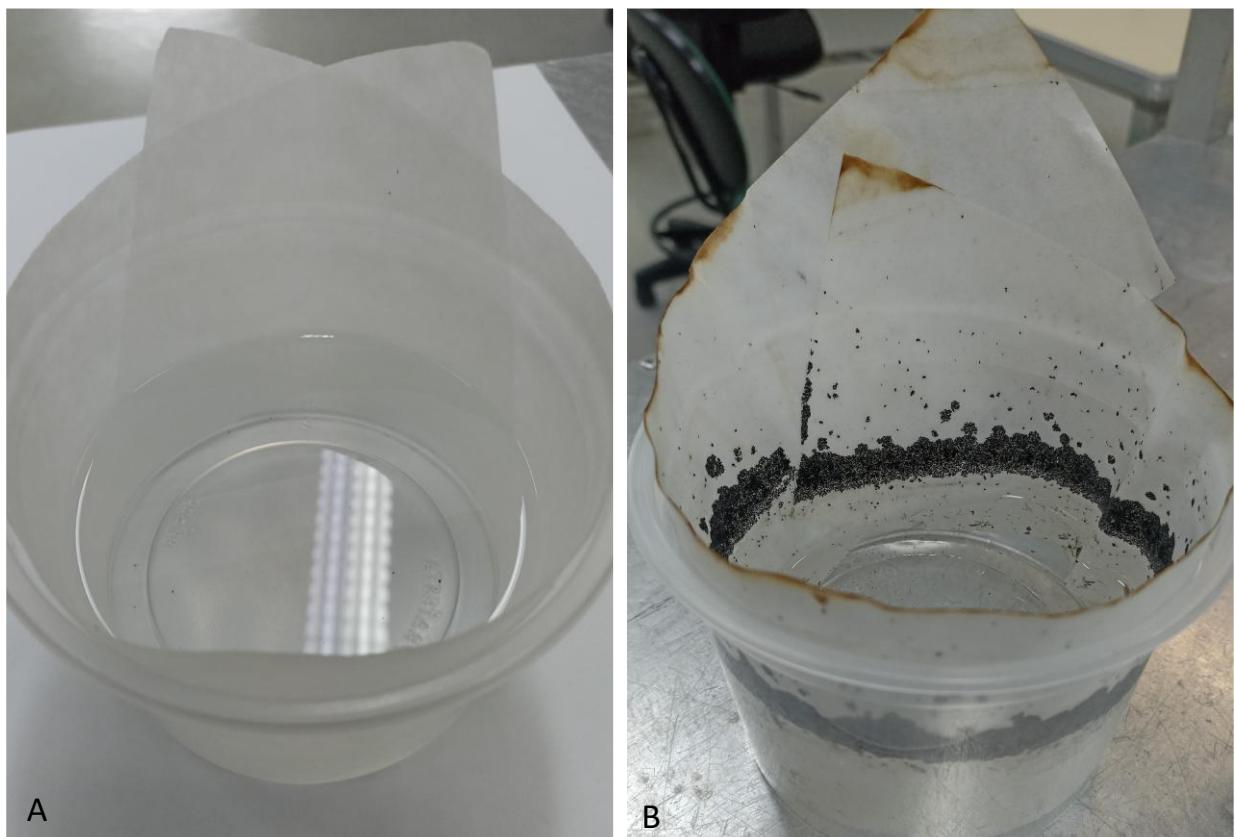
Fonte: Autora (2025).

Após a emergência dos adultos, os insetos tiveram acesso constante a uma solução de sacarose a 10% (p/v) como fonte de carboidratos, essencial para a manutenção energética e longevidade dos adultos. Semanalmente, ofereceu-se um repasto sanguíneo às fêmeas, utilizando sistema de alimentação artificial com sangue de cabra (volume de 0,06 µL por fêmea por ciclo gonotrófico), procedimento necessário para o desenvolvimento ovariano e maturação dos ovócitos.

Decorridos três dias após a alimentação sanguínea, período correspondente ao desenvolvimento completo dos ovócitos (vitelogênese), foram introduzidos nas gaiolas os recipientes destinados à oviposição. Esses recipientes continham 200 mL de água filtrada (volume total de 500 mL; dimensões: 8 cm de altura e 9,5 cm de diâmetro) e eram revestidos com tiras de papel filtro para oviposição (dimensões: 41 cm de largura

e 8 cm de altura), conforme ilustrado na Figura 7, que apresenta a configuração utilizada para coleta e deposição dos ovos.

Figura 7 - Sistema de oviposição para coleta de ovos de *Aedes aegypti*. (A) Recipientes plásticos com água e papel-filtro nas bordas internas como substrato de oviposição. (B) Presença de ovos aderidos ao papel-filtro após o período de postura.



Fonte: Autora (2025).

Após três dias de oviposição, os ovos coletados foram cuidadosamente transferidos para bandejas de secagem e mantidos em condições controladas por aproximadamente sete dias, permitindo a maturação embrionária e a completa secagem dos ovos. Em seguida, os ovos foram removidos das tiras de papel com o auxílio de pincel de cerdas macias, pesados em balança analítica de precisão e armazenados sob condições controladas de temperatura ( $27 \pm 1^\circ\text{C}$ ), umidade relativa ( $70 \pm 10\%$ ) e fotoperíodo (12 h claro:12 h escuro), conforme demonstrado na Figura 8A–8C, que ilustra as etapas de secagem, remoção e armazenamento dos ovos.

Figura 8 - Processo de coleta e armazenamento dos ovos: (A) ovos aderidos às tiras de oviposição, (B) remoção com escova, (C) ovos secos prontos para armazenamento.



Fonte: Autora (2025).

### 3.2.2.2 Criação larval

A criação larval iniciou-se com o processo controlado de eclosão dos ovos, que se dá com a utilização de recipientes de vidro com capacidade de 400 ml, previamente preparados com água filtrada fervida e hermeticamente vedados enquanto quentes, apresentados na Figura 9. Este procedimento tem como objetivo principal reduzir o teor de oxigênio dissolvido na água, criando condições que favorecem a eclosão dos ovos, resultando na sincronização da eclosão larval em um período temporal reduzido, melhorando assim a padronização do processo.

Figura 9 - Recipientes de vidro preparados para eclosão dos ovos.

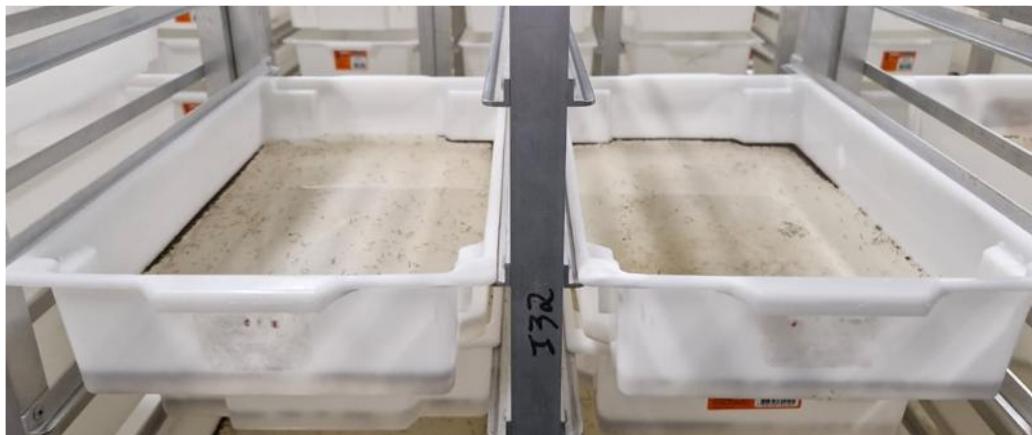


Fonte: Autora (2025).

Após o preparo e resfriamento completo dos recipientes para eclosão à temperatura ambiente (normalmente se deixa por 12-16 horas), aproximadamente 1 g de ovos por recipiente foram imersos e mantidos por um período de duas horas, tempo suficiente para ativação do processo de eclosão. Para a criação propriamente dita das larvas, foram utilizadas bandejas plásticas com dimensões de 9,7 cm de altura, 30,3 cm de largura e 51 cm de comprimento (Figura 10).

Cada bandeja recebeu as larvas recém-eclodidas em densidade previamente estabelecida, de forma a evitar competição excessiva por recursos alimentares e garantir um desenvolvimento homogêneo da população larval. Para o lote de colônia, adotou-se a densidade de 1 larva/mL, enquanto o lote de supressão recebeu 2,25 larvas/mL.

Figura 10 - Bandejas utilizadas para criação larval de *Ae. Aegypti*.



Fonte: Autora (2025).

A alimentação larval foi realizada com uma dieta balanceada composta por três componentes principais: 30% de ração comercial para peixes ornamentais (Sera Vipan Premium®), fonte de proteínas e lipídios essenciais; 35% de levedura de cerveja (*Saccharomyces cerevisiae*), rica em vitaminas do complexo B e aminoácidos; e 35% de farinha de soja, fornecendo proteínas vegetais e carboidratos complexos. Esta composição nutricional foi desenvolvida para atender às exigências metabólicas específicas da fase larval.

As larvas foram alimentadas durante seis dias consecutivos, utilizando um regime de alimentação pré-estabelecido, baseado em tabela adaptada de Carvalho et al. (2014). O regime de alimentação está apresentado na Tabela 1.

Tabela 1– Regime de alimentação aplicado às larvas de *Aedes aegypti* durante seis dias consecutivos, com quantidades e frequências padronizadas.

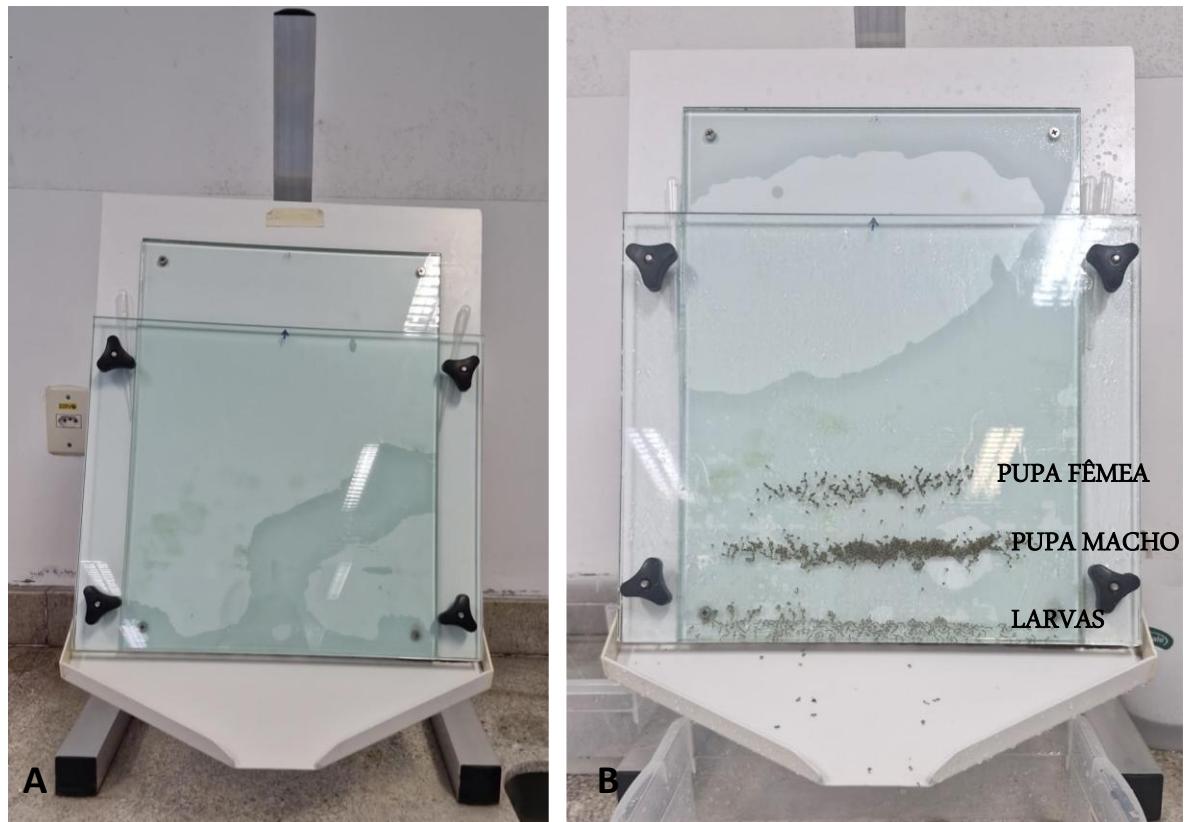
<b>Quantidade de dieta/larva (mg)</b>	<b>Quantidade de dieta/larva (mg)</b>
1	0,06
2	0,08
3	0,16
4	0,31
5	0,64
6	0,32
7	0,20
8	0,11

Fonte: adaptado de Carvalho *et al.* (2014).

### 3.2.2.3 Separação e sexagem de pupas

A separação de pupas foi realizada com o auxílio do separador manual de pupas modelo Moscamed Brasil (Moscamed Brasil, 2024). O equipamento é constituído por duas placas de vidro sobrepostas e quatro válvulas (duas superiores e duas inferiores). Quando fechadas, as válvulas pressionam as placas de vidro uma contra a outra que passam a funcionar como um gradiente linear, no qual objetos maiores se acumulam na parte superior e objetos menores, na inferior. O conteúdo das bandejas de criação (larvas e pupas) foi colocado entre as placas de vidro com as válvulas fechadas. À medida que a água era adicionada, com o auxílio de uma mangueira de 5 mm de diâmetro, as válvulas inferiores eram gradualmente abertas. Assim, formava-se um gradiente trifásico resultante das diferenças no tamanho corporal dos indivíduos, em que na primeira fase (porção superior) se encontravam as pupas fêmeas, na segunda (porção central) as pupas machos e na terceira (porção inferior) as larvas (Borges, 2008; Carvalho *et al.*, 2014), conforme apresentado na Figura 11.

Figura 11 - Separador de pupas por sexo: (A) vista geral do separador de pupas modelo Moscamed, (B) gradiente trifásico de pupas formado durante o processo de separação com diferenciação de pupas macho, pupas fêmeas e larvas.



Fonte: Autora (2025).

Durante o processo de separação, a calibração do equipamento foi rigorosamente controlada, assegurando eficiência superior a 95% na classificação sexual. As pupas foram processadas em lotes padronizados, utilizando dosadores previamente calibrados para quantificar aproximadamente 500 unidades, conforme ilustrado na Figura 12, que apresenta o sistema empregado para a dosagem de pupas.

Figura 12 - Dosadores calibrados utilizados para quantificação das pupas.



Fonte: Autora (2025).

Após a separação, as pupas foram acondicionadas em recipientes específicos de acordo com sua destinação: lotes destinados à manutenção da colônia reprodutiva foram transferidos para gaiolas de criação para continuidade do ciclo biológico, enquanto lotes experimentais foram preparados conforme os protocolos estabelecidos para irradiação na fase de pupa ou na fase adulta, atendendo aos diferentes delineamentos experimentais propostos no estudo.

### 3.3 ESTERILIZAÇÃO DOS INSETOS

Para a esterilização dos insetos, utilizou-se o irradiador MDS Nordion Gammacell 220, equipado com fonte de Cobalto-60 apresentando taxa de dose de aproximadamente 6,7 Gy/min (setembro de 2023), localizado nas instalações da Biofábrica Moscamed Brasil (Figura 13).

Figura 13 - Irradiador de Cobalto-60 utilizado para a esterilização de mosquitos.

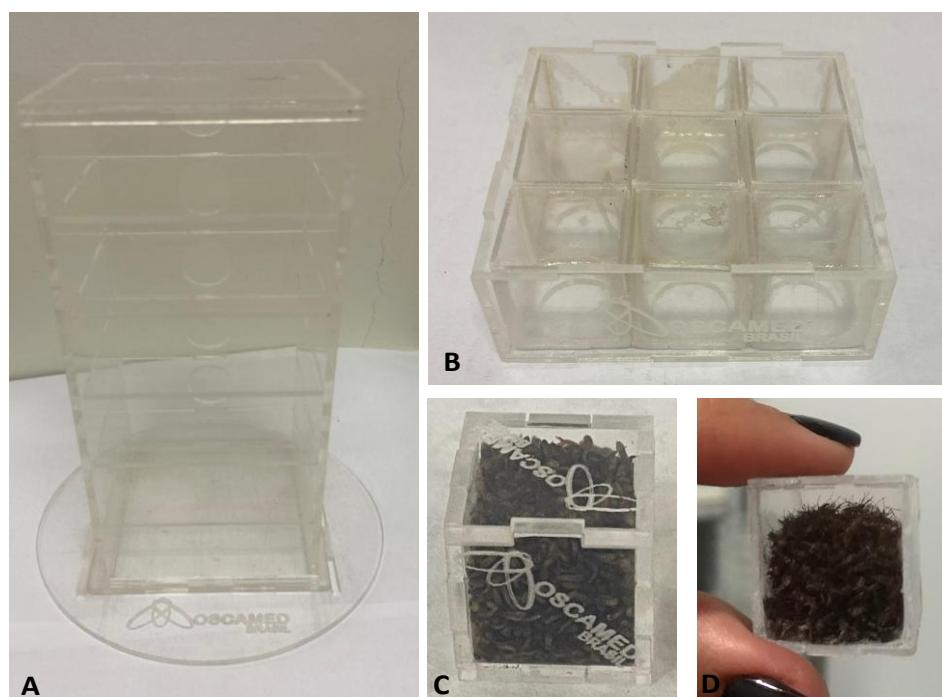


Fonte: Autora (2025).

Com o objetivo de possibilitar a irradiação de volumes maiores de mosquitos, a Moscamed Brasil desenvolveu um dispositivo específico de irradiação, confeccionado em polimetilmetacrilato (PMMA). O sistema é constituído por uma torre de sustentação com 18,8 cm de altura, 9,7 cm de largura e 8,9 cm de profundidade, apresentando espaçamento entre prateleiras de 2,87 cm para o encaixe das gavetas. A torre foi confeccionada em PMMA com espessuras de 0,3 cm e 0,2 cm, conforme as partes estruturais, e está acoplada a uma base circular de 15,0 cm de diâmetro e 0,3 cm de espessura (Figura 14A).

As gavetas possuem formato quadrado, com 7,83 cm de largura, 7,83 cm de profundidade e 2,6 cm de altura, confeccionadas em PMMA com espessura de 0,2 cm (Figura 14B). Elas são destinadas ao acondicionamento de cubos com dimensões de 2,2 cm, fabricados em PMMA com espessura de 0,2 cm, correspondentes a um volume individual de 10,65 cm<sup>3</sup>, nos quais são inseridos os mosquitos nas fases de pupa ou adulto (Figura 14C–D).

Figura 14 - Dispositivo de irradiação desenvolvido pela Moscamed Brasil para volumes maiores de mosquitos. (A) Torre de sustentação acoplada à base circular; (B) Gaveta retangular para organização dos recipientes; (C) Mini cubos para acondicionamento de mosquitos na fase de pupa; (D) Mini cubos para acondicionamento de mosquitos na fase de adulto.



Fonte: Autora (2025).

### 3.3.1 Dosimetria

Para a caracterização dosimétrica do sistema, dosímetros de alanina foram encapsulados aos pares em badges de plástico e fixados em um suporte de cartolina posicionado estratégicamente na região central do dispositivo de irradiação. O suporte contendo os dosímetros foi posicionado acima da gaveta central do dispositivo (Figura 15), região que apresenta maior uniformidade de dose conforme o mapeamento dosimétrico previamente estabelecido.

Figura 15 - Dosimetria realizada para verificação da dose recebida pelos mosquitos durante a irradiação.



Fonte: Autora (2025).

Após a irradiação, os dosímetros foram analisados utilizando espectrômetro de ressonância paramagnética eletrônica (EPR) Bruker, modelo Magnettech ESR5000, operando em banda X. Os parâmetros de operação foram: campo magnético variando entre 320-360 mT, amplitude de modulação de 0,7 mT, frequência de modulação de 100 kHz e potência de micro-ondas de 10 mW.

### 3.4 AVALIAÇÃO DO EFEITO DA DOSE NA RADIOSSENSIBILIDADE DE PUPAS IRRADIADAS EM DIFERENTES CONDIÇÕES.

Para avaliar as condições mais adequadas de armazenamento durante o processo de esterilização de *Aedes aegypti* na fase de pupa, pupas com 30 a 36 horas de idade foram distribuídas em três grupos experimentais, submetidos a diferentes níveis de hidratação: (i) pupas totalmente submersas em água, (ii) pupas percoladas e (iii) pupas secas. No primeiro grupo (i), as pupas permaneceram totalmente imersas em 3 mL de água destilada; no segundo (ii), denominado de pupas percoladas, as amostras foram mantidas em contato com uma fina lâmina de água (1,5 mL); e no terceiro (iii), caracterizado como pupas secas, o excesso superficial de água foi cuidadosamente removido com o auxílio de uma peneira de malha fina. O acondicionamento das pupas nas diferentes condições experimentais está representado na Figura 16.

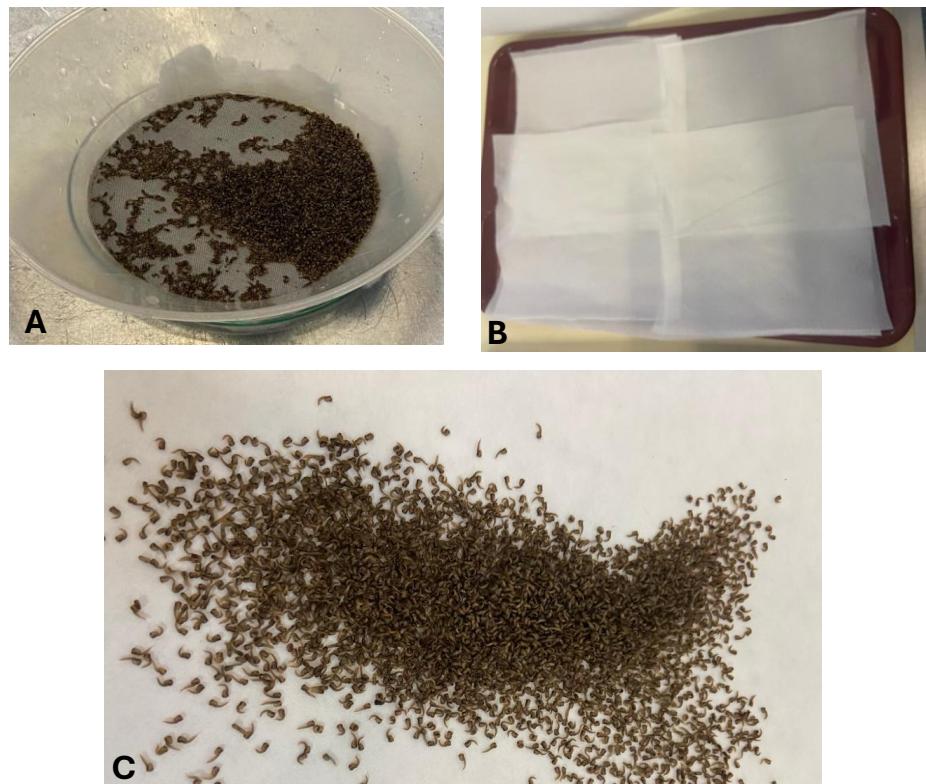
Figura 16 - Pupas de *Aedes aegypti* submetidas a três diferentes condições de hidratação para avaliação da eficácia de esterilização.



Fonte: Autora (2025).

Em seguida, as pupas do grupo seco foram transferidas para bandejas plásticas forradas com papel toalha, realizando-se movimentos suaves para promover o desprendimento uniforme e a remoção homogênea da umidade residual. Essa etapa garantiu a padronização da condição de pupas secas, conforme ilustrado na Figura 17 (A-C). Em todas as condições experimentais, foram utilizadas 1.500 pupas, assegurando amostragem equivalente entre os tratamentos.

Figura 17 - Procedimento de remoção de água das pupas de *Aedes aegypti* para a condição de hidratação de pupas secas. (A) Peneira utilizada para remoção do excesso de água; (B) Bandeja forrada com papel toalha para secagem; (C) Pupas secas após remoção do excesso de água.



Fonte: Autora (2025).

Após o acondicionamento nas respectivas condições experimentais, os cubos foram posicionados em gavetas de acrílico para irradiação. Os cubos que não continham pupas foram preenchidos com arroz arbóreo, material selecionado para simular a presença dos espécimes em virtude da similaridade entre sua densidade e a densidade das pupas de *Aedes aegypti*. As gavetas contendo o material destinado à irradiação foram posicionadas centralmente no terceiro compartimento do protótipo de irradiação e, posteriormente, inseridas na câmara de irradiação (Figura 18). Os parâmetros biológicos avaliados no presente experimento compreenderam: taxa de mortalidade de pupas durante o processo de irradiação, percentual de emergência de adultos, curva de sobrevivência de adultos pós-emergência e determinação da dose esterilizante.

Figura 18- Sistema de irradiação para esterilização de pupas de *Aedes aegypti*. Gavetas de acrílico contendo cubos com pupas posicionadas no protótipo de irradiação e inseridas na câmara do equipamento Gammacell.



Fonte: Autora (2025).

### 3.4.1 Mortalidade de pupas durante irradiação e emergência de adultos.

Após a irradiação, as pupas foram cuidadosamente transferidas para placas de Petri ( $2,3 \times 7,0 \times 10,3$  cm) contendo 50 ml de água filtrada. Em seguida, contabilizou-se o número de pupas mortas durante o processo de irradiação. Posteriormente, as placas foram inseridas dentro de gaiolas BugDorm® ( $30 \times 30 \times 30$  cm) devidamente identificadas com as informações correspondentes a cada grupo experimental.

Após a irradiação, as pupas foram cuidadosamente transferidas para placas de Petri ( $2,3 \times 7,0 \times 10,3$  cm) contendo 50 mL de água filtrada. Em seguida, contabilizou-se o número de pupas mortas durante o processo de irradiação. Posteriormente, as placas foram inseridas em gaiolas BugDorm® ( $30 \times 30 \times 30$  cm), devidamente identificadas com as informações correspondentes a cada grupo experimental.

A taxa de mortalidade das pupas (M) foi determinada de acordo com a Equação (1):

$$M = \left( \frac{N_m}{N_t} \right) \times 100 \quad (1)$$

em que:

$M$ = taxa de mortalidade (%);

$N_m$ = número de pupas mortas;

$N_t$ = número total inicial de pupas.

Após o período de emergência (48 horas pós-irradiação), avaliou-se a taxa de emergência dos adultos, contabilizando-se o número de pupas que não atingiram a fase adulta (pupas mortas e parcialmente emergidas) e calculando-se a porcentagem em relação ao número total de pupas por tratamento. A taxa de emergência ( $E$ ) foi calculada conforme a Equação (2):

$$E = \left( \frac{N_a}{N_t} \right) \times 100 \quad (2)$$

em que:

$E$ = taxa de emergência (%);

$N_a$ = número de adultos emergidos e vivos;

$N_t$ = número total inicial de pupas.

### 3.4.2 Sobrevivência de adultos

Para avaliar a curva de sobrevivência dos mosquitos, 20 machos irradiados recém-emergidos foram acondicionados em recipientes plásticos (14,85 cm de altura × 15 cm de diâmetro), contendo 150 ml de água filtrada e cobertos com tampa de voal. Os mosquitos foram mantidos sob alimentação *ad libitum* com solução de sacarose a 10%. A mortalidade foi monitorada diariamente durante 25 dias consecutivos. Em cada dia de avaliação, os adultos mortos foram retirados dos recipientes com auxílio de um aspirador entomológico, sendo então contabilizados e, em seguida, descartados adequadamente. Para avaliação deste parâmetro comportamental, foram utilizadas cinco repetições por dose, totalizando 100 mosquitos por tratamento.

### 3.4.3 Estabelecimento da curva dose-resposta

Para o estabelecimento da curva dose–resposta e consequente definição da dose ótima para irradiação de pupas, buscou-se identificar a menor dose de radiação capaz de induzir mais de 99% de esterilidade em machos de *Aedes aegypti*. Após a emergência, os insetos foram mantidos em gaiolas BugDorm® para permitir o acasalamento entre fêmeas virgens e machos irradiados, seguido da avaliação da taxa de eclosão de larvas e do nível de esterilidade induzido, conforme ilustrado na Figura 19A.

A esterilidade foi determinada com base na fertilidade (taxa de eclosão dos ovos) de fêmeas copuladas com machos esterilizados, sendo expressa em porcentagem. Para isso, 150 insetos, 75 machos estéreis e 75 fêmeas virgens sexualmente maduras foram mantidos nas gaiolas por 72 horas, na proporção de 1:1.

Após o período de cópula, os machos foram removidos e as fêmeas receberam alimentação sanguínea em sistema artificial. Três dias após o repasto, as 50 fêmeas mais bem alimentadas foram individualizadas em tubos de centrifugação tipo Falcon® de 50 mL, contendo chumaço de algodão umedecido com 10 mL de água destilada e coberto com aro de papel filtro na parte inferior, como mostrado na Figura 19B. Cada tubo recebeu uma fêmea, que permaneceu por três dias consecutivos para oviposição.

Os ovos foram contabilizados sob estereomicroscópio, acondicionados em bandejas plásticas e transferidos para recipientes de 50 mL contendo solução de eclosão preparada com levedura de cerveja e alimento para peixes SeraVipan, conforme apresentado na Figura 19C. O número de larvas L<sub>1</sub> viáveis e a taxa de eclosão dos ovos foram determinados sob estereomicroscópio para avaliar a esterilidade induzida pelos machos irradiados. A taxa de eclosão ( $T_e$ ) foi calculada conforme a Equação 3:

$$T_e = \left( \frac{N_l}{N_o} \right) \times 100 \quad (3)$$

em que:

$T_e$ = taxa de eclosão (%);

$N_l$ = número de larvas eclodidas;

$N_o$ = número total de ovos.

A partir da taxa de eclosão, a esterilidade induzida (**I**) foi determinada pela Equação 4:

$$I = 100 - T_e \quad (4)$$

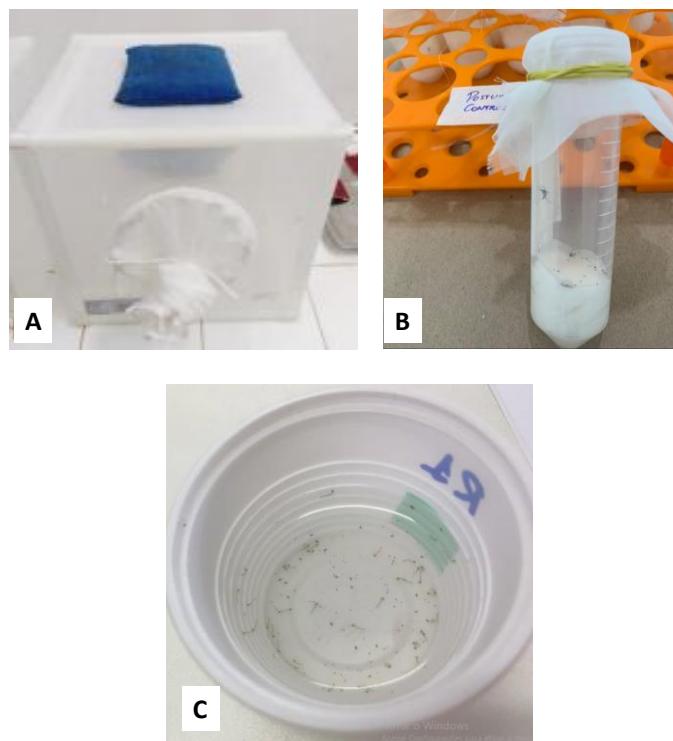
em que:

$I$  = esterilidade induzida (%);

$T_e$  = taxa de eclosão (%).

A dose esterilizante foi definida como a menor dose de radiação capaz de garantir níveis de esterilidade superiores a 99%, sem comprometer significativamente a performance reprodutiva e a longevidade dos machos estéreis.

Figura 19 - Procedimento utilizado para testes de esterilidade. A) Gaiolas utilizadas para cópulas de machos estéreis com fêmeas férteis. B) Tubo Falcon utilizado como “mini gaiola” para postura individual de fêmeas. C) Recipientes para eclosão das larvas.



Fonte: Autora (2025).

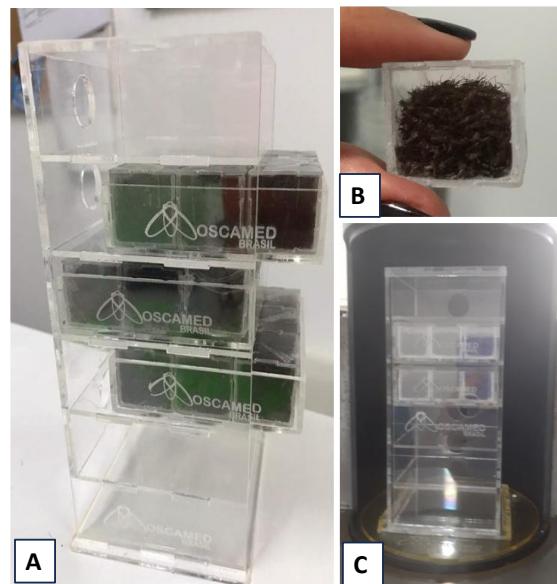
### 3.5 DETERMINAÇÃO DA CURVA DOSE-RESPOSTA PARA ESTERILIZAÇÃO DE MOSQUITOS IRRADIADOS NA FASE ADULTA.

Para o estabelecimento da curva dose-resposta para definição da dose esterilizante e melhor idade para irradiação utilizando adultos, mosquitos machos foram irradiados com 24 e 48 horas de idade após a emergência, e irradiados com as seguintes doses: 35, 45, 55, 60, 65 e 70 Gy. O processo de irradiação foi realizado com os insetos imobilizados a frio e compactados, seguindo protocolo padronizado descrito por Gomez *et al.* (2022).

O procedimento iniciou-se com o resfriamento dos adultos recém-emergidos em câmara fria (Modelo SPLABOR: SP-227/364, faixa de temperatura de  $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , SP Labor) a  $4^{\circ}\text{C}$  por 45 minutos, temperatura suficiente para induzir imobilização temporária sem causar danos aos insetos (*knockdown*). Após o período de resfriamento, os mosquitos foram cuidadosamente compactados em cubos de acrílico transparente, mantendo-se a densidade de 100 insetos/cm<sup>3</sup>, equivalente a aproximadamente 1.000 adultos por cubo (Figura 20A).

Os cubos contendo os mosquitos foram posicionados estratégicamente na parte central do protótipo de irradiação (Figura 20B), garantindo exposição uniforme à radiação. Posteriormente, o protótipo foi posicionado verticalmente no interior da câmara de irradiação (Figura 20C). Durante todo o processo de irradiação, os recipientes permaneceram hermeticamente fechados, assegurando que a esterilização da amostra ocorresse sob condições de normoxia (concentração normal de oxigênio).

Figura 20 - Procedimento utilizado para a esterilização de adultos de *Aedes aegypti*. A) Protótipo de acrílico com gavetas. B) Cubo de acrílico utilizado para acondicionar os mosquitos durante a irradiação. C) Protótipo acondicionado no centro da câmara de irradiação.



Fonte: Autora (2025).

Após a irradiação, os mosquitos foram acondicionados em gaiolas BugDorm® sob condições controladas de temperatura ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ), umidade relativa ( $70 \pm 10\%$ ) e fotoperíodo (12:12 h luz:escuro), para avaliação da esterilidade induzida. A metodologia utilizada seguiu os procedimentos descritos no item 3.4.3, que compreendem as etapas de acasalamento, oviposição e análise da viabilidade dos ovos, empregadas para a determinação dos índices de esterilidade.

A dose de radiação foi definida a partir da esterilidade induzida observada, calculada com base na taxa de eclosão dos ovos ( $T_e$ ), conforme a Equação 3, e no índice de esterilidade ( $I$ ), apresentado na Equação 4. Dessa forma, a dose ótima foi considerada aquela capaz de garantir níveis de esterilidade superiores a 99%, sem comprometer significativamente a performance reprodutiva e a longevidade dos machos estéreis.

### 3.6 COMPARAÇÃO DA QUALIDADE DE MACHOS ESTÉREIS IRRADIADOS EM PUPAS E ADULTOS

Tendo em vista que a avaliação de qualidade detecta qualquer alteração significativa nos machos estéreis produzidos, parâmetros comportamentais como capacidade de voo, sobrevivência e competitividade sexual em laboratório foram testados para mosquitos irradiados nas fases de pupa e adulto. Estes parâmetros são fundamentais para assegurar que o processo de esterilização não comprometa características biológicas essenciais para o sucesso da técnica do inseto estéril em condições de campo (Zhang *et al.*, 2024). Para a realização dos experimentos, pupas e adultos foram irradiados, expondo-os a dose determinada anteriormente, assegurando mais de 99% de esterilidade, sendo 50 Gy para pupas secas e 60 Gy para adultos, exceto para o teste de habilidade de voo, onde foi comparada a habilidade de voo entre machos irradiados na fase de pupa e adulto com doses entre 20 e 70 Gy.

Para pupas em especial, foi escolhida a melhor condição de presença de água durante a exposição a irradiação (pupas submergidas, percoladas ou secas). Por outro lado, para a fase adulta, foram utilizados machos adultos com idades entre 24 e 48 horas após a emergência.

#### 3.6.1 Habilidade de voo

A capacidade de voo dos mosquitos foi avaliada utilizando o dispositivo de *flight ability* desenvolvido pela Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA), conforme descrito por Maiga *et al.* (2022). A Figura 21A ilustra o momento da introdução da amostra, composta por 100 machos adultos, aspirados e acondicionados no interior da câmara do dispositivo por meio de um pequeno orifício de 1 cm de diâmetro localizado na parte inferior do tubo.

No interior do sistema (Figura 21B), os adultos permanecem confinados em um compartimento de 1 cm de altura, do qual se espera que os machos escapem voando através de um dos 40 tubos de voo — cada um com 25 cm de altura e 8 mm de diâmetro interno — em resposta à situação de estresse. Os insetos que conseguem sair pelos tubos são coletados em uma gaiola de contenção, como demonstrado na Figura 21C.

Para estimular o deslocamento dos mosquitos da base do dispositivo, foi utilizado um atrativo para adultos (*BG-Lure Biogents®*, 003-DS-RAC007, França), posicionado na parte superior externa da gaiola de contenção, logo abaixo de um ventilador de 12 V, com velocidade de 6.000 rotações por minuto, capaz de gerar um fluxo de ar de 11,9 m<sup>3</sup>/h, conforme mostrado na Figura 21D.

Após duas horas de teste, o experimento foi encerrado, sendo a parte superior do tubo vedada para permitir a separação dos grupos de machos que escaparam daqueles que permaneceram no interior do dispositivo. Ambos os grupos foram então imobilizados a frio para posterior contagem.

A taxa de escape foi obtida dividindo-se o número de machos que escaparam (encontrados fora do tubo de contenção) pelo número total de machos inseridos inicialmente no dispositivo. Para cada tratamento, o teste foi realizado em três repetições independentes. A taxa de escape ( $T_{esc}$ ) foi calculada de acordo com a Equação 5:

$$T_{esc} = \left( \frac{N_{esc}}{N_t} \right) \times 100 \quad (5)$$

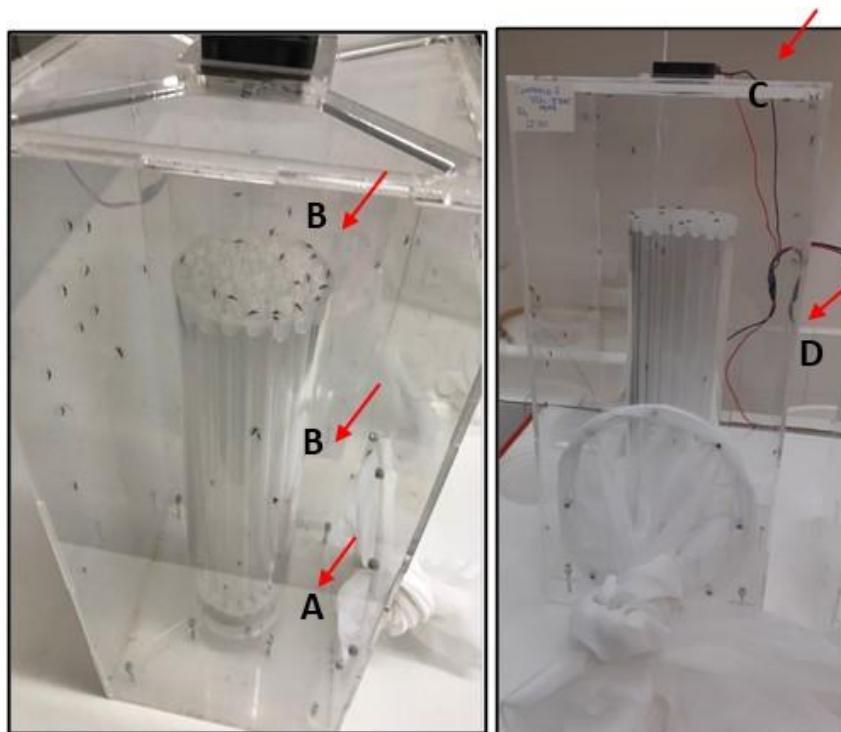
em que:

$T_{esc}$ = taxa de escape (%);

$N_{esc}$ = número de machos que escaparam;

$N_t$ = número total de machos inseridos no dispositivo.

Figura 21 - Dispositivo utilizado para avaliar a capacidade de voo dos mosquitos (Flight ability device); A) orifício de 1 cm para acondicionamento dos mosquitos; B) tubos de acrílico com 25 cm de altura e 8 mm de diâmetro interno; C) Ventilador cooler (12V) inserido na parte superior da caixa de contenção; D) caixa de acrílico para contenção dos mosquitos. Protótipo II.



Fonte: Autora (2025).

### 3.6.2 Curva de sobrevivência

Para avaliar a curva de sobrevivência dos insetos irradiados, grupos de 50 machos irradiados nas fases de pupa e adulto foram submetidos ao protocolo estabelecido para estudos de longevidade descrito no item 3.4.3. garantindo uniformidade nas condições experimentais e comparabilidade dos resultados. O monitoramento da sobrevivência foi realizado através de observações diárias, registrando-se a mortalidade acumulada ao longo de 25 dias. Dos dados obtidos, construiu-se curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier com análise estatística comparativa entre os tratamentos por regressão de Cox. Os espécimes foram mantidos sob condições controladas de temperatura ( $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), umidade relativa ( $70 \pm 10\%$ ) e

fotoperíodo (12:12 h luz:escuro), com fornecimento contínuo de solução açucarada a 10%.

### 3.6.3 Competitividade sexual

Para avaliar a competitividade sexual de machos irradiados nas fases de pupa e de adulto, foram montadas, para cada tratamento, cinco gaiolas experimentais contendo 75 adultos, distribuídos na proporção de 1:1:1 entre machos não irradiados, fêmeas não irradiadas e machos irradiados. No tratamento referente à fase de pupa, foram utilizadas pupas mantidas sob a condição de hidratação previamente identificada como mais adequada e submetidas à dose de radiação esterilizante determinada nos experimentos de calibração da dose ótima. De forma análoga, no tratamento com machos irradiados na fase adulta, foi empregada a melhor dose estabelecida nos testes específicos para adultos, mantendo-se as condições experimentais de temperatura, umidade e fotoperíodo.

A competitividade sexual foi avaliada indiretamente por meio da taxa de eclosão dos ovos resultantes dos acasalamentos, conforme a Equação 3, que relaciona o número de larvas eclodidas ao número total de ovos. Essa medida permitiu inferir a proporção de cruzamentos férteis e, consequentemente, o desempenho reprodutivo dos machos irradiados em comparação aos machos não irradiados. Os dados obtidos foram analisados por meio do cálculo do índice de Fried, utilizando-se um modelo misto binomial, conforme descrito por Pagendam et al. (2018). Esse modelo estatístico possibilita estimar a competitividade sexual de machos irradiados considerando a variabilidade entre réplicas e condições experimentais, além de avaliar a probabilidade de sucesso reprodutivo em diferentes cenários, permitindo determinar a eficácia do tratamento de irradiação na indução de esterilidade.

## 3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises estatísticas foram realizadas utilizando a linguagem estatística R, versão 4.3.2 – *Eye Holes* (R Core Team, 2023), adotando-se nível de significância de  $\alpha = 0,05$  para todos os testes. A longevidade dos insetos foi analisada por meio de modelos de regressão de Cox. Para os experimentos envolvendo diferentes condições de hidratação na fase de pupa (seca, percolada e submersa), a normalidade dos dados

foi verificada e, devido à ausência de distribuição normal, aplicou-se o teste de Kruskal-Wallis, seguido de comparações múltiplas *post hoc* pelo teste de Dunn, com correção de Bonferroni.

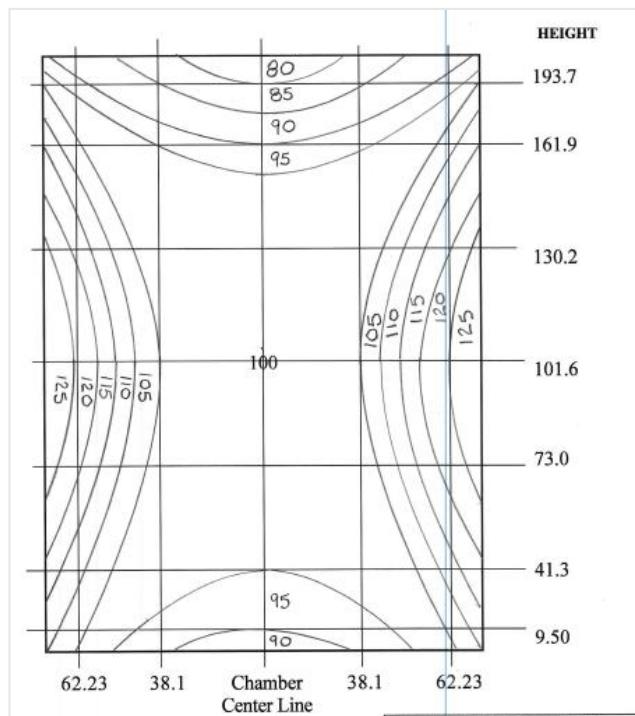
Nos ensaios de dose-resposta e de habilidade de voo, as comparações entre grupos foram conduzidas utilizando modelos lineares generalizados (*Generalized Linear Models – GLMs*). As análises de sobrevivência comparando diretamente pupas e adultos também foram realizadas por regressão de Cox. A competitividade de acasalamento foi determinada a partir do cálculo do índice de Fried, utilizando modelo misto binomial conforme descrito por Pagendam *et al.* (2018), para estimar o parâmetro de competitividade (C) de machos estéreis irradiados na fase de pupa ou adulta. As diferenças entre tratamentos foram avaliadas por meio da distribuição posterior dos valores de C, obtendo-se intervalos de credibilidade de 95% para estimar a magnitude das variações na competitividade entre os estágios irradiados.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 DOSIMETRIA

A caracterização dosimétrica foi essencial para validar a homogeneidade da dose absorvida e garantir a precisão do sistema de irradiação. O desenvolvimento do dispositivo de irradiação fundamentou-se no mapeamento dosimétrico do irradiador. Esse mapeamento demonstrou que, no centro geométrico do equipamento (175 mm de diâmetro por 140 mm de altura), é fornecida 100% da dose nominal ao objeto irradiado. Entretanto, afastando-se desse ponto central, observam-se variações de dose que podem oscilar entre 136% e 74% da dose nominal, dependendo da posição ocupada pelo material durante a exposição (Figura 22). Tal variação é característica de fontes de radiação gama e deve ser considerada no planejamento experimental, a fim de assegurar a uniformidade da dose absorvida pelos espécimes biológicos.

Figura 22 - Curva de isodose do irradiador GammaCell 220 mostrando a distribuição das taxas de dose em função da posição dentro da câmara de irradiação. As curvas representam linhas de igual taxa de dose (em % da dose máxima) distribuídas no volume útil do equipamento. Dimensões em relação ao centro da câmara, com valores expressos em centímetros.



Fonte: Foss Therapy Services, INC. (2022).

Para minimizar essas discrepâncias, todos os ciclos de irradiação foram conduzidos mantendo-se os insetos em posição padronizada no interior do dispositivo. Esse procedimento visou reduzir as variações dosimétricas inerentes ao equipamento e garantir a reproduzibilidade dos resultados obtidos.

As medições dosimétricas, realizadas com dosímetros de alanina, evidenciaram alta precisão e consistência do sistema de irradiação empregado. As doses absorvidas em água, calculadas a partir da resposta dos dosímetros, mostraram-se muito próximas das doses nominais programadas, variando entre -3,5% e +1,3% (Tabela 2). Essa diferença encontra-se abaixo da faixa de incerteza recomendada para sistemas dosimétricos de referência, conforme protocolos internacionais estabelecidos pela IAEA (IAEA, 2012).

Tabela 2 - Resultados da estimativa de dose da alanina. Medias mais ou menos desvio padrão.

Condição de irradiação (papas)	Dose nominal (Gy)	Dose em água determinada com dosímetros de alanina (Gy)	Diferença percentual (%)
Secas	20	19,9 ± 0,5	-0,5
	30	29,6 ± 0,3	-1,3
	35	34,7 ± 0,4	-0,9
	40	39,5 ± 0,3	-1,3
	50	49,9 ± 0,3	-0,2
	70	69,3 ± 0,9	-1
Percoladas	20	19,8 ± 0,4	-1,0
	30	29,4 ± 0,3	-2,0
	35	34,4 ± 0,1	-1,7
	40	39,7 ± 0,4	-0,7
	50	49,2 ± 0,3	-1,6
	70	69,5 ± 0,7	-0,7
Submersas	20	19,4 ± 0,3	3,0
	30	29,8 ± 0,2	0,7
	35	34,3 ± 0,4	2,0
	40	40,5 ± 0,2	-1,3
	50	50,1 ± 0,8	-0,2
	70	69,6 ± 0,5	0,6

Fonte: Autora (2025).

As maiores discrepâncias foram registradas nas doses mais baixas, em especial para pupas submersas irradiadas com 20 Gy, que apresentaram variação de -3,5%. Esse comportamento pode ser atribuído às características de resposta dos dosímetros de alanina em baixas doses, nas quais a incerteza relativa é maior devido à proximidade com o limite de detecção do sistema (Helt-Hansen et al., 2009; Ciesielski et al., 2003). Ainda assim, a consistência observada ao longo de toda a faixa de doses estudada (20–70 Gy) valida a metodologia adotada e confere robustez aos resultados biológicos subsequentes.

A dosimetria com alanina fundamenta-se na formação de radicais livres estáveis induzidos pela radiação ionizante, cuja concentração é proporcional à dose absorvida. A quantificação foi realizada considerando-se a amplitude da linha central

do espectro de Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR), que apresenta correlação linear direta com a dose, de acordo com a curva de calibração previamente estabelecida para o sistema dosimétrico utilizado.

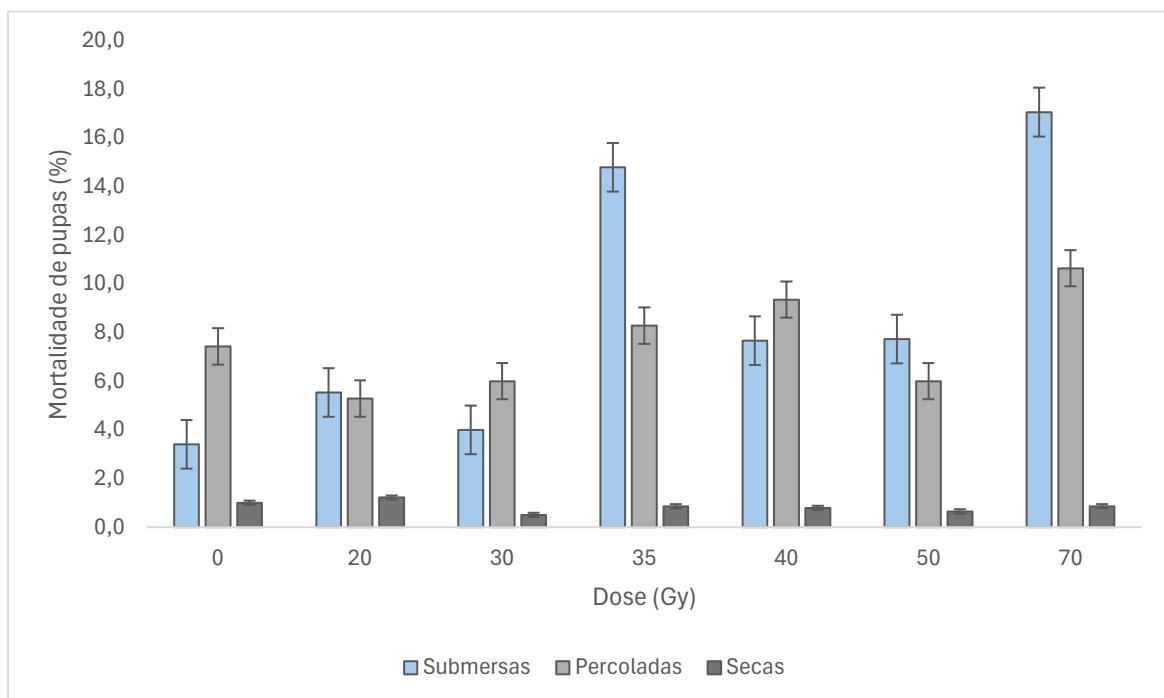
Para corrigir possíveis variações de estabilidade eletrônica do espetrômetro, as respostas EPR da alanina foram normalizadas pela resposta de um padrão interno de rubi, cujo sinal permanece estável em condições laboratoriais, garantindo a correção de flutuações instrumentais. Adicionalmente, as respostas da alanina foram normalizadas pela massa de cada dosímetro, a fim de compensar pequenas diferenças de peso que poderiam influenciar a intensidade do sinal EPR. Também foram aplicadas correções para eventuais variações de temperatura ambiente, utilizando-se o fator de  $+0,14\%/\text{ }^{\circ}\text{C}$ , conforme descrito por Khoury *et al.* (2015). Essa correção é fundamental, uma vez que a resposta dos dosímetros de alanina apresenta dependência térmica, que pode introduzir erros significativos na determinação da dose absorvida caso não seja adequadamente compensada.

#### 4.2 AVALIAÇÃO DO EFEITO DA DOSE NA RADIOSSENSIBILIDADE DE PUPAS IRRADIADAS EM DIFERENTES CONDIÇÕES.

##### 4.2.1 Mortalidade de pupas durante irradiação e emergência de adultos.

A Figura 23 apresenta a porcentagem de mortalidade das pupas após irradiação. Foram observadas diferenças significativas entre as condições de presença de água (teste de Kruskal-Wallis:  $\chi^2 = 13,41$ ;  $gl = 2$ ;  $p = 0,001$ ). As pupas que foram secas sofreram o menor nível de mortalidade, com  $0,84\%$  ( $\pm 0,24\%$ ) independente da dose recebida. As que possuíam água percolada (pupas em percolação) tiveram mortalidade média de  $7,56\%$  ( $\pm 1,94\%$ ), enquanto as pupas submergidas (pupas submersas) tiveram a maior mortalidade com  $8,6\%$  ( $\pm 5,32\%$ ). Houve diferenças significativas *post hoc* com pupas secas *versus* com água percolada ( $p = 0,0018$ ) e pupa seca *versus* pupa submergida ( $p = 0,0029$ ).

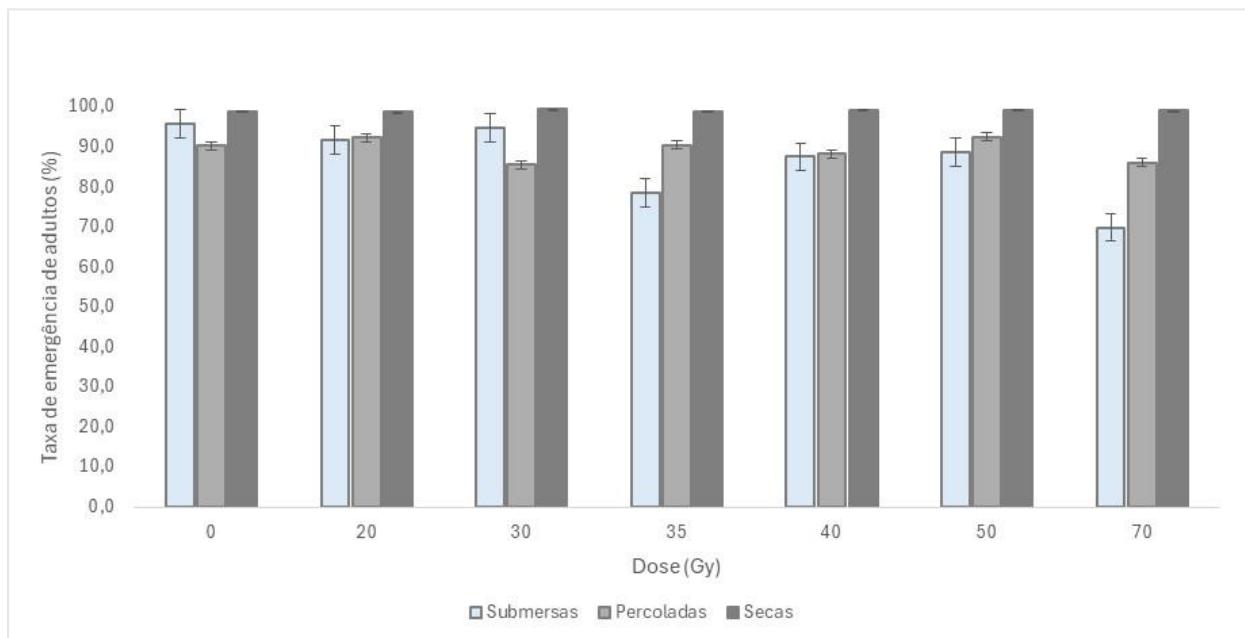
Figura 23 - Porcentagem média de mortalidade de pupas de *Aedes aegypti* irradiadas sob diferentes condições de hidratação (seca, água percolada e submersa). Os valores representam a média ± erro padrão (EP) e intervalo de confiança de 95%. teste de Dunn pós-hoc (Bonferroni) indicou menor mortalidade na condição seca em relação às demais ( $p < 0,05$ ), sem diferença entre percolada e submersa.



Fonte: Autora (2025).

Para a emergência, os dados mostraram que as diferenças entre as condições de presença de água nas pupas foram estatisticamente significativas (teste de Kruskal-Wallis:  $\chi^2 = 13,38$ ;  $gl = 2$ ;  $p = 0,001$ ). As pupas secas registraram maior taxa de emergência, com uma média de 99,0% ( $\pm 0,24\%$  EP), seguidas pelas pupas percoladas 89,3% ( $\pm 2,82\%$  EP) e pupas submersas 86,6% ( $\pm 9,54\%$  EP). Os testes *post hoc* de diferenças, usando o teste de Dunn com correção de Bonferroni, mostraram que a condição seca foi significativamente diferente das condições percoladas ( $p = 0,0025$ ) e submersas ( $p = 0,0021$ ). As condições percoladas e submersas não foram estatisticamente diferentes ( $p = 1,0000$ ) (Figura 24).

Figura 24 - Taxa média de emergência de adultos de *Aedes aegypti* provenientes de pupas irradiadas sob diferentes condições de hidratação (seca, percolada e submersa). Os valores representam a média  $\pm$  erro padrão (EP) e intervalo de confiança de 95%. Teste de Dunn pós-hoc (Bonferroni) indicou maior emergência na condição seca em relação às demais ( $p < 0,05$ ), sem diferença entre percolada e submersa.



Fonte: Autora (2025).

A variação nas doses de irradiação não resultou em diferenças estatisticamente significativas nas taxas de emergência ( $\chi^2 = 1,92$ ;  $df = 6$ ;  $p = 0,93$ ) nem nas taxas de mortalidade ( $\chi^2 = 3,35$ ;  $df = 6$ ;  $p = 0,76$ ). Esses resultados indicam que, dentro do intervalo de doses testado, esse fator não exerceu influência relevante sobre os parâmetros avaliados em nenhuma das condições experimentais.

Por outro lado, observou-se que a presença de água durante a irradiação das pupas foi determinante para a emergência e sobrevivência dos machos de *Aedes aegypti*, sendo a condição seca a que apresentou melhor desempenho (99,0% de emergência; 0,84% de mortalidade). Esses achados estão em consonância com estudos prévios que identificam fatores críticos para a aplicação eficaz da Técnica do Inseto Estéril (TIE) em mosquitos vetores.

#### 4.2.2 Sobrevida

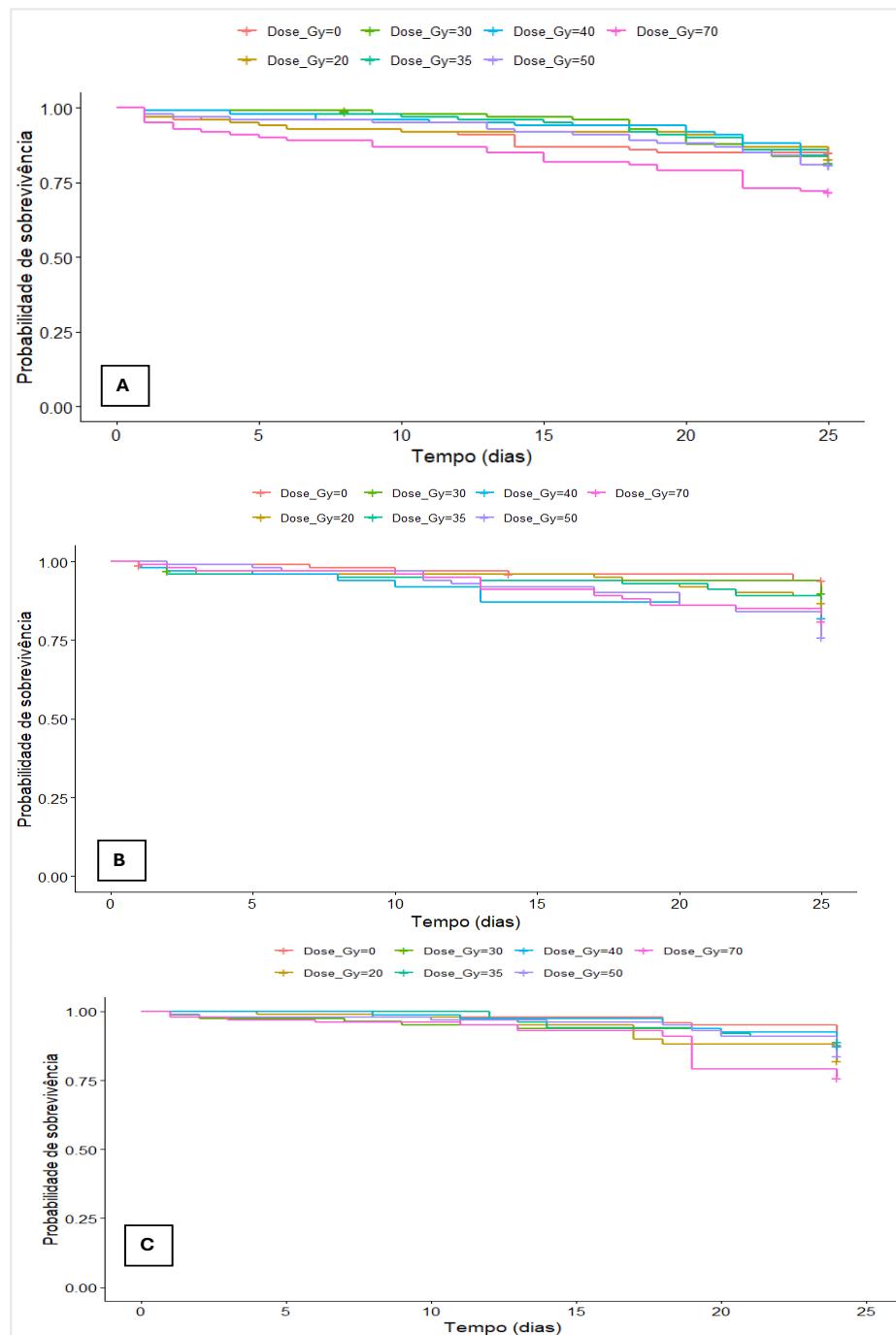
Os padrões de mortalidade observados apresentaram clara dependência tanto da presença de água quanto das doses de radiação aplicadas, evidenciando a influência da água na resposta biológica à irradiação.

No grupo de pupas irradiadas em condição seca, verificou-se elevada resistência à radiação, com taxas de sobrevida superiores a 90% no décimo dia de vida e próximas a 100% no décimo quinto dia. Após esse período, observou-se declínio acentuado da sobrevida entre os dias 15 e 20. O número total de óbitos variou entre 10 e 24 indivíduos, sendo o valor mais alto registrado no tratamento com 70 Gy ( $n = 24$ ). A análise estatística não indicou diferença significativa entre os tratamentos ( $\chi^2 = 10,3$ ;  $p = 0,1$ ). A sobrevida final foi de 75% no tratamento de 70 Gy e entre 90% e 95% nas demais doses (Figura 25A).

Para pupas submersas em água, a mortalidade variou de 6 a 24 indivíduos, com menor valor no grupo controle ( $n = 6$ ) e maior no tratamento com 50 Gy ( $n = 24$ ). A análise por tempo indicou diferenças estatisticamente significativas já no quinto dia ( $\chi^2 = 16$ ;  $p = 0,01$ ), e o pico de mortalidade ocorreu entre o décimo e o vigésimo dia. A sobrevida final variou entre 80% e 95%, sendo o grupo tratado com 50 Gy o mais afetado (Figura 25B).

Nas pupas submetidas à condição percolada, a mortalidade média oscilou entre 15 e 28 indivíduos, com menor valor no controle ( $n = 15$ ) e maior no tratamento com 70 Gy ( $n = 28$ ). Não foram detectadas diferenças estatisticamente significativas ( $\chi^2 = 7,4$ ;  $p = 0,3$ ), embora uma redução inicial tenha sido observada a partir do segundo dia. A sobrevida final foi de aproximadamente 85% nos demais grupos e 72% no tratamento com 70 Gy, sugerindo maior sensibilidade nesta condição em comparação com as demais quantidades de água avaliadas (Figura 25C).

Figura 25 – Curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier de machos de *Aedes aegypti* irradiados na fase de pupa sob diferentes doses de radiação gama. (A) Pupas submersas; (B) pupas percoladas; (C) pupas secas. Diferenças significativas entre tratamentos foram detectadas em determinados períodos de observação (teste do qui-quadrado,  $p < 0,05$ ).



Fonte: Autora (2025).

Neste estudo, as pupas mantidas em condição seca apresentaram elevada sobrevivência (75–95%), resultado que diverge de trabalhos anteriores realizados com *Aedes aegypti* sob diferentes condições de irradiação. Esses achados confirmam que o ambiente durante a exposição à radiação é um fator determinante para a resposta biológica do inseto (Yamada *et al.*, 2019; Chen *et al.*, 2023).

Pesquisas indicam que, sob determinadas condições experimentais, a irradiação de pupas de machos de *Aedes aegypti* com 50 Gy pode atingir aproximadamente 99% de esterilidade, valor considerado referência para programas da Técnica do Inseto Estéril (TIE) (Chen *et al.*, 2023). No presente estudo, a maior mortalidade observada nas pupas submersas sugere que a presença de água pode potencializar os efeitos adversos da radiação, mesmo em doses previamente consideradas seguras para a emergência (Damiens *et al.*, 2022).

Em *Aedes albopictus*, foi demonstrado que a irradiação de 2.000 pupas mantidas em 130 mL de água, sob dose de 40 Gy, resulta em níveis elevados e consistentes de esterilidade, evidenciando que a condição submersa também pode ser aplicada em programas de TIE (Marquereau *et al.*, 2024). A maior sensibilidade observada nas pupas submersas deste estudo, contudo, pode estar associada à distribuição desigual da dose no meio aquoso (Yamada *et al.*, 2019).

A condição percolada apresentou resultados distintos dos relatados em outros estudos, possivelmente em função de variações na quantidade de água entre os lotes, as quais podem influenciar a dose efetiva absorvida e o desempenho dos insetos irradiados. Além disso, a presença de água pode induzir hipóxia, conferindo um efeito radioprotetor e alterando os resultados esperados (Yamada *et al.*, 2020).

#### **4.2.3. Avaliação de Fecundidade e esterilidade**

A fecundidade foi avaliada com base na contagem de ovos produzidos por fêmea, considerando diferentes condições de armazenamento e doses de irradiação (Tabela 3). Os valores variaram de acordo com o tratamento. Nas pupas submersas, a variação foi de  $50,3 \pm 13,5$  ovos (50 Gy) a 65,6 ovos (20 Gy). No grupo percolado, os valores oscilaram entre 52,9 ovos (35 Gy) e  $70,7 \pm 26,1$  ovos (30 Gy). Para pupas secas, as médias variaram de 47,2 ovos (20 Gy) a 58,7 ovos (50 Gy).

Tabela 3 – Fecundidade média ( $\pm$  desvio padrão) de fêmeas de *Aedes aegypti* copuladas com machos irradiados na fase de pupas em diferentes condições de hidratação e doses de radiação gama. Os dados apresentam o número de fêmeas avaliadas, total de ovos produzidos e fecundidade média para cada tratamento nas condições submersas, percoladas e secas.

Condição de armazenamento das pupas	Dose (Gy)	Número de fêmeas	Total de ovos	Fecundidade (média $\pm$ DP)
Submersas	0	33	2021	61,2 $\pm$ 12,9
	20	39	2557	65,6 $\pm$ 12,4
	30	37	2028	54,8 $\pm$ 14,2
	35	42	2437	58,0 $\pm$ 16,6
	40	37	2192	59,2 $\pm$ 17,7
	50	38	1913	50,3 $\pm$ 13,5
	70	37	2124	57,4 $\pm$ 16,5
Percoladas	0	69	4524	65,6 $\pm$ 15,9
	20	71	3841	54,1 $\pm$ 22,8
	30	74	5235	70,7 $\pm$ 26,1
	35	34	1797	52,9 $\pm$ 19,3
	40	68	4296	63,2 $\pm$ 23,0
	50	67	3909	58,3 $\pm$ 22,3
	70	58	3142	54,2 $\pm$ 19,9
Secas	0	69	3991	57,8 $\pm$ 13,5
	20	67	3164	47,2 $\pm$ 14,7
	30	65	3755	57,8 $\pm$ 15,7
	35	68	3935	57,9 $\pm$ 21,6
	40	44	2277	51,8 $\pm$ 16,0
	50	68	3993	58,7 $\pm$ 14,4
	70	31	1802	58,1 $\pm$ 19,9

Fonte: Autora (2025).

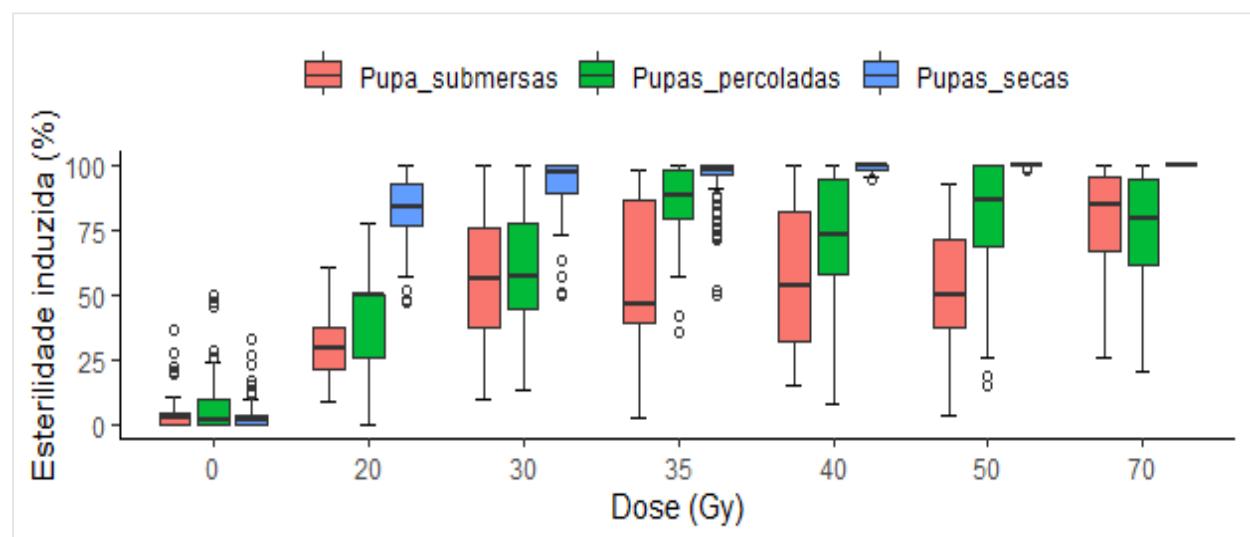
Os resultados do GLM não identificaram efeito estatisticamente significativo da dose de radiação ( $p > 0,95$ ), do estádio pupal ( $p > 0,94$ ) ou de suas interações ( $p > 0,95$ ) sobre a média de ovos produzidos por fêmea.

A ausência de significância estatística pode indicar que, nas condições experimentais adotadas, a fecundidade não foi um parâmetro suficientemente sensível para detectar variações induzidas pela irradiação no estádio pupal. Ainda assim, a

tendência observada para doses mais elevadas, embora não significativa, é coerente com relatos de que a exposição a radiações ionizantes pode afetar a função reprodutiva de mosquitos, particularmente em protocolos para a TIE (Bouyer *et al.*, 2020; Vreysen *et al.*, 2021; IAEA; WHO, 2020).

A Figura 26 apresenta a relação entre a esterilidade de machos irradiados na fase de pupa e as doses de radiação gama aplicadas (0–70 Gy), evidenciando padrões distintos conforme a condição de hidratação no momento da exposição. A análise revelou que a dependência da dose variou entre os tratamentos, indicando que a presença de água influência de forma significativa a radiosensibilidade biológica.

Figura 26 - Taxa de esterilidade de fêmeas de *Ae. aegypti* copuladas com machos irradiados na fase de pupa sob diferentes condições de hidratação e doses de radiação. Os box plots mostram a mediana, quartis e valores extremos para cada tratamento. Os pontos individuais representam valores atípicos (outliers).



Fonte: Autora (2025).

As pupas irradiadas na condição seca mostraram-se as mais radiosensíveis, apresentando esterilidade de  $82,1 \pm 12,7\%$  com 20 Gy e atingindo  $100,0 \pm 0,0\%$  a 70 Gy. Esse comportamento caracteriza uma típica curva de dose-resposta para sistemas biológicos expostos à radiação ionizante, em que doses crescentes promovem aumento progressivo do efeito biológico até atingir um platô de saturação, conforme descrito por

Hall e Giaccia (2019) e Tuner (2007). É relevante destacar que, neste estudo, a dose de 50 Gy induziu 99,8% de esterilidade, valor praticamente equivalente ao máximo obtido na dose mais alta.

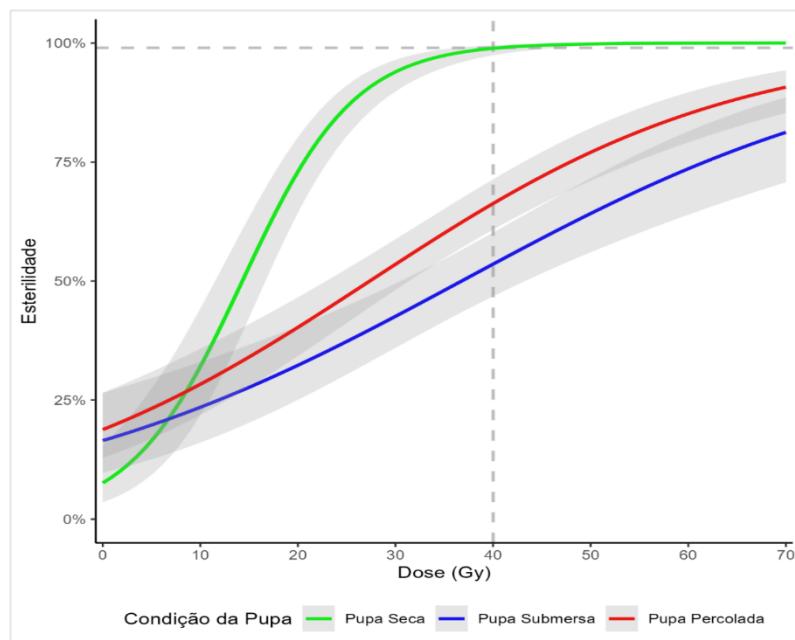
Por outro lado, pupas mantidas nas condições percolada e submersa apresentaram níveis de esterilidade significativamente inferiores. Para pupas percoladas, a variação foi de  $38,7 \pm 18,3\%$  (20 Gy) a  $75,8 \pm 19,9\%$  (70 Gy), enquanto para pupas submersas os valores oscilaram entre  $29,8 \pm 12,7\%$  e  $77,6 \pm 20,8\%$  nas mesmas doses. Esses resultados sugerem a presença de um efeito radioprotetor associado à água durante a irradiação.

O mecanismo desse efeito pode estar relacionado não apenas à formação de uma barreira física — que atua como blindagem parcial e reduz a intensidade da radiação incidente, exigindo doses mais elevadas para alcançar o mesmo efeito biológico —, mas também a processos químicos mediados pela interação da radiação ionizante (*ionizing radiation*, IR) com a água. A radiólise da água gera espécies reativas de oxigênio (*reactive oxygen species*, ROS), como radicais hidroxila ( $\cdot\text{OH}$ ), ânion superóxido ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) e peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), que são potentes agentes de dano ao DNA e a outras biomoléculas (Spotheim-Maurizot *et al.*, 2008; Ward, 1988; von Sonntag, 2006). No entanto, quando essas reações ocorrem externamente à pupa, a difusão dos radicais livres até os tecidos-alvo é limitada pelo exoesqueleto, o que resulta em menor impacto biológico direto.

Além disso, a água presente externamente pode atuar como um atenuador da radiação, reduzindo a disponibilidade de oxigênio dissolvido e, consequentemente, diminuindo a produção de ROS geradas pela radiólise (Azzam; Jay-Gerin; Pain, 2012; Yamada *et al.*, 2020). A maioria dos danos ao DNA induzidos pela radiação ionizante resulta de radicais livres gerados pela radiólise da água, e a irradiação de pupas de mosquitos em condições hipóxicas (baixo oxigênio dissolvido) resulta em efeito radioprotetor significativo em comparação com condições normóxicas (Gray *et al.*, 1953; Hall; Giaccia, 2006). Assim, a presença de água externa promove redução de oxigênio no ambiente pupal, atenuando a formação de ROS e contribuindo para o efeito protetor observado.

A Figura 27 ilustra esses achados, evidenciando que, independentemente da condição de hidratação, a esterilidade aumenta de forma aproximadamente linear com a dose, porém com inclinações distintas. Pupas secas exibem crescimento mais acentuado, atingindo o máximo nas doses mais elevadas, enquanto pupas submersas e percoladas mantêm taxas máximas de aproximadamente 77,6% e 75,8%, respectivamente. As curvas referentes às condições com água apresentam comportamento semelhante, sugerindo que tanto a percolação quanto a submersão conferem níveis equivalentes de radioproteção. Observa-se ainda, na linha vertical tracejada posicionada em torno de 40 Gy, o limiar acima do qual apenas as pupas secas alcançam esterilidade superior a 95%, reforçando o papel da água na modulação da resposta à radiação.

Figura 27 - Curvas de esterilidade para machos de *Ae. aegypti* irradiados na fase de pupa em diferentes condições de hidratação. As linhas representam as taxas de esterilidade em função da dose de radiação aplicada (Gy). As áreas sombreadas representam os intervalos de confiança. A linha vertical tracejada indica a dose de aproximadamente 40 Gy, correspondente ao limiar de 95% de esterilidade para pupas secas.



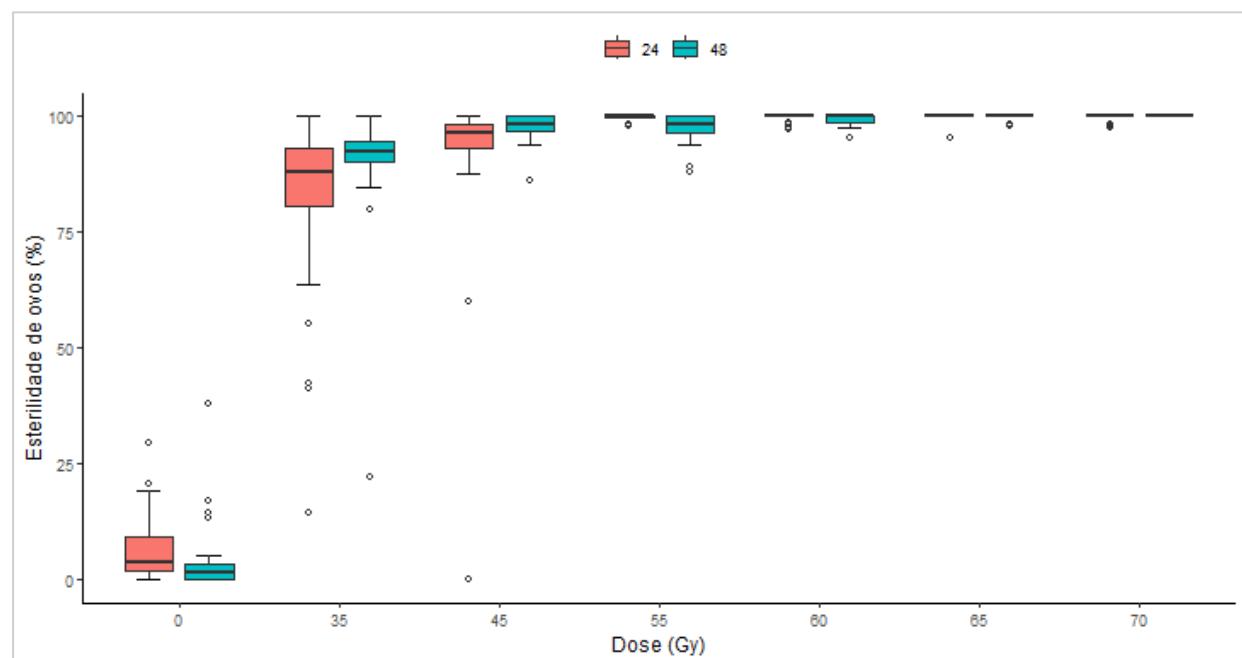
Fonte: Autora (2025).

#### 4.3 DETERMINAÇÃO DA CURVA DOSE-RESPOSTA PARA ESTERILIZAÇÃO DE MOSQUITOS IRRADIADOS NA FASE ADULTA.

Para avaliar a esterilidade em machos de *Ae. aegypti* irradiados na fase de adultos, foram testados mosquitos submetidos a diferentes doses de radiação e idades (horas após a emergência), utilizando-se um modelo linear generalizado (generalized linear model - GLM) com distribuição binomial para avaliar os efeitos na esterilidade. Os resultados demonstraram que apenas a radiação apresentou efeito significativo sobre a esterilidade ( $z = 2,386$ ;  $p = 0,017$ ). A idade dos mosquitos no momento da irradiação não influenciou significativamente a esterilidade ( $z = -0,077$ ;  $p = 0,938$ ), assim como a interação entre dose e idade também não foi estatisticamente significativa ( $z = 0,633$ ;  $p = 0,527$ ). Estes achados indicam que o efeito esterilizante da radiação ionizante permanece consistente independentemente da idade dos machos adultos no

momento da irradiação, sugerindo que a sensibilidade à radiação se mantém constante nas faixas etárias avaliadas. Os machos apresentaram esterilidade  $\geq 99\%$  quando receberam doses de 60 Gy ou mais para ambas as idades testadas (Figura 28).

Figura 28 - Esterilidade de ovos provenientes de fêmeas de *Ae. aegypti* copuladas com machos irradiados na fase adulta em diferentes idades pós-emergência (24h em vermelho e 48h em azul) e doses de radiação (0-70 Gy). Os box plots mostram a mediana, quartis e valores extremos para cada tratamento. Os pontos individuais representam os outliers.



Fonte: Autora (2025).

Quanto à irradiação de adultos, os resultados do presente estudo não evidenciaram diferenças significativas entre as idades testadas (horas após a emergência) no nível de esterilidade alcançado, indicando que a idade não constitui um fator determinante para a indução de esterilidade. Observações semelhantes foram registradas em relatório técnico da IAEA, que destacou que a idade dos mosquitos adultos e a origem geográfica exerceram pouco ou nenhum efeito nos níveis de esterilidade induzida em diferentes estudos, reforçando a robustez operativa dessa abordagem (IAEA, 2024).

A dose de 60 Gy, identificada como limiar para alcançar  $\geq 99\%$  de esterilidade, está em consonância com estudos conduzidos em diferentes populações geográficas

da espécie. Bimbilé Somda *et al.* (2022) relataram que machos adultos de *Ae. aegypti* irradiados em atmosfera de nitrogênio apresentaram esterilidade completa com doses entre 55 e 90 Gy, variando de acordo com as condições atmosféricas durante a irradiação, o que evidencia que fatores ambientais podem modular a resposta dosimétrica.

A constatação de que a idade dos mosquitos adultos não afeta significativamente a radiosensibilidade representa uma vantagem operacional importante para a aplicação da Técnica do Inseto Estéril (TIE). Yamada *et al.* (2022) investigaram os efeitos do resfriamento e da anóxia na resposta dosimétrica de mosquitos adultos e demonstraram que, embora condições de estresse possam modificar a radiosensibilidade, a idade não se apresenta como fator limitante. Essa constatação elimina a necessidade de sincronização temporal rigorosa entre a emergência e a irradiação, simplificando os protocolos de produção em larga escala.

#### 4.4 COMPARAÇÃO DA QUALIDADE DE MACHOS ESTÉREIS IRRADIADOS EM PUPAS E ADULTOS

##### 4.4.1 Habilidade de voo

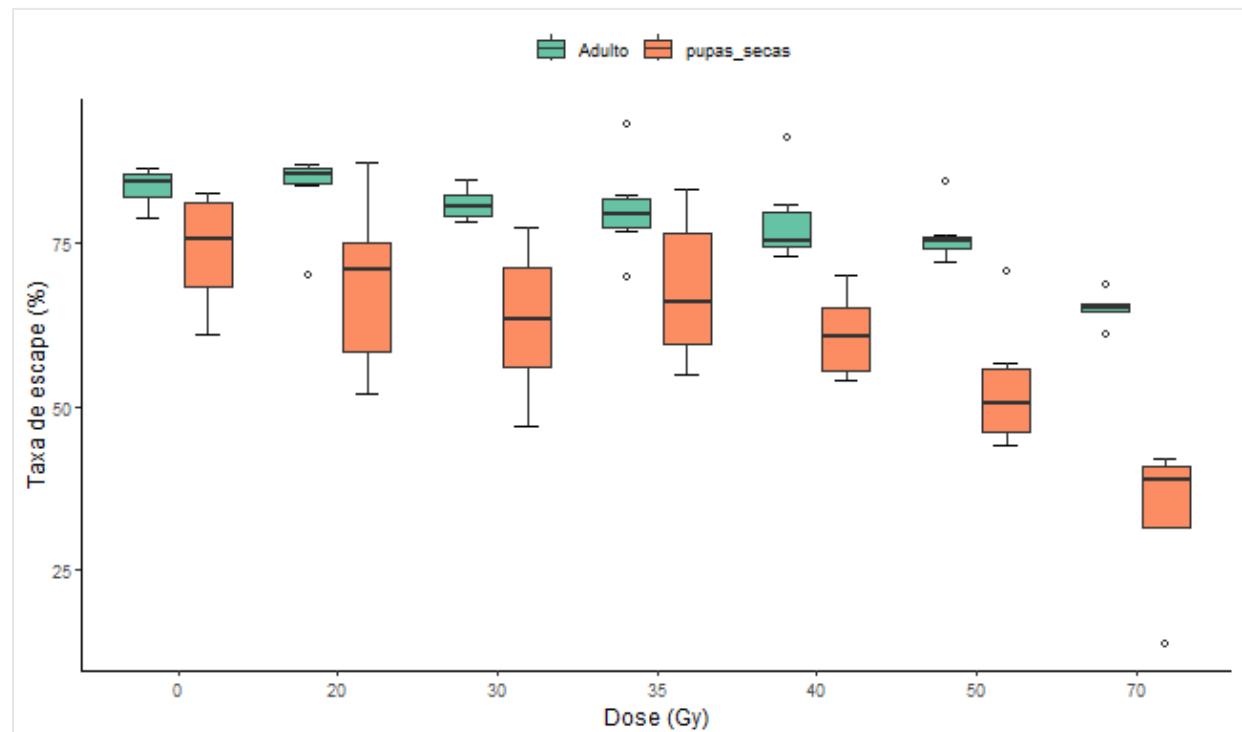
A qualidade de voo dos machos de *Aedes aegypti* foi avaliada por meio do dispositivo de teste de voo da IAEA (Maiga *et al.*, 2022), considerando diferentes estágios de irradiação (adultos e pupas) e doses de radiação gama (0–70 Gy). Os resultados, apresentados na Figura 29 e na Tabela 4, indicam que a taxa de escape foi significativamente influenciada tanto pelo estágio de desenvolvimento no momento da irradiação ( $z = -2,451$ ;  $p = 0,014$ ) quanto pela dose aplicada ( $z = -4,346$ ;  $p < 0,001$ ), conforme análise pelo modelo de regressão beta, adequado para dados proporcionais e com superdispersão (Ferrari; Cribari-neto, 2004).

Tabela 4 - Taxa média de escape ( $\pm$  erro-padrão, EP) de machos de *Aedes aegypti* irradiados na fase de pupa (seca) e adultos (24-48h), submetidos a diferentes doses de radiação gama (0–70 Gy).

Estágio de desenvolvimento	Dose (Gy)	Taxa de escape (%) (média $\pm$ EP)
Adultos	0	86,24 $\pm$ 0,14
	20	84,20 $\pm$ 0,75
	30	84,19 $\pm$ 0,75
	35	79,89 $\pm$ 0,38
	40	79,10 $\pm$ 3,47
	50	79,72 $\pm$ 1,61
	70	65,91 $\pm$ 0,82
Pupas secas	0	87,00 $\pm$ 1,35
	20	70,23 $\pm$ 1,00
	30	74,97 $\pm$ 2,37
	35	67,34 $\pm$ 3,26
	40	58,47 $\pm$ 5,72
	50	48,82 $\pm$ 4,80
	70	42,36 $\pm$ 5,93

Fonte: Autora (2025).

Figura 29 - Taxa de escape de machos irradiados na fase de pupas e adultos com diferentes doses de irradiação. Os boxplots mostram a mediana, quartis e valores extremos para cada tratamento. Os pontos individuais representam os *outliers*.



Fonte: Autora (2025).

Mosquitos irradiados como pupas apresentaram queda acentuada na qualidade de voo a partir de 50 Gy, enquanto machos irradiados na fase de adultos mantiveram desempenho estável até cerca de 40 Gy. Em termos médios, para irradiação de adultos, a dose de 0 Gy (Controle, não irradiado), apresentaram taxa de escape de  $86,2 \pm 0,1\%$ , mantendo valores acima de 79% até 50 Gy, mas reduzindo para  $65,9 \pm 0,8\%$  em 70 Gy. Já machos irradiados como pupa secas, o tratamento controle exibiram escape de  $87,0 \pm 1,3\%$ , com queda progressiva para  $42,4 \pm 5,9\%$  na dose mais alta.

Esses resultados diferem parcialmente de Bouyer et al. (2019), que relataram manutenção da habilidade de voo acima de 91% em *Ae. aegypti* e 96% em *Ae. albopictus*, e de Chen et al. (2024), que não observaram efeito significativo em machos irradiados e infectados com *Wolbachia*. Diferenças metodológicas, como tipo de dispositivo, parâmetros de avaliação e faixa de doses, podem explicar essa variação.

A maior radiosensibilidade de pupas encontra suporte na literatura. Yamada et al. (2019) observaram que pupas jovens apresentam até 99% de esterilidade induzida, comparado a 93% em pupas mais tardias, e Helinski et al. (2006) destacaram que, embora sejam práticas para irradiação em massa, altas doses podem comprometer a qualidade biológica. Estudos recentes sugerem que adultos são similares ou ligeiramente mais radiosensíveis que pupas mais velhas, mantendo, em alguns casos, melhor qualidade após a irradiação (Maiga et al., 2022; Helinski et al., 2006).

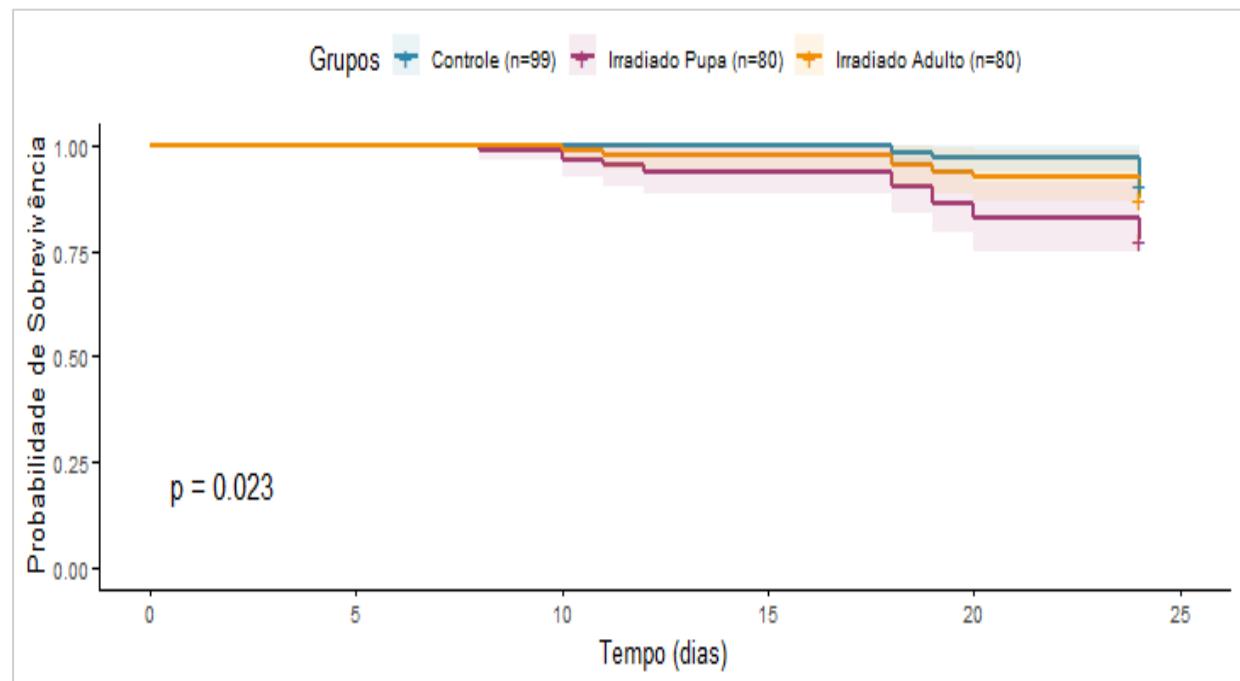
#### **4.4.2 Curva de sobrevivência e curva de esterilidade.**

A Figura 30 apresenta os resultados da análise de sobrevivência comparativa entre os grupos submetidos à irradiação nas fases de pupa (secas) e adulto (24-48h). O estudo de sobrevivência envolveu três grupos experimentais analisados mediante o teste log-rank: grupo controle ( $n=99$ ), grupo irradiado na fase de pupa ( $n=80$ ) e grupo irradiado na fase adulta ( $n=80$ ). O teste estatístico global evidenciou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ( $\chi^2 = 7,5$ ;  $p = 0,023$ ).

As análises de comparação pareada demonstraram que a irradiação aplicada na fase de pupa resultou em mortalidade significativamente superior quando comparada ao grupo controle ( $p = 0,009$ ). Observou-se 18 óbitos no grupo irradiado versus 10,7 esperados, enquanto no grupo controle registraram-se 9 óbitos versus 14,7 esperados. A irradiação na fase adulta não apresentou diferença estatística significativa em relação ao controle ( $p = 0,431$ ). A comparação entre os grupos submetidos à irradiação evidenciou tendência à significância estatística ( $p = 0,088$ ).

Os resultados obtidos indicam que a fase de pupa apresenta maior suscetibilidade aos efeitos deletérios da irradiação, constituindo o momento de aplicação do tratamento um fator determinante para a eficácia do procedimento.

Figura 30 - Curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier de machos irradiados na fase de pupa (secas) e adultos (24-48h). (teste do qui-quadrado,  $p < 0,05$ ).

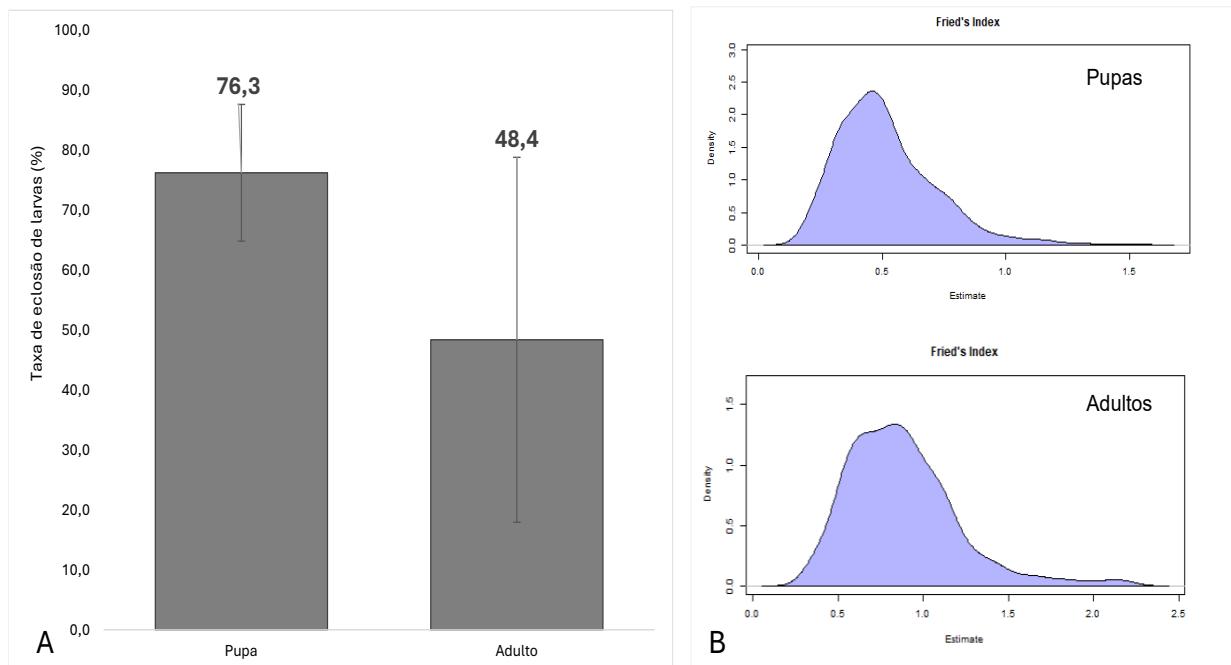


Fonte: AUTORA (2025).

#### 4.4.3 Competitividade sexual

Os resultados obtidos no presente estudo demonstram diferenças significativas na competitividade de machos esterilizados em diferentes estágios de desenvolvimento, com machos irradiados na fase adulta apresentando maior competitividade em relação aos irradiados na fase de pupa. A proporção de eclosão de ovos foi significativamente maior em gaiolas com machos esterilizados adultos ( $76,3 \pm 5,1\%$ ) comparado aos machos esterilizados enquanto pupas ( $48,4 \pm 7,7\%$ ) (Figura 31 A), resultando em índices de competitividade de 0,87 par e 0,51, respectivamente (Figura 31 B).

Figura 31 - (A) Proporção de ovos que eclodiram ( $\pm$ EP) em gaiolas que continham uma proporção de 1:1:1 de machos virgens férteis, fêmeas virgens e machos virgens estéreis irradiados como pupas ou adultos. (B) Distribuição posterior e valores estimados de C para machos estéreis irradiados como pupas ou adultos.



Fonte: AUTORA (2025).

Estes achados corroboram, em parte, estudos anteriores que investigaram os efeitos da irradiação em diferentes estágios de desenvolvimento de dípteros de importância médica. Em *Anopheles arabiensis*, observou-se que machos irradiados na fase adulta com doses baixas apresentaram competitividade equivalente à de machos não irradiados em gaiolas pequenas, enquanto a irradiação em pupa com doses mais altas resultou nos menores índices de competitividade (Helinski *et al.*, 2008; Bellini *et al.*, 2014).

A diferença encontrada nos índices de competitividade ( $C = 0,51$  para pupas e  $C = 0,87$  para adultos) indica que a irradiação na fase adulta preserva melhor a capacidade competitiva dos machos estéreis. Esse aspecto é fundamental para o êxito da Técnica do Inseto Estéril (TIE), pois a dose de radiação deve equilibrar a esterilidade induzida com a manutenção da competitividade (Helinski *et al.*, 2008). O índice de competitividade de 0,87 obtido com machos adultos irradiados aproxima-se de valores

considerados adequados para aplicação em campo, onde índices próximos a 0,53 foram observados para proporções de 5:1 e 10:1 entre machos estéreis e férteis (Bellini *et al.*, 2014).

A análise bayesiana confirmou a significância estatística das diferenças registradas, com intervalo de credibilidade de 95% (0,306 a 2,021) para a diferença entre os valores de competitividade. Essa abordagem estatística robusta aumenta a confiabilidade dos resultados e está alinhada com práticas contemporâneas na análise de dados de competitividade reprodutiva.

Os resultados também se mostram consistentes com investigações recentes sobre otimização de protocolos de irradiação visando maximizar a eficácia da TIE. Em *Aedes aegypti*, estudos apontam que machos irradiados na fase adulta apresentam maior longevidade que aqueles irradiados ainda como pupas (Tussey *et al.*, 2023), o que pode explicar a maior competitividade observada no presente trabalho.

A superioridade competitiva dos machos irradiados na fase adulta pode estar relacionada à menor interferência da radiação nos processos de maturação sexual quando aplicada após a emergência. Durante a fase pupal, processos críticos para o desenvolvimento dos órgãos reprodutivos podem ser mais suscetíveis aos efeitos deletérios da radiação, reduzindo o vigor reprodutivo na fase adulta. A irradiação com raios X ou gama esteriliza reprodutivamente por meio da fragmentação cromossômica das células germinativas, levando a mutações letais dominantes, formação de gametas desbalanceados e inibição da mitose (Müller *et al.*, 2022). Quanto maior a dose de radiação ionizante, maior o dano às células germinativas e somáticas; contudo, quanto mais avançado o estágio de desenvolvimento do inseto, menor a sensibilidade aos efeitos da radiação (Oliveira *et al.*, 2022). Embora os órgãos reprodutivos de adultos sejam menos sensíveis, doses elevadas ainda podem causar infertilidade aguda e de longo prazo (Chougule *et al.*, 2025).

Esses achados têm implicações importantes para o aperfeiçoamento de protocolos da TIE, sugerindo que a irradiação de machos adultos a 60 Gy pode ser mais eficaz que a de pupas a 50 Gy para manter a competitividade reprodutiva necessária ao sucesso dos programas de controle populacional. Os parâmetros técnicos, o método de esterilização e as características biológicas da espécie influenciam fortemente a eficácia da esterilização, sendo a radiação ionizante

atualmente o método preferencial para induzir esterilidade (Balestrino *et al.*, 2024). A otimização da dose é essencial, visto que doses mais altas podem prejudicar características reprodutivas, com a fertilidade sendo eliminada em faixas de 30 a 70 Gy, dependendo do sexo e da espécie (Bakri *et al.*, 2019).

## 5 CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo demonstram que a resposta biológica de *Aedes aegypti* à irradiação gama é influenciada por múltiplos fatores, destacando-se a presença de água durante a exposição e o estágio de desenvolvimento no momento do tratamento como determinantes da eficácia da esterilização e da qualidade dos machos produzidos.

A validação dosimétrica confirmou a precisão do sistema utilizado, com variações entre -3,5% e +1,3% das doses nominais, atendendo plenamente aos padrões da IAEA e garantindo a confiabilidade dos resultados obtidos.

No contexto da irradiação de pupas, observou-se que a condição seca promoveu melhor desempenho biológico e maior radiosensibilidade, atingindo esterilidade superior a 99% com 50 Gy, enquanto a presença de água exerceu efeito radioprotetor, limitando a esterilidade máxima a 77% na mesma dose.

Para a irradiação de adultos, a dose de 60 Gy induziu esterilidade  $\geq 99\%$ , independentemente da idade (24 ou 48 horas pós-emergência), simplificando os protocolos operacionais por dispensar a sincronização temporal rigorosa.

A comparação entre os estágios de irradiação evidenciou a superioridade da aplicação na fase adulta em todos os parâmetros de qualidade avaliados, habilidade de voo, longevidade e competitividade sexual, apresentando índice C de 0,87 contra 0,51 para pupas. Essa vantagem está associada à menor interferência da radiação nos processos de desenvolvimento quando aplicada após a emergência.

Com base nesses resultados, recomenda-se a adoção da irradiação de adultos com 60 Gy como protocolo preferencial para programas da Técnica do Inseto Estéril (TIE) direcionados ao controle de *Aedes aegypti*. Essa abordagem maximiza a eficácia da esterilização, preserva a qualidade biológica dos machos e fortalece o uso de estratégias sustentáveis no manejo integrado de vetores, contribuindo para o avanço das ações de saúde pública voltadas à redução de doenças transmitidas por esse mosquito.

## REFERÊNCIAS

- ADAMS, G. E.; ALDRICH, J. E.; BISBY, R. H. Selective free radical reactions with proteins and enzymes: reactions of inorganic radical anions with amino acids. **Radiation Research**, v. 117, n. 2, p. 195-210, 1989.
- ALANAZI, A.; MEESUNGNOEN, J.; JAY-GERIN, J.-P. A computer modeling study of water radiolysis at high dose rates: relevance to FLASH radiotherapy. **Radiation Research**, v. 195, n. 2, p. 149-162, 2021.
- ALMEIDA, L. S.; COTA, A. L. S.; RODRIGUES, D. F. S. Saneamento, arboviroses e determinantes ambientais: impactos na saúde urbana. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 25, n. 10, p. 3857-3868, 2020. Disponível em: <https://seer.ufu.br/index.php/hygeia/article/view/71874>. Acesso em: 23 jul. 2025.
- ANDRIOLI, D. C.; BUSATO, M. A.; LUTINSKI, J. A. Spatial and temporal distribution of dengue in Brazil, 2000-2017. **PLoS One**, v. 15, n. 2, e0228346, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0228346>. Acesso em: 24 jun. 2025.
- ARAÚJO, H.; CARVALHO, D.; IOSHINO, R.; COSTA-DA-SILVA, A.; CAPURRO, M. *Aedes aegypti* control strategies in Brazil: incorporation of new technologies to overcome the persistence of dengue epidemics. **Insects**, v. 6, n. 2, p. 576-594, 2015.
- ATTIX, F. H. **Introduction to radiological physics and radiation dosimetry**. 2. ed. Hoboken: Wiley-Interscience, 2008.
- AZZAM, E. I.; DE SENA, C. M.; REISZ, J. A. Ionizing radiation and oxidative stress: molecular mechanisms and biological effects. **Frontiers in Oncology**, v. 2, p. 58, 2012.
- BAEYENS, A. et al. Basic concepts of radiation biology. In: BAATOUT, S. (Ed.). **Radiobiology textbook**. Cham: Springer International Publishing, 2023. p. 25-81.
- BAKRI, A.; MEDICI, A.; BALESTRINO, F.; CARRIERI, M.; BOUYER, J. Optimization of irradiation dose to *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* in a sterile insect technique program. **PLoS One**, v. 14, n. 2, e0212520, 2019.
- BALESTRINO, F. et al. Gamma ray dosimetry and mating capacity studies in the laboratory on *Aedes albopictus* males. **Journal of Medical Entomology**, v. 47, n. 4, p. 581-591, 2010.
- BALESTRINO, F.; PUGGIOLI, A.; GILLES, J. R. L.; BELLINI, R. Upscaling irradiation protocols of *Aedes albopictus* pupae within an SIT program in Reunion Island. **Scientific Reports**, v. 14, n. 1, p. 11287, 2024.
- BECKER, N. et al. **Mosquitoes and their control**. 2. ed. New York: Springer, 2003.
- BELLINI, R. et al. Mating competitiveness of sterile male *Anopheles coluzzii* in large cages. **Malaria Journal**, v. 13, n. 1, p. 460, 2014.
- BELLINI, R. et al. Pilot field trials with *Aedes albopictus* irradiated sterile males in Italian urban areas. **Journal of Medical Entomology**, v. 50, n. 2, p. 317-325, 2013.

BIMBILÉ SOMDA, N. S. et al. Response of male adult *Aedes* mosquitoes to gamma radiation in different nitrogen environments. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 10, art. 942654, 2022.

BIRAL, A. R. **Radiações ionizantes para médicos, físicos e leigos**. Florianópolis: Editora Insular, 2002. 250 p.

BOND, J. G.; VALLE, J.; ROJAS, J. C.; TORRES-ESTRADA, J. L.; WILLIAMS, T. Efficiency of two larval diets for mass-rearing of the mosquito *Aedes aegypti*. **PLoS One**, v. 14, n. 6, e0216754, 2019.

BOND, J. G. et al. Sexual competitiveness and induced egg sterility by *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* gamma-irradiated males: a laboratory and field study in Mexico. **Insects**, v. 12, n. 2, p. 145, 2021.

BOND, J. G. et al. Optimization of irradiation dose to *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* in a sterile insect technique program. **PLoS One**, v. 14, n. 2, e0212520, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212520>. Acesso em: 15 ago. 2024.

BOURTZIS, K.; VREYSEN, M. J. B. Sterile insect technique (SIT) and its applications. **Insects**, v. 12, n. 7, p. 638, 2021.

BOUYER, J. et al. Phased conditional approach for mosquito management using sterile insect technique. **Trends in Parasitology**, v. 36, n. 4, p. 325-336, 2020.

BRAGA, I.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 16, n. 4, p. 279-293, 2007.

BRASIL (2002). Fundação Nacional de Saúde. **Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD)**. Brasília: FUNASA. 32 p.

BRASIL (2016). Ministério da Saúde. **Saúde Brasil 2015/2016**: uma análise da situação de saúde e da epidemia causada pelo vírus Zika e outras doenças transmitidas pelo *Aedes aegypti*. Brasília: Ministério da Saúde. Disponível em: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/health\\_brazil\\_2015\\_2016.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/health_brazil_2015_2016.pdf). Acesso em: 21 jun. 2024.

BRASIL (2022). Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Monitoramento dos casos de arboviroses até a semana epidemiológica 45 de 2022. **Boletim Epidemiológico**, Brasília, v. 53, n. 43, nov. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/epidemiologicos/edicoes/2022/boletim-epidemiologico-vol-53-no43.pdf>. Acesso em: 15 ago. 2024.

BRASIL (2024). Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente. **Informe semanal das arboviroses**: SE 27 a 50/2024. Brasília: Ministério da Saúde. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/a/aedes-aegypti/monitoramento-das-arboviroses>. Acesso em: 10 jan. 2025.

BRASIL (2025a). Ministério da Saúde. **Diretrizes nacionais para prevenção e controle das arboviroses urbanas**: vigilância entomológica e controle vetorial. Brasília: Ministério da Saúde.

BRASIL (2025b). Ministério da Saúde. **Painel de Monitoramento de Arboviroses**. Brasília: Ministério da Saúde. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dengue/painel-de-monitoramento>. Acesso em: 12 out. 2025.

CALVITTI, M. et al. *Wolbachia* density and cytoplasmic incompatibility in *Aedes albopictus*: concerns with using artificial *Wolbachia* infection as a vector suppression tool. **PLoS One**, v. 10, n. 3, e0121813, 2015.

CAMINADE, C. et al. Global risk model for vector-borne transmission of Zika virus reveals the role of El Niño 2015. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 114, n. 1, p. 119-124, 2017.

CARVALHO, D. O. et al. Mass production of genetically modified *Aedes aegypti* for field releases in Brazil. **Journal of Visualized Experiments**, n. 83, p. 1-10, 2014.

CARVALHO, D. O. et al. A sterile insect technique pilot trial on Captiva Island: defining mosquito population parameters for sterile male releases using mark-release-recapture. **Parasites & Vectors**, v. 15, n. 1, p. 417, 2022.

CHEN, C. et al. Effects of gamma irradiation on male *Aedes aegypti* (L.) pupae and their reproductive performance. **Acta Tropica**, v. 242, art. 106993, 2023.

CHEN, W. et al. Comparison on the quality of sterile *Aedes aegypti* mosquitoes produced by either radiation-based sterile insect technique or *Wolbachia*-induced incompatible insect technique. **Parasites & Vectors**, v. 17, n. 1, p. 481, 2024.

CHOUGULE, A.; JOAN, M. Ionizing radiation and reproductive health: impacts and mitigation strategies. **Journal of Reproductive Healthcare and Medicine**, v. 5, n. 2, p. 45-58, 2025.

CIESIELSKI, B. et al. In vivo alanine/EPR dosimetry in daily clinical practice: a feasibility study. **International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics**, v. 56, n. 3, p. 899-905, 2003.

COELHO, G. E. Dengue: desafios atuais. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 17, n. 3, p. 231-233, 2008.

CONSOLI, R. A. G. B.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 1994. 228 p. ISBN 85-85676-05-5.

CRISTOPHERS, S. R. *Aedes aegypti* (L.): **The Yellow Fever Mosquito: Its Life History, Bionomics and Structure**. London: Cambridge University Press, 1960. 752 p. ISBN 0521046386.

D'IPPOLITO, G.; MEDEIROS, R. B. Exames radiológicos na gravidez. **Radiologia Brasileira**, v. 38, n. 6, p. 447-450, 2005.

DAMIENS, D. et al. The effects of water submersion on irradiation tolerance of mosquito pupae. **Parasites & Vectors**, v. 15, art. 237, 2022.

- DEWERD, L. A.; KISSICK, M. **The phantoms of medical and health physics**: devices for research and development. New York: Springer, 2014.
- DOS SANTOS, G. R. et al. Global burden of chikungunya virus infections and the potential benefit of vaccination campaigns. **Nature Medicine**, v. 31, n. 7, p. 2342-2349, 2025.
- DRZYMAŁA, R. E. et al. Angular measurement of the cobalt-60 emitted radiation spectrum from a radiosurgery irradiator. **Physics in Medicine and Biology**, v. 46, n. 5, p. 1159-1169, 2001.
- DYCK, V. A.; HENDRICH, J.; ROBINSON, A. S. (Ed.). **Sterile insect technique: principles and practice in area-wide integrated pest management**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 2021.
- ERNAWAN, B. et al. Investigation of developmental stage/age, gamma irradiation dose, and temperature in sterilization of male *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in a sterile insect technique program. **Journal of Medical Entomology**, v. 59, n. 1, p. 320-327, 2021.
- FERRARI, S. L. P.; CRIBARI-NETO, F. Beta regression for modelling rates and proportions. **Journal of Applied Statistics**, v. 31, n. 7, p. 799-815, 2004.
- FIGUEIRÓ, A. C.; HARTZ, Z. M. A.; BRITO, A. M.; SAMICO, I. Análise da lógica de intervenção do Programa Nacional de Controle da Dengue. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, v. 10, supl. 1, p. S93-S106, 2010.
- FLORENCIO, S. G. L. **Potencial de uso de machos esterilizados por radiação gama (<sup>60</sup>Co) para o controle populacional de Aedes aegypti (Diptera-Culicidae): um caminho biotecnológico do laboratório para o campo**. 2017. Tese (Doutorado em Tecnologias Energéticas e Nucleares) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. **Guidelines for small scale irradiation of mosquito pupae in SIT programs**. Version 1.0. Vienna: FAO/IAEA, 2019.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. **Guidelines for mass rearing Aedes mosquitoes**. Version 1.0. Vienna: FAO/IAEA, 2020.
- FORATTINI, O. P. **Entomologia médica. v. 1: Parte geral, Diptera, Anophelini**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo (Faculdade de Higiene e Saúde Pública, Departamento de Parasitologia), 1962. 662 p.
- FORATTINI, O. P. **Culicidologia médica: identificação, biologia e epidemiologia**. São Paulo: Edusp, 2002.
- FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. **Dengue: instruções para pessoal de combate ao vetor: manual de normas técnicas**. 3. ed. rev. Brasília: Ministério da Saúde: FUNASA, 2001.

FOSS THERAPY SERVICES, INC. **Calibration Report GC 220 sn 161R.** 2022. Relatório técnico.

GATO, R. et al. Sterile insect technique: successful suppression of an *Aedes aegypti* field population in Cuba. **Insects**, v. 12, n. 5, p. 469, 2021.

GÓMEZ, M. et al. Exploring conditions for handling packing and shipping *Aedes aegypti* males to support an SIT field project in Brazil. **Insects**, v. 13, n. 10, p. 871, 2022.

GOODHEAD, D. T. Energy deposition stochastics and track structure: what about the target? **Radiation Protection Dosimetry**, v. 122, n. 1-4, p. 3-15, 2006.

GRAY, L. H. et al. The concentration of oxygen dissolved in tissues at the time of irradiation as a factor in radiotherapy. **British Journal of Radiology**, v. 26, n. 312, p. 638-648, 1953.

GUBLER, D. J. Dengue, urbanization and globalization: the unholy trinity of the 21st century. **Tropical Medicine and Health**, v. 39, n. 4, supl., p. 3-11, 2011.

HARRINGTON, L. C.; EDMAN, J. D. Indirect evidence against delayed "skip-oviposition" behavior by *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Thailand. **Journal of Medical Entomology**, v. 38, n. 5, p. 641-645, 2001.

HELINSKI, M. E. H.; PARKER, A. G.; KNOLS, B. G. J. Radiation-induced sterility for pupal and adult stages of the malaria mosquito *Anopheles arabiensis*. **Malaria Journal**, v. 5, art. 41, 2006.

HELINSKI, M. E. H.; KNOLS, B. G. J. Mating competitiveness of male *Anopheles arabiensis* mosquitoes irradiated with a partially or fully sterilizing dose in small and large laboratory cages. **Journal of Medical Entomology**, v. 45, n. 4, p. 698-705, 2008.

HELINSKI, M. E. H.; PARKER, A. G.; KNOLS, B. G. J. Radiation biology of mosquitoes. **Malaria Journal**, v. 8, supl. 2, S6, 2009.

HELT-HANSEN, J.; ROSENDAL, F.; KOFOED, I. M.; ANDERSEN, C. E. Medical reference dosimetry using EPR measurements of alanine: development of an improved method for clinical dose levels. **Acta Oncologica**, v. 48, n. 2, p. 216-222, 2009.

HENDRICHES, J. et al. Medfly areawide sterile insect technique programmes for prevention, suppression or eradication: the importance of mating behavior studies. **Florida Entomologist**, v. 85, n. 1, p. 1-13, 2002.

HONÓRIO, N. A. **Proposta metodológica de estratificação de áreas de risco para dengue, chikungunya e Zika.** 2017. 85 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2017.

HOTEZ, P. J. Neglected tropical diseases in the Anthropocene: the cases of Zika, Ebola, and other infections. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 4, e0004648, 2016.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY (IAEA). **Standards, applications and quality assurance in medical radiation dosimetry (IDOS).** Vienna: IAEA, 2012.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY (IAEA). **Dosimetry for food irradiation.** Vienna: IAEA, 2020. (Technical Reports Series, n. 409).

KLASSEN, W.; CURTIS, C. F. History of the sterile insect technique. In: DYCK, V. A.; HENDRICH, J.; ROBINSON, A. S. (Ed.). **Sterile insect technique: principles and practice in area-wide integrated pest management**. Dordrecht: Springer, 2005. p.3-36.

KNIPLING, E. F. Sterile-male method of population control: successful with some insects, the method may also be effective when applied to other noxious animals. **Science**, v. 130, n. 3380, p. 902-904, 1959.

KNIPLING, E. F. et al. Genetic control of insects of public health importance. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 38, n. 3, p. 421-438, 1968.

LIM, J. T. et al. The overlapping global distribution of dengue, chikungunya, Zika and yellow fever. **The Lancet Global Health**, v. 13, n. 1, p. e15-e26, 2025.

LOPES, N.; NOZAWA, C.; LONHARES, R. E. C. Características gerais e epidemiologia dos arbovírus emergentes no Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 5, n. 3, p. 55-64, 2014.

MAIGA, H. et al. Standardization of the FAO/IAEA Flight Test for quality control of sterile mosquitoes. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 10, art. 876675, 2022.

MARQUEREAU, L. et al. Upscaling irradiation protocols of *Aedes albopictus* pupae within an SIT program in Reunion Island. **Scientific Reports**, v. 14, n. 1, p. 12117, 2024.

MARTINEZ, M. D. C. et al. Challenges and variability in large-scale irradiation of mosquito pupae for SIT programs. **Insects**, v. 13, n. 12, p. 1142, 2022.

MESSINA, J. P. et al. The current and future global distribution and population at risk of dengue. **Nature Microbiology**, v. 4, n. 9, p. 1508-1515, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41564-019-0476-8>. Acesso em: 24 jun. 2025.

MLADENOV, E. et al. DNA double-strand-break repair in higher eukaryotes and its role in genomic instability and cancer: cell cycle and proliferation-dependent regulation. **Seminars in Cancer Biology**, v. 37-38, p. 51-64, 2016.

MORREALE, R. et al. Suppression of *Aedes aegypti* by the sterile insect technique on Captiva Island, Florida, USA from 2020 to 2022. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 19, n. 7, e0013256, 2025.

MOSCAMED BRASIL. **Separador Manual de Pupas**: certificado de anterioridade via blockchain. Juazeiro: Biofábrica Moscamed Brasil, 2024. Registro realizado em 26 dez. 2024.

MOTA, S. L. et al. Arboviroses no Brasil: desafios para a saúde pública e o papel crucial do saneamento básico. **Areâ – Revista Científica de Ciências Humanas e Sociais**, v. 6, n. 4, 2019.

MÜLLER, P. et al. Radiation dose-rate is a neglected critical parameter in dose-response of insects. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 6541, 2022.

NATAL, D. Bioecologia do *Aedes aegypti*. **Biológico**, v. 64, n. 2, p. 205-207, 2002.

NAVARRO, M. V. T. et al. Controle de riscos à saúde em radiodiagnóstico: uma perspectiva histórica. **História, Ciências, Saúde-Manguinhos**, v. 15, n. 4, p. 1039-1047, 2008.

OLIVEIRA, M. T.; SILVA, A. C.; LEMOS, P. V. F.; SILVA, L. N. Effects of gamma radiation on the reproductive viability of *Aedes aegypti* and its descendants (Diptera: Culicidae). **Acta Tropica**, v. 226, art. 106247, 2022.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **Zika virus microcephaly and Guillain-Barré syndrome situation report**. Genebra: OMS, 2016. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/204348>. Acesso em: 21 out. 2024.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **Dengue – Região das Américas**. Genebra: OMS, 2023. Disponível em: <https://www.who.int/es/emergencies/diseases-outbreak-news/item/2023-DON475>. Acesso em: 25 out. 2023.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **Dengue – Global situation**. Genebra: OMS, 2024. Disponível em: <https://www.who.int/emergencies/diseases-outbreak-news/item/2024-DON518>. Acesso em: 26 jun. 2024.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **Dengue e dengue grave**. Genebra: OMS, 2025. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>. Acesso em: 24 jun. 2025.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). **Diretrizes para a vigilância, prevenção e controle da dengue e da dengue hemorrágica**. Washington, D.C.: OPAS, 2004.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). **As dengue cases increase globally, vector control, community engagement key to prevent spread of the disease**. Washington, D.C.: OPAS, 2023. Disponível em: <https://www.paho.org/en/news/3-8-2023-dengue-cases-increase-globally-vector-control-community-engagement-key-prevent-spread>. Acesso em: 25 out. 2023.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). **OPAS destaca aumento de casos de dengue, Oropouche e gripe aviária nas Américas e recomenda medidas de controle**. Washington, D.C.: OPAS, 2024. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/12-7-2024-opas-destaca-aumento-casos-dengue-oropouche-e-gripe-aviaria-nas-americas-e>. Acesso em: 12 jul. 2024.

PAGENDAM, D. et al. Improving estimates of Fried's Index from mating competitiveness experiments. **Journal of Agricultural, Biological and Environmental Statistics**, v. 23, n. 3, p. 446-462, 2018.

PAIXÃO, E. S.; TEIXEIRA, M. G.; RODRIGUES, L. C. Zika, chikungunya and dengue: the causes and threats of new and re-emerging arboviral diseases. **BMJ Global Health**, v. 3, n. 1, e000530, 2018.

PESSANHA, J. E. M. et al. Avaliação do Plano Nacional de Controle da Dengue. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 25, n. 7, p. 1637-1641, 2009.

PODGORSAK, E. B. **Radiation physics for medical physicists**. 3. ed. Cham: Springer, 2016.

R CORE TEAM. **R: a language and environment for statistical computing**. Version 4.3.2. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2023. Disponível em: <https://www.R-project.org/>. Acesso em: 10 out. 2024.

ROTHKAMM, K.; LÖBRICH, M. Evidence for a lack of DNA double-strand break repair in human cells exposed to very low x-ray doses. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 100, n. 9, p. 5057-5062, 2003.

SANTIVASI, W. L.; XIA, F. Ionizing radiation-induced DNA damage, response, and repair. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 21, n. 2, p. 251-259, 2014.

SEGRETO, H. R. C.; SEGRETO, R. A. Revisão e atualização em radiobiologia: aspectos celulares, moleculares e clínicos. **Folha Médica**, v. 119, n. 4, p. 9-27, 2000.

SHABANI, F. et al. Effects of X-ray irradiation on biological parameters and induced sterility of *Ephestia elutella*: establishing the optimum irradiation dose and stage. **Frontiers in Physiology**, v. 13, art. 895882, 2022.

SILVA, A. B.; OLIVEIRA, M. T.; LEMOS, P. V. F.; SANTOS, R. C. Hydration status modulates gamma radiation effects on reproductive parameters of Lepidoptera. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 168, p. 1-8, 2020.

SILVA, A. C. et al. Effects of gamma radiation on the reproductive viability of *Aedes aegypti* and its descendants (Diptera: Culicidae). **Acta Tropica**, v. 224, art. 106134, 2022.

SOROKO, S. S. et al. The dose rate of corpuscular ionizing radiation strongly influences the predominance of direct and indirect (free radical-induced) DNA damage and repair mechanisms. **Cells**, v. 13, n. 12, p. 828, 2024.

SPOTHEIM-MAURIZOT, M. et al. **Radiation chemistry**: from basics to applications in material and life sciences. Les Ulis: EDP Sciences, 2008.

STEEL, G. G. **Basic clinical radiobiology**. 3. ed. London: Arnold, 2002.

TURNER, J. E. **Atoms, radiation, and radiation protection**. 3. ed. Weinheim: Wiley-VCH, 2007. 586 p.

TUSSEY, D. A. et al. Developing methods for chilling, compacting, and sterilizing adult *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) and comparing mating competitiveness between males sterilized as adults versus pupae for sterile male release. **Journal of Medical Entomology**, v. 60, n. 5, p. 1038-1047, 2023. DOI: 10.1093/jme/tjad079.

TUR, C. et al. Sterile Insect Technique in an Integrated Vector Management Program against Tiger Mosquito *Aedes albopictus* in the Valencia Region (Spain): Operating Procedures and Quality Control Parameters. **Insects**, v. 12, n. 3, p. 272, 2021. DOI: 10.3390/insects12030272.

VALLE, D. No magic bullet: citizenship and social participation in the control of *Aedes aegypti*. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 25, n. 3, p. 629-632, 2016.

- VASILAKIS, N.; GUBLER, D. J. (ed.). **Arboviruses**: molecular biology, evolution and control. Norfolk: Caister Academic Press, 2016. 398 p.
- VON SONNTAG, C. **Free-radical-induced DNA damage and its repair**. Berlin: Springer-Verlag, 2006. 663 p.
- VREYSEN, M. J. B. et al. *Glossina austeni* (Diptera: Glossinidae) eradicated on the island of Unguja, Zanzibar, using the sterile insect technique. **Journal of Economic Entomology**, v. 100, n. 2, p. 487-494, 2007.
- VREYSEN, M. J. B. et al. Sterile insect technique (SIT) against Aedes species mosquitoes: a roadmap and good practice framework for designing, implementing and evaluating pilot field trials. **Insects**, v. 12, n. 3, p. 214, 2021. DOI: 10.3390/insects12030214.
- WARD, J. F. DNA damage produced by ionizing radiation in mammalian cells: identities, mechanisms of formation, and reparability. **Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology**, v. 35, p. 95-125, 1988.
- WILDER-SMITH, A. et al. Epidemic arboviral diseases: priorities for research and public health. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 17, n. 3, p. e101-e106, 2017. DOI: 10.1016/S1473-3099(16)30518-7.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION; INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. **Guidance framework for testing the sterile insect technique as a vector control tool against Aedes-borne diseases**. Geneva; Vienna: WHO; IAEA, 2020.
- YAMADA, H. et al. X-ray-induced sterility in *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) and male longevity following irradiation. **Journal of Medical Entomology**, v. 51, n. 4, p. 811-816, 2014.
- YAMADA, H. et al. Identification of critical factors that significantly affect the dose-response in mosquitoes irradiated as pupae. **Parasites & Vectors**, v. 12, p. 435, 2019.
- YAMADA, H. et al. The role of oxygen depletion and subsequent radioprotective effects during irradiation of mosquito pupae in water. **Parasites & Vectors**, v. 13, n. 198, 2020. DOI: 10.1186/s13071-020-04069-3.
- YAMADA, H. et al. Effects of chilling and anoxia on the irradiation dose-response in adult *Aedes* mosquitoes. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 10, p. 1-13, 2022.
- YAMADA, H. et al. Radiation dose-fractionation in adult *Aedes aegypti* mosquitoes. **Parasite**, v. 30, p. 4, 2023.
- YAN, T. et al. Radiation exposure induces genome-wide alternative splicing events in *Aedes aegypti* mosquitoes. **Scientific Reports**, v. 15, p. 94529, 2025.
- ZARA, A. L. S. A. et al. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Brasília, v. 25, n. 2, p. 391-404, 2016. DOI: 10.5123/S1679-49742016000200017.

ZHANG, H. et al. Global status of sterile insect technique for mosquito population suppression: advances, challenges and future perspectives. *Insects*, v. 15, n. 3, p. 178, 2024.