



Instituto Tecnológico
de Buenos Aires

PROYECTO FINAL DE CARRERA

**Aplicación de vapor para el control de los huevos
del mosquito *Aedes aegypti***

Alumnas:

María Cecilia Blanc - 56346

Ivanna Zorgno - 56199

Tutora

Dra. María Laura Fernández

Asesor Biológico

Dr. Nicolás Schweigmann

Asesor en Física y Tecnología

Ing. Juan Ricardo Lauretta

Lugar de trabajo: ITBA

Escuela de Ingeniería y Tecnología

Departamento de Ciencias de la Vida

Carrera: Bioingeniería

12 de noviembre de 2020

Agradecimientos

Queremos agradecer, en primer lugar, a nuestra tutora María Laura por presentarnos el tema de este proyecto y por su acompañamiento, motivación y dedicación durante el desarrollo del mismo. Adicionalmente, al Dr. Nicolás Schewigmann por introducirnos y guiarnos en nuestro primer proceso de investigación.

Este proyecto no hubiese sido posible sin la asistencia del ITBA, específicamente del departamento de Ciencias de la Vida, Bioingeniería. El ITBA financió este proyecto y brindó las instalaciones y el material para llevar a cabo el presente trabajo. En adición, al Grupo de Estudio de Mosquitos (GEM) del Departamento de Ecología, Genética y Evolución, FCEyN, UBA que proveyó el material biológico necesario en este estudio.

A su vez, queremos aprovechar para reconocer a todos los profesionales que nos aconsejaron y guiaron en este proyecto, entre los que se encuentran Juan Ricardo Lauretta, Federico Paschetta, Giuliana Antonella Espósito, Gabriela Palloti, Fabricio Ballarini, Norberto Marcelo Lerenegui y en especial a Pablo Ignacio Fierens quién nos guió y aconsejó en el análisis estadístico realizado. También queremos reconocer a nuestros amigos y compañeros que nos apoyaron e impulsaron durante el desarrollo de nuestro proyecto final y, en especial, a Mariana Bergamini.

Por último queremos reconocer y agradecer a nuestras familias por el acompañamiento incondicional desde el momento cero.

Índice

| | |
|---|-----------|
| Abreviaciones | 4 |
| Glosario | 6 |
| Resumen | 7 |
| 1. Introducción | 8 |
| 1.1. Distribución Geográfica de <i>Aedes aegypti</i> | 12 |
| 1.1.1. Distribución local del <i>Aedes aegypti</i> | 15 |
| 1.2. Ciclo de Vida | 17 |
| 1.2.1. Huevos | 18 |
| 1.2.2. Adultos | 24 |
| 1.2.2.1. La hembra adulta como portadora de virus | 26 |
| 1.3. Enfermedades transmitidas por <i>Aedes aegypti</i> | 28 |
| 1.3.1. Dengue | 28 |
| 1.3.2. Zika | 29 |
| 1.3.3. Chikunguña | 30 |
| 1.3.4. Fiebre Amarilla | 31 |
| 1.4. Estrategias de control | 31 |
| 1.4.1. Control ambiental | 32 |
| 1.4.2. Control químico | 32 |
| 1.4.3. Control biológico | 33 |
| 1.4.3.1. Manipulación genética y biológica de <i>Aedes aegypti</i> : | 33 |
| 1.4.4. Control físico | 34 |
| 1.4.5. Evaluación de los métodos de control | 34 |
| 1.5. Impacto de la temperatura sobre huevos de <i>Aedes aegypti</i> | 35 |
| 1.6. Transferencia de calor | 36 |
| 2. Objetivos | 38 |
| 3. Materiales y Métodos | 39 |
| 3.1. Calibración de las máquinas de vapor | 39 |

| | |
|---|------------|
| 3.2. Sensores | 41 |
| 3.3. Ensayos de temperatura | 43 |
| 3.3.1. Desplazamiento horizontal | 44 |
| 3.3.2. Desplazamiento vertical (altura) | 45 |
| 3.3.3. Desplazamiento radial | 47 |
| 3.3.4. Diámetro del haz de vapor | 48 |
| 3.4. Muestras | 48 |
| 3.5. Ensayos con huevos de <i>Aedes aegypti</i> | 50 |
| 3.5.1. Ensayos de dispersión/permanencia | 53 |
| 3.5.2. Ensayos de viabilidad | 54 |
| 4. Resultados | 59 |
| 4.1. Ensayos de temperatura | 59 |
| 4.1.1. Desplazamiento horizontal | 59 |
| 4.1.2. Desplazamiento vertical (altura) | 60 |
| 4.1.3. Desplazamiento radial | 64 |
| 4.1.4. Diámetro del haz de vapor | 69 |
| 4.2. Ensayos con huevos | 70 |
| 4.2.1. Ensayos de dispersión/permanencia | 70 |
| 4.2.2. Ensayos de viabilidad | 70 |
| 4.2.3. Viabilidad de las larvas | 77 |
| 5. Discusión | 79 |
| 5.1. Ensayos de temperatura | 79 |
| 5.2. Ensayos con huevos | 82 |
| 5.2.1. Ensayos de dispersión | 82 |
| 5.2.2. Ensayos de viabilidad | 82 |
| 6. Conclusión | 91 |
| 7. Anexo | 101 |

Abreviaciones

AMBA Área Metropolitana de Buenos Aires.

Bti *Bacillus thuringiensis israelensis*.

CABA Ciudad Autónoma de Buenos Aires.

CCE Células Coriónicas Externas.

CHIKV Virus chikunguña.

CONAE Comisión Nacional de Actividades Espaciales.

DDT dicloro difenil tricloroetano.

DENV Virus dengue.

FDA *Food and Drug Administration*.

GEM Grupo de Estudio de Mosquitos.

Ls *Lysinibacillus sphaericus*.

LSB Least Significant Bit.

MSAL Ministerio de Salud Nacional.

OMS Organización Mundial de la Salud.

OPS Organización Panamericana de la Salud.

PEI Periodo de Incubación Extrínseco.

PII Periodo de Incubación Intrínseco.

RIQ Rango Intercuartil.

SE Semana Epidemiológica.

SP Sensor Principal.

SR Sensor Residual.

ULV *Ultra-Low Volume.*

YFV Virus fiebre amarilla.

ZIKV Virus zika.

Glosario

Calor de Vaporización También llamada entalpía de vaporización, es el calor liberado cuando se condensa una unidad de masa de vapor. Normalmente representa la transferencia de calor por unidad de masa condensada.

Calor Específico Es la energía requerida para elevar en un grado la temperatura de una unidad de masa de una sustancia.

Diapausa Periodo de dormancia que consiste en la interrupción del desarrollo, marcada por la disminución de la actividad metabólica, que es generalmente inducida previo al comienzo de condiciones desfavorables.

Sensores de actividad de ovipostura Dispositivo utilizado para detectar la actividad de ovipostura de las hembras adultas de *Aedes aegypti*.

Serotipo Representa un grupo dentro de una especie de microorganismo (virus, bacterias) que se diferencia de otras subpoblaciones según los antígenos que presenta en su superficie celular.

Temperatura de saturación Es la temperatura a la cual, a una presión dada, una sustancia experimenta un cambio de fase.

Viremia Presencia de virus en la sangre.

Resumen

El mosquito *Aedes aegypti* es un vector de hábitat domiciliario transmisor de enfermedades como el dengue, fiebre amarilla, zika y chikunguña. Es posible evitar la transmisión de estas enfermedades utilizando métodos de control del vector. Estudios previos han demostrado que el agua caliente [1] puede disminuir la viabilidad de los de los huevos de *Aedes aegypti* y el vapor de agua, generar la mortalidad de los huevos y larvas de *Aedes albopictus* y *Culex quinquefasciatus* [2]. En base a estos resultados, en el presente trabajo se analiza el efecto del vapor de agua sobre la viabilidad de los huevos de *Aedes aegypti* ya que este medio presenta una transferencia de calor más eficiente.

La hipótesis de este trabajo es que, al igual que el agua caliente, el vapor de agua se puede utilizar como método físico para el control del mosquito *Aedes aegypti* en estadio de huevo. El primer objetivo fue encontrar las condiciones óptimas para las máquinas de vapor utilizadas y analizar el comportamiento del vapor emitido. Por otro lado, se analizó el rango de temperaturas y tiempos mínimos de exposición de los huevos al vapor para que la mortalidad sea del 100 %. Finalmente se analizó la posibilidad de dispersión de los huevos debido al impacto del vapor y se determinó una combinación de temperatura, tiempo y distancia óptima, con el equipamiento utilizado, para eliminar los huevos de *Aedes aegypti*.

Se utilizaron máquinas de vapor de uso hogareño para limpieza de superficies. Para las mediciones de la temperatura del vapor emitido por las mismas se utilizaron dos sensores de temperatura resistentes al agua colocados entre sí a una distancia de 8 cm. La temperatura del vapor emitido se controló distanciando la boquilla de la máquina de vapor de los sensores, utilizando una estructura de madera semi-abierta diseñada *ad hoc*.

Una vez determinada la relación entre la distancia de la boquilla y la temperatura en el sistema semi-abierto, se tomaron estas temperaturas como referencia para los experimentos realizados con muestras de huevos en sistemas cerrados y semi-cerrados. Se analizó la viabilidad de los huevos, inicialmente viables, a distintas temperaturas y tiempos de exposición al vapor. Estos ensayos se realizaron en recipientes, cerrados o semi-cerrados, de diversos tamaños para garantizar las condiciones de bioseguridad. Adicionalmente, se realizaron ensayos para medir la dispersión/permanencia de los huevos al ser expuestos a la salida de vapor.

Se estableció la relación entre la temperatura registrada por los sensores y el desplazamiento horizontal, vertical y radial de la boquilla respecto de los mismos. Las temperaturas y los tiempos mínimos de aplicación de vapor que resultaron en una viabilidad nula fueron de: 1 segundo a 95,3°C, 89,3°C, 78,1°C y 70,3°; 3 segundos a 60,0°C; 5 segundos a 65,3°; y 10 segundos a 56,5°C y 54,5°C. Para disminuir la dispersión de los huevos, se aplicó un tiempo de espera de 20 segundos entre la activación de la salida de vapor y la aplicación sobre las muestras. Se observó que a distancias mayores o iguales a 4 cm no existe dispersión de los huevos. Consecuentemente, las condiciones óptimas experimentales para eliminar los huevos de *Aedes aegypti* es aplicar vapor a 4 cm (65,3°C) por al menos 5 segundos.

Se propone al vapor como un método de control físico del mosquito *Aedes aegypti* económico, de fácil implementación, de uso eficiente, mínimamente invasivo y amigable con el medio ambiente. El momento recomendable para la aplicación de este método sería en los meses de menor actividad del vector, el invierno, ya que se encuentra en estadio de huevo. Se sugiere que la aplicación se realice en todos los criaderos posibles, pero sobre todo en los de difícil acceso como rejillas y sumideros.

1. Introducción

El mosquito *Aedes aegypti* es un vector que transmite los virus del dengue, zika, chikunguña y fiebre amarilla (DENV, ZIKV, CHIKV, YFV por sus siglas en inglés). De las enfermedades generadas por estos virus, el dengue es la que más afecta a la Argentina y, tal es su importancia, que la Comisión Nacional de Actividades Espaciales (CONAE) ha desarrollado una plataforma, en conjunto con el Ministerio de Salud Nacional (MSAL), cuyo objetivo es la estratificación del riesgo de dengue a nivel nacional [3]. En la figura 1 se puede observar el riesgo ambiental estimado en toda la Argentina en 2020 y en la Provincia de Buenos Aires entre los años 2018-2020. El componente ambiental describe el riesgo intrínseco de circulación viral de dengue, modelado por el clima y las características ambientales que favorecen la proliferación y desarrollo del vector *Aedes aegypti* y la amplificación del virus [3]. En particular, durante el 2020 se presentó la peor epidemia de dengue registrada hasta el momento en Argentina, la cual fue opacada por la pandemia de COVID-19. Se observaron en las primeras 30 semanas aproximadamente 58.319 casos de dengue (confirmados y probables), 17.500 casos más en comparación con el mismo periodo de la epidemia de 2016 [4]. En la provincia de Buenos Aires (incluyendo CABA), el número de casos confirmados de dengue autóctono fueron de 13.085 (desde la SE 31 de 2019 hasta la SE 30 de 2020).

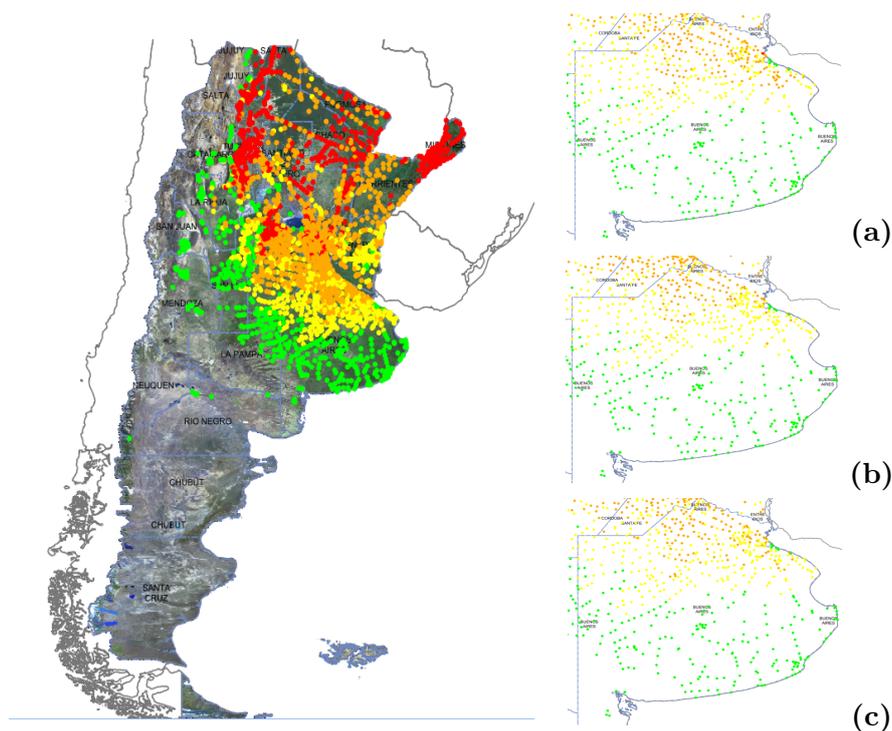


Figura 1: El panel a la izquierda representa el riesgo ambiental del dengue en el territorio argentino en el 2020. Cada ciudad, pueblo y localidad está representada por un punto donde el color rojo implica riesgo alto, el naranja riesgo medio alto, el amarillo riesgo medio bajo y el verde riesgo bajo. El panel a la derecha representa el riesgo ambiental en la Provincia de Buenos Aires en los años 2018 (a), 2019 (b) y 2020 (c). Figuras adaptadas de [5].

Realizando un enfoque en Ciudad Autónoma de Buenos Aires (CABA), la presencia de *Aedes aegypti* ha crecido significativamente en los últimos 20 años, en paralelo con los casos de dengue (figura 2). En la región del Área Metropolitana de Buenos Aires (AMBA), el mosquito *Aedes aegypti* tiene un comportamiento estacional, esto significa que durante el invierno el adulto y los otros estadios larvales desaparecen. La población persiste durante la temporada desfavorable (temperatura baja) en estadio de huevo, que es capaz de resistir tanto al frío como a la desecación. La inhibición de la eclosión de los huevos en invierno se debe a la entrada a la diapausa (estadio de letargo) [6]. Este comportamiento natural del vector permite desarrollar estrategias de eliminación/erradicación durante el invierno, donde solo se encuentra presente en estadio de huevo, el más vulnerable.

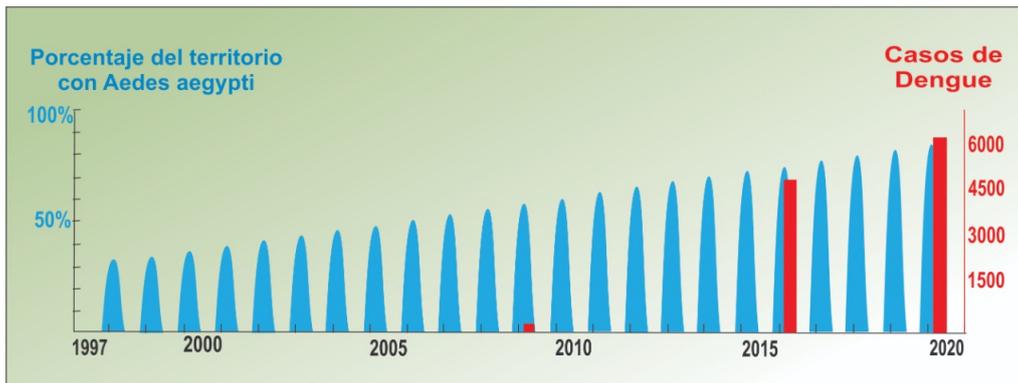


Figura 2: Gráfico representativo del incremento de los casos de dengue en CABA (rojo) y del porcentaje del territorio de CABA con *Aedes aegypti*. El porcentaje del territorio con *Aedes aegypti* tiene un comportamiento estacional que explica la curva azul individual por año. Los casos de dengue en CABA en el año 2020 son aquellos registrados hasta la SE 18/19 (contemplando desde la SE 31 del 2019). Nicolás Schweigmann, comunicación personal.

El *Aedes aegypti* se considera un mosquito de hábitat domiciliario, esto significa que sus criaderos se encuentran en sumideros, rejillas y cacharros donde se acumula agua. Particularmente, los hospitales son lugares críticos ya que tienen abundancia de rejillas de desagüe de difícil acceso y control. Para enfrentar la problemática de la eliminación del *Aedes aegypti* se han propuesto distintas estrategias. La química se centra en la eliminación del vector mediante la utilización de productos químicos. Comúnmente apunta a eliminar el mosquito adulto y no a los criaderos, donde se encuentra la mayor concentración de la población pero en estadio de huevos y tiene una efectividad relativa. De este modo, no se toma en cuenta el comportamiento del *Aedes aegypti* que se basa en oviponer la mayor cantidad de huevos en criaderos distintos, ya que el mosquito no cuida a sus crías a diferencia de los mamíferos. Por lo tanto, una hembra de *Aedes aegypti* pone entre 300 a 500 huevos en toda su vida y con que sobreviva uno, ya es un éxito. Uno de los métodos es la pulverización mediante camionetas (fumigación), sin embargo presenta una baja eficiencia ya que la gran mayoría de los criaderos, y mosquitos, suelen encontrarse en los centros de las manzanas y no se ven afectados. Por otro lado, los mosquitos pueden generar resistencia a los insecticidas utilizados. Finalmente, al fumigar, también se eliminan los depredadores naturales del *Aedes aegypti* que tardan un mayor lapso de tiempo para volver a aparecer en el ambiente, en comparación al mosquito. En conclusión, los insecticidas se deben utilizar

cuando exista la transmisión de dengue, como método correctivo y no preventivo [7].

Las estrategias biológicas buscan comprender el ciclo de vida y el comportamiento del mosquito para poder así buscar los puntos débiles. Se focalizan en generar ambientes seguros, mediante la incorporación de métodos preventivos en manzanas, escuelas y hospitales. Para ello se plantean varias estrategias conjuntas: la primera es la concientización de la población para disminuir los microambientes favorables para el *Aedes aegypti*. La segunda es el “descacharrado”, que es la eliminación en los domicilios de todo objeto que pueda ser, o pudo haber sido, utilizado como criadero por el mosquito. Éstos son recipientes o trastos que acumulen agua, sobre todo si se encuentra a la sombra (ver la definición de criaderos según MSAL en la sección 1.2.1). La tercera es utilizar métodos de control físico, que aprovechan las propiedades físicas de los elementos naturales como el agua, para eliminar criaderos en los domicilios. Estas estrategias son sumamente efectivas si se llevan a cabo e implementan en el invierno, ya que el mosquito pasa esta estación casi exclusivamente en forma de huevo, que es la más vulnerable [8].

Partiendo de esta base, el presente estudio busca identificar y optimizar un método de control físico enfocado en el estadio de huevo que sea amigable para el medio ambiente y que asegure la máxima mortalidad de los huevos de *Aedes aegypti* durante su período inactivo. Dentro de los métodos de control físico, se encuentra la aplicación de agua hirviendo en criaderos de difícil acceso (por ejemplo aquellos que no se pueden vaciar ni eliminar como alcantarillas, sumideros, rejillas, etc). Sin embargo hay que tener en cuenta que se debe utilizar suficiente agua hirviendo para generar un cambio significativo en la temperatura donde se encuentran los huevos viables [1]. Cabe destacar que los huevos se desarrollan y eclosionan a temperatura ambiental y del agua idealmente entre los 25° y los 28° [9]. De todos modos, esta técnica no sería aplicable donde los criaderos se encuentran en lugares de mayor porte, como podrían encontrar en hospitales y escuelas, dado que se requeriría de una gran cantidad de agua hirviendo. Otra estrategia reportada es el uso de vapor de agua para el control de macrofitas o huevos y larvas de *Aedes albopictus* y *Culex quinquefasciatus* ([10] y [2]). En el presente estudio se plantea esta metodología de eliminación de huevos con vapor de agua (control físico). La misma explora maximizar la transferencia de calor del vapor e impulsar otra posible aplicación para las máquinas de vapor de uso doméstico o industrial.

Para lograr comprender el potencial impacto de desarrollar una técnica que permita eliminar los huevos del mosquito *Aedes aegypti* utilizando el vapor de agua, es fundamental considerar el ciclo de vida de este vector, su comportamiento y las condiciones necesarias para que prolifere y sobreviva. Por otro lado, es necesario conocer el impacto que genera al transmitir enfermedades en la población argentina. Se evaluarán los métodos existentes de control del vector en cuanto a su factibilidad, toxicidad, costo y riesgo para el medio ambiente. Finalmente se planteará la importancia de utilizar vapor de agua como método económico, amigable con el medio ambiente y de fácil manipulación.

1.1. Distribución Geográfica de *Aedes aegypti*

El vector *Aedes aegypti* se origina en África y se extiende a América como resultado del comercio marítimo desarrollado a partir del siglo XVIII [11]. Como evidencia de la presencia del mosquito en el siglo XIX en Buenos Aires se encuentran los registros de los brotes de fiebre amarilla en 1858 y 1870, así como la gran epidemia en 1871 [12]. Para el comienzo del siglo XX el dengue ya estaba presente en la mayor parte de América Central y Sudamérica, alcanzando así el territorio argentino. En 1916 se presentaron los primeros casos de dengue en las provincias de Entre Ríos y Corrientes como consecuencia de un caso importado de Paraguay [13]. Hasta aproximadamente 1950 el mosquito *Aedes aegypti* estuvo presente en el Norte y Centro del país incluyendo las provincias de Jujuy, Formosa, Salta, Corrientes, Misiones, Chaco, Buenos Aires, Córdoba, Tucumán, Santiago del Estero, La Rioja, Santa Fe, Catamarca, Entre Ríos y Salta [14]. Sin embargo, en 1947 comenzó una campaña de erradicación liderada por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) con el objetivo de eliminar el *Aedes aegypti* del continente. En dicho programa se establecieron normas técnicas y de evaluación de los resultados para que la campaña se desarrollara de manera sistemática y uniforme en todos los países que lo habían emprendido como la Argentina y otros 19 países de América [15]. El método de erradicación fue perifocal utilizando un insecticida, dicloro difenil tricloroetano (DDT), con una aplicación una vez por año en el caso de una localidad pequeña, dos aplicaciones por año en una localidad mediana y cuatro aplicaciones al año en una ciudad grande [15]. Este tipo de tratamiento está enfocado en eliminar el mosquito en la etapa de adulto utilizando un insecticida de efecto residual, en forma de suspensión, aplicado en el exterior e interior de los recipientes que pueden acumular agua, la contengan o no, también se rocían

las paredes cercanas a dichos depósitos [15]-[16]. En Argentina, el vector se consideró erradicado en 1963 por el MSAL y en octubre de 1965 por el Consejo Directivo de la OPS [14]. La ausencia del vector se extendió por un periodo aproximado de 10 años y en 1986 el MSAL informó la reinfestación en el norte de Argentina, específicamente en Misiones [17]. Ya para el año 1995 el vector había llegado a CABA [18]. La presencia de *Aedes aegypti* en los países limítrofes y la reaparición del dengue en dichos lugares, específicamente Brasil, Paraguay y Bolivia, incrementa el riesgo de la aparición de casos en Argentina.

El desarrollo, la permanencia y la dinámica de un vector en un espacio geográfico en un determinado momento es resultado de la presencia de múltiples factores tales como ecológicos, climáticos, socioeconómicos, políticos y culturales, entre otros. Comprender la distribución geográfica del vector puede ayudar a prevenir la propagación de enfermedades y, a la vez, asistir en el desarrollo de un plan de acción adecuado.

Respecto a los factores ecológicos y climáticos, la presencia de *Aedes aegypti* se ve favorecida por los climas cálidos y húmedos. La distribución geográfica es tropical y subtropical, entre las latitudes de 45°N y 35°S, y respecto a la altura, por debajo de los 1800 metros y hasta niveles más bajos a distintas latitudes. Los límites de distribución en los hemisferios norte y sur corresponden a la isoterma de 10 °C de enero en el hemisferio norte y de julio en el hemisferio sur [9].

Existen cuatro escenarios básicos que explican la ocurrencia intra-anual y abundancia de los estados activos de *Aedes aegypti* alrededor de todo el mundo [19]:

1. Presencia durante todo el año y potencial de alta abundancia de las etapas activas. Ejemplos de este estadio se presentan en el sudeste asiático, en el norte de Argentina, Brasil, Centro América, etc.
2. Presencia durante todo el año pero con el potencial de presentar una gran abundancia de las etapas activas solo durante la parte más favorable del año, típicamente cuando las temperaturas cálidas coinciden con una temporada lluviosa.
3. Presencia estacional donde las etapas activas pueden alcanzar una abundancia moderada a alta durante parte del año, pero están ausentes durante la otra parte del año debido a condiciones de frío desfavorables. Este estadio se presenta en AMBA y varios estados en Estados Unidos.

4. Presencia estacional donde las etapas activas resultan en un número bajo de mosquitos durante la parte cálida del año, un escenario particular de presencia esporádica principalmente generado por el traslado del vector por humanos [20].

A pesar de los ejemplos de cada escenario y los límites de temperatura mencionados anteriormente, un factor latente que impacta estas condiciones es el cambio climático. El incremento de las temperaturas podría conducir un aumento en la supervivencia de los huevos durante el invierno, una eclosión temprana en la primavera y una aparición adelantada de hembras que buscan ingesta de sangre. Adicionalmente, las temperaturas elevadas pueden acelerar el desarrollo de los distintos estadios del ciclo de vida del mosquito, ver sección 1.2 [19]. Por último, genera el desplazamiento de las isotermas de 10°C hacia los polos.

En lo que respecta a la ovipostura y el desarrollo del mosquito del estadio de huevo a adulto, influye la temperatura media mensual, las precipitaciones medias mensuales, la presencia de vegetación (micro hábitat) y depredadores, la calidad del agua, lugares disponibles para la ovipostura y el fotoperíodo. Como este vector se ha adaptado y ha sido beneficiado por los espacios urbanos, los factores socio-económicos y políticos pueden llegar a potenciar la presencia de *Aedes aegypti*. Los requerimientos básicos del vector son: alimento, agua, protección (del ambiente o de los depredadores), sangre humana para completar el desarrollo de los huevos y recipientes, protegidos del sol pleno, para oviponer y desarrollar los primeros estadios de su vida. Además, debe existir conectividad entre estos recursos, en el caso del vector *Aedes aegypti* la distancia máxima de dispersión, según la escala de percepción del vector, es de 800 metros pero comúnmente es entre 100 y 400 metros. La conectividad está influenciada por la edificación, en un área con edificios altos el libre movimiento de los adultos se ve entorpecido y la conectividad será menor [21]. Se han realizado estudios de la asociación entre la edificación y el mosquito. Las elevadas densidades de edificaciones y zonas con parques se asocian con menor presencia del vector. En cambio, las casas con jardines y edificaciones industriales favorecen el desarrollo del mismo [22]. Las características del entorno tales como los desagües pluviales, canales, basurales y zonas inundables favorecen la presencia de *Aedes aegypti* [11]. Se profundizará respecto al ambiente ideal para los huevos del vector en la sección 1.2.1.

En conclusión, la causa principal de la distribución extendida actual de la especie es claramente su propagación por el hombre, que ha sido estimulada por los procesos

de urbanización [9]. Sin embargo, la presencia humana es condición necesaria pero no suficiente, tal como se puede apreciar de los elementos anteriormente mencionados. El *Aedes aegypti* es casi el único mosquito que está tan ampliamente distribuido en distintas geografías [9], como se puede observar en la figura 3, donde se ilustra la presencia de DENV y CHIKV en el mundo en el año 2013. Es importante destacar que la incidencia del dengue y chikunguña autóctono es una manera de visualizar la presencia de *Aedes aegypti* en una región, aunque el vector puede estar presente en una zona sin que se propaguen DENV, ZIKV, CHIKV y YFV si es que no existe un caso importado. En otras palabras, el vector puede estar presente en un área pero si no existen humanos infectados con los virus mencionados anteriormente, no va a existir una propagación de los mismos. La distribución de DENV en el mundo es aproximada a la distribución geográfica del vector, pero no exacta.

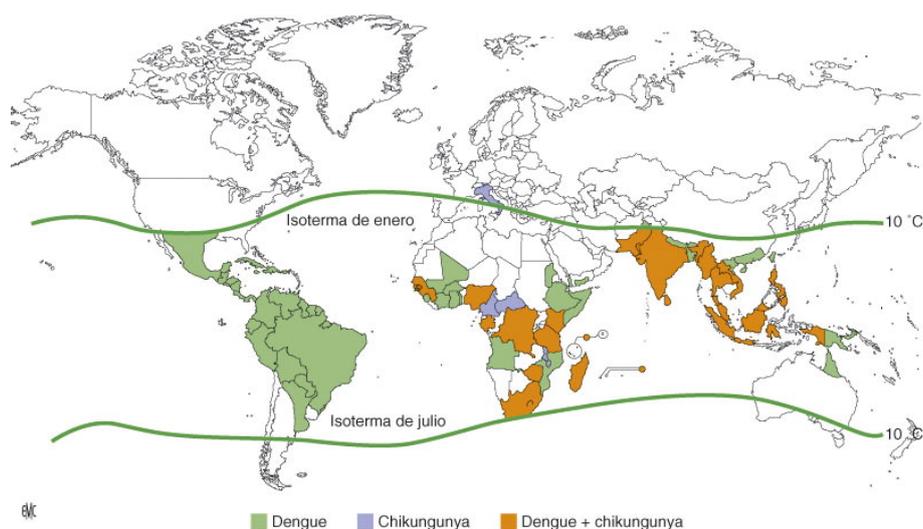


Figura 3: Países o áreas del mundo donde se informó la presencia de dengue y chikunguña en el año 2013. En verde se aprecian las isotermas de 10°C de enero en el hemisferio norte y de julio en el hemisferio sur, figura adaptada de [23].

1.1.1. Distribución local del *Aedes aegypti*

Considerando las variables mencionadas anteriormente se puede definir una zonificación a escala nacional general (macroescala) del riesgo a la permanencia y proliferación del vector *Aedes aegypti*, figura 4 [11]. Las zonas de alto riesgo son las del norte y centro del país. Las provincias del norte y noroeste se destacan por las elevadas temperaturas a lo

largo de todo el año, abundantes precipitaciones y vegetación. En el centro de Argentina se le suma a la elevada concentración de la población de Rosario, Santa Fe, Mendoza, San Luis y AMBA, las condiciones ecológicas también favorables. Sin embargo, en la zona centro-oeste, la aridez del suelo es un limitante climático para la supervivencia del vector resultante en una región de riesgo mediano. Por último, la región patagónica es de bajo riesgo como resultado de las condiciones climáticas (temperaturas bajas) y poblacionales (baja densidad). Es importante destacar que, independientemente de este análisis macro, la microescala va a determinar la proliferación y permanencia final del vector.

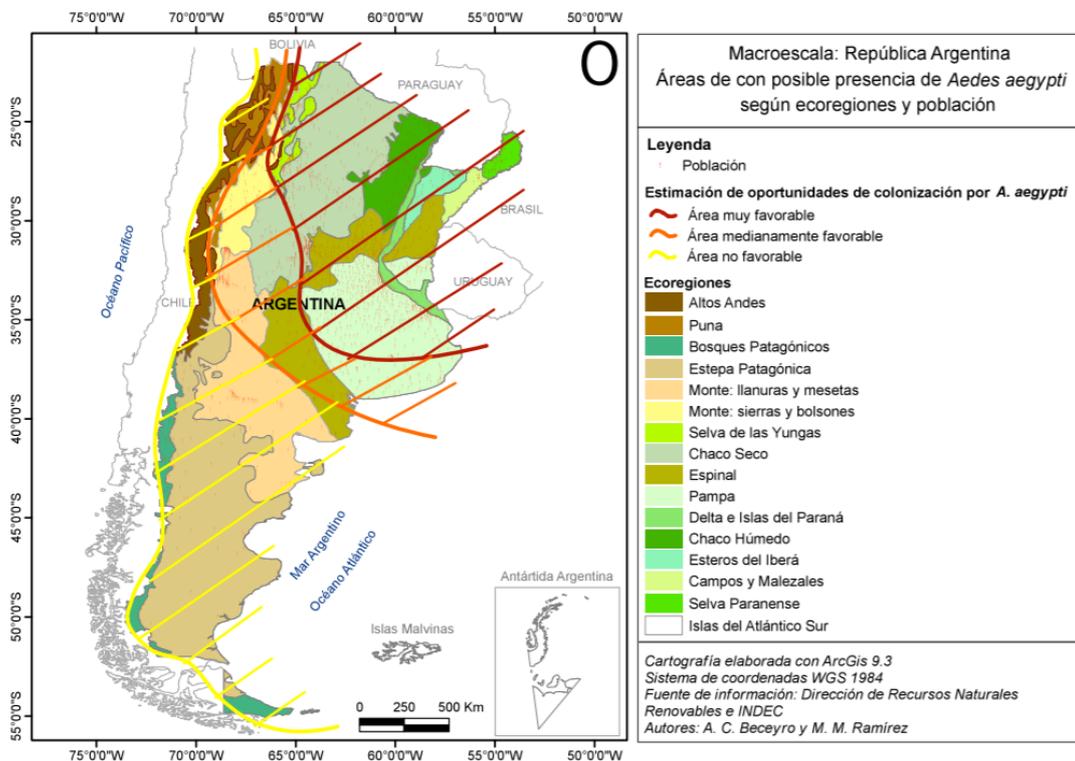


Figura 5

Figura 4: Riesgo de las distintas regiones de Argentina (macroescala) a la presencia del vector *Aedes aegypti* teniendo en cuenta la población y las características de cada ecoregión. Figura tomada de [11].

Al realizar un enfoque particular en CABA, el vector ha aumentado su presencia en los últimos 20 años (figura 2) [18]. En cuanto al comportamiento, como Buenos Aires encaja en un escenario tipo 3, el *Aedes aegypti* está presente como adulto entre los meses de fines de septiembre de un año y principios de junio del año siguiente. Dicho vector muestra una dinámica estacional recurrente, la actividad de oviposición incrementa a fines

de la primavera y comienzos del verano, llega a un pico en verano, febrero-marzo, y luego disminuye en abril y mayo [18]. La presencia del estadio adulto es poco usual en el invierno. Consecuentemente, la población persiste a través de la temporada desfavorable, es decir el invierno, en estadio de huevos resistentes a la deshidratación y al frío [8]. Es importante mencionar que existen estudios que demuestran que *Aedes aegypti* se está adaptando al clima local, específicamente al invierno en Buenos Aires, mediante la diapausa que le permite adelantar el comienzo de la temporada reproductiva durante la primavera [24]-[25].

1.2. Ciclo de Vida

El ciclo de vida, desde que eclosionan los huevos hasta la emergencia del mosquito adulto *Aedes aegypti*, dura en promedio entre 8 y 10 días o más dependiendo de la temperatura. Se puede dividir en dos estadios: uno acuático y otro aéreo (figura 5). El apareamiento resulta en la fertilización de la hembra y, transcurrido un tiempo desde este acto, ésta debe ingerir sangre para oviponer. La hembra busca un sitio adecuado poner los huevos, idealmente recipientes artificiales o naturales que acumulen agua, los óvulos se fertilizan en el acto de oviposición. Comúnmente los huevos recién puestos no entran en contacto con el agua y están pegados en la pared del recipiente. Luego de una lluvia o de riego artificial el nivel de agua del recipiente aumenta y los huevos se inundan, demoran entre uno a tres días para eclosionar y entrar en el período larval. En esta fase del ciclo, que dura entre seis y ocho días, se pueden reconocer cuatro estadios de larva diferenciadas por tres ecdisis o mudas, las cuales son acuáticas. La cuarta muda o pupación da lugar a la pupa, etapa que dura entre 1-2 días, y luego emerge el mosquito adulto o imago.

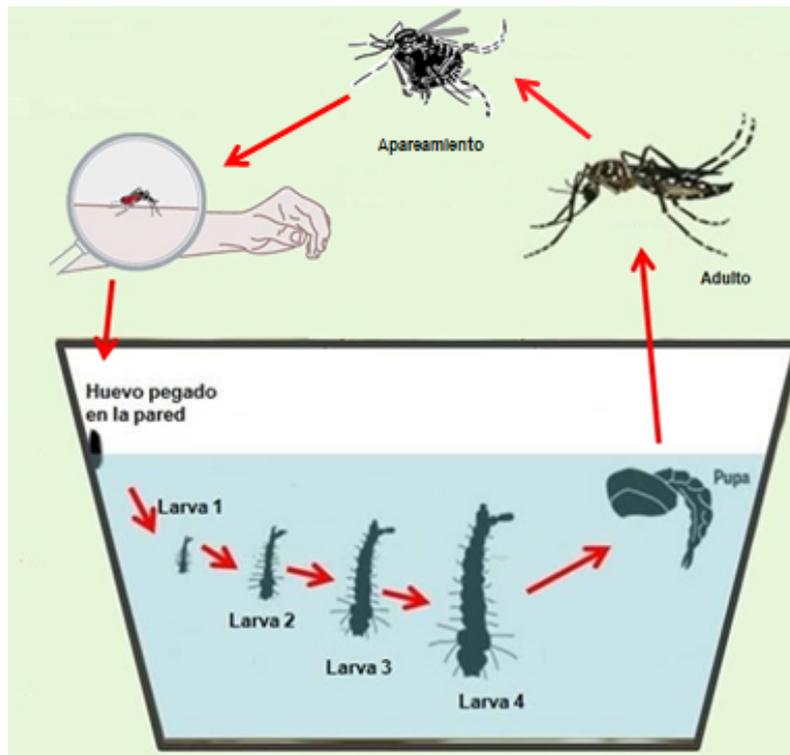


Figura 5: Ciclo de vida de un mosquito (desde que eclosiona el huevo hasta la emergencia del adulto de la pupa) en un recipiente artificial. Modificada de Nicolás Schweigmann, comunicación personal, y Biogents [26]

La propagación de la especie depende de diversos factores como la disponibilidad de sangre para que la hembra pueda oviponer los huevos, la presencia de agua para las larvas y la temperatura adecuada. En el caso de los adultos, la actividad y el tiempo de vida depende de la temperatura y humedad del ambiente, refugio y el acceso a agua para tomar. Para las larvas, el agua no debe ser natural abierta tal como en los océanos o lagos grande, además de encontrarse en lugares seguros, libres de posibles depredadores [9]. Todas estas condiciones se suelen cumplir en las ciudades o cercanías de los humanos, es por esto que se los denomina mosquitos “domésticos”.

1.2.1. Huevos

Previo a entrar en detalle específico del huevo del vector *Aedes aegypti* es importante destacar que los huevos de mosquitos necesitan tanto de oxígeno como de agua para proliferar. La cáscara del huevo protege al embrión en desarrollo del estrés biótico y abiótico y mantiene el equilibrio hídrico. La parte exterior del huevo de mosquito está

formada por tres capas: exocorion, endocorion y cutícula serosa. Las primeras dos están presentes cuando se pone el huevo sin embargo, la cutícula serosa (matriz extracelular) se desarrolla luego de que el huevo se expone al ambiente exterior (figura 6). Esta última capa incrementa tanto la impermeabilidad del huevo como la viabilidad del mismo al estar expuesto a condiciones áridas o de baja humedad durante el desarrollo embrionario [27].

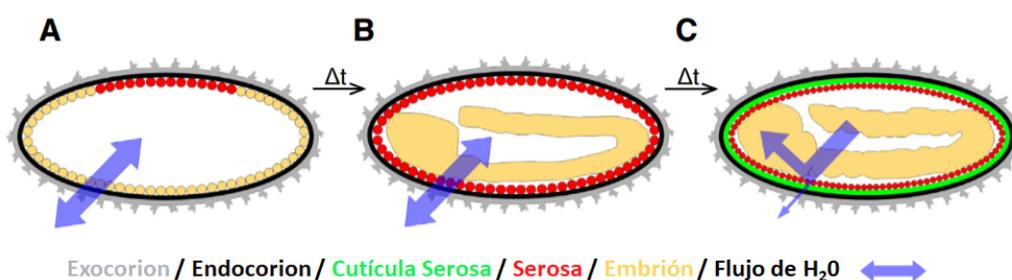


Figura 6: Capas del huevo del mosquito y resistencia a la deshidratación. (A) Inmediatamente después de la oviposición, el huevo está compuesto por el endocorion y exocorion producidos por la madre. (B) Durante el proceso de embriogénesis, las células serosas rodean al embrión y secretan la cutícula serosa (C) que disminuye significativamente el flujo de agua al exterior. Figura adaptada de [27].

Particularmente, el huevo de *Aedes aegypti* tiene una gran resistencia a la deshidratación. Cabe destacar que siempre que los huevos se mantengan húmedos, retienen su forma. En el caso de este vector, si los huevos se mantienen húmedos por un periodo entre 24 y 72 horas, luego de la exposición al exterior, conservarán su forma incluso si se exponen a una desecación prolongada [27]. Si no permanecen húmedos durante este período inicial, se secan y colapsan en cuestión de minutos. Existen dos estadios para los huevos colapsados, en un nivel moderado los costados del huevo se aplanan dejando una cresta central (achicharrado) y en un estadio completo, el huevo se pliega en sí mismo, los huevos totalmente colapsados son inviables. Si se desarrolla la resistencia completa los huevos se mantienen turgentes por semana hasta meses. Eventualmente, luego del transcurso de varios meses a un año, dependiendo de las condiciones del ambiente, estos huevos turgentes también pueden colapsar [9]. En el ámbito de la investigación, el proceso de mantener los huevos en un ambiente húmedo mientras desarrollan su resistencia a la deshidratación se denomina acondicionamiento [9]. En esta investigación los huevos de *Aedes aegypti* se

clasificaron de la siguiente manera (figura 7):

- Viables (turgentes)
- Achicharrados
- Colapsados
- Eclosionados

Los huevos de *Aedes aegypti* son blancos cuando están recién puestos, aunque se van oscureciendo gradualmente hasta ser de color marrón oscuro o negro al madurar completamente. En cuanto a la forma del huevo, bajo una lupa binocular estereoscópica, son ovalados con el extremo anterior redondeado y posterior puntiagudo, con una longitud de algunos milímetros. En los huevos de *Aedes aegypti* el exocorion es una capa delicada, incolora y, hasta cierto nivel, transparente que se daña y/o despega fácilmente, especialmente cuando el huevo está recién puesto. Es más sensible a los solventes y químicos que la capa más resistente del endocorion. En el exocorion se encuentran los *cuerpos coriónicos*, compuestos por un material denso y transparente de una naturaleza proteica [9]. A estos cuerpos coriónicos también se los denomina células coriónicas externas (CCE). Las CCE contienen tubérculos centrales grandes y periféricos pequeños y están unidas por una red de líneas blancas [28]. Estas células actúan como estructuras protectoras y participan en el anclaje del huevo al sustrato, como almohadillas coriónicas, al hincharse el exocorion cuando entra en contacto con el agua [29]. Adicionalmente, estas almohadillas brindan soporte a la cáscara del huevo ante las fuerzas repentinas ejercidas por las ondas del agua y el movimiento embrionario [28]. Dichas CCE son las estructuras más importantes funcionalmente ya que, con la colocación de huevos *in situ* sobre una superficie húmeda, las almohadillas coriónicas adhesivas fijan al huevo a medida que se depositan [29]. Además, cuando la superficie se seca, la almohadilla actúa como cemento fijando firmemente el huevo en esta posición. En el caso de que se despegue un huevo, se deja atrás el exocorion (escama blanca con forma del huevo) y la superficie inferior muestra el endocorion, superficie brillante y lisa. El endocorion es una membrana negra, densa, resistente y dura con un espesor entre 3 y 5 μm que le da la forma y rigidez al huevo [9].

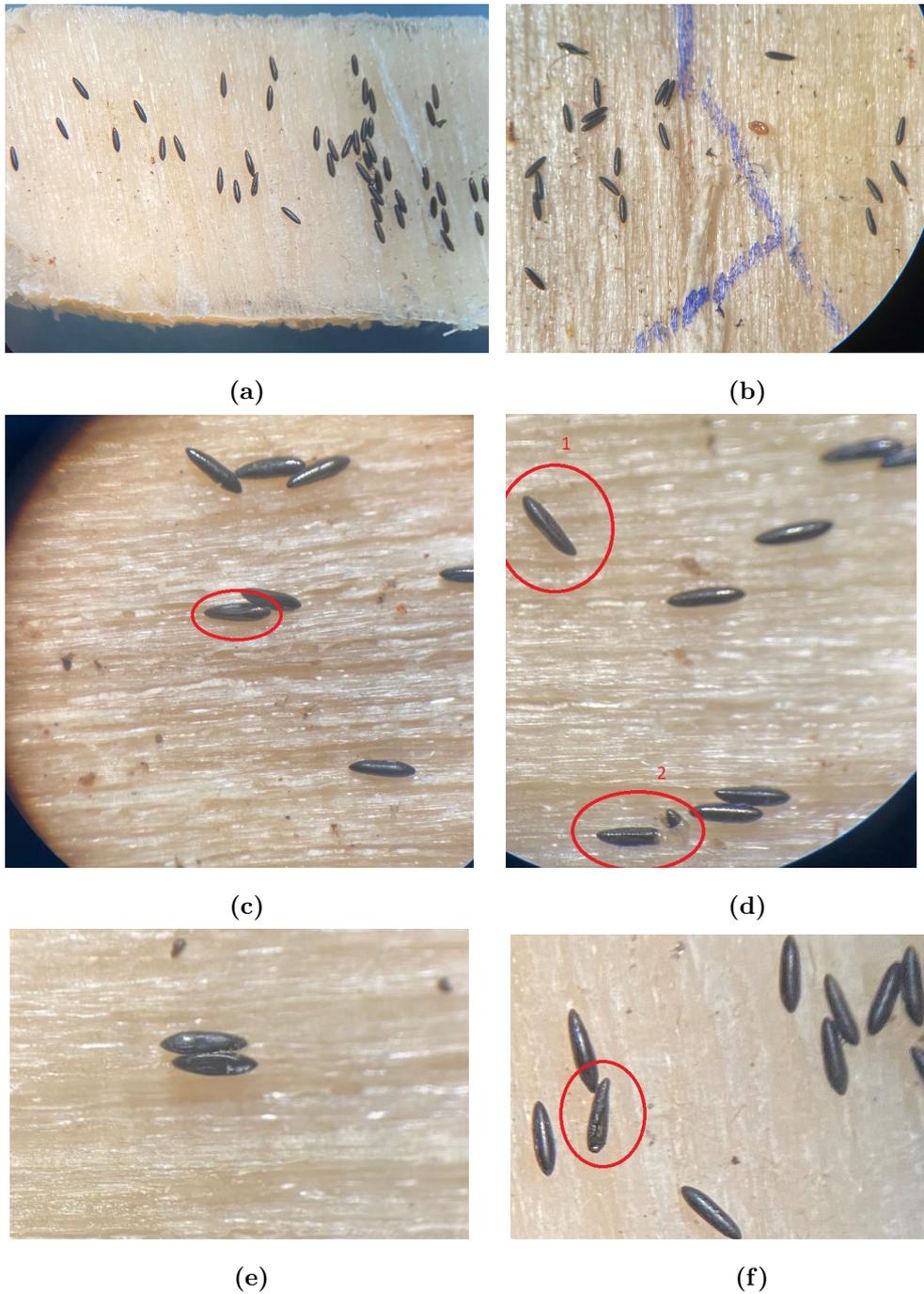


Figura 7: Clasificación de los huevos de *Aedes aegypti*. En (a) y (b) se puede observar una gran concentración de huevos posiblemente viables a una magnificación (del objetivo) de 5X. Las figuras restantes se obtuvieron a una magnificación (del objetivo) de 20X. En (c) se pueden apreciar huevos viables y uno achicharrado remarcado en rojo. En (d) se observan huevos viables, uno achicarado (1) y un huevo eclosionado (2) cuya larva se encuentra muerta. En (e) y (f) se remarcan los huevos colapsados/plegados.

Los lugares donde se lleva a cabo la oviposición son superficies húmedas justo por encima de la línea de flotación y normalmente no sobre el agua directamente. La disposición de los huevos no es indiscriminada, sino que sigue un patrón de líneas o pequeños grupos. Existe una mayor infestación en recipientes ubicados en zonas sombreadas. La sombra amortigua la alta temperatura y la baja humedad, ambas desfavorables para la supervivencia de adultos y lavas [30]. En el caso de que la hembra tenga dificultades al oviponer en una superficie húmeda, como en un vaso de vidrio, los huevos se depositan libremente en el agua, usualmente formando patrones. Los espacios donde se lleva a cabo la oviposición en ambientes urbanos se denominan criaderos. Existen cinco categorías de criaderos según el MSAL [31]:

- Grupo A: Almacenamiento de agua para consumo, que se pueden dividir en dos subgrupos. El grupo A1 es de tanques elevados conectados a la red de agua y el grupo A2 es de tanques no ligados a la red, por lo tanto son depósitos al nivel del suelo tales como tanques bajos, cisternas, aljibes, barriles, tinas, etc.
- Grupo B: Recipientes móviles de utilidad que pueden ser floreros, recipientes con plantas en agua, porta macetas, recipientes de plástico, vasos, frascos, platos, bebederos de animales, baldes, objetos ornamentales y religiosos, botellas, etc.
- Grupo C: Recipientes fijos tales como depósitos en obras, canaletas para lluvia, canales y charcos en desniveles, bateas en gomerías y huertas, sanitarios en desuso, piscinas no cloradas, fuentes ornamentales fijas, toldos, cámaras sépticas, etc.
- Grupo D: Objetos desechables que se pueden dividir en D1, cubiertas de autos, y D2, basura, elementos en desuso o para tirar, como recipientes plásticos, trozos de tela plástica, botellas, latas, chatarra, etc.
- Grupo E: Naturales, por ejemplo hojas, huecos de árboles, grietas de piedras, etc.

Para que los huevos eclosionen, es necesaria una o varias inundaciones, durante las cuales las bacterias que viven en el agua disminuyen la tensión de oxígeno y generan el estímulo necesario para que eclosionen los huevos y emerjan las larvas [32]. Según datos bibliográficos, el tiempo que tarda un huevo de *Aedes aegypti* en eclosionar es comúnmente entre 2 y 4 días una vez acondicionado adecuadamente y dependiendo de la temperatura

de agua. En realidad, se pueden distinguir al menos 4 períodos vinculados con la etapa de eclosión [9]:

- El período de desarrollo de la larva (periodo de maduración/incubación).
- El tiempo durante el cual el huevo, incluso después de su desarrollo completo, permanece sin eclosionar dado que las condiciones no están dadas (periodo de diapausa).
- El tiempo que tarda en eclosionar el huevo una vez inundado y en las condiciones adecuadas.
- El tiempo que tarda el acto de eclosionar.

Un huevo eclosionado, al ser observado bajo una lupa binocular estereoscópica, es similar a un huevo viable excepto que la falta una tapa en el lado anterior. En un huevo maduro, listo para eclosionar, la cabeza de la larva primaria completamente desarrollada ocupa un tercio del sector anterior. Ésta tiene un región puntiaguda, denominado el rompehuevo, que cumple la función de perforar el endocorion y de ahí en adelante, la presión generada por la larva dentro del huevo lleva al desprendimiento de la tapa anterior (figura 8).

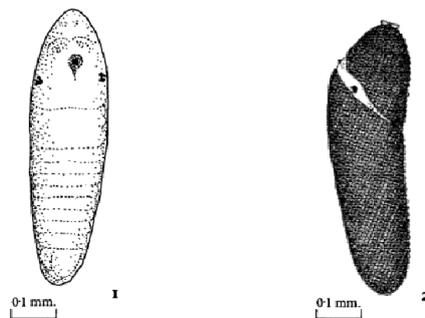


Figura 8: (1) Vista frontal de un huevo de *Aedes aegypti* blanqueado con lavandina que muestra una larva primaria completamente desarrollada. (2) Vista lateral del huevo con una primer indicación de la eclosión (comienzo del desprendimiento de la capa del huevo del lado dorsal al ventral). Figura tomada de [9].

Al mencionar el proceso de eclosión, es importante remarcar las variables principales que lo afectan, tanto positiva como negativamente. En primer lugar, como se mencionó

anteriormente, es la inundación, sin embargo este evento debe ser posterior al proceso de acondicionamiento y en las condiciones adecuadas. Por lo tanto, este factor es condición necesaria pero no suficiente. En segundo lugar, la composición del medio de inundación es fundamental. La eclosión ocurre con menor facilidad en agua destilada que en medios ricos en materia orgánica. Adicionalmente, entra en juego la presencia de microorganismos ya que la materia orgánica contiene bacterias y levaduras que ejercen un poderoso estímulo positivo, sin embargo no implica que su presencia sea necesaria. En tercer lugar, la reducción de oxígeno disuelto incrementa la posibilidad de eclosionar como también la temperatura del agua, idealmente entre 25 °C y 28°C [9]. Por otro lado, también impacta la temperatura y humedad relativa del aire y el tiempo de exposición del huevo al mismo previo a una inundación, aunque aún no existe una regla general entre estos tres factores. Por último, el fotoperíodo, que es el tiempo de exposición a la luz, tiene efectos sobre los huevos y también en las hembras adultas. Respecto a los huevos, en el caso de la población presente Buenos Aires, los estudios de laboratorio demuestran que la eclosión se inhibe cuando existen fotoperíodos cortos que simulan las condiciones naturales que se presentan en el otoño e invierno [6].

1.2.2. Adultos



Figura 9: Imagen del mosquito *Aedes aegypti* en estadio adulto. Figura tomada de [33].

El mosquito *Aedes aegypti* es de la familia *Culicidae*, el adulto se destaca por su coloración oscura, franjas plateadas en sus patas y una estructura plateada en forma de lira sobre el tórax [3] (figura 9). Se considera adulto a un mosquito cuando entra en su fase reproductora, pasadas 24 horas desde la maduración de la pupa a adulto. Sin embargo, en este momento del desarrollo, la vida de un macho y una hembra difieren. Por un lado,

los machos suelen vivir menos que las hembras y pueden distinguirse fácilmente ya que tienen aproximadamente la mitad de tamaño y peso que la hembra. A pesar de ser el sexo menos estudiado, ya que la hembra es la responsable de transmitir enfermedades, es el sexo predominante en número con una mayoría de 55 % a 65 % de la población. En cuanto su alimentación, ingieren una variedad de fluidos generalmente ricos en azúcares, pero no se nutren de la sangre de vertebrados [9].

Con respecto a la hembra, existe mayor conocimiento y estudios ya que además de poder subsistir a base de alimentos altos en azúcares, requiere ingerir sangre de vertebrados para poder generar los huevos. La duración de su vida depende de diversos factores como el acceso al agua, la humedad del ambiente, la frecuencia y el tipo de alimentación. Bajo condiciones de laboratorio, el promedio de vida es de 15 a 18 días con un máximo de 62 días. Una vez que emergen del estadio de pupas, las hembras ingieren sangre por primera vez entre las primeras 24 y 96 horas, aquellas que no lo hacen en este período de tiempo están asociadas con una alta tasa de mortalidad. Luego de haber ingerido sangre, pasan entre 48 y 96 horas antes de comenzar a poner huevos y esto depende principalmente de la temperatura ambiental, aumentando el espacio temporal entre la alimentación y la oviposición a mayor temperatura. Una de las propiedades de la hembra *Aedes aegypti* es que no pone todos los huevos en una sola tanda, sino que suele realizar diversas posturas por cada ingesta de sangre. Una vez que la hembra realiza una ingesta sanguínea completa, no vuelve a alimentarse hasta haber puesto los huevos, es decir que solo se alimenta cada 3 o 4 días y únicamente lo hace de manera regular si fue fecundada previamente. Se ha estudiado también la cantidad de huevos puesto por hembra durante toda su vida en condiciones de laboratorio y se encontraron máximos de hasta 752 huevos en 16 tandas para una hembra que vivió 72 días desde la emergencia, cuando deja de ser pupa, esto implica un promedio de 47 huevos por tanda [9].

Respecto a estudios que se realizaron en los barrios de CABA, se ha monitoreado la actividad semanal de oviposición con sensores de esta actividad en *Aedes aegypti*. Un estudio que llevó a cabo un seguimiento semanal por 10 semanas durante los meses de febrero a abril demostró que existe mayor probabilidad de oviposición en áreas privadas, específicamente en casas de un piso con vegetación extensa y zonas con sombra, en comparación a zonas públicas pavimentadas con árboles, donde a mayor altura del árbol, menor oviposición. Respecto al índice de densidad de huevos, (n° total de huevos/ n° total

de sensores), el promedio de huevos por sensor por semana fue de 48,5 en viviendas y de 29,7 en zonas públicas [34]. Consecuentemente, suponiendo que una sola hembra ovipuso por sensor, se obtiene un promedio de 48,5 huevos por tanda en viviendas en los barrios de CABA. Cabe destacar que los resultados también son influenciados por la temperatura, humedad y lluvias promedio. El *Aedes aegypti* es una especie de hábitos diurnos, siendo los periodos más activos 2 horas después del amanecer y antes del atardecer [35].

1.2.2.1. La hembra adulta como portadora de virus

El mosquito *Aedes aegypti* es el principal vector de numerosas enfermedades virales como el dengue, la fiebre amarilla, zika y chikunguña. El ciclo de contagio a través del mosquito de estas enfermedades se da fundamentalmente por la transmisión horizontal vectorial, lo que significa que el contagio entre humanos depende del mosquito. Sin embargo tanto zika como chikungunya también se pueden transmitir por relaciones sexuales y de madre a hijo durante el embarazo (transmisión vertical). También, en el caso del dengue, una mujer embarazada ya infectada puede transmitir el virus a su feto durante el embarazo o en el parto (transmisión vertical) [36].

El contagio del mosquito hembra se da por la ingesta de sangre humana infectada con alguno de los virus mencionados, generalmente cuando el hospedador (en este caso el humano) se encuentra en etapa de alta viremia, hospedador infectivo. Durante el periodo de incubación extrínseco (PEI), el virus se replica en el mosquito hasta llegar a las glándulas salivales (al finalizar el PEI, el mosquito se torna infectivo). Al picar, a través de la saliva, el virus es transferido a un nuevo hospedador susceptible, ya que los mosquitos inyectan su saliva para prevenir la coagulación de la sangre, estimular la dilatación de los vasos y disminuir la sensación de dolor; de esta manera el virus ingresa al torrente sanguíneo humano (humano infectado). El mosquito que contrae el virus permanece infectivo por el resto de su vida y, por lo tanto, lo transmite a todos aquellos hospedadores que pique, haciendo al *Aedes aegypti* un vector epidémico altamente eficiente (figura 10).

En cuanto al contagio de los humanos, luego de la picadura de un mosquito infectivo y transcurrido el periodo de incubación intrínseco (PII), el hospedador pasa a la etapa de alta viremia, el virus está presente de forma significativa en la sangre y el hospedador se torna infectivo. La duración del periodo de viremia varía en función al virus, en el caso del dengue dura entre 2 y 12 días pero la mayoría de los pacientes presentan el virus circulante

entre 4 y 5 días [37]-[38]. En el caso del zika, el periodo de viremia en los seres humanos dura entre 5 y 7 días [39] y para chikunguña la viremia dura entre 5 y 6 días con un máximo de hasta 8 días [40]-[41]

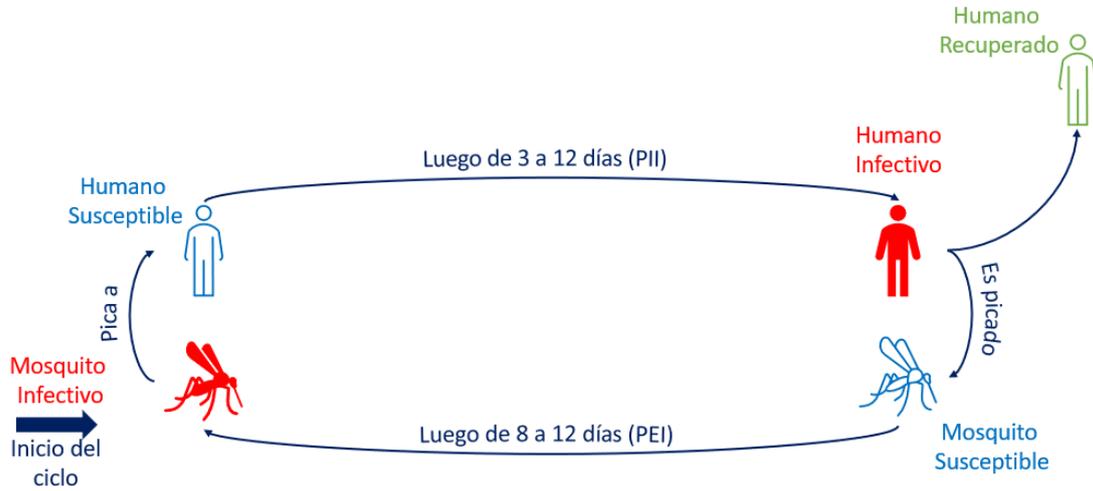


Figura 10: Ciclo de contagio entre humanos mediado por el mosquito *Aedes aegypti*, transmisión horizontal.

Ambos períodos de incubación mencionados anteriormente son de suma importancia a la hora de tomar decisiones clínicas y de control del vector. En la tabla 1, se pueden observar los distintos períodos para las diferentes enfermedades. El PEI tiene una relación inversa con la temperatura.

| Virus | PEI (días) | PII (días) |
|-------|------------|------------|
| DENV | 8 a 12 | 3 a 12 |
| ZIKV | 5 a 24 | 3 a 14 |
| CHIKV | 2 a 9 | 3 a 7 |
| YFV | 10 a 14 | 4 |

Tabla 1: Períodos PEI y PII para los distintos virus transmitidos por *Aedes aegypti*. DENV [42], ZIKV [43, 44], CHIKV [45, 46] y YFV [47]

1.3. Enfermedades transmitidas por *Aedes aegypti*

Es importante remarcar que para que cualquiera de las siguientes enfermedades exista y se propague, es necesario que se encuentren presentes un humano infectivo o reservorio, el vector y un humano susceptible a ser infectado.

1.3.1. Dengue

Dentro de las enfermedades virales que transmite el mosquito *Aedes aegypti*, el dengue es la de mayor incidencia en Argentina. Se caracteriza por presentar un cuadro clínico similar al de la gripe, solo que con fiebre más elevada, que ronda los 40°C. Los síntomas suelen aparecer luego de 4 días de la picadura (PII) y permanecer entre 2 a 7 días aproximadamente. La infección puede cursar en forma asintomática o expresarse con un espectro clínico amplio que incluye tanto manifestaciones graves como moderadas. Después del período de incubación, la enfermedad comienza abruptamente y pasa por tres fases: febril, crítica y de recuperación [48]. Se estima que el 5% de los infectados desarrolla la fase grave del virus, llamada dengue grave o hemorrágico [49]. En esta fase, la permeabilidad de los vasos sanguíneos disminuye y se padecen ciertas condiciones riesgosas para la salud como la extravasación del plasma, hemorragias internas, fallas orgánicas, dificultad respiratoria y acumulación de líquidos. Las siguientes 24 a 48 horas luego de los síntomas de dengue grave son fundamentales para la supervivencia del paciente.

Existen cuatro serotipos del virus: DENV-1, DENV-2, DENV-3 y DENV-4, todos con síntomas similares. Luego de la recuperación de una infección por un serotipo, la persona adquiere inmunidad en contra del mismo para el resto de su vida. Sin embargo, en caso de volver a ser infectado por otro de los serotipos, aumentan las probabilidades de desarrollar dengue hemorrágico. Además, los serotipos DENV-2 y DENV-3 están asociados a mayor cantidad de casos graves [50].

La incidencia del dengue en Argentina se puede apreciar en la tabla 2, que contiene el número de casos confirmados y sospechosos de dengue autóctono e importado entre los años 2014 y 2020 según los Boletines Integrados de Vigilancia desarrollados por la Dirección Nacional de Epidemiología y Análisis de la Situación de Salud del MSAL [4]. La mayoría de los casos son del serotipo DENV-1 y en menor medida de DENV-4.

| Año | Casos Autóctonos | Casos Importados |
|-----------------|------------------|------------------|
| 2020 (Epidemia) | 56.833 | 958 |
| 2019 | 3.020 | 193 |
| 2018 | 1.808 | 182 |
| 2017 | 555 | 89 |
| 2016 (Epidemia) | 41.229 | 2.689 |
| 2015 | 331 | 171 |
| 2014 | 601 | 53 |

Tabla 2: Casos de dengue confirmados y sospechosos en Argentina, tomando la SE 1 a 51 de los años 2019, 2018, 2017, 2016 y 2015, la SE 1 a 52 en el año 2014 y desde la SE 31 del 2019 a la SE 30 del 2020 [4]. Cabe destacar que para el año 2020, 1098 casos siguen en investigación en cuanto a su origen (autóctonos o importados).

En el plano global, se estima que cerca de la mitad de la población vive en áreas en riesgo de dengue, más de 100 países tienen transmisión (paso de un hospedador a otro mediante los vectores principales *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*). Se producen entre 300 y 500 millones de infecciones anuales con alrededor de 25.000 muertes anuales [7].

El dengue no tiene tratamiento específico ni vacunas recomendadas. Existe una vacuna, Dengvaxia, que si bien está aprobada por diversos organismos como la *Food and Drug Administration* (FDA), la OMS solo recomienda su administración en zonas geográficas de gran presencia de la enfermedad. De todas formas, la OMS sugiere controlar el vector como manera primaria de prevención de la enfermedad [51].

1.3.2. Zika

El zika es una enfermedad causada por el ZIKV, transmitida por mosquitos del genero *Aedes* o, en menor medida, por transmisión sexual, transfusión de sangre o de madre al feto durante el embarazo.

Los principales síntomas aparecen luego de 3 a 12 [52] días e incluyen fiebre, conjuntivitis no purulenta, dolores generales, decaimiento, sarpullido e inflamación en miembros inferiores. A pesar de que la mayoría de las personas infectadas son asintomáticas, la gravedad de la enfermedad radica en el contagio de una mujer embarazada ya que puede causar

microcefalia y otras malformaciones congénitas en el desarrollo embrionario, además de parto prematuro, muerte intrauterina y aborto espontáneo. La infección de este virus también puede desencadenar, en adultos, el síndrome de Guillain-Barré, neuropatía y mielitis [53]. La incidencia de zika en Argentina se puede apreciar en la tabla 3, que contiene el número de casos confirmados y sospechosos, autóctonos e importados, entre los años 2014 y 2020 según los Boletines Integrados de Vigilancia [4].

| Año | Casos Autóctonos | Casos Importados |
|------|------------------|------------------|
| 2020 | 0 | 0 |
| 2019 | 2 | 0 |
| 2018 | 57 | 11 |
| 2017 | 253 | 18 |
| 2016 | 34 | 43 |
| 2015 | 0 | 0 |
| 2014 | 0 | 0 |

Tabla 3: Casos de zika confirmados y sospechosos en Argentina, tomando la SE 1 a 51 de los años 2019, 2018, 2017, 2016 y 2015, de la SE 1 a 52 en el año 2014 y desde la SE 31 del 2019 a la SE 30 del 2020 para el año 2020 [4].

1.3.3. Chikunguña

Chikunguña es una enfermedad viral transmitida por la picadura del mosquito *Aedes aegypti* o *Aedes albopictus* y constituye una de las mayores virosis emergentes del siglo XXI [54]. La infección puede ser clínicamente inaparente (entre 3% y 28% de los casos) o puede causar una enfermedad de intensidad variada [41]. Luego de 3 a 7 días de incubación, suele presentar fiebre elevada repentina junto con dolores articulares fuertes. Otros síntomas comunes son dolores musculares, de cabeza, cansancio, náuseas y erupciones cutáneas. Si bien los síntomas principales suelen desaparecer y los pacientes se recuperan totalmente, en algunos casos los dolores articulares pueden durar hasta meses o años de manera más leve [55].

En 2015 se notificó por primer vez una transmisión autóctona del virus en Argentina, un caso autóctono y 42 casos importados (entre la SE 1 y 51). En 2016 (entre la SE

1 y 51) hubo alrededor de 3.807 casos sospechosos de chikunguña, sin embargo se confirmaron 434 casos autóctonos y 91 casos importados. En 2017 hubo 10 casos importados sin transmisión autóctona, en 2018 no hubo ni casos importados ni autóctonos, en 2019 hubo 14 casos importados sin transmisión autóctona y en 2020 hubo solo 2 casos importados de Brasil [4].

1.3.4. Fiebre Amarilla

La fiebre amarilla es otra enfermedad viral, de transmisión por mosquitos siendo uno de ellos el *Aedes aegypti*. El desarrollo de esta enfermedad presenta varias fases, la primera suele presentarse entre 3 a 6 días posteriores a la picadura y conlleva síntomas como fiebre, escalofríos, dolores musculares y cefaleas, aunque algunos enfermos son asintomáticos. La mayoría de los pacientes entra en un periodo de remisión que puede durar hasta 48 hs donde los síntomas disminuyen para pasar a la fase de recuperación (7-15 días). Sin embargo del 15 % al 25 % de los pacientes luego del periodo de remisión pueden entrar una forma grave, denominada fase tóxica. En esta fase los síntomas son más graves e incluyen ictericia (coloración amarillenta en la piel y mucosa), dolor abdominal, vómitos, hemorragias, bradicardia e insuficiencia hepática y renal. La mortalidad de los pacientes que entran en la fase tóxica es del 50 % y se produce en un plazo de 7 a 10 días [56]. El mejor tratamiento para la fiebre amarilla es la hospitalización, aunque muchas veces el diagnóstico es erróneo y se comienza a tratar de manera tardía. Cabe destacar que la fiebre amarilla es la única que también cuenta con una vacuna. Por lo tanto, la prevención de esta enfermedad es a través de la vacunación, aunque en Argentina solo está recomendada para las personas que viajan o habitan zonas afectadas o de riesgo [57].

1.4. Estrategias de control

El control de las enfermedades transmitidas por *Aedes aegypti* depende directamente del control del vector ya que no existen curas o tratamientos específicos para las mismas, con la excepción de la vacuna contra la fiebre amarilla. Los tratamientos en todos los casos son paliativos de los síntomas. Es por ello que se han desarrollado diversos métodos de control del vector, que se pueden diferenciar en cuatro grandes grupos: ambientales, químicos, biológicos y físicos, esquematizados en la figura 11 (sección 1.4.5).

1.4.1. Control ambiental

Existen tres tipos de métodos en esta categoría. El primero es la *modificación ambiental*, que implica una transformación física duradera de la tierra, agua y/o vegetación como, por ejemplo, mejorar el suministro de agua potable (calidad y cantidad eficiente), sellar tanques de agua o cisternas y reservorios subterráneos y rellenar o nivelar el suelo. El segundo, la *manipulación ambiental*, comprende la realización de actividades recurrentes para eliminar los posibles criaderos del vector tales como el descacharrado, que es la eliminación de recipientes sin uso que pueden acumular agua, cubrir recipientes de agua potable, limpieza de macetas/jarrones de forma semanal, entre otras. El último es el *cambio del comportamiento humano*, que se enfoca en minimizar el contacto directo con el vector y abarca la ropa protectora, la aplicación de repelentes (químicos o de origen vegetal) y/o dormir bajo mosquiteros en el caso de especies de mosquitos que pican por la noche [58].

1.4.2. Control químico

Este control se basa en químicos para eliminar al *Aedes aegypti* en estadio larval o adulto. En el caso de las larvas, el principal insecticida utilizado es *temephos* que se puede aplicar hasta en agua potable debido a su bajo potencial de toxicidad en humanos. En el caso de los adultos, se usan técnicas de niebla térmica o *Ultra-Low Volume (ULV)*, que consisten en la vaporización de insecticidas líquidos liberados en forma de niebla densa en lugares abiertos y cerrados. Los químicos comúnmente utilizados para ULV son organofosfatos y piretroides [58].

Sin embargo, en la actualidad se puede encontrar un número limitado de insecticidas seguros, eficientes y costo-efectivos que pueden ser utilizados contra los vectores adultos y larvales en el ámbito de la salud pública [56]. Esta limitación se debe principalmente a la resistencia desarrollada por los vectores y/o a la retirada del mercado por motivos de seguridad tanto para las personas como para los animales y el medio ambiente. Adicionalmente, se ha demostrado la baja eficiencia de la aplicación de insecticidas químicos en forma de aerosol o *droplets* y según la OMS su uso solo se justifica en el caso de una epidemia [58]. La fumigación genera una falsa sensación de seguridad entre los residentes de una comunidad, lo que tiene un efecto perjudicial en los programas de concientización para la reducción de criaderos.

1.4.3. Control biológico

El control biológico se basa en la introducción de organismos predadores o competidores que reduzcan la población objetivo. Algunos ejemplos de estos organismos son peces larvívoros, como las especies *Poecilia reticulata* y *C.decemmaculatus*; ciertas bacterias, tales como *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) y *Lysinibacillus sphaericus* (Ls); copépodos; hongos entomopatogénicos y ovitrampas autocidales, letales o pegajosas. Si bien es un método amigable para el medioambiente, ya que se evita la contaminación química, existen limitaciones como el costo de criar a gran escala ciertos organismos, la dificultad de liberarlos y, especialmente en organismos acuáticos, la supervivencia en medios con temperatura, pH y contaminación que difieren de los requisitos estrechos de los organismos [58].

1.4.3.1. Manipulación genética y biológica de *Aedes aegypti*: Las innovaciones que involucran la manipulación de vectores se sustentan en dos estrategias que se organizan en función del resultado obtenido, eliminación o remplazo de poblaciones, o en la dinámica de aplicación, auto-sostenible o auto-limitante, tal como se puede observar en la tabla 4 [7]. Cada una de ellas lleva implícita condiciones necesarias para garantizar su cobertura, volumen de mosquitos y frecuencia de liberación, dispersión, costos, necesidad de monitoreo, etc. El objetivo principal es lograr eliminar la reproducción masiva del mosquito o reducir su potencial para transmitir las infecciones de interés en forma sostenible.

| Resultado de la intervencion | Dinamica de implementación | |
|--|--|--|
| | Autolimitante | Autosostenible |
| Supresión de poblaciones (eliminación) | Esterilización Genes autolimitantes Mosquitos feminicidas | Genes letales Wolbachia |
| Reemplazo o sustitución de poblaciones | Transgenes de RNA Transposones (elementos genéticos móviles) | Wolbachia (reducción de la competencia vectorial) |

Tabla 4: Estrategias de manipulación del vector *Aedes aegypti* [7]. El termino mosquitos feminicidas se refiere al termino *female killers* que involucra liberar insectos portadores de un gen dominante que es letal únicamente para las hembras

1.4.4. Control físico

Los métodos de control físico contemplan el cambio de ciertos factores ambientales de manera temporaria, sin la liberación de componentes químicos u organismos vivos, aprovechando las propiedades físicas de los elementos. Entre ellos, se puede destacar el tratamiento con agua caliente para eliminar huevos de *Aedes aegypti* [1], el uso de vapor de agua para eliminar huevos y larvas de *Aedes albopictus* o *Culex quinquefasciatus* [2]. O como se propone en este trabajo, el uso de vapor de agua para eliminar los huevos de *Aedes aegypti*.

1.4.5. Evaluación de los métodos de control

Los métodos mencionados en las secciones anteriores no resultaron ser tan efectivos como se ha demostrado en ciertos estudios previos por diversos motivos, como por ejemplo no aplicarlos de forma total, haberlo hecho en un momento inoportuno o de manera no sostenida. Por este motivo se cree que la poca efectividad de cualquier método utilizado para erradicar el vector se debe principalmente a la incorrecta práctica de estas técnicas [7] y la falta de conocimiento al extrapolar un método efectivo a pequeña escala a una escala nacional [59]. El control del vector puede ser efectivo pero, para que eso suceda, la implementación debe hacerse de manera exhaustiva, integral, sostenida, en el momento y de forma correcta. En el caso de la transmisión de una enfermedad, no basta con aplicar un método ambiental sino que se debe integrar con el uso de insecticidas. La disminución del dengue requiere una mayor capacidad de acciones preventivas, frente a la dependencia actual de los esfuerzos reactivos de control del vector.

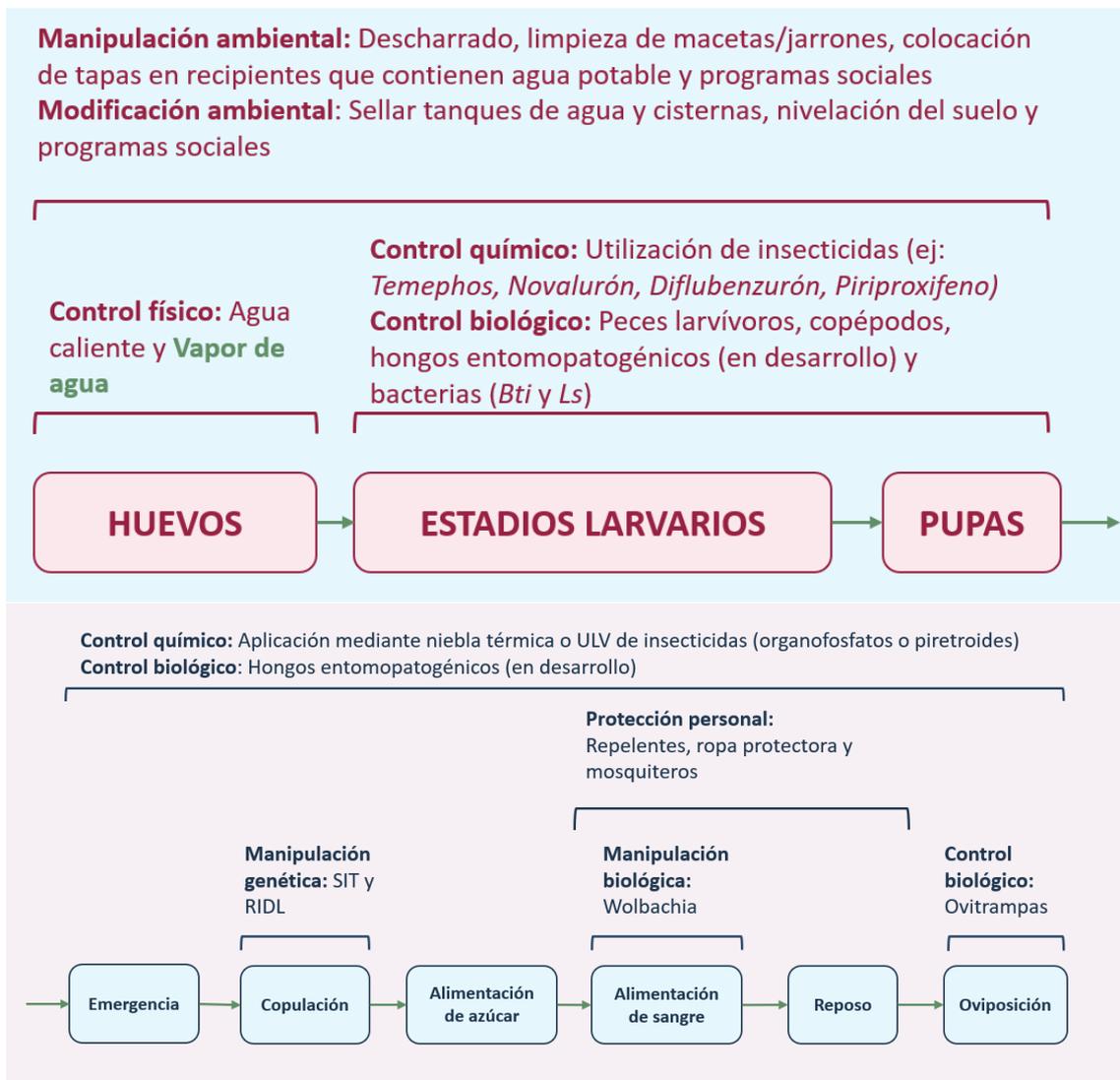


Figura 11: Estrategias de control del mosquito *Aedes aegypti*. Panel superior, estadios acuáticos y panel inferior, estadios aéreos o adultos.

1.5. Impacto de la temperatura sobre huevos de *Aedes aegypti*

La temperatura ambiental es uno de los factores abióticos más importantes que influye la fisiología, comportamiento, ecología y supervivencia de los insectos [60]. Respecto al *Aedes aegypti*, la temperatura impacta la duración del ciclo de vida, la búsqueda de un hospedador, la dinámica poblacional, el periodo de incubación del virus, etc. En cuanto al ciclo de vida, y realizando un enfoque particular en el estadio de huevo, la temperatura puede influir la embriogénesis (que ocurre previo a la inundación del huevo) y en el

porcentaje de eclosión una vez ocurrida la inundación.

En cuanto a la tasa de desarrollo embrionario, incrementa linealmente entre, aproximadamente, los 22 °C - 31 °C, disminuye a los 35°C y cae drásticamente a cero a los 36°C. Consecuentemente, 35°C es la temperatura máxima soportada por el proceso de embriogénesis (esta temperatura máxima es similar para el desarrollo de las larvas y pupas) [61]. De todas formas, que ocurra el desarrollo embrionario no implica que se lleve a cabo la eclosión. El porcentaje de eclosión entre las temperaturas de 22°C -28°C es de aproximadamente un 90 % cuando a 35°C eclosionan 50 % de los huevos [61]. Según Christophers (1960), la temperatura del agua ideal para que eclosionen el huevo de *Aedes aegypti* es entre 25 °C y 28°C [9], al igual que para el desarrollo de la larva y la pupa.

Los métodos físicos son importantes porque existe una dependencia del desarrollo embrionario, de las larvas y pupas y porcentaje de eclosión de los huevos de *Aedes aegypti* con la temperatura. Estos métodos generan un estrés térmico provocando la mortalidad de los estadios inmaduros. Por esta razón, colocar agua hirviendo, suficiente para generar un cambio significativo de la temperatura del agua donde se encuentran los huevos, es un método efectivo de eliminación que no utiliza insecticidas ni altera al medio ambiente [1]. El efecto negativo del vapor de agua se puede apreciar en los ensayos realizados utilizando huevos y larvas de *Aedes albopictus* y *Culex quinquefasciatus* [2].

1.6. Transferencia de calor

La transferencia de calor explica el intercambio así como la rapidez de la transferencia de energía entre dos cuerpos a diferentes temperaturas, bajo distintas condiciones [62]. Se pueden distinguir tres maneras de transferir el calor: conducción, convección y radiación. La conducción se da cuando las partículas más energéticas transfieren su calor hacia las menos energéticas de una sustancia; la convección se puede observar cuando se transfiere energía entre un sólido y un líquido o gas en movimiento, combinando los efectos de la conducción y el movimiento de fluidos; la radiación es la energía emitida en forma de ondas electromagnéticas debido a cambios en la configuración electrónica de los átomos o moléculas de la sustancia. Los procesos de transferencia de calor pueden dar lugar a cambios de fase, como es el caso de la condensación cuando el vapor se convierte en líquido, liberando energía durante el proceso. Este mecanismo se da cuando la sustancia en estado de vapor entra en contacto con una superficie que se encuentra a una temperatura inferior

a la temperatura de saturación [63].

Este proceso de transferencia de calor es un mecanismo altamente eficaz para liberar energía ya que el fluido no solo transfiere energía al licuarse hasta llegar a la temperatura de equilibrio con la superficie en contacto, sino que también se liberan altas cantidades de energía durante el cambio de fase. Es decir que a la transferencia de calor por convección, se suma la entalpía o calor de vaporización (h_{fg}). Particularmente si se analiza el caso del agua, la entalpía de vaporización es de 2257 kJ/kg [63], mientras que su calor específico (c) es solo de 4,186 kJ/kg°C. Considerando estas constantes, el calor liberado por 1 kg de agua al pasar de 100°C en estado gaseoso a temperatura ambiente de 25°C en condiciones normales de presión y temperatura es de 2570,95 kJ, como se puede observar en las ecuaciones 1 a 4:

$$Q_{total} = Q_{cambiodefase} + Q_{liquido} \quad (1)$$

$$Q_{total} = h_{fg} * m + c * m * \Delta T \quad (2)$$

$$Q_{total} = 2257kJ/kg * 1kg + 4,186kJ/kg^{\circ}C * 1kg * (100^{\circ}C - 25^{\circ}C) \quad (3)$$

$$Q_{total} = 2257kJ + 313,95kJ = 2570,95kJ \quad (4)$$

La mayoría del calor liberado proviene del cambio de fase por condensación y no de la transferencia de calor por convección. Si se analiza la cantidad de calor liberado por 1 kg de aire desde los 100 °C a los 20 °C, se obtiene que es de solo 75,375 kJ, ya que su calor específico es de 1,005 kJ/kg°C y no existe un cambio de fase.

2. Objetivos

La hipótesis de este trabajo es, que al igual que el agua caliente [1], el vapor de agua se puede usar como método físico para el control del *Aedes aegypti*.

Los objetivos son, en primer lugar, encontrar las condiciones óptimas para las máquinas de vapor utilizadas y analizar el comportamiento del vapor emitido. Esto contempla determinar el estado estacionario, temperaturas en función a la distancia y posición de la boquilla y la distribución espacial del vapor.

En segundo lugar, determinar la temperatura en la cual el vapor de agua inhibe por completo la viabilidad de los huevos de *Aedes aegypti*. Para ello se analizarán las temperaturas entre 50°C y 100°C, teniendo en cuenta que el valor máximo de temperatura que se puede alcanzar dependerá del equipamiento utilizado. El valor mínimo se determinó a partir de las condiciones en las que habitan los huevos, detallado en la sección 1.5, con un rango adicional de 10°C para contemplar una posible adaptación del vector y contar con un margen de seguridad.

En tercer lugar, establecer el tiempo mínimo, por rangos de temperatura, donde la mortalidad sea de un 100 %.

En cuarto lugar, se analizará la posibilidad de dispersión de los huevos debido al impacto del vapor, con el objetivo de minimizar la misma y aumentar la bioseguridad del uso del dispositivo.

Por último, encontrar la combinación de temperatura, tiempo y distancia óptima, con el equipamiento utilizado en este trabajo, para eliminar los huevos de *Aedes aegypti* evitando la dispersión de los mismos durante el tratamiento.

3. Materiales y Métodos

3.1. Calibración de las máquinas de vapor

Las limpiadoras a vapor utilizadas en este trabajo se comercializan para uso hogareño, para desinfectar y limpiar superficies y son similares a las propuestas por Cuthbert y col., 2020 [2]. Inicialmente se comenzó trabajando con una máquina de vapor marca JML modelo *Steam Genie* (figura 12). Según las especificaciones técnicas, tiene una potencia de 800W con ciclos de calentamiento, similar a una pava eléctrica, y un sistema mecánico de apertura de la salida de vapor.

Debido que al utilizar el volumen máximo de la máquina (350 ml) la salida de vapor no era continua ni la temperatura se mantenía constante, se varió el volumen de agua agregado inicialmente con el objetivo de llegar a un estado estacionario (constante), tanto para la salida de vapor como para la temperatura. Se realizaron pruebas con 320 ml, 250 ml, 150 ml y 100 ml. También se probaron los distintos cabezales/boquillas de la máquina (figura 12). Finalmente, se optó por el cabezal 12 ya que era de mayor facilidad de manipulación y de menor tamaño. Con este cabezal se logró un estado estacionario máximo de 2 minutos, con un volumen inicial de 150 ml. Dada las propiedades de transferencia de calor del vapor, se postuló que el efecto sobre los huevos sería instantáneo, por lo tanto un tiempo de dos minutos resultaría suficiente y permitiría además una toma de datos satisfactoria por medición (120 medidas de temperatura por prueba).



Figura 12: Máquina de vapor inicial, *Steam Genie* (JML), con los accesorios enumerados. Figura adaptada de [64]

En estas condiciones se hicieron los experimentos de la sección 3.3. Sin embargo, esta máquina dejó de funcionar, ya que se quemó la resistencia interna, cuando se estaban

terminando los ensayos de temperatura. Luego de un exhaustiva búsqueda y comparación de las máquinas disponibles en el mercado, se eligió una de marca *Lusqtoff*, modelo *LQLV 1050* (figura 13). En este nuevo dispositivo, se logró un estado estacionario de 4 minutos utilizando un volumen inicial de 200 ml. Se utilizó una boquilla del mismo diseño que la máquina JML (cabezal 9 de la figura 13). Las características específicas de la *LQLV 1050* son:

- Potencia: 900-1050W (mayor potencia que la máquina JML)
- Capacidad de tanque: 350 ml
- Capacidad máxima sugerida: 250 ml
- Presión de vapor: 0,25 MPa ~ 0,32MPa
- Capacidad de vapor inyector: 28 g/min
- Temperatura de funcionamiento: 132 °C
- Dimensiones: 250 x 128 x 190 mm



Figura 13: Ilustración de la máquina de vapor final, *LQLV 1050 Lusqtoff*, con los accesorios [65]

3.2. Sensores

Para registrar la temperatura se probaron dos modelos de sensores: una termocupla (MAX 6675) y un sensor de temperatura (DS18B20). Ambos son resistentes al agua y se conectan a un dispositivo Arduino, modelos Mega o UNO respectivamente, lo que permite obtener datos de manera directa en la computadora mediante la interfaz Arduino IDE [66]. Para evitar que el vapor dañe el circuito eléctrico, éste se colocó en una caja de polímero fundido cerrada, específicamente diseñada para este trabajo e impresa mediante una impresora 3D en el laboratorio del ITBA (LACEPI3D), como se esquematiza en la figura 14.

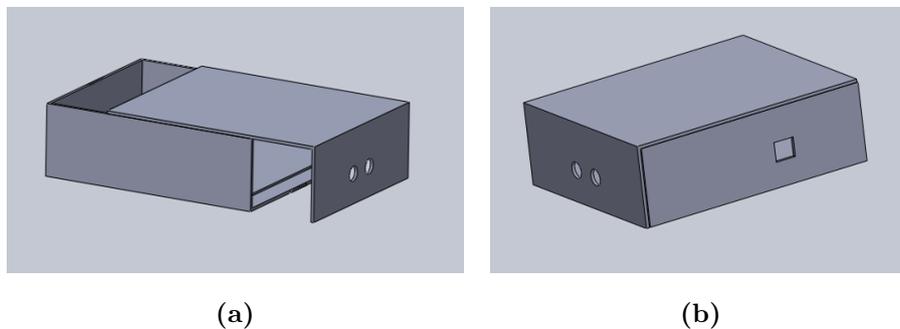


Figura 14: Vistas de la caja impresa para colocar los componentes eléctricos: los sensores, el Arduino y la conexión entre ambos. En (a) se observa el falso fondo utilizado para fijar los componentes eléctricos. En (b) los orificios circulares son utilizados para la conexión con los sensores y el orificio cuadrado para conectar el Arduino a la computadora.

El sensor MAX 6675 se conectó al Arduino Mega como se indica en la figura 15. En el ensayo se utilizaron dos sensores, por lo que se compartió la entrada de 5V y *ground* (GND en la figura 15) y se seleccionaron conjuntos de pines para SCK, CS y SO, distintos para cada uno de los sensores. Este sensor es una termocupla de tipo K con una resolución de $0,25^{\circ}\text{C}$ que permite realizar lecturas hasta $1023,75^{\circ}\text{C}$ y tiene una exactitud de 9 Least Significant Bit (LSB) para las temperaturas entre 0°C y 700°C . Esta exactitud representa el error teórico de los sensores. La salida de 12 bits permite transformar la exactitud de 9 LSB a grados Celsius mediante la siguiente ecuación:

$$Exactitud = \frac{9}{2^{12}} \quad (5)$$

$$Exactitud = 0,002197 \quad (6)$$

$$Exactitud_{total} = 0,002197 * 1023,75^{\circ}C \quad (7)$$

$$Exactitud_{total}(error\ te\acute{o}rico) = \pm 2,3^{\circ}C \quad (8)$$

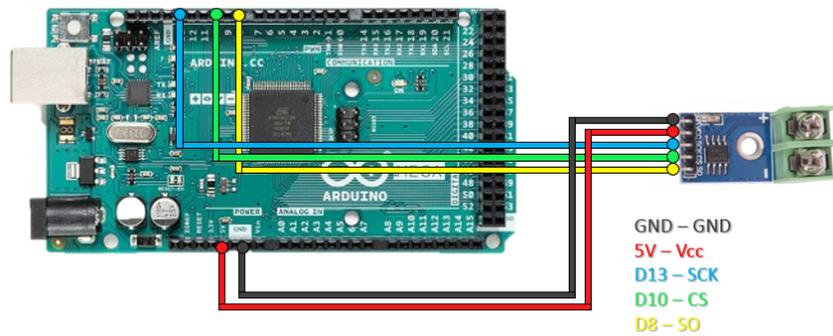


Figura 15: Esquema de conexión entre el MAX 6675 y el Arduino. Figura adaptada de [66].

El DS18B20 es un sensor de temperatura que permite mediciones entre $-55^{\circ}C$ y $125^{\circ}C$ y presenta un error (exactitud) de $\pm 1^{\circ}C$ entre los rangos de temperatura de $-30^{\circ}C$ y $100^{\circ}C$. Cuenta con una resolución programable de $0,5^{\circ}C$, $0,25^{\circ}C$, $0,125^{\circ}C$ o $0,0625^{\circ}C$. Al igual que con los sensores MAX 6675, se recolectaron los datos con un Arduino, conectado como se indica en la figura 16. Se utilizaron dos sensores, por lo que se compartió la entrada de 5V (Vcc en la figura 16) y *ground* (GND en la figura 16) y se seleccionaron dos pines para enviar la información recolectada, uno para cada sensor. Dada la composición del sensor DS18B20, el tiempo de reacción o curva de calentamiento para llegar a la temperatura del estado estacionario de la máquina de vapor es mayor a 4 minutos. La curva de medición de temperaturas no llega a una meseta, quedando siempre creciente. Si bien estos sensores presentan mayor exactitud en la medición, se priorizó el tiempo de reacción del sensor y que se adapte al estado estacionario de la máquina de vapor.

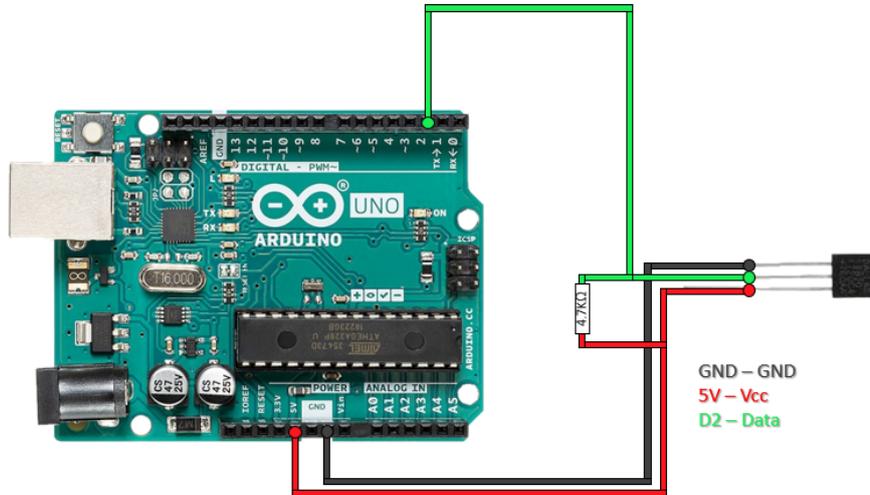


Figura 16: Esquema de la conexión entre el DS18B20 y el Arduino. Figura adaptada de [66].

En el caso del MAX 6675, el tiempo de calentamiento de los sensores se da en el rango de entre 25 y 35 segundos y luego logra una meseta de medición de temperatura relativamente constante. Esto permite realizar mediciones del estado estacionario y ofrece un conjunto de datos confiables con los que trabajar. El tiempo máximo del estado estacionario de ambas máquinas utilizadas fue determinado con los sensores MAX 6675.

Se utilizaron dos modelos distintos de sensores para verificar que la temperatura registrada fuese la real. Dado que el DS18B20 no llegaba a un medición constante de temperatura dentro de los cuatro minutos (máquina *Lusqtoff*), se verificaron las mediciones del MAX 6675 con una termómetro de laboratorio, al fijar su posicionamiento a 0,2 cm de la salida de la máquina de vapor (datos no mostrados).

3.3. Ensayos de temperatura

Antes de realizar los ensayos con los huevos de *Aedes aegypti* fue necesario determinar las temperaturas y el comportamiento del vapor emitido por la máquina de vapor. Como la temperatura no es un factor modificable en la máquina, se tomó la decisión de regularla alejando la salida de la máquina de vapor del blanco. Se registró la temperatura utilizando dos sensores MAX 6675, uno mide la temperatura directa de la salida de la máquina, y el otro, ubicado a 8 cm en el mismo plano, mide la temperatura residual como

se muestra en la figura 17. Si la salida de vapor se coloca sobre el sensor 1 (S1) se lo considera a éste el sensor principal (SP) y al sensor 2 (S2) como el sensor residual (SR). Si la salida se coloca sobre el S2, ahora éste es el SP y el S1, el SR. Se realizaron cuatro tipos de ensayos, el primero modificando la distancia de la salida de la máquina de vapor respecto a los sensores en el plano horizontal del piso (sección 3.3.1), el segundo variando la altura de la salida de la máquina de vapor (sección 3.3.2), el tercero variando el ángulo del SR en el plano horizontal del suelo (sección 3.3.3) y por último se registró el diámetro del haz de la máquina de vapor en cada altura (sección 3.3.4).

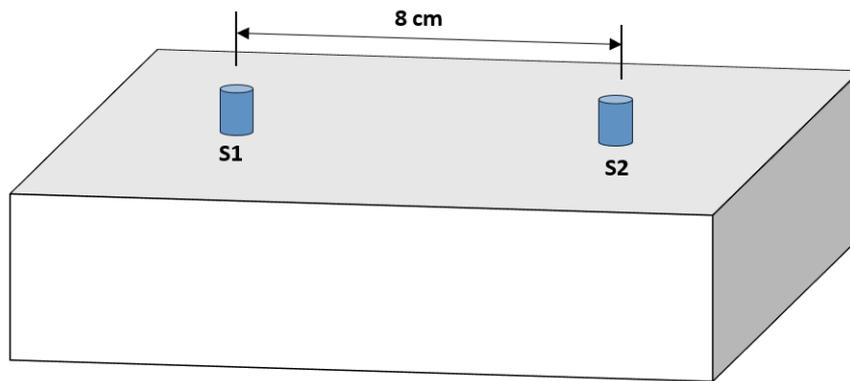


Figura 17: Esquema de la colocación de los sensores MAX 6675, siendo S1 y S2 idénticos.

La adquisición de los datos de temperatura con la máquina de vapor *modelo LQLV 1050, Lusqtoff* se realizó con una frecuencia de muestreo de un segundo durante 4 minutos. Para el procesamiento de los datos se excluyeron los primeros 30 segundos porque corresponden al tiempo que requieren los sensores para calentarse. Los 3 minutos y 30 segundos finales utilizados generaron 211 medidas.

3.3.1. Desplazamiento horizontal

Estas mediciones fueron las únicas que no se pudieron replicar con la máquina *Lusqtoff*, las mismas se llevaron a cabo con la limpiadora de vapor *Steam Genie*. Se realizaron las mediciones apuntando sobre el SP, a 0,5, 1,0, 2,0, 3,0 y 4,0 cm del mismo, realizando un desplazamiento horizontal en el plano de la caja, como se puede observar en la figura 18. El movimiento de la salida de la máquina de vapor fue desde el SP al SR, sobre la línea de separación de 8 cm. Estas mediciones se realizaron para las alturas de

0,2 cm y 5,0 cm, por sobre los sensores.

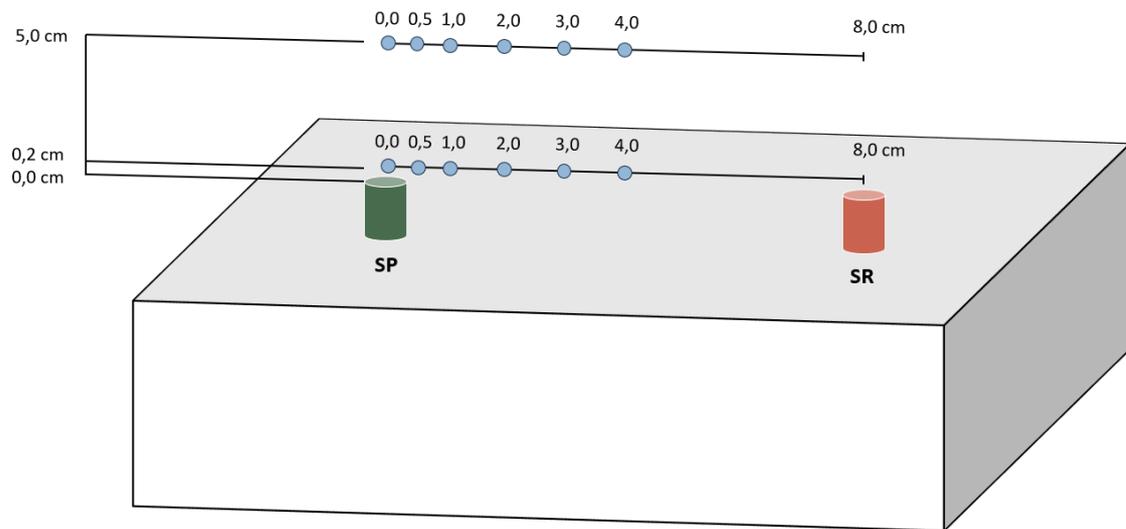


Figura 18: Esquema de las mediciones realizadas, desplazamiento horizontal de la máquina de vapor (círculos azules) a 0,5, 1,0, 2,0, 3,0 y 4,0 cm del SP hacia el SR, y desplazamiento vertical a 0,2 y 5,0 cm.

3.3.2. Desplazamiento vertical (altura)

Estas mediciones se basaron en registrar la temperatura sobre cada sensor, el principal y residual, variando la altura del cabezal de la máquina de vapor *LQLV 1050, Lusqtoff*. Para ello, los sensores se colocaron en el suelo y se fue variando la altura de la salida de vapor utilizando una estructura de madera específicamente diseñada para este fin (figura 19). En cada altura se fijaba el cabezal de la máquina de vapor para evitar el error humano al sostenerlo. Las mediciones de temperatura iniciaron con la salida de vapor justo encima del SP (altura 0,2 cm) y luego se ubicó en desplazamientos de a 1,0 cm en el rango de 1,0 a 9,0 cm.

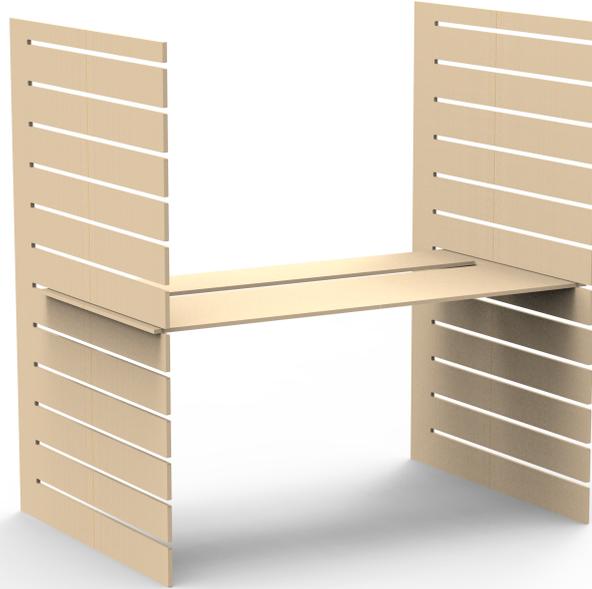


Figura 19: Esquema de la estructura de madera utilizada para fijar las distancias entre la salida de la máquina de vapor y los sensores.

En todas las alturas se realizaron dos mediciones, una con la boquilla de la salida de vapor apuntando directamente sobre un sensor y luego sobre el otro, para ello se rotó la plataforma en la cual se encontraban los sensores manteniendo así la posición de la salida de la máquina de vapor. En cada medición se registró una temperatura principal, correspondiente al sensor debajo de la boquilla de la máquina de vapor (SP), y la temperatura residual medida por el sensor ubicado a 8 cm del principal (SR). Al realizar la misma medición sobre ambos sensores el objetivo fue reducir y evaluar el error humano y del sensor así como incrementar el número de muestras.

Los datos adquiridos fueron procesados en R [67] para determinar los parámetros estadísticos descriptivos adecuados. Se utilizaron los métodos de Shapiro-Wilk y Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) [68] para evaluar la normalidad de las distribuciones. La hipótesis nula asume que la distribución es normal. En el caso de rechazar la hipótesis nula, ante un

valor de $p < 0,05$, implica que la distribución no es normal. Los datos fueron graficados mediante histogramas [69].

3.3.3. Desplazamiento radial

Estos ensayos se realizaron con la máquina *LQLV 1050, Luqstoff*. Se llevaron a cabo para comprobar que la dispersión del vapor a la salida de la boquilla responda a una geometría cónica; por lo tanto toda muestra que se ubique a un determinado radio del SP recibirá la misma temperatura en todo el perímetro que conforme ese radio. En el caso de este dispositivo el radio fue de 8 cm, que es la distancia fija entre el SP y el SR. Para esto se ubicó el SR en una posición inicial (0°) y luego se lo rotó a las posiciones de 90° , 180° y 270° (figura 20). Estas medidas se realizaron a distintas alturas (1,0, 2,0, 3,0, 6,0, y 9,0 cm). Para cada ángulo y altura se hicieron dos mediciones de cuatro minutos, una tomando un sensor como el principal y luego intercambiando la posición de los sensores, el principal pasa a ser residual y viceversa.

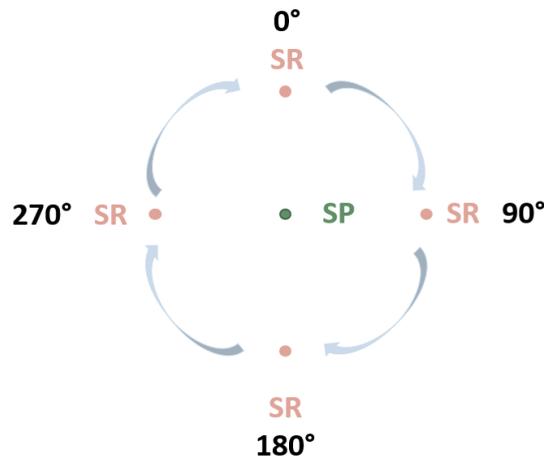


Figura 20: Ángulos utilizados en las mediciones radiales. El SP se posicionó en el centro y el SR se rotó sobre el mismo plano. La salida de la máquina de vapor siempre se centró sobre el SP.

Los datos adquiridos luego fueron procesados en R [67] para determinar los parámetros estadísticos descriptivos adecuados. Se utilizaron, al igual que para las mediciones realizadas en la sección 3.3.2, los métodos de Shapiro-Wilk y Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) [68]. Ya que las distribuciones resultaron no normales y con el objetivo de comprobar la similitud de las mismas en cada altura y por sensor, se aplicó un método no paramétrico

para más de dos muestras independientes. Las pruebas no paramétricas son utilizadas comúnmente para determinar si las medianas son diferentes entre los grupos de comparación. La prueba aplicada fue la de Kruskal-Wallis (*kruskal.test()*) [70] que asume, bajo la hipótesis nula, que los datos cuentan con la misma distribución, k (la cantidad de poblaciones, que en este caso corresponde a la cantidad de ángulos por altura) en el presente estudio es igual a 4:

$$H_0 = \text{Las medianas de las } k \text{ poblaciones son iguales} \quad (9)$$

$$H_1 = \text{Las medianas de las } k \text{ poblaciones no son iguales} \quad (10)$$

Para rechazar la hipótesis nula, el valor de p resultante debe ser menor a 0,05, esto implica que los datos presentan distribuciones distintas. Un valor de $p < 0,05$ indica la existencia de diferencias significativas entre poblaciones. En este último caso, para saber qué población o poblaciones tienen distribuciones diferentes, se aplican métodos *post hoc* no paramétricos para muestras independientes. Se analizaron las similitudes entre las distribuciones para todos los conjuntos de datos (0° - 90° , 0° - 180° , 0° - 270° , etc), para cada altura. Se aplicó la prueba de sumas de rangos de Wilcoxon por parejas (*pairwise.wilcox.test()*), también conocida como la prueba de la U de Mann-Whitney. Se graficaron los datos utilizando boxplots por altura, para cada sensor.

3.3.4. Diámetro del haz de vapor

El diámetro del haz de vapor variaba en función a la altura de tratamiento y para registrar este cambio se utilizó papel de filtro. Se colocó un papel de filtro nuevo sobre la rejilla de la estructura en la figura 22 para cada altura (0,2, 1,0, 2,0, 3,0, 4,0, 5,0, 6,0 y 7,0 cm) y se liberó vapor por un tiempo máximo de dos segundos. La marca de agua sobre el papel de filtro determinó el diámetro del haz de vapor, verificado con un calibre.

3.4. Muestras

Las muestras de huevos de *Aedes aegypti* fueron provistas por el Dr. Nicolás Schweigmann, director del Grupo de Estudio de Mosquitos (GEM) de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA, y asesor biológico del presente trabajo. El GEM es

el encargado de investigar y monitorear la presencia del vector *Aedes aegypti* en CABA, bajo el convenio de asistencia técnica suscripto con el Ministerio de Medio Ambiente del Gobierno de la Ciudad de Buenos Aires [71]. El GEM evalúa la presencia del vector en sensores de actividad de ovipostura ubicados en 218 puntos de la ciudad. De este modo es posible georreferenciar la presencia de *Aedes aegypti*. Al momento de controlar los sensores de actividad de ovipostura, los huevos son retirados de los mismos para evitar la generación de criaderos quedando como material de estudio. Parte de este material fue utilizado en esta investigación. La recolección de muestras se realiza luego de una semana de ubicado el sensor para evaluar la presencia del mosquito. Se utilizaron cinco lotes de huevos:

- 1 lote de las SE 5 y 6 del 2019
- 1 lote de las SE 5 y 6 del 2020
- 2 lotes de la SE 6 del 2020
- 1 lote de la SE 7 del 2020

Las hembras oviponen en los sensores (figura 21). Estos son recipientes de vidrio pintados de negro y con una etiqueta de papel blanco ya que las hembras *Aedes aegypti* buscan lugares oscuros y con contraste. Contienen agua, entre un cuarto y un tercio del volumen del frasco, ya que las hembras son atraídas por el olor a agua con microorganismos. Como las hembras suelen posarse en las paredes de los recipientes, se le ofrece una superficie más cómoda (ante el vidrio limpio y resbaladizo) que es un depresor lingual o bajalengua sostenido al borde del frasco con un clip. Los sensores se colocan entre la vegetación a la sombra. Se asume que solo una hembra ovipone por depresor lingual entre 10 a 50 huevos. Sin embargo, puede ocurrir que más de una hembra oviponga en el mismo depresor, lo que resulta en una gran cantidad de huevos. Los depresores linguales (retirados de los sensores) se conservaron en un recipiente con tapa y un paño húmedo en el fondo, como control de humedad, y a una temperatura de 25°C, para favorecer la viabilidad de los huevos.



Figura 21: Sensor de ovipostura utilizado por el GEM. Figura adaptada de [72].

Con las muestras se realizaron dos tipos de ensayos, los de dispersión, explicados en la sección 3.5.1, y los de análisis de viabilidad detallados en la sección 3.5.2. En los ensayos de dispersión, se utilizaron los depresores linguales de manera completa. Para los ensayos de viabilidad los depresores se recortaron en su zona de mayor acumulación de huevos con el objetivo de tratar aproximadamente 30 huevos por repetición, respetando el diámetro máximo de la salida de vapor a cada altura. Es importante destacar que en éste trabajo los huevos se analizaron sobre la superficie del depresor lingual, manteniendo las condiciones originales en las que fue depositado por la hembra, evitando cualquier tipo de manipulación sobre los huevos.

3.5. Ensayos con huevos de *Aedes aegypti*

Una vez que se obtuvo la relación distancia de la salida de vapor - temperatura en el sistema semi-abierto se procedió a trabajar con los huevos en sistemas cerrados o semi-cerrados sin necesidad de utilizar los sensores de temperatura, ya que en los estos sistemas la temperatura solo puede ser mayor o igual que en el sistema semi-abierto. A partir de este momento se comenzó a trabajar en un laboratorio seguro (carente de rejillas), en las instalaciones del ITBA, para anular el riesgo de crear un nuevo criadero de *Aedes aegypti*. Los ensayos se llevaron a cabo principalmente dentro de un recipiente cúbico de 30 cm x 30 cm x 11 cm (ancho x profundidad x altura) con una tapa que permitía un cierre hermético. A esta tapa se le realizó un orificio que dejaba pasar la boquilla de la máquina de vapor (*LQLV 1050, Lusqtoff*), y que se fijó en una posición única. También se le realizaron agujeros que permitían la salida de vapor, para evitar la acumulación de presión

dentro del recipiente. Los agujeros se cubrieron con papel de filtro, como una medida de bioseguridad, para contener la dispersión de los huevos de los mosquitos hacia la tapa, la porosidad del filtro es de un diámetro menor al de los huevos de *Aedes aegypti*. Estos agujeros minimizan los cambios de temperatura que podrían generarse por la acumulación de vapor, con el objetivo de mantener la relación distancia-temperatura registrada según el protocolo especificado en 3.3.

El recipiente se diseñó de manera que tenga un doble fondo, con una rejilla de plástico movable, para regular la distancia de la rejilla de la salida de la máquina de vapor. En comparación a los ensayos realizados en la sección 3.3, la posición de la máquina de vapor se mantuvo constante (colocada sobre la tapa del recipiente) ofreciendo la oportunidad de alejar las muestras para que queden a diferentes distancias de la boquilla. Se agregaron tacos de poliestireno expandido de 1 cm de altura para elevar la rejilla hasta quedar a aproximadamente 0,5 cm de la boquilla de la máquina de vapor. La distancia de 0,5 cm contempla el ancho del depresor lingual que contenía a las muestras de interés. Una vez colocadas las muestras, la distancia de separación era de aproximadamente 0,2 cm.

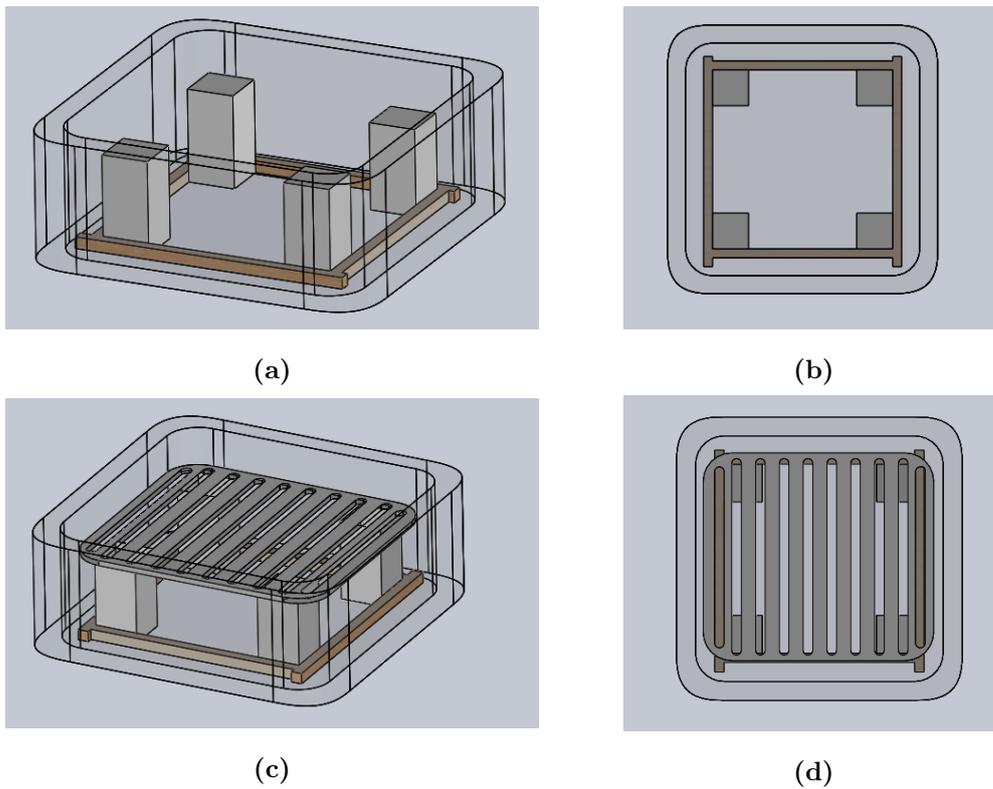


Figura 22: Esquema del recipiente utilizado (sin la tapa y sin las cartulinas) para realizar ensayos con huevos de *Aedes aegypti*. **(a)** Es la estructura utilizada (sin la rejilla), se puede apreciar la caja plástica transparente, los tacos de poliestireno expandido y una estructura inferior de madera utilizada para fijar al posición de los tacos de poliestireno expandido, **(b)** es una vista superior de **(a)**, **(c)** es la estructura con la rejilla colocada arriba de los tacos de poliestireno expandido y **(d)** es la vista superior de **(c)**.

Dado que los huevos son negros, se buscó obtener el mayor contraste con los mismos para poder identificarlos en el caso de que exista dispersión. Para ello, se utilizaron dos cajas creadas con cartulina blanca. Una que cubría toda la superficie interior del recipiente mencionada anteriormente, recubierta por *contact* transparente para que resista la exposición al vapor. Por sobre esta cartulina se colocaron los elementos (tacos de poliestireno expandido y rejilla) que se pueden observar en la figura 22c. La segunda cartulina se cambiaba entre experimentos y tenía una dimensión de 27 cm x 27 cm x 1 cm (ancho x profundidad x altura). Esta cartulina se colocó en la rejilla movable y por encima de la misma el depresor lingual con los huevos. Se posicionó al depresor lingual de modo que la mayor cantidad de huevos quedara justo debajo de la boquilla de la máquina de vapor. La

cartulina recubierta con *contact* transparente sirvió como un sistema de doble seguridad. En un principio, se esperaba que la cartulina sobre la rejilla movable contenga la dispersión, en el caso contrario algún huevo se podría encontrar en la cartulina con *contact*.

Luego de utilizarlas, las muestras fueron desechadas respetando el protocolo de bioseguridad indicado por el Dr. Shweigmann. Todos los huevos utilizados fueron inundados con un volumen de agua hirviendo igual al doble del volumen de agua donde se encontraban [1]. Por otro lado, cualquier otro descarte como papeles, cartulinas y papeles de filtro fueron expuestos a altas temperaturas hasta carbonizarse por completo.

3.5.1. Ensayos de dispersión/permanencia

Dado que no se sabía si los huevos, al ser expuestos al vapor, se quedarían en el depresor lingual o se dispersarían, fue necesario llevar a cabo ensayos de dispersión. Independientemente del cemento generado por las CCE mencionado en la sección 1.2.1, no existe conocimiento sobre cómo se comporta dicho al ser expuesto al vapor de agua ya que el trabajo de Cuthbert y col., 2020 nada menciona al respecto sobre este comportamiento[2]. La existencia o no de dispersión también determinó la naturaleza de los ensayos de viabilidad.

Las limpiadoras de vapor presentan un mayor caudal al inicio, al ser accionadas, que luego disminuye y se regulariza. Por este motivo, se decidió analizar la dispersión de los huevos a distintos tiempos desde el momento en que se liberaba el vapor y la aplicación sobre el depresor lingual. Estos experimentos se realizaron con los huevos del primer lote ya que entre que se colectaron y se trataron transcurrieron de 9 a 10 meses. La gran mayoría de los huevos, al ser observados bajo una lupa binocular estereoscópica, se encontraban plegados, por lo que se consideraron como no viables. Al utilizar estos huevos se aprovechó la disponibilidad del material biológico hasta la obtención de los huevos del año 2020. Fue una primera aproximación a lo que se podría esperar con los huevos viables ya que se comenzó el estudio previamente a la publicación de Cuthbert y col., 2020 [2].

Todos estos ensayos se realizaron a la menor distancia posible entre la muestra y la salida de la máquina, que es a 0,2 cm. De esta manera se contempló el peor caso de dispersión. El objetivo de estas pruebas fue determinar la cantidad de tiempo que tendría que transcurrir entre que comienza la salida de vapor de la máquina y se exponen los huevos al vapor, para obtener la menor dispersión. Se decidió considerar los siguientes tiempos de

espera: 2, 5, 10 y 15 segundos. Para contener la posible dispersión se cubrió la cartulina que se colocaba sobre la rejilla movable con adhesivo multipropósito (pintura marca *eterna*). La particularidad de esta pintura es que mantiene sus propiedades adhesivas al secarse, se realizó una disolución al 40 % en agua de la misma, para disminuir su viscosidad y el tiempo de secado.

Para llevar a cabo cada uno de los ensayos, se preparó el recipiente transparente colocando la cartulina principal (recubierta por *contact*), sobre la cual se posicionaron los tacos de poliestireno expandido y la rejilla movable. Por otro lado, se recubrieron los agujeros de la tapa del recipiente utilizando papel de filtro, exceptuando aquel destinado a colocar la boquilla de la máquina de vapor. Luego, se posicionó la cartulina descartable sobre la rejilla, a la cual se le había aplicado previamente una capa de pintura adhesiva con un pincel. Una vez secada la pintura, se realizó una marca del centro del orificio donde pasaría la boquilla de la máquina y se dispuso el depresor lingual seleccionado, con una concentración de 20 a 40 huevos, justo sobre la marca. Luego se colocó la tapa y posicionó la boquilla en el agujero correspondiente. Para los ensayos de tiempo cero la boquilla se encontraba colocada en su agujero al momento de iniciar la salida de vapor. En los otros ensayos, se esperó el tiempo estipulado con la boquilla afuera, iniciando la salida de vapor en esta condición, y luego se posicionó la boquilla en el recipiente, manteniendo el botón presionado. Se trataron los huevos con vapor durante 5 segundos. Posteriormente se registró la dispersión, se contabilizaron los huevos y se corroboró la coincidencia entre el conteo previo y posterior al tratamiento para garantizar que ningún huevo haya violado las medidas de seguridad y asegurar la permanencia de los huevos en el recipiente. Por último se procedió al descarte del material.

3.5.2. Ensayos de viabilidad

Se considera la viabilidad como la fracción de la población que eclosiona luego de ser inundada (ecuación 11). Es importante destacar que se contempló el número de nuevos huevos eclosionados (con el mismo número de larvas correspondientes) ya que ciertas muestras presentaban una gran acumulación de huevos que, antes de inundar o tratar, ya contenían huevos eclosionados. El término posiblemente viables hace referencia a los huevos que, bajo una lupa binocular estereoscópica, presentaban una apariencia turgente

y los achicharrados pero no colapsados (sección 1.2.1).

$$Viabilidad = \frac{n^{\circ} \text{ de nuevos huevos eclosionados}}{n^{\circ} \text{ de huevos posiblemente viables inundados}} \times 100 \quad (11)$$

Se calculó la viabilidad **total** de los ensayos de control, inundados sin tratar, como el total de los huevos eclosionados, a lo largo de los ensayos, dividido por el total de los huevos posiblemente viables inundados.

$$Viabilidad\ Total = \frac{n^{\circ} \text{ total de nuevos huevos eclosionados}}{n^{\circ} \text{ total de huevos posiblemente viables inundados}} \times 100 \quad (12)$$

El primer abordaje de los ensayos de viabilidad tuvo como objetivo principal determinar si los huevos efectivamente perdían viabilidad a causa del vapor, al aplicarlo por 1, 3, 5 y 10 segundos. El segundo enfoque estuvo centrado en determinar la mortalidad a distintas temperaturas y distintos tiempos de aplicación del vapor. Para ambos casos se realizaron ensayos de control con distintos criterios. En el primero, se realizó un ensayo de control (un depresor lingual inundado) por día de tratamiento y en el segundo, la relación fue de un ensayo de control (un depresor lingual inundado) cada 3 tratamientos (3 depresores linguales tratados con vapor).

Para el primer tipo de ensayo de viabilidad se utilizaron dos recipientes de plástico, con forma de cono truncado invertido, el Frasco 1 (**F1**) con un diámetro inferior de 4 cm, diámetro superior de 7,5 cm y altura 8,5 cm y el Frasco 2 (**F2**) con un diámetro inferior de 7 cm, diámetro superior de 10 cm y altura de 9,5 cm (figura 23). La elección de estos recipientes se debió a la alta dispersión de huevos cuando la boquilla se colocaba a 0,2 cm. Estos recipientes cuentan con tapa, por lo que se pudo trabajar en un ambiente cerrado que contenía la dispersión y garantizaba la bioseguridad. A las tapas se les generó un agujero para colocar la boquilla de la máquina de vapor. En este caso, se priorizó la bioseguridad sobre el control de la temperatura, al trabajar en un ambiente cerrado el vapor se acumula e incrementa la temperatura de tratamiento respecto a la temperatura en un sistema abierto. Estos ensayos se realizaron con la máquina *Steam Genie*.

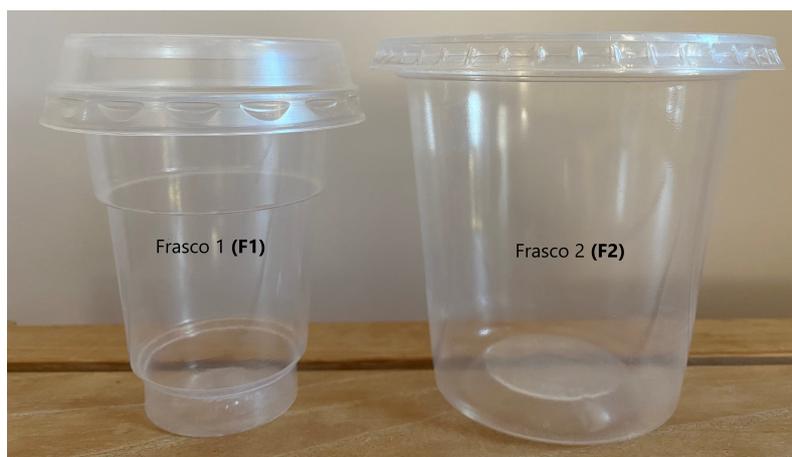


Figura 23: Frascos utilizados para los ensayos de dispersión, a la izquierda se encuentra el Frasco 1 (**F1**) y a la derecha el frasco 2 (**F2**).

Los depresores linguales se colocaron dentro de los distintos frascos pero, como la presión inicial de vapor podría generar el desplazamiento de estas piezas, se fijó el posicionamiento del depresor lingual colocando una sección de paño absorbente en la base del frasco (por debajo de la madera), el diámetro del paño dependía del recipiente utilizado. Este paño también cumplió con la función de absorber el agua acumulada en el fondo y en las paredes del envase garantizando que solamente el vapor impactara los huevos. Se consideró usar pegamento para fijar el depresor lingual, sin embargo, esta opción fue descartada ya que se llevó a cabo un ensayo comparativo de inundación de muestras, sin tratamiento, para evaluar los posibles efectos del pegamento sobre la viabilidad de los huevos. Se utilizaron cuatro muestras en total, dos de ellas se pegaron al fondo del recipiente con adhesivo instantáneo y luego se inundaron, y las dos restantes se inundaron sin pegamento. En el caso del uso del pegamento, se aplicó sobre el depresor lingual del lado contrario al que se hallaban los huevos y en el caso de la inundación sin el pegamento, la madera se rotó para que los huevos queden sumergido por el agua. La viabilidad resultante de la madera con adhesivo instantáneo fue menor en comparación a las maderas inundadas sin este pegamento (datos no mostrados). Es por ello que se decidió no utilizar pegamento alguno.

Para realizar cada ensayo, en primer lugar se seleccionó el depresor lingual a utilizar, también con una densidad de 20 a 40 huevos, y se recortó a un tamaño lo suficientemente chico para que cupiese en el recipiente. Luego, se contaron y registraron los huevos

y se clasificó cada uno de ellos con su estadio correspondiente. Posteriormente se preparó el recipiente recortando el paño absorbente del tamaño de la base del mismo, se colocó y se recortó la tapa en el centro para que pase la boquilla de la máquina. Luego se colocó el depresor lingual en el centro de la base, se tapó y se posicionó la salida de la máquina de vapor. Se procedió con el tratamiento aplicando el vapor por el tiempo correspondiente. Una vez finalizado el tiempo, se removió la boquilla y se verificó la ausencia de huevos dispersados en la misma. Por último, se inundó el recipiente con agua de grifo de forma tal que arrastre a todos los posibles huevos dispersados en las paredes y en la tapa al fondo del mismo. Si la madera poseía huevos al final del ensayo, se disponía dada vuelta para que los huevos queden sumergidos. Luego, se colocó una tapa sin perforar con la numeración del frasco, fecha y horario del tratamiento. Por último, se procedió al descarte del material biológico correspondiente. La presencia de larvas en los frascos fue controlada (control de viabilidad luego del tratamiento) todos los días y luego de 7 días los huevos inundados fueron contabilizados (en conjunto con posibles larvas vivas o muertas), realizando y registrando todas las observaciones necesarias.

En estos ensayos se diferenció la manera en la que se inundaban las muestras pues se consideraron dos maneras distintas de hacerlo: una inundación inmediatamente posterior a la exposición y una luego de 5 minutos. El objetivo fue determinar si los huevos morían instantáneamente al estar en contacto con el vapor de agua o si la temperatura, después de cesar la emisión de vapor, contribuía un efecto significativo adicional. No se contempló el tiempo entre que se activaba la salida de vapor y la aplicación del mismo sobre las muestras ya que la dispersión se lograban contener en el frasco y el objetivo era determinar la mortalidad como consecuencia del vapor.

El segundo tipo de ensayo se realizó en la caja plástica transparente, figura 22. Dado al tamaño del mismo, se disminuyó la probabilidad de que la viabilidad de los huevos estuviera afectada por el vapor acumulado. En este sistema, se logró contener la dispersión de los huevos y, debido al volumen del recipiente, se asume que las temperaturas sobre las muestras son similares o apenas mayores que las medidas en el sistema semi-abierto, las cuales se toman como referencia (sección 3.3). En este experimento se varió no solo el tiempo de exposición de los huevos, entre 1, 3, 5 y 10 segundos, sino también las distancias a la salida de la máquina, desde 0,2 y con intervalos de 1 cm en el rango de 1,0 a 7,0 cm, relacionando estas distancias con las temperaturas medidas en experimentos previos. La

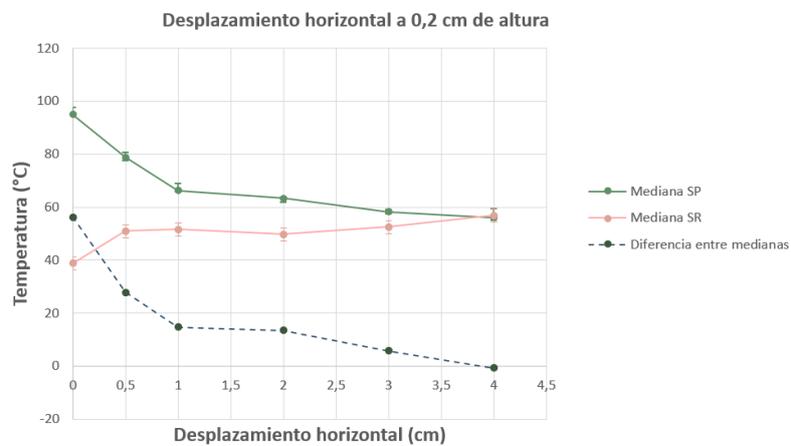
cartulina (colocada arriba de la rejilla) contenía los huevos dispersados sin condicionar la viabilidad de los mismos al no aplicarle pegamento. Adicionalmente, antes de cada tratamiento y como consecuencia de los resultados de los ensayos de dispersión, se tomó un tiempo de espera entre que se activaba la máquina de vapor y se trataban los huevos de 20 segundos (se agregaron 5 segundos para contemplar el error humano en el proceso) para disminuir lo máximo posible la dispersión. El diámetro de la madera (con huevos) tratada por altura fue determinado por el diámetro del haz de vapor medido en la sección 3.3.4. En todos los casos, luego del tratamiento, las maderas y/o huevos dispersados fueron colocadas en frascos e inundadas de forma inmediata, diferenciando (en diferentes frascos) entre los huevos que quedaban en la madera y aquellos que se dispersaban. La presencia de larvas en los frascos fue controlada (control de viabilidad luego del tratamiento) todos los días y luego de 2, 3, 4 o 7 días (dependiendo de la muestra) los huevos inundados fueron contabilizados (en conjunto con posibles larvas vivas o muertas), realizando y registrando todas las observaciones necesarias.

4. Resultados

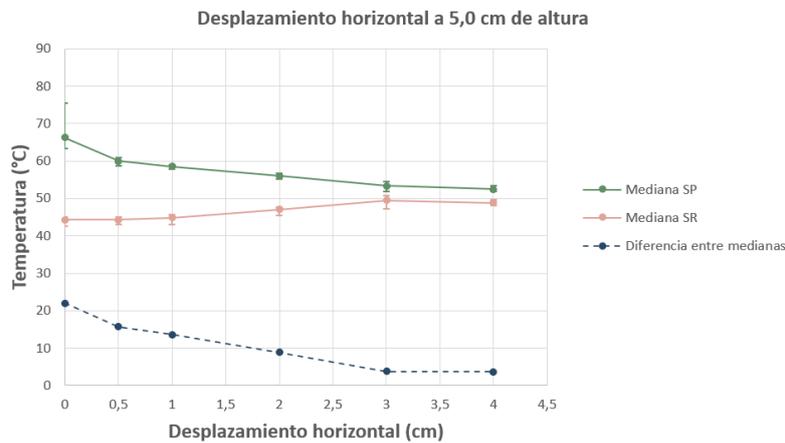
4.1. Ensayos de temperatura

4.1.1. Desplazamiento horizontal

Si bien estas mediciones se realizaron con la máquina de vapor *JML Steam Genie*, se incluyen porque la limpiadora de vapor presenta un comportamiento similar a la máquina *Lugstoffs LQLV 1050*, tanto por la presencia del estado estacionario como por el modo de calentamiento (resistivo) y el accionar mecánico.



(a)



(b)

Figura 24: Medianas, RIQ y diferencia entre las medianas del SP y SR. La boquilla de la salida de vapor se desplazó horizontalmente (0,5, 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 cm) y verticalmente a 0,2 cm (a) y a 5,0 cm (b). La diferencia entre medianas se calculó como: $SP - SR$. SP círculos verdes, SR círculos rosa, diferencia entre medianas círculos azules

La diferencia entre medianas (SP-SR) disminuye a medida que se incrementa el desplazamiento lateral tanto para las mediciones de 0,2 cm como las de 5,0 cm de desplazamiento vertical. La menor diferencia entre el SP y SR, tanto para la altura de 0,2 cm como para la altura de 5,0 cm, se presentó en el desplazamiento horizontal de 4,0 cm (0,8°C y 3,7°C respectivamente). Además, a medida que se desplazó el haz del SP hacia el SR, la mediana de temperatura registrada por el SP disminuyó tanto a 0,2 cm como a 5,0 cm. Respecto al SR, se observa un crecimiento general en la mediana registrada a medida que incrementa el desplazamiento horizontal en ambas alturas. Del análisis de los RIQ, se observa que los datos, en ambos sensores, presentan poca dispersión. Los valores de las medianas, RIQ y cuartiles (Q1 y Q3) se encuentran en el Anexo, tabla 12.

4.1.2. Desplazamiento vertical (altura)

Los resultados de temperatura en función del desplazamiento vertical (altura) de la boquilla de la máquina de vapor respecto del SP se obtuvieron utilizando la limpiadora a vapor *LQLV 1050, Lusqtoff*. Los datos se representaron mediante histogramas (figura 25). Se considera N como la medida registrada por el sensor cada 1 segundo. El N_{total} , para cada altura evaluada, es de 844 y el N por sensor (principal o residual), es de 422. Los 422 registros corresponden a dos ensayos de 211 registros (3,5 minutos) medidos sobre cada sensor. Donde en el primer ensayo se designa como SP a uno de los dos sensores y en el segundo ensayo se designa al SR del primer ensayo como SP.

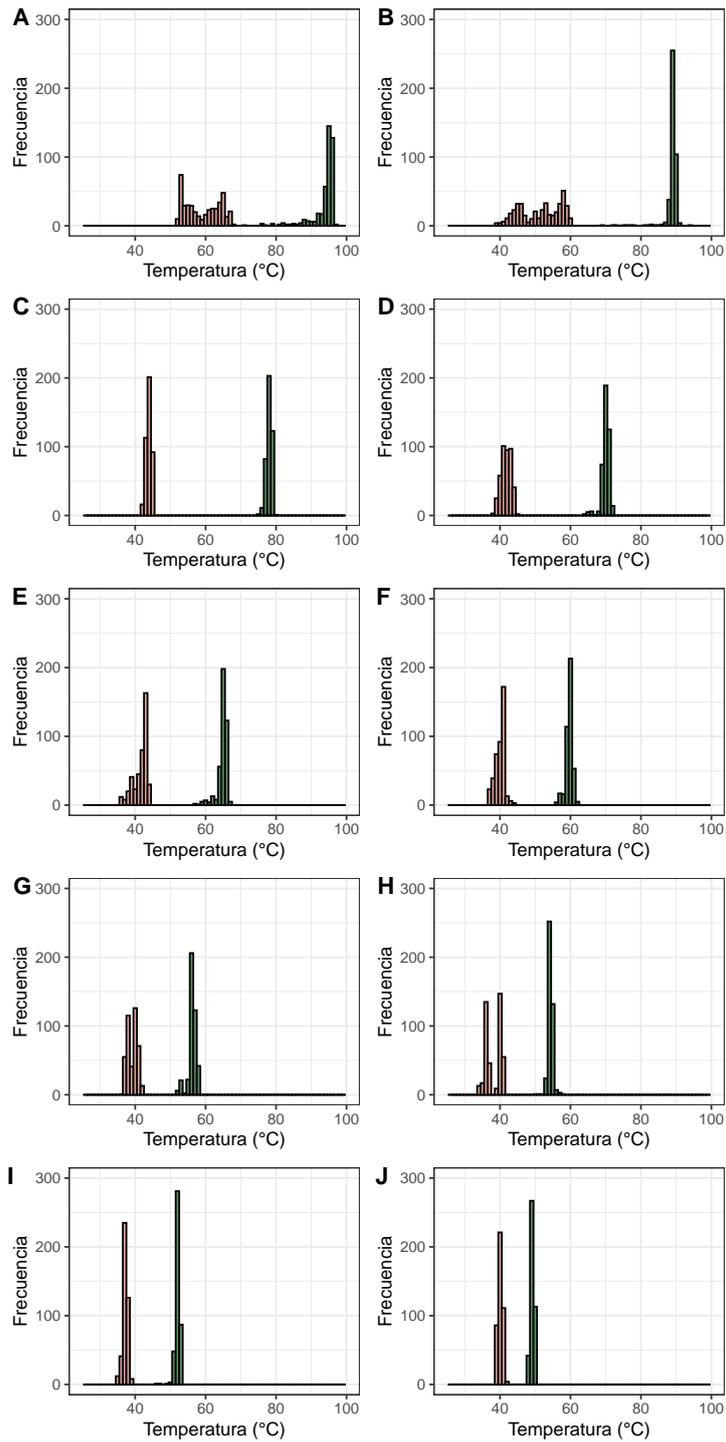


Figura 25: Histogramas de las temperaturas registradas por ambos sensores a distintas alturas. SP barras color verde y SR barras color rosa. Panel **A** 0,2 cm, **B** 1,0 cm, **C** 2,0 cm, **D** 3,0 cm, **E** 4,0 cm, **F** 5,0 cm, **G** 6,0 cm, **H** 7,0 cm, **I** 8,0 cm y **J** 9,0 cm.

Las temperaturas registradas por el SP presentan distribuciones del tipo campana

con RIQ estrechos, para todas las alturas. En este sensor la estabilidad de temperatura se alcanzó en aproximadamente 30 segundos y se mantuvo por los 3,5 minutos restantes, a modo de ejemplo se encuentran las figuras 26 y 27. Por esta razón en los histogramas solo se incluyen las medidas de temperatura tomadas luego de 30 segundos, considerando este tiempo como el necesario para que se calienten los sensores.



Figura 26: Adquisición de datos realizada a 0,2 cm de los sensores durante el tiempo estacionario de la máquina de vapor (4 minutos). Se pueden apreciar los datos registrados por los sensores S1 y S2 tanto en la posición principal como residual.



Figura 27: Adquisición de datos realizada a 3 cm de los sensores durante el tiempo estacionario de la máquina de vapor (4 minutos). Se pueden apreciar los datos registrados por los sensores S1 y S2 tanto en la posición principal como residual.

Para las temperaturas registradas sobre el SP se realizaron los ensayos de norma-

lidad de Shapiro-Wilk y Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) en R [68], en todos los casos el valor de p fue significativamente menor a 0,05. Esto implica que la distribución de los datos no es normal, sin embargo se debe tener en cuenta que estos ensayos son altamente estrictos/exigentes. Dado este resultado se decidió describir estadísticamente las medidas obtenidas utilizando la mediana y el RIQ (figura 28).

En los histogramas del SR se observan dos fenómenos diversos, que indicarían que no se logró la estabilidad en las mediciones de las temperaturas residuales.

- El primer caso se da en el SR, figura 25: **A** 0,2 cm, **B** 1,0 cm, **G** 6,0 cm y **H** 7,0 cm, donde se presentan histogramas anchos y con la aparición de dos picos. Cada uno de estos picos corresponden al sensor utilizado para realizar la medición, ya que ambos sensores se utilizaron como principal y residual para las distintas repeticiones. Este resultado coincide con lo que se observa en la figura 26, las curvas de los SR no se solapan ni estabilizan. Se espera que, si se llegase a estabilizar la temperatura, estos dos picos se unan (y las curvas se solapen) generando una distribución tipo campana similar a la observada en el SP, contemplando siempre la posible diferencia de 2,3°C de medición dado el error de los sensores. Nótese que para la altura de 6,0 (figura 25 **G**) cm hay una diferencia de solo 2°C entre los picos.
- El resto de los histogramas presentan una distribución tipo campana, pero con un RIQ mayor al que presenta el SP, para la misma altura. Los histogramas anchos se pueden atribuir a que no se logró la estabilidad de los sensores y, por lo tanto, la temperatura aún seguía aumentando cuando se terminó la medición. En el caso de la figura 25 **D** (datos representados en función del tiempo en la figura 27) la respuesta del SR sigue estabilizándose al concluir la medición pero las curvas de ambos sensores están relativamente solapadas (se comparte un mismo pico en el histograma).

Para las mediciones del SR, al igual que en las mediciones del SP, se aplicaron los ensayos estadísticos de Shapiro-Wilk y Lilliefors (Kolmogorov-Smirnov) en R [68]. En todas las condiciones se obtuvo un $p < 0,05$ por altura por lo cual se calculó la mediana y RIQ, figura 28. Debido a las diferencias en la distribución de los histogramas mencionadas anteriormente, al igual que en el ancho del RIQ, y que los valores no logran estabilizarse, no se puede confirmar que los valores calculadas sean realmente representativas de la temperatura residual final del sistema semi-abierto. La estabilización esperada en el registro

del SR está por fuera de las posibilidades de este ensayo dado que el volumen de agua que se coloca en la máquina no permite la generación de vapor más allá de los 4 minutos.

En la figura 28 se representan los datos de temperatura obtenidos en función de la altura registrados por el SP y el SR. La tabla completa con las medianas, RIQ y cuartiles se encuentra en el Anexo (tabla 13). Se observa un comportamiento decreciente a medida que incrementa la altura para el SP. Para el SR el comportamiento decreciente podría observarse entre 0,2 y 3,0 cm. A partir de 4,0 cm, dado que la diferencia entre las temperaturas medidas son menores al error teórico de los sensores (2,3 °C), los valores parecen oscilar alrededor de un valor estable. Adicionalmente, para el SP el valor del RIQ es bajo a lo largo de toda la curva, mostrando una baja dispersión de los datos medidos.

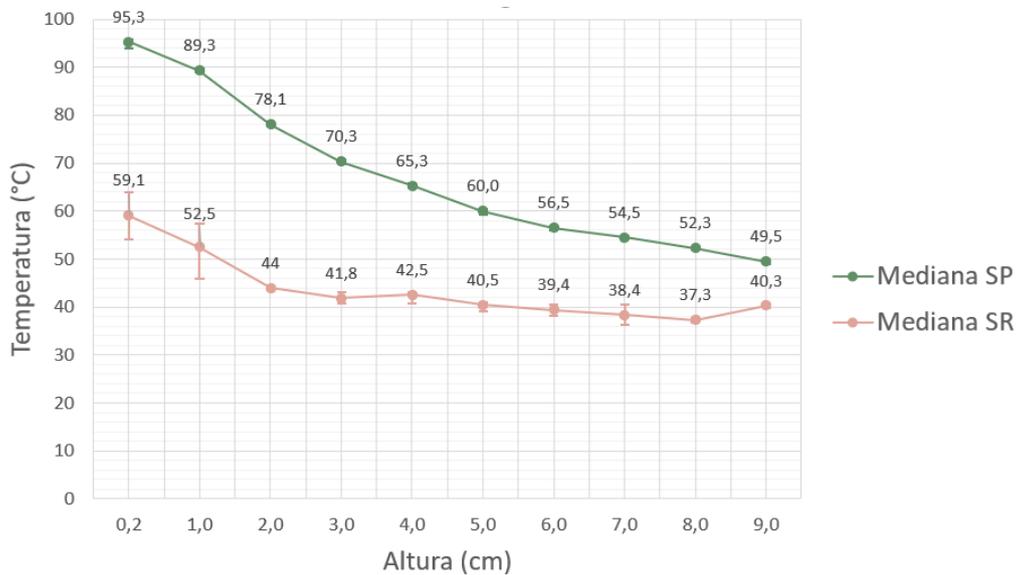


Figura 28: Temperaturas obtenidas a distintas alturas (mediana y RIQ). SP verde y SR rosa.

4.1.3. Desplazamiento radial

Las mediciones de las temperaturas radiales se expresaron en forma de boxplot analizando el SP (figura 29) y el SR (figura 30). Al igual que en las mediciones de altura, en ambas figuras se muestran los datos adquiridos durante 3,5 minutos, descartando los primeros 30 segundos.

Principales

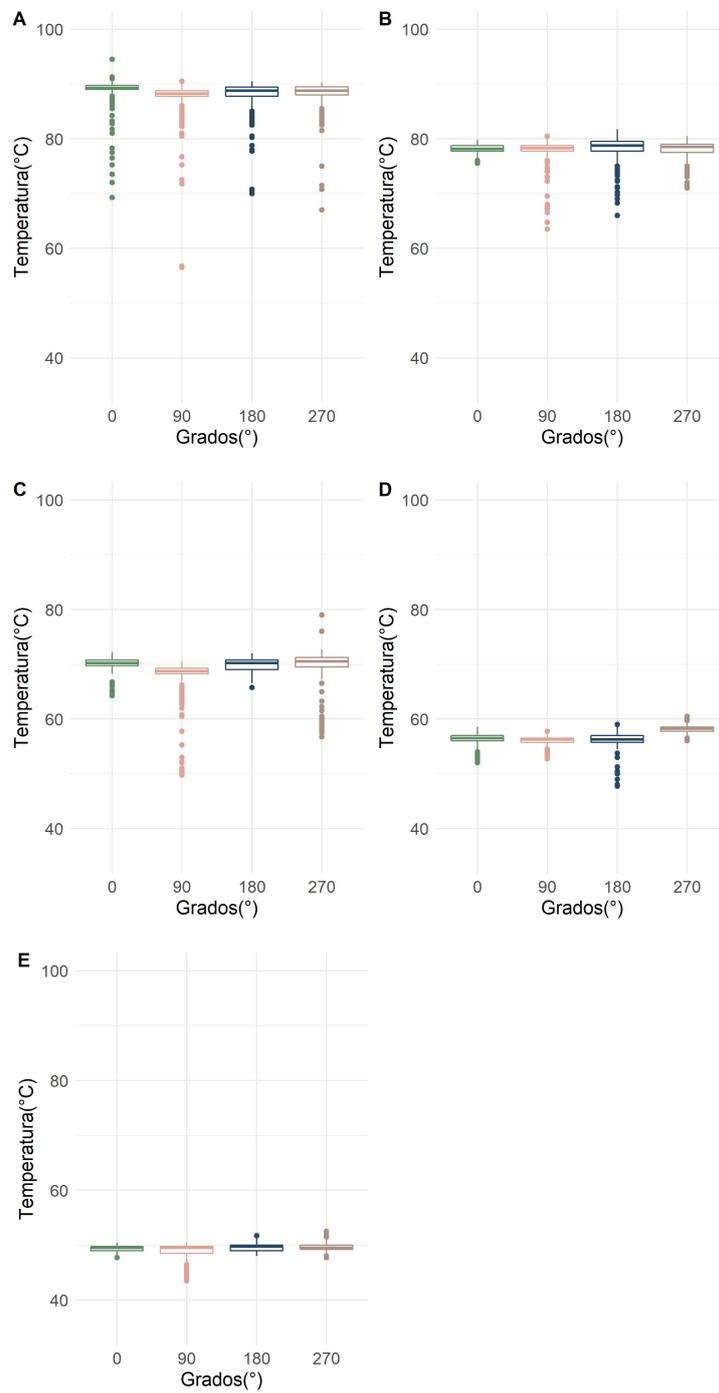


Figura 29: Temperaturas obtenidas sobre el SP considerando la rotación del SR en 0°, 90°, 180° y 270° a distintas alturas. (A) 1,0 cm, (B) 2,0 cm, (C) 3,0 cm, (D) 6,0 cm y (E) 9,0 cm.

Residuales

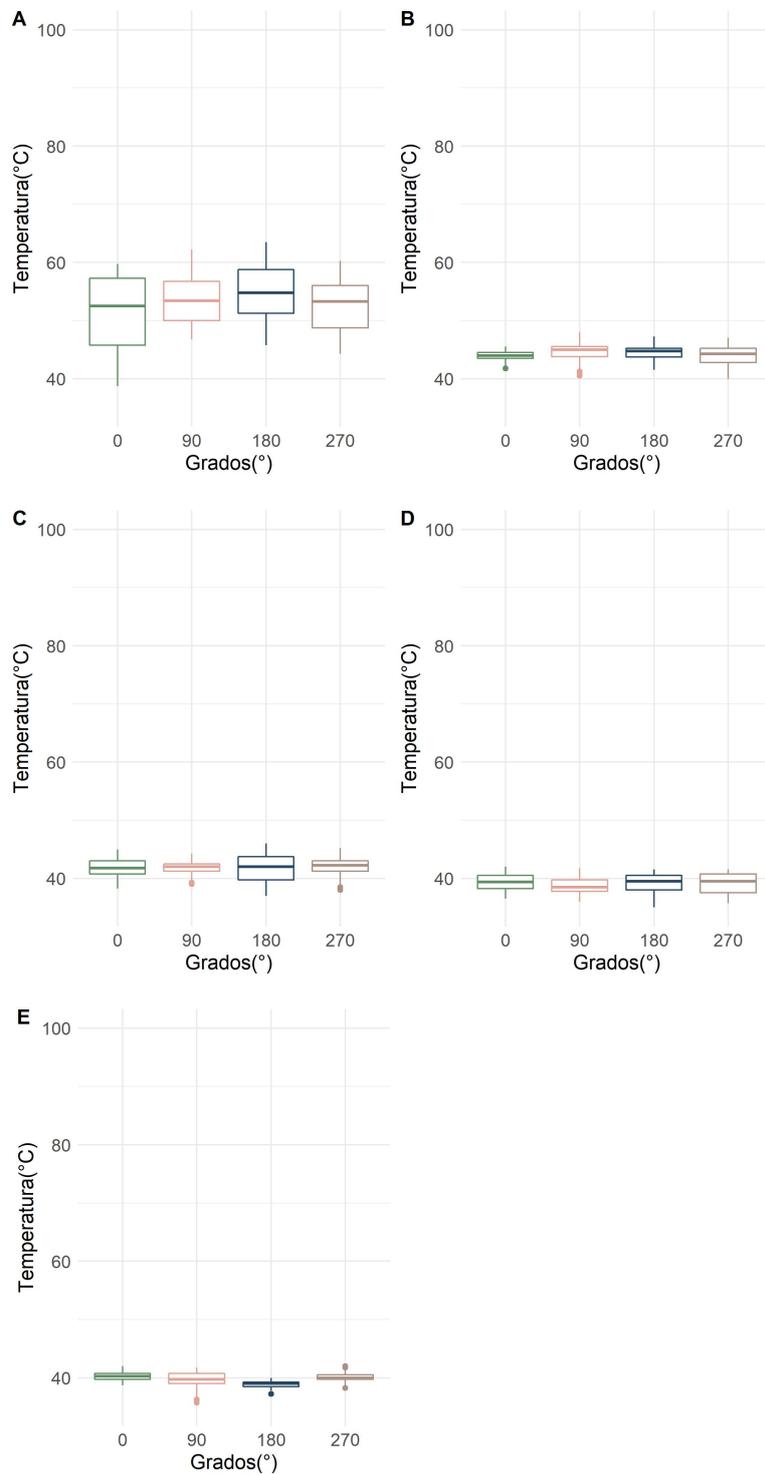


Figura 30: Temperaturas obtenidas sobre el SR rotado en 0° , 90° , 180° y 270° , a distintas alturas. (A) 1,0 cm, (B) 2,0 cm, (C) 3,0 cm, (D) 6,0 cm y (E) 9,0 cm.

En la figura 29 se aprecia que, para una misma altura, las medianas de las temperaturas registradas por el SP son similares en todos los ángulos-grados de rotación, lo cual es esperable porque es la misma medida con varias replicas. También se observa un RIQ muy pequeño para la mayoría de las medidas, pero con de valores considerados atípicos, que disminuye a medida que aumenta la altura. En la figura 30 se observa que, para una misma altura, las medianas de las temperaturas registradas por el SR son similares. El RIQ es mayor, si se compara con el SP, pero disminuye a medida que aumenta la altura. La dispersión de los valores atípicos es menor que aquella presenta el SP.

Se realizaron los ensayos de normalidad en R (Shapiro-Wilk y Lilliefors) y en todos los casos el valor de p fue significativamente menor a 0,05 por lo tanto la distribución de los datos radiales no es normal. Las temperaturas obtenidas se muestran en la tabla 5.

| Altura (cm) | Sensor principal Temperatura (°C) | | | | Grado de rotación (°) | Sensor residual Temperatura (°C) | | | |
|----------------|--------------------------------------|-----|---------------|----------------------|-----------------------------|-------------------------------------|------|---------------|----------------------|
| | Mediana | RIQ | [Q1 - Q3] | Máxima Diferencia | | Mediana | RIQ | [Q1 - Q3] | Máxima Diferencia |
| 1,0 | 89,3 | 0,8 | [89,0 - 89,8] | 1,0 | 0 | 52,5 | 11,5 | [45,8 - 57,3] | 2,3 |
| | 88,3 | 1,0 | [87,8 - 88,8] | | 90 | 53,4 | 6,8 | [50,0 - 56,8] | |
| | 88,8 | 1,6 | [87,8 - 89,4] | | 180 | 54,8 | 7,5 | [51,3 - 58,8] | |
| | 88,8 | 1,5 | [88,0 - 89,5] | | 270 | 53,3 | 7,2 | [48,8 - 56,0] | |
| 2,0 | 78,1 | 1,0 | [77,8 - 78,8] | 0,7 | 0 | 44,0 | 1,0 | [43,5 - 44,5] | 1,0 |
| | 78,3 | 1,0 | [77,8 - 78,8] | | 90 | 45,0 | 1,7 | [43,8 - 45,5] | |
| | 78,8 | 1,7 | [77,8 - 79,5] | | 180 | 44,8 | 1,5 | [43,8 - 45,3] | |
| | 78,5 | 1,5 | [77,5 - 79,0] | | 270 | 44,3 | 2,5 | [42,8 - 45,3] | |
| 3,0 | 70,3 | 1,0 | [69,8 - 70,8] | 1,7 | 0 | 41,8 | 2,3 | [40,7 - 43,0] | 0,5 |
| | 68,8 | 1,0 | [68,3 - 69,3] | | 90 | 42,0 | 1,2 | [41,3 - 42,5] | |
| | 70,3 | 1,8 | [69,0 - 70,8] | | 180 | 42,0 | 4,0 | [39,8 - 43,8] | |
| | 70,5 | 1,8 | [69,5 - 71,3] | | 270 | 42,3 | 1,7 | [41,3 - 43,0] | |
| 6,0 | 56,5 | 1,0 | [56,0 - 57,0] | 2,0 | 0 | 39,4 | 2,3 | [38,2 - 40,5] | 1,0 |
| | 56,3 | 0,8 | [55,8 - 56,6] | | 90 | 38,5 | 2,0 | [37,8 - 39,8] | |
| | 56,3 | 1,2 | [55,8 - 57,0] | | 180 | 39,3 | 3,7 | [36,8 - 40,5] | |
| | 58,3 | 0,7 | [57,8 - 58,5] | | 270 | 39,5 | 3,3 | [37,5 - 40,8] | |
| 9,0 | 49,5 | 0,8 | [49,0 - 49,8] | 0,3 | 0 | 40,3 | 1,0 | [39,8 - 40,8] | 1,3 |
| | 49,5 | 1,3 | [48,5 - 49,8] | | 90 | 39,8 | 1,8 | [39,0 - 40,8] | |
| | 49,8 | 1,0 | [49,0 - 50,0] | | 180 | 39,0 | 0,8 | [38,5 - 39,3] | |
| | 49,5 | 0,7 | [49,3 - 50,0] | | 270 | 40,0 | 0,8 | [39,8 - 40,6] | |

Tabla 5: Temperaturas obtenidas sobre el SP (sin rotación) y el SR (ángulos de rotación 0°, 90°, 180° y 270°). Se informan mediana, RIQ y cuartiles (Q1 y Q3). Máxima diferencia = temperatura (mediana) máxima - temperatura (mediana) mínima, obtenida por altura y por sensor.

En el SP, para todas las alturas, los valores de p al aplicar Kruskal-Wallis fueron menor a 0,05 sin embargo al aplicar el método *post hoc* se encuentran registros de temperatura que tienen distribuciones estadísticamente similares, por altura. Según estos métodos estadísticos la distribución de temperaturas es similar a un 1,0 cm a 180° y 270°; a 2,0 cm a 0° y 270° y a 90° a 270°; a 3,0 cm a 0° y 270°; a 6,0 cm a 0° y 180°; y por último a 9,0 cm a 0° y 90° y 180° y 270°. Si se consideran las medidas realizadas en cada altura sobre el SP, éstas son replicas ya que no varían las condiciones entre medidas. Era de esperar encontrar una mayor similitud entre las distribuciones adquiridas sobre el SP ya que la temperatura registrada se estabiliza luego de aproximadamente 30 segundos.

Respecto al SR, en el único caso donde Kruskal-Wallis resultó en un valor de $p > 0,05$ fue en las mediciones a 3,0 cm. Para las otras alturas, las temperaturas no presentan distribuciones estadísticamente similares para este método, con la excepción de la altura 6,0 cm donde los datos para los ángulos 0° y 270° y 90° y 180° son estadísticamente iguales.

Al observar las columnas de máxima diferencia (por altura y por sensor) de la tabla 5 se observa que todas están por debajo del error del sensor ($2,3^\circ\text{C}$). Esto muestra que los métodos estadísticos implementados exigen más que la exactitud del instrumento, por lo cual no aportan a lo que es el análisis de los datos adquiridos.

4.1.4. Diámetro del haz de vapor

El diámetro del haz de vapor varía en función a la altura de tratamiento, tal como se puede observar en la figura 31. A medida que incrementa la distancia de tratamiento, mayor es el diámetro del haz. Los diámetros para 6,0 y 7,0 cm no se registraron ya que nunca se trabajó con depresores linguales que tengan un largo mayor a 3,5 cm, que es el diámetro correspondiente a la boquilla ubicada a 5,0 cm de altura respecto del blanco (sensores o depresor lingual). Como existe una relación directa entre el diámetro y la altura se espera que para 6,0 y 7,0 cm el diámetro sea mayor que el que se observa para 5,0 cm. Estas mediciones determinaron las dimensiones máximas de los depresores linguales (con huevos) utilizados en los ensayos de viabilidad.



Figura 31: Diámetro del haz proveniente de la máquina de vapor (en cm) en función de la altura (cm).

4.2. Ensayos con huevos

4.2.1. Ensayos de dispersión/permanencia

Los ensayos de esta sección fueron realizados con la máquina de vapor modelo *Steam Genie*. Los huevos no dispersados son aquellos que permanecen en el depresor lingual luego del tratamiento. El porcentaje de huevos no dispersados se calcula como (número de huevos dentro del depresor lingual)/(número total del huevos en el depresor lingual antes de iniciar el experimento)*100. Al variar el tiempo de espera de 0 a 15 segundos, la permanencia de los huevos en la madera aumentó de 41 % a 90 %. Se realizaron un total de 25 ensayos: 2 para 0 segundos, 3 para 2 segundos, 12 para 5 segundos, 5 para 10 segundos y 3 para 15 segundos (tabla 6). Se encontró que existe una relación inversa entre el tiempo de espera antes de aplicar el vapor y la dispersión de los huevos no viables. Al ser el comportamiento entre las máquinas de vapor marca *Steam Genie* y *Lusqtoff* similares, se espera una relación semejante entre la dispersión de huevos no viables y el tiempo de espera al utilizar la máquina de vapor *Lusqtoff*.

| Tiempo (s) | Total de huevos | Huevos adentro de la madera | Porcentaje de permanencia |
|------------|-----------------|-----------------------------|---------------------------|
| 0 | 46 | 19 | 41 % |
| 2 | 62 | 42 | 68 % |
| 5 | 270 | 202 | 75 % |
| 10 | 107 | 92 | 86 % |
| 15 | 93 | 84 | 90 % |

Tabla 6: Porcentaje de permanencia (no dispersión) presente al esperar distintos tiempos antes de aplicar el vapor a 0,2 cm de los huevos no viables. Huevos de las SE 5 y 6 del 2019, 9 a 10 meses de antigüedad al momento del ensayo.

4.2.2. Ensayos de viabilidad

Estos ensayos se dividieron en dos, aquellos realizados en los frascos de tipo 1 (\varnothing inferior de 4 cm) y tipo 2 (\varnothing inferior de 7 cm), ver tablas 7 y 8, y los que se realizaron en el recipiente de mayor volumen (de 30 x 30 x 11 cm - caja de plástico transparente), ver tablas 9, 10 y 11.

Para los ensayos en los frascos, los huevos provenían de las SE 5 y 6 del 2020, con una antigüedad de 2 semanas al momento de ser ensayados (control y tratamiento). Respecto al control, utilizado para realizar un análisis comparativo de la viabilidad potencial de los huevos antes de ser tratados, se contabilizaron y clasificaron (viables, achicharrados, colapsados o eclosionados) los huevos de cinco depresores linguales y se inundaron sin tratar, los resultados se encuentran en la tabla 7. Estos ensayos cumplen la función de control, representan la viabilidad de la población general. No fue posible representar la viabilidad de cada muestra tratada debido a la baja cantidad de huevos en cada una. Como referencia de la viabilidad inicial de las muestras tratadas se tomó la viabilidad total de los ensayos de control según la ecuación 12 (sección 3.5.2). La tabla completa de los ensayos de control con los nuevos huevos eclosionados, larvas vivas y larvas muertas contabilizadas se encuentra en el Anexo, tabla 14. Se utilizaron en total 163 huevos posiblemente viables y de ellos 160 eclosionaron.

| Experimento | Huevos iniciales potencialmente viables | Viabilidad |
|------------------|---|------------|
| 1 | 29 | 100 % |
| 2 | 29 | 100 % |
| 3 | 28 | 96 % |
| 4 | 31 | 97 % |
| 5 | 46 | 98 % |
| Viabilidad Total | | 98 % |

Tabla 7: Viabilidad de las muestras de control, con una antigüedad de 2 semanas, para los ensayos realizados en los frascos **F1** y **F2**. La antigüedad se calculó restando la SE de recolección de la muestras de la SE en la que se realizaron los ensayos.

En cuanto a los tratamientos en los frascos, se comenzó con un tiempo de exposición al vapor de 10 segundos y se fue reduciendo a medida que se comprobaba la ausencia de viabilidad, por esta razón luego se pasó a 5 segundos y por último, a 1 segundo. En todos los escenarios la viabilidad, luego del tratamiento, fue nula excepto en una repetición donde se aplicó vapor por 1 segundo, en un frasco tipo 2, que resultó en una viabilidad del 80%. Dada la comparación con el resto de las 12 experiencias que resultaron en un viabilidad

nula en las mismas condiciones, y mayores detalles que se explicaran en la sección 5.2.1, a este valor se lo considera un valor atípico debido a un error durante el tratamiento. Por lo tanto, asumiendo que todas las muestras tratadas contaban una viabilidad inicial de 98 %, se observó que ésta se redujo a cero en todos los tratamientos. Estos ensayos fueron determinantes para empezar a considerar al vapor de agua como un método de control físico factible para el *Aedes aegypti*. La tabla 8 resume la cantidad de repeticiones realizadas para cada ensayos (tipo de frasco y tiempo) y la cantidad total de huevos tratados, excluyendo al valor atípico.

| Experimento | Tiempo (s) | Repeticiones | Huevos totales iniciales (posiblemente viables) |
|-------------|------------|--------------|---|
| F1 | 1 | 3 | 87 |
| | 3 | 4 | 149 |
| | 5 | 3 | 73 |
| | 10 | 2 | 65 |
| F2 | 1 | 12 | 385 |
| | 3 | 2 | 77 |
| | 10 | 2 | 67 |

Tabla 8: Ensayos de viabilidad realizados en F1 y F2, en todos los casos la viabilidad resultante fue nula. El tiempo representa el tiempo de tratamiento de los huevos de *Aedes aegypti* y la cuarta columna es la sumatoria de los huevos posiblemente viables (turgentes) y achicarados, de las repeticiones. Los huevos provenían de las SE 5 y 6 del 2020, con una antigüedad de 2 semanas al momento de ser ensayados.

Respecto a los resultados de los tratamientos realizados en el recipiente de mayor volumen (sección 3.5.2), tablas 10 y 11, es importante tener presente el rango de viabilidad de la población control de estos experimentos. Los ensayos de control se pueden apreciar en la tabla 9, donde el rango de viabilidad es de [36 %-100 %] (excluyendo el experimento 4, considerado un valor atípico). Este rango aparenta amplio sin embargo, los casos donde se presentó una viabilidad por debajo del 70 % fueron puntuales: experimentos 4, 7 y 14 con valores de viabilidad de 0 %, 36 % y 55 % respectivamente. En el resto de los casos,

la viabilidad se presentó en el rango de [74% - 100%]. Al calcular la viabilidad total (considerando los experimentos 7 y 14), utilizando la ecuación 12 de la sección 3.5.2, el resultado obtenido fue de 82%. Por lo tanto, si se considera este valor como representativo de la viabilidad de la población general, se puede decir que la viabilidad inicial de la población a ser tratada era de 82%. Este porcentaje sirve de referente para confirmar que, en los casos donde el porcentaje de viabilidad disminuyó respecto a esta referencia, luego del tratamiento (tablas 10 y 11), es efectivamente causa de la exposición al vapor u otros factores y no de una baja viabilidad inicial de la muestra. Los huevos utilizados para los ensayos de control y viabilidad en el recipiente de mayor volumen provenían de las SE 5, 6 y 7 del 2020 y al momento de tratarlos tenían entre 3 y 5 semanas de antigüedad.

| Experimento | Huevos iniciales potencialmente viables | Viabilidad |
|------------------|--|------------|
| 1 | 34 | 97 % |
| 2 | 10 | 80 % |
| 3 | 41 | 83 % |
| 4* | 20 | 0 % |
| 5 | 23 | 74 % |
| 6 | 23 | 74 % |
| 7 | 31 | 36 % |
| 8 | 27 | 78 % |
| 9 | 39 | 95 % |
| 10 | 27 | 96 % |
| 11 | 26 | 89 % |
| 12 | 60 | 83 % |
| 13 | 26 | 96 % |
| 14 | 20 | 55 % |
| 15 | 21 | 100 % |
| 16 | 30 | 93 % |
| 17 | 20 | 75 % |
| Viabilidad Total | | 82 % |

Tabla 9: Viabilidad de las muestras de control para los ensayos realizados en el recipiente de mayor volumen. Los experimentos 1 y 2 tenían una antigüedad de 3 semanas, los experimentos 3-7 tenían una antigüedad de 4 semanas y los ensayos restantes una antigüedad de 5 semanas. La antigüedad se calculó como: SE ensayado-SE recolectado. El asterisco (*) indica un valor considerado atípico.

En cuanto a los resultados de la tabla 10, se puede observar que la mayoría de los ensayos resultaron en una población que no sobrevivió la exposición de vapor. Los ensayos con estos resultados fueron a 0,2 cm por 1 y 2 segundos, a 1,0 cm por 1 y 2 segundos, a 2,0 cm por 3 y 5 segundos, a 3,0 cm por 1 y 3 segundos, a 4,0 cm por 5 y 10 segundos, a 5,0 cm por 3, 5 y 10 segundos, y a 6,0 y 7,0 cm por 10 segundos. De todas formas, a 5 cm (al

aplicar vapor por 5 segundos) se presentó un valor atípico cuyo resultado de viabilidad se encuentra entre paréntesis (eclosionaron 23 de 34 huevos posiblemente viables tratados). Este dato fue excluido tanto del número de repeticiones como del cálculo del número total de huevos. En solo una experiencia la viabilidad no fue nula, a 2,0 cm al aplicar vapor por 1 segundo. Este fenómeno no es el resultado de una única muestra (como en el caso anteriormente mencionado), sino de todas las repeticiones en conjunto donde la viabilidad fue variable entre experiencias. Si bien la viabilidad obtenida es no nula el valor es de tan solo un 4%. En todos casos la viabilidad se calculó sobre el total de huevos de las todas las repeticiones (por altura y por tiempo de aplicación). Ciertos ensayos tuvieron dispersión de los huevos por fuera de la madera y estos huevos se analizaron por separado, observándose los resultados en la tabla 11. El número de huevos entre paréntesis en la tabla 10 es el número total de huevos posiblemente viables que permanecieron en los depresores linguales. En total se realizaron 51 ensayos y se supervisaron 1602 huevos.

| Altura (cm) | N° de repeticiones (N° de huevos) | Viabilidad en función al tiempo de exposición | | | | |
|-------------|--------------------------------------|---|-----|-----|----------------|------|
| | | 1 s | 2 s | 3 s | 5 s | 10 s |
| 0,2 | 3 (90) | 0 % | | | | |
| | 3 (43) | | 0 % | | | |
| 1,0 | 3 (68) | 0 % | | | | |
| | 3 (98) | | 0 % | | | |
| 2,0 | 5 (112) | 4 % | | | | |
| | 5 (174) | | | 0 % | | |
| | 1 (28) | | | | 0 % | |
| 3,0 | 2 (64) | 0 % | | | | |
| | 3 (99) | | | 0 % | | |
| 4,0 | 4 (138) | | | | 0 % | |
| | 2 (62) | | | | | 0 % |
| 5,0 | 3 (91) | | | 0 % | | |
| | 4 (155) | | | | 0 % (68 %)* | |
| | 3 (108) | | | | | 0 % |
| 6,0 | 3 (89) | | | | | 0 % |
| 7,0 | 3 (149) | | | | | 0 % |

Tabla 10: Viabilidad en función del tiempo de exposición al vapor, por altura. Experiencias realizadas en el recipiente de mayor volumen. El asterisco (*) indica un valor considerado atípico hallado en un único depresor lingual de los 5 examinados. Los huevos tenían una antigüedad de entre 3 a 5 semanas al momento de ser tratados

Los resultados en la tabla 10 no contemplan los huevos dispersados de los depresores linguales, éstos se representaron como un subconjunto aparte en la tabla 11. En total 16 ensayos tuvieron dispersión y se supervisaron 84 huevos dispersados. Existe una relación inversa entre la altura y la dispersión, entre los 0,2 cm y los 3,0 cm, la dispersión se redujo drásticamente de un 49 % a 4-8 %. Sin embargo, es importante mencionar que existe dos datos que no cumple la relación general, aquel donde se aplica vapor a 3,0 cm por 1 y 3 segundos. La viabilidad es nula en todos los casos excepto a 2,0 cm al aplicar vapor por 1 segundo, dato que coincide con el valor no nulo (4 %) obtenido de la tabla 10.

| Altura (cm) | N de repeticiones (N de huevos) | Viabilidad en función al tiempo de exposición | | | Porcentaje de dispersión |
|-------------|------------------------------------|--|-----|-----|-----------------------------|
| | | 1s | 2s | 3s | |
| 0,2 | 3 (41) | | 0 % | | 49 % |
| 1,0 | 3 (11) | 0 % | | | 14 % |
| 2,0 | 3 (13) | 23 % | | | 10 % |
| | 2 (7) | | | 0 % | 4 % |
| 3,0 | 2 (3) | 0 % | | | 5 % |
| | 3 (9) | | | 0 % | 8 % |

Tabla 11: Viabilidad de los huevos dispersados, por altura y por tiempo de exposición al vapor, en los ensayos realizados en el recipiente de mayor volumen. El porcentaje de dispersión se calculó dividiendo el número de huevos dispersados por la suma de los huevos que permanecieron en el depresor lingual y aquellos que se dispersaron. Los huevos tenían una antigüedad de entre 3 a 5 semanas al momento de ser tratados

4.2.3. Viabilidad de las larvas

Al realizar el conteo de los huevos luego de los tratamientos, en los frascos y en el recipiente de mayor volumen, se observaron nuevos huevos eclosionados pero con las larvas correspondientes de los mismos muertas, como se muestra en la figura 32. Estos nuevos huevos si bien eclosionaron no se consideraron como tales ya que las larvas resultaron no viables.

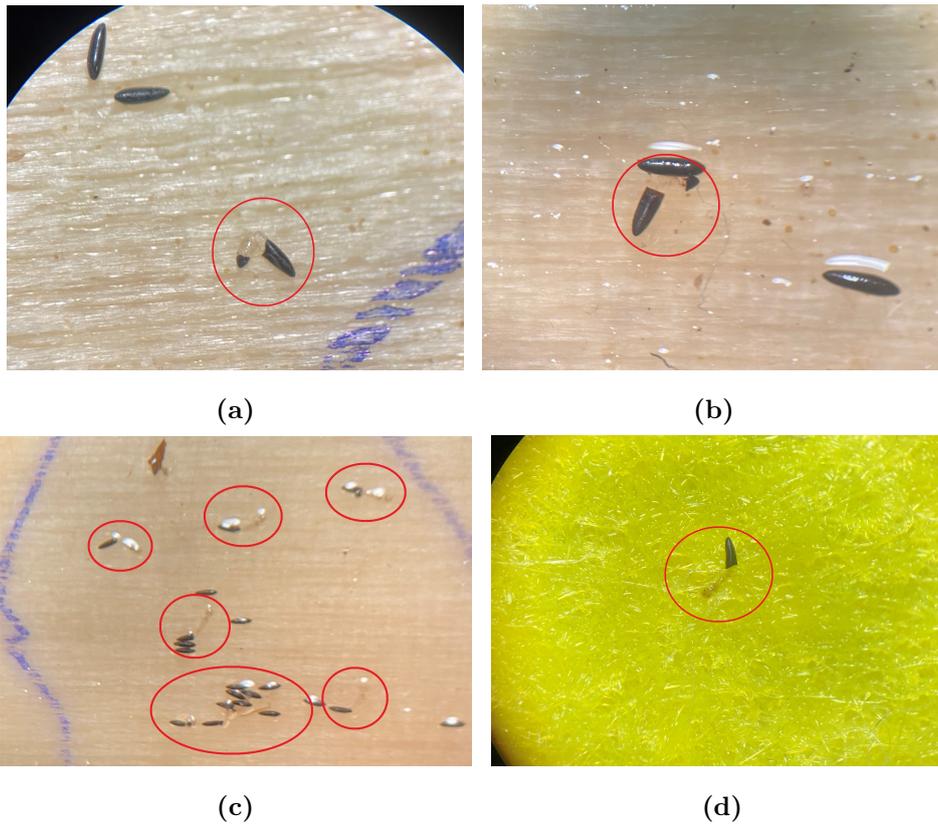


Figura 32: Imágenes representativas de huevos eclosionados con presencia de larvas muertas en F1, F2 y el recipiente mayor volumen, ante el estrés térmico generado por la aplicación de vapor. Imágenes tomadas de distintos experimentos. El círculo rojo muestra las larvas muertas junto a los huevos eclosionados. Magnificación del objetivo: (a), (b) y (d) 20x y (c) 10x

5. Discusión

5.1. Ensayos de temperatura

Los ensayos de temperatura permiten evaluar cuantitativamente el comportamiento general de la máquina de vapor utilizada. Las mediciones de **desplazamiento horizontal**, si bien se realizaron con la máquina *Steam Genie*, describen de modo general la relación entre la temperatura y la distancia de la salida de vapor respecto del SP. A medida que la boquilla de la máquina se aleja horizontalmente del SP, la temperatura disminuye mientras que la del SR muestra una tendencia a incrementar. Al posicionar la boquilla de la máquina de vapor a la misma distancia del SP y SR (a 4,0 cm de cada uno), a 0,2 cm de altura, las temperaturas registradas eran similares con una diferencia en las medianas de 0,8°C que es despreciable frente a los 2,3°C de error de los sensores de temperatura. Este resultado muestra que la distribución del vapor es relativamente equitativa hacia los laterales. En el caso de las mediciones realizadas a 5,0 cm y a una distancia horizontal de 4,0 cm, se puede observar una mayor diferencia entre las temperaturas registradas (principales y residuales) que puede deberse al incremento en error de manipulación al posicionar la salida de vapor cuando la misma se desplaza verticalmente.

Los resultados de **desplazamiento vertical** que se muestran en las figuras 25 y 28 (tabla 13 del Anexo) se obtuvieron con la máquina *Lusqtoff*. Dichas muestran que existe una relación inversa general entre las temperaturas registradas y la distancia de la salida de la máquina de vapor, fundamentalmente para el SP. En las medidas hechas sobre el SP el RIQ es estrecho, con lo cual los valores representan de manera fiel el estado estacionario de la máquina. Por otro lado, en el SR, se observan valores de RIQ más grandes en comparación con el SP. Esta diferencia puede deberse a que el SR no alcanza el estado estacionario durante los 4 minutos que dura el experimento tal como muestran los histogramas de la figura 25 y las figuras 26 y 27. Si bien las temperaturas del SR pueden ser tomadas como orientativas, se observa en la figura 28 que la temperatura del mismo disminuye hasta a los 3 cm y luego se mantiene relativamente constante alrededor de los 40°C (una temperatura cercana a la que llega a tolerar el huevo en la naturaleza [61]).

Al analizar la mediana de la temperatura obtenida tanto en el SP como en el SR, es posible notar que cuanto mayor es la altura a la cual se coloca la boquilla de la máquina

de vapor, las temperaturas registradas en ambos sensores tienden a igualarse. Esto puede deberse a que la dispersión del vapor se homogeneiza y se transforma en un “tratamiento” menos específico en términos espaciales. Además, se puede observar, en forma general, una función partida. La primera, parte entre los 0,2 y 3,0 cm donde la caída de temperatura en función a la altura es más pronunciada para el SP y SR, y la segunda, entre los 4,0 y 9,0 cm donde la temperatura disminuye de forma paulatina para el SP y permanece relativamente constante para el SR (figura 28).

Los experimentos de **desplazamiento radial** permitieron medir la temperatura del SR en cuatro ángulos de rotación respecto del SP, mientras que para el SP se realizaban 4 réplicas de la misma medición. Al rotar el SR, el SP permanecía siempre posicionado debajo de la salida de vapor. El SP reproduce los mismos valores y tendencia en la disminución de la temperatura con el incremento de la altura de la salida de vapor (tabla 5), que se registró en los experimentos de altura (figura 28). Cabe destacar que tanto los valores de RIQ como la representación de la máxima diferencia para el SP están siempre por debajo del error del sensor, para cada altura a la que se colocó la boquilla de la máquina de vapor. Este error presente en las mediciones no es biológicamente significativo tal como se explicará en la sección 5.2.

La distribución de las temperaturas según el ángulo de posicionamiento del SR se diferencia del SP por los valores de RIQ, ya que generalmente son mayores en el SR. Al igual que el SP, el SR reproduce los valores y la tendencia de disminuir la temperatura con la altura de la posición de la boquilla de forma más pronunciada hasta los 3,0 cm para luego permanecer alrededor de un valor constante (tabla 5) como sucede en los experimentos de altura (figura 28). Esta tendencia, como es de esperar, es independiente del ángulo de posicionamiento respecto del SP. Se calculó la máxima diferencia entre las medianas por altura, donde todos los valores son menores o iguales al error propio del sensor ($2,3^{\circ}\text{C}$). Por lo tanto, se puede confirmar que la distribución es radial y equitativa.

Las mediciones de desplazamiento horizontal y radial sirven como información y conocimiento para el posible uso previsto de este método. Sin embargo, no fueron utilizadas en el proceso de tratamiento de los huevos. Esto se debe a que se orientó la investigación a tratar a los huevos que se encontraban justo debajo del haz de la máquina de vapor. Se puede reconocer un comportamiento del vapor de forma cónica, con el vértice en la salida de la boquilla, variando así el área de posible tratamiento a medida que incrementa

la distancia vertical respecto al vértice. Analizando en conjunto con los resultados de los restantes ensayos, el haz de vapor tiene una mayor temperatura en el eje del cono, que normalmente impactó directamente sobre el SP, que en los laterales, medido aproximadamente por el SR.

Se presentaron dos limitaciones particulares durante las mediciones de temperatura. En primer lugar, fue necesario modificar el modelo diseñado ya que inicialmente se supuso que las mediciones se llevarían a cabo cada 5,0 cm, cuando en realidad se terminaron realizando de a 1,0 cm. Por este motivo, la solución hallada fue dejar la madera horizontal de la estructura de madera a una altura fija y agregarle tacos de 1,0 a 4,0 cm, luego se subía un escalón la madera para obtener las distancias deseadas. En segundo lugar, la estructura podría generar una acumulación de vapor ya que, aunque es abierta, los laterales presentaban una barrera. Entonces, los valores obtenidos (mediana y RIQ) son representativos de la temperatura en un sistema semi-abierto.

5.2. Ensayos con huevos

5.2.1. Ensayos de dispersión

Aunque los ensayos de dispersión se realizaron con huevos no viables y con la máquina *Steam Genie*, fueron preliminares y resultaron orientativos a lo que podría esperarse de huevos viables. De este experimento se justifica esperar por lo menos 15 segundos, entre el accionar de la máquina y la aplicación de vapor sobre los huevos, para disminuir el riesgo de generar nuevos criaderos debido a la dispersión durante la aplicación de vapor. Este tiempo de espera es sumamente importante ya que, como se muestra en este trabajo, contempla el estado de transición entre la apertura del sistema cerrado de la máquina de vapor a un sistema abierto. Esta transición está caracterizada por una disminución de la presión, el caudal y la velocidad hasta alcanzar un régimen estacionario. Este régimen se observó en los sensores de temperatura luego de 30 segundos, sin embargo a medida que los sensores se encontraban a una temperatura basal mayor, el estado estacionario se lograba en menos de 30 segundos, cercano a 20 segundos. Consecuentemente, la medición del estado estacionario no tan solo está condicionada por la transición misma del sistema sino también por el tiempo de respuesta de los sensores.

Se valida el tiempo de espera de 20 segundos tanto por los resultados de la dispersión (se adicionaron 5 segundos por la diferencia de potencia entre los distintos modelos de las máquinas de vapor) como por el tiempo de espera aproximado necesario para lograr un estado estacionario con la máquina de vapor.

5.2.2. Ensayos de viabilidad

En el caso de los ensayos en los frascos (**F1** y **F2**), el tratamiento con vapor se realizó a una única distancia de las muestras (0.2 cm). En la totalidad de estos ensayos la mortalidad de los huevos fue del 100% (tabla 7). Sin embargo, se observó una gran dispersión en todos los ensayos al aplicar el vapor a una distancia tan próxima a los huevos. La dispersión fue limitada por las paredes de los frascos utilizados de modo que, durante todo el tratamiento con vapor, los huevos quedaron confinados. Después de la exposición, se inundaron para medir la viabilidad resultante lo que no permitió discriminar entre los huevos que permanecieron en la madera y aquellos que se dispersaron.

Tanto en F1 como en F2 no fue posible medir la temperatura del vapor. Para

estos experimentos se toma como referencia el valor 95,3 °C que se obtuvo en los ensayos de desplazamiento vertical en el sistema semi-abierto (figura 28 y tabla 13). Por lo tanto en F1 y en F2 (sistemas cerrados) se considero que la temperatura fue mayor o igual a 95,3°C. Cuando el tiempo de exposición fue mayor a 1 segundo, era visible la acumulación del vapor. En estas situaciones se dificulta establecer si lo que genera la mortalidad es el *shock* inicial del vapor, el vapor acumulado o una combinación de estos factores. La acumulación de vapor conlleva un aumento en la presión y un aumento en la temperatura de tratamiento. Adicionalmente, la acumulación del mismo resulta en un tiempo de tratamiento mayor al de aplicación mediante el accionar de la máquina.

Respecto a los experimento donde se aplicó vapor por 1 segundo en F2, se postula que los huevos no dispersados son eliminados por el efecto inmediato o *shock* inicial de vapor emitido y no a la acumulación del mismo debido al diámetro del frasco y el tiempo de aplicación. Consecuentemente los huevos que permanecieron en las maderas fueron eliminados por el *shock* inicial de vapor a una temperatura de 93°C. Respecto a los dispersados, no se puede afirmar esto ya que no se puede confirmar que fueran eliminados previos a dispersarse. El vapor residual dentro del frasco se dispersa y al hacerlo pierde su potencia de transferencia de calor por el proceso de condensación. Si los huevos fueron dispersados antes de ser tratados, no es posible determinar la temperatura a la cual estuvieron expuestos.

Adicionalmente, el concepto de *shock* inicial se puso a prueba al inundar ciertas maderas, tratadas en el F2 por un segundo, justo después del tratamiento y luego de 5 minutos. Al inundar 5 minutos después se esperaba maximizar la transferencia de calor. Sin embargo, no hubo diferencia en cuanto a la viabilidad al comparar las dos experiencias. Esto sugiere que el *shock* inicial y la transferencia de calor realizada en ese momento generó la mortalidad de los huevos de *Aedes aegypti*. Más aún, estos resultados son consistentes con el postulado de que la mayoría del calor liberado proviene del cambio de fase. Es importante notar que los 5 minutos se tomaron para comprobar si es que podría existir una diferencia sin embargo la teoría de la termodinámica no contempla el factor tiempo y solo estudia la diferencia entre un estado final e inicial [63].

Se realizará un enfoque en el valor atípico que se presentó en F2 al aplicar vapor por un segundo, que fue el único caso donde la viabilidad en lugar de ser cero fue de 80%. Durante la experiencia, el depresor lingual se desplazó al aplicar el vapor y se pegó a la

pared del recipiente con los huevos mirando hacia el exterior. En el resto de los casos las maderas no se desplazaron. La causa del desplazamiento fue el tamaño del depresor lingual recortado ya que tenía un diámetro menor en comparación al resto de los depresores en los experimentos restantes y, por lo tanto, un peso menor. Dado a este movimiento, no se puede garantizar la plena exposición de los huevos en este experimento.

Como resultado final de los ensayos realizados en los frascos, se logró comprobar la efectividad del vapor para reducir la viabilidad de los huevos a cero, aun en tiempos breves de tratamiento. Por esta razón se decidió llevar a cabo el tratamiento de vapor a distintas temperaturas en un recipiente de tamaño significativamente mayor. Durante estos experimentos se fue perfeccionando el trabajo con los huevos y el protocolo para determinar la viabilidad potencial de los mismos previo al tratamiento, es decir la proporción de ensayos de control por muestras tratadas. Hay que tener en cuenta que a medida que incrementa la antigüedad de las muestras, menor es la viabilidad general de las mismas.

Para este nuevo ensayo (realizado en el recipiente de mayor porte, figura 22) se realizaron los controles de viabilidad de la tabla 9. La viabilidad total inicial de las muestras tratadas (sin incluir al experimento 4) fue de 82 %. Este valor se tomó como referencia al analizar los resultados de los tratamientos realizados a distintas temperaturas. De todas formas, el rango de viabilidad en los ensayos de control ([36 %-100 %]) y el experimento 4 revelan las posibles variaciones biológicas que podrían condicionar los resultados. En el experimento 4, donde la viabilidad fue nula (considerado un valor atípico), se plantean diversas razones que podrían explicar este resultado. En primer lugar, un huevo que aparenta viable en su exterior puede no estar fecundado. En segundo lugar, pueden existir impedimentos de la hembra que afecten la viabilidad o fecundidad de los huevos. Por último, existe la posibilidad de que huevos secos y colapsados, ante la presencia de agua, se hinchen y parezcan viables [9]. Como los depresores linguales se almacenaron en un recipiente donde se controlaba la humedad, el agua condensada podría haber generado este último efecto.

Respecto al tratamiento de los huevos viables con vapor (tabla 10) se observó, en los casos donde se aplicó vapor por 10 segundos, la acumulación del mismo dentro del recipiente posiblemente aumentando la temperatura promedio de tratamiento. En estos experimentos, no se puede asegurar que la mortalidad es consecuencia del *shock* inicial del vapor a la temperatura registrada a la altura correspondiente. Al igual que en los ensayos

de los frascos, el vapor acumulado puede ser un factor de confusión. En los casos donde se aplicó vapor en tiempos de hasta 5 segundos, se puede considerar que la temperatura es similar a la registrada en los experimentos de altura (sección 4.1.2), ya que el vapor se esparcía en el recipiente sin una gran acumulación visible. Dado que en la mayoría de los experimentos la viabilidad fue nula y solo en uno la viabilidad fue baja (4%), sin incluir el resultado de 5,0 cm por 5 segundos por ser un valor atípico, se considera que el efecto es el resultado del *shock* inicial de vapor a la temperatura registrada a la altura correspondiente.

El método de trabajo fue escalonado, tal como se puede apreciar en la tabla 10 basándose en un conjunto de suposiciones partiendo de una distancia x y un tiempo de exposición al vapor de t donde los huevos tratados presentaban una viabilidad nula. En primer lugar, si se aumentaba el tiempo de exposición t pero la distancia seguía siendo x , se suponía que la viabilidad resultante iba a ser nula dado a que existiría mayor tiempo de transferencia de calor. En segundo lugar, si se disminuía la distancia x pero no se alteraba el tiempo t , se suponía que la viabilidad resultante también sería nula dado que la temperatura de exposición sería mayor.

Los ensayos se comenzaron a los 4,0 cm aplicando vapor por 10 segundos, como dicho resultó en una viabilidad nula se acortó el tiempo por la mitad, logrando los mismos resultados. Se decidió comenzar con una altura que represente la mitad de las alturas posibles y por el tiempo máximo de aplicación de vapor, para que sirva de referencia. Por lo tanto, se supone que las alturas de 0,2 cm, 1,0 cm, 2,0 cm y 3,0 cm, al aplicar vapor entre 5 y 10 segundos, darían como resultado una mortalidad del 100%. Para comprobar esta suposición, se realizó un ensayo a 2,0 cm por 5 segundos que resultó en una viabilidad de cero. Este razonamiento se aplicó para optimizar el uso del reservorio de huevos. Sin embargo, se puede observar un valor atípico con respecto a la segunda suposición al aplicar vapor a 2 cm por un segundo. En función a lo que se mencionó anteriormente, dado que los 64 huevos ensayados a 3,0 cm por 1 segundo prestaron una viabilidad nula, se supone que los ensayos a 0,2 cm, 1,0 cm y 2,0 cm a 1 segundo también lo harían. De hecho, se cumple para las distancia de 0,2 cm y 1,0 cm pero en el caso de los 2,0 cm se observó una viabilidad del 4%, eclosionaron solo 5 de 112 huevos inundados luego del tratamiento. No se realizaron más experimentos para verificar cuál de los casos es un valor atípico, si la viabilidad a 3,0 cm o 2,0 cm al aplicar vapor por 1 segundo. De todos modos, dada la

baja viabilidad resultante a 2,0 cm por 1 segundo y la alta temperatura estimada para este tratamiento (78,1°C) este resultado puede atribuirse a errores que se mencionarán luego. Siguiendo el razonamiento escalonado se asume que un tratamiento a 4,0 cm por 3 segundos resultaría en una viabilidad nula ya que la aplicación de vapor a 5,0 cm por 3 segundos dio este resultado.

Por otro lado, luego se realizaron los ensayos a 5,0, 6,0 y 7,0 cm. Respecto a las últimas dos alturas, se evaluó la viabilidad a 10 segundos donde se presentó la limitación del vapor acumulado. Para la altura de 5,0 cm se obtuvo una viabilidad nula al aplicar vapor por 3, 5 y 10 segundos, con la excepción de un único depresor lingual tratado por 5 segundos que presentó una viabilidad del 68%. Éste fue considerado un valor atípico ya que, en primer lugar, aplicando vapor por 3 segundos la viabilidad fue nula. Es esperable que al aplicar vapor por 5 segundos la viabilidad también sea nula al existir mayor tiempo de transferencia de calor. En segundo lugar, la madera ensayada podría haber sido centrada incorrectamente respecto al haz de vapor y/o que los huevos se encuentren protegidos por irregularidades en el depresor. Por último, aún sin considerar a este experimento, el número de huevos tratados puede considerarse representativo de la esta combinación de temperatura y tiempo (5,0 cm por 5 segundos).

Si consideramos el mínimo tiempo de aplicación (1 segundo) se observa que la viabilidad fue nula en el rango de temperaturas de [70,3°C - 95,3°C] (considerando el resultado de viabilidad a 2 cm un valor atípico y las temperaturas medidas en el sistema semi-abierto). Se confirma la conjetura formulada durante los ensayos de los frascos, que el *shock* térmico inicial de vapor elimina a los huevos de *Aedes aegypti*. Al aumentar el tiempo de exposición al vapor (3 segundos), los huevos presentaron viabilidad nula aún a los 5 cm. En el sistema semi-abierto la temperatura medida a los 5 cm fue de 60°C. Si se aumenta el tiempo de aplicación a 10 segundos, la viabilidad fue nula aún a los 7 cm, lo que correspondería a una temperatura de al menos 54,5°C (figura 28). Estos resultados demuestran que el error del sensor (2,3°C) no es biológicamente significativo. A pesar de que la opción más efectiva en cuanto transferencia de calor es aplicar vapor a 0,2 cm por 1 segundo, entra un factor adicional a considerar, la dispersión.

En la tabla 11 se puede observar la dispersión de los huevos de los experimentos de la tabla 10. Se observa, en forma general, que si aumenta la altura la dispersión es menor. Se puede suponer que esta relación se debe a que la fuerza ejercida por el vapor supera

la adaptación de las CCE en el anclaje del huevo al sustrato, ya que naturalmente deben soportar fuerzas repentinas ejercidas por las ondas del agua y el movimiento embrionario [9]. A mayor cercanía a los huevos, mayor es la fuerza ejercida por el vapor y mayor es la dispersión. A medida que las distancias superan los 3,0 cm, la dispersión es nula y se puede suponer que las fuerzas ejercidas por el vapor son iguales o inferiores a las propias que debe enfrentar el anclaje del huevo en la naturaleza. Como se indica en la sección 4.2.2 la dispersión a 0,2 cm es del 49% mientras para el rango de 1,0 a 3,0 cm disminuye drásticamente a entre 4 y 8% para esta última altura. Es de suma importancia destacar que para alturas mayores o iguales a 4 cm no se presentó dispersión de los huevos.

Respecto de la viabilidad de la dispersión, esta resultó nula, excepto para el caso de 2,0 cm por 1 segundo (23%, tabla 11). Este resultado coincide con el valor no nulo obtenido en la tabla 10 (4%) de la mismas muestras. Si bien parece ser un valor atípico, se asume que deberían realizarse una mayor cantidad de repeticiones para confirmarlo como tal ya que, al ser el recipiente de ensayo de mayor volumen en comparación a los frascos, se observaron huevos dispersados hasta los bordes del recipiente (como máximo a 21,0 cm respecto al depresor lingual). Es fundamental que el vapor se disperse a la distancia necesaria y que además cuente con una temperatura lo suficientemente elevada para causar la mortalidad de los huevos. Al ser la temperatura del SR a 2,0 cm (de altura) 44°C ([43,5°C - 44,5°C]), se asume que la temperatura a 21,0 cm se encuentre por debajo de la temperatura máxima soportada por el huevo [61]. Aún así, en este caso, la mortalidad fue del 77%. De igual manera, la viabilidad nula en el resto de los ensayos puede deberse a que la dispersión de los huevos fue cercana a la madera y el vapor logró alcanzar esas distancias durante el tiempo de aplicación con una temperatura superior a la máxima soportada por los huevos. El otro fenómeno posible es que los huevos se dispersen luego de ser eliminados al vapor, por lo tanto son tratados, pierden su viabilidad y luego se dispersan.

Al analizar los resultados de Curberth y col., 2020, se puede observar que para *Aedes albopictus* el mínimo tiempo de exposición de los huevos al vapor para lograr una mortalidad del 100% es de 10 segundos [2]. Sin embargo en este reporte se trabaja con lotes de 10 huevos que fueron transferidos individualmente a una grilla para su tratamiento, lo que podría sugerir que los huevos fueron manipulados para ser trasladados de su sustrato original a la grilla. Por otro lado, los autores no indican si es que registraron la temperatura

emitida, a que distancia colocaron la salida de vapor ni si existió dispersión de los huevos. En nuestro trabajo los huevos fueron tratados en la misma superficie donde los depositó la hembra. Al ser otro mosquito y carecer de datos de cómo se desarrollaron los experimentos no fue posible hacer comparación alguna con nuestros resultados. No obstante, el trabajo de Curberth y col., 2020 [2] se lo puede considerar un antecedente para contemplar la efectividad del uso de vapor para la eliminación de huevos de mosquitos.

Los resultados de la viabilidad de los huevos dispersados son de suma importancia para proponer un punto de referencia de distancias y tiempos óptimos de tratamiento en experimentos en ambientes reales, no controlados como sucede en un laboratorio. El objetivo es eliminar al vector sin generar la dispersión de huevos viables, que podría crear nuevos criaderos. Por esta razón y como consecuencia del análisis anterior, lo ideal sería tratar los huevos a 4,0 cm, temperatura mínima estimada de 65,3°C, por un tiempo de al menos entre 3 y 5 segundos. Es menestrar aclarar que, como este método se pretende aplicar en rejillas, la acumulación de vapor en las mismas podría ser un efecto físico que potencie el tratamiento ya que la acumulación incrementa la temperatura de tratamiento promedio de las superficies donde se encuentran los huevos. De igual manera, la aplicación de vapor debe ser en la totalidad de la rejilla, para evitar cualquier riesgo de dispersión de huevos viables.

En cuanto a los hallazgos al realizar el conteo de huevos posterior a los tratamientos, los nuevos huevos eclosionados, con sus larvas correspondientes muertas, no se consideraron como tal ya que las larvas eran no viables (figura 32). Este comportamiento también se presenta al exponer los huevos de *Aedes aegypti* a agua hirviendo (comunicación personal Nicolás Schweigmann). Esto podría ser un último intento de las larvas de eclosionar previo a morir, un instinto para sobrevivir ante el estrés térmico. Adicionalmente, esta conducta se observa al aplicar químicos fuertes tales como hipoclorito de sodio, en estos casos se asume que el producto químico ha llevado a la eclosión de la larva viva pero la ha matado al emerger [9].

Respecto del cumplimiento de las medidas de bioseguridad en este trabajo, se impuso que el número de huevos antes y después del tratamiento debía ser el mismo. En el caso de nuevos huevos eclosionados, el número de los mismo debía coincidir con el número de larvas, al realizar este procedimiento se presentaron tres casos diferentes:

- El número de nuevos huevos eclosionados era igual al número de larvas vivas.
- El número de nuevos huevos eclosionados era igual a la sumatoria entre las larvas vivas y muertas. La presencia de larvas muertas podría deberse a problemas del embrión o bien porque los mismos mueren al eclosionar (selección natural).
- El número de nuevos huevos eclosionados es igual al número de larvas vivas pero había también larvas muertas. En esta situación se considera que las larvas muertas provienen de huevos eclosionado en el depresor lingual previo al tratamiento. Esto es posible ya que las maderas se almacenaron en recipientes que conservaban la humedad y pudo haber saturado y condensado en forma de agua encima de huevos viables. Estos huevos posiblemente eclosionaron, sin embargo las larvas murieron al no estar en un medio acuoso. Al realizar el conteo previo al tratamiento, estos huevos aparenta eclosionados al estar secos en la madera y las larvas correspondientes muertas son difícil de distinguir aún bajo una lupa dada la transparencia de las mismas y el tamaño. De todas formas, en estos casos, se verificó que el número de larvas muertas sea menor o igual a los huevos eclosionados previo al tratamiento.

En el momento de considerar la viabilidad se contempló que eclosionen los huevos y no que las larvas sean viables. De todas formas, de los huevos eclosionados el 97% (364/376 larvas) de las larvas fueron viables.

Respecto al relevamiento de los resultados, los ensayos de control se contabilizaron aproximadamente dos días luego de haberlos inundados ya que eran visibles las larvas en los recipientes transparentes. Esto último era de esperar, bajo condiciones normales y cualquier medio, la gran mayoría de los huevos viables eclosionan dentro de los minutos u horas luego de una inundación. Aproximadamente el 80% de los huevos eclosionan el primer día y el 95% para el segundo día [9]. En el caso de los huevos tratados y luego inundados, se realizó un seguimiento diario y se contabilizaron los resultados al segundo, tercer, cuarto o séptimo día. De todas formas, en el caso donde existió viabilidad, se pudo detectar en los primeros dos días tal como se describe anteriormente. Por lo tanto se puede considerar que no hubiese aumentado significativamente la viabilidad en los días restantes, hasta alcanzar el día 7 predeterminado.

Es importante destacar que durante los ensayos con huevos, en los frascos o en el recipiente de mayor tamaño, podrían existir algunas fuentes de error. La primera de

ellas fue la clasificación de los huevos (experimento 4 de la tabla 9) y el conteo de las larvas. Huevos que bajo lupa aparentan viables puede que no lo sean por los motivos mencionados previamente. En segundo lugar, quizás ciertos huevos quedaron protegidos por las irregularidades en los depresores linguales y no recibieron el tratamiento de forma directa. En tercer lugar, respecto a los depresores linguales, podrían haberse centrado de manera errónea dado al diseño del experimento, por lo que el tratamiento no sería el esperado. No obstante, de haber existido un error en el centrado de la madera, los resultados habrían sido aún mejores y esto podría explicar los resultados de las experiencias a 2,0 y 5,0 cm. Por último, el tiempo de aplicación de vapor se reguló utilizando un cronómetro o temporizador, lo que podría acarrear un error humano en la medición de los tiempos más cortos (1 o 2 segundos). Sin embargo, todos estos errores se intentaron disminuir y se tomaron todos los recaudos posibles para estandarizar el tratamiento de los huevos.

De todas formas, los resultados y datos considerados han demostrado ser suficientes para comprobar la efectividad del vapor de agua como método de control físico.

6. Conclusión

El mosquito *Aedes aegypti* es vector de diversas enfermedades como el dengue, zika, chikunguña, fiebre amarilla, entre otras. Todas tienen un impacto tanto en la salud pública como en la economía de los países que las padecen. Incluso, con las condiciones medioambientales adecuadas, podrían llegar a generar epidemias con el consecuente desastre humanitario, sanitario y económico que estas acarrearán. En el periodo 2019/2020 la Argentina tuvo la peor epidemia de dengue de su historia con más de 56.000 casos confirmados [4]. Esta situación amerita soluciones urgentes para el control del vector transmisor de estas enfermedades. Sin embargo, aún no se cuenta con un método de control que sea amigable con el medioambiente, libre de químicos y de fácil aplicación. Bajo esta premisa, el presente trabajo experimentó la viabilidad de los huevos del mosquito *Aedes aegypti* frente a la aplicación de vapor con el objetivo de validar este método de control físico.

En este trabajo se probó que la altura a la cual se coloca la salida de vapor condiciona la temperatura que recibe la muestra, a mayor distancia menor temperatura. Por otro lado se demostró que, para que la aplicación sea efectiva, el centro del cono de vapor tiene que coincidir con el blanco a eliminar para que la temperatura recibida sea la máxima. Adicionalmente se comprobó que, en las condiciones adecuadas y partiendo de una población con viabilidad inicial alta, el vapor efectivamente genera un 100 % de mortalidad en los huevos de *Aedes aegypti*. La viabilidad inicial total varía dependiendo de distintos factores sin embargo, fue de 98 % en los ensayos realizados en los frascos (tabla 7) y de 82 % en el recipiente de mayor volumen (tabla 9). Tomando esto en cuenta, el tratamiento con vapor logró disminuirla al 0 % a diferentes relaciones de temperaturas y tiempos de exposición.

Las temperaturas y los tiempos mínimos de aplicación de vapor que resultaron en una viabilidad nula, según los ensayos realizados, fueron de 1 segundo a 95,3°C, 89,3°C, 78,1°C, 70,3°C; 3 segundos a 60,0°C; 5 segundos 65,3°C; y 10 segundos a 56,5°C y 54,5°C. También se pudo mostrar que la mortalidad se debe al *shock* inicial de vapor en contacto con el huevo, a las temperaturas registradas.

Se estudió la dispersión presente a diferentes alturas respecto a la boquilla de la máquina de vapor. Se encontraron huevos fuera de la madera entre las alturas de 0,2 y 3,0 cm, por lo que la viabilidad de los mismos se analizó por separado (tabla 11). Existe

una relación inversa general donde a medida que incrementa la distancia de la boquilla respecto a la muestra, menor es la dispersión.

Se concluye que la altura mínima para lograr la máxima mortalidad de los huevos debe ser a 4,0 cm para evitar la dispersión. Mientras que el tiempo sugerido de tratamiento sería al menos 5 segundos, teniendo en cuenta que a mayor tiempo de exposición de los huevos al vapor se maximizan las condiciones para favorecer el 100 % de mortalidad. En función de los resultados con el dispositivo utilizado, se recomendaría aplicar vapor al menos dos veces, tanto en el espacio del sumidero o pluvial así como en los alrededores, abarcando un buen radio de seguridad.

En este trabajo hubo un hallazgo que no se contempló en los objetivos, se observó que frente el estrés térmico ejercido por el vapor de agua las larvas dentro de los huevos tienden a eclosionar y son eliminadas por el mismo efecto. Este comportamiento aparenta ser similar al observado al aplicar altas concentraciones de hipoclorito de sodio [9] y agua hirviendo [1]. Sin embargo, esto se debería estudiar en mayor profundidad, lo cual abriría posibilidades para futuras investigaciones en este campo.

A lo largo de este trabajo se presentaron diversas limitaciones que no pudieron ser resueltas. La más significativa fue trabajar en recipientes cerrados o semi-cerrados por el riesgo biológico ligado a crear un nuevo criadero en el lugar de estudio. Al aumentar el tiempo de liberación del vapor en estos recipientes cerrados/semi-cerrados se generó una acumulación del mismo y un posible incremento de la temperatura respecto aquella registrada en un sistema semi-abierto. Este aumento de temperatura es teórico y estimado a partir de las observaciones de los sistemas. No fue técnicamente posible realizar mediciones de temperatura en los frascos o en el recipiente de mayor volumen por limitaciones propias del tiempo de respuesta de los sensores de temperatura. No obstante, estos recipientes serían una buena aproximación a la aplicación esperada en un sumidero o pluvial. Se vería favorecida la temperatura registrada en un sistema semi-abierto posiblemente resultando en una mayor efectividad térmica. En segundo lugar, la viabilidad se calculó en la población total y no por muestra. En tercer lugar, la manipulación de las muestras podría ser una fuente de reducción en la viabilidad inicial, aunque en este trabajo se tomaron los recaudos para manipular lo mínimo posible las muestras, resultando en una viabilidad de los ensayos de control alta (98 % en F1 y F2 y 82 % en el recipiente de mayor porte).

Se proponen los siguientes ensayos a futuro:

- Mejorar el registro de las temperaturas residuales y radiales ya que no se estabilizaron en el tiempo de adquisición. Al contar con temperaturas residuales estables se podría garantizar un radio de tratamiento en función a la temperatura y tiempo de aplicación del vapor, y no solo una relación de temperatura y tiempo por debajo de la boquilla.
- Probar dispositivos generadores de vapor de mayor potencia.
- Realizar el diseño específico de boquillas para este uso.
- Realizar ensayos donde el vapor impacte la muestra en distintos ángulos, no solo perpendicular a la superficie contenedora de huevos del depresor lingual, y analizar la dispersión resultante.
- Hacer mediciones en campo completando la información de la efectividad de este control físico.

Este estudio presenta un nuevo método de control físico del vector *Aedes aegypti*, en estadio de huevo, que es eficaz, innovador, económico, fácil de implementar y no contaminante. Es sumamente importante evitar la transmisión de enfermedades ligadas a este vector reduciendo la población del mismo con métodos de este estilo y así cortando la transmisión de la enfermedad antes de llegar al humano. En cuanto a su aplicación y en el caso particular de los hospitales, que suelen contar con equipos de vapor industriales y potenciales criaderos en sumideros, este control sería una buena táctica inocua para los pacientes. Se espera que a partir de este estudio se pueda generar un nuevo uso de las máquinas de vapor.

Referencias

- [1] Alem, I. S., Rolandi, C., Schilman, P. E. & Schweigmann, N. J. (2018). Exposición de los huevos de *Aedes aegypti* (Diptera: *Culicidae*) al agua hirviendo. *XI JORNADAS REGIONALES SOBRE MOSQUITOS*.
- [2] Cuthbert, R., Cunningham, E., Crane, K., Dick, J., Callaghan, A. & Coughlan, N. (2020). In for the kill: novel biosecurity approaches for invasive and medically important mosquito species. *Management of Biological Invasions*, 11(1), 9-25. doi:10.3391/mbi.2020.11.1.02
- [3] Red Científico Tecnológica para la Gestión del Riesgo de Desastres y Red Científico Tecnológica para la Adaptación al Cambio Climático y la Sustentabilidad Ambiental. (2016). *Protocolo Interinstitucional de gestión de información ante escenarios de amenazas biológicas transmitidas por el vector Aedes aegypti*.
- [4] Boletines epidemiológicos. (2020). Ministerio de Salud, República Argentina. Recuperado desde <https://www.argentina.gob.ar/salud/epidemiologia/boletines2020>
- [5] GeoPortal de CONAE. (2020). Comisión Nacional de Actividades Espaciales. Recuperado desde <https://geoportal.conae.gov.ar/geoexplorer/composer/>
- [6] Fischer, S., De Majo, M. S., Di Battista, C. M., Montini, P., Loetti, V. & Campos, R. E. (2019). Adaptation to temperate climates: Evidence of photoperiod-induced embryonic dormancy in *Aedes aegypti* in South America. *Journal of insect physiology*, 117, 103887.
- [7] Organización Panamericana de la Salud (OPS). (2019). *Evaluación de las estrategias innovadoras para el control de Aedes aegypti: desafíos para su introducción y evaluación del impacto*. Washington, D.C.
- [8] Fischer, S., Alem, I. S., De Majo, M. S., Campos, R. E. & Schweigmann, N. (2011). Cold season mortality and hatching behavior of *Aedes aegypti* L.(Diptera: *Culicidae*) eggs in Buenos Aires City, Argentina. *Journal of Vector Ecology*, 36(1), 94-99.
- [9] Christophers, S. (1960). *Aedes Aegypti (L.) The Yellow Fever Mosquito*. 32 East 57th Street, New York 22, N.Y.: Cambridge University Press.
- [10] Crane, K., Cuthbert, R. N., Dick, J. T., Kregting, L., MacIsaac, H. J. & Coughlan, N. E. (2019). Full steam ahead: direct steam exposure to inhibit spread of invasive aquatic macrophytes. *Biological Invasions*, 21(4), 1311-1321.

- [11] Sociedad Entomológica Argentina. (2009). Boletín de la Sociedad Entomológica Argentina. Recuperado desde http://seargentina.myspecies.info/sites/seargentina.myspecies.info/files/Bol.SEA20r_0.pdf
- [12] Penna, J. (1895). *Estudio sobre las epidemias de fiebre amarilla en el Rio de La Plata*. Anales del Departamento Nacional de Higiene 1, 430.
- [13] Dengue: estado actual y prevención. (2017). *Sociedad Argentina de Pediatría*. Recuperado desde https://www.sap.org.ar/uploads/archivos/files_dengue-2018_1516668228.pdf
- [14] Vezzani, D. & Carbajo, A. E. (2008). *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, and dengue in Argentina: current knowledge and future directions. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 103(1), 66-74.
- [15] Pinto Severo, O. (1955). *La campaña de erradicación del Aedes Aegypti en las Américas - Su organización, evolución y resultados hasta diciembre de 1954*. Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana (OPS), 38 : 378-398. Recuperado desde <https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/14350/v38n4p378.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- [16] Rodríguez Cruz, R. (2002). Estrategias para el control del dengue y del *Aedes Aegypti* en las Américas. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 54(3), 189-201.
- [17] Avilés, G., Rangeón, G., Vorndam, V., Briones, A., Baroni, P., Enria, D. & Sabattini, M. S. (1999). Dengue Reemergence in Argentina. *Emerging Infectious Diseases*, 5(4), 575-578. doi:10.3201/eid0504.990424.
- [18] Fischer, S., De Majo, M. S., Quiroga, L., Paez, M. & Schweigmann, N. (2017). Long-term spatio-temporal dynamics of the mosquito *Aedes aegypti* in temperate Argentina. *Bulletin of Entomological Research*, 107(2), 225-233.
- [19] Eisen, L., Monaghan, A. J., Lozano-Fuentes, S., Steinhoff, D. F., Hayden, M. H. & Bieringer, P. E. (2014). The impact of temperature on the bionomics of *Aedes (Stegomyia) aegypti*, with special reference to the cool geographic range margins. *Journal of medical entomology*, 51(3), 496-516.
- [20] Grech, M., Visintin, A., Laurito, M., Estallo, E., Lorenzo, P., Rocca, I. & Almirón, W. (2012). New records of mosquito species (Diptera: *Culicidae*) from Neuquén and La Rioja provinces, Argentina. *Revista de Saúde Pública*, 46(2), 387-389.

- [21] Carbajo, A. E. (2003). *Distribución espacio-temporal de Aedes aegypti (diptera: Culicidae): su relación con el ambiente urbano y el riesgo de transmisión del virus dengue en la Ciudad de Buenos Aires* (Tesis doctoral, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires).
- [22] Carbajo, A. E., Schweigmann, N. & Curto, S. (2001). Asociación espacial entre *Aedes aegypti*, densidad de población humana, niveles de edificación y cobertura vegetal en Buenos Aires. Uso de GIS e imágenes satelitales. *Sociedad Argentina de Estudios Geográficos, Buenos Aires, 62*, 215-228.
- [23] Sorge, F. & Deschamps, N. (2013). Consulta del niño que viaja. *EMC - Pediatría, 48*(2), 1-14. doi:10.1016/s1245-1789(13)64507-2
- [24] De Majo, M. S., Montini, P., Fischer, S. (2017). Egg hatching and survival of immature stages of *Aedes aegypti* (Diptera: *Culicidae*) under natural temperature conditions during the cold season in Buenos Aires, Argentina. *Journal of medical entomology, 54*(1), 106-113.
- [25] De Majo, M. S., Zanotti, G., Campos, R. E. & Fischer, S. (2019). Effects of Constant and Fluctuating Low Temperatures on the Development of *Aedes aegypti* (Diptera: *Culicidae*) from a Temperate Region. *Journal of medical entomology, 56*(6), 1661-1668.
- [26] Life Cycle of *Aedes* Mosquitos. (2018). Biogents AG. Recuperado desde <https://sea.biogents.com/life-cycle-aedes-mosquitoes/>
- [27] Farnesi, L. C., Sadok, R. F. M.-B., Martins, A. J., Valle, D. & Rezende, G. L. (2015). Physical features and chitin content of eggs from the mosquito vectors *Aedes aegypti*, *Anopheles aquasalis* and *Culex quinquefasciatus*: Connection with distinct levels of resistance to desiccation. *Journal of insect physiology, 83*, 43-52.
- [28] Suman, D. S., Shrivastava, A. R., Pant, S. & Parashar, B. D. (2011). Differentiation of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: *Culicidae*) with egg surface morphology and morphometrics using scanning electron microscopy. *Arthropod structure & development, 40*(5), 479-483.
- [29] Padmaja, K., Rajulu, G. S. et al. (1981). Chemical nature of the chorionic pad of the egg of *Aedes aegypti*. *Mosq News. 41*, 674-676.

- [30] Vezzani, D. (2003). *El hábitat de Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) en Buenos Aires para distintas escalas espaciales de estudio* (Tesis doctoral, Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales).
- [31] Dirección de Epidemiología del Ministerio de Salud, República Argentina. (2016). Epidemiología de las Arbovirosis. Recuperado desde <https://www.paho.org/arg/images/gallery/mosquitos/jornadas/argentina-mosquitos-jornadas-MSAL-Epidemiologia.pdf?ua=1>
- [32] Nelson, M. (1986). *Aedes Aegypti: Biología y Ecología*. Recuperado desde https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/28513/PNSP8663_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- [33] Center of Disease Control, US Department of Health and Human Services. (2020). Ciclo de Vida del mosquito, *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*. Recuperado desde https://www.cdc.gov/zika/pdfs/FS_AedesLifeCycle-es-p.pdf
- [34] Burroni, N., Loetti, V., Prunella, P. & Schweigmann, N. (2013). Ovitrap placed in dwellings and on public paved areas for *Aedes aegypti* (Diptera: *Culicidae*) monitoring. *Revista Colombiana de Entomología*, 39(1), 56-60.
- [35] Organización Panamericana de la Salud (OPS). (s.f.). Dengue: Información general. Recuperado desde https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=4493:2010-informacion-general-dengue&Itemid=40232&lang=es
- [36] Center of Disease Control, US Department of Health and Human Services. (2019). Dengue: Transmisión. Recuperado desde <https://www.cdc.gov/dengue/es/transmission/index.html>
- [37] Gubler, D., Suharyono, W., Tan, R., Abidin, M. & Sie, A. (1981). Viraemia in patients with naturally acquired dengue infection. *Bulletin of the World Health Organization*, 59(4), 623.
- [38] Organización Panamericana de la Salud (OPS). (2010). *Dengue: Guías de atención para enfermos en la región de las Américas*. Recuperado desde <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2012/Guias-atencion-enfermos-Americas-2010-esp.pdf>
- [39] Ministerio de Salud, República Argentina. (2016). *Guía para la vigilancia integrada de la infección por Virus Zika y recomendaciones para el equipo de salud*. Recuperado desde <https://bancos.salud.gob.ar/sites/default/files/2018-10/0000000933cnt-2017-01-25-zika-guia-para-equipos-de-salud.pdf>

- [40] Sociedad Argentina de Pediatría. (2016). Chikungunya para SAP. Recuperado desde [https://www.sap.org.ar/docs/comisiones_sub_grupos/Microsoft%20Word%20-%20-%20CHIK%20para%20SAP.pdf](https://www.sap.org.ar/docs/comisiones_sub_grupos/Microsoft%20Word%20-%20CHIK%20para%20SAP.pdf)
- [41] Ministerio de Salud, República Argentina. (2016). *Enfermedades infecciosas, Fiebre Chikungunya, Guía para el equipo de Salud.*
- [42] Center of Disease Control, US Department of Health and Human Services. (s.f.[a]). Mosquito-borne Transmission. Recuperado desde <https://www.cdc.gov/dengue/training/cme/ccm/page45915.html>
- [43] Winokur, O. C., Main, B. J., Nicholson, J. & Barker, C. M. (2020). Impact of temperature on the extrinsic incubation period of Zika virus in *Aedes aegypti*. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 14(3), e0008047. doi:10.1371/journal.pntd.0008047
- [44] Krow-Lucal, E. R., Biggerstaff, B. J. & Staples, J. E. (2017). Estimated Incubation Period for Zika Virus Disease. *Emerging Infectious Diseases*, 23(5), 841-845. doi:10.3201/eid2305.161715
- [45] Mbaika, S., Lutomiah, J., Chepkorir, E. et al. (2016). Vector competence of *Aedes aegypti* in transmitting Chikungunya virus: effects and implications of extrinsic incubation temperature on dissemination and infection rates. *Virology Journal*, 13(1). doi:10.1186/s12985-016-0566-7
- [46] Center of Disease Control, US Department of Health and Human Services. (2020). Chikungunya - Chapter 4 - 2020 Yellow Book. Recuperado desde <https://wwwnc.cdc.gov/travel/yellowbook/2020/travel-related-infectious-diseases/chikungunya>
- [47] Johansson, M. A., Biggerstaff, B. J., Arana-Vizcarrondo, N. & Staples, J. E. (2010). Incubation Periods of Yellow Fever Virus. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 83(1), 183-188. doi:10.4269/ajtmh.2010.09-0782
- [48] Castaño, E. (2015). Guía de actuación en infección por Dengue. *Pediatr. Panamá*, 44(3), 34-40.
- [49] Center of Disease Control, US Department of Health and Human Services. (s.f.[b]). Cuadro Clínico - Dengue. Recuperado desde <https://www.cdc.gov/dengue/es/healthcare-providers/clinical-presentation.html>
- [50] Ministerio de la Salud, República Argentina. (2015). *Enfermedades Infecciosas - Dengue- Guia Para el Equipo de Salud. 4ta Edición.*

- [51] Organización Mundial de la Salud (OMS). (2020). Inmunización, Vacunas y Productos Biológicos. Recuperado desde https://www.who.int/immunization/research/development/dengue_q_and_a/es/
- [52] Ministerio de Salud, República Argentina. (s.f.[a]). Glosario de Salud - Zika. Recuperado desde <https://www.argentina.gob.ar/salud/glosario/zika>
- [53] Organización Mundial de la Salud (OPS). (2018). Enfermedad por el virus de Zika. Recuperado desde <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/zika-virus>
- [54] Sociedad Argentina de Pediatría. (2017). Enfermedad Virus Chikungunya: estado actual. Recuperado desde https://www.sap.org.ar/uploads/archivos/files_chikungunya_1516668394.pdf
- [55] Ministerio de Salud, República Argentina. (s.f.[b]). Fiebre chikungunya. Recuperado desde <https://www.argentina.gob.ar/salud/glosario/chikungunya>
- [56] Organización Mundial de la Salud. (2019). Fiebre Amarilla. Recuperado desde <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/yellow-fever>
- [57] Ministerio de Salud, República Argentina. (s.f.[c]). ¿Qué es la fiebre amarilla? Recuperado desde <https://www.argentina.gob.ar/febreamarilla/que-es>
- [58] Organización Mundial de la Salud (OMS). (2011). Comprehensive guideline for prevention and control of dengue and dengue haemorrhagic fever.
- [59] Achee, N. L., Gould, F., Perkins, T. A., Reiner Jr, R. C., Morrison, A. C., Ritchie, S. A. & Scott, T. W. (2015). A critical assessment of vector control for dengue prevention. *PLoS Negl Trop Dis*, 9(5), e0003655.
- [60] Reinhold, J. M., Lazzari, C. R. & Lahondère, C. (2018). Effects of the environmental temperature on *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* mosquitoes: a review. *Insects*, 9(4), 158.
- [61] Farnesi, L. C., Martins, A. J., Valle, D. & Rezende, G. L. (2009). Embryonic development of *Aedes aegypti* (Diptera: *Culicidae*): influence of different constant temperatures. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 104(1), 124-126.
- [62] Holman, J. (1998). *Transferencia de Calor* (8va edición). Madrid, España: McGraw-Hill/Interamericana.

- [63] Yunus A. Cengels, A. J. G. (2011). *Transferencia de Calor y Masa: Fundamentos y Aplicaciones*. Prolongación Paseo de la Reforma 1015, Torre A, Piso 17, México D.F: McGraw-Hill/Interamericana.
- [64] *STEAM GENIE: The ultimate household steam cleaner. Instructions*. (s.f.). John Mills Limited (JML). Regis Road, London, NW5 3EG.
- [65] Lusqtoff. (2020). *Manual de la limpiadora a vapor, modelo LQLV-1050*.
- [66] Página Oficial de Arduino. (s.f.). Recuperado desde <https://www.arduino.cc/>
- [67] R Core Team. (2020). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. Recuperado desde <https://www.R-project.org/>
- [68] Gross, J. & Ligges, U. (2015). *nortest: Test for normality*. R package version 1.0-4. Recuperado desde <https://www.rdocumentation.org/packages/nortest>
- [69] Hadley Wickham, L. H., Winston Chang & Yutani, H. (2020). *ggplot2: Create Elegant Data Visualisations Using the Grammar of Graphics*. R package version 3.3.2.
- [70] Hothorn, T., Zeileis, A., Hornik, K., van de Wiel, M. A. & Zeileis, A. (2019). *Coin: Conditional Inference Procedures in a Permutation Test Framework*. R package version 1.3-1.
- [71] Grupo de Estudios de Mosquitos (GEM). (s.f.). Investigación - Monitoreo. Recuperado desde <http://server.ege.fcen.uba.ar/gem/>
- [72] Schweigmann, N., Solari, H. G., Rossi, G. C. & Gleiser, R. M. (2016). Reflexiones ambientales urbanas, 27 Tecnología de punta – en un sensor de presencia de *Aedes aegypti*. Recuperado desde <http://www.ege.fcen.uba.ar/wp-content/uploads/2016/02/27-Tecnolog%5C%C3%5C%ADa-de-punta-en-un-sensor-de-presencia-de-Aedes-aegypti.pdf>

7. Anexo

| Altura (cm) | Desplazamiento horizontal (cm) | Sensor Principal | | | Sensor Residual | | | Diferencia entre medianas (°C) |
|-------------|--------------------------------|------------------|-----|---------------|------------------|-----|---------------|--------------------------------|
| | | Temperatura (°C) | | | Temperatura (°C) | | | |
| | | Mediana | RIQ | [Q1-Q3] | Mediana | RIQ | [Q1-Q3] | |
| 0,2 | 0,5 | 78,8 | 3,0 | [77,8 - 80,8] | 51,0 | 3,6 | [49,2 - 52,8] | 27,8 |
| | 1,0 | 66,2 | 3,3 | [65,7 - 69,0] | 51,6 | 4,0 | [49,0 - 53,0] | 14,6 |
| | 2,0 | 63,3 | 1,8 | [62,0 - 63,8] | 49,8 | 2,5 | [48,8 - 51,3] | 13,5 |
| | 3,0 | 58,3 | 1,5 | [57,5 - 59,0] | 52,5 | 3,7 | [50,3 - 54,0] | 5,8 |
| | 4,0 | 56,0 | 4,3 | [55,0 - 59,3] | 56,8 | 2,3 | [55,7 - 58,0] | -0,8 |
| 5,0 | 0,5 | 60,0 | 2,3 | [58,7 - 61,0] | 44,3 | 2,0 | [43,0 - 45,0] | 15,7 |
| | 1,0 | 58,5 | 1,2 | [57,8 - 59,0] | 44,9 | 2,8 | [43,0 - 45,8] | 13,6 |
| | 2,0 | 56,0 | 1,5 | [55,3 - 56,8] | 47,1 | 2,3 | [45,5 - 47,8] | 8,9 |
| | 3,0 | 53,3 | 2,8 | [51,7 - 54,5] | 49,5 | 3,5 | [47,3 - 50,8] | 3,8 |
| | 4,0 | 52,5 | 1,7 | [51,8 - 53,5] | 48,8 | 1,8 | [48,0 - 49,8] | 3,7 |

Tabla 12: Desplazamiento horizontal, medidas de temperatura sobre el SP y el SR. Mediana, RIQ, cuartiles (Q1 y Q3) y diferencia de medianas entre sensores (SP-SR)

| Altura (cm) | Sensor principal | | | Sensor residual | | | Diferencia entre medianas (°C) |
|-------------|------------------|-----|---------------|------------------|------|---------------|--------------------------------|
| | Temperatura (°C) | | | Temperatura (°C) | | | |
| | Mediana | RIQ | [Q1-Q3] | Mediana | RIQ | [Q1-Q3] | |
| 0,2 | 95,3 | 1,8 | [94,0 - 95,8] | 59,1 | 9,8 | [54,2 - 64,0] | 36,2 |
| 1,0 | 89,3 | 0,8 | [89,0 - 89,8] | 52,5 | 11,5 | [45,8 - 57,3] | 36,8 |
| 2,0 | 78,1 | 1,0 | [77,8 - 78,8] | 44,0 | 1,0 | [43,5 - 44,5] | 34,1 |
| 3,0 | 70,3 | 1,0 | [69,8 - 70,8] | 41,8 | 2,3 | [40,7 - 43,0] | 28,5 |
| 4,0 | 65,3 | 1,0 | [64,8 - 65,8] | 42,5 | 2,3 | [40,7 - 43,0] | 22,8 |
| 5,0 | 60,0 | 1,3 | [59,2 - 60,5] | 40,5 | 1,8 | [39,2 - 41] | 19,5 |
| 6,0 | 56,5 | 1,0 | [56,0 - 57,0] | 39,4 | 2,3 | [38,2 - 40,5] | 17,1 |
| 7,0 | 54,5 | 0,7 | [54,0 - 54,7] | 38,4 | 4,3 | [36,2 - 40,5] | 16,1 |
| 8,0 | 52,3 | 0,5 | [52,0 - 52,5] | 37,3 | 1,0 | [36,8 - 37,8] | 15,0 |
| 9,0 | 49,5 | 0,8 | [49,0 - 49,8] | 40,3 | 1,0 | [39,8 - 40,8] | 9,2 |

Tabla 13: Desplazamiento vertical, medidas de temperatura sobre el SP y el SR. Mediana, RIQ, cuartiles (Q1 y Q3) y diferencia de medianas entre sensores (SP-SR)

| Experimento | Antigüedad (Semana) | Huevos iniciales potencialmente viables | Nuevos huevos eclosionados | Larvas vivas | Larvas muertas | Total larvas |
|-------------|---------------------|---|----------------------------|--------------|----------------|--------------|
| 1 | 2 | 29 | 29 | 29 | 0 | 29 |
| 2 | 2 | 29 | 29 | 29 | 0 | 29 |
| 3 | 2 | 28 | 27 | 27 | 0 | 27 |
| 4 | 2 | 31 | 30 | 26 | 4 | 30 |
| 5 | 3 | 46 | 45 | 45 | 0 | 45 |

Tabla 14: Ensayos de control (huevos iniciales potencialmente viables, nuevos huevos eclosionados luego de la inundación, larvas vivas, larvas muertas y larvas totales) realizados para los experimentos de viabilidad en F1 y F2.

| Experi- mento | Antigüedad (semanas) | Huevos iniciales posiblemente viables | Nuevos huevos eclosionados | Larvas vivas | Larvas muertas | Total larvas |
|------------------|-------------------------|--|----------------------------------|-----------------|-------------------|-----------------|
| 1 | 3 | 34 | 33 | 33 | 0 | 33 |
| 2 | 3 | 10 | 8 | 7 | 1 | 8 |
| 3 | 4 | 41 | 34 | 27 | 7 | 34 |
| 4 | 4 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | 4 | 23 | 17 | 14 | 3 | 17 |
| 6 | 4 | 23 | 17 | 17 | 0 | 17 |
| 7 | 4 | 31 | 11 | 10 | 1 | 11 |
| 8 | 5 | 27 | 21 | 21 | 0 | 21 |
| 9 | 5 | 39 | 37 | 37 | 0 | 37 |
| 10 | 5 | 27 | 26 | 26 | 0 | 26 |
| 11 | 5 | 26 | 23 | 23 | 0 | 23 |
| 12 | 5 | 60 | 50 | 50 | 0 | 50 |
| 13 | 5 | 26 | 24 | 24 | 0 | 24 |
| 14 | 5 | 20 | 11 | 11 | 0 | 11 |
| 15 | 5 | 21 | 21 | 21 | 0 | 21 |
| 16 | 5 | 30 | 28 | 28 | 24 | 52 |
| 17 | 5 | 20 | 15 | 15 | 8 | 23 |

Tabla 15: Ensayos de control realizados en conjunto con los experimentos de la tabla 10.

María Laura Fernández

CONICET - Universidad de Buenos Aires. Instituto de Física del Plasma (INFIP). Buenos Aires, Argentina.
Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Departamento de Física. Buenos Aires, Argentina.

Profesor, ITBA

Nicolás Schewigmann

Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Departamento de Ecología, Genética y Evolución (DEGE), Grupo de Estudio de Mosquitos (GEM). Buenos Aires, Argentina.

CONICET - Universidad de Buenos Aires. Instituto de Ecología, Genética y Evolución de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina.

Profesor DEGE, FCEyN, UBA.

Juan Ricardo Lauretta

Profesor Titular con dedicación exclusiva del Departamento de Ing. Mecánica, ITBA