



GOBIERNO DE
MÉXICO

SALUD
SECRETARÍA DE SALUD

CENAPRECE
CENTRO NACIONAL DE PROGRAMAS PREVENTIVOS
Y CONTROL DE ENFERMEDADES

Guía Metodológica para la Instalación y Mantenimiento del Insectario



GOBIERNO DE
MÉXICO

SALUD
SECRETARÍA DE SALUD

CENAPRECE
CENTRO NACIONAL DE PROGRAMAS PREVENTIVOS
Y CONTROL DE ENFERMEDADES

SECRETARÍA DE SALUD
Centro Nacional de Programas Preventivos y
Control de Enfermedades
Benjamín Franklin No. 132, Col. Escandón,
Demarcación Territorial Miguel Hidalgo, Ciudad de México.

La Secretaría de Salud pone a disposición de los
Usuarios información en su página www.gob.mx/salud/cenaprece

Guía Metodológica para la Instalación y Mantenimiento del Insectario

Primera Edición: diciembre 2015
Segunda Edición: agosto 2018

Se autoriza la reproducción parcial o total de la información
Contenida, siempre y cuando se cite la fuente.

Impreso y hecho en México



GRUPO DE TRABAJO

Secretaría de Salud/CENAPRECE

MSP. Gustavo Sánchez Tejeda

Director del Programa Enfermedades Transmitidas por Vectores

D. en C. Fabián Correa Morales

Subdirector de Vectores

Servicios de Salud de Morelos

M. en C. Cassandra González Acosta

Responsable Estatal de la Coordinación de Enfermedades
Transmitidas por Vector y Zoonosis

Dr. Miguel Ángel Moreno García

Responsable Estatal de Investigación Operativa

MSP. Vladimir Brian González Cortés

Responsable Estatal de Calidad en los
Programas de Vectores y Zoonosis

Lic. Greta Viridiana Rodríguez Suaste
Tecnologías de la Información

Lic. Orlando N. Valdivieso Meza
Diseño y Edición



1. Referencia normativa y alcance.

El Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades (**CENAPRECE**), establece como objetivo en su Programa de Trabajo “Normar, administrar y evaluar las políticas y estrategias de prevención y protección de la salud, favorecer y vigilar su aplicación en todas las instituciones del Sistema Nacional de Salud, mediante la investigación, evaluación y asesoría, para brindar atención oportuna y adecuada tendiente a mejorar la calidad de vida de la población”.

Que en su integración y desarrollo de las Unidades de Investigación Entomológica y Bioensayo (UIEBs), las cuales se insertan en la Ley de General de Salud 2017, título quinto, capítulo único “Investigación para la salud”, Art. 96, Fracción III, “A la prevención y control de los problemas de salud que se consideren prioritarios para la población” Art. 141, “La Secretaría de Salud coordinará sus actividades con otras dependencias y entidades públicas y con los gobiernos de las entidades federativas, para la investigación, prevención y control de las enfermedades transmisibles”. Así como a la Norma Oficial Mexicana NOM-032-SSA2-2014 , **Para la vigilancia epidemiológica, promoción, prevención y control de las enfermedades transmitidas por vectores**, en su apartado 8 “Investigación”, de las que se hace valer para efectos de referencia en la materia de control de vectores, a razón de evaluar y realizar pruebas de eficacia biológica satisfactorias en sus numerales 6.4, 6.10 y 6.11 en la que se especifican los detalles a realizar para las pruebas de eficacia biológica y los parámetros normados para la aceptación de el uso en salud pública de repelentes y plaguicidas; es necesario el establecimiento de esta guía para la instalación de un insectario con colonias de mosquitos *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*, como base necesaria para la evaluación de insecticidas utilizados en contra de los mosquitos vectores en el programa de control nacional y estatal.

2. Justificación

La necesidad de contar con material biológico viable, para fines de investigación operativa (bioensayos de eficacia biológica, residualidad, resistencia y susceptibilidad a insecticidas) aplicada a la entomología médica y control de vectores, que permita optimizar recursos y a su vez reducir las poblaciones de los vectores, justifica la cría y mantenimiento de colonias de mosquitos *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* en condiciones de laboratorio. Los insectarios que actualmente están funcionando en las Unidades de Investigación Entomológica y Bioensayos (UIEBs) de las entidades federativas, se apegan a las consideraciones presentes en esta guía, manteniendo colonias exclusivamente de artrópodos transmisores de enfermedades que representan un problema de salud pública. Con base en la experiencia en el mantenimiento de los insectarios y colonias endémicas de mosquitos en dichos centros, así como la adquirida por personal operativo jurisdiccional, estatal y federal, es posible conjuntar el conocimiento de las técnicas empleadas y condiciones de laboratorio necesarias para el desarrollo de



actividades de investigación. La recopilación de esta experiencia y conocimiento permite la creación de una guía que explique y sincronice la obtención constante de material biológico óptimo para el trabajo de investigación operativa (pruebas de eficacia biológica, monitoreo de resistencia, evaluación de estrategias operativas, colecciones de artropodofauna regional, etc.) como una herramienta para la toma de decisiones en el Programa de Vectores a nivel estatal y federal.

3. Términos y definiciones

Los términos y definiciones utilizados en la presente guía son referidos en la **NOM-032-SSA2-2014, Para la vigilancia epidemiológica, promoción, prevención y control de las enfermedades transmitidas por vectores.**

4.1.1 Ácaro, Artrópodo milimétricos de la clase Acari cuyo cuerpo está dividido en tagma anterior (gnatosoma) donde se encuentran los quelíceros, los pedipalpos y la fusión de otros segmentos; y tagma posterior (idiosoma) en el que se presentan 4 pares de patas en adultos y ninfas, y 3 pares en larvas. El desarrollo incluye una larva hexápoda, de 1 a 3 estadios ninfales octópodos y adulto. Un ejemplo de acaro son las garrapatas

4.1.2 Aedes (Ae.), *Aedes* (Ae.), género de mosquitos del Phylum Arthropoda, Clase Insecta, del orden Díptera de la familia Culicidae, subfamilia Culicinae, tribu Aedini. Actualmente, *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*, las especies transmisoras más importantes del virus dengue, Chikungunya, Zika, Fiebre Amarilla, entre otros flavivirus y alfavirus, se clasifican dentro del género *Stegomyia*, es decir *Stegomyia aegypti* y *Stegomyia albopicta*. No obstante, para evitar confusiones y por costumbre se seguirá denominando a las especies anteriores como miembros del género *Aedes*.

4.1.3 Agente infeccioso o patógeno, al microorganismo capaz de causar una enfermedad si se reúnen las condiciones para ello; los más importantes para la salud son: 1) virus, 2) bacterias, 3) hongos y 4) parásitos.

4.1.4 Arbovirus, virus que son patógenos para los vertebrados y que son transmitidos por artrópodos (géneros Flavivirus y Alfavirus). El término tiene su origen en la contracción en idioma inglés de "arthropod-borne virus".

4.1.5 Artrópodo (Phylum Arthropoda), invertebrado multicelular con simetría bilateral cuyo cuerpo está formado por 3 regiones, cabeza, tórax y abdomen, con segmentos modificados en cada región, con forma y función específica y recubierto por una capa dura (cutícula) compuesta de quitina y que funciona como esqueleto externo, patas articuladas y crecimiento discontinuo por medio de mudas.



4.1.6 Control biológico, a la utilización de organismos patógenos, parásitos, parasitoides o depredadores, enemigos naturales de las especies biológicas plaga o vectores de enfermedades, para mantener a sus poblaciones a niveles inferiores de lo que estarían en su ausencia. Entre los agentes de control biológico se encuentran los peces larvivos como *Gambusia affinis*, *Poecilia sp.* y *Tilapia spp.*, entre otros.

4.1.7 Control físico, procedimiento aplicado para disminuir o evitar el riesgo del contacto vector-humano, efectuando modificaciones en el ambiente para eliminar permanentemente (modificación del ambiente) o de forma temporal (manipulación del ambiente) el hábitat de los transmisores de enfermedades.

4.1.8 Control químico, al procedimiento aplicado contra los vectores, en sus estadios larvivos o inmaduros y de imagos o adultos, utilizando plaguicidas derivados de un proceso de síntesis química con efecto insecticida, acaricida o nematocida, autorizados por la COFEPRIS.

4.1.9 Culex, al género de mosquitos de la familia Culicidae, entre los que se encuentran *Cx. quinquefasciatus*, *Cx. tarsalis* y otras que son o pueden ser vector de enfermedades, tales como Fiebre del Oeste del Nilo.

4.1.10 Culicidae, a una abundante familia de la clase Insecta, orden Diptera, suborden Pterygota. Se trata de un extenso grupo que ocurre en todas las latitudes. Incluye 3,525 especies divididos en 2 subfamilias (Anophelinae y Culicinae) y 113 géneros. La subfamilia Anophelinae tiene 3 géneros y Culicinae tiene 110 géneros divididos en 11 tribus, en las que se encuentran todos los mosquitos vectores de enfermedades.

4.1.11 Dengue, a la enfermedad producida por el virus dengue (DENV) perteneciente a la familia Flaviviridae, género Flavivirus, conformado por cuatro serotipos del DENV1 al DENV4 y que son transmitidos por la picadura de mosquitos hembras de las especies *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*. La enfermedad es importante porque produce brotes explosivos de fiebres por dengue, con brotes simultáneos de fiebres hemorrágicas o de choque grave en menor cantidad.

4.1.12 Efecto residual, a la respuesta biológica medida por la mortalidad en bioensayos específicos de la formulación, tipo de aplicación e insecto blanco, posterior a lo que puede considerarse como efecto agudo (hasta 48 horas posteriores a la aplicación). Se puede medir en días, semanas, meses o años, de acuerdo con el tipo de producto, formulación y eficacia deseados.

4.1.13 Efectividad biológica, a la capacidad de un plaguicida para generar una respuesta tóxica en los organismos blanco.



4.1.14 Enfermedades transmitidas por vector (ETV), a los padecimientos en los que el agente causal o infeccioso requiere la participación de un artrópodo como hospedero o transmisor para completar su ciclo de vida y para mantener su población en hospederos vertebrados susceptibles. Se incluyen: paludismo, dengue, leishmaniasis, oncocercosis, tripanosomiasis, rickettsiosis, Fiebre del Oeste del Nilo, Fiebre Chikungunya, Zika, otras arbovirosis, erliquiosis, anaplasmosis.

4.1.15 Evaluación de eficacia y seguridad, a la prueba estandarizada con protocolos recomendados por la OMS, realizadas por centros de investigación reconocidas por el CENAPRECE.

4.1.16 Fauna nociva, a los animales vertebrados e invertebrados, domésticos o silvestres que pueden ser reservorios de vectores y/o de agentes causales de enfermedades.

4.1.17 Formulación de insecticida, a la mezcla de ingrediente activo adicionada por vehículo y/o coadyuvantes y/o sinergistas, que le confieren utilidad para el tipo aplicación y eficacia biológica contra el insecto blanco.

4.1.18 Hábitat, al área o espacio con todos sus componentes físicos, químicos, biológicos y sociales, en donde los seres vivos encuentran condiciones propicias para vivir y reproducirse.

4.1.19 Hospedero, a la persona o animal vivo que, en circunstancias naturales, permite la subsistencia o el alojamiento de un agente infeccioso o un ectoparásito.

4.1.20 Imago, al insecto en su última etapa de desarrollo y que es sexualmente maduro.

4.1.21 Insecto, al artrópodo, Subfila Hexapoda, Clase Insecta, caracterizada por tener 3 pares de patas, un par de antenas y su cuerpo está dividido en 3 regiones bien diferenciadas: cabeza, tórax y abdomen.

4.1.22 Insecticida, a los plaguicidas de origen químico, bioquímico, microbiano, botánico o misceláneo, que eliminan a los insectos vectores o evitan el contacto con el humano, que están dirigidos a cualquiera de los estadios de desarrollo (huevo, larva, pupa o imago) del vector.

4.1.23 Insectario, colección de insectos vivos o muertos, que, en este caso, será el mantenimiento bajo parámetros controlados de temperatura y humedad de colonias de insectos con importancia médica.



4.1.24 Larva, pupa y ninfa, a los estados juveniles de los artrópodos. Ninfa se aplica a los artrópodos con desarrollo inmaduro sin metamorfosis o con metamorfosis parcial (hemimetábolos). Larva y pupa son etapas sucesivas en insectos con metamorfosis completa (holometábolos).

4.1.25 Larvicida, a los plaguicidas de origen químico, bioquímico, microbiano, botánico o misceláneo, que al insecticida que mata a la fase juvenil (larval) de los insectos.

4.1.26 Leishmaniasis, a la enfermedad zoonótica con afectaciones dérmicas cutáneas o visceral causada por protozoarios del género *Leishmania*, de las especies *L. mexicana*, *L. brasiliensis* y *L. infantum* (antes *chagasi*), los cuales son transmitidos de una persona infectada a una sana mediante la picadura de insectos hematófagos del género *Lutzomyia*.

4.1.27 Lista de Productos Recomendados, al documento revisado y publicado anualmente en el portal del CENAPRECE, integrado por la relación de productos que en la evaluación de por lo menos 2 instituciones de educación superior e investigación hayan probado su eficacia y seguridad en campo.

4.1.28 Ovipostura, al proceso de puesta de los huevos en un sitio adecuado para su eclosión, desarrollo larvario y emergencia hasta llegar a adulto. Consiste en una fase de pre-oviposición, que comprende la localización del sitio de oviposición y una fase final, la conducta de ovoposición, la cual consiste en la colocación de los huevos sobre el sustrato. La localización y selección de los sitios de ovipostura es el resultado de una red de interacciones de un complejo conjunto de factores físicos y químicos, que involucra respuestas olfativas, visuales y táctiles en los mosquitos.

4.1.29 Ovitrapa, al dispositivo hecho de un bote plástico de color negro de un litro de capacidad, el cual es llenado a partes de volumen y recubierto sobre el borde de agua con una tira de papel pellón. Se usa para coleccionar huevos de vectores de dengue, Zika y chikungunya como *Ae. aegypti* o *Ae. albopictus* y es la medida de elección para monitorear poblaciones y medir riesgos entomológicos de transmisión.

4.1.30 Piretroides, a los insecticidas de origen natural (piretrinas) o sintético, teniendo como núcleo químico los grupos funcionales ciclopropano carboxilato y cuyo modo de acción (similar al de los organoclorados) es el de afectar el transporte de iones sodio a través de la membrana del axón nervioso.

4.1.31 Plaguicida misceláneo, a aquel que no posee propiedades fisicoquímicas y toxicológicas plaguicidas, pero que presenta características que permiten el control de plagas.

4.1.32 Prueba de susceptibilidad, a los bioensayos estandarizados para detectar la aparición de resistencia a los insecticidas que se utilizan para el control de los insectos vectores de enfermedades.



4.1.33 Resistencia, a la capacidad de organismos de una población para tolerar la dosis de un toxico que sería letal para la mayoría de los individuos de una población susceptible de una misma especie.

4.1.34 Vector, a los organismos vivos que pueden transmitir enfermedades infecciosas entre personas, o de animales a personas.

4.1.35 Vigilancia entomológica, al monitoreo de los vectores a lo largo del tiempo a fin de detectar cambios en la abundancia y composición de especies en un lugar determinado.

4. Contexto de la organización

Se debe garantizar el ejercicio de las funciones y actividades dentro del insectario, el cual se establece en esta guía y será apoyada en el manual de operaciones de las Unidades de Investigación Entomológica y Bioensayos, existiendo un responsable para cada área que compone el Insectario.

5. Gestión integrada

En virtud de que la información, es fuente primordial para la toma de decisiones con base en su calidad, riqueza, temporalidad y accesibilidad, es necesario que se cumpla oportunamente con los compromisos establecidos en esta guía.

Los resultados de las actividades y las necesidades operativas dentro de cada insectario deben comunicarse en tiempo y forma a su unidad de adscripción que a su vez comunicará al programa estatal y nacional. Es importante señalar que los insectarios forman parte medular dentro de las UIEBs, por lo que deben de estar en buenas condiciones para el crecimiento óptimo de las colonias de artrópodos ya establecidas.

6. Capacitación

De acuerdo con el numeral **6.16**, sobre **Capacitación general**, de la **NOM-032-SSA2-2014** “el personal de los servicios del Sistema Nacional de Salud debe recibir capacitación inicial y adiestramiento, de acuerdo con las Guías Operativas y Manuales para dengue, paludismo y otras ETV, disponibles para su consulta en la página electrónica: <https://www.gob.mx/salud/cenaprece>.”



7. Planificación

La planificación de las actividades integrales dentro de cada insectario, será con base al manual de operaciones de las Unidades de Investigación Entomológica y Bioensayo, el cual será normado por este Centro Nacional.

8. Programación

La programación será realizada al interior de cada UIEBs, de acuerdo a las metas establecidas en el Plan de Trabajo anual, el cual será presentado con anticipación para su evaluación y validación.

- Definir un responsable de área.
- Establecer lineamientos internos dentro de cada UIEB (limpieza y organización).
- Generar bitácoras de registro.
- Establecer dos horarios para el registro diario de temperatura (T°) y porcentaje de humedad (% HR) que correspondan al inicio y termino de la jornada laboral.
- Establecer cronogramas de actividad permanente dentro del insectario con el personal adscrito.
- Establecer y mantener pie de cría durante todo el año, de las cepas *Aedes aegypti* y/o *Aedes albopictus* correspondientes a su entidad federativa.

9. Equipo necesario para la instalación del insectario

Para la instalación de un insectario dentro de la UIEB, será necesario contar con un área definida, aislada de agentes contaminantes (plaguicidas, detergentes, aerosoles, etc.), separada del área de manejo de insecticida (área de bioensayos) y de uso restringido, que cumpla con lo siguiente:

- Cápsula de seguridad con doble puerta (Fig. 1).
- Extractor de aire con filtro que tiene la función de atrapar aquellos mosquitos que pudieran quedar libres, la cual debe de estar totalmente cerrada y libre de contaminantes.
- Tener división a dos áreas: inmaduros y adultos (con paredes blancas y lisas).
- Tarja de agua conectada a la red potable.



Figura 1. Capsula de Seguridad.

Equipamiento necesario para iniciar una colonia de *Aedes spp*:

- Aspiradores manuales de mosquitos (Tubo de plástico de polietileno con manguera de hule)
- Autoclave
- Charolas de plástico de color claro para fase inmadura con diferentes capacidades de almacenaje de agua (dependiendo de las dimensiones del insectario)
- Cinta adhesiva para etiquetar
- Colador
- Contador manual
- Estantes de metal con divisiones de acuerdo a sus dimensiones.
- Humidificador
- Jaulas de emergencia 30x30x30cm (plástico y/o aluminio)
- Ligas
- Marcadores indelebles
- Mortero
- Papel filtro, o pellón, o papel estraza para ovipostura
- Pipetas Pasteur 1, 1.5 o 3 ml.
- Recipientes de plástico para ovipostura de hembras grávidas
- Tamiz malla 30
- Termo higrómetro
- Timer para fotoperiodo
- Tul o tela tricot

Insumos primarios para mantener una colonia de *Aedes spp*:

- Algodón
- Alimento para rata
- Azúcar
- Fuente de alimentación sanguínea (Cobayo, conejo, rata egipcia, ratón blanco o alimentador artificial)



10. Medidas de bioseguridad

Protección personal

Debido a que en el insectario se manipula fauna nociva con capacidad de transmitir enfermedades es necesario que el personal realice las siguientes medidas de protección personal:

- Uso de bata de laboratorio blanca manga larga
- Uso de pantalón, de preferencia de mezclilla, que cubra hasta los tobillos
- Uso de calzado cerrado
En caso de tener cabello largo este deberá estar recogido en todo momento
Prohibido el uso de aretes, pulseras o collares
- Prohibido comer dentro del insectario

Durante las actividades operativas deberán portar debidamente el uniforme y credencial vigente que los acredite como trabajadores del sector salud, así como playera, blusa o camisa con escudo/logotipo institucional.

Acceso al insectario

Será de uso exclusivo para el personal adscrito a la UIEB. El acceso deberá ser controlado por las autoridades correspondientes. Se dispone de un libro de registro y control del personal.

Justo antes de ingresar se deberá realizar higiene de manos con la finalidad de evitar introducir accidentalmente residuos de insecticida.

Medidas de contención y protección del insectario

- El insectario debe estar alejado del almacenamiento de productos químicos.
- No se debe poner en contacto ningún material del insectario (jaulas, bandejas y tamices entre otros) con insecticidas u otras sustancias, si bien no son precisamente químicas, pueden funcionar como repelentes.
- Las superficies de las paredes deben ser lisas, claras (blancas) y lavables.
- Debe existir al menos una toma de agua potable para el lavado de material.
- Debe existir un solo acceso de entrada y salida al insectario, con doble puerta, creando una cámara de aire con un ventilador extractor que atraparé los mosquitos en caso de escape. (Nota: esta recomendación no debe estar por encima de cualquier norma de protección civil).
- Se debe contar con las medidas adecuadas de seguridad, tales como tapar hoyos o fisuras de la pared, así como capturar vía mecánica, con ayuda de tubos suctores y/o



aparatos colectores de mosquitos adultos que se encuentren libres en el área del insectario.

- Nunca depositar larvas o huevos en la tarja, ya que pueden sobrevivir y salir al ambiente.
- Todo instrumental que se utiliza en el insectario, se debe limpiar mecánicamente con abundante agua potable y sin detergente (en caso de aplicarse, debe enjuagarse bien y no utilizarse en el momento).
- El instrumental del insectario será de uso exclusivo del mismo.
- Para el caso de las jaulas de mosquitos y de animales utilizados en la alimentación de estos, debe incluirse la desinfección mecánica con soluciones de detergente y después de enjuagarse bien, aplicar secado con rayos solares, esto con el fin de utilizar la acción bactericida de los rayos ultravioletas.
- El material e instrumental para el mantenimiento de los insectos, debe evitar el contacto con fuentes de infección.

Recolección de residuos

- Con el fin de evitar la contaminación cruzada de insecticidas y cepas de mosquitos se deberá trazar una ruta de recolección de residuos de acuerdo con la arquitectura de cada UIEB iniciando por el área más inocua que sería el insectario, posteriormente por el laboratorio entomológico, áreas administrativas, área común y por último el área de bioensayos.
- Todo objeto que sea desechado del insectario o salga del área para realizar nuevas actividades deberá pasar por un proceso de inactivación biológica, ya sea por medio de esterilización en autoclave o control físico con lavado del objeto con solución detergente y enjuague.
- Todo material biológico de desecho debe ser esterilizado en autoclave antes de tirarlo al contenedor de basura municipal.

11. Operación

Distribución de las áreas

El área del insectario se distribuye según las características y necesidades de la producción de mosquitos. Es importante resaltar las normativas nacionales e internacionales que responde a los requisitos descritos por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) –Organización Mundial de la Salud (OMS)^{1,2}. Son necesarias al menos 2 áreas (Fig. 2): una para la cría de la etapa larvaria en charolas y otra para la etapa de adultos en jaulas de emergencia.



Fig. 2. Disposición de las charolas con larvas y jaulas con mosquitos.
(UIEB Tabasco SSA, UIEB Panchimalco-Morelos, SSM).

Iluminación

Dado que la intensidad como el fotoperiodo afecta el ciclo de vida de los mosquitos, la iluminación debe ser permanente y estable.¹ Para *Ae. aegypti* ha funcionado adecuadamente la iluminación artificial mediante lámparas de 40, 60 y 100 watts o reflectores de 150 watts en cada área (Fig. 3), con un fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 de oscuridad con equipo automatizado y/o natural. En regiones donde el clima es predominantemente cálido, con temperaturas oscilantes de 28-30°C, se pueden establecer instalaciones con fotoperiodo natural, ubicando ventanas con vidrio translucido para permitir la entrada de luz solar, sin incidir directamente los rayos al interior.



Fig. 3. Iluminación dentro del insectario

Temperatura y humedad relativa

Las larvas de los mosquitos viven en medio acuático y pueden verse afectadas por variaciones de la temperatura ambiente¹. De manera general, se reconoce la existencia de un rango de temperatura, cuyo límite mínimo ocasiona un retraso o interrupción del desarrollo de la larva y el límite máximo, un efecto letal. En el insectario se recomienda que la temperatura del agua se mantenga entre 27-30°C¹ y la humedad relativa en un promedio de 70% ± 10%, no obstante, *Ae aegypti* puede criarse hasta en un rango mínimo de entre 20-25%.

Reglamento y regulaciones internas

Para cada situación y dependiendo de los objetivos que se persigan con la instalación de un insectario, pueden establecerse reglamentos internos dentro de cada UIEB, con el fin de normar y facilitar la operación en el mismo.

Regulación de la colonia de *Ae aegypti*

Su operación se justifica de acuerdo a la normatividad emitida por este Centro Nacional, para uso exclusivo de los proyectos programados anualmente de resistencia y eficacia biológica de los plaguicidas utilizados para el combate de los insectos vectores.

Solicitud de material biológico

Todo material biológico colectado de ovitrampas (huevos) y establecido como pie de cría para el insectario (papeletas F0 o F1) que se solicite con objetivo de realizar algún tipo de investigación científica con alguna institución académica o de investigación, se deberá notificar a este Centro Nacional.

Características de los estadios larvales y su mantenimiento

En un ambiente estable, la mortalidad más alta de las formas inmaduras ocurre generalmente durante los dos primeros estadios larvales. Sin embargo, la mayoría de los hábitats de las larvas no son estables, son vulnerables a la desecación e inundación por lluvia.

El primer estadio larval es la forma en que eclosiona el huevo. Puede identificarse principalmente por la presencia del “diente de eclosión” en la parte dorsal de la cabeza, que, junto con el sifón, son característicamente blandos y transparentes (Fig. 4).



Figura 4. Morfología de las cuatro formas inmaduras de *Ae. aegypti*.

Los estadios posteriores se identifican por su tamaño y aspecto general. Durante el segundo estadio, inmediatamente después de la muda y al expandirse para permitir el subsecuente desarrollo, la cápsula cefálica y el sifón se endurecen y obscurecen, y la larva se desarrolla de uno a cinco milímetros en longitud.

Después del segundo estadio, la cápsula cefálica y el sifón no cambian de tamaño, pero el tórax y abdomen crecen considerablemente durante cada fase. El tercero y cuarto estadio son muy parecidos. Sin embargo, una larva completamente desarrollada del tercer estadio puede distinguirse de una larva del cuarto estadio, ya que en esta última la cabeza nunca se obscurece por completo y presenta rudimentos de las trompetas ventiladoras (Fig. 5).

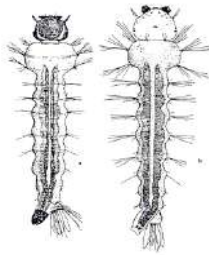


Figura 5. Características generales del tercer y cuarto estadio larval de *Ae aegypti*. (Christophers, 1960).

En la larva puede distinguirse una región anterior cefálica. En ella, destacan la presencia de un par de ojos, un par de antenas y el aparato bucal-filtrador. Los ojos tienen una función visual limitada, pero son sensibles y responden a estímulos o cambios de intensidad de luz. Las antenas cumplen funciones sensoriales y perciben la dirección de las corrientes de agua, así como cambios en los elementos químicos en ella. Las partes bucales presentan cerdas con las que atraen las partículas nutritivas a la boca por medio de corrientes generadas por su movimiento. Su fuente de alimentación se compone de microorganismos, particularmente bacterias, hongos y protozoarios, así como cualquier partícula de materia orgánica acumulada en las paredes y el fondo de los recipientes lo suficientemente pequeña para ser filtrada.^{12,13} La región torácica es ovoide y sin apéndices, pero puede distinguirse la presencia de cerdas cuya función se ha sugerido puede ser táctil, para detectar la dirección de las corrientes. El abdomen consta de ocho segmentos abdominales un sifón ventilador o placa y un segmento anal con las papilas. Las principales características morfológicas específicas que se utilizan para la identificación de *Ae aegypti* se presentan en la Fig. 6.

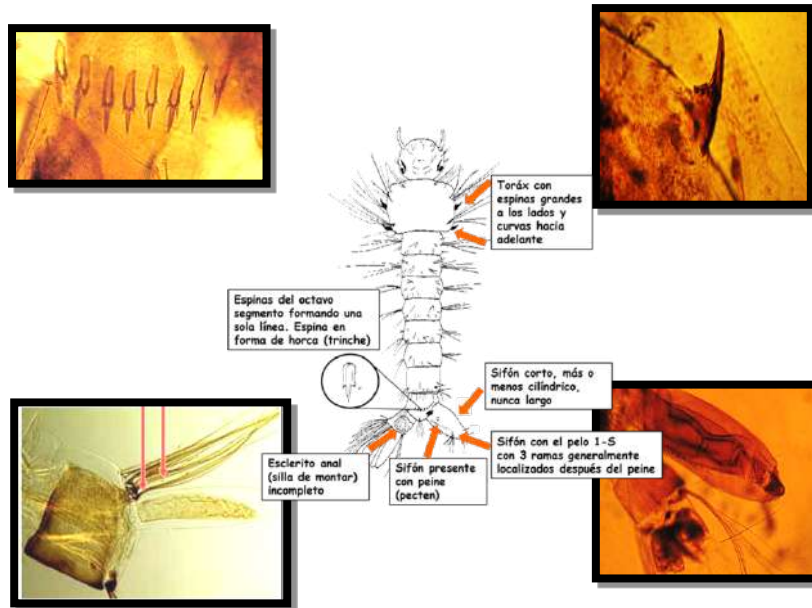


Figura 6. Taxonomía simplificada para identificar larvas de *Ae. aegypti*.

En esta fase es importante que se tenga en cuenta el espacio vital, de acuerdo al tamaño de las bandejas. El cálculo del espacio vital se debe realizar en el estadio I (ver siguiente sección), y debe considerarse el cuidado que hay que tener en esta etapa para la manipulación de las larvas. El ciclo larval dura de 5 a 8 días para esta especie, dependiendo de las condiciones del medio (temperatura, alimento, espacio). Las larvas se alimentan en la superficie y fondo de la charola. Pasados los cuatro estadios, la larva se convierte en pupa. Al final de cada estadio, la larva muda su exoesqueleto, para permitir la continuación del crecimiento. *Todas las charolas con larvas deberán estar cubiertas con malla para evitar contaminaciones ambientales de mosquitos provenientes de otras cepas que pudieran haber escapado.*

Alimentación de larvas

La alimentación larvaria es muy importante para la producción de mosquitos, esta debe ser adecuada y dependiente de la cantidad y tamaño de las larvas. La mayoría de las dietas tiene un alto contenido de proteínas y carbohidratos, y una baja proporción de grasas; además de vitaminas del complejo B y minerales. Un exceso de alimento puede ocasionar mortalidad debido a la formación de una película grasosa formada sobre la superficie que impide la respiración de la larva. A su vez, una escasez de alimento ocasiona una desnutrición en las larvas, prolongando el tiempo de desarrollo hasta adultos, los cuales, además, podrían alcanzar una talla pequeña. Los alimentos se esterilizan para evitar contaminaciones con microorganismos patógenos como son hongos y bacterias.



El alimento para larvas no debe manipularse directamente con la mano para rociarlo y distribuirlo en el contenedor de larvas, ya que estaría más expuesto a la contaminación, haciéndolo menos duradero. Además, utilizando este método, la cantidad y distribución del alimento pueden no ser las adecuadas. La larva aprovecha más el alimento cuando es pasado por un tamiz malla 30 y no de 100, ya que el producto de 100 es muy fino. Tomando en consideración que la larva se alimenta tanto en la superficie como en el fondo, es indispensable que el alimento se encuentre en ambas partes del contenedor de larvas. Un alimento más grueso resulta de menor posibilidad de ingesta a la larva ocasionando exceso de residuo en el fondo y a su vez ocasiona turbidez del agua y mortalidad.

La densidad larval se puede calcular de acuerdo a lo recomendado por Pérez y cols., 2004, en la cual hace referencia al Instituto Pasteur (1998), y mide en centímetros cuadrados el área de la bandeja ($A = \text{ancho} \times \text{largo}$) y al resultado se le aplica una regla de tres, tomando en cuenta una constante para *Ae aegypti* de 500 larvas en una superficie de 625 cm² y una profundidad de 1.5 a 2 cm. Respecto a este dato, cada técnico puede bajar la densidad poblacional por charola conforme vaya observando el desarrollo de las mismas, la cual es directamente proporcional a un tiempo más corto de desarrollo entre estadios, al igual que la cantidad óptima de alimento por larva. De acuerdo a la densidad larval se realizarán los cálculos para la dosificación óptima por charola. El esquema de alimentación se considera el seguido por Pérez y cols., (2004) y propuesto por Consoli y De Oliveira (1994), también usado por la CDC (de sus siglas en inglés *Centers for Disease Control and Prevention*) el cual provee buenos resultados de producción y un desarrollo sincronizado (Gerberg et al., 1994) (Cuadro 1).

Conforme las larvas aumentan su tamaño se puede distinguir el cambio de estadio al cual se le agregará la dosis de alimento correspondiente hasta llegar al IV estadio y se observe que las larvas empiecen a pupar. Se aconseja cambiar el agua el primer día en que empiecen a pupar, en caso de que el agua este un poco turbia, esto se hará con un colador.

Período (día)	Cantidad (mg) de alimento/larva	Cantidad (mg) por charola (200 larvas)*
0 -1	0.2 (día cero es el día de eclosión)	40
2	0.3	60
3	0.4	80
4-7	0.6	120

Cuadro 1. Descripción de la dosificación de alimento por mg/larva.
***El número puede variar de acuerdo a la densidad larvaria por recipiente.**

Preparación del alimento de inmaduros

1. Se tritura el alimento en un molino eléctrico, licuadora o de manera mecánica (mortero).
2. Posteriormente se pasa por un tamiz malla 30 (para eliminar partículas gruesas).
3. Se esteriliza en autoclave a 121°C durante un periodo entre 15 a 20 min. Se pesa la cantidad de alimento por charola en relación del estadio. Se alimentan 24 hrs y posteriormente se limpia el exceso de alimento en las charolas para una nueva alimentación, hasta llegar al periodo pupal.

Estadio pupal

La pupa, a diferencia de la larva, no se alimenta y su función es exclusivamente la metamorfosis de la larva a adulto. Tiene forma de “coma” cuando se observa posada la superficie (Fig. 7). En ella destaca la presencia de dos proyecciones originadas del tórax a manera de cuernos que son las trompetas ventiladoras por donde obtiene el aire atmosférico para la respiración. La porción terminal del cuerpo presenta unas placas anchas a manera de paletillas que le sirven para el desplazamiento (paletas natatorias).

A diferencia de la mayoría de las pupas de otros insectos holometábolos, las pupas de los mosquitos se desplazan activamente en el medio acuático, principalmente como reacción inmediata a los estímulos externos tales como las vibraciones o cambios en intensidad lumínica. Cuando las pupas están inactivas, se mantienen en la superficie del agua debido a su flotabilidad, propiedad que facilita la emergencia del imago. Esta etapa del ciclo de vida dura, aproximadamente, de dos a tres días.

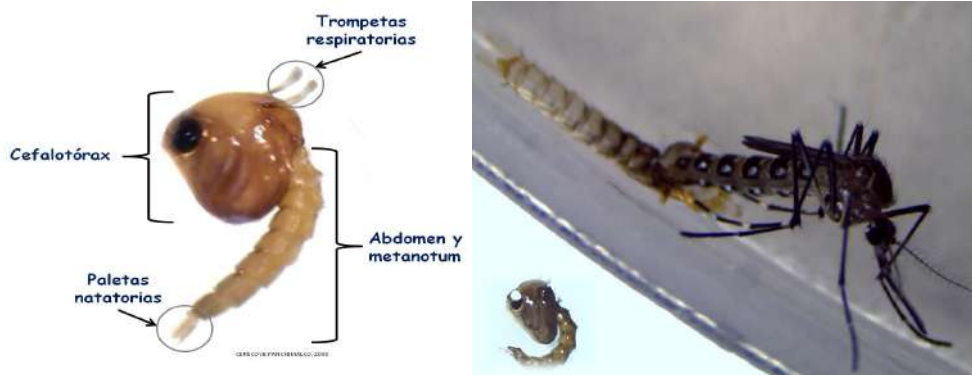


Figura 7. Morfología de pupa e imago (forma adulta) de *Ae. aegypti*. (UIEB Panchimalco-Morelos, SSM)

Tras unos días de metamorfosis, la parte dorsal del cefalotórax se rompe (ecdisis) y por la apertura surge el mosquito adulto (emergencia) (Fig. 7).

Mantenimiento del estadio pupal

En el insectario, las pupas se cuentan se transfieren diariamente para el control de la edad del mosquito. Se retiran con pipetas Pasteur desechables de plástico de 1, 1.5 o 3 ml y se colocan en un recipiente (Fig. 8) que será introducido en una jaula para espera de emergencia de los adultos, lo cual se lleva a cabo 48 horas después de haber pupado. Cuando la producción es muy alta, se recomienda un succionador por vacío o contador de pupas.



Figura 8. Transferencia y conteo de pupas.

Mantenimiento de la fase adulta

Para la cría de mosquitos adultos se pueden utilizar jaulas de diferentes medidas; una de las más utilizadas es la de 30 cm³ para una población de aproximadamente 500 ejemplares. La población de mosquitos debe ajustarse a la medida de la jaula. Por ejemplo: para una jaula de 30 cm³ la población total máxima debe ser de 800, con una proporción de 50% machos y 50% hembras, lo que asegura una adecuada reproducción (con un mantenimiento óptimo para la colonia) y buena producción de huevos, a fin de mantener la colonia (Fig. 9).



Figura 9. Jaulas de emergencia de 30 cm para mantener mosquitos en el insectario.

Después de la emergencia de los adultos, y antes de alimentar a las hembras, con el objetivo de lograr cada ciclo gonadotrófico, se debe garantizar el contacto entre hembras y machos (cópula), al menos por un periodo de 48 horas, para que ocurra la fecundación. Esto se debe cumplir tanto para una población nueva como para cualquier ciclo gonadotrófico de la vida de las hembras. Por tanto, de 2-3 días de edad, los mosquitos deben ser alimentados con sangre de mamífero para obtener la primera generación (F1).

Ovipostura

Una vez que la hembra se alimenta de sangre, después de 2-3 días la hembra ha madurado los huevos y está lista para la ovipostura. En condiciones naturales el período dura varios días y habitualmente la ovipostura se lleva a cabo durante el crepúsculo, siendo más marcado este patrón durante la época de lluvias³. Las hembras son capaces de recorrer distancias de poco más de 800 m para oviponer^{4,5}, y en caso de no tener acceso a los sitios de oviposición, la hembra puede retener sus huevos por muchos días⁶. La hembra coloca sus huevos en la interfase tierra-agua del sitio elegido, lugar donde el desarrollo embrionario se completa y se habla de huevos viables (Fig. 10). Si el ambiente es cálido y húmedo, la embriogénesis ocurre en 48 horas pudiendo prolongarse hasta cinco días a temperaturas más bajas. Pasado este período, la eclosión puede producirse en cualquier momento dependiendo de la temperatura del agua y la concentración de oxígeno^{7,8}. Cuando los huevos son eventualmente mojados, la acción bacteriana de la materia orgánica contenida en el agua disminuye la tensión de oxígeno y proporciona un estímulo para la eclosión⁹.

Algunos huevos hacen eclosión en los primeros 15 minutos de contacto con el agua, pero otros pueden no responder hasta que han sido mojados varias veces. No obstante, factores como la desecación, humedad constante, altas temperaturas o el manejo inadecuado, pueden tener efecto en la baja viabilidad de los huevos.¹⁰ También es común observar que los huevos presenten diapausa cuando las condiciones son adversas (sequías), pudiendo permanecer viables hasta 2 años¹¹.



Figura 10. Huevos viables de *Ae. aegypti* (UIEB Panchimalco-Morelos, SSM).

Alimentación sanguínea en insectario

Existen diversas técnicas para la alimentación sanguínea. En cualquiera se deberá retirar 1 a 2 horas previas el algodón con azúcar que hidrata la jaula de las hembras, de esta manera se asegura la alimentación de todas las hembras y la reducción del tiempo de exposición de la fuente sanguínea (conejo, cobayo, rata, ratón, etc.) (Fig. 11).

1. Para el caso de conejo, rasurar al mamífero en la región dorsal e inmovilizarlo sujetándole las extremidades.
2. Para ratas y cobayos se les rasura el pelo y se recomienda inmovilizarlas con un pedazo de tela adherido a las jaulas tipo tul o media, para meterlas completamente en la jaula.
3. Para ratones, a estos se les rasura la parte ventral y con un cartón cuadrado se le hace una perforación a la medida de la superficie rasurada del ratón para inmovilizarlo de las extremidades y fijarlo al cartón, creando una plancha que se colocará encima de la jaula con las hembras a alimentar.
4. Utilizar alimentadores artificiales con solución sanguínea preparada.



Figura 11. Técnicas de alimentación sanguínea.

En cualquiera de las técnicas se colocará la fuente sanguínea en el interior o sobre de la jaula durante 15 -30 min.

Para asegurar la alimentación de hembras nulíparas (mosquito que no ha puesto huevos), se aconseja alimentar otra vez al siguiente día. Como parte de la alimentación y evitar deshidratación, se coloca una solución azucarada al 10 % (agua más azúcar), puesta en torundas de algodón, que deben ser cambiadas diariamente, ya que son una fuente de contaminación si se utilizan por más días, además de ser atrayente para insectos rastreros.



Recolección de huevos

A las 72 horas post-alimentación sanguínea, en las jaulas con las hembras alimentadas, se colocará un recipiente con agua, el cual tendrá un sustrato que puede ser tela pellón, papel estraza o papel filtro (imitando el sustrato de sitios de oviposición naturales), para estimular a las hembras a la ovipostura. La cantidad de agua debe ser mínima para evitar que las hembras al oviponer se ahoguen, o bien, se pueden cortar círculos de los mismos sustratos en un recipiente húmedo, para disminuir la mortalidad de adultos por ahogamiento.

Los huevos ovipuestos en las tiras se incuban a una temperatura de 27–30 °C y a una humedad relativa de 70% (condiciones del insectario), entre 48–56 hrs. en el recipiente con agua, para favorecer la embriogénesis y diapausa sin que el agua cubra los huevos, solo para mantener húmeda la tira de papel. El recipiente se dejará 72 horas, al término de este tiempo se retira el sustrato y se deja secar en hilos tipo “tendedero” en condiciones de laboratorio, protegidos de la acción de las hormigas depredadoras, se guardan en recipientes cerrados y debidamente etiquetados (nombre de la cepa, número de filial y fecha de postura). Si todo este proceso se realiza adecuadamente, se resistirá la desecación por períodos de seis meses a un año.

12. Cepa de referencia

Es importante crecer y mantener cepas susceptibles (Nueva Orleans o Rockefeller), que servirán de referencia en los estudios programados de eficacia y resistencia biológica dentro de las UIEBs.

Deben ser mantenidas en espacios lejanos de las cepas locales y bien etiquetadas, para evitar contaminación de material biológico y conservar la pureza de la colonia. La crianza y manutención será según los pasos descritos anteriormente.

Si se sospecha de contaminación por transferencia de material biológico, la cepa tendrá que ser eliminada.



13. Referencias

1. OPS/OMS. 1983. Especificaciones generales para un insectario. Bogotá. Colombia. 2p.
2. Manual de la OMS. 1993. Laboratory biosafety manual. Invertebrates Second edition World Health Organizations. Geneva. 30-31P.
3. Honório N. A., da Costa Silva W., Leite P. J., Goncalves J. M., Lounibos L. P. y R. L. de Oliveira. 2003. Dispersal of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in an urban endemic dengue area in the state of Rio de Janeiro, Brazil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 98(2): 191-198.
4. Shannon y Putnam. 1934. The biology of *Stegomyia* under laboratory conditions. I the analysis of factors which influence larval development. Proc. Ent. Soc. Wash. 36:185-216.
5. Christophers, K. M. 1960. *Aedes aegypti* L. The yellow fever mosquito. Cambridge University Press. GB. 784 pps.
6. Hien, Do. Si. 1975. Biology of *Aedes aegypti* (L., 1762) and *Aedes albopictus* (Skuse, 1895) (Diptera: Culicidae). II Effect of environmental conditions on the hatching of larvae. Acta Parasitologica Polonica. 23(45): 537-552.
7. Edgerly J. S., McFarland M., Morgan P. y T. Livdahl. 1998. A seasonal shift in egg-laying behaviour in response to cues of future competition in a treehole mosquito. J. Animal Ecol. 67:805-818.
8. Bar-Zeev, M. 1958. Effect of the temperature on the growth rate and survival of the immature stages of *Aedes aegypti* (L.). Bulletin Entomological Research. 49: 157-163.
9. Rueda, L.; Patel, K. J.; Axtell, R. C.; Stinner, R. E. 1990. Temperature-dependent development and survival rates of *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* (Diptera:Culicidae). Journal of Medical Entomology. 27(5): 892-898.
10. Manrique-Saide, P.; Ibáñez-Bernal, s.; Delfín-González, H.; Parra, V. T. 1998. *Mesocyclops longisetus* effects on survivorship of *Aedes aegypti* immature stages in car tires. Medical Veterinary and Entomology. 12:386-390.
11. Wada. 1965. Effect of larval density on the development of *Aedes aegypti* (L.) and the size of adults. Quaestiones Entomologicae. 1:223-249.
12. Gerberg E. J., Barnard D. R. y Ward R. A. 1994. Manual for mosquito rearing and experimental techniques. AMCA Bulletin No. 5. Allen Press. Kansas, E. U. 98 pp.
13. Couret J, Dotson E, Benedict MQ (2014) Temperature, Larval Diet, and Density Effects on Development Rate and Survival of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). PLoS ONE 9(2): e87468. doi:10.1371/journal.pone.0087468



Anexos

Guía rápida de actividades de rutina en el insectario

Actividad	Recomendación
Verificar el volumen de agua de las charolas	<ul style="list-style-type: none"> El agua deberá tener una profundidad de 1.5 a 2 cm o más dependiendo de las charolas de eclosión. Cambiar en caso de estar muy sucia por exceso de alimento con ayuda de un sedal o tela tricot.
Alimentación de larvas	<ul style="list-style-type: none"> Tomar en el estadio de las larvas y la densidad por charola.
Siembra o distribución de larvas recién eclosionadas, si las hay	<ul style="list-style-type: none"> Dependiendo el área de las charolas se calculará la densidad multiplicando largo (cm) x ancho (cm), tomando como constante que 500 larvas de <i>Ae. aegypti.</i> son a 625 cm²,
Sacar pupas de charolas	<ul style="list-style-type: none"> Colocar en recipientes cubiertos con tul o introducir en jaulas. Etiquetar: origen, fecha.
Alimentación de mosquitos hembras con conejo fuente sanguínea (mamífero pequeño)	<ul style="list-style-type: none"> Hembras de al menos 3 días de edad (asegura cópula), retirar algodones 1 a 2 hrs antes.
Cambio de algodones a jaulas con adultos (azúcar al 10%)	<ul style="list-style-type: none"> Diariamente, para evitar contaminación con hongos o bacterias y deshidratación. A la hora de entrada y salida de la jornada laboral en el insectario.
Colocación de sustrato para ovipostura	<ul style="list-style-type: none"> Sumergir la tira de pellón, estroza o filtro en un recipiente con agua, observando que esté hidratado las 72 hrs que se dejará dentro de la jaula de las hembras con 3 días post-alimentación.
Retiro de sustrato, secado y almacenamiento	<ul style="list-style-type: none"> Se retira el pellón y se cuelga por 24 hrs para secar a temperatura dentro del insectario, posterior son guardados en recipientes debidamente etiquetados (fecha de término del proceso, generación de la colonia, cepa y número de huevos)



**GOBIERNO DE
MÉXICO**

SALUD
SECRETARÍA DE SALUD

CENAPRECE
CENTRO NACIONAL DE PROGRAMAS PREVENTIVOS
Y CONTROL DE ENFERMEDADES