

## Evaluación de tres dietas alimentarias para el período larval de *Aedes aegypti* en condiciones de laboratorio

### Assessment of three feeding diets for the *Aedes aegypti* larval stage under lab conditions

Dra. Omayda Pérez Insueta,<sup>I</sup> Ing. Cándida Forte Miranda,<sup>II</sup> Dr. C. Jorge Sarracent Pérez,<sup>I</sup> Dra. C. Hilda María Hernández Álvarez,<sup>I</sup> MSc. Jinnay Rodríguez Rodríguez,<sup>III</sup> Téc. Manuel Díaz Pérez,<sup>I</sup> Dr. C. Juan A. Bisset Lazcano,<sup>I</sup> Dra. C. María del Carmen Marquetti Fernández,<sup>I</sup> Dra. C. Lizet Sánchez Valdés<sup>I</sup>

<sup>I</sup> Instituto Medicina Tropical "Pedro Kourí". La Habana, Cuba.

<sup>II</sup> Centro para la Producción de Animales de Laboratorio. La Habana, Cuba.

<sup>III</sup> Centro de Inmunología Molecular. La Habana, Cuba.

---

#### RESUMEN

**Introducción:** la alimentación en el período larval del mosquito es sumamente importante, debido a que en esta etapa almacenan los nutrientes básicos para el desarrollo de la pupa y el adulto.

**Objetivo:** evaluar la calidad de tres dietas como fuente nutritiva y su influencia en el desarrollo de las fases preadultas de *Aedes aegypti*.

**Métodos:** se evaluaron tres dietas en el insectario del Instituto "Pedro Kourí", concentrado CENPALAB, elaborado en el Centro para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB), levadura torula, subproducto de la caña de azúcar (ambas de producción nacional) y harina de pescado, producto de importación.

Previamente, se determinó la calidad higiénica-microbiológica y química nutricional de las dietas. Se evaluaron variables biológicas como el número de pupas diarias por alimentos y la duración del ciclo larval; se determinó la cantidad de proteínas presentes en las larvas alimentadas con cada dieta, mediante el método de Lowry.

**Resultados:** la calidad higiénica-microbiológica, así como la caracterización química nutricional de los 3 alimentos evaluados, aportaron resultados satisfactorios para el desarrollo de la investigación. Los valores mayores en la concentración de proteínas y en la actividad biológica en la fase larval del mosquito se obtuvieron con la harina de pescado. No se encontraron diferencias significativas en la concentración de proteínas entre las dietas en los primeros días del período larval, A partir del quinto hasta el séptimo día de vida, la harina de pescado fue

superior al concentrado CENPALAB. La emergencia de pupas comenzó al sexto día para todas las dietas, obteniéndose el pico más alto al séptimo día con diferencias entre estas. El ciclo larval duró de 7 a 8 días.

**Conclusiones:** se sugiere la utilización de las dietas de producción nacional en situaciones que lo requieran por carencia de la dieta importada, para no detener el desarrollo de las investigaciones.

**Palabras clave:** dietas alimentarias, período larval, *Aedes aegypti*, concentración de proteínas.

---

## ABSTRACT

**Introduction:** feeding mosquitoes during the larval stage is an important process, since it is the stage in which basic nutrients are stored for the subsequent development of pupas and adults.

**Objective:** to evaluate both the quality of three diets as nutritional source and the influence these diets have on the development of the *Aedes aegypti* in its pre-adult stage.

**Methods:** three different diets were evaluated at the Insectarium of the "Pedro Kourí" Tropical Medicine Institute in Havana, Cuba. The diets evaluated were: *CENPALAB Food Concentrate*, elaborated at the Center for Laboratory Animal Production (CENPALAB, Spanish acronym) and *torula yeast*, a sugar cane byproduct (both of them from domestic production) as well as *fish flour*, an imported product. First, the hygienic-microbiological and the chemical nutritional qualities of these diets were determined. Some biological variables were also evaluated such as the number of pupae per food and the duration of the larval cycle. By means of the Lowry method, the amount of proteins present in larvae fed with each diet was measured.

**Results:** the hygienic-microbiological as well as the chemical nutritional characterization of the three different foods evaluated showed satisfactory results for the development of the research process. The highest values of protein concentration and of biological activity during the mosquito larval stage were obtained with fish flour. There were no significant differences in protein concentration among the diets during the first days of the larval stage. From the fifth to the seventh day of life, the protein concentration with fish flour was higher than that of the CENPALAB Food Concentrate. The emergence of pupae started on the sixth day for all the diets, reaching the highest peak on the seventh day, with some differences among diets. The larval cycle lasted 7 to 8 days.

**Conclusions:** the use of domestic-made diets is recommended in situations where imported food lack, so that the development of research work can proceed.

**Key words:** food diet, larval stage, *Aedes aegypti*, protein concentration.

---

## INTRODUCCIÓN

El insectario del departamento control de vectores del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" se dedica a la colonización de algunas especies de insectos que

---

resultan de interés para las investigaciones médico-epidemiológicas, directamente vinculadas a los programas nacionales de salud del país.

Una de las especies que se cría es *Aedes aegypti*, reconocido vector de dengue en el mundo,<sup>1</sup> para llevar a cabo investigaciones de laboratorio relacionadas con su biología, genética y pruebas de susceptibilidad o resistencia a los diferentes insecticidas utilizados en Cuba. Su cría se basó en técnicas de manejo y condiciones ambientales uniformes, con el propósito de obtener un material biológico de óptima calidad, que permita el desarrollo de las investigaciones.<sup>2,3</sup> Para lograr este propósito es indispensable disponer de alimentos con adecuadas condiciones sanitarias que aporten nutrientes esenciales para el desarrollo de los primeros estadios de vida. Los concentrados proteicos de origen animal constituyen los alimentos de elección durante la etapa larval, los que debido a las limitaciones actuales de importaciones pudieran detener esta actividad.

*Consoli y De Oliveira*<sup>4</sup> plantean que el alimento en el período larval del mosquito es sumamente importante, debido a que en esta etapa almacenan los nutrientes básicos como proteínas y glicógeno que son fundamentales para los estadios de pupa y adulto.

Existe una variedad de dietas elaboradas con ingredientes de diferente naturaleza<sup>5,6</sup> en las cuales predomina un alto contenido de proteínas y carbohidratos y una baja proporción de grasas, además de levaduras, vitaminas del complejo B y minerales.<sup>7,8</sup>

*Asahina*<sup>5</sup> plantea que la fisiología nutricional de las larvas de mosquitos está bien estudiada, en particular en *Ae. aegypti*, resultando las proteínas, los carbohidratos, la grasa, las vitaminas y los minerales indispensables para el crecimiento de larvas, pupas y emergencia de adultos en condiciones asépticas.

El objetivo del presente trabajo estuvo en evaluar 3 dietas alimentarias, en la etapa larval de *Ae. aegypti*, con el propósito de medir el aporte al desarrollo de esta especie en el laboratorio.

## MÉTODOS

### *Condiciones ambientales y nutrientes*

El estudio se realizó en el insectario del departamento control de vectores, Instituto «Pedro Kourí», bajo condiciones estándar de laboratorio: humedad relativa (HR)  $70 \pm 5$  %, temperatura  $26 \pm 2$  °C, y fotoperíodo de 10 h de luz y 14 h de oscuridad.

Se utilizaron 3 dietas diferentes para la alimentación de la fase inmadura del mosquito:

1. Concentrado completo CENPALAB, elaborado en el departamento de dietética del Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB): nueva formulación producida por este centro con los requerimientos nutricionales de la especie.
2. Levadura torula: subproducto de la caña de azúcar elaborada a partir de la miel final de la caña, en los molinos de los centrales azucareros de las provincias centrales del país.

3. Harina de pescado importada: alimento de origen animal que tradicionalmente se utiliza en nuestras investigaciones.

#### *Preparación del material biológico*

Se tomaron individuos (larvas) obtenidos de huevos de una misma generación de *Ae. aegypti*. Las tiras de papel con esos huevos se sumergieron en bandejas con agua de clorinada (300 ml) a 37 °C por 24 h. Pasado este tiempo, se procedió, por medio de un microscopio estereoscópico, a contar 170 larvas en primer instar, para cada réplica (3 réplicas por cada alimento) de acuerdo con el espacio vital para la bandeja de cría escogida de un área de 231 cm<sup>2</sup>. Las larvas se alimentaron con las 3 dietas según la dosis descrita por *Consoli y De Oliveira*,<sup>4</sup> con la modificación de no adicionar la levadura el tercer día de vida (tabla 1). Terminada la etapa larval, se procedió a contar el número de pupas por día.

**Tabla 1.** Dosis de alimentos según el período larval de los culicidos

Período (días )	Cantidad de alimento mg/larva
Día de eclosión	0,2
1	0,2
2	0,3
3	0,4
4-7	0,6

Fuente: Consoli e De Oliveira<sup>4</sup>

#### *Balance nutritivo y toxicológico de las dietas*

Los análisis químicos nutricionales de los alimentos se realizaron en el laboratorio de bromatología (LBV) adjunto al Instituto de Medicina Veterinaria de Cuba, acorde con los métodos oficiales de análisis químico<sup>9</sup> y a la metodología AOAC,<sup>10</sup> teniendo en cuenta los requisitos básicos establecidos.

Los alimentos utilizados en la investigación no eran tóxicos, según estudio previo realizado por el Instituto de Nutrición (Laboratorio de Contaminantes Metálicos y Aditivos Alimentarios) (tabla 2).

**Tabla 2.** Evaluación de la presencia de nitrito de sodio en las dietas estudiadas

Muestras	Nitrito de sodio (mg/kg)
Harina de pescado	< 1
Levadura torula	< 1
Concentrado CENPALAB	< 1

#### *Análisis microbiológico de los alimentos*

El análisis microbiológico de las diferentes dietas se realizó según lo descrito en las normativas nacionales;<sup>11</sup> utilizándose medios de cultivos para el aislamiento de microorganismos específicos para estas valoraciones: a) microorganismo viable, b) microorganismos coliformes totales, c) microorganismos coliformes fecales, d) microorganismos proteolíticos, e) hongos, f) *Salmonella* y *Shigella* spp. Los

resultados se expresan en unidades formadoras de colonias de material sólido (UFC/g) para todos los microorganismos excepto *Salmonella* y *Shigella* ssp. que se enuncia presencia o no de estos.

#### *Cálculo de la concentración de proteínas*

La concentración de proteínas de las larvas se determinó por el método de *Lowry*,<sup>12</sup> para lo cual, de cada bandeja se tomaron 25 larvas en los días tercero y cuarto, y 10 en el quinto, sexto y séptimo. Se homogenizaron en placas de micro Elisa, con un macerador de larvas, en 200  $\mu$ l en solución alcalina (20 g de carbonato de sodio anhidro y 4 g NaCl por litro de agua destilada). El producto macerado se colocó en tubos de cristal con 5 ml de la misma solución donde permanecieron toda la noche. Posteriormente, las muestras se centrifugaron a 400 *g*, por 10 min. Con el sobrenadante se realizó la determinación de proteínas, la lectura se efectuó en un espectrofotómetro a 650 nm; las concentraciones se expresaron en  $\mu$ g/mL.

#### *Aspectos biológicos evaluados*

Al mismo tiempo, se evaluó la emergencia de pupa y el tiempo de duración del ciclo larval. En la etapa de pupa se tomaron los datos del comienzo y la terminación, así como la cantidad por día de este estadio pre-adulto. Finalmente, se midió el tiempo transcurrido desde la eclosión del huevo hasta la terminación de la fase inmadura.

#### *Análisis de los datos*

Se aplicó Anova de un factor ( $p < 0,05$ ), para conocer las diferencias generales entre las medias de concentraciones de proteínas en larvas y pupas, y la prueba Tukey HSD para identificar diferencias entre las dietas. Este mismo estadígrafo se utilizó para determinar diferencias en el número de pupas que emergieron, por dietas. El análisis de los resultados se realizó con el programa SPSS versión 11.5.1.

## **RESULTADOS**

#### *Estudios químicos nutricionales de las dietas*

En la tabla 3 aparecen los resultados químicos nutricionales de las 3 dietas evaluadas.

#### *Evaluación higiénico-microbiológica de las dietas*

Las características higiénicas microbiológicas de las dietas fueron medidas a través de las normativas establecidas y los resultados expresan parámetros permisibles para el desarrollo de la investigación (tabla 4).

Tabla 3. Aportes nutritivos de las dietas utilizadas en el estudio

Principios nutritivos	Dieta levadura torula	Dieta concentrado CENPALAB	Dieta harina pescado
Materia seca %	95	92,00	91,50
Proteína bruta %	45	60,00	50,75
Grasa bruta %	1,55	12,00	7,22
Fibra bruta %	0,97	1,00	1,57
Energía metabolizable (kcal/g)	3,10	3,24	3,35
Ca %	0,4	4,00	3,90
P %	1,7	2,20	2,15
Ca/P %	0,24	1,81	1,81
NaCl %	-	2,50	1,77
Metionina %	0,42	0,50	1,00
Lisina %	1,55	1,73	2,01
Arginina %	1,58	1,61	1,77
Triftofano %	0,32	0,31	0,35
Cistina %	0,38	0,30	0,40
Treonina %	0,92	0,86	1,06
Tirosina %	0,59	0,54	0,64
Leucina %	1,89	1,86	1,92
Metionina más lisina	1,94	2,23	3,01

Tabla 4. Características higiénico-microbiológicas de las tres dietas estudiadas

Agentes aislados	Límites microbiológicos Aceptabilidad (NC4= 1998) <sup>11</sup>	Harina pescado	Levadura torula	Concentrado CENPALAB
Microorganismos viables (UFC)	$4 \times 10^6$	$1 \times 10^4$	$10^4$	$10^4$
Microorganismos coliformes totales (UFC)	$10^4$	$1 \times 10^2$	$10^2$	$10^2$
Microorganismos coliformes fecales	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Microorganismos proteolíticos (UFC)	$5 \times 10^5$	$1 \times 10^3$	$10^3$	$10^3$
Hongos (UFC)	$10^5$	$1 \times 10^2$	$10^2$	$10^2$
<i>Salmonella</i> y <i>Shigella</i> *	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

UFC/g: unidades formadoras de colonias de material sólido/gramos.

\* Presencia en 25 g de las dietas.

#### Concentración de proteínas durante el ciclo larval de *Aedes aegypti*

La concentración de proteínas en las larvas de *Aedes aegypti* muestra un comportamiento ascendente durante el ciclo de vida, se observan valores mayores en la dieta con harina de pescado en relación con el concentrado CENPALAB y levadura torula (tabla 5).

**Tabla 5.** Comportamiento de la concentración de proteínas ( $\mu\text{g/mL}$ ) en larvas con las dietas estudiadas

Período larval (día)	Levadura torula		Concentrado CENPALAB		Harina de pescado	
	Promedio	DE	Promedio	DE	Promedio	DE
Tercero	20,85	1,75	24,05	1,95	22,92	2,71
Cuarto	26,15	3,51	30,83	3,00	32,00	1,96
Quinto	21,64	3,00	24,39	2,74	27,59	3,25
Sexto	28,06	1,05	33,37	1,96	35,61	2,02
Séptimo	30,41	1,91	42,97	3,03	47,46	3,46

*Concentración de proteínas en larvas alimentadas con las tres dietas*

La comparación de las medias de concentración de proteínas en las larvas alimentadas con las diferentes dietas, muestran que en las primeras etapas de la vida (tercer y cuarto día) no hay diferencia con ninguno de los alimentos utilizados con  $p > 0,21$ . A partir del quinto día de vida comienzan a evidenciarse las diferencias, observándose también al sexto y séptimo día.

En el quinto día de vida se encontró entre la levadura torula y la harina de pescado diferencias, con  $p < 0,003$ , sin embargo, entre el concentrado CENPALAB y la harina de pescado no hay diferencia con  $p > 0,154$ .

En el sexto día de vida, hay diferencia entre los grupos (harina de pescado, levadura torula y concentrado CENPALAB) con  $p < 0,001$  a favor de la harina de pescado. Entre la levadura torula y la harina de pescado hay diferencia ( $p < 0,001$ ), al igual que entre el concentrado CENPALAB con respecto a la harina de pescado ( $p < 0,043$ ).

De igual manera, al séptimo día de vida se obtuvieron diferencias entre las dietas ( $p < 0,001$ ). Al comparar la levadura torula con la harina de pescado se observan diferencias  $p < 0,001$ , y al comparar esta última con el concentrado CENPALAB se obtuvieron diferencias para  $p < 0,023$ .

La aparición de las pupas comenzó al 6to día de eclosión del huevo en las poblaciones alimentadas con las 3 dietas, obteniéndose el pico más alto al séptimo día con diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) entre dietas. La levadura torula ( $\bar{x} = 60$ ) y el concentrado CENPALAB ( $\bar{x} = 74$ ) muestran diferencias con respecto a la harina de pescado ( $\bar{x} = 90$ ) para  $p < 0,001$  y  $p < 0,021$ , respectivamente.

El ciclo larval duró entre 7 y 8 días, con las 3 dietas, mientras que la duración entre la eclosión de los huevos y la última aparición de pupas con harina de pescado fue el día 12 y con el resto de las dietas el 13 (Fig.).

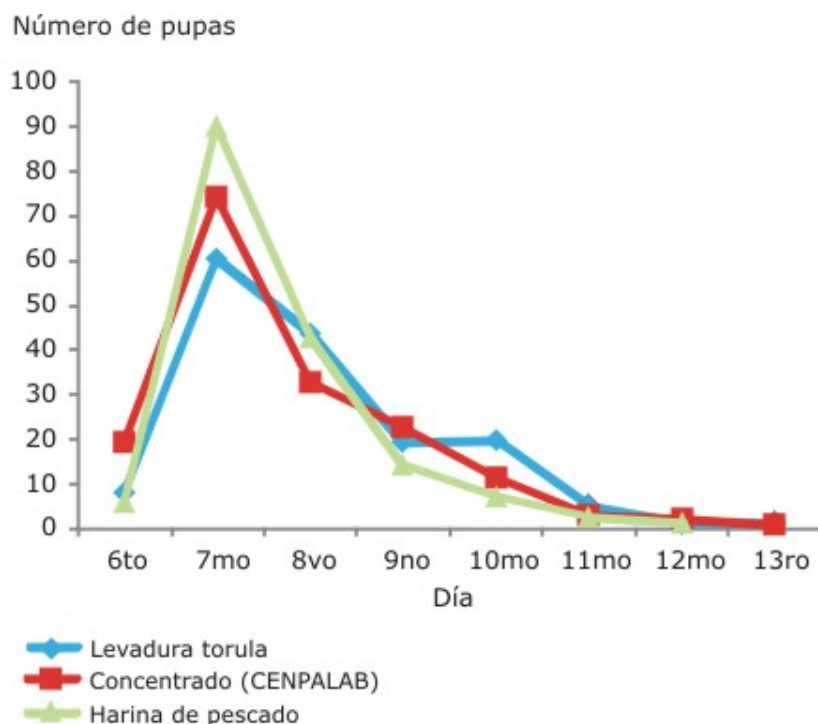


Fig. Pupas por días después de la eclosión de los huevos con las tres dietas utilizadas.

## DISCUSIÓN

En los insectos holometábolos, el período de mayor alimentación y crecimiento ocurre en la fase larval, debido que en estos estadios se acumulan las mejores reservas metabólicas para ser utilizadas por el adulto.<sup>13</sup> Según *Aparna*<sup>14</sup> y otros, la alimentación que se proporciona en la fase larval es la que estimula la ovogénesis y las hormonas que regulan este proceso. Otros autores con experiencias en el trabajo de insectarios consideran que no solo la calidad de la dieta es importante, sino también la cantidad.<sup>15</sup>

Los resultados de la caracterización químico nutricional de los 3 alimentos evaluados son adecuados desde el punto de vista nutricional. Nuestros resultados coinciden con los obtenidos por *Hinmann*<sup>16</sup> en estudios nutricionales en la fase larval del mosquito donde se determinaron los requerimientos para culícidos. Trabajos similares realizados por *Asahina*<sup>5</sup> apoyan también este resultado.

Los controles microbiológicos aplicados a los alimentos proporcionaron resultados permisibles para el desarrollo de la investigación, teniendo en cuenta las normas cubanas de dietas de animales de laboratorio y los requisitos microbiológicos.<sup>11,17</sup>

En las primeras etapas de vida de los individuos no hubo diferencias significativas en cuanto a la concentración de proteínas para ninguna de las dietas, la variación comienza a manifestarse el quinto día de vida, período en el cual el mosquito comienza a almacenar la mayor cantidad de nutrientes que va ser utilizada en la etapa de pupa y adulto.



*Van Handel Emile*<sup>18</sup> realizó estudios en varias especies de culícidos (*Ae. aegypti* (Linnaeus), *Culex nigripalpus* (Theobald) y *Culex quinquefasciatus* (Say)), con el objetivo de determinar el crecimiento de las larvas midiendo la acumulación de proteínas. Durante los primeros 3 días *Ae. aegypti* acumuló mayor cantidad de proteínas, a diferencia de las otras dos especies, sin embargo, a partir del tercer día hasta el quinto la acumulación de proteínas fue similar en las 3 especies.

A pesar de que la harina de pescado contiene menor cantidad de proteína bruta que el concentrado CENPALAB con esta se obtuvo la mayor concentración en las larvas alimentadas. Esa diferencia se justifica por el elevado valor biológico de la harina de pescado, lo que está dado por el aporte significativo de aminoácidos esenciales para la especie, que no pueden ser sintetizados a partir de otras fuentes de alimentos; también posee una elevada digestibilidad, lo cual hace que sea utilizado eficientemente como fuente de aminoácidos esenciales y nitrógeno requeridos para el metabolismo. El concentrado CENPALAB tiene mayor contenido de proteína bruta, pero posee menor valor biológico y digestibilidad,<sup>9</sup> aunque también favorece el desarrollo de esta etapa del mosquito.

En el caso de la levadura torula, subproducto de la caña de azúcar, no proporcionó muy buenos resultados, lo que pudiera estar dado por los nutrientes (origen vegetal) que no son suficientes para el desarrollo final de esta etapa del insecto.

El adecuado suministro de alimentos favoreció el crecimiento uniforme de las larvas y que el agua de cría se mantuviera limpia, excepto en el alimento levadura torula que por sus características higroscópicas (absorber la humedad del medio ambiente) provoca turbidez al medio, aspecto este no idóneo para la cría de *Ae. aegypti* lo que puede interferir en la respiración y provocar la muerte de las larvas.<sup>2,8,19</sup> Con esta dieta, a pesar de que se alcanzaron buenos niveles de supervivencia, el fenómeno de turbidez del medio no debe subestimarse.

El comportamiento de la aparición de pupas al sexto día coincide con otros investigadores.<sup>18</sup> Según *Montero*, la temperatura, la disponibilidad de alimento y la densidad larval en el recipiente, son parámetros fundamentales en esta fase del desarrollo del mosquito.<sup>19</sup>

El tiempo de duración del ciclo larval se comportó entre 7 y 8 días con las 3 dietas estudiadas, mientras que la duración entre la eclosión de los huevos y la última aparición de pupas con harina de pescado fue al día 12 y con el resto de las dietas el día 13. Estos resultados coinciden con lo planteado por otros investigadores quienes han reportado duración total del ciclo en un rango de 8 a 15 días.<sup>4,20-24</sup>

A pesar de que la harina de pescado resultó ser la de mejores resultados, tanto en la concentración de proteínas en las larvas como en aspectos biológicos, en esta fase del mosquito no se deben descartar las otras 2 dietas evaluadas, en momentos de carencia de esta para no afectar el desarrollo de investigaciones. Sin embargo, hay que tener en cuenta que la levadura torula solo se sugiere su empleo en los primeros tiempos de vida hasta el quinto día, o sea, hasta el tercer estadio tardío para estudios de susceptibilidad o resistencia a insecticidas. Además, se debe tener en cuenta que no se obtendrán adultos adecuados para estudios posteriores, porque su calidad depende de las reservas de nutrientes acumulados en la fase larval. *Briegel*<sup>25</sup> demostró que el total de proteínas acumuladas está correlacionada con la talla del adulto, y porque estas representan el principal componente en ese estado del insecto.

Se sugiere la utilización de las dietas de producción nacional en situaciones que lo requieran por carencia de la dieta importada, para no detener el desarrollo de las investigaciones.

## AGRADECIMIENTOS

A todos los especialistas del Laboratorio de Contaminantes metálicos y Aditivos alimentarios, a las licenciadas Idalmis Cabrera Díaz e Iraida Rubí Villazón del Instituto de Nutrición.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mezquita-Rodríguez, Cuervo P, Masini d'Avila, Alves N, Barbosa G, Batista J. Expression of trypsin-like serine peptidases in pre imaginal stages of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) [cited 19 Sep 2011]. Available at: [http://www.biomedexperts.com/Abstract.bme/21308760/Expression\\_of\\_trypsin-like\\_serine\\_peptidases\\_in\\_pre-imaginal\\_stages\\_of\\_Aedes\\_aegypti\\_Diptera\\_Culicidae](http://www.biomedexperts.com/Abstract.bme/21308760/Expression_of_trypsin-like_serine_peptidases_in_pre-imaginal_stages_of_Aedes_aegypti_Diptera_Culicidae)
2. Pérez O, Rodríguez J, Bisset JA, Leyva M, Díaz M, Fuentes O, et al. Manual de indicaciones técnicas para insectarios. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2004. p. 1-58. ISBN 959-212-147-8.
3. Alarcón Elbal PMI, Delacour SI, Pinal RI, Ruiz-Arrondo II, Muñoz AI. Establecimiento y mantenimiento de una colonia autóctona española de *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* Skuse, 1894 (Diptera: Culicidae) en Laboratorio [cited 13 Dic 2011]. Disponible en: <http://www.socepa.es/revista/spip.php?article56>
4. Consoli Rotraut AGB, De Oliveira RL. Principais mosquitos de importancia sanitária. Brazil: Editora Fio Cruz; 1994. p. 228.
5. Asahina S. Food and feeding procedures for mosquito, larva. Bull World Health Org. 1964;31:465-6.
6. Gahan J. *Anopheles quadrimaculatus* Say. In: Smith CN, editor. Insect colonization and mass production. New York: Academic Press; 1966. p. 618.
7. Singh KRP, Brown AWA. Nutritional requirements of *Aedes aegypti*. L. J Insect Physiol. 1957;1:199-220.
8. Avila J, Segnini S, Rossel O. Metodología para la cría de *Anopheles nuñeztovari*. Gabaldon 1940 (Diptera:Culicidae). Bol Entomol Venez NS. 1993;8:19-31.
9. Despaigne JM, Lannes M, Chávez JL. Características nutritivas de los principales alimentos y aditivos utilizados en la alimentación de los animales. La Habana: Instituto Superior Ciencias Agropecuarias de La Habana, Departamento de Nutrición y Alimentación Animal; 2000. p. 32-4.

10. AOAC. Official Methods of Analysis. Animal Feeds. 18<sup>th</sup> ed. Vol. 3. Virginia, USA: Association of Official Analytical Chemists; 2005. p. 70-85.
11. NC4. Alimentos para animales de laboratorio. Requisitos microbiológicos y métodos de ensayo. La Habana, Cuba; 1998.
12. Lowry O, Roselrough NJ, Farr LA, Randal RI. Protein measurement with the folín phenol reagent. J Biol Chem. 1951;193:265-7.
13. Timmermann SE, Briegel H. Effect of plant, fungal and animal diets mosquitoes. [cited 5 Abr 2011]. Available at: <http://www.springerlink.com/contrat/r81h342561g1187x/>
14. Aparna T, Li YG, Noruga F G, Brown M R. Effects of larval nutrition on the endocrinology of mosquito egg development [cited 5 Abr 2011]. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16449559>
15. Hawel P, Wilkins L. MR4. Methods in *Anopheles* Research.2.3. Modifying Fecundit, Longevity and size. Atlanta: CDC; 2006. p. 1-6.
16. Hinmann EH. A study of the food of mosquito larvae (Culicidae) [cited 5 Abr 2011]. Available at: <http://aje.oxfordjournals.org/content/12/1/238.extract>
17. NC. Norma Cubana. Contaminantes Microbiológicos. Requisitos Sanitarios. Edición 2. La Habana: Cuban National Bureau of Standards; 2007.
18. Van Handel E. Growth of three mosquitoes on two larval diets measured by protein accumulation. J Am Mosq Control Assoc. 1986; 2:289-91.
19. Montero G. Blog FCA/UNR. Biología del *Aedes aegypti*. Ing AGR. Género, Biología, Ecología [citado 10 May 2011]. Disponible en: <http://www.fcagr.unr.edu.ar/blog/?p=29>
20. Chaverri G. Especies de Costa Rica. *Aedes aegypti* (L), 2001. INBIO. Instituto Nacional de Biodiversidad [citado 10 May 2011]. Disponible en: <http://darnis.inbio.ac.cr/ubis/FMPro?-DB=UBIPUB.fp3&-lay=WebAll&-error=norec.html&-Format=detail.html&-Op=eq&id=2625&-Find>
21. Marquetti MC. Aspectos bioecológicos de importancia para el control de *Aedes aegypti* y otros culícidos en el ecosistema urbano [Tesis para optar por el grado de Doctor en Ciencias de la Salud]. La Habana: IPK, Editorial Universitaria; 2006. ISP978-959-16-67543-6;2008.p.186 [citado 10 May 2011]. Disponible en: <http://tesis.repo.sld.cu/49/1/9789591607546.pdf>
22. Salvatella R. *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) y su papel como vector en las Américas. La situación en el Uruguay [citado 5 Oct 2011]. Disponible en: <http://www.bvsde.paho.org/bvsasv/fulltext/aede.pdf>
23. Marquetti MC, Valdés V, Aguilera L. Tipificación de hábitats de *Aedes albopictus* en Cuba y su asociación con otras especies de culícidos, 1995-1998. Rev Cubana Med Trop. 2000;52:120-4.

24. Cabezas C. Dengue en el Perú. Aportes para su diagnóstico y control [citado 10 May 2011]. Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/pdf/363/36322309.pdf>

25. Briegel H. Physiological bases of mosquito ecology. J Vec Ecol. 2003;28(1):1-11.

Recibido: 2 de marzo de 2012.

Aprobado: 25 de septiembre de 2012.

*Omayda Pérez Insueta*. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". Autopista Novia del Mediodía km 6½, e/ Carretera Central y Autopista de Pinar del Río. AP 601. CP 11300. La Lisa. La Habana, Cuba. Correo electrónico: [omayda@ipk.sld.cu](mailto:omayda@ipk.sld.cu)