

Eficacia del aceite esencial del *Citrus aurantifolia* y de *Ricinus communis* sobre larvas de *Aedes aegypti* comparado con temephos, in vitro

Elianna P. Vidal-Villacorta¹
Misael Y. Villacorta-González²

Fecha de recepción: 19 de marzo, 2019

Fecha de aprobación: 15 de setiembre, 2021

DOI: <https://doi.org/10.18050/ucvscientiabiomedica.v4i3.02>

Como citar: Vidal-Villacorta EP, Villacorta-González MY. Eficacia del aceite esencial del *Citrus aurantifolia* y de *Ricinus communis* sobre larvas de *Aedes aegypti* comparado con temephos, in vitro. UCV Sci. Biomed. 2021; 4(3): 23-34 DOI: <https://doi.org/10.18050/ucvscientiabiomedica.v4i3.02>

Derechos de reproducción: Este es un artículo en acceso abierto distribuido bajo la licencia CC



¹Universidad César Vallejo (Perú). ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5728-8768>

²Universidad César Vallejo (Perú). correo. mvillacorta@ucv.edu.pe ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5346-4824>

Eficacia del aceite esencial del *Citrus aurantifolia* y de *Ricinus communis* sobre larvas de *Aedes aegypti* comparado con temephos, in vitro

Elianna P. Vidal-Villacorta¹
Misael Y. Villacorta-González²

Resumen

El objetivo principal fue determinar la eficacia del aceite de *Citrus aurantifolia* emulsificado con aceite de *Ricinus communis* como larvicida sobre larvas del *Aedes aegypti* en estadio III. La población estuvo conformada por 103 larvas de *Aedes aegypti* en estadio III, se utilizó un instrumento de recolección de datos validados por expertos, donde se registraron los valores de concentraciones usadas, tiempos, temperatura, número de individuos muertos y porcentaje de mortalidad. Las variables analizadas fueron, independientes: el aceite esencial *Citrus aurantifolia* y temephos; y dependientes la eficacia larvicida. Los resultados obtenidos demuestran la eficacia de la solución de *Citrus aurantifolia* como larvicida ante larvas en estadio III de *Aedes aegypti*, con una concentración letal para matar al 50% de larvas, CL50, de 0,54 g/litro. Se determinó que el aceite esencial de *Citrus aurantifolia* (limón), es más eficaz (128,75%) como larvicida sobre las larvas del *Aedes aegypti* (estadio III) que el temephos (1,03%). La tasa de mortalidad de las larvas de *Aedes aegypti* (estadio III) usando aceite de *Citrus aurantifolia* al 0,08%, a las 24 horas fue del 100%; igual a la tasa de mortalidad alcanzada usando temephos al 1%. La concentración al 0,08% logro alcanzar a las 24 horas el 100% de tasa de mortalidad, igualando al porcentaje de mortalidad del temephos al 1%. A un nivel de significancia del 0,05 (95%) el valor p obtenido fue de 0,012 en consecuencia ($p < 0,05$), por lo cual se rechaza la H_0 y se acepta la H_1 : la eficacia larvicida del aceite esencial del *Citrus aurantifolia* es mayor al temephos sobre las larvas del *Aedes aegypti* en estadio III, estudio in vitro. Así mismo existe un alto grado de correlación, 0.864 entre las variables analizadas, muy cercana a la unidad.

Palabras clave: *Citrus aurantifolia*, larvicida.

¹Universidad César Vallejo (Perú). ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5728-8768>

²Universidad César Vallejo (Perú). correo. mwillacorta@ucv.edu.pe ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5346-4824>



Efficacy of the essential oil of *Citrus aurantifolia* and *Ricinus communis* on larvae of *Aedes aegypti* compared with temephos, in vitro

Elianna P. Vidal-Villacorta¹
Misael Y. Villacorta-González²

Abstract

The main objective of the present investigation was to determine the efficacy of *Citrus aurantifolia* oil as a larvicide on *Aedes aegypti* larvae in stage III. The population consisted of 103 larvae of *Aedes aegypti* in stage III, an instrument of data collection validated by experts was used, where the values of concentrations used, times, temperature, number of dead individuals and percentage of mortality were recorded. The variables analyzed were independent: the essential oil *Citrus aurantifolia* and temephos; and dependent on larvicidal efficacy. The results obtained demonstrate the efficacy of the solution of *Citrus aurantifolia* as a larvicide against stage III larvae of *Aedes aegypti*, with a lethal concentration to kill 50% of larvae, LC50, of 0,54 g / liter. It was determined that the essential oil of *Citrus aurantifolia* (lemon) is more effective (128,75%) as a larvicide on *Aedes aegypti* larvae (stage III) than temephos (1,03%). The mortality rate of *Aedes aegypti* larvae (stage III) using 0,08% *Citrus aurantifolia* oil, at 24 hours was 100%; equal to the mortality rate achieved using temephos at 1%. The 0,08% concentration achieved a 100% mortality rate at 24 hours, equaling the temephos mortality rate at 1%. At a level of significance of 0,05 (95%) the p-value obtained was 0,012 as a consequence ($p < 0,05$), so the H_0 is rejected and the H_1 is accepted: the larvicidal efficacy of the essential oil of *Citrus aurantifolia* is greater Temephos on *Aedes aegypti* larvae, in vitro study. Likewise, there is a high degree of correlation, 0,864 among the variables analyzed, very close to the unit.

Keywords: *Citrus aurantifolia*, larvicide.

¹Universidad César Vallejo (Perú). ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5728-8768>

²Universidad César Vallejo (Perú). correo. mwillacorta@ucv.edu.pe ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5346-4824>



INTRODUCCIÓN

El dengue, es una enfermedad endémica, con ciclos epidémicos, que continúa siendo un problema significativo de salud pública a nivel local y mundial. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), estima entre 50 - 100 millones de nuevas infecciones que se producen anualmente en más de 100 países endémicos y que en las últimas cinco décadas, la incidencia de dengue se ha incrementado 30 veces, documentándose casos en áreas previamente no afectadas, siendo que además cada año surgen cientos de miles de casos de dengue grave, con aproximadamente 20 000 muertes.¹

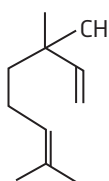
En cuanto al Perú, para el año 2014 se notificaron 14 537 casos de dengue sin señales de alarma, 4 296 casos de dengue con señales de alarma y 95 casos de dengue grave, con una tasa de incidencia de $61,43 \times 100$ 000 habitantes y con respecto a nuestro departamento de La Libertad, los casos mortales de dengue siguen incrementándose; de acuerdo a cifras de la Gerencia Regional de Salud, quien reporto que hasta el mes de abril del 2016 van 1 056 cuadros clínicos de este mal, de los cuales 649 están confirmados y 407 son probables.²

Debido a estas cifras elevadas de personas víctimas del dengue, a que no hay un tratamiento específico para esta enfermedad y además a la ausencia de vacunas para realizar tratamientos a gran escala, el Ministerio de Salud del Perú está promoviendo un control químico de este mosquito basado, en las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud, para lo cual utiliza el larvicida Temephos, además del control físico que consiste en la gestión del medio, con mejoras en las condiciones físicas de las viviendas para eliminar el hábitat de los mosquitos.³

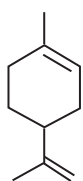
El Temephos, es un plaguicida organofosforado no sistémico que actúa por contacto e ingestión. Interfiere en la transmisión de los impulsos nerviosos por inhibición de la colinesterasa. Se utiliza principalmente como larvicida e insecticida. El Temephos, comúnmente conocido por una de sus fórmulas comerciales de nombre Abate (grado técnico 98%), es el plaguicida que ha tenido mayor uso en América, particularmente en programas de salud pública para el control de las larvas del mosquito *Aedes aegypti*, transmisor del virus del dengue.⁴ Según la ficha técnica de este producto la cual fue actualizada en enero del 2010 expone algunas advertencias sobre el Temephos: Los seres humanos pueden absorber el Temephos por inhalación, ingestión, por la piel y por los ojos, por lo cual pueden manifestar una toxicidad aguda o una toxicidad crónica.

El aceite esencial de *Citrus aurantifolia* se encuentra en la cascara en bolsitas pequeñas o sacos ovalados sirviendo como barrera de protección natural contra insectos o algunos microorganismos; son mezclas complejas de hasta más de 56 componentes como: Compuestos alifáticos de bajo peso molecular (alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos), Monoterpenos, Sesquiterpenos, Fenilpropanos.

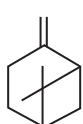
Los hidrocarburos denominados terpenos constituyen la mayor parte del aceite son insolubles en agua y susceptibles de oxidación. Presenta los siguientes componentes: Flavonoides (hesperidósido y limocitrina en el pericarpo de los limones), ácidos como el ascórbico (Vitamina C), cítrico, caféico (fruto); aceite esencial (el cual es rico en linalool, isopulegol, alfabergamoteno, alfa pineno, alfa terpineno, alfa tujeno, beta bisolobeno, beta bergamoteno, betafelandreno, citral, limoneno y sabineno); cafeína (en sus hojas), pectina y minerales (como el potasio y calcio)⁵.



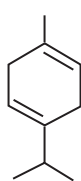
Linalol



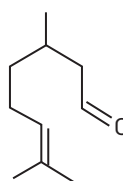
Limoneno



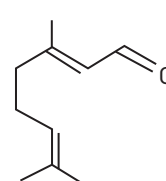
Beta-Pineno



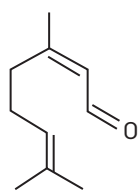
Gama-Terpineno



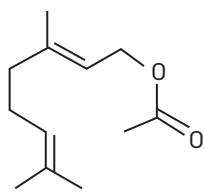
Citronelal



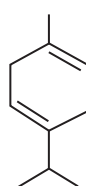
Geranial



Neral



Geranyl Acetato



Gama-Terpineno



Nonanal

Dentro de una de sus propiedades, cabe destacar la característica recientemente conocida y que aún está en estudios; la cual es la capacidad larvicida que presenta, capacidad que le confieren los terpenos con los que cuenta el *Citrus aurantifolia* (limón), esto motivo la realización de la presente investigación para determinar en qué medida tiene efecto larvicida el aceite de *Citrus aurantifolia* extraído de las cascarras, contra las larvas del *Aedes aegypti* en estadio III, obteniéndose resultados muy significativos y es ésta la razón por la que se evaluó como una alternativa para el control de la transmisión del dengue.

Aceite de *Ricinus communis*, llamada comúnmente como aceite de Ricino se encuentra en el arbusto de la familia *Euphorbiaceae*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño de investigación:

La presente investigación es cuasiexperimental (las larvas fueron escogidas pertenecientes al estadio III), con post prueba únicamente.

Esquema:

G1: $X_1 - O_1$

G2: $X_2 - O_2$

G3: $X_3 - O_3$

G4: $X_4 - O_4$

Donde:

$G_{1-2-3-4}$: Grupos

X: Tratamientos

- X_1 : *Citrus aurantifolia* al 0,06 %
- X_2 : *Citrus aurantifolia* al 0,07 %
- X_3 : *Citrus aurantifolia* al 0,08 %
- X_4 : Temephos al 1%

$O_{1-2-3-4}$: Post test

Variables:

- Variables Independientes:

- a. Aceite esencial *Citrus aurantifolia*.
- b. Temephos (como estándar de oro)

- Variables dependientes: Eficacia larvicida

Población y muestra:

Población: Criadero de larvas del *Aedes aegypti*.

Unidad muestral: Cada una de las larvas del *Aedes aegypti*.

Unidad de análisis: Cada una de las larvas del *Aedes aegypti*.

Tamaño de muestra:

$$n = \frac{[Z_{\alpha} * \sqrt{2p(1-p)} + Z_{\beta} * \sqrt{p_1(1-p_1) + p_2(1-p_2)}]^2}{(p_1 - p_2)}$$

Dónde: $Z_{\alpha} = 1.96$ (Nivel de confianza: 95%)

$Z_{\beta} = 0.84$ (Potencia estadística: 84%)

$P_1 = 0.90$ (% de la proporción 1: *Citrus aurantifolia*)

$P_2 = 0.99$ (% de la proporción 2: Temephos)

$P = P_1 + P_2 / 2$

Técnica:

La técnica utilizada fue la observación, se observó cómo las larvas del *A. aegypti* de estadio III respondieron al ser tocadas en el mesotórax con un estilete después de estar expuestas a soluciones de concentraciones 0.06%, 0.07%, 0.8% indicadas de *Citrus aurantifolia* y 1% de Temephos, por un tiempo de 24, 48 y 72 horas respectivamente.

Procedimiento:**Extracción del aceite de *Citrus aurantifolia*:**

El aceite esencial del *Citrus aurantifolia* fue extraído de las cáscaras de limones recolectadas en el distrito Tambo Grande, departamento de Piura. La extracción se realizó mediante el método de destilación por arrastre con vapor, utilizando un equipo Clevenger según las normas NRSP-309.⁶

Captura de larvas de *Aedes aegypti*:

Se realizó en salidas de campo a lugares predeterminados en las riberas del río Moche, sector Conache del distrito de Laredo, donde hay un alto índice de densidad larvaria, en los charcos de aguas estancadas y transparentes, en aquellos lugares húmedos donde se crían las larvas del *Aedes aegypti*. Estas larvas se criaron en un recipiente de acero inoxidable de 350 litros de capacidad, protegidos con una maya transparente, hasta lograr un número significativo de larvas; los sancudos fueron eliminados selectivamente, así como los estadios de pupa. La recolección de las larvas se efectuó escogiendo las de estadios III; se recolectaron más de 1000 especímenes con un colador de malla fina, luego se depositaron en un recipiente de plástico color blanco donde se apreciaron mejor las larvas para su identificación. Se colocaron las larvas en depósitos adecuados para su transporte hacia el laboratorio, E-403 de la facultad de Ingeniería de la Universidad Cesar Vallejo, incluyendo la ficha de colección llenada con lápiz.

Bioensayos de laboratorio:

Por cada concentración ensayada, se hicieron tres réplicas, las concentraciones del aceite esencial de limón fueron: 0,06%, 0,07% y 0,08% y como referente al Temephos al 1 %.

Se hicieron soluciones de 100ml, cuyos componentes fueron: como elemento básico, aceite esencial de limón a las concentraciones ya mencionadas anteriormente, como compuesto secundario, el aceite de Ricino como emulsificante y adyuvante al 3% del aceite esencial y por último se le agregó agua destilada hasta completar los 100 ml; obteniéndose de esta manera una solución lechosa. Para asegurar que todo el aceite esencial esté presente en la solución se hicieron enjuagues con agua destilada a los recipientes que contenían dichos componentes. Para cada prueba de las concentraciones ensayadas se distribuyeron 103 larvas del III estadio, en vasos de plástico con capacidad de 150 ml evitando el derrame de las soluciones. A modo de réplica, se realizaron tres bioensayos, con los mismos extractos, en las mismas condiciones mencionadas para obtener un promedio, registrando la mortalidad de larvas a las 24, 48 y 72 horas posteriores de la aplicación de los tratamientos y de esta manera determinamos en qué tiempo hicieron su efecto. Fueron consideradas “muertas” aquellas que no presentaban movimiento alguno cuando se les tocó con un estilete en el mesotórax. Los bioensayos se realizaron según metodología de la OMS, 1981⁷.

RESULTADOS**Determinación de la CL50.**

Las concentraciones de 0,06%, 0,07% y 0,08% que corresponde a 600 mg/l, 700mg/l y 800 mg/l respectivamente, se expresaron en gramos por litro:

Tabla 1. *Citrus aurantifolia*: Concentración -Tasa de mortalidad a las 24 horas.

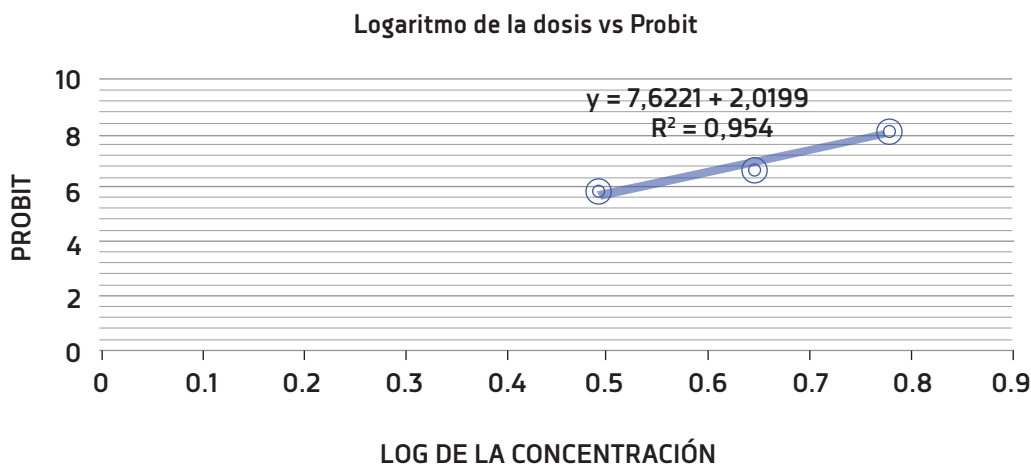
Concentración (g/litro)	Tasa de Mortalidad (porcentaje)
0,6	80,91
0,7	95,15
0,8	100

Transformación de las concentraciones a logaritmos y de Tasa de mortalidad a valores Probit según tabla de transformación.

Tabla 2. Datos transformados, logaritmo de la dosis a Probit.

Concentración (g/litro)	Logaritmo Dosis*	Tasa de Mortalidad (%)	Probit
0,6	0,4892	80,91	5,8778
0,7	0,6433	95,15	6,6452
0,8	0,7769	100	8,0905

*Como los valores del logaritmo fueron negativos, se suma una unidad a todos los valores, de modo de trabajar solamente con valores positivos.

Figura 1. Logaritmo de la dosis y Probit.

La regresión lineal ($y = a + b \cdot x$) entre el logaritmo de la dosis (x) y los valores Probit (y), se explican por la ecuación:

$$y = 7,6221x + 2,0199$$

Con el modelo calculado estimamos el valor para un 50% de mortalidad. En unidades Probit 50% corresponde a 5. Reemplazando este valor tenemos:

$$5 = 7,6221x + 2,0199$$

$$x = (5 - 2,0199) / 7,6221$$

$$x = 0,39$$

Ahora se le resta la unidad sumada $0,39 - 1 = -0,61$, aplicando antilogaritmo:

$$x = 0,54$$

En consecuencia, CL50 = 0,54 (g / litro) o (540 mg/l).

Tasa de mortalidad:

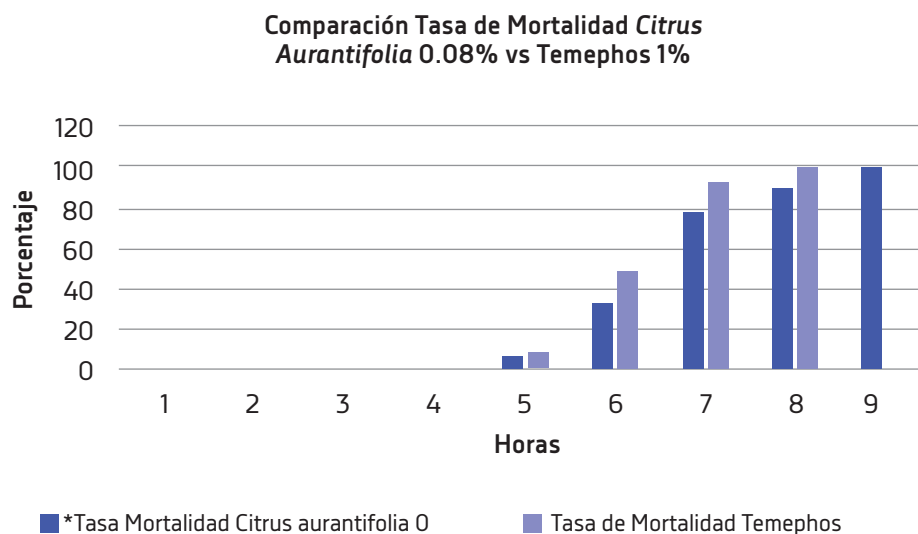
Para el cálculo de la tasa de mortalidad se empleó la fórmula:

$$TM = (N^{\circ} \text{ de Muertos} / \text{Total de Individuos}) * 100$$

Tabla 3. Variación de la *tasa de mortalidad en el tiempo

Tiempo Horas	Citrus aurantifolia 0,08%		Temephos 1%	
	Muertos Unidades	*Tasa Mortalidad %	Muertos Unidades	Tasa de Mortalidad %
0	0	0	0	0
1	0	0	0	0
2	0	0	0	0
3	5	4,85	7	6,79
4	33	32	49	47,57
5	80	77,67	95	92,23
6	92	89,32	103	100
7	103	100		

Fuente: Elaboración propia

Figura 2. Tasa de mortalidad *Citrus aurantifolia* 0.08% vs Temephos 1%

Se observa en Figura 2, la mayor tasa de mortalidad del Temephos a una concentración del 1%, comparada con la tasa de mortalidad del Citrus aurantifolia a una concentración del 0,08%.

Eficacia larvicida:

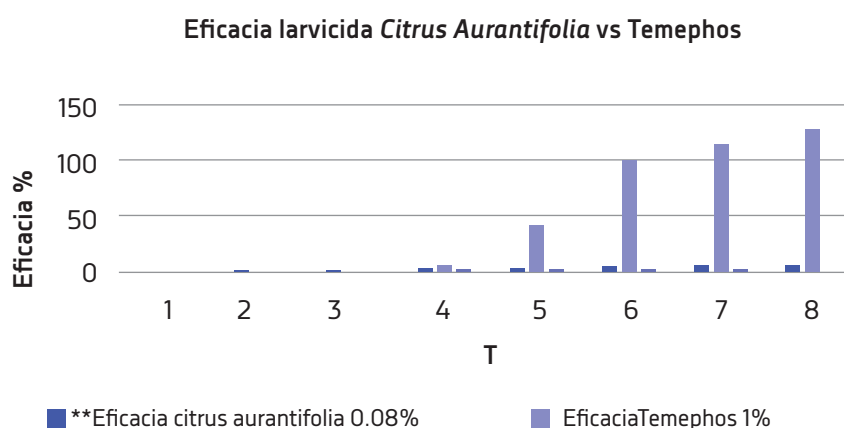
La eficacia larvicida se obtiene dividiendo el número de muertes de los individuos sobre la concentración utilizada.

****Eficacia** = $\left[\frac{\text{[nº de muertes]}}{\text{[concentración de insecticida]}} \right] \times 100$

Tabla 4. Comparación de la eficacia en el tiempo de los tratamientos.

Tiempo Horas	<i>Citrus aurantifolia</i> (80 mg / 1000 ml) ppm		Temephos (10,000 mg / 1000 ml) Ppm	
	Muertos Unidades	**Eficacia %	Muertos Unidades	Eficacia %
0	0	0	0	0
1	0	0	0	0
2	0	0	0	0
3	5	6,25	7	0,07
4	33	41,25	49	0,49
5	80	100,00	95	0,95
6	92	115,00	103	1,03
7	103	128,75		

Fuente: Elaboración propia

Figura 3. Eficacia larvicida del *Citrus aurantifolia* vs Temephos

En la figura 3, se observa que a concentraciones iguales el aceite de *Citrus aurantifolia* es más eficaz que el Temephos.

Métodos de análisis de datos:

Los resultados obtenidos de la actividad larvicida del aceite esencial del *Citrus aurantifolia* en *A. aegypti* en comparación con el *Temephos* se sometieron a diferentes pruebas estadísticas como la prueba de

Shapiro-Wilk para determinar la distribución normal de los datos; luego de comprobar la distribución normal de los datos se empleó la prueba paramétrica de análisis de correlación de muestras emparejadas para determinar si existe una diferencia significativa entre la eficacia larvicida de ambos tratamientos a un nivel de significancia del 0,05.

Figura 4. Tasa de mortalidad con *Citrus aurantifolia* en el tiempo.

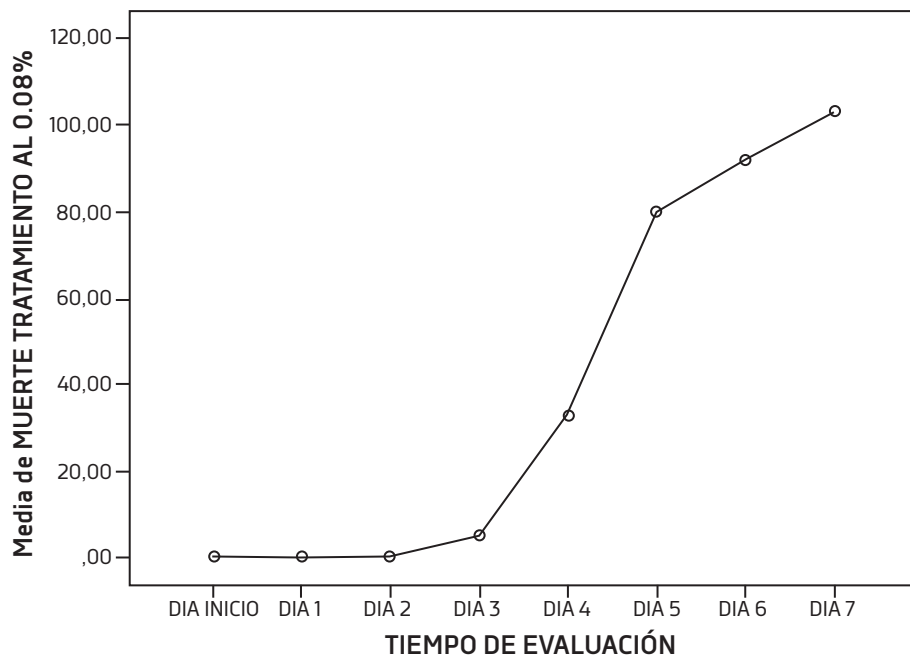


Figura 5. Tasa de mortalidad con Temephos en el tiempo.

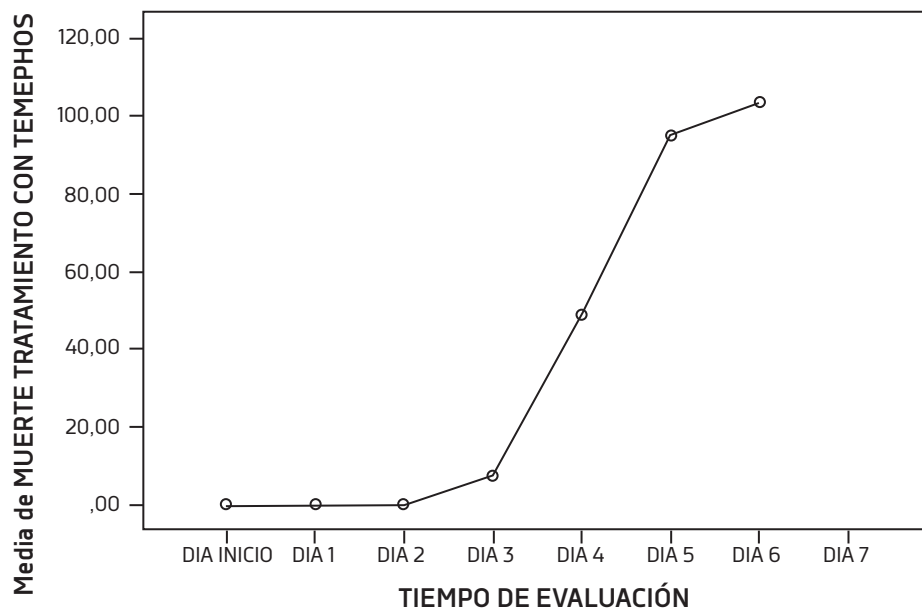


Tabla 5. Correlaciones de muestras emparejadas.

	N	Correlación	Sig.
Par 1 Eficacia de Temephos sobre larvas de <i>Aedes aegypti</i> & Eficacia de <i>Citrus aurantifolia</i> sobre larvas de <i>Aedes aegypti</i>	7	,864	,012

A un nivel de significancia del 95%, el valor p obtenido es de 0,012 en consecuencia ($p < 0.05$). La eficacia larvicida del temephos & eficacia de *Citrus aurantifolia* sobre larvas de *Aedes aegypti* probada en el tiempo difiere significativamente con un valor ($p < 0,05$); por lo cual se rechaza la H_0 y se acepta la H_1 : la eficacia larvicida del aceite esencial del *Citrus aurantifolia* es mayor al Temephos sobre las larvas del *Aedes aegypti*, estudio in vitro. Así mismo existe un alto grado de correlación, 0,864 entre las variables analizadas.

Se determinó que el aceite esencial del *Citrus aurantifolia* (limón), fue más eficaz (128,75%) como larvicida sobre las larvas del *Aedes aegypti* (estadio III) que el *Temephos* (1,03%).

La concentración letal CL50 del aceite de *Citrus aurantifolia* (limón) con 50% de letalidad es de 0,54 g /litro.

La tasa de mortalidad de las larvas de *Aedes aegypti* (estadio III) usando aceite de *Citrus aurantifolia* al 0,08%, a las 24 horas fue del 100%; igual a la tasa de mortalidad alcanzada usando temephos al 1%.

Se observó que con temephos al 1% la tasa de mortalidad de las larvas de *Aedes aegypti* alcanza a las 6 horas el 100% y con aceite de *Citrus aurantifolia* al 0,08%, la tasa de mortalidad al 100% se alcanza a las 7 horas.

A un nivel de significancia del 0,05 (95%) el valor p obtenido es de 0,012 en consecuencia ($p < 0,05$). por lo cual se rechaza la H_0 y se acepta la H_1 : la eficacia larvicida del aceite esencial del *Citrus aurantifolia* es mayor al Temephos sobre las larvas del *Aedes aegypti* in vitro.

DISCUSIÓN

Los resultados indican que se acepta la hipótesis H_1 : La eficacia larvicida del aceite esencial del *Citrus aurantifolia* es mayor que el Temephos sobre las larvas en estadio III del *Aedes aegypti* in vitro. El aceite esencial de *Citrus aurantifolia* es más eficaz para matar larvas de *Aedes aegypti* estadio III que el producto químico Temephos.

Los resultados encontrados coinciden con las investigaciones de Kumar S, et al (2016) quienes evaluaron el potencial irritante y larvicida de los extractos de cascara de tres especies de cítricos, *C. limetta*, *C. sinensis* y *C. aurantifolia*, contra *Ae. Aegypti*, donde el extracto de *C. aurantifolia* resulto ser el larvicida más eficaz.

De la misma manera comparando con los resultados obtenidos por Din S. et al (Pakistán, 2011) quienes encontraron LC50 igual a 468,69 ppm de extractos de cascara de *Citrus aurantifolia* contra larvas de *Ae. albopictus* encontraron valores parecidos a los obtenidos en esta investigación, el cual fue de 540 ppm de aceite de *Citrus aurantifolia*.

CONCLUSIONES

- Se concluye que el aceite esencial del *Citrus aurantifolia* actúa como un larvicida eficaz sobre larvas de *Aedes aegypti* en el estadio III.
- El aceite de *Citrus aurantifolia* es una alternativa para reemplazar el uso de larvicidas químicos que tienen efectos residuales en el ser humano.
- El aceite esencial del *Citrus aurantifolia* es 98% biodegradable por lo tanto al aplicarlo se actúa con responsabilidad ambiental.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda utilizar el aceite esencial del *Citrus aurantifolia* en el control de larvas de *Aedes aegypti*, estadio III en las zonas endémicas de Piura y Lambayeque; zonas productoras de aceite esencial *Citrus aurantifolia* (limón).
- Se recomienda continuar con la investigación, aplicando soluciones de mayor concentración de aceite de *Citrus aurantifolia* a larvas estadio III del sancudo *Aedes aegypti*, así como a los otros estados larvarios e incluso a otras especies.
- Se recomienda hacer el control por horas, pues durante la investigación se observó que con temephos al 1% las larvas *Aedes aegypti* mueren a las 6 horas, mientras que con solución de *Citrus aurantifolia* al 0,08% mueren a las 7 horas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cabezas C, Fiestas V, García-Mendoza M, Palomino M, Mamani E, Donaires F. Dengue en el Perú: a un cuarto de siglo de su reemergencia. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2015; 32(1): 146-56.
2. Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades – MINSA. Número de casos de dengue. Perú 2013 – 2017 y 2018*. Lima: MINSA. [Accesado: 12 En. 19]. Disponible en: <http://www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/sala/2018/SE01/dengue.pdf>
3. Ministerio de Salud del Perú. Norma técnica de salud para la implementación de la vigilancia y control del *Aedes aegypti*, vector del dengue en el territorio nacional. Lima: MINSA. [Accesado: 12 Dic. 18]. Disponible en: http://www.digesa.minsa.gob.pe/publicaciones/descargas/NORMA%20Aedes%20aegypti_DSB.pdf
4. Brown H, Neva F. Parasitología Clínica. 5ª Edición. México: Interamericana S.A. 1985.

5. Castro M, Quintana N, Cárdenas R, Elorza L, Uribe N, Díaz J, Yate A, Quiñones M. Evaluación de la eficacia y persistencia de Temephos (Abate®) en condiciones de campo para el control de *Aedes aegypti*, vector del dengue en Colombia. [Accesado: 28 Set. 2015]. Disponible en: <http://www.fitogranos.com/pdf/4/Larvicidas.pdf>

6. Baldeon XR. Actividad insecticida de los aceites esenciales de *Tagetes minuta*, *Tagetes terniflora* y *Tagetes zipaquirensis* sobre *premnortrypes vorax*. [Tesis]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador. 2011.

7. Chaverri L, Tamayo G. Establecimiento de un bioensayo para la detección de actividad larvicida en matrices complejas utilizando como modelo larvas de *Aedes aegypti*. [Accesado: 20 Ag. 2015]. Disponible en: <https://www.yumpu.com/es/document/read/14606424/establecimiento-de-un-bioensayo-para-la-deteccion-de-actividad->

FINANCIAMIENTO

El autor reporta que el estudio fue autofinanciado.

CONFLICTOS DE INTERÉS

El autor niega conflictos de interés.

AUTORÍA

Elianna P. Vidal-Villacorta y Misael Y. Villacorta-González realizaron la concepción y diseño del artículo, recolección de resultados, análisis e interpretación de datos, redacción del artículo, revisión crítica del artículo y aprobación de la versión final.