

“COMPARACIÓN DE LA EFICACIA DEL EXTRACTO CITRONELLA (*Cymbopogon  
citratu*s) COMO REPELENTE NATURAL EN BASE OLEOSA Y UN REPELENTE  
COMERCIAL EN BASE ETANÓLICA CONTRA MOSQUITOS ADULTOS DE LA ESPECIE  
*Aedes aegypti*”

ANGIE TATIANA MOLINA MILLARES

LIZETH DANIELA MENDEZ HERRERA

UNIVERSIDAD DISTRITAL FRANCISCO JOSÉ DE CALDAS  
FACULTAD DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES  
TECNOLOGÍA EN SANEAMIENTO AMBIENTAL

2018

COMPARACIÓN DE LA EFICACIA DEL EXTRACTO CITRONELLA (*Cymbopogon  
citratu*s) COMO REPELENTE NATURAL EN BASE OLEOSA Y UN REPELENTE  
COMERCIAL EN BASE ETANÓLICA CONTRA MOSQUITOS ADULTOS DE LA ESPECIE

*Aedes aegypti*

ANGIE TATIANA MOLINA MILLARES

COD. 20142085073

LIZETH DANIELA MENDEZ HERRERA

COD. 20142085063

Trabajo de grado en modalidad de investigación presentado como requisito parcial para optar  
por el título de Tecnólogas en Saneamiento Ambiental

DIRECTOR

DIEGO TOMAS CORRADINE MORA

Médico Veterinario M Sc Salud Pública

UNIVERSIDAD DISTRITAL FRANCISCO JOSÉ DE CALDAS  
FACULTAD DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES  
TECNOLOGÍA EN SANEAMIENTO AMBIENTAL

2018

## NOTA DE ACEPTACIÓN

---

---

---

---

Diego Tomas Corradine Mora

Docente Director

---

Gloria Acosta

Docente Evaluador

Bogotá, febrero del 2018

### **Dedicatoria**

A nuestras familias, que nos brindaron su apoyo en cada paso de nuestras vidas, cariño y fortaleza para poder culminar cada meta propuesta.

A nuestros profesores y compañeros que no sólo aportaron a nuestra vida conocimiento para formarnos como profesionales, sino que hicieron que este paso por la universidad fuese más llevadero y productivo.

## **Agradecimientos**

A la Universidad Distrital Francisco José de Caldas que nos permitió formarnos como profesionales y con ello, conocer personas que nos brindaron su colaboración y participación en el desarrollo de este trabajo. Y en especial, a nuestro profesor Diego Tomas Corradine Mora, quien nos orientó en esta labor con su experiencia y dedicación para nosotras y este proyecto de grado.

Y de igual forma a nuestras familias, amigos y todas aquellas personas que estuvieron con nosotras en todo este tiempo que con su apoyo hicieron posible culminar uno de tantos sueños que tenemos por cumplir. Aquí comienza otra etapa y el anhelo de seguir alcanzando muchos más logros.

Gracias.

## Contenido

1) Resumen .....	1
2) Abstract .....	3
3) Introducción .....	5
4) Objetivos .....	8
4.1) Objetivo general .....	8
4.2) Objetivos específicos .....	8
5) Marco teórico .....	9
5.1) Marco referencial .....	9
5.1.1) <i>Aedes aegypti</i> .....	9
5.1.2) Ciclo de vida .....	12
a) Fase 1: huevo.....	12
b) Fase 2: larva .....	13
c) Fase 3: pupa.....	14
d) Fase 4: adulto .....	15
5.1.3) Distribución de <i>Aedes aegypti</i> en el mundo .....	17
5.1.4) <i>Aedes aegypti</i> en Colombia.....	18
5.1.5) Enfermedades de salud pública causadas por <i>Aedes aegypti</i> .....	19
a) El dengue.....	19

b)	Zika.....	20
c)	Fiebre amarilla.....	21
d)	Chikungunya.....	23
5.1.6)	Prevención y control .....	23
5.1.7)	Citronella: <i>Cymbopogon citratus</i> .....	24
5.1.8)	Propiedades .....	27
5.1.9)	Aceites esenciales.....	27
5.1.10)	Propiedades de los aceites esenciales.....	27
5.1.11)	¿Porque usar aceites esenciales como repelente en lugar de repelentes comerciales a base de alcohol?.....	28
5.2)	Antecedentes .....	29
6)	Metodología .....	31
6.1)	Obtención de hembras adultas de mosquitos <i>Aedes aegypti</i> :.....	31
6.2)	Obtención del extracto: .....	31
6.3)	Selección de voluntarios para bioensayos:.....	32
6.4)	Bioensayos: .....	33
6.5)	Determinación de la concentración efectiva y tiempo de repelencia:.....	34
7)	Formulación de la hipótesis .....	34
8)	Análisis estadístico.....	36
8.1)	Porcentaje de protección. ....	36
8.2)	Análisis de un factor ANOVA .....	37

8.3) Prueba T Student .....	37
9) Resultados .....	38
9.1) Resultados de análisis estadístico.....	40
10) Discusión y análisis de resultados .....	43
11) Conclusiones .....	45
12) Recomendaciones.....	46
13) Bibliografía .....	48
14) Anexos.....	54



## Índice de figuras

Figura 1. <i>Aedes aegypti</i> adulto. ....	10
Figura 2. Ciclo de vida de <i>Aedes aegypti</i> . ....	12
Figura 3. Huevos de <i>Aedes aegypti</i> . ....	13
Figura 4. Larva de <i>Aedes aegypti</i> . ....	14
Figura 5. Pupa de <i>Aedes aegypti</i> .....	15
Figura 6. Adulto de <i>Aedes aegypti</i> , macho(izquierda) y hembra (derecha). ....	16
Figura 7. Distribución de <i>Aedes aegypti</i> en América Latina. ....	17
Figura 8. Distribución de <i>Aedes aegypti</i> en Colombia. ....	18
Figura 9. <i>Cymbopogon citratus</i> (Citronella). ....	26
Figura 10. Bioensayos .....	35
Figura 11. Grafica de porcentajes de concentración del repelente Vs porcentaje de repelencia. .....	42
Figura 12. Área de la piel tratada.....	60

## Índice de tablas

Tabla 1. Taxonomía <i>Aedes aegypti</i> .....	11
Tabla 2. Taxonomía <i>Cymbopogon citratus</i> . .....	25
Tabla 3. Promedios de aterrizajes y o/ picadura de bioensayos con el repelente oleoso de Citronella.....	39
Tabla 4. Promedios de la aplicación 3 vs 4 del repelente oleoso de Citronella.....	39
Tabla 5. Promedios de repelente oleoso de Citronella frente a repelente comercial.....	40
Tabla 6. Porcentajes de protección del repelente oleoso de Citronella. ....	41
Tabla 7. Análisis de varianza Citronella en base oleosa.....	42
Tabla 8. Prueba T-Student.....	43

## Índice de anexos

Anexo 1. Resultados de bioensayos con Citronella a diferentes concentraciones. ....	55
Anexo 2. Tabla del tiempo completo de protección aplicación 3 vs 4.....	56
Anexo 3. Tabla del tiempo completo de protección repelente de Citronella frente a repelente comercial. ....	57
Anexo 4. Grafica de análisis por factor ANOVA.....	59
Anexo 5. Modelo de certificación de autorización de voluntarios. ....	60
Anexo 6. Medición de la superficie de la piel de voluntarios. ....	61

## 1) Resumen

Esta investigación tuvo como finalidad determinar la eficacia del efecto repelente del extracto de la planta Citronella (*Cymbopogon citratus*) en base oleosa sobre los mosquitos de la especie *Aedes aegypti*, especie transmisora de enfermedades relevantes en salud pública como la fiebre amarilla, el dengue, el chikungunya entre otras.

Con el fin de determinar la eficacia en la repelencia del extracto de *Cymbopogon citratus* en base oleosa como repelente; se realizaron bioensayos con voluntarios humanos, los cuales firmaron un consentimiento para la realización del ensayo, donde se estableció la concentración efectiva y tiempo de protección. Para lograrla, se desarrollaron pruebas del extracto oleoso de Citronella en concentraciones del 10%, 20%, 30% y 40% comparando la efectividad de este con la efectividad y el tiempo de duración de un repelente comercial en base etanólica. Los voluntarios fueron expuestos a hembras del mosquito en estudio *A. aegypti* las cuales estuvieron en jaulas entomológicas de malla mosquitera lo que permitió verificar el efecto repelente. Todo el procedimiento fue adecuado a los lineamientos para la eficacia y pruebas de repelentes de mosquitos en piel humana definidos por la OMS (Organización mundial de la salud, 2009).

Con lo anterior se determinó que el extracto de la planta Citronella (*Cymbopogon citratus*) en base oleosa demostró tener una mejor efectividad con la concentración de 40% teniendo un tiempo de protección máxima de 1 hora y 30 minutos (90 minutos) lo que demostró que al ser en base oleosa retuvo la fragancia que es muy característica de esta planta y que es, en teoría, lo que repele a los mosquitos. Y de igual forma se puede observar que el extracto en base oleosa de esta

planta puede servir como un repelente comercial sin generar riesgos en la salud de las personas ya que al compararlo con el repelente comercial en base etanolica demostró que el tiempo de duración de este también fue de 1 hora y 30 minutos, tiempo que no pico y/o aterrizo mosquitos de la especie en estudio.

**Palabras clave:** *Repelente, aceite esencial, bioensayo, salud pública, A. aegypti, Citronella, Cymbopogon citratus, control biológico.*

## 2) Abstract

The purpose of this research was to determine the effectiveness of the repellent effect of the extract of the plant Citronella (*Cymbopogon citratus*) on an oily base on mosquitoes of the *Aedes aegypti* species, a species that transmits relevant diseases in public health such as Yellow Fever, Dengue fever, Chikungunya among others.

In order to determine the effectiveness in the repellency of *Cymbopogon citratus* extract in oily base as a repellent; bioassays were carried out with human volunteers where the effective concentration and protection time were established. To achieve this, tests of the Citronella oil extract were developed in concentrations of 10%, 20%, 30% and 40% comparing the effectiveness of this with the effectiveness and duration of a commercial repellent based on ethanol. The volunteers were exposed to mosquito females in *the A. aegypti* study, which were in mosquito netting entomological cages, which allowed to verify the repellent effect. The entire procedure was adequate to the guidelines for the effectiveness and testing of mosquito repellents on human skin defined by the World Health Organization (WHO, 2009).

With the above it was determined that the extract of the Citronella plant (*Cymbopogon citratus*) in oil base proved to have a better effectiveness with the concentration of 40% having a maximum protection time of 1 hour and 30 minutes (90 minutes) which showed that Being in an oily base, it retained the fragrance that is very characteristic of this plant and that is, in theory, what repels mosquitoes. And in the same way it can be observed that the extract in oil base of this plant can serve as a commercial repellent without generating risks in the health of the people since when compared with the commercial repellent on ethanol base it showed that the duration

of this one It was also 1 hour and 30 minutes, time that did not peak and / or land mosquitoes of the species under study.

**Key words:** *Repellent, essential oil, bioassay, public health, A. aegypti, Citronella, Cymbopogon citratus, biological control.*

### 3) Introducción

Se entiende como Enfermedades Transmitidas por Vectores (ETV) cuando un animal (vector) transmite patógenos que desarrollan enfermedades en humanos o en otros animales. Los países de clima tropical son más propensos o la ocurrencia es mayor cuando en la zona no hay acceso a agua potable y/o no cuenta con saneamiento básico (Estrada, 2015).

Los vectores tienen varias formas de propagación, ya sea por desplazamientos humanos principalmente aéreos, transporte de productos y mercancías o el desplazamiento ilegal de flora y fauna que crea un puente de incidencia en la propagación de estos virus (Estrada, 2015).

Recientemente se ha visto en el territorio colombiano epidemias de enfermedades como el chikungunya, zika, dengue y fiebre amarilla transmitidas por el vector, quizá con mayor interés en el territorio nacional: el mosquito *Aedes aegypti* (Ministerio de salud, 2014).

El virus del dengue se transmite por mosquitos hembra principalmente de la especie *Aedes aegypti* y, en menor grado, de *A. albopictus*. Estos mosquitos también transmiten la fiebre chikungunya, la fiebre amarilla y la infección por el virus de Zika. La enfermedad está muy extendida en los trópicos, con variaciones locales en el riesgo que dependen en gran medida de las precipitaciones, la temperatura y la urbanización rápida sin planificar (Ministerio de salud, 2014).

El dengue grave (conocido anteriormente como dengue hemorrágico) fue identificado por vez primera en los años cincuenta del siglo pasado durante una epidemia de la enfermedad en



Filipinas y Tailandia. Hoy en día, afecta a la mayor parte de los países de Asia y América Latina y se ha convertido en una de las causas principales de hospitalización y muerte en los niños y adultos de dichas regiones. El dengue es una de las patologías infecciosas con mayor impacto en Colombia y constituye un evento cuya vigilancia, prevención y control revisten especial interés en salud pública (Instituto nacional de salud, 2011).

La fiebre chikungunya es una enfermedad vírica transmitida al ser humano por mosquitos de la especie *Aedes aegypti*. Se describió por primera vez durante un brote ocurrido en el sur de Tanzania en 1952. Se trata de un virus ARN del género alphavirus, familia Togaviridae.

“Chikungunya” es una voz del idioma Kimakonde que significa “doblarse”, en alusión al aspecto encorvado de los pacientes debido a los dolores articulares (Organización mundial de la salud, 2017).

La fiebre chikungunya se caracteriza por la aparición súbita de fiebre, generalmente acompañada de dolores articulares. Otros signos y síntomas frecuentes son: dolores musculares, dolores de cabeza, náuseas, cansancio y erupciones cutáneas. Los dolores articulares suelen ser muy debilitantes, pero generalmente desaparecen en pocos días, aunque también pueden durar semanas. Así pues, el virus puede causar una enfermedad aguda, subaguda o crónica. No hay cura para esta enfermedad y el tratamiento se concentra en aliviar los síntomas. El principal factor de riesgo para la expansión del Chikungunya son los criaderos de mosquitos cerca a los lugares donde viven las personas, al igual que otras enfermedades vectoriales (Ministerio de salud, 2014).

Buscando disminuir la susceptibilidad de los seres humanos a la picadura de esta especie de mosquito mediante la implementación de prácticas amigables con el ambiente y el ser humano, se

han empleado distintas técnicas como el saneamiento del medio que recurre a un control químico y/o biológico y el uso de repelentes que son sustancias o productos que sirven para alejar insectos u otros animales (Daza, 2006).

El proyecto que se presenta, pretende obtener un extracto natural de *Cymbopogon citratus* (Citronella), con el fin de evaluar su efecto repelente hecho en base oleosa; y a su vez comparar la efectividad en cuanto a penetración en la piel y conservación de los compuestos de esta planta pudiendo verificar con esto, si el tiempo de repelencia aumenta cuando el extracto está hecho a base de aceite frente a uno comercial donde este está hecho a base de alcohol, sobre los mosquitos adultos hembra de la especie *Aedes aegypti*.

"Las ideas emitidas por los autores son de su exclusiva responsabilidad y no expresan necesariamente opiniones de la Universidad" (Artículo 117, Acuerdo 029 de 1998)".

## 4) Objetivos

### 4.1) Objetivo general

Determinar la efectividad de repelencia del extracto oleoso de *Cymbopogon citratus* en comparación con un repelente de base etanólica de origen comercial, para el control biológico de mosquitos adultos (hembra) de *Aedes aegypti* en condiciones de laboratorio.

### 4.2) Objetivos específicos

- Determinar las concentraciones letales del extracto oleoso de *Cymbopogon citratus*, sobre el mosquito adulto (hembra) de *Aedes*.
- Evaluar el tiempo completo de protección del extracto oleoso de *Cymbopogon citratus*, para mosquitos adultos (hembra) de *Aedes aegypti* bajo la concentración que haya demostrado mayor efectividad.
- Evaluar el efecto repelente del extracto oleoso de *Cymbopogon citratus* (Citronella) comparada con el efecto de un repelente convencional.

## 5) Marco teórico

### 5.1) Marco referencial

#### 5.1.1) *Aedes aegypti*

Es un mosquito de origen africano, hace siglos inicio su dispersión acompañando al hombre en sus viajes por el mundo mediante el transporte de sus huevos, larvas y adultos en barcos, aviones y transportes terrestres. Se cree que *Aedes aegypti* fue introducido en América desde el Viejo Mundo en barriles de agua transportados en barcos, cuando se llevaron a cabo las primeras exploraciones y colonizaciones europeas. Es un efectivo vector de diversas enfermedades, pero su mayor importancia epidemiológica está ligada a su papel como transmisor de fiebre amarilla y, con mayor actualidad, del dengue y el virus chikungunya, lo cual motiva grandes problemáticas de salud pública mundial (Salvatella Agrelo, R, 2009).

*Aedes aegypti* radica sus criaderos en depósitos de agua ubicados en neumáticos, recipientes de diferente tipo, baterías viejas, piletas entre otros. *A. aegypti*, es un ejemplo de adaptación de una especie de mosquito al ámbito humano, con criaderos, hábitat, fuente de alimentación, desplazamientos activos y pasivos ligados al ámbito domiciliario (Salvatella Agrelo, R, 2009).

El adulto de *Aedes aegypti* es un pequeño mosquito blanquinegro que tiene un dorso con bandas de color plateado o blanquecino sobre fondo oscuro y un dibujo característico en forma de lira en el dorso del tórax, como se evidencia en la figura 1. Las patas están conspicuamente bandeadas y el último artejo de las patas posteriores es blanco. El abdomen de la hembra tiende a ser puntiagudo; aproximadamente miden 5 mm de largo, siendo las hembras más grandes que los machos. Poseen cabeza globular, con ojos compuestos; un par de antenas aproximadamente el

triple de largas que la cabeza, ligeramente pubescentes en las hembras y plumosas en los machos; esta diferencia permite distinguir los sexos a simple vista. En la cabeza hay también un par de palpos, uno a cada lado de la probóscide larga y delgada dirigida hacia adelante formado por las piezas bucales (Instituto Nacional de la Salud, 2015).



*Figura 1. Aedes aegypti adulto.*

*Fuente: (Instituto Nacional de la Salud, 2015).*

Tiene un tiempo de vida aproximadamente de un mes. Es un mosquito de hábitat urbano, vive en las inmediaciones de las casas, pues tiene una gran preferencia alimentaria por el hombre (androfílico) aunque forzado por las circunstancias puede alimentarse de sangre de los animales.

El estilete de la hembra está diseñado para perforar la piel, ya que solo la hembra es hematófaga, es decir, se alimenta de sangre para conseguir la proteína que necesita para formar los huevecillos, mientras que los machos se alimentan de néctar y jugos de frutas, es considerado un vector de gran importancia en salud pública debido a su capacidad de transmitir por medio de

su picadura enfermedades como el dengue, fiebre amarilla, chikungunya, entre otras presentes en todas las regiones tropicales y subtropicales del planeta (Organización Mundial de la Salud, 2014).

*A. aegypti* es un zancudo – mosquito perteneciente al reino animalia de clase Insecta, los cuales se caracterizan por ser invertebrados y comprender el grupo de animales más diverso del planeta tierra, son dípteros, es decir poseen solo dos alas, ya que el segundo par de alas están transformados en halterios que les sirven para estabilizar el vuelo. A continuación, en la tabla 1, se muestra la clasificación taxonómica completa de *Aedes aegypti* (Elisondo, 2002).

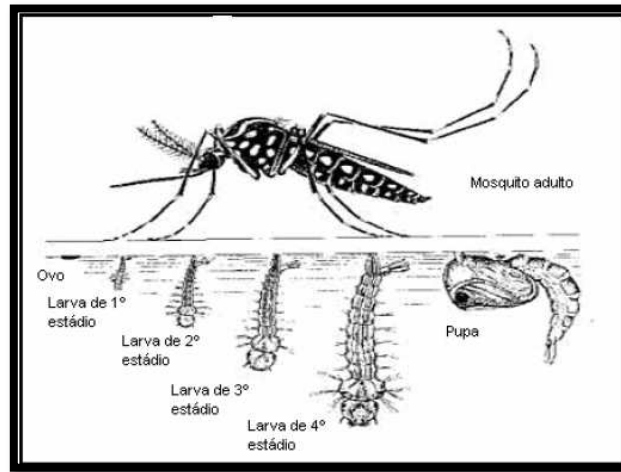
**Tabla 1. Taxonomía *Aedes aegypti***

<b>Taxonomía <i>Aedes aegypti</i></b>	
<b>Reino</b>	<i>Animal</i>
<b>Phylum</b>	<i>Artrópoda</i>
<b>Subphylum</b>	<i>Mandibulata</i>
<b>Clase</b>	<i>Insecta</i>
<b>Orden</b>	<i>Díptera</i>
<b>Suborden</b>	<i>Nematóceras</i>
<b>Familia</b>	<i>Culicidae</i>
<b>Subfamilia</b>	<i>Aedinae</i>
<b>Tribu</b>	<i>Aedini</i>
<b>Genero</b>	<i>Aedes</i>
<b>Especie</b>	<i>Aedes aegypti</i>

Fuente: (Knight & Stone, 1977).

### 5.1.2) Ciclo de vida

El ciclo de vida de *Aedes aegypti* cuenta con 4 fases de desarrollo, las cuales son fase de huevo, larva, pupa y adulto, como se evidencia a continuación en la figura 2.



*Figura 2. Ciclo de vida de Aedes aegypti*  
Fuente: (Araguaia, 2015)

#### a) Fase 1: huevo

La hembra coloca alrededor de 400 huevos en el agua, pueden estar agrupados o solos. Son menores al milímetro de largo, inicialmente son de color blanco, para tornarse negros con el desarrollo del embrión, que evoluciona en óptimas condiciones de temperatura y humedad en un lapso de 2 a 3 días, (ver figura 3). Con posterioridad a ese período, los huevos son capaces de resistir desecación y temperaturas extremas con sobrevivencia de 7 meses a un año (Montero, 2009).



*Figura 3. Huevos de Aedes aegypti.*

*Fuente: (Araguaia, 2015).*

#### **b) Fase 2: larva**

Los huevos eclosionan dando lugar a formas larvarias, (como se evidencia en la figura 4), acuáticas, nadadoras, de respiración aérea, que se alimentan del zoo y fitoplancton mediante filtración de material o acumulación del mismo en paredes o el fondo del recipiente, para lo cual utilizan las cerdas bucales en forma de abanico, alimentándose a diferentes profundidades. Estas larvas, poseen como caracteres morfológicos típicos, fuertes espículas torácicas laterales quitinizadas, peine de escamas unilineal en 8º segmento y sifón con forma de oliva corta, que destaca por su color negro (Osorio, 2003).

La posición en reposo en el agua es casi vertical y se desplazan en el medio líquido con un movimiento serpenteante característico, además son fotosensibles. La fase larval es el periodo de mayor alimentación, crecimiento y vulnerabilidad de estos mosquitos. A medida que se desarrollan, pasan de estadio L1, siendo esta la etapa larvaria más pequeña, a L4, la etapa larvaria



de mayor tamaño (pasan en total por cuatro estadios larvales) para posteriormente transformarse en pupa; al final de cada estadio larvario se desprende de su piel o muda (Nelson, M.J. 1986).



*Figura 4. Larva de Aedes aegypti.*

*Fuente: (Araguaia, 2015).*

### **c) Fase 3: pupa**

La larva continúa con su proceso de metamorfosis, en condiciones favorables de nutrición y con temperaturas de 25 a 29°C, en 5 a 7 días. Mudan el exoesqueleto, generando internamente al mosquito adulto. Son incapaces de resistir temperaturas inferiores a 10°C, o superiores a 44 o 46°C, impidiéndose a 13°C su pasaje a estadio pupal. En este estadio las pupas no se alimentan y entre 28 y 32°C, completa su desarrollo hasta la emergencia del adulto en 1 a 3 días. Las variaciones extremas de temperatura pueden dilatar este período (Salvatella Agrelo, R, 2009).

Presentan un estado de reposo donde se producen importantes modificaciones anatómico-fisiológicas hasta la aparición de los adultos. Reaccionan inmediatamente a estímulos externos tales como vibraciones y se desplazan activamente por todo el recipiente. Se mantienen en la superficie del agua debido a su flotabilidad y esta propiedad facilita la emergencia del insecto adulto. La pupa tiene en la base del tórax un par de tubos respiratorios o trompetas que atraviesan

la superficie del agua y permiten la respiración. En la base del abdomen poseen un par de remos, paletas o aletas natatorias que sirven para nadar (Montero, 2009).



*Figura 5. Pupa de Aedes aegypti.*

*Fuente: (Araguaia, 2015).*

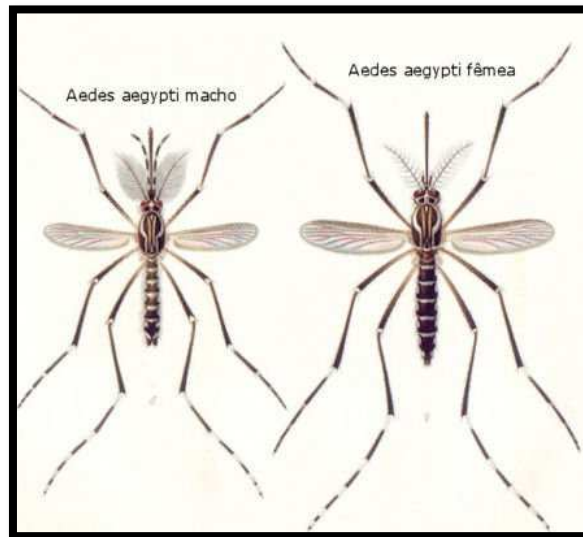
#### **d) Fase 4: adulto**

En esta fase la pupa se abre y deja salir el mosquito totalmente desarrollado en su estado adulto, después del breve lapso de tiempo que tarda en endurecerse la cutícula y expandir las alas, el insecto levanta el vuelo (Nelson, M.J, 1986).

Es un mosquito de color negro, con diseños blanco-plateados formados por escamas claras que se disponen simulando la forma de una "lira", en el dorso del tórax, y mostrando un anillado característico a nivel de tarsos, tibia y fémures de las patas (como se evidencia en la figura 6); tarda alrededor de 5 a 7 días en salir dependiendo de las condiciones de temperatura. Puede vivir de 1 a 2 meses (Instituto Nacional de la Salud, 2015).

Las hembras hematófagas poseen hábitos de alimentación diurnos, en cercanía a los domicilios humanos, con gran afinidad a la alimentación sobre el hombre. Si una hembra completa su alimentación (2 a 3mg de sangre) desarrollará y pondrá aproximadamente 200 huevos, dispersos en diferentes lugares por eso el periodo entre alimentación sanguínea y postura es de 3 días en condiciones óptimas de temperatura. La ovoposición generalmente, se produce hacia el final de la tarde, la hembra es atraída hacia recipientes oscuros o sombreados con paredes duras, sobre las que deposita sus huevos y prefiere aguas relativamente limpias con poco contenido de materia orgánica. Los huevos son pegados a las paredes del recipiente en la zona húmeda a pocos mm de la superficie del agua (Elisondo, 2002).

Por otro lado, los machos no tienen sus partes bucales adaptadas para chupar sangre, así que adquieren su alimento del néctar de plantas que contienen carbohidratos, esto los hace fitófagos (Elisondo, 2002).



*Figura 6. Adulto de Aedes aegypti, macho(izquierda) y hembra (derecha).*

*Fuente: (Araguaia, 2015).*

### 5.1.3) Distribución de *Aedes aegypti* en el mundo

La distribución mundial de *Aedes aegypti* se encuentra principalmente en el área limitada entre las latitudes 50°N 50°S en donde predominan climas tropicales. También se evidencia que el vector tiene presencia en América Central, América del Sur, África, parte de Asia y Oceanía, así como el sudeste de EE. UU, las islas del océano indico y el norte de Australia como se evidencia en la figura 7 (Seppa, N, 2015).



Figura 7. Distribución de *Aedes aegypti* a nivel mundial.

Fuente: (Organización mundial de la salud, 2016).

#### 5.1.4) *Aedes aegypti* en Colombia

La distribución de *Aedes aegypti* en Colombia hasta el año 2014 evidenció que el mosquito tiene presencia significativa en municipios que están por debajo de los 2200 msnm, el reporte de concentración de este vector fue de 1138 localidades de 30 departamentos del territorio nacional, según informes del instituto nacional de salud, (como se evidencia en la figura 8) (Instituto Nacional de Salud, 2014).



Figura 8. Distribución de *Aedes aegypti* en Colombia.

Fuente: (Instituto Nacional de Salud, 2014).

### **5.1.5) Enfermedades de salud pública causadas por *Aedes aegypti***

*Ae. aegypti* es conocido en el mundo entero como un vector de enfermedades que afectan a los seres humanos, las enfermedades se difunden por la picadura de una hembra de *Aedes aegypti* infectada, que ha adquirido el virus al ingerir la sangre de una persona con alguna de las enfermedades, el mosquito infectado transmite entonces la enfermedad al picar a otras personas, que a su vez caen enfermas, entre las enfermedades más conocidas se encuentran:

#### **a. El dengue**

Es una enfermedad infecciosa causada por el virus del dengue, del género flavivirus que es transmitida por mosquitos, principalmente por el *Aedes aegypti*. Es una infección muy extendida que se presenta en todas las regiones de clima tropical del planeta. En los últimos años la transmisión ha aumentado de manera predominante en zonas urbanas y se ha convertido en un importante problema de salud pública. En la actualidad, más de la mitad de la población mundial está en riesgo de contraer la enfermedad (Estébanez, 2005).

El vector principal del dengue es el mosquito *Aedes aegypti*. El virus se transmite a los seres humanos por la picadura de mosquitos hembra infectadas. Tras un periodo de incubación del virus que dura entre 4 y 10 días, un mosquito infectado puede transmitir el agente patógeno durante toda la vida. Las personas infectadas sintomáticas y asintomáticas son los portadores y multiplicadores principales del virus, y los mosquitos se infectan al picarlas. Tras la aparición de los primeros síntomas, las personas infectadas con el virus pueden transmitir la infección (durante 4 o 5 días; 12 días como máximo) a los mosquitos *Aedes* (Organización Panamericana de la Salud, 1994).

Después de un período de incubación de entre cuatro y diez días, aparece un cuadro viral caracterizado por fiebre de más de 38 °C, dolores de cabeza, dolor retro ocular y dolor intenso en las articulaciones (artralgia) y músculos (mialgia) — por eso se le ha llamado «fiebre rompe huesos»—, inflamación de los ganglios linfáticos y erupciones en la piel puntiformes de color rojo brillante, llamada petequia, que suelen aparecer en las extremidades inferiores y el tórax de los pacientes, desde donde se extiende para abarcar la mayor parte del cuerpo (Organización Panamericana de la Salud, 2000).

No hay tratamiento específico para el dengue. En caso de dengue hemorrágico, la asistencia prestada por médicos y enfermeras que tienen experiencia con los efectos y la evolución de la enfermedad puede salvar vidas y reducir las tasas de mortalidad de más del 20% a menos del 1%. Es decisivo mantener el volumen de los líquidos corporales (Organización Mundial de la Salud, 2016a).

#### **b. El zika**

Es un virus del género *Flavivirus*, de la familia *Flaviviridae*, grupo IV del orden sin clasificar que se transmite por la picadura de mosquitos vectores del género *Aedes*. En los seres humanos produce la fiebre del Zika o enfermedad de Zika, la cual se conoce desde la década de 1950 como proveniente de la región ecuatorial que abarca de África a Asia (Organización Mundial de la Salud, 2016b).

El virus de Zika se transmite a las personas principalmente a través de la picadura de mosquitos infectados del género *Aedes aegypti* en las regiones tropicales. La transmisión sexual del virus de Zika está documentada en varios países. La infección puede presentarse asintomática,

o con una clínica moderada. Aparecen los síntomas generalmente después de un periodo de incubación de 3 – 12 días, tiene un curso agudo, benigno y auto limitado. Los síntomas son similares a los de otras infecciones por arbovirus, entre ellas el dengue, y consisten en fiebre, erupciones cutáneas, conjuntivitis, dolores musculares y articulares, malestar y cefaleas; suelen ser leves y durar entre 2 y 7 días (Instituto Nacional de la Salud, 2015)

La enfermedad por el virus de Zika suele ser relativamente leve y no necesita tratamiento específico. Los pacientes deben estar en reposo, beber líquidos suficientes y tomar medicamentos comunes para el dolor y la fiebre. Si los síntomas empeoran deben consultar al médico. En la actualidad no hay vacuna (Organización Mundial de la Salud, 2016b).

### **c. Fiebre amarilla**

La fiebre amarilla es una enfermedad vírica aguda, hemorrágica, transmitida por mosquitos infectados. El término "amarilla" alude a la ictericia que presentan algunos pacientes. El virus de la fiebre amarilla es un arbovirus del género *Flavivirus* transmitido por mosquitos de los géneros *Aedes* y *Haemogogus*. Las diferentes especies de mosquitos viven en distintos hábitats. Algunos se crían cerca de las viviendas (domésticos), otros en el bosque (salvajes), y algunos en ambos hábitats (semidomésticos) (Abarca, K, 2000).

El periodo de incubación es de 3 a 6 días. Muchos casos son asintomáticos, pero cuando hay síntomas En la mayoría de los casos los síntomas desaparecen en 3 o 4 días. Los más frecuentes son fiebre, dolores musculares, sobre todo de espalda, cefaleas, pérdida de apetito y náuseas o vómitos (Santos, J, 2016).



La instauración temprana de un buen tratamiento de apoyo en el hospital aumenta la tasa de supervivencia. No hay tratamiento antivírico específico para la fiebre amarilla, pero el desenlace mejora con el tratamiento de la deshidratación, la insuficiencia hepática y renal y la fiebre. Las infecciones bacterianas asociadas pueden tratarse con antibióticos (Santos, J, 2016).

#### **d. Chikungunya**

La fiebre chikungunya es una enfermedad vírica transmitida al ser humano por mosquitos. Se describió por primera vez durante un brote ocurrido en el sur de Tanzania en 1952. Se trata de un virus ARN del género *alfavirus*, familia *Togaviridae*. "Chikungunya" es una voz del idioma Kimakonde que significa "doblarse", en alusión al aspecto encorvado de los pacientes debido a los dolores articulares (Centro de coordinación de alertas y emergencias sanitarias, 2014).

La fiebre chikungunya se ha detectado en más de 60 países de Asia, África, Europa y las Américas. El virus se transmite de una persona a otras por la picadura de mosquitos hembra infectados. Generalmente los mosquitos implicados son *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* durante todo el periodo diurno, aunque su actividad puede ser máxima al principio de la mañana y al final de la tarde. Ambas especies pican al aire libre, pero *Ae. aegypti* también puede hacerlo en ambientes interiores (UNICEF, 2008).

La enfermedad suele aparecer entre 4 y 8 días después de la picadura de un mosquito infectado, aunque el intervalo puede oscilar entre 2 y 12 días. La enfermedad empieza con una fuerte fiebre, a veces superior a los 40 °C, que dura 3 días. A esta fiebre le sigue un eritema y, durante 5 días, agujetas muy dolorosas en las articulaciones. Estos dolores articulares pueden permanecer o reaparecer hasta varios meses después de la primera crisis. El período de

incubación del virus de la fiebre de chikungunya varía entre uno y doce días, pero más típico entre tres y siete días. La enfermedad puede ser asintomática, pero por lo general, entre el 72% y el 97% de los infectados, desarrollan síntomas (UNICEF, 2008).

No existe ningún antivírico específico para tratar la fiebre chikungunya. El tratamiento consiste principalmente en aliviar los síntomas, entre ellos el dolor articular, con antipiréticos, analgésicos óptimos y líquidos. No hay comercializada ninguna vacuna contra el virus chikungunya (Méndez, A, 2018).

#### **5.1.6) Prevención y control**

Para prevenir la picadura y las posibles transmisiones de estas enfermedades por *Aedes aegypti* se han implementado diferentes mecanismos:

- **Control biológico:** se basa en la introducción de organismos que depreden o parasiten las poblaciones de las especies que se pretenden controlar, que compitan con ellas o las reduzcan de algún otro modo. En el caso de los mosquitos *Aedes aegypti*, existen varias especies de peces larvívoros y copépodos depredadores (pequeños crustáceos de agua dulce) que han demostrado su eficacia contra los mosquitos vectores en fases larvarias inmaduras (Ministerio de la protección social, 2012).
- **Control químico:** se basa en el empleo de insecticidas, plaguicidas o pesticidas químicos que se clasifican como organoclorados (DDT), organofosforados, carbamatos, piretroides, están destinados a erradicar una epidemia o brote en sitios focalizados. El objetivo es la destrucción rápida y masiva de la población del vector (Ministerio de salud argentina, 2009).

- **Control físico:** Colocando mosquiteros en las ventanas y puertas de las viviendas, usando repelentes sobre la piel expuesta y sobre la ropa con aplicaciones cada 3 horas, usando mangas largas y pantalones largos si se desarrollan actividades al aire libre, utilizando espirales o tabletas repelentes en los domicilios (Ministerio de salud Argentina, 2009).

#### **5.1.7) Citronella: *Cymbopogon citratus***

Es una planta herbácea, perenne, aromática y robusta que se propaga por esquejes y pertenece a la familia de las Gramíneas,(ver la taxonomía completa en la tabla 2). Las flores se reúnen en espiguillas de 30-60 cm de longitud formando racimos. Las hojas son muy aromáticas y alargadas como listones, ásperas, de color verde claro que brotan desde el suelo formando matas densas. Las flores están agrupadas en espigas y se ven dobladas al igual que las hojas, (como se evidencia en la figura 9). Es natural de la India, Ceilán y Malasia. En la actualidad se la cultiva como planta medicinal en zonas tropicales y subtropicales (Sharapin, 2000).

La hierba limón crece en climas templados y cálidos. Requiere para su crecimiento la presencia de luz. Resiste a las severidades del invierno, ya que soporta lluvias, pero no en exceso. No tolera las nieblas (Fonnegra,2007).

**Tabla 2. Taxonomía *Cymbopogon citratus*.**

Taxonomía <i>Cymbopogon citratus</i>	
Reino	<i>Plantae</i>
Phylum	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Liliopsida</i>
Subclase	<i>Commelinidae</i>
Orden	<i>Poales</i>
Familia	<i>Poaceae</i>
Subfamilia	<i>Panicoideae</i>
Tribu	<i>Andropogoneae</i>
Género	<i>Cymbopogon</i>

Fuente: (Universidad Nacional, 2007).



*Figura 9. Cymbopogon citratus (Citronella).*

*Fuente: (Missouri botanical garden, s.f).*

La cantidad de aceite esencial de planta varía de mes en mes en el año, siendo los meses de junio, julio y agosto los que más aceite esencial produce la planta. Esto se debe principalmente a que el calor y el sol de estos meses hacen que la planta acumule más aceite esencial, mientras que en épocas más húmedas el rendimiento de aceite disminuye.

Unas de las causas principales para que este cultivo varíe en su producción son los factores ambientales (condiciones climáticas, nutricionales y otros), los cuales afectan directamente en la expresión de los genes responsables de la producción de los principios activos (Fonnegra,2007).

### **5.1.8) Propiedades**

- De ella se obtiene el aceite esencial denominado Lemongrass.
- Es carminativo, digestivo y para el tratamiento de flatulencia.
- En infusión se utiliza como tónico aromático y febrífugo.
- Es muy usado como repelente de insectos, particularmente mosquitos
- Pese a este efecto, es por contra, atrayente de las abejas, por lo que se utiliza para recuperar enjambres
- Tiene efecto conservante sobre algunos alimentos.

Los componentes activos principales de su extracto, geraniol y citronelol, son antisépticos y le confieren propiedades fungistáticas e incluso bactericidas (Watson L, Dallwitz MJ, 2008).

### **5.1.9) Aceites esenciales**

Los aceites esenciales son sustancias que se encuentran en diferentes tejidos vegetales, contienen numerosos compuestos químicos naturales, procedentes de la planta de la que se extraen. Aunque son denominados aceites, su textura es ligera y no grasa y se evaporan con facilidad (Vida naturalia, 2016).

### **5.1.10) Propiedades de los aceites esenciales**

Cada aceite esencial contiene las propiedades específicas de la planta de la que se obtiene, cuyos componentes químicos nos servirán para distintas finalidades. Por ejemplo, un aceite esencial puede ser sedante mientras que otro tiene capacidad para estimular el sistema nervioso. Unos destacan por sus propiedades bactericidas, mientras que otros son excelentes repelentes de mosquitos (Vida naturalia, 2016).

### **5.1.11) ¿Porque usar aceites esenciales como repelente en lugar de repelentes comerciales a base de alcohol?**

Los repelentes de insectos que se comercializan están formulados con sustancias químicas que pueden ser perjudiciales para los seres humanos. La N, N-Dietil-meta-toluamida, conocida como DEET, es el ingrediente más habitual de estos productos y al aplicarse en la piel puede causar irritación ocular, ampollas, reacciones alérgicas y erupciones cutáneas. Por otra parte, esta sustancia tiene un impacto negativo en el medio ambiente. El DEET es tóxico para los pájaros y la vida acuática, y se ha encontrado presente en el 75 % de ríos y fuentes naturales de agua (Moreno, 2016).

Una manera natural, menos agresiva y respetuosa con el medio ambiente de mantener a raya a los insectos y evitar sus picaduras es aprovechando las cualidades de los aceites esenciales. Así como algunas plantas emiten aromas que atraen a los insectos para estimular la polinización, otras generan sustancias aromáticas capaces de repelerles. Los aceites esenciales extraídos de estas plantas confunden a los insectos, los cuales pasaran de largo sin la necesidad de picar a las personas (Moreno, 2016).

Hay muchos aceites esenciales conocidos por sus propiedades como repelentes de insectos. Algunos de estos aceites funcionan mejor que otros dependiendo el tipo de insecto que se desee mantener alejado. A veces un mismo aceite repele varios tipos de insectos o se pueden

combinar para obtener un mejor resultado. Estos son algunos de los aceites esenciales más utilizados como repelentes:

**Mosquitos:** Citronella, eucalipto, aceite de árbol de té, menta, limón, albahaca, clavó, tomillo, hierba limón, geranio, lavanda, canela, bergamota, romero. (Vida Naturalia, 2016).

Los aceites esenciales son muy concentrados, por tal motivo se deben diluir en una sustancia conductora antes de aplicarlos directamente sobre la piel, para evitar alguna contraindicación (Moreno, 2016).

## 5.2) Antecedentes

La picadura de los mosquitos *Aedes aegypti* sobre la especie humana ha sido una situación común desde hace muchos años, que además es un problema de salud pública, pues estos vectores desencadenan la propagación de enfermedades como el dengue, el zika, la fiebre amarilla y el chikungunya entre otras. En la búsqueda de prevenir y controlar la propagación de estas enfermedades, de forma amable con el medio ambiente y con un bajo impacto en la salud de las personas, se han llevado a cabo varios estudios que evalúan la eficacia de plantas, semillas y aceites naturales como repelentes.

Estudios realizados por estudiantes de la Universidad de la Salle probaron el efecto insecticida de cuatro aceites esenciales sobre hembras adultas de las especies *Aedes aegypti* y *Anopheles albimanus* en condiciones experimentales. Las especies de plantas utilizadas fueron *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Eucalyptus globulus* y *Eugenia caryophyllata*; donde los resultados mostraron que las hembras de *A. aegypti* fueron más susceptibles a los aceites



esenciales de *C. citratus* y *C. nardus* en un tiempo de exposición de 60 minutos (Cárdenas, Riveros, Vargas, 2013, p.4).

En la universidad de el Salvador estudiantes de Licenciatura en química y farmacia formularon un repelente utilizando *Eucalyptus globulus* y *Citronella* que frente a los resultados obtenidos exponen que la Citronella tiene una eficacia en concentraciones desde 0.05% solo o en combinación con otros productos repelentes de mosquitos (Álvarez, Ochoa, 2013, p.47).

Y frente a investigaciones realizadas por la universidad Distrital Francisco José de Caldas en cuanto al efecto repelente de las plantas y sus aceites esenciales, se observa el caso de la investigación realizada por estudiantes de Tecnología en Saneamiento ambiental quienes evaluaron la eficacia de los extractos naturales de *Ocimum basilicum*, *Cymbopogon citratus* y *Lavandula spp* en base etanólica como repelentes naturales contra mosquitos adultos de *Aedes aegypti*, donde se demostró que la Citronella a una concentración 1,2 % refleja repelencia y que a una concentración del 60% demostró tener un tiempo completo de protección de 3 horas (Gómez, Grisales y Téllez, 2015).

De igual forma otra investigación por estudiantes de la Universidad Distrital muestra el efecto repelente de aceites esenciales como el del Pino *Platycladus orientalis* y el *Eucalipto Eucaliptus globulus* a concentraciones de 0,2%, 0,4% y 0,6% respectivamente demostraron ser efectivas a la concentración del 0,6% con un tiempo completo de protección de 120 minutos (2 horas) (Zubieta, Morales, 2015).

Cabe resaltar que, en las anteriores investigaciones los repelentes naturales fueron hechos en base etanólica no se encontraron estudios previos donde los repelentes fueran hechos en base oleosa. Con esta investigación lograremos evidenciar si hay una variabilidad en la eficiencia de un repelente en base etanólica y uno de base oleosa.

## **6) Metodología**

El proyecto se llevó acabo en condiciones de laboratorio acordes a las directrices de examen de desempeño OPPTS 810.3700 para repelentes de insectos que han de aplicarse a la piel humana por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA,2010). Y para evaluar la eficacia del extracto oleoso en base oleosa se realizó el siguiente procedimiento:

### **6.1) Obtención de hembras adultas de mosquitos *Aedes aegypti*:**

La crianza se llevó acabo introduciendo huevos de la cepa Rockefeller en dos recipientes de polietileno con el fin de obtener una mayor producción de larvas de mosquitos, con agua libre de cloro, reposada por más de 72 horas, la alimentación en este estadio fue a base de comida de peces, de manera que se obtuvo una cantidad aproximada de 1000 larvas que tras su eclosión permitiera obtener un número considerable de mosquitos adultos que posteriormente se realizaría la separación por sexos, descartando los machos con el fin de sólo contar con las hembras para la realización de los bioensayos (Fuente Autoras)

### **6.2) Obtención del extracto:**

Para el presente trabajo se utilizó material vegetativo fresco (hojas y tallos) de *Cymbopogon citratus* (Citronella) adquirido en la plaza de mercado del municipio de Soacha (Cundinamarca),

proveniente de cultivos comerciales oriundos del municipio de Silvania, puesto que el lugar de donde se extrajo realiza buenas prácticas de cultivo. Para eliminar el contenido de agua que naturalmente posee la planta, se sometió a secado a la sombra durante una semana en el laboratorio de Zoonosis de la Facultad del Medio Ambiente de la Universidad Distrital Francisco José de Caldas con temperatura ambiente promedio de 21°C y humedad relativa controlada de 30%. La extracción se llevó a cabo por el método caliente, proceso que consistió en obtener el material seco y posteriormente fraccionarlo en partículas de menor tamaño seleccionando 500 gramos de este material, el cual se dispuso en cartuchos de papel filtro en el extractor soxhelt usando como solvente etanol al 96% con el fin de separar el aceite que posee naturalmente la planta. La solución obtenida fue sometida a destilación a presión reducida utilizando un equipo roto evaporador Marca IKA RV10 a 100 rpm., con una presión de 150 mBar a 40°C con un flujo de agua de 41.5 litros por hora con el fin de separar el etanol y así obtener el aceite esencial (EPA, 1996).

El almacenamiento del aceite se dispuso en un frasco de vidrio color ámbar y se llevó a refrigeración a una temperatura de 4 °C conservándose para su posterior utilización en los bioensayos.

### **6.3) Selección de voluntarios para bioensayos:**

Para la realización del experimento se requirió de 10 voluntarios teniendo en cuenta la cantidad de mosquitos hembra que finalmente se obtuvieron para el experimento: 5 mujeres y 5 hombres , los cuales fueron seleccionados al azar procedimiento recomendado en las directrices por la EPA; se les explicó en qué consistiría el experimento y los riesgos a los cuales podrían estar expuestos, posteriormente se les pidió firmar un consentimiento donde se avaló que su participación era

voluntaria y que estaban de acuerdo con la socialización de los resultados obtenidos (ver anexo 5) (EPA, 2010).

#### **6.4) Bioensayos:**

Los bioensayos se realizaron de igual forma bajo las directrices para la eficacia ensayo de repelentes de mosquitos para la piel humana de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2009). Se separaron las hembras descartando los machos, en jaulas entomológicas de malla mosquitera, lo que permitió realizar observaciones para verificar el efecto repelente. Se trabajó con 50 hembras para cada voluntario experimental, mantenidos en cámara de cría a las mismas condiciones de temperatura entre 28° C y 33° C que es la temperatura ambiente de la especie *Aedes aegypti* simulada en laboratorio, humedad ambiental mayor al 70%, fotoperiodo de 12 horas diurnas y 12 nocturnas y como única fuente de alimentos se colocaron motas de algodón impregnadas con agua azucarada.

Siguiendo las directrices de la OMS se calculó el área de aplicación (ver anexo 6) del repelente con la siguiente ecuación:

$$\text{Área} = \frac{1}{2} (CW + CE) * DWE$$

Donde

CW: es la circunferencia de la muñeca en cm

CE: es la circunferencia del codo a la altura de la fosa cubital en cm

DWE: es la distancia en cm entre el CE y CW. (OMS, 2009)

Se proporcionó a cada voluntario un guante de látex que cubrió únicamente la mano ya que esta no comprende el área de aplicación contemplada anteriormente.

#### **6.5) Determinación de la concentración efectiva y tiempo de repelencia:**

Para llevar a cabo el análisis de la concentración efectiva se realizó una solución de aceite vegetal con el extracto de Citronella partiendo de una concentración al 10% y posterior evaluación de concentraciones ascendentes hasta encontrar aquella que garantizara el 100% de repelencia. La dilución experimental en vehículo oleoso se aplicó uniformemente en el antebrazo a partir de la muñeca hasta el codo en concentraciones ascendentes por cada voluntario.

Los ensayos se realizaron rociando inicialmente aceite mineral (blanco) en el brazo izquierdo y tras dejar que este se impregnara bien en la piel, se pidió a cada voluntario ingresar el brazo tratado a la jaula entomológica durante un tiempo mínimo de 30 segundos evitando mover el brazo. Bajo estas condiciones la tasa de picadura debía ser superior a 2 aterrizajes o picaduras en un periodo de 30 segundos, sin superar 10 picaduras o aterrizajes, pues en este caso se tendría que finalizar el bioensayo, teniendo en cuenta los lineamientos que nos proporciona la OMS.

Al antebrazo izquierdo tratado se le aplicó el repelente experimental del extracto de Citronella diluido en aceite mineral a una concentración inicial del 10% y se dejó impregnar bien a la piel; luego, se introdujo nuevamente a la jaula por otro periodo de 30 segundos (ver figura 10) donde se observó el número de mosquitos que aterrizaban o picaban.



*Figura 10. Bioensayos*

*Fuente: Las autoras*

Este proceso se realizó para cada concentración teniendo en cuenta que la concentración aplicada era acumulable. Finalmente se realizó el control de verificación rociando aceite mineral en el antebrazo derecho y se observó que los aterrizajes o picaduras fuera mayor o igual a 2.

Posteriormente para determinar el tiempo completo de repelencia, se tomó como base la fórmula de tiempo completo de protección, la cual se realizó con los mismos 10 voluntarios a los cuales se les aplicó la concentración que tuvo mayor repelencia en la prueba, realizándose el mismo procedimiento mencionado anteriormente con reintroducciones cada 30 minutos y se suspendía la prueba cuando hubiera picaduras o posaduras de 2 o más mosquitos en un lapso de 30 segundos.

Para comparar el tiempo completo de protección del repelente oleoso de Citronella frente al repelente comercial con el fin de verificar la efectividad del repelente oleoso de Citronella se utilizaron ambos antebrazos de cada voluntario, primero el izquierdo con el extracto a la concentración que demostró mejor efectividad y después el derecho con un repelente

comercial en base alcohólica registrando los tiempos de protección de cada uno de ellos (Organización mundial de la salud, 2009).

## 7) Formulación de la hipótesis

Para la investigación se planteó una hipótesis nula y otra alterna para el extracto natural en base oleosa de Citronella de la siguiente manera:

- Hipótesis nula (H0 *Cymbopogon citratus*): El extracto natural de *Cymbopogon citratus* en base oleosa no tendrá ningún efecto repelente en ninguna de las concentraciones a evaluar.
- Hipótesis alterna (H1 *Cymbopogon citratus*): El extracto de *Cymbopogon citratus* tendrá un efecto de repelencia.

Y para la comparación entre el extracto de Citronella a base de aceite y el repelente comercial:

- H0: No existe diferencia significativa entre los porcentajes de protección del repelente natural de *Cymbopogon citratus* en base oleosa y el repelente comercial.
- H1: Existe diferencia significativa entre los porcentajes de protección del repelente natural de *Cymbopogon citratus* en base oleosa y el repelente comercial.

## 8) Análisis estadístico

### 8.1) Porcentaje de protección.

Para poder determinar la eficacia del repelente de Citronella se promediaron los datos obtenidos y se calcula según la fórmula de Porcentaje de concentración:

$$PP\% = \frac{Nc - Nt}{Nc}$$

Donde:

$N_c$  = Numero de picaduras en el brazo control en determinado periodo de tiempo

$N_t$  = Numero de picaduras en la mano tratada en el mismo periodo de tiempo (Organización mundial de la salud, 2009).

## 8.2) Análisis de un factor ANOVA

Para poder determinar qué hipótesis es verídica de las anteriormente planteadas en el caso del extracto natural de Citronella en base oleosa, se implementó el análisis estadístico ANOVA, este permitirá rechazar una u otra de las hipótesis, mediante el análisis de los datos obtenidos en el laboratorio de Zoonosis. Teniendo un 95% de confianza, sobre las siguientes hipótesis:

- Hipótesis nula ( $H_0$  *Cymbopogon citratus*): El extracto natural de *Cymbopogon citratus* en base oleosa no tendrá ningún efecto repelente en ninguna de las concentraciones a evaluar.
- Hipótesis alterna ( $H_1$  *Cymbopogon citratus*): El extracto de *Cymbopogon citratus* tendrá un efecto de repelencia (García, López, Jiménez, 2002).

## 8.3) Prueba T Student.

Para comprobar que no existe una diferencia significativa entre el repelente natural a base del extracto de *Cymbopogon citratus* y un repelente comercial, se realiza la prueba T – STUDENT en función del efecto repelente de cada uno de ellos, con un nivel de confianza del 95%, sobre las siguientes hipótesis:

- $H_0$ : No existe diferencia significativa entre los porcentajes de protección del repelente natural de *Cymbopogon citratus* en base oleosa y el repelente comercial.



- H1: Existe diferencia significativa entre los porcentajes de protección del repelente natural de *Cymbopogon citratus* en base oleosa y el repelente comercial (García, López, Jiménez, 2002).

## 9) Resultados

El extracto de *Cymbopogon citratus* obtenido, evidenció un pigmento color verde oscuro adhiriéndose a la piel de los voluntarios con una difícil remoción y con una consistencia viscosa, con un olor aromático muy característico de esta planta.

En los bioensayos se evaluaron las concentraciones ascendentes de 10%, 20%, 30% y 40% del extracto en base oleosa de *Cymbopogon citratus* (Citronella). Para comprender mejor los resultados, se diferenciaron las concentraciones como aplicaciones de la siguiente manera:

A1= Concentración de 10%

A2= Concentración de 20%

A3= Concentración de 30%

A4= Concentración de 40%

En la tabla 3 se encuentran los promedios de los aterrizajes para cada aplicación (ver anexo 1, Resultados de bioensayos con Citronella a diferentes concentraciones), se evidencia que la aplicación A3 y A4 son altamente repelentes con 1 posadura y 0 posaduras respectivamente, lo que nos llevó a realizar la comparación mediante el tiempo completo de protección entre estas, para evaluar qué concentración es más eficaz y genera un tiempo de protección mayor, con el fin de hacer la comparación de eficacia con el repelente comercial.

**Tabla 3. Promedios de aterrizajes y o/ picadura de bioensayos con el repelente oleoso de Citronella.**

<b>PROMEDIOS</b>				
<b>Blanco</b>	<b>Aplicación 1</b>	<b>Aplicación 2</b>	<b>Aplicación 3</b>	<b>Aplicación 4</b>
	<b>10%</b>	<b>20%</b>	<b>30%</b>	<b>40%</b>
6.4	4.4	1.5	0.1	0

*Fuente: Las autoras*

En la tabla 4 se expresan los resultados obtenidos de la comparación de tiempo completo de protección entre la aplicación A3 y A4 (ver anexo 2 Tabla del tiempo completo de protección aplicación 3 vs 4), en la cual se comparó el tiempo transcurrido y la cantidad de aterrizajes en cada concentración. Lo que determinó que la aplicación con mayor duración y eficiencia en la repelencia fue la A4 que corresponde a un 40% de la concentración del repelente oleoso de Citronella ya que presenta 0 aterrizajes y/o picaduras frente a las demás.

**Tabla 4. Promedios de la aplicación 3 vs 4 del repelente oleoso de Citronella.**

<b>PROMEDIOS DE REPELENCIA APLICACIÓN 3 VS APLICACIÓN 4</b>				
<b>Concentración</b>	<b>30 Min</b>	<b>60 Min</b>	<b>90 Min</b>	<b>120 Min</b>
<b>Aplicación 3</b> <b>(30%)</b>	0	0	0.7	1.1
<b>Aplicación 4</b> <b>(40%)</b>	0	0	0.1	0.6

*Fuente: Las autoras*

En la tabla 5 se presentan los resultados de la comparación entre el repelente oleoso de *Cymbopogon citratus* en la concentración del 40% y el repelente comercial (Ver anexo 3, Tabla del tiempo completo de protección del repelente de Citronella frente a repelente comercial), esta comparación se basó en el Tiempo Completo de Protección con el fin de determinar la eficiencia del repelente oleoso de Citronella frente al repelente comercial.

**Tabla 5. Promedios de repelente oleoso de Citronella frente a repelente comercial.**

<b>PROMEDIO REPELENTE NATURAL FRENTE A REPELENTE COMERCIAL</b>				
<b>Repelente</b>	30 minutos	60 minutos	90 minutos	120 minutos
<b>Citronella 40%</b>	0	0	0.1	0.6
<b>Repelente comercial</b>	0	0	0	0.2

*Fuente: Las autoras*

Frente a los resultados que se expresan, el tiempo completo de protección máximo del repelente oleoso de Citronella es de 1 hora y 30 minutos, comparado con el repelente comercial, donde se observa que la repelencia es de 2 horas.

### **9.1) Resultados de análisis estadístico**

En la tabla 6 se presenta el resultado del cálculo del porcentaje de protección del repelente *Cymbopogon citratus* en base oleosa en las diferentes concentraciones en las que se evaluó su eficiencia en un tiempo de protección de 30 minutos.

Igualmente se observa como ninguna concentración del repelente oleoso de Citronella presentó un valor mayor de aterrizajes y/o picaduras a la del blanco, lo que demuestra su efectividad en protección. Y de igual manera la aplicación 4, con un 40% de concentración del extracto oleoso de Citronella refleja una efectividad del 100%.

**Tabla 6. Porcentajes de protección del repelente oleoso de Citronella.**

<b>PORCENTAJES DE PROTECCIÓN DEL REPELENTE OLEOSO CITRONELA</b>			
<b>CONCENTRACIÓN DE REPELENTE</b>	<b>PROMEDIO MOSQUITOS BRAZO BLANCO</b>	<b>PROMEDIO MOSQUITOS BRAZO REPELENTE</b>	<b>% DE PROTECCIÓN</b>
<b>A1 10%</b>	6,4	4,4	31,25
<b>A2 20%</b>	6,4	1,5	76,56
<b>A3 30%</b>	6,4	0,1	98,44
<b>A4 40%</b>	6,4	0	100

*Fuente: Las autoras*

En la figura 11 se observa cómo al aumentar la concentración progresivamente del extracto oleoso de *Cymbopogon citratus* su efecto de repelencia también aumenta. Se observa que la Aplicación A4 presenta una protección del 100%, mientras que A1 tiene una repelencia del 31,25%, A2 alcanza un 76,56% y solamente A3 con un 98,44% tiene una efectividad cercana a lo deseado.

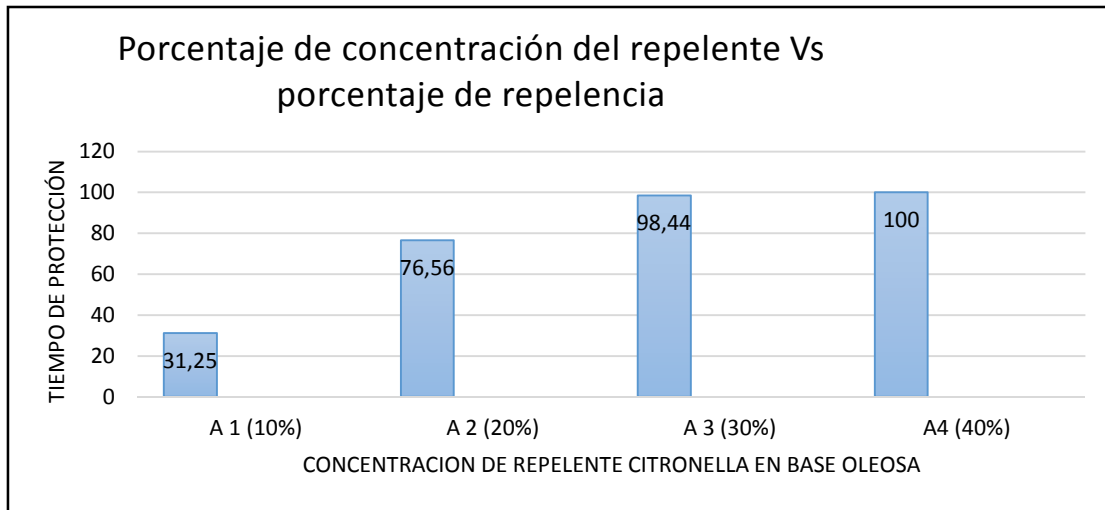


Figura 11. Grafica de porcentajes de concentración del repelente Vs porcentaje de repelencia.

Fuente: Las Autoras

Al realizar la prueba estadística se observa que el valor de la Probabilidad = 0,0000011254 es inferior al rango de error: 0,05 que arroja esta prueba, datos obtenidos en la Tabla 7. Al comparar las concentraciones evaluadas estas tienen un efecto de repelencia, lo que nos indica que hay una diferencia en los promedios de la variable picadura, lo que permite descartar la hipótesis nula.

Tabla 7. Análisis de varianza Citronella en base oleosa.

ANALISIS DE VARIANZA					
ORIGEN DE LAS VARIACIONES	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	PROMEDIO DE LOS CUADRADOS	F	Pr(>F)
ENTRE GRUPOS	318.3	4	79.57	74.29	0.0000011254
DENTRO DE LOS GRUPOS	48.2	45	1.07		
TOTAL	366.5	49			

Fuente: Las autoras

Como se observa en la tabla 8 el valor de la probabilidad 0,44333185 es superior al rango de error = 0,05, lo que evidencia que no hay una diferencia significativa en el tiempo completo de protección entre el extracto natural de *Cymbopogon citratus* en base oleosa y el repelente comercial evaluado en 120 minutos; motivo por el cual se acepta la hipótesis nula rechazando la alterna.

**Tabla 8. Prueba T-Student.**

<b>PRUEBA T-STUDENT</b>		
<b>Prueba t para medias de dos muestras emparejadas</b>	<b>Rep_Comer_120</b>	<b>Rep_Citro_120</b>
Media	0,8	0,6
Varianza	0,8444444444	0,7111111111
Observaciones	10	10
Coeficiente de correlación de Pearson	0,602216301	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	9	
Estadístico t	0,801783726	
P(T<=t) una cola	0,221665925	
Valor crítico de t (una cola)	1,833112923	
P(T<=t) dos colas	0,44333185	
Valor crítico de t (dos colas)	2,262157158	

*Fuente: Las Autoras*

## **10) Discusión y análisis de resultados**

La presente investigación buscaba evidenciar la concentración efectiva que produjera un efecto de repelencia del extracto en base oleosa de *Cymbopogon citratus*. Con los resultados obtenidos se puede evidenciar claramente que sí existe un efecto repelente y que a mayor concentración aumenta el efecto de repelencia lográndose el 100% desde una concentración de 40%, lo que sucedió también en la investigación del efecto repelente de los aceites esenciales *Platycladus orientalis* y el *Eucaliptus globulus* por Zubieta & Morales (2015) donde evaluaron

concentraciones de 0,2%, 0,4% y 0,6% observando que a medida que aumentaba la concentración el efecto repelente aumentaba determinando así una concentración del 0,6% con una duración de 120 minutos. Sin embargo, el tiempo máximo de repelencia de la concentración del 40% con el extracto de Citronella en base oleosa fue de 90 minutos.

Otro de los objetivos de esta investigación era determinar si el extracto de Citronella en base oleosa iba a tener una eficiencia igual o mejor a un repelente en base etanólica, con los resultados obtenidos y realizada la comparación entre el repelente natural y el comercial se puede determinar que no hay diferencia significativa en su efecto de protección ya que el repelente natural de *Cymbopogon citratus* en base oleosa a una concentración del 40% tiene un porcentaje de protección del 100% con un tiempo máximo de 90 minutos de protección casi igual al comercial que tiene 120 minutos de protección basados en el experimento realizado en el laboratorio de Zoonosis de la Facultad de Medio Ambiente y Recursos Naturales de la Universidad Distrital Francisco José de Caldas, y fundamentado en los análisis estadísticos de la prueba T-STUDENT.

Pero se evidencia; con base a lo anterior, que al realizar el experimento con el extracto de *Cymbopogon citratus* en base oleosa se obtiene un mayor tiempo de protección a concentración menor que el realizado en base etanólica por Gómez, Grisales y Téllez (2015), pues con una concentración de 40% se obtuvo un 100% de repelencia en un tiempo de 90 min, mientras que en el otro estudio la concentración fue de 60%, lo que nos indica que la base oleosa es más efectiva para la repelencia y tiene una duración mayor.

Lo que nos lleva a concluir que la Citronella demuestra un efecto repelente en concentraciones mínimas desde 0,5% como lo expone Álvarez & Ochoa (2013) y de igual forma sólo y en combinación con otros productos repelentes, como se demuestra en esta investigación en base oleosa y etanólica no existe una diferencia significativa en el tiempo completo de protección.

## 11) Conclusiones

- En todas las concentraciones estudiadas se evidenció repelencia, desde la más baja de 10%, la cual no superó el número de posaduras del blanco, hasta la 40% que fue la mejor concentración de repelencia.
- Se determinó que el extracto de *Cymbopogon citratus* (*Citronella*) presenta una alta repelencia en concentraciones de 30% y 40%.
- *Cymbopogon citratus* (*Citronella*) tiene un 100% de eficiencia a una concentración de 40% como repelente natural contra mosquitos de la especie *Aedes aegypti*.
- El repelente natural a base oleosa de *Cymbopogon citratus* tiene una eficiencia de repelencia de 100% y un tiempo completo de protección de 90 minutos a concentración de 40% contra los mosquitos adultos de *Aedes aegypti*.
- Al realizar la comparación del repelente natural de extracto de *Cymbopogon citratus* contra el repelente comercial se evidencia que no hay diferencias significativas entre el tiempo de protección, pues en ambos casos se evidenciaron posaduras después de los 90 minutos de la aplicación.
- Los repelentes naturales extraídos de plantas como el de Citronella son altamente efectivos como repelentes, y presentan un tiempo de protección similar a los repelentes comerciales en base etanólica.



## 12) Recomendaciones

- Es importante realizar investigaciones que permitan eliminar el pigmento verde producido por la coloración natural de *Cymbopogon citratus* (Citronella) para evitar manchar la piel.
- Es recomendable que, para la obtención de los ejemplares adultos de mosquitos, que en este caso fue *Aedes aegypti* cepa Rockefeller se verifique y se vele para que la fuente sea confiable como el Instituto Nacional de Salud, para que se usen cepas libres de patógenos y así evitar poner en peligro la integridad de los voluntarios.
- Se recomienda realizar mezclas de extractos naturales, estos deben ser repelentes para mosquitos, con el fin de crear un repelente que genere una mayor repelencia y tiempo total de protección.
- Para futuras investigaciones se recomienda continuar utilizando extractos naturales obtenidos por el método de extracción en caliente, ya que se optimiza la extracción de volúmenes apropiados con menos cantidad de material vegetal que con el método en frío.
- Para evitar variabilidad en los resultados se recomienda analizar las pruebas biológicas utilizando voluntarios con condiciones similares en cuanto a constitución física, aspectos étnicos, estilos de vida y una misma procedencia geográfica.

### 13) Bibliografía

- Abarca, K. (2000). Comité de infecciones emergentes, fiebre amarilla. Recuperado el 19 de marzo de 2018, de: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v18n1/art09.pdf>
- Álvarez, H, & Ochoa, M. (2013). FORMULACION DE UNA “LOCION REPELENTE” UTILIZANDO COMO PRINCIPIO ACTIVO ACEITE ESENCIAL DE *Eucalyptus globulus* (EUCALIPTO) Y PERFUME DE CITRONELLA (Tesis de grado). Universidad de El Salvador, San Salvador, El Salvador, Centro América.
- Araguaia, M. (2015). Recuperado el 07 de enero de 2018, de: <http://www.alunosonline.com.br/biologia/aedes-aegypti.html>
- Armando Erik Elisondo. (2002). Taxonomía y distribución de los mosquitos (Diptera: Culicidae) de las regiones fisiograficas llanura costera del golfo y sierra madre oriental, del estado de Nuevo Leon, Mexico, de Universidad Autónoma de Nuevo León. Recuperado el 2 de Enero de 2018, de: <http://eprints.uanl.mx/5092/1/1020146969.PDF>
- Cardenas, E., Riveros, I., & Lugo, L. (2013). Efecto insecticida de cuatro aceites esenciales sobre adultos de *Aedes aegypti* y *Anopheles albimanus* en condiciones experimentales. *ENTOMOTROPICA*, Vol. 28 (1): 1-10.
- Centro de Coordinación de Alertas y Emergencias Sanitarias. (2014). Brote de fiebre Chikungunya en la Región de las Américas. Evaluación rápida del riesgo para España. Recuperado el 25 de febrero de 2018, de: [http://www.msssi.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/docs/Chikungunya\\_24.06.2014.pdf](http://www.msssi.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/docs/Chikungunya_24.06.2014.pdf)
- Daza, L. & Florez, N. (2006). Diseño de un repelente para insectos voladores con base en productos naturales (Tesis de pregrado). Universidad EAFIT. Disponible en el

catalogo en línea de la Universidad Eafit. Medellín. Recuperado el 3 de Marzo de 2018, de:

[https://repository.eafit.edu.co/bitstream/handle/10784/354/LeticiaPaulina\\_DazaM\\_2006.pdf;j\\_sessionid=8FCADF00CC3A0E8FEE2874AE109BE980?sequence=1](https://repository.eafit.edu.co/bitstream/handle/10784/354/LeticiaPaulina_DazaM_2006.pdf;j_sessionid=8FCADF00CC3A0E8FEE2874AE109BE980?sequence=1)

- Estebanez, P. (2005). *Medicina Humanitaria* . España : Ediciones Diaz de santos .
- FLORAL ENCOUNTERS . (2013). Recuperado el 5 de Septiembre de 2017, de:  
[http://www.floralencounters.com/Seeds/seed\\_detail.jsp?productid=87977](http://www.floralencounters.com/Seeds/seed_detail.jsp?productid=87977)
- Estrada, Peña, A. (2015). Ticks as vectors: taxonomy, biology and ecology. En *Evolución reciente de las principales enfermedades transmitidas por vectores. Parte I: Panorámica* (S. Zientara, D. Verwoerd & P.-P. Pastoret, comp.). *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 34 (1), 53–65.
- EPA, (2010). *Product Performance Test Guidelines Insect Repellents to be Applied to Human Skin*. OPPTS 810.3700:, I, 41. United States, North America: Office of Chemical Safety and Pollution Prevention.
- EPA,(1996) *SW-846 Test Method 3540C: Soxhlet Extraction*. United States, North America: Office of Chemical Safety and Pollution Prevention.
- Fonnegra, R. (2007) *Plantas medicinales aprobadas en Colombia*. Segunda Edición. Ed. Universidad de Antioquía. Medellín – Colombia
- Garcia A, Lopez J, Jimenez F. (2002). *Metodología de la investigación, bioestadística y bioinformática en ciencias médicas y de la salud*, 2edición. Hospital general de Mexico D.F.
- Gomez, M, Grisales, M, & Tellez, D. (2015). *EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE LOS EXTRACTOS NATURALES DE CITRONELLA (Cymbopogon citratus)*,

ALBAHACA (*Ocimum basilicum*) y LAVANDA (*Lavandula spp.*) COMO REPELENTE NATURAL CONTRA MOSQUITOS ADULTOS DE LA ESPECIE *Aedes aegypti*. (Tesis de pregrado). Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Bogotá, Colombia.

- Instituto Nacional de la salud. (2014). Protocolo de vigilancia en salud pública. Recuperado el 3 de agosto de 2017, de: <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/subdireccionvigilancia/sivigila/protocolos%20sivigila/pro%20fiebre%20amarilla.pdf>
- Instituto Nacional de la Salud. (2015). Evaluación de riesgo infección por virus Zika. Recuperado el 22 de Noviembre de 2017, de: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/ED/VSP/ZikaMayo-2015-Analisis-Riesgo.pdf>
- Instituto Nacional de Salud. (2011). Gestión para la vigilancia entomológica y control de la transmisión de dengue. Recuperado el 8 de marzo de 2018, de: <http://www.ins.gov.co/Paginasdeinteres/%20interes/Dengue/03%20Vigilancia%20entorno%20dengue.pdf>
- Knight, K.L. and A. Stone. 1977. A Catalog of the Mosquitoes of the World (Diptera: Culicidae) the Thomas Say Foundation, Entomol. Soc. Amer. Vol. VI, pp 70-156
- Mendez, Ana. (2018). Dengue, chikungunya y zika: alerta, prevención y tratamiento. Universidad Metropolitana. Recuperado el 15 de febrero de 2018, de: [http://www.anagmendez.net/umet/pdf/educacion\\_continua\\_dengue\\_chicungunya\\_zika.pdf](http://www.anagmendez.net/umet/pdf/educacion_continua_dengue_chicungunya_zika.pdf)

- Ministerio de la protección social. (2012). gestión para la vigilancia entomológica y control de la transmisión de dengue. Recuperado el 09 de diciembre de 2017, de:  
<http://www.ins.gov.co/temas-deintereses/dengue/03%20vigilancia%20entomo%20dengue.pdf>
- Ministerio de salud de Argentina. (2009). Borrador de protocolo de acciones de control de aedes aegypti. Recuperado el 26 de noviembre de 2017, de:  
<http://www.msal.gov.ar/images/stories/cofesa/2009/acta-02-09/anexo-7-control-de-vectores-02-09.pdf>
- Ministerio de salud. (2014). Colombia fortalece la lucha contra las enfermedades transmitidas por vectores. Recuperado el 15 de Marzo de 2018 de:  
<https://www.minsalud.gov.co/Paginas/Colombia-fortalece-la-lucha-contra-las-enfermedades-transmitidas-por-vectores.aspx>
- Missouri botanical garden. (s.f.). Recuperado el 5 de Septiembre de 2017, de:  
[http://www.missouribotanicalgarden.org/gardens-gardening/your-garden/plantfinder/plant-details/kc/a504\(accessed-31/08/11/cymbopogon-citratus.aspx](http://www.missouribotanicalgarden.org/gardens-gardening/your-garden/plantfinder/plant-details/kc/a504(accessed-31/08/11/cymbopogon-citratus.aspx)
- Montero Guillermo. (2009). (Recopilación). Blog FCA, UNR, 11.09, 2009.
- Moreno, S. (2016). Aceites esenciales: la manera mas ecológica de defenderte de los insectos. El granero integral. Recuperado el 10 de septiembre de 2017, de:  
<http://www.elgranero.com/mejorar/aceites-esenciales-la-manera-mas-ecologica-de-defenderte-de-los-insectos/>
- Nelson, M.J, Aedes aegypti: Biología y Ecología. Organización Panamericana de la Salud. Washington, DC. 50 pp. (1986).

- Organización Mundial de la Salud. (2014). Organización Mundial de la Salud. Recuperado el 15 de Septiembre de 2017, de: <http://www.who.int/topics/dengue/es/>
- Organización mundial de la salud. (2016). Enfermedad por el virus del zika. Recuperado el 28 de agosto de 2017, de: <http://who.int/mediacentre/factsheets/zika/es/>
- Organización Mundial de la Salud. (2016a). Dengue y dengue grave. Recuperado el 13 de diciembre del 2017, de: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/es/>
- Organización Mundial de la Salud. (2016b). Enfermedad por el virus del Zika. Recuperado el 13 diciembre de 2017, de: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/zika/es/>
- Organización mundial de la salud. (2017). Dengue y dengue grave. Recuperado el 24 de octubre de 2017, de: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/es/>
- Organización Panamericana de la Salud. (1994). Dengue and dengue hemorrhagic fever in the Americas: guidelines for prevention and control. Washington, D.C.: PAHO; 1994. p.3-22.
- Organización Panamericana de la Salud. (2000). Definiciones de casos. Dengue. Boletín Epidemiológico 2000; 21:14-5.
- Osorio, A. M. (2003). Estudio de Longevidad y el ciclo gonotrofico del Aedes (Stegomyia) aegypti (Linnaeus, 1726), cepa Girardot (Cundimarca) en condiciones de laboratorio. 42 Recuperado el 10 de Septiembre de 2014, de: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis51.pdf>
- Salvatella Agrelo,R, (2009). Consultor nacional de OPS/OMS en Uruguay, Instituto de Higiene, Aedes aegypti (Linnaeus,1762)(Diptera, Culicidae), el vector del dengue y la

fiebre amarilla. Recuperado el 10 de octubre de 2017, de:

<http://www.higiene.edu.uy/dengue.htm>.

- Santos, J. (2016). Curso de vacunología 2016 para America Latina. Universidad Nacional Autonoma de Mexico. Recuperado el 2 de marzo de 2018, de:  
[http://congresotrabajosocial.es/app/webroot/files/files/Ejemplos%20Referencias%20Bibliograficas\\_A1ficas\\_NormasAPA.pdf](http://congresotrabajosocial.es/app/webroot/files/files/Ejemplos%20Referencias%20Bibliograficas_A1ficas_NormasAPA.pdf)
- Seppa, N.(2015). Science News, Chikungunya is on the move. Recuperado el 15 de octubre de 2017, de: <https://www.sciencenews.org/article/chikungunya-move>
- Sharapin, N. (2000). Fundamentos de Tecnologia de Productos Fitoterapeuticos. Bogotá D.C.: CYTED.
- UNICEF. (2008). Orientaciones para la comunidad educativa sobre zika, dengue y chikungunya. Recuperado el 2 de marzo de 2018, de:  
[https://www.unicef.org/republicadominicana/Guia\\_Un\\_Mosquito\\_web.compressed.pdf](https://www.unicef.org/republicadominicana/Guia_Un_Mosquito_web.compressed.pdf)
- Universidad Nacional. (2007). Recuperado el 8 de abril de 2018, de:  
<http://ciencias.bogota.unal.edu.co/icn/grupos-deinvestigacion/investigacion-en-sistemica-y-taxonomia/>
- Vida naturalia. (2016). ¿Qué son los aceites esenciales? Recuperado el 08 de septiembre de 2017, de: <http://www.vidanaturalia.com/que-son-los-aceites-esenciales/>
- Watson L, Dallwitz MJ. (2008). The grass genera of the World: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval: including synonyms, morphology, anatomy, cytology, classification, pathogens, World and local distribution, and references. The grass genera or the World. Recuperado el 29 de agosto de 2017, de: <http://delta-intkey.com/grass/>

- World Health Organization. (2009). GUIDELINES FOR EFFICACY TESTING OF MOSQUITO REPELLENTS FOR HUMAN SKIN. EE.UU: World Health Organization.
- Zubieta, A, & Morales, L. (2015) EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE LOS EXTRACTOS NATURALES DE *Eucaliptus globulus* y *Platycladus orientalis* COMO REPELENTE NATURAL CONTRA MOSQUITOS ADULTOS DE LA ESPECIE *Aedes aegypti*.(Tesis de pregrado). Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Bogota, Colombia.



**14) Anexos**

*Anexo 1. Resultados de bioensayos con Citronella a diferentes concentraciones.*

<b>BIOENSAYO CON CITRONELLA</b>					
<b>Voluntario</b>	<b>% Concentración</b>	<b># de picaduras</b>	<b>Voluntario</b>	<b>% Concentración</b>	<b># de picaduras</b>
1	Blanco	6	6	Blanco	9
1	10%	6	6	10%	6
1	20%	3	6	20%	3
1	30%	0	6	30%	0
1	40%	0	6	40%	0
2	Blanco	6	7	Blanco	8
2	10%	4	7	10%	5
2	20%	1	7	20%	2
2	30%	0	7	30%	0
2	40%	0	7	40%	0
3	Blanco	5	8	Blanco	5
3	10%	5	8	10%	3
3	20%	1	8	20%	0
3	30%	0	8	30%	0
3	40%	0	8	40%	0
4	Blanco	5	9	Blanco	7
4	10%	3	9	10%	5
4	20%	2	9	20%	1

4	30%	1	9	30%	0
4	40%	0	9	40%	0
5	Blanco	5	10	Blanco	8
5	10%	2	10	10%	5
5	20%	0	10	20%	2
5	30%	0	10	30%	0
5	40%	0	10	40%	0

*Fuente: Las autoras*

**Anexo 2. Tabla del tiempo completo de protección aplicación 3 vs 4.**

<b>TCP APLICACIÓN 3 (30%)</b>				
<b>Número de posaduras por periodo de tiempo.</b>				
<b>Voluntario</b>	<b>30 Min</b>	<b>60 Min</b>	<b>90 Min</b>	<b>120 Min</b>
1	0	0	0	0
2	0	0	1	2
3	0	0	2	4
4	0	0	0	0
5	0	0	1	2
6	0	0	1	0
7	0	0	0	0
8	0	0	2	2
9	0	0	0	0

10	0	0	0	1
<b>TCP APLICACIÓN 4 (40%)</b>				
1	0	0	0	0
2	0	0	0	2
3	0	0	0	0
4	0	0	0	0
5	0	0	0	1
6	0	0	1	1
7	0	0	0	0
8	0	0	0	0
9	0	0	0	2
10	0	0	0	0

*Fuente: Las Autoras*

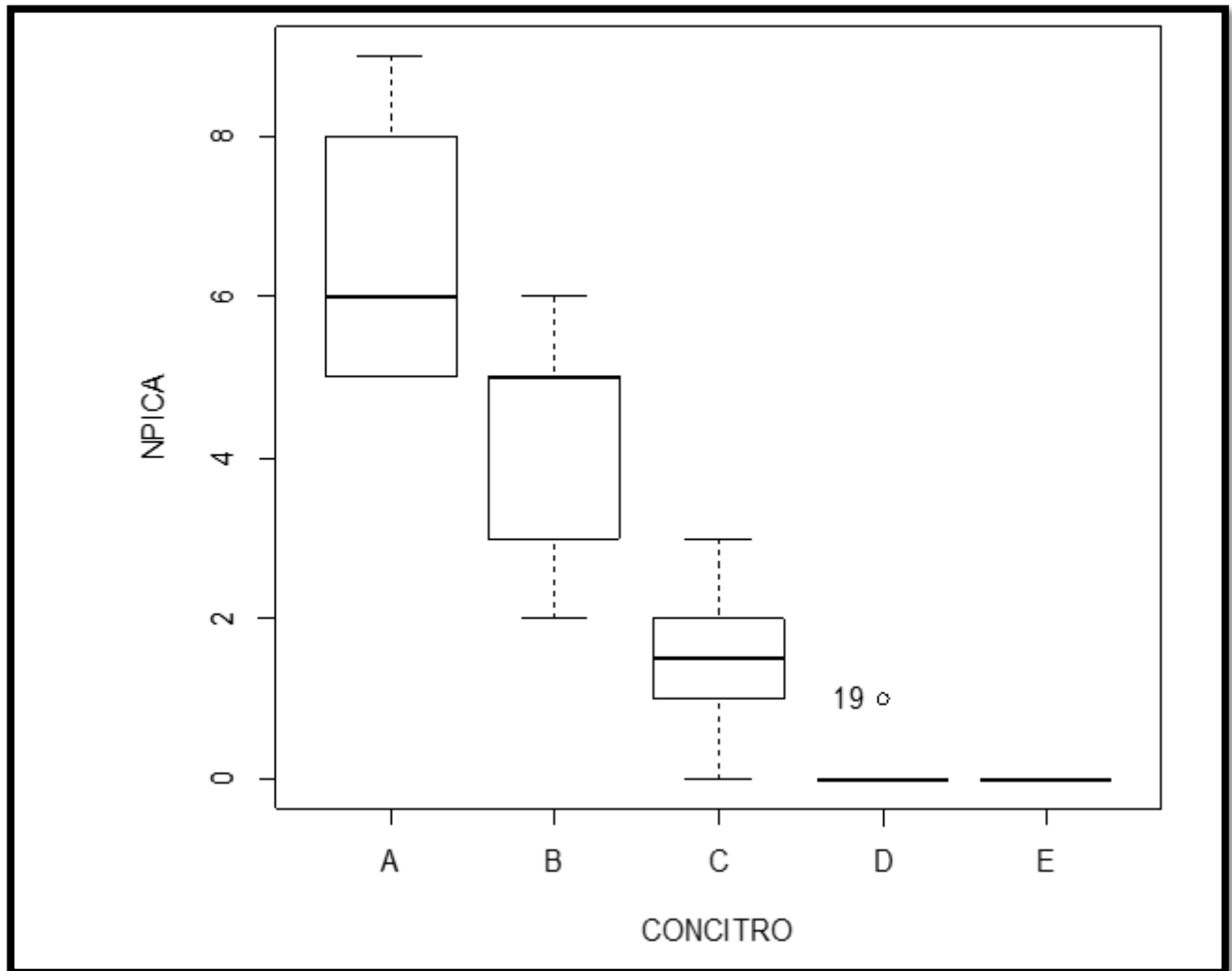
*Anexo 3. Tabla del tiempo completo de protección repelente de Citronella frente a repelente comercial.*

<b>TIEMPO DE REPELENCIA REPELENTE COMERCIAL VS REPELENTE NATURAL</b>					
<b>VOLUNTARIO</b>	REPELENTE	30	60	90	120
		MINUTOS	MINUTOS	MINUTOS	MINUTOS

<b>1</b>	Repelente-comercial	0	0	0	0
	Citronella -40%	0	0	0	0
<b>2</b>	Repelente comercial	0	0	0	2
	Citronella -40%	0	0	0	2
<b>3</b>	Repelente comercial	0	0	0	0
	Citronella -40%	0	0	0	0
<b>4</b>	Repelente comercial	0	0	0	2
	Citronella -40%	0	0	0	0
<b>5</b>	Repelente comercial	0	0	0	0
	Citronella -40%	0	0	0	1
<b>6</b>	Repelente comercial	0	0	0	1
	Citronella -40%	0	0	1	1
<b>7</b>	Repelente comercial	0	0	0	0
	Citronella -40%	0	0	0	0
<b>8</b>	Repelente comercial	0	0	0	1
	Citronella -40%	0	0	0	0
<b>9</b>	Repelente comercial	0	0	0	2
	Citronella -40%	0	0	0	2
<b>10</b>	Repelente comercial	0	0	0	0
	Citronella -40%	0	0	0	0

*Fuente: Las autoras*

*Anexo 4. Grafica de análisis por factor ANOVA.*



*Fuente: Las Autoras*

*Anexo 5. Modelo de certificación de autorización de voluntarios.*



**UNIVERSIDAD DISTRITAL FRANCISCO JOSE DE CALDAS**  
**FACULTAD DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES**  
**TECNOLOGIA EN SANEAMIENTO AMBIENTAL**



**UNIVERSIDAD DISTRITAL  
FRANCISCO JOSÉ DE CALDAS**

**CERTIFICACIÓN DE VOLUNTARIOS PARA PARTICIPAR EN LAS PRUEBAS PARA  
LA ESTIMACIÓN DE DOSIS EFECTIVA Y EL TIEMPO DE PROTECCION TOTAL DEL  
REPELENTE DE CITRONELA EN BASE OLEOSA**

YO \_\_\_\_\_ IDENTIFICADO CON CEDULA DE  
CIUDADANIA \_\_\_\_\_ DOY MI CONSENTIMIENTO VOLUNTARIO  
A PARTICIPAR EN ESTA INVESTIGACIÓN QUE YA ME FUE EXPLICADA POR LAS  
INVESTIGADORAS Y HE PREGUNTADO SI HE TENIDO DUDAS. ENTIENDO QUE  
TENGO DERECHO A RETIRARME DE LA INVESTIGACIÓN SI EN CUALQUIER  
MOMENTO O DE ALGUNA MANERA AFECTA MI SALUD.

\_\_\_\_\_

Firma

***Anexo 6. Medición de la superficie de la piel de voluntarios.***

El área de la superficie de la piel usada en una extremidad para la prueba repelente puede ser aproximada sobre la base de la superficie de un cilindro.

Se requieren tres dimensiones para este propósito: la longitud del área de tratamiento, y la circunferencia de la extremidad en los límites proximales y distales de la zona de tratamiento. en la figura 11 se muestra la manera como será administrada cada dosis del repelente: Se aplicará de manera uniforme sobre la superficie total de área alrededor del brazo desde la muñeca hasta el codo, como se muestra en imagen A.

El área de tratamiento se puede aproximar mediante la medición de la circunferencia (cm) de la muñeca (B), la circunferencia (cm) en la fosa cubital del codo (C) cuando se extiende el brazo, y la distancia (cm) del codo a la muñeca (D) (OMS,2009).



*Figura 12. Área de la piel tratada*  
*Fuente: Las Autoras*