

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG XUA, DIỆT MUỖI *AEDES*
CỦA TINH DẦU PHONG LŨ THẢO

Đỗ Ngọc Hoàng¹, Nguyễn Minh Quyền¹, Nguyễn Thị Như Quỳnh¹
Hoàng Huyền Trang¹, Đỗ Ngọc Ánh¹, Lê Quốc Tuấn^{1*}

Tóm tắt

Mục tiêu: Thử nghiệm tác dụng xua, diệt muỗi của tinh dầu Phong lữ thảo (*Pelargonium graveolens*) với muỗi *Aedes aegypti* (*Ae. aegypti*) và *Aedes albopictus* (*Ae. albopictus*). **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả bằng thực nghiệm trong phòng thí nghiệm, có sử dụng các kỹ thuật thử chế phẩm xua diệt muỗi của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) để xác định liều tinh dầu có tác dụng xua muỗi, thời gian bảo vệ và liều có tác dụng diệt muỗi. **Kết quả:** Tinh dầu Phong lữ thảo có tác dụng xua hai loài muỗi ở liều lượng tinh dầu bôi trên da là 0,1 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$. Tinh dầu Phong lữ thảo pha loãng trong dầu dừa có thời gian xua muỗi 244 phút với muỗi *Ae. aegypti* và 178 phút đối với muỗi *Ae. albopictus*. Toàn bộ muỗi *Ae. aegypti* và *Ae. albopictus* ngã và chết sau khi tiếp xúc với liều lượng tinh dầu 0,11 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$. **Kết luận:** Xác định khả năng xua, diệt muỗi *Aedes* của tinh dầu Phong lữ thảo với liều tác dụng xua và diệt muỗi là 0,11 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$, thời gian tác dụng xua muỗi tối đa 178 phút.

Từ khóa: *Aedes aegypti*; *Aedes albopictus*; Tinh dầu; Phong lữ thảo; Xua muỗi; Diệt muỗi.

INSECTICIDAL ACTIVITIES OF GERANIUM ESSENTIAL OIL
AGAINST *AEDES* MOSQUITOES

Abstract

Objectives: To test the mosquito repellent and insecticide effects of Geranium essential oil (*Pelargonium graveolens*) on *Aedes aegypti* (*Ae. aegypti*) and *Aedes albopictus* (*Ae. albopictus*) mosquitoes. **Methods:** A descriptive, experimental study in the laboratory, using the World Health Organization's mosquito repellent testing techniques to determine the mosquito repellent dose, protection time, and mosquito

¹Học viện Quân y

*Tác giả liên hệ: Lê Quốc Tuấn (tuanisation@gmail.com)

Ngày nhận bài: 20/6/2025

Ngày được chấp nhận đăng: 19/8/2025

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v50i8.1406>

repellent dose. **Results:** Geranium essential oil repelled two species of mosquitoes at a dose of 0.1 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ applied to the skin. Geranium essential oil diluted in coconut oil repelled 244 minutes against *Ae. aegypti* mosquitoes and 178 minutes against *Ae. albopictus* mosquitoes. All *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* mosquitoes fell and died after exposure to an essential oil dose of 0.11 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$. **Conclusion:** Geranium essential oil showed repellent and insecticidal activities against *Aedes* mosquitoes at a dose of 0.11 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$, minimum protective time of 178 minutes.

Keywords: *Aedes aegypti*; *Aedes albopictus*; Essential oil; Pelargonium graveolens; Mosquito repellent; Mosquitocide.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Muỗi *Ae. aegypti* và *Ae. albopictus* là hai vector quan trọng trong lây truyền các mầm dịch bệnh nguy hiểm cho con người như virus sốt xuất huyết Dengue (SXHD), virus sốt vàng, Chikungunya, virus Zika... đặc biệt là virus gây bệnh SXHD [1]. Theo WHO (2024), ước tính có khoảng 3,9 tỷ người ở 128 quốc gia có nguy cơ nhiễm virus SXHD. Trong 50 - 100 triệu trường hợp mắc SXHD, khoảng 500.000 trường hợp phải nhập viện điều trị, trong đó 90% là trẻ em < 15 tuổi [2]. Do đó, biện pháp phòng chống tốt nhất hiện nay là kiểm soát các vector bằng các sản phẩm xua, diệt côn trùng [3]. Hiện nay, các loại tinh dầu tự nhiên có hoạt tính xua diệt côn trùng, đặc biệt trong phòng chống muỗi đốt thường được lựa chọn thay thế cho các chất hóa học.

Ở Việt Nam, Phong lữ thảo được trồng chủ yếu ở Hà Nội và Đà Lạt để làm cây cảnh, ngoài ra, loài cây này cũng có tác dụng xua đuổi muỗi, vì vậy đã mở ra nghiên cứu ứng dụng chiết xuất tinh dầu

từ loài cây này thay thế cho hóa chất trong phòng chống muỗi với những lợi ích lớn không gây độc cho người, động vật và môi trường. Tinh dầu Phong lữ thảo không ảnh hưởng đến sức khỏe con người, dễ tìm kiếm và sử dụng, chi phí thấp. Tuy nhiên, do tính chất di thực và sử dụng chủ yếu làm cây cảnh nên ở Việt Nam các nghiên cứu về tác dụng xua diệt muỗi của loài Phong lữ thảo còn rất hạn chế. Xuất phát từ những lý do trên, nghiên cứu về tác dụng xua, diệt muỗi *Aedes* của tinh dầu Phong lữ thảo được thực hiện nhằm: *Xác định liều lượng có tác dụng xua, diệt muỗi Ae. aegypti và Ae. albopictus và thời gian bảo vệ của tinh dầu Phong lữ thảo.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Gồm tinh dầu Phong lữ thảo tinh khiết; muỗi *Ae. aegypti* và *Ae. albopictus*.

* *Địa điểm và thời gian nghiên cứu:* Tại Bộ môn Ký sinh trùng & Côn trùng phòng thí nghiệm động vật chân đốt, Học viện Quân y từ tháng 5/2024 - 4/2025.

* *Trang thiết bị nghiên cứu:* Hộp thử liều xua muỗi được thiết kế theo mẫu K&D Module của tác giả Klun & Debboun [4] và có chỉnh sửa cho phù hợp với người Việt Nam, bộ dụng cụ thử độ nhạy cảm với hóa chất diệt côn trùng theo thiết kế của WHO, lồng thử nghiệm xua muỗi kích thước 30 x 30 x 30cm, lồng nuôi và các dụng cụ nuôi muỗi...

2. Phương pháp nghiên cứu

* *Thiết kế nghiên cứu:* Nghiên cứu mô tả thực nghiệm trong phòng thí nghiệm.

* *Phương pháp chọn mẫu và cỡ mẫu:*

Chọn mẫu: Muỗi thử nghiệm là muỗi cái *Ae. aegypti* và *Ae. albopictus* trưởng thành, 2 - 5 ngày tuổi. Muỗi được nhân nuôi và duy trì liên tục tại phòng thí nghiệm động vật chân đốt, Bộ môn Ký sinh trùng và côn trùng, Học viện Quân y.

Cỡ mẫu: Số lượng muỗi thử nghiệm dựa theo các quy trình. Thử nghiệm thăm dò liều xua muỗi: 5 muỗi/nồng độ thuốc thử/lần thử. Thử nghiệm thời gian xua muỗi: 250 muỗi/nồng độ thuốc thử/lần thử. Thử nghiệm tác dụng diệt muỗi: 20 muỗi/nồng độ thuốc thử/lần thử.

* *Kỹ thuật nghiên cứu:*

- Kỹ thuật thử nghiệm tác dụng xua muỗi của tinh dầu Phong lữ thảo: Tinh dầu được pha loãng trong cồn ethanol (EtOH) theo nồng độ tăng dần (*Bảng 1*). Chọn muỗi cái, 2 - 5 ngày tuổi, khỏe, đủ chân, cánh, bay bình thường, không cho ăn trước thử nghiệm 12 giờ. Chuyển 5 muỗi vào mỗi hộp thử nghiệm. Người tình nguyện bọc lộ vùng đùi, dùng cồn 70° lau vùng da thử nghiệm để khử mùi, bôi dung dịch thử nghiệm lên vùng da có kích thước 4 x 5cm (20cm²). Để khô tự nhiên trong 5 phút.

Bảng 1. Liều lượng tinh dầu thử tác dụng xua muỗi.

Nồng độ tinh dầu	Liều lượng (μL/cm ²)	Lượng tinh dầu/ diện tích thử (μL)	Lượng EtOH để pha loãng (μL)	Tổng thể tích bôi lên vùng da thử (20cm ²) (μL)
C0	Control	0	40	40
C1 (1%)	0,02	0,40	39,60	40
C2 (5%)	0,1	2,0	38,0	40
C3 (10%)	0,2	4,0	36,0	40
C4 (25%)	0,5	10,0	30,0	40
C5 (50%)	1,0	20,0	20,0	40

Cho muối trong các hộp thử tiếp xúc với da có tinh dầu trong 3 phút. Dùng kính lúp quan sát số lần muỗi đậu, đốt và ngã ở mỗi hộp thử nghiệm. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 5 lần. Ghi nhận nồng độ và liều lượng tối thiểu có tác dụng ức chế muỗi đậu, đốt.

- Kỹ thuật thử nghiệm thời gian tác dụng xua muỗi của tinh dầu Phong lữ thảo: Tinh dầu được pha loãng trong cồn EtOH hoặc dầu dừa (tương tự cách pha trong EtOH). Dựa trên kết quả thử nghiệm liều tác dụng xua muỗi, tinh dầu nồng độ C3 (10%), tương đương liều lượng $0,2 \mu\text{L}/\text{cm}^2$ được sử dụng để đánh giá thời gian xua muỗi. Chuyển 250 muỗi vào lồng thử nghiệm. Người tình nguyện được che kín cả tay bằng găng tay cao su và bọc lộ 1 ô chữ nhật $3 \times 10\text{cm}$ để bôi thuốc thử [5]. Dùng cồn 70° lau vùng da thử nghiệm để khử mùi, bôi dung dịch thử nghiệm lên tay trái, bôi dung dịch đối chứng âm lên tay phải, để khô tự nhiên trong 5 phút. Đưa tay vào lồng muỗi trong 3 phút, quan sát số muỗi đậu. Tay đối chứng được thử với muỗi trước tay bôi tinh dầu, nếu có từ 2 muỗi trở lên đốt hoặc đậu ở cả tay thì thử nghiệm được tiếp tục. Ghi lại số lần muỗi đậu hoặc đốt ở tay đối chứng và tay bôi tinh dầu. Nếu trong 3 phút không có muỗi nào đậu hoặc đốt

thì bỏ tay ra, đợi 30 phút, test lại cho đến khi có ít nhất 2 muỗi đậu hoặc đốt trong khoảng thời gian 3 phút thì dừng thử nghiệm. Thời gian tác dụng xua muỗi được tính từ khi bôi tinh dầu cho đến khi ngừng thử nghiệm. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 5 lần [6].

- Kỹ thuật thử tác dụng diệt muỗi: Cát tấm giấy lọc có kích thước $12 \times 15\text{cm}$ (180cm^2), nhỏ dung dịch thấm 2mL tinh dầu Phong lữ thảo pha loãng trong EtOH ở các nồng độ (giấy thử) hoặc dung dịch EtOH (đối chứng), để khô tự nhiên trước khi thử nghiệm 1 giờ. Các giấy thử được tẩm chất thử có ký hiệu, nồng độ và liều lượng là D0 (Control), D1 (0,25%, $0,013 \mu\text{L}/\text{cm}^2$), D2 (0,5%, $0,026 \mu\text{L}/\text{cm}^2$), D3 (1%, $0,053 \mu\text{L}/\text{cm}^2$), D4 (2,5%, $0,11 \mu\text{L}/\text{cm}^2$) và D5 (5%, $0,21 \mu\text{L}/\text{cm}^2$).

Cho giấy thấm tẩm tinh dầu vào buồng thử của ống thử. Thả 20 muỗi vào ống thử, cho muỗi tiếp xúc với giấy trong thời gian 60 phút. Hết thời gian tiếp xúc chuyển muỗi sang buồng nghỉ của ống thử, cho muỗi ăn nước đường 5% pha vitamin, để vào chỗ tối trong 24 giờ. Tính tỷ lệ (%) muỗi chết. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 5 lần [7].

Tỷ lệ (%) muỗi chết = $[(\% \text{ chết thử nghiệm} - \% \text{ chết đối chứng}) / (100 - \% \text{ chết đối chứng})] \times 100$.

* *Xử lý số liệu*: Bằng các phần mềm thống kê chuyên dụng để làm sạch và thu nhận dữ liệu nghiên cứu. Các chỉ tiêu nghiên cứu được xác định dựa trên các quy trình thử nghiệm.

3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được Hội đồng thông qua theo đề tài nghiên cứu khoa học và công nghệ cấp Học viện năm 2024 - 2025 và được Giám đốc Học viện Quân y giao nhiệm vụ nghiên cứu số 2352/QĐ-HVQY ngày 21/6/2024.

Nhóm tác giả cam kết bảo đảm an toàn cho người thử nghiệm, vì muỗi được nuôi và phát triển trong phòng thí nghiệm, hoàn toàn bảo đảm an toàn. Số liệu nghiên cứu được Bộ môn Ký sinh trùng và côn trùng, Học viện Quân y cho phép sử dụng và công bố. Nghiên cứu được xây dựng, hoàn thiện và công bố dựa trên sự đồng thuận của tất cả thành viên trong nhóm nghiên cứu. Nhóm tác giả cam kết không có xung đột lợi ích trong nghiên cứu.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

1. Kết quả thăm dò liều tác dụng xua muỗi *Aedes* của tinh dầu Phong lữ thảo

Bảng 2. Liều tinh dầu Phong lữ thảo có tác dụng xua muỗi *Aedes*.

Nồng độ tinh dầu	Đốt		Ngã	
	<i>Ae. albopictus</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. albopictus</i>	<i>Ae. aegypti</i>
C0 (Control)	2,0	2,2	0,0	0,0
C1 (1%)	1,4	1,8	0,0	0,0
C2 (5%)	0,0	0,0	1,8	1,2
C3 (10%)	0,0	0,0	5,0	5,0
C4 (25%)	0,0	0,0	5,0	5,0
C5 (50%)	0,0	0,0	5,0	5,0

Khảo sát các nồng độ từ C1 - C5 thấy ở nồng độ C1 (liều lượng tinh dầu 0,02 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$) vẫn còn hiện tượng muỗi đốt, so với nhóm chứng không có sự khác biệt. Từ nồng độ C2 (liều lượng 0,1 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$) và nồng độ cao hơn không còn hiện tượng đốt, muỗi bắt đầu ngã. Nồng độ C3 (0,2 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$) và cao hơn làm muỗi ngã 100%.

2. Thời gian xua muỗi *Aedes* của tinh dầu Phong lữ thảo**Bảng 3.** Thời gian tác dụng xua muỗi của tinh dầu Phong lữ thảo.

Dung dịch thử nghiệm	Thời gian thử nghiệm (phút)	Số muỗi đậu/đốt (con)	
		<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. albopictus</i>
EtOH	3	4,0	4,0
	3	0,0	0,0
	33	0,33	0,67
	66	2,33	3,0
	99	2,67	3,67
Phong lữ thảo/EtOH	3	0,0	0,0
	33	3,0	2,67
	66	9,0	6,0
Phong lữ thảo/Dầu dừa	3	0,0	0,0
	33	0,0	0,0
	66	0,0	0,33
	99	0,0	0,33
	112	0,67	0,67
	145	0,33	1,33
	178	0,67	2,33
	211	1,67	5,0
	244	2,33	-
	277	3,0	-

Nghiên cứu cho thấy đối với *Ae. aegypti*, thời gian bảo vệ trung bình của dầu dừa là 66 phút. Thời gian bảo vệ trung bình của tinh dầu Phong lữ thảo/EtOH là 33 phút. Thời gian bảo vệ trung bình của tinh dầu Phong lữ thảo/dầu dừa là 244 phút. Như vậy, sự kết hợp giữa Phong lữ thảo và dầu dừa đã làm tăng hiệu quả xua muỗi của tinh dầu lên > 7,4 lần. Đối với *Ae. albopictus*, khả năng xua muỗi của tinh dầu có tác dụng tương tự đối với *Ae. aegypti*. Thời gian bảo vệ trung bình của dầu dừa là 66 phút. Thời gian bảo vệ trung bình của tinh dầu Phong lữ thảo/EtOH là 33 phút. Thời gian bảo vệ trung bình của tinh dầu Phong lữ thảo/dầu dừa là 178 phút.

3. Tác dụng diệt muỗi *Ae. aegypti* và *Ae. albopictus* của tinh dầu Phong lữ thảo

Bảng 4. Tỷ lệ muỗi *Ae. aegypti* chết khi tiếp xúc với tinh dầu Phong lữ thảo.

Thời gian (phút)	D0 (Control)	D1 (0,013 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$)	D2 (0,026 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$)	D3 (0,053 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$)	D4 (0,11 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$)	D5 (0,21 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$)
5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	71,7
10	0,0	1,7	8,5	50,0	65,0	76,7
15	0,0	5,0	28,5	81,7	86,7	83,4
20	0,0	46,7	78,5	93,4	98,4	95
30	0,0	60,0	96,5	98,4	100,0	96,7
40	0,0	65,0	100,0	100,0	100,0	100,0
50	0,0	66,7	100,0	100,0	100,0	100,0
60	0,0	66,7	100,0	100,0	100,0	100,0
> 24 giờ	0,0	15,0	33,3	36,7	100,0	100,0

5 phút sau khi cho muỗi *Ae. aegypti* tiếp xúc với tinh dầu Phong lữ thảo thấy nồng độ từ D1 - D4 (liều lượng 0,013 - 0,11 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$) không có muỗi ngã, riêng D5 (0,21 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$) có 71,1% muỗi ngã. Sau 30 phút tiếp xúc, D1 (0,013 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$) có 60,0% muỗi ngã, D2 - D5 (0,026 - 0,21 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$) có > 95,0% muỗi ngã. Sau 60 phút tiếp xúc, D1 có 66,7% muỗi ngã, D2 - D5 có 100% muỗi ngã hoàn toàn. Muỗi được chuyển sang ống nghỉ và theo dõi tiếp sau 24 giờ thấy ở các nồng độ thấp thì tỷ lệ muỗi chết càng thấp: D1 (15,0%), D2 (33,3%), D3 (36,7%). Nồng độ D4 (0,11 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$) và cao hơn có tác dụng diệt toàn bộ muỗi *Ae. aegypti*.

Bảng 5. Tỷ lệ muỗi *Ae. albopictus* chết khi tiếp xúc với tinh dầu Phong lữ thảo

Thời gian (phút)	D0 (Control)	D1 (0,013 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$)	D2 (0,026 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$)	D3 (0,053 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$)	D4 (0,11 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$)	D5 (0,21 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$)
5	0,0	0,0	0,0	11,7	25,0	100,0
10	0,0	0,0	31,7	35,0	70,0	100,0
15	0,0	3,4	50,0	63,4	90,0	100,0
20	0,0	6,7	68,4	88,4	100,0	100,0
30	0,0	28,4	90	98,4	100,0	100,0
40	0,0	55,0	100,0	100,0	100,0	100,0
50	0,0	86,7	100,0	100,0	100,0	100,0
60	0,0	98,4	100,0	100,0	100,0	100,0
Sau 24 giờ	0,0	22,0	27,0	35,0	100,0	100,0

Sau khi cho muỗi *Ae. albopictus* tiếp xúc với tinh dầu Phong lữ thảo trong 5 phút, ở nồng độ D1, D2 không có muỗi ngã, D3 và D4 muỗi bắt đầu ngã ($0,026 - 0,053 \mu\text{L}/\text{cm}^2$) và ở nồng độ cao nhất D5 ($0,21 \mu\text{L}/\text{cm}^2$) toàn bộ muỗi tham gia thử nghiệm đã ngã. Sau 30 phút, tỷ lệ muỗi ngã thấp nhất ở D1 (28,4%), từ D2 - D5 có $> 90\%$ muỗi ngã. Sau 60 phút gần như tất cả các muỗi tham gia thử nghiệm ở cả 5 nồng độ đều bị ngã. Tiếp tục theo dõi sau 24 giờ thấy tỷ lệ muỗi chết lần lượt là D1 (22,0%), D2 (27,0%), D3 (35,0%) rất thấp, do đó hoàn toàn không có tác dụng diệt muỗi. 100% muỗi chết ở nồng độ D4, D5 cho thấy tinh dầu Phong lữ thảo từ liều lượng $0,11 \mu\text{L}/\text{cm}^2$ có tác dụng diệt muỗi *Ae. albopictus*.

Sau 60 phút tiếp xúc với tinh dầu sả, muỗi được đưa trở lại ống nghỉ. Sau 24 giờ quan sát, muỗi ngã ở từng nồng độ thử nghiệm cho thấy: Với muỗi *Ae. aegypti*, tỷ lệ muỗi chết ở các nồng độ lần lượt là D1 (15%), D2 (33,3%), D3 (36,7%), D4 (100%), D5 (100%). Tương tự, với muỗi *Ae. Albopictus*, D1, D2, D3 có tỷ lệ chết lần lượt là 22%, 27%, 35%, D4 - D5 làm muỗi chết hoàn toàn. Như vậy, với cả *Ae. aegypti* và *Ae. albopictus* ở các nồng độ D1, D2, D3, tỷ lệ muỗi chết sau 24 giờ $< 80\%$ có nghĩa là không có tác dụng diệt muỗi. Nồng độ D4, D5 ($0,11 - 0,21 \mu\text{L}/\text{cm}^2$) đạt tỷ lệ diệt 100%.

KẾT LUẬN

Tinh dầu Phong lữ thảo có tác dụng xua và diệt muỗi *Ae. aegypti* và *Ae. albopictus* trưởng thành. Tinh dầu Phong lữ thảo bắt đầu có tác dụng xua muỗi ở liều lượng tinh dầu bôi trên da là $0,02 \mu\text{L}/\text{cm}^2$. Liều lượng $0,1 \mu\text{L}/\text{cm}^2$ có tác dụng xua muỗi hoàn toàn, liều lượng $0,2 \mu\text{L}/\text{cm}^2$ có tác dụng làm toàn bộ muỗi ngã. Thời gian chống muỗi đốt của tinh dầu Phong lữ thảo khi pha trong dung môi EtOH là 33 phút đối với cả hai loài muỗi *Ae. aegypti* và *Ae. albopictus*. Tinh dầu Phong lữ thảo pha loãng trong dầu dừa có thời gian xua muỗi cao hơn so với pha trong cồn, trung bình là 244 phút với muỗi *Ae. aegypti* và 178 phút đối với muỗi *Ae. albopictus*. Tinh dầu Phong lữ thảo được xác định là có khả năng làm 100% muỗi *Ae. aegypti* và *Ae. albopictus* ngã sau khi tiếp xúc và chết (không hồi phục) với liều lượng $0,11 \mu\text{L}/\text{cm}^2$.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Kraemer MU, et al. The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus*. *Elife*. 2015; 4:e08347.
2. WHO. Dengue and severe dengue. 2024 [cited 2025 June 20]; Available from: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>.

3. Bhatt S, et al. The global distribution and burden of dengue. *Nature*. 2013; 496(7446):504-507.
4. Klun JA, M Kramer, and M Debboun. A new *in vitro* bioassay system for discovery of novel human-use mosquito repellents. *J Am Mosq Control Assoc*. 2005; 21(1):64-70.
5. Phasomkusolsil S and M Soonwera. Insect repellent activity of medicinal plant oils against *Aedes aegypti* (Linn.), *Anopheles minimus* (Theobald) and *Culex quinquefasciatus* Say based on protection time and biting rate. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2010; 41(4):831-840.
6. Althoff RA and S Huijben. Comparison of the variability in mortality data generated by CDC bottle bioassay, WHO tube test, and topical application bioassay using *Aedes aegypti* mosquitoes. *Parasit Vectors*. 2022; 15(1):476.
7. Luker HA. A critical review of current laboratory methods used to evaluate mosquito repellents. *Front Insect Sci*. 2024; 4:1320138.