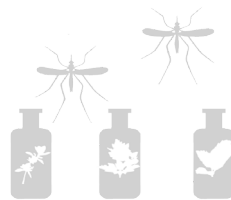


Efecto repelente a base de aceites esenciales (*Cymbopogon citratus* Stapf), (*Lavándula angustifolia*) y (*Chenopodium glaucum*) sobre *Aedes aegypti*

RESUMEN:

En la actualidad la Fiebre Chikunguya representa un problema de salud pública en nuestro país. Hasta el momento se han reportado 9,375 casos confirmados en 5 estados de la República Mexicana según Sistema de Vigilancia Epidemiológica. Para prevenir esta enfermedad el IMSS recomienda el uso de repelente, sin embargo, estos son muy caros y las zonas donde se han detectado brotes epidemiológicos son rezagadas y pobres. Este proyecto tuvo como objetivo elaborar una composición que repele a el mosquito *Aedes aegypti*, la cual comprende una mezcla de aceites esenciales de: *Cymbopogon citratus* Stapf presente en al menos del uno al dos por ciento, *Chenopodium glaucum* presente en al menos uno al dos por ciento, *Lavándula angustifolia* presente en al menos del uno al dos por ciento y agua destilada (agente excipiente) presente en al menos del noventa y cinco al noventa y ocho por ciento. Las pruebas de irritabilidad tuvieron un valor de 0.11, las pruebas de efectividad mostraron un efecto de repelencia del 90%.

PALABRAS CLAVE: Repelente, *Cymbopogon citratus* Stapf, *Chenopodium glaucum*, *Lavándula angustifolia*, *Aedes aegypti*.



Colaboración

Lizzeth Hernández Carnalla; Irving Leonel Pérez Morales; David Méndez Amaro; Fabiola Olvera, Torres Instituto Tecnológico Superior de Atlixco

ABSTRACT: At present, the Chikunguya fever represents a public health problem in our country. Up to now, 9,375 confirmed cases have been reported in five states of the Mexican Republic according to Epidemiological Surveillance System. To prevent this disease the IMSS recommends the use of repellent, however, these are very expensive and areas where epidemiological outbreaks have been detected are lagging and poor. This project aimed to develop a composition that repels the *Aedes aegypti* mosquito, which comprises a mixture of essential oils of: *Cymbopogon citratus* Stapf present in at least one to two percent, *Chenopodium glaucum* present in at least one to two percent, *Lavándula angustifolia* present in at least one to two percent and distilled water (excipient agent) present in at least 95% to 98%. The irritability tests had a value of 0.11 according the NOM-039-SSA1-1993, the effectiveness tests showed a repellence effect of 90%.

KEYWORDS: Repellent, *Cymbopogon citratus* Stapf, *Chenopodium glaucum*, *Lavándula angustifolia*, *Aedes aegypti*.

INTRODUCCIÓN

Al ser humano siempre le resultan molestas las picaduras de mosquito, estas generan diferentes patologías causadas por el mosquito '*Aedes aegypti*' que es el vector epidémico y es el mismo que transmite el dengue y la fiebre chikunguya [1].

El DEET es el repelente de uso más extendido en el mundo [2]. Las plantas generan sustancias para defenderse de los ataques de los insectos siendo ésta la razón por la cual los mosquitos no atacan a las plantas sino a los animales de sangre caliente. [3] Estos principios activos generalmente se encuentran en los aceites esenciales de las plantas y pertenecen a la familia de los terpenos. [4].

El primer repelente que se empleó fue el aceite de citronella, pero se sustituyó por una sustancia de síntesis denominada dimetil ftalato y en el año 1952 se popularizó el DEET (dietil toluamida) hasta el punto de que la mayoría de los repelentes hasta hoy se han formulado con este producto; pero tiene toxicidad e irritación de pieles sensibles por lo que se ha regresado a los productos naturales. [4]

El presente trabajo muestra el efecto repelente de los aceites esenciales de tres plantas colectadas en la región de Atlixco Puebla, sobre el mosquito *Aedes aegypti*. El propósito consistió en elaborar una composición repelente, determinar la efectividad, realizar pruebas cromatográficas para analizar la presencia de metabolitos, así como la irritabilidad.

MATERIAL Y MÉTODOS

Prueba de irritación de la composición de repelente natural a base de aceite aceite esencial de las tres especies de plantas y agua destilada (agente excipiente).

Los compuestos generados en los productos de perfumería y belleza son formulaciones que contienen sustancias químicas e ingredientes que pueden causar lesiones en ojos o en la piel, por ser éstos de uso cotidiano, es importante comprobar que su contenido sea inocuo, con objeto de determinar si un producto es irritante o sensibilizante. Por lo que un punto fundamental en el desarrollo de este trabajo es la realización de pruebas de irritación estandarizadas como la prueba de Draize que se realizó en conejos (*Oryctolagus cuniculus*).

Lo anterior se realizó siempre bajo los estándares de la NOM-039-SSA1-1993 que establece los métodos para determinar las características de irritación y de sensibilización, con el fin de que los fabricantes puedan asegurar que sus productos sean “no irritantes” para el usuario y prevenir los daños a la salud que puedan ocasionar, al aplicarse o usarse directamente.

Prueba de irritación en piel de conejos

Materiales y reactivos:

- 3 conejos albinos de bioterio de 2,0 a 3,5 kg de peso, cualquier sexo y sin daño en la piel
- 3 cepos
- 3 jaulas individuales de malla metálica
- Máquina rasuradora eléctrica, para animales pequeños, con peine del No.40 y del No. 0
- Matraces Erlenmeyer
- Matraces aforados de 50 ml
- Agua destilada esterilizada
- Fuente de luz blanca mínimo de 60 watts
- Lente de aumento
- Gasa quirúrgica esterilizada
- Tela adhesiva
- Tela permeable
- Balanza analítica
- Tamiz del No. 40 (0,42 mm de abertura de malla).

Procedimiento

Preparar a los 3 conejos albinos del adquiridos en el Bioterio de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla: el día anterior a la realización de la prueba, se rasura el dorso de los conejos de manera que quede sin pelo desde la región escapular a la lumbar a un lado y otro de la columna vertebral.

Para ello utilizar primero el peine del No. 40 y después el del No. 0. Esto debe hacerse con mucho cuidado, a fin de no lesionar la piel al rasurar.

El material de prueba se aplicará directamente en el dorso de cada conejo albino, cubrir con un parche de gasa quirúrgica de 2 x 2 cm, con un grosor de 4 a 8 mono capas, colocado en el sitio elegido. Considerar como control cualquier otra área de la piel en esta zona. Colocar a cada conejo albino en jaula para minimizar sus movimientos durante la prueba.

Aplicar 0.3 ml de la composición repelente de aceite esencial de las tres especies de plantas y agua destilada (agente excipiente) directamente en la piel, después, sujetar la gasa al conejo con una tela adhesiva.

Realizar las evaluaciones a los 30 o 60 minutos después de remover el parche, a las 24 horas y a las 72 horas de iniciada la prueba.

Evaluación de la prueba

Una vez que ha transcurrido el tiempo de aplicación, sacar a los 3 conejos de los cepos, remover el parche y eliminar los restos del material de prueba con una toalla húmeda. Regresar cada animal a su jaula. Después de haber removido los parches, evaluar el sitio de prueba de acuerdo con las siguientes escalas:

Tabla 1. Calificación de eritema (enrojecimiento de la piel debido al aumento de la sangre contenida en los capilares)

Eritema	
0	No eritema
1	Eritema ligero, apenas perceptible
2	Eritema bien definido
3	Eritema de moderado a severo
4	Eritema severo (rojo betabel)
Calificación máxima posible de eritema: 4	

Tabla 2. Calificación de edema (hinchazón por acumulación de líquido en los tejidos)

0	No edema
1	Edema ligero apenas perceptible
2	Edema ligero con bordes sobresalientes con elevación definida
3	Edema moderado, con una elevación máxima de 1 mm, aproximadamente
4	Edema severo, elevación mayor de 1 mm extendiéndose más allá del sitio de aplicación
Calificación máxima posible de edema: 4	

Pruebas de cromatografía de la Composición de repelente natural a base de aceites esenciales de las tres especies de plantas y agua destilada (agente excipiente).

Se realizaron las pruebas de cromatografía para la autenticación de sustancias repelentes ya mencionadas con anterioridad, a la composición repelente a base de aceite esencial de zacate limón (*Cymbopogon citratus* Stapf), aceite esencial de lavanda (*Lavándula angustifolia*), aceite esencial de epazote de zorrillo (*Chenopodium glaucum*) y agua destilada (agente excipiente), usando el método Cromatografía de Gases.

Para la cuantificación de los analitos de interés (citronelol y limonol) se utilizó el método del estándar interno (acetónitrilo). Para la elaboración de la curva se utilizó un compuesto (eugenol) con características similares a los dos compuestos de interés (también es una sustancia aromática). Se hace mención de lo anterior, debido a que no se tiene la certeza de que el eugenol tenga el mismo factor de respuesta que los dos analitos de interés.

Pruebas de microbiológicas de la Composición de repelente natural a base de aceites esenciales de las tres especies de plantas y agua destilada (agente excipiente).

Se realizaron las pruebas microbiológicas para asegurar la inocuidad de la composición repelente a base de aceite esencial de zacate limón (*Cymbopogon citratus* Stapf), aceite esencial de lavanda (*Lavándula angustifolia*), aceite esencial de epazote de zorrillo (*Chenopodium glaucum*) y agua destilada (agente excipiente). Utilizando el método de prueba ISO 7704 Recuento de *Escherichia coli* y ISO 7704 Recuento de Bacterias Coliformes Totales en placa.

Prueba de efectividad de la composición de repelente natural a base de aceites esenciales de las tres especies de plantas y agua destilada.

Se realizaron los siguientes Bioensayos

Etapa 1.

Se capturaron 30 mosquitos

Se conservaron 1 día en condiciones de aislamiento sin oportunidad de alimentarse y en botella de plástico pet, de 2.5L de capacidad a temperatura ambiente.

El experimento se realizó de las 18 a 17 horas para observar el efecto.

Se utilizaron 3 botellas de plástico pet, de 2.5L de capacidad y en cada botella se colocaron 10 mosquitos.

A cada botella de plástico pet, de 2.5L de capacidad se le añadió un algodón impregnado con sangre de res, y se colocó en el fondo de la botella.

Se contó el número de mosquitos que se colocaban sobre el algodón impregnado con sangre de res, y los mosquitos que se alimentaban de la sangre.

Etapa 2.

Se capturaron 30 mosquitos

Se conservaron 1 día en condiciones de aislamiento sin oportunidad de alimentarse y en botella de plástico pet, de 2.5L de capacidad a temperatura ambiente.

El experimento se realizó de las 18 a 17 horas para observar el efecto.

Se utilizaron 3 botellas de plástico pet, de 2.5L de capacidad y en cada botella se colocaron 10 mosquitos.

A cada botella de plástico pet, de 2.5L de capacidad se le añadió un algodón impregnado con sangre de res y la composición repelente de aceites esenciales de las tres especies de plantas y agua destilada, y se colocó en el fondo de la botella.

Se contó el número de mosquitos que se colocaban sobre el algodón impregnado con sangre de res y con la composición repelente de aceites esenciales de las tres especies de plantas y agua destilada.

Etapa 3

Se capturaron 30 mosquitos. Se conservaron 1 día en condiciones de aislamiento sin oportunidad de alimentarse y en botella de plástico pet, de 2.5L de capacidad a temperatura ambiente. El experimento se realizó de las 18 a 17 horas para observar el efecto.

Se utilizaron 3 botellas de plástico pet, de 2.5L de capacidad y en cada botella se colocaron 10 mosquitos

A cada botella de plástico pet, de 2.5L de capacidad se le añadió un algodón impregnado con sangre de res y la composición repelente a base de aceites esenciales de las tres especies de plantas y agua destilada.

Se contó el número de mosquitos que se colocaban sobre el algodón impregnado con sangre de res y la composición repelente a base de aceites esenciales de las tres especies de plantas y agua destilada.

RESULTADOS

Resultados de la prueba de irritación en piel de conejos de la composición a base de aceites esenciales de las tres especies de plantas y agua destilada.

Una vez obtenidas las lecturas de Eritema y Edema, se promediaron las calificaciones de eritema de las 3 evaluaciones (1/2 o 1 hora, 24 y 72 horas después de remover el parche) para los tres animales (9 calificaciones en total) y por separado se promediaron las calificaciones de edema de la misma manera (9 calificaciones en total).

A partir de estos promedios, se calculó el índice de irritación primaria como sigue:

Índice de irritación primaria = Promedio de eritema + Promedio de edema.

Tabla 3. Resultados de eritema

ERITEMA			
	Conejo 1	Conejo 2	Conejo 3
1 hora	0	1	0
24 horas	0	0	0
72 horas	0	0	0
Promedio	0	1	0
Promedio:	0.11		

Tabla 4. Resultados de edema

EDEMA
Para esta prueba se obtuvieron valores de 0

Índice de irritación primaria = Promedio de eritema + Promedio de edema.

Índice de irritación primaria = 0.11+ 0

Índice de irritación primaria = 0.11

Interpretación de los resultados de la composición repelente a base de aceites esenciales de las tres especies de plantas y agua destilada.

Con base en el Índice de Irritación Primaria, los productos podrán ubicarse en alguna de las siguientes categorías:

- 0 – 1 No irritante
- 1,1 – 2 Ligeramente irritante
- 2,1 – 5 Moderadamente irritante
- 5,1 – 6 Irritante moderado
- 6,1 – 8 Irritante severo

Tabla 5. Resultados de irritación

Composición de repelente aceite esencial de zacate limón (<i>Cymbopogon citratus Stapf</i>), aceite esencial de lavanda (<i>Lavándula angustifolia</i>), aceite esencial de epazote de zorrillo (<i>Chenopodium glaucum</i>) y agua destilada (agente excipiente)	0.11 NO IRRITANTE
---	----------------------

Criterio de aceptación

Todos los productos para uso en bebés deberán tener un índice de irritación primaria no mayor de 2, por lo tanto, nuestra composición repelente puede usarse en bebés puesto que su índice de irritación tiene un valor de 0.11.

El producto que tenga un índice de irritación primaria no mayor de 5 será aceptado como un producto apto para uso en adultos.

Se observó que la composición repelente a base de aceites esenciales de las tres especies de plantas y agua destilada, tiene un índice de irritación de 0.11 por lo que puede usarse en bebés y adultos.

Pruebas de Cromatografía

Se observó que para el citronelol coinciden todos los picos y para el limoneno la mayoría de los picos, por lo que estas sustancias están presentes en la

composición repelente a base de aceites esenciales de las tres especies de plantas y agua destilada.

No obstante, enseguida se muestran las comparaciones de los espectros de masa para garantizar una aproximación de la cuantificación.

Tabla 6. Concentración de limonolol y citronelol

Parámetro	Método	Unidades	Cuantificada	Permitida	Diagnóstico
Concentración de limonolol	Cromatografía de gases	mg mL ⁻¹	0.08*	n/a	n/a
Concentración de citronelol	Cromatografía de gases	mg mL ⁻¹	1.83*	n/a	n/a

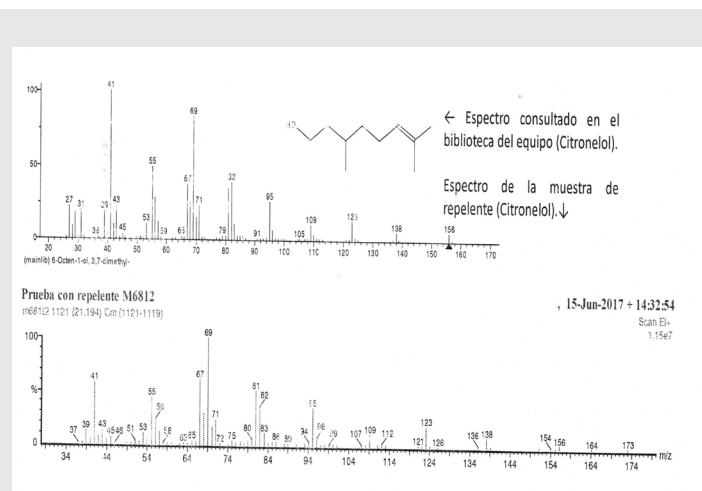


Figura 1. Espectro citronelol

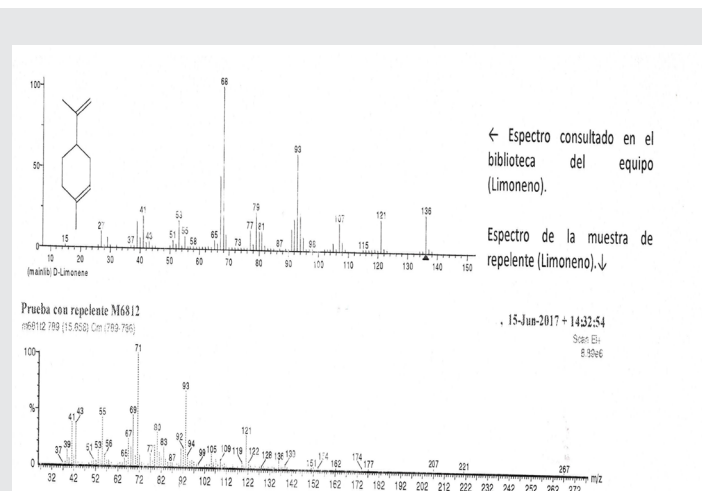


Figura 2. Espectro limonolol

Microbiología

Se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 7. Resultados Microbiológico

Tipo de análisis	Método de prueba	Resultados	Unidades	Límite permitido	Observaciones
Recuento de Escherichiacoli	ISO 7704	<1	UFC/100 ml	No detectable	No excede
Recuento de escherichiacoli	ISO 7704	<1	UFC/100 ml	0	No excede

No se encontraron recuento de Unidades Formadoras de Colonias de Escherichia Coli así como tampoco encontramos Unidades.z

Formadoras de Colonias de Coliformes totales, por lo tanto la composición repelente es inocua.

Efectividad

Los resultados muestran, que se potencia el efecto repelente de la composición, al adicionarle el aceite esencial epazote de zorrillo (*Chenopodium glaucum*).

En la etapa 1, se muestra que el 86.66% de los mosquitos se posan sobre el algodón impregnado con sangre de res.

Tabla 8. Etapa 1 Algodón impregnado con sangre de res.

Etapa 1	Número de mosquitos
Botella 1	9
Botella 2	8
Botella 3	9

En la etapa 2, se muestra que el 46.66% de los mosquitos se posan sobre el algodón impregnado con sangre de res y la composición repelente de aceite esencial de zacate limón (*cymbopogon citratus stapf*), lavanda (*lavándula angustifolia*) y agua destilada, esto nos muestra una disminución en el número de insectos que se posan en el algodón para alimentarse.

Tabla 9. Etapa 2 Algodón impregnado con sangre de res y la composición repelente de aceite esencial de zacate limón (*cymbopogon citratus stapf*), lavanda (*lavándula angustifolia*) y agua destilada.

Etapa 2	Número de mosquitos
Botella 1	4
Botella 2	5
Botella 3	5

En la etapa 3, se muestra que el 10.00% de los mosquitos se posan sobre el algodón impregnado con sangre de res y con la composición repelente a base de aceite esencial y la composición repelente a base de aceites esenciales de las tres especies de plantas y agua destilada.

Esto muestra que el efecto mayor puede observarse en la composición repelente de la etapa 3, es decir con la composición repelente a base de aceite esencial de zacate limón (*Cymbopogon citratus Stapf*), aceite esencial lavanda (*Lavándula angustifolia*), aceite esencial epazote de zorrillo (*Chenopodium glaucum*) y agua destilada, ya que solo el 10.00% de los mosquitos se posaron en el algodón.

Se observó que el efecto repelente en la composición a base de aceite esencial de zacate limón (*Cymbopogon citratus Stapf*), aceite esencial lavanda (*Lavándula angustifolia*), aceite esencial epazote de zorrillo (*Chenopodium glaucum*) y agua destilada, es del 90% ya que solo el 10% de los mosquitos se posaron en el algodón.

Tabla 10. Etapa 3 Algodón impregnado con sangre de res y con la composición repelente a base de aceites esenciales de las tres especies de plantas y agua destilada.

Etapa 3	Número de mosquitos
Botella 1	2
Botella 2	1
Botella 3	0

CONCLUSIONES

La presente invención provee una composición repelente de mosquitos de origen 100% natural apto para uso humano desde bebés hasta adultos.

La citada composición es inocua como lo muestran los resultados microbiológicos pues no se encuentran recuento de Unidades Formadoras de Colonias de *Escherichia Coli* así como tampoco encontramos Unidades Formadoras de Colonias de Coliformes totales.

Con dicha composición se pueden formular cremas, ungüentos, lociones, aromatizantes, velas, gel, jabón, aspersión, pasta y perfumes. Pues tiene un índice de irritación de 0.11 por lo que puede usarse en bebés y adultos.

La composición incluye una mezcla de aceites esenciales, que deriva de un proceso a partir de la extracción de aceite esencial de zacate limón (*Cymbopogon citratus Stapf*), aceite esencial de lavanda (*Lavándula angustifolia*), aceite esencial de epazote de zorrillo (*Chenopodium glaucum*) y un agente excipiente (agua destilada) como lo muestran las pruebas cromatograficas.

La citada mezcla potencia el efecto repelente ante el mosquito *Aedes Aegypti*, vector de diversas enfermedades como Dengue, Chiconguya y Zika, además proporciona un repelente que no daña la salud ni al medio ambiente, cuyo compuesto no posee químicos y su producción es a bajo costo.

BIBLIOGRAFÍA

[1] M. S. Y. H. B. P. A. Bossou AD, «Chemical composition and insecticidal activity of plant essential oils from Benin against *Anopheles gambiae* (Giles). Parasit vectors.,» *Parasit vectors*, p. 337, 2010.

[2] Nentwig, «SciELO,» 10 Julio 2018. [En línea]. Available: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342016000400472.

[3] I. A. Ross, «Medicinal Plants of the world Chemical Constituents, Traditional and Modern Medicinal Uses,» de *Medicinal Plants of the world Chemical Constituents, Traditional and Modern Medicinal Uses*, Totowa, New Jersey, Humana Press Inc., 2005, p. 30.

[4] Carretero, «Portal Farma,» 5 Julio 2018. [En línea]. Available: [http://www.portalfarma.com/pfarma/taxonomia/general/gp000011.nsf/voDocumentos/4DE2A2030B26B6F0C1256A790048D68C/\\$File/240.pdf](http://www.portalfarma.com/pfarma/taxonomia/general/gp000011.nsf/voDocumentos/4DE2A2030B26B6F0C1256A790048D68C/$File/240.pdf).

[5] C. M., «Portal Farma,» 6 Julio 2018. [En línea]. Available: [http://www.portalfarma.com/pfarma/taxonomia/general/gp000011.nsf/voDocumentos/4DE2A2030B26B6F0C1256A790048D68C/\\$File/240.pdf](http://www.portalfarma.com/pfarma/taxonomia/general/gp000011.nsf/voDocumentos/4DE2A2030B26B6F0C1256A790048D68C/$File/240.pdf).

[6] SINAVE, «Secretaría de Salud,» 16 Enero 2016. [En línea]. Available: <https://www.gob.mx/salud/>.