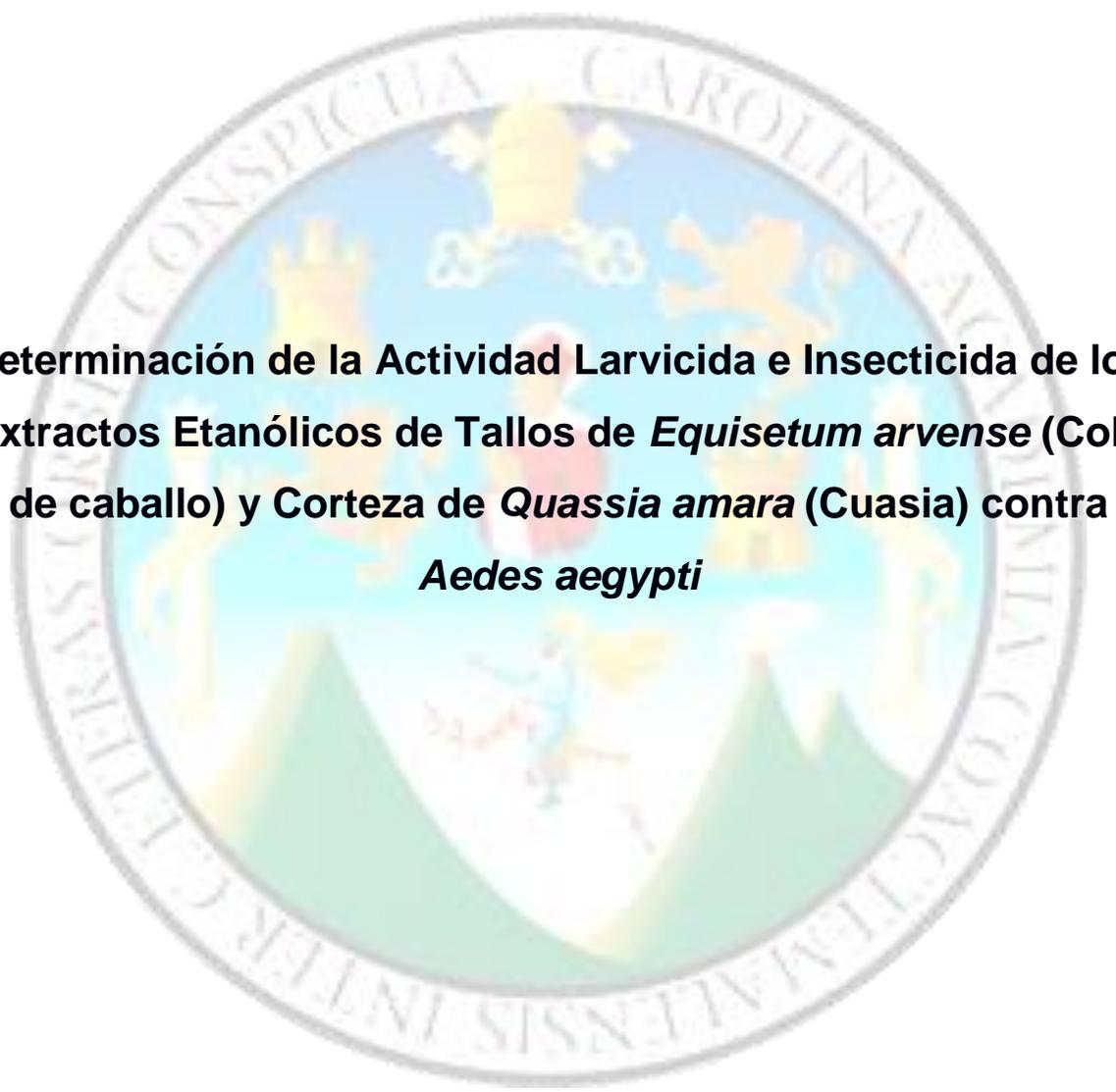


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central shield with a white background, a blue cross, and a red figure. The shield is set against a blue background with a yellow sun and a white crescent moon. The shield is flanked by two golden lions. The entire emblem is surrounded by a circular border containing the Latin text "UNIVERSITAS CAROLINA GUATEMALENSIS INTER CETERAS CARIS CONSPICUA CAROLINA ACADEMIA COACITATA".

Determinación de la Actividad Larvicida e Insecticida de los Extractos Etanólicos de Tallos de *Equisetum arvense* (Cola de caballo) y Corteza de *Quassia amara* (Cuasia) contra *Aedes aegypti*

Kimberly Damaris Suret Soyos

Química Farmacéutica

Guatemala, febrero del 2020

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central shield with a blue background, depicting a landscape with green hills and a yellow sun. The shield is surrounded by a blue border containing the university's name in Latin: "UNIVERSITAS SAN CAROLINIENSIS" at the top and "SIGILLUM UNIVERSITATIS SAN CAROLINIENSIS" at the bottom. The year "1690" is also visible in the center of the shield.

**Determinación de la Actividad Larvicida e Insecticida de los
Extractos Etanólicos de Tallos de *Equisetum arvense* (Cola
de caballo) y Corteza de *Quassia amara* (Cuasia) contra
*Aedes aegypti***

Informe de Tesis

Presentado por

Kimberly Damaris Suret Soyos

**Para optar al título de
Química Farmacéutica**

Guatemala, febrero del 2020

ÍNDICE

1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	3
3. ANTECEDENTES	5
4. JUSTIFICACIÓN	9
5. OBJETIVOS	11
6. HIPÓTESIS	12
7. MATERIALES Y MÉTODO.....	13
8. RESULTADOS	25
9. DISCUSIÓN	38
10. CONCLUSIONES	46
11. RECOMENDACIONES	47
12. REFERENCIAS.....	48
13. ANEXOS.....	53

JUNTA DIRECTIVA

M.A. Pablo Ernesto Oliva Soto	Decano
Licda. Miriam Roxana Marroquín Leiva	Secretaria
Dr. Juan Francisco Pérez Sabino	Vocal I
Dr. Roberto Enrique Flores Arzú	Vocal II
Lic. Carlos Manuel Maldonado Aguilera	Vocal III
Br. Giovanni Rafael Funes Tovar	Vocal IV
Br. Carol Merarí Caseros Castañeda	Vocal V

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de San Carlos de Guatemala

Por ser una institución que me brindó la oportunidad de convertirme en profesional.

A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

Por abrirme las puertas a una de las carreras científicas más honorables de la facultad, la cual me permite aportar innovaciones y mejoras tanto en el área clínica como en el área industrial.

A mi asesora

M.A. Aylín Santizo Juárez por sus consejos, interés, orientación y apoyo en la elaboración de mi tesis.

A mi revisora

MSc. Carolina Guzmán Quilo por su orientación y apoyo en la elaboración de mi tesis. Además, de ser un gran ejemplo a seguir como profesional.

A mis amigos

Por apoyarme en el transcurso de la carrera y hacer de mi estadío en la universidad un ambiente maravilloso e inolvidable. Por estar conmigo en las buenas y en las malas. Además, les agradezco el apoyo en el proceso de aprobación de mi tesis, ya que sin ellos esto no sería posible.

A mi familia

Por apoyarme desde un inicio, por estar conmigo en las buenas, en las malas y en las peores. Por ser incondicionales conmigo. Porque gracias a ellos, por todos sus esfuerzos, puedo convertirme en profesional. Los quiero con todo mi corazón.

DEDICATORIA

A Dios

Por darme la oportunidad de entrar a la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la USAC y ahora por darme la oportunidad de poder ser egresada de tan prestigiosa universidad. Además, de cada bendición que ha derramado y sigue derramando en mi vida y en la de mi familia.

A mis padres

Por su gran esfuerzo y apoyo incondicional a lo largo de toda mi vida. Por sus palabras de aliento cada vez que dudaba o desmayaba. Y por ser un gran ejemplo a seguir en mi vida.

A mis hermanos

Por estar siempre a mi lado orientándome a lo largo de toda la carrera. Por su paciencia y constancia; y por estar siempre para mí cuando los necesito.

A mis amigos

Por estar siempre a mi lado apoyándome y hacer que el tiempo en la universidad haya sido una aventura llena de buenas experiencias.

A mis profesores

Por sus enseñanzas, guía y apoyo a lo largo de toda la carrera. Y por ser un ejemplo a seguir como profesionales.

1. RESUMEN

Guatemala cuenta con una flora diversa la cual presenta un gran potencial de actividades que se pueden aprovechar, este es el caso de *Quassia amara* y *Equisetum arvense* las cuales presentaron antecedentes de actividad insecticida frente a insectos como la mosca blanca, pulgón verde, ácaros entre otros, más no para el insecto *Aedes aegypti*. Por ello se realizaron pruebas para determinar si estas plantas presentaban actividad insecticida contra larvas y adultos del vector *Aedes aegypti*, el cual es el responsable de la transmisión de varias enfermedades como lo son el dengue, zika y chikungunya, siendo estas enfermedades muy frecuentes en Guatemala.

Para la obtención de los extractos secos de las plantas en estudio se realizó la prueba del mejor solvente para la corteza de *Q. amara* y tallos de *E. arvense* obteniéndose el etanol al 25% como mejor solvente para ambas plantas. Se realizó un percolado de la materia vegetal de las plantas y se concentró en rotavapor hasta obtener un extracto seco para cada una de las plantas. Se obtuvo un porcentaje de rendimiento de 14.42% para *Q. amara* y 18.40% para *E. arvense*.

Con los extractos secos obtenidos se realizó la determinación de la actividad larvicida contra *A. aegypti*, utilizando un método micrométrico. Las larvas utilizadas fueron proporcionadas por la Unidad de Vectores del MSPAS. Se probaron concentraciones de 0.124, 0.150, 0.50, 1.00, 3.00, 6.00, 9.00 y 20.00mg/mL. Para ambas plantas se observó mortalidad hasta los 3.00mg/mL y con la concentración más alta probada (20mg/mL) se obtuvo un porcentaje de mortalidad de 31.48% para *Q. amara* y de 54.63% para *E. arvense*. Las diluciones del extracto se prepararon con agua del chorro reposada ya que el etanol 25% mata el estadio larvario de *A. aegypti*. Se utilizó aceite de citronela (0.22mg/mL) como control positivo y agua del chorro reposada como control negativo. Con el aceite de citronela se obtuvo un porcentaje de mortalidad de 95% y con agua del chorro reposada se obtuvo un porcentaje de mortalidad menor del 5% (0.93 y 0.0%) por ello, se tomó como 0% al momento de realizar los cálculos, tal y como lo indica el protocolo (Moncayo, et al., 2005). La metodología fue realizada por triplicado para cada concentración en estudio cada una con su respectivo control positivo y control negativo.

La concentración letal 50 (CL₅₀) de los extractos para la actividad larvicida se determinó experimentalmente y por extrapolación, estimando un comportamiento lineal. Para *E. arvense* se obtuvo una CL₅₀ de 18.50mg/mL y para *Q. amara* se obtuvo una CL₅₀ de 32.75mg/mL.

Además, se determinó la actividad insecticida de los extractos de *Q. amara* y de *E. arvense* contra los mosquitos adultos de *A. aegypti* utilizando la metodología de la OMS. Los mosquitos adultos utilizados para la prueba fueron obtenidos de la Unidad de Vectores del MSPAS, estos se mantuvieron en jaulas y fueron alimentados únicamente con agua azucarada al 10% como lo indica la metodología de la OMS. Utilizando como referencia los resultados de las concentraciones probadas en la actividad larvicida, para la determinación de la actividad adulticida se probaron concentraciones de 50, 75 y 100mg/mL. A la concentración más alta probada (100mg/mL) se obtuvo un porcentaje de mortalidad de 9.88% y de 13.25% para el extracto etanólico de *Q. amara* y *E. arvense*, respectivamente. Se realizaron dos controles por concentración y cada concentración se probó por cuadruplicado. Se utilizó etanol 25% como disolvente para preparar las diluciones de los extractos. El etanol 25% no intervino en los resultados, como fue el caso en la determinación de la actividad larvicida, ya que los papeles impregnados con el extracto se dejaron secar previo a la prueba con los mosquitos adultos.

La concentración letal 50 de los extractos para la actividad adulticida contra *Aedes aegypti* se determinó experimentalmente y por extrapolación, estimando un comportamiento lineal. Para *E. arvense* se obtuvo una CL₅₀ de 317.56mg/mL y para *Q. amara* se obtuvo una CL₅₀ de 421.28mg/mL.

Con los resultados obtenidos se puede evidenciar que el extracto de los metabolitos de *E. arvense* presenta mejor actividad tanto larvicida como adulticida en insectos de *A. aegypti* en comparación con el extracto de los metabolitos de *Q. amara*. Además, se puede concluir que los extractos de *Q. amara* y *E. arvense* presentan cierta actividad larvicida y adulticida contra *A. aegypti* pero a altas concentracionesm comparadas con el aceite de citronela, las cuales no son viables para utilizar en la práctica, disminuyendo así la posibilidad de utilizar los extractos de estas plantas como una alternativa natural de insecticida contra el vector *Aedes aegypti*.

2. INTRODUCCIÓN

Los vectores son organismos vivos que pueden transmitir enfermedades infecciosas entre personas, o de animales a personas. Muchos de esos vectores son insectos hematófagos que ingieren los microorganismos patógenos junto con la sangre de un portador infectado (persona o animal), y posteriormente los inoculan a un nuevo portador al ingerir su sangre (OMS, 2017).

Así mismo, las enfermedades transmitidas por vectores representan más del 17% de todas las enfermedades infecciosas, y provocan cada año más de 700 000 defunciones. La mayor carga de estas enfermedades, que afectan de forma desproporcionada a las poblaciones más pobres, corresponde a las zonas tropicales y subtropicales. Uno de estos vectores es el mosquito *Aedes aegypti* el cual es un vector epidémico que provoca varias enfermedades para el ser humano como lo son el dengue, zika, chikungunya, fiebre amarilla, etc. (OMS, 2017).

Por otro lado, Guatemala es un país con muchos factores sociales y económicos que aumentan el riesgo de estas enfermedades. Entre estos factores importantes están la mala urbanización, el calentamiento global, la pobreza y la educación, colaboran sinérgicamente para que estos males continúen en el país (MSPAS, 2016). Estos factores sociales y económicos son importantes ya que *A. aegypti* es un mosquito que se reproduce principalmente en el agua, sobre todo en recipientes artificiales muy próximos a viviendas y, a menudo, en espacios interiores. Los estudios sobre el radio de vuelo indican que la mayoría de las hembras de *A. aegypti* pueden pasar toda la vida en el interior de las casas en las que se han convertido en adultos o alrededor de ellas (OMS, 2018).

En Guatemala, en el año 2016, se reportaron 9 016 casos de dengue, 5 220 casos de chikungunya y 3 214 casos de otras enfermedades transmitidas por vectores. En el año 2017 por su parte se reportaron 4 186 casos de dengue, 431 casos de chikungunya y 539 casos de otras enfermedades transmitidas por vectores (SIGSA, 2018); por lo que se observa una alta incidencia de estas enfermedades en la actualidad y la necesidad de implementar nuevas alternativas de prevención para las mismas.

Desafortunadamente para estas enfermedades transmitidas por vectores no se encuentran disponibles vacunas, constituyendo el control químico, la medida básica para disminuir las poblaciones de mosquitos y así la incidencia de las enfermedades (Leyva *et al*, 2017). Sin embargo, se han reportado muchos casos de intoxicaciones relacionados con este tipo de insecticidas sintéticos, por lo que se pretende encontrar otras alternativas, en este caso naturales, para el ser humano.

Para lograr lo anterior, se busca utilizar el potencial que presenta Guatemala respecto a flora, ya que es un país con una biodiversidad extensa pero que cuenta con pocos estudios científicos de dicha flora nativa. Entre éstas plantas se encuentran *Equisetum arvense* (cola de caballo) y *Quassia amara* (Cuasia), plantas de las cuales sí se encontraron estudios confiables que reportan actividad insecticida contra otro tipo de insectos pero no específicamente contra el mosquito *Aedes aegypti* el cual es el vector principal para la transmisión de dengue, zika y chikungunya enfermedades que son motivo de preocupación en la actualidad. Por ello se realizó la siguiente investigación para evidenciar si los extractos etanólicos de los tallos de *Equisetum arvense* y de corteza de *Quassia amara* presentan actividad biocida en larvas e insectos adultos de *A. aegypti*.

3. ANTECEDENTES

Muchas de las plantas nativas de Guatemala presentan reporte de actividad biocida e insecticida entre ellas se encuentran *Equisetum arvense* (Cola de caballo) y *Quassia amara* (Cuasia).

Equisetum arvense (cola de caballo) es una planta cosmopolita que crece en América y crece en lugares húmedos, arenosos y pantanosos. La parte utilizada son las hojas y los tallos. Estudios de la composición química de 5 especies de *Equisetum* indica que todas sus especies son muy similares (Cáceres, 2009). Ver anexo 13.4.

E. giganteum, de la misma familia, se ha utilizado como insecticida, se utiliza 1kg de la planta fresca en 20 litros de agua o la planta seca al 10%, se realiza una decocción durante no menos de 40-45 minutos y se emplea el agua para el riego (Millán, 2008).

Otros estudios reportan que el polvo de las partes aéreas de *Equisetum arvense* tiene actividad insecticida contra *Pieris rapae* (Grainge *et al.*, 1998).

Se realizó un bioensayo en Perú con *Equisetum arvense* para evaluar su efecto tóxico y repelente contra el gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais*). El polvo seco se evaluó entre 0.2 y 1.6g por 10g de maíz, se expusieron los gorgojos al polvo por 5 días y se obtuvo un porcentaje de mortalidad de 22.5%. Para el efecto repelente se utilizó el extracto acuoso del polvo seco de las hojas al 20%, exponiendo a los gorgojos 120h, obteniendo un porcentaje de repelencia del 26% (Iannacone *et al.*, 2008).

Equisetum arvense ha mostrado actividad antibacteriana frente a algunas bacterias. El extracto metanólico de las partes aéreas mostró actividad antibacteriana contra *Escherichia coli* a alta concentración (1 g / ml). El extracto etanólico y acuoso de *Equisetum arvense* se analizó frente a patógenos seleccionados del tracto urinario (*E. coli*, Neumonía por *Klebsiella*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus* y *Enterococcus faecalis*) utilizando la técnica de difusión por disco, ambos extractos a diferentes concentraciones exhibieron actividad antibacteriana contra todas las cepas bacterianas probadas; el extracto etanólico tuvo significativamente mejor actividad antibacteriana que el el extracto acuoso. El extracto etanólico fue más efectivo contra *E.coli*, *Proteus mirabilis* y

Staphylococcus saprophyticus con una zona de inhibición de 24 mm, 23 mm y 24 mm de diámetro (a una concentración de 1000 µg) respectivamente y fue menos eficaz contra *Pseudomonas aeruginosa* con una zona de inhibición de 11mm (a concentración de 1000µg) (Esmail, 2017).

Por otro lado, se ha observado que los extractos en agua caliente de *E. giganteum* tienen actividad citotóxica contra *A. salina*. Al igual que otras plantas del género, como *E. arvense*, también puede producir daño cuando el ganado se alimenta con ellas porque lastima mecánicamente las vísceras y produce disentería; varias especies del género son tóxicas para el ganado, probablemente por la presencia de la enzima tiaminasa. La administración de 1-5g/kg por vía oral no demostró ningún efecto tóxico (Gupta et al, s.f.).

Quassia amara es una planta nativa de bosques secos o húmedos en laderas con regular penetración de luz, desde el sur de México al norte de Sud América. En Guatemala se ha descrito en Izabal y Santa Rosa. La parte utilizada es la madera del tronco y las ramas. Se le atribuye propiedad insecticida y se ha utilizado para fabricar papel matamoscas (Cáceres, 2009). Ver anexo 13.5.

El potencial insecticida de *Quassia amara* fue demostrado en 1884, en Inglaterra, en el control de áfidos y lepidópteros; aunque posteriormente sus extractos han sido ensayados como eficaces contra más de 50 plagas diferentes de ácaros, coleópteros, hemípteros, himenópteros, lepidópteros y thisanópteros. Los extractos metanólicos de corteza y madera son los que muestran actividad insecticida. Esta propiedad insecticida de los extractos metanólicos obtenidos, tanto en madera, corteza como hojas de *Quassia amara* señalan que la mayor concentración de quasina en la corteza y la madera podría explicar que fuera éste el compuesto más activo en la defensa frente a los insectos y básicamente su única funcionalidad (López & Pérez, 2008).

Se realizó otro estudio en Costa Rica en donde se evaluó el efecto insecticida y repelente de *Quassia amara* sobre la mosca blanca. Se utilizaron extractos acuosos y se aplicó con una bomba en el envés de las hojas, posteriormente se introdujo el insecto y se contó el número de insectos posados en las hojas en donde se determinó que los extractos de *Q. amara* si presenta actividad repelente. Por otro lado, se evaluaron dosis desde 5-50mL/L de agua. El extracto fue preparado a partir de 400g de madera por litro de agua.

En este estudio todas las concentraciones causaron mortalidad de los adultos en comparación con el testigo, en este estudio el mayor porcentaje de mortalidad obtenido fue de aproximadamente 10% (Ocampo, 1995).

En otro estudio realizado en Nicaragua se evaluó la actividad nematicida de los extractos metanólicos de *Q. amara*. En el estudio *in vitro*, se evaluó la mortalidad de los juveniles del nemátodo *Meloidogyne sp.* después de 12, 24 y 48h de exposición a los extractos. Además, estos se aplicaron a plantas de tomate en macetas bajo condiciones de invernadero, cuantificándose las poblaciones de nematodos a los 25, 50 y 75 días de exposición al extracto. En el experimento *in vitro* el extracto al 10% presentó un alto porcentaje de mortalidad después de 48h, alcanzando 89% de juveniles muertos. En macetas se evaluó la mortalidad de juveniles. Los mejores resultados para *Q. amara* se obtuvieron a los 25 días de exposición al extracto, con un porcentaje de mortalidad de 80%. Estos resultados evidenciaron que el extracto metanólico de *Q. amara* posee propiedades nematicidas, ya que redujo significativamente las poblaciones de nematodos, su reproducción y el nivel de agallamiento de las raíces de tomate (Salazar & Guzmán, 2014).

También se han realizado estudios evaluando la actividad pediculicida (mata piojos) del vinagre de *Q. amara*. El vinagre se incorporó al 3% en la formulación de un champú, un acondicionador y una loción. Esta última también contenía un 1,3% de aceite de andiroba, un repelente de insectos en general. El estudio se prolongó 14 días, cada noche los voluntarios aplicaron la loción por todo el cuero cabelludo y, al día siguiente, se lavaron con el champú y se aplicaron el acondicionador. Trascurrido el período de tratamiento, los voluntarios volvieron a utilizar su champú habitual durante un período adicional de 14 días. Durante los 28 días, los voluntarios estuvieron en contacto con individuos con pediculosis no tratados, con objeto de evaluar la capacidad preventiva de este activo. El grado de infestación de los voluntarios fue evaluado de forma visual por un dermatólogo. Desde el primer control todos los voluntarios experimentaron una disminución del número de piojos en el cuero cabelludo. La acción preventiva del vinagre de quassia quedó demostrada al no registrarse ningún caso de reinfestación (Alcalde & Del Pozo, 2007).

Por otro lado, en Argentina, se realizó un bioensayo sobre la letalidad de *Artemia salina*, que poseía el extracto etanólico del leño de *Quassia amara*, el cual presentó una alta toxicidad. En Costa Rica se realizó una investigación de toxicidad aguda con madera de *Quassia amara* en ratones albinos, empleando dos pruebas: toxicidad aguda por vía oral y por vía intraperitoneal. Los resultados en la primera prueba, no presentaron mortalidad ni signos de toxicidad evidente al cabo de las 48 horas de observación; los resultados de la segunda prueba con dosis de 500 mg/kg, mostraron, luego de cuatro horas, signos de toxicidad: piloerección, disminución de la actividad motora y pérdida parcial del reflejo de enderezamiento. Todos los sujetos utilizados se recuperaron 24 horas después de la administración del extracto (Gupta et al, s.f.).

Como se puede observar en éstos estudios previos, ambas plantas poseen un efecto insecticida reportado. En el caso de *E. arvense* se ha demostrado principalmente actividad fungicida contra el gorgojo del maíz, además según estudios de toxicidad a una concentración de 1-5g/kg por vía oral, no presenta efectos tóxicos en personas, lo cual es importante ya que dichos extractos pueden ser utilizados en hogares como repelentes. Por otro lado, *Q. amara* es una planta que presenta estudios frente a diversidad de plagas en comparación con *E. arvense*, por lo que presenta gran potencial de ser insecticida frente a *A. aegypti*, y como se mencionó anteriormente por vía oral no presenta toxicidad.

4. JUSTIFICACIÓN

Según informes de la OMS las enfermedades transmitidas por vectores representan más del 17% de todas las enfermedades infecciosas. Además, en Guatemala recientemente se han reportado muchos casos de este tipo de enfermedades que han sido motivo de preocupación, entre estas enfermedades transmitidas por vectores se encuentran el dengue, zika y chikungunya principalmente. En Guatemala en el año 2016 se reportaron 9 016 casos de dengue, 5 220 casos de chikungunya y 3 214 casos de otras enfermedades transmitidas por vectores. En el año 2017 por su parte se reportaron 4 186 casos de dengue, 431 casos de chikungunya y 539 casos de otras enfermedades transmitidas por vectores (SIGSA, 2018); por lo que se observa un número importante de casos por estas enfermedades en la actualidad y la necesidad de implementar nuevas alternativas de prevención para las mismas.

También se debe tomar en cuenta que Guatemala es un país muy propenso a padecer este tipo de enfermedades debido a las condiciones de vida precarias en que vive el mayor porcentaje de la población, tomando en cuenta que el vector principal crece en ambientes poco higiénicos. Este vector principal de transmisión de las enfermedades antes mencionadas es el mosquito *Aedes aegypti* que crece rápidamente en cualquier charco o estancamiento de agua, por ello es necesaria la investigación de sustancias que puedan tener actividad larvicida o insecticida frente a este organismo y disminuir así la incidencia de estas enfermedades.

En la actualidad, la mayoría de insecticidas son productos sintéticos que han reportado problemas de toxicidad en los seres humanos haciéndolos poco seguros y confiables. Esto se puede evidenciar en estadísticas del SIGSA, en donde para el año 2016 en Guatemala se reportan 580 casos de intoxicaciones por plaguicidas, de los cuales el 38% son del género femenino y el 62% del género masculino; por otro lado, en el año 2017 se reportan 938 casos de intoxicaciones por plaguicidas de los cuales el 30% fueron del género femenino y el 70% del género masculino. Con estos datos se puede observar que este tipo de intoxicación es más frecuente en hombres que en mujeres. Además, el rango de edad más afectado se encuentra entre los 15 a 30 años, tanto en el año 2016 como en el año 2017.

Debido a esta problemática que se ha dado con el uso de insecticidas sintéticos, se pretende buscar una alternativa natural para estos productos, aprovechando la biodiversidad de flora que presenta Guatemala. Tomando en cuenta que existen plantas que han reportado actividad biocida frente a otro tipo de insectos; por lo que presentan un gran potencial de tener actividad larvicida e insecticida contra el mosquito *Aedes aegypti*. Entre estas plantas están *Equisetum arvense* (Cola de caballo) y *Quassia amara* (Cuasia) las cuáles son nativas de Guatemala.

Por lo anterior, se realiza esta investigación para evidenciar si los extractos etanólicos de dichas plantas presentan actividad biocida en larvas y mosquitos adultos de *Aedes aegypti* con el objetivo de proporcionar información científica que avale dicha actividad y ser utilizada para futuros estudios, formulaciones o proyectos que puedan contribuir a crear una alternativa natural para combatir dichas plagas y disminuir así la incidencia de enfermedades transmitidas por vectores en Guatemala.

5. OBJETIVOS

1.1. General

- Determinar la actividad larvicida e insecticida de los extractos etanólicos de tallos de *Equisetum arvense* (Cola de caballo) y corteza de *Quassia amara* (Cuasia) contra *Aedes aegypti*.

1.2. Específicos

- Determinar la concentración letal 50 de los extractos etanólicos de los tallos de *Equisetum arvense* (Cola de caballo) y corteza de *Quassia amara* (Cuasia) en larvas de *Aedes aegypti*.
- Determinar la concentración letal 50 de los extractos etanólicos de los tallos de *Equisetum arvense* (Cola de caballo) y corteza de *Quassia amara* (Cuasia) en mosquitos adultos de *Aedes aegypti*.
- Comparar la actividad larvicida contra *Aedes aegypti* de los extractos etanólicos de los tallos de *Equisetum arvense* (Cola de caballo) y corteza de *Quassia amara* (Cuasia).
- Comparar la actividad adulticida contra *Aedes aegypti* de los extractos etanólicos de los tallos de *Equisetum arvense* (Cola de caballo) y corteza de *Quassia amara* (Cuasia).

6. HIPÓTESIS

Los extractos etanólicos de los tallos de *Equisetum arvense* (Cola de caballo) y corteza de *Quassia amara* (Cuasia) presentan actividad larvicida e insecticida contra *Aedes aegypti*.

7. MATERIALES Y MÉTODO

7.1. Universo

Materia vegetal de *Equisetum arvense* (Cola de caballo) y de *Quassia amara* (Cuasia) cultivadas en Guatemala.

7.2. Muestra

Tallos de *Equisetum arvense* (Cola de caballo) y corteza de *Quassia amara* (Cuasia) obtenidas de una institución de Guatemala registrada.

7.3. Recursos Humanos

- Autora: Kimberly Damaris Suret Soyos
- Asesora: M.A. Aylin Santizo Juárez
- Revisora: MSc. Carolina Guzmán Quilo

7.4. Materiales y Cristalería

- ✓ Papel Aluminio
- ✓ Papel encerado
- ✓ Papel filtro
- ✓ 40 hojas de papel filtro 12cm x 15cm
- ✓ 12 clips metálicos
- ✓ Cinta adhesiva
- ✓ Marcadores verde, amarillo, rojo y negro
- ✓ Lapiceros y libreta
- ✓ 6 Cápsulas de porcelana
- ✓ 1 Tubo aspirador
- ✓ 3 balones aforados de 1L
- ✓ 10 Balones aforados de 100mL
- ✓ 2 Beakers de 100, 250mL, 500mL y 1000mL
- ✓ 1 Probeta de 25, 50 y 100mL
- ✓ 3 Microplacas
- ✓ 6 Frascos de vidrio con tapa de 1000mL

- ✓ 6 Embudos de vidrio
- ✓ 12 tubos de plástico con una malla en un extremo

7.5. Equipo

- ✓ Balanza analítica OHAUS PIONER
- ✓ Rotavapor
- ✓ Horno VWR
- ✓ Sonificador
- ✓ Desecadora
- ✓ Pipetas automáticas tipo Eppendorf
- ✓ Puntas amarillas de 200uL
- ✓ Puntas azules de 1000uL

7.6. Reactivos

- ✓ Etanol 70%
- ✓ Agua reposada
- ✓ Agua destilada
- ✓ Azúcar
- ✓ Aceite de Citronela (Control positivo)

7.7. OTROS

- ✓ Corteza de *Quassia amara* (Cuasia)*
- ✓ Tallos secos de *Equisetum arvense* (Cola de caballo) *
- ✓ Larvas e insectos adultos de *Aedes aegypti* cultivadas en la Unidad de Vectores del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social.

*Ver Certificados de Control de Calidad del Proveedor en anexos 13.9 y 13.10.

7.8. Método y Procedimiento

7.8.1. Preparación de soluciones etanólicas

- A partir de la concentración del etanol comercial se calcularon los mililitros de etanol para obtener disoluciones de 15, 25, 50 y 70% y se aforó con agua destilada en un balón de 1L.
- Se utilizó la ecuación $C_1V_1=C_2V_2$ en donde:
C1= concentración de etanol comercial
V1= volumen de etanol comercial a utilizar (incógnita)
C2= 25, 50 y 70% según la disolución que se esté preparando
V2= volumen de aforo

7.8.2. Prueba del mejor solvente

- Se cortaron 4 botecitos de plástico por la mitad.
- Se colocó algodón en el fondo de cada botecito y se forraron internamente con un cono de papel filtro.
- Se pesaron 5g de materia vegetal deshidratada (% humedad >10%) y triturada en un beaker.
- Se colocaron 5g de la materia vegetal dentro de cada botecito (percolador).
- Se rotuló cada percolador con la concentración del etanol correspondiente (10, 25, 50, y 70%).
- Se agregó 60ml de etanol a cada percolador según la concentración de etanol indicada en el percolador.
- Se dejó reposar dentro de una gaveta por una semana.
- Se secaron 4 cápsulas de porcelana en un horno a 100°C por 1 hora.
- Se apagó el horno y al llegar la temperatura a 40°C se transfirieron a una desecadora con sílica gel anhidra por 1 hora.
- Se abrió el percolador para dejar correr el percolado.
- Se colocaron 2ml del percolado con etanol al 15% en una cápsula de porcelana previamente rotulada; se realizó lo mismo para los percolados con etanol al 25, 50 y 70%.

- Se evaporó hasta sequedad en un baño de agua y se terminó de secar en un horno a 100-105°C durante 1 hora.
- Al terminar en tiempo de secado se apagó el horno y se sacaron las cápsulas de porcelana hasta que el horno tuviera una temperatura de 40°C.
- Se transfirieron las cápsulas de porcelana a una desecadora con sílica gel anhidra por una hora.
- Se pesaron y se calculó el porcentaje de sólidos totales de cada cápsula de porcelana.
- Se determinó a qué concentración se extrae mayor contenido de sólidos (metabolitos).

(González, 2004; Rodríguez, 2016).

7.8.3. Obtención de los extractos secos por percolación

- Se pesaron 100g de materia vegetal.
- Se midieron 1000mL de etanol a la concentración obtenida en la Prueba del Mejor Solvente (etanol 25%).
- En un percolador con capacidad de 2L se introdujo una torunda de algodón en el orificio de salida y se forró internamente con un cono de papel filtro.
- Se agregó la materia vegetal y el etanol al percolador (primera lavada).
- Se tapó el percolador con aluminio y una tapadera.
- Se dejó reposar por 1 día.
- Se abrió la llave del percolador para dejar caer el percolado.
- Se realizaron 4 lavadas más con 1000ml de etanol al 25% para extraer todos los metabolitos de la materia vegetal.
- El percolador obtenido se recogió en un Erlenmeyer y se concentró en rotavapor.

(González, 2004; Rodríguez, 2016).

7.8.4. Concentración en rotavapor

- Se encendió y ajustó el baño María a una temperatura de $45 \pm 1^{\circ}\text{C}$.
- Se engrasaron todas las bocas esmeriladas y se armó el rotavapor según el instructivo específico.
- Se introdujo el percolado obtenido de la materia vegetal en el balón para ebullición del rotavapor.
- Se conectó la bomba de vacío y el rotador para iniciar la destilación del extracto con recuperación del disolvente hasta llevar a consistencia semisólida.
- Se vertió el extracto concentrado en un cristizador de vidrio previamente secado, identificado y tarado.
- Se colocó en una desecadora con sílica gel anhidra durante 7-15 días.
- Se agitó esporádicamente.
- Al obtener un extracto seco se pesó y se calculó el porcentaje de rendimiento.
- El extracto seco se transfirió a un frasco ámbar debidamente rotulado.

(Jiménez, 2005).

7.8.5. Determinación de la actividad Larvicida

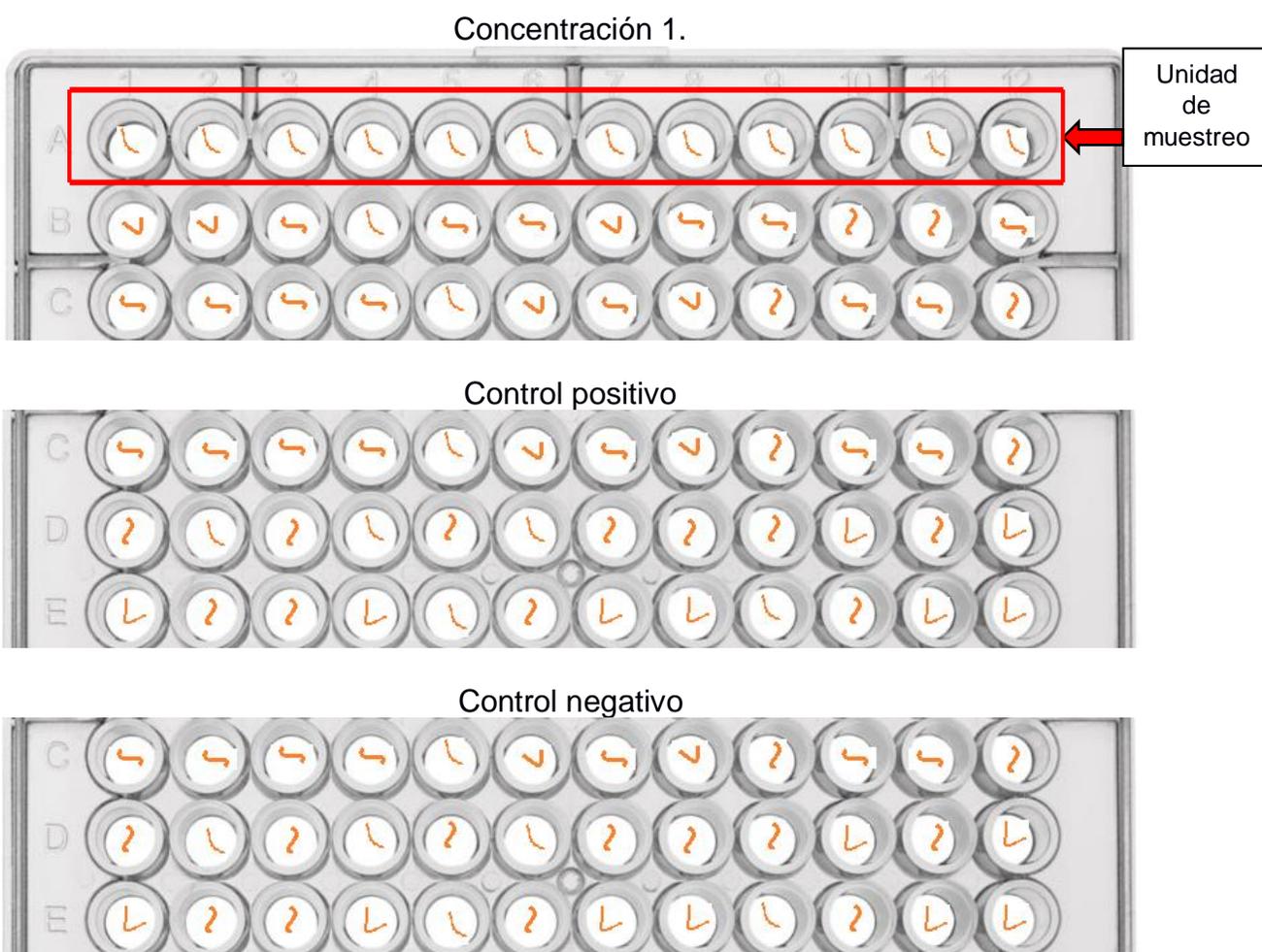
- El ensayo se realizó con las concentraciones de 0.124, 0.15, 0.5, 1.0, 3.0, 9.0 y 20mg/mL.
- Las diluciones del extracto vegetal se realizaron con agua del chorro reposada como disolvente.
- **Sustancia a ensayar:** En una microplaca se agregaron 36 larvas en estadio III o IV temprano¹, una larva por pozo, con 100 μL de su medio y se agregó en cada pozo 100 μL de la sustancia a ensayar (ver figura 1).
- **Control positivo:** En otros 36 pozos de la microplaca se agregaron 100 μL de aceite de citronela (1000ppm) + 100 μL de agua del chorro reposada + 1 larva en estadio III o IV temprano.
- **Control negativo:** En otros 36 pozos de la microplaca se agregaron 200 μL de agua del chorro reposada + 1 larva en estadio III o IV temprano.
- Se incubó a temperatura ambiente (25°C - 28°C) en un lugar oscuro durante 24 horas.

- El control positivo, el control negativo y la sustancia a ensayar se realizaron en placas distintas para evitar que el control positivo mate a las larvas de las otras muestras.
- Se contó el número de larvas muertas a las 24 horas.

¹Ver características en anexo 13.2.1.

(Alvarado & Santizo, 2014; Sanabria *et al*, 2009; Cruz *et al.*, 2016).

Figura 1. Esquema para determinar la actividad larvicida de los extractos.



7.8.6. Preparación de las disoluciones para la actividad insecticida.

- Se pesaron 5000mg extracto seco en un tubo de ensayo.
- Se agregaron 10mL de etanol 25%.
- Se sonicó y se llevó al vórtex para disolver el extracto completamente.
- Se transvasó a un balón aforado de 50mL.
- Se lavó el tubo de ensayo repetidas veces con etanol 25% hasta limpiar completamente.
- Se aforó a 50mL con etanol 25% y se agitó manualmente (solución madre 100mg/mL).
- De la solución madre se realizaron diluciones para obtener disoluciones de 75 y 50mg/mL.

(González, 2004; Rodríguez, 2016).

7.8.7. Determinación de la actividad insecticida por el método de la OMS.

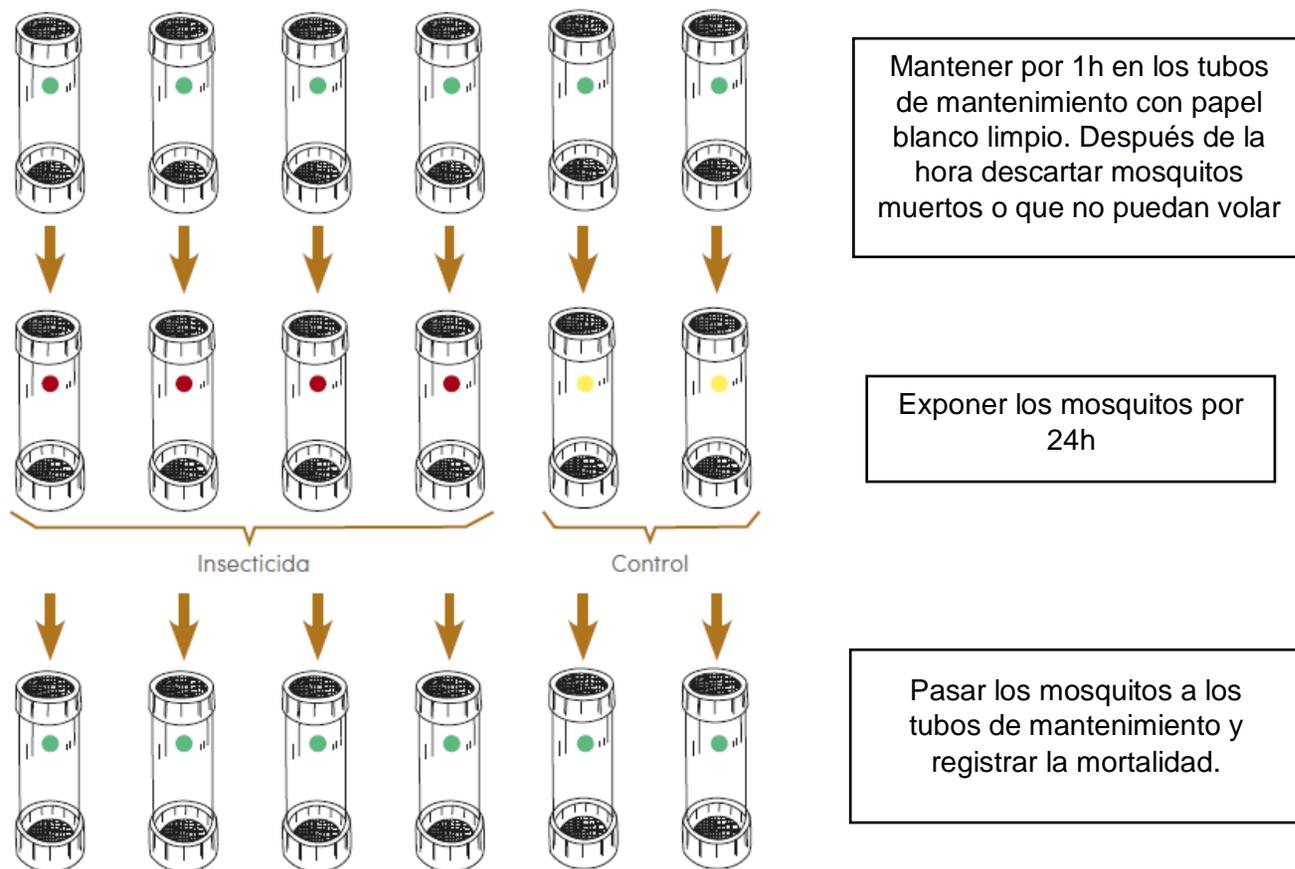
- Se introdujeron seis hojas de papel blanco limpios, enrolladas en forma de cilindro en 6 tubos identificados con punto verde (tubos de mantenimiento). Ver figura 2.
- El papel se sujetó dentro del tubo con un clip de alambre.
- Los tubos de mantenimiento se taparon con un tapón de rosca con una malla en uno de sus extremos y se fijaron a la unidad corrediza al otro extremo.
- Se aspiraron de 120 a 150 hembras activas de mosquitos, haciéndolas pasar de la jaula a los seis tubos de mantenimiento (punto verde) a través del orificio de llenado de la unidad corrediza, para obtener al final seis muestras iguales de 20 a 25 mosquitos por tubo.
- Una vez transferidos los mosquitos, se cerraron las unidades corredizas y se dejaron los tubos de mantenimiento en posición vertical durante 1 hora en un lugar oscuro.
- Transcurrido este tiempo, se extrajo todo mosquito moribundo (incapaz de volar) o muerto.

- Se introdujeron 4 hojas de papel blanco en los tubos de exposición (tubos con punto rojo), sujetados con un clip de alambre.
- Las hojas de papel blanco de los tubos de exposición fueron impregnados con 5mL de la solución del extracto vegetal con concentración conocida y se dejaron secar.
- Se introdujeron dos hojas de papel blanco en dos tubos con punto rojo rotulados como tubos control y sujetados con un clip de alambre.
- El papel de los tubos control fue impregnado con 5mL de etanol 25% y se dejaron secar.
- Al terminar de secar los papeles de exposición y control se cerraron los tubos con un tapón de rosca con malla en uno de sus extremos (ver figura 2).
- Al terminar la hora de espera en los tubos de mantenimiento se enroscaron los 4 tubos de exposición y los 2 tubos control vacíos a las unidades corredizas.
- Con la unidad corrediza abierta se sopló suavemente para hacer pasar los mosquitos de los tubos de mantenimiento a los de exposición y control.
- Una vez todos los mosquitos se introdujeron en los tubos de exposición y control, se cerró la unidad corrediza y se colocó un tapón de algodón en el orificio pequeño para bloquear la corredera.
- Los tubos de mantenimiento se separaron y se dejaron aparte.
- Los tubos de exposición y control, con los mosquitos dentro se dejaron en posición vertical con el extremo mallado hacia arriba durante 24h, en un lugar poco iluminado para evitar que los mosquitos se quedaran posados en la tapa mallada.
- En el extremo mallado de los tubos se colocó una almohadilla de algodón empapada de agua azucarada al 10%.
- Al transcurrir las 24h se devolvieron los mosquitos a los tubos de mantenimiento realizando a la inversa el procedimiento expuesto anteriormente (ver figura 2).
- Se separaron las unidades corredizas de los tubos de exposición y control.
- Se contó y anotó el número de mosquitos muertos.
- Se consideró que un mosquito adulto está vivo si puede volar, independientemente del número de patas que le queden. Todo mosquito que esté derribado, haya o no perdido patas o alas, se consideró moribundo y contado

como muerto. Se clasificó como muerto o derribado todo mosquito que estuvo inmóvil o fue incapaz de tenerse en pie o alzar el vuelo. Ver anexo 13.6.6.

(OMS, 2017).

Figura 2. Pasos para realizar la prueba OMS de susceptibilidad a los insecticidas.



Fuente: OMS, 2017.

7.9. Diseño estadístico

Para evaluar la actividad tanto larvicida como insecticida de las plantas en estudio se realizó un estudio no probabilístico a conveniencia. Se utilizó una prueba Binomial con un nivel de significancia del 5%. Es decir, si los insectos/larvas siguen vivos después de la prueba el resultado de la actividad será negativa y si los insectos/larvas mueren después de la prueba el resultado de la actividad será positivo.

La metodología para la determinación de la actividad larvicida se realizó por triplicado para cada concentración en estudio. Es decir, para *E. arvense* se evaluaron 8 concentraciones (20, 9, 6, 3, 1, 0.5, 0.15 y 0.124 mg/ml) cada una por triplicado, y cada una por triplicado por segunda vez, obteniendo 9 repeticiones en total; lo mismo para los extractos de *Quassia amara*. Luego se determinó la concentración letal 50 del extracto de las plantas en estudio por extrapolación de los resultados. La unidad de muestreo fueron 12 pozos y la unidad de análisis fueron 36 pozos de la microplaca.

Para obtener el porcentaje de mortalidad se utilizaron las fórmulas del Protocolo para Determinar la Susceptibilidad o Resistencia a Insecticidas de Mosquitos de la Especie *Aedes aegypti* de la Red Latinoamericana de Control de Vectores, el cual indica que después de 24 horas de exposición, se realiza el conteo de larvas muertas y moribundas (no pueden nadar normalmente) en todos los recipientes, las larvas moribundas se contabilizan como muertas (Moncayo, et al., 2005).

Se registra también el número de larvas que hayan empupado durante el ensayo. Si en los controles negativos más del 10% de las larvas empupan o se registra más del 20% de mortalidad, la prueba es considerada inválida (Moncayo, et al., 2005). En este estudio se obtuvo un porcentaje de mortalidad promedio de 0.46%, por lo que el ensayo fue válido.

Si el ensayo es aceptable, para realizar los cálculos de porcentaje de mortalidad se debe descontar el número de pupas encontradas en los expuestos y controles.

Ej.:	
Nº de larvas expuestas	= 100
Nº de larvas muertas	= 91
Nº de pupas	= 6
Nº de larvas para cálculos	100 - 6 = 94

En este estudio las larvas no empuparon después de 24h, por lo cual no fue necesario restar el número de larvas convertidas en pupa.

Cálculo del porcentaje:

$$\frac{\text{No. larvas muertas}}{\text{No. de larvas expuestas (corregida por pupas)}} * 100$$

$$\frac{91}{94} * 100 = 96.80\% \text{ de mortalidad observada}$$

Si la mortalidad de los controles está entre 5% y 20% tenemos que corregir por la Fórmula de Abbott el % de mortalidad de larvas tratadas:

$$\frac{\% \text{ mortalidad de tratados} - \% \text{ mortalidad de controles}}{100 - \% \text{ mortalidad de controles}} * 100$$

(Moncayo, et al., 2005).

En este estudio se obtuvo un porcentaje de mortalidad promedio de 0.46% el cual es menor al 5% que indica el protocolo, por lo cual no fue necesaria la corrección por la Fórmula de Abbott.

Por otro lado, para la determinación de la actividad insecticida (adulticida) se evaluaron 3 concentraciones distintas de las plantas en estudio. Es decir, para *E. arvense* se evaluaron 3 concentraciones (50, 75 y 100%) y para *Quassia amara* se realizó de la misma forma. Para determinar la actividad insecticida de cada una de estas concentraciones se realizó 4 réplicas (4 tubos con la concentración a ensayar) y se utilizó dos tubos control por concentración. Luego se determinó la concentración letal 50 del extracto de las plantas en estudio, por extrapolación. En este caso la unidad de muestreo y la unidad de análisis fue el mismo; es decir, la unidad de muestreo y de análisis fue cada uno de los tubos con una muestra de 25 mosquitos aproximadamente.

Para obtener el porcentaje de mortalidad, para la actividad adulticida, se utilizaron las fórmulas descritas en la Guía de la OMS, Procedimientos de las pruebas para la vigilancia de la resistencia a los insecticidas en los mosquitos vectores del paludismo.

La mortalidad (esto es, el número de mosquitos muertos en los tubos de exposición y en los de control) se determinó al término del periodo post-exposición especificado. La mortalidad de la muestra sometida a prueba se calculó sumando el número de mosquitos muertos en todas las réplicas expuestas y expresándolo como porcentaje del número total de mosquitos expuestos:

$$\text{Mortalidad observada} = \frac{\text{Total de mosquitos muertos}}{\text{Total de mosquitos expuestos}} \times 100$$

Para obtener el valor de la mortalidad del control se efectúa un cálculo similar. Si la mortalidad del control es $\geq 20\%$, la prueba debe ser desechada. Cuando sea $< 20\%$, se deberá corregir la mortalidad observada en los expuestos aplicando la fórmula de Abbott como sigue:

$$\text{Mortalidad corregida} = \frac{(\% \text{ mortalidad observada} - \% \text{ mortalidad control})}{(100 - \% \text{ mortalidad control})} \times 100$$

(OMS, 2017).

Cuando la mortalidad del control sea inferior al 5% (es decir, un mosquito muerto por cada 25), no se precisará corrección alguna de los resultados de la prueba, que sí deberá efectuarse cuando la mortalidad sea $\geq 5\%$ (OMS, 2017). Es fue el caso del presente estudio ya que en el control negativo se obtuvo un porcentaje de mortalidad de 2.44%, el cual es menor al 5%, por lo cual no fue necesaria la corrección por medio de la fórmula de Abbot.

Los datos fueron tabulados y analizado en Excel. Se utilizó una regresión Lineal para determinar la CL_{50} tanto para la actividad larvicida como para la actividad adulticida, obteniendo de la misma la ecuación de la recta y el R^2 .

7.10. Instrumento

Se utilizaron cuadernos para el registro de las actividades realizadas y resultados obtenidos, además de la documentación registrada en la bitácora del laboratorio.

El muestreo se realizó por conveniencia y se utilizó un instrumento de análisis para la recopilación de datos tanto para la determinación de la actividad larvicida como para la insecticida (Ver anexos 13.7 y 13.8).

8. RESULTADOS

Tabla 1. Sólidos totales obtenidos en la prueba del Mejor Solvente.

Concentración Etanol	% Sólidos totales	
	<i>Quassia amara</i>	<i>Equisetum arvense</i>
25%	4.35	6.50
50%	4.20	6.00
75%	2.75	4.65

Fuente: datos obtenidos en el Laboratorio de Producción de Medicamentos -LAPROMED-.

Tabla 2. Porcentaje de rendimiento del extracto seco de las plantas en estudio.

Planta	% Rendimiento
Corteza de <i>Quassia amara</i>	14.42
Tallos de <i>Equisetum arvense</i>	18.40

Fuente: datos obtenidos en el Laboratorio de Producción de Medicamentos -LAPROMED-.

Tabla 3. Actividad larvica contra *Aedes aegypti*, en estadio III y IV temprano, obtenida con el extracto de la corteza de *Quassia amara* a diferentes concentraciones.

Concentración (mg/mL) ¹	Repeticiones	Unidad de Muestreo*			% ² Mortalidad	Promedio % Mortalidad
		A	B	C		
0.124	I	0	0	0	0.00	0.00
	II	0	0	0	0.00	
	III	0	0	0	0.00	
Aceite de Citronela 0.220	I	12	11	10	91.67	95.37
	II	11	11	12	94.44	
	III	12	12	12	100.00	
Agua del chorro Reposada	I	1	0	0	2.78	0.93
	II	0	0	0	0.00	
	III	0	0	0	0.00	
0.150	I	0	0	0	0.00	0.00
	II	0	0	0	0.00	
	III	0	0	0	0.00	
Aceite de Citronela 0.220	I	12	11	10	91.67	96.30
	II	12	11	12	97.22	
	III	12	12	12	100.00	
Agua del chorro Reposada	I	0	0	0	0.00	0.93
	II	0	0	0	0.00	
	III	0	1	0	2.78	
0.500	I	0	0	0	0.00	0.00
	II	0	0	0	0.00	
	III	0	0	0	0.00	
Aceite de Citronela 0.220	I	12	10	11	91.67	95.37
	II	11	12	12	97.22	
	III	12	11	12	97.22	
Agua del chorro Reposada	I	0	0	0	0.00	0.00
	II	0	0	0	0.00	
	III	0	0	0	0.00	
1.000	I	0	0	0	0.00	0.00
	II	0	0	0	0.00	
	III	0	0	0	0.00	

¹ mg/mL = miligramo por mililitro

² % = porcentaje

*Cada unidad de muestreo (A, B y C) fue de 12 larvas, por lo cual se reporta el número de larvas muertas por cada 12 larvas de *A. aegypti*.

Concentración (mg/mL) ¹	Repeticiones	Unidad de Muestreo*			% ² Mortalidad	Promedio % Mortalidad
		A	B	C		
Aceite de Citronela 0.220	I	12	10	11	91.67	95.37
	II	11	12	12	97.22	
	III	12	11	12	97.22	
Agua del chorro Reposada	I	0	0	0	0.00	0.93
	II	1	0	0	2.78	
	III	0	0	0	0.00	
3.000	I	1	1	0	5.56	3.70
	II	1	0	0	2.78	
	III	0	1	0	2.78	
Aceite de Citronela 0.220	I	12	10	11	91.67	95.37
	II	12	11	12	97.22	
	III	12	11	12	97.22	
Agua del chorro Reposada	I	0	0	0	0.00	0.00
	II	0	0	0	0.00	
	III	0	0	0	0.00	
6.000	I	1	1	0	5.56	6.48
	II	1	1	0	5.56	
	III	1	1	1	8.33	
Aceite de Citronela 0.220	I	10	12	11	91.67	94.44
	II	12	11	12	97.22	
	III	12	11	11	94.44	
Agua del chorro Reposada	I	0	0	0	0.00	0.93
	II	0	0	0	0.00	
	III	1	0	0	2.78	
9.000	I	2	1	1	11.11	12.04
	II	1	1	2	11.11	
	III	2	2	1	13.89	
Aceite de Citronela 0.220	I	11	12	11	94.44	95.37
	II	12	11	12	97.22	
	III	12	11	11	94.44	
Agua del chorro Reposada	I	0	0	0	0.00	0.00
	II	0	0	0	0.00	
	III	0	0	0	0.00	

¹ mg/mL = miligramo por mililitro ² % = porcentaje

*Cada unidad de muestreo (A, B y C) fue de 12 larvas, por lo cual se reporta el número de larvas muertas por cada 12 larvas de *A. aegypti*.

Concentración (mg/mL) ¹	Repeticiones	Unidad de Muestreo*			% ² Mortalidad	Promedio % Mortalidad
		A	B	C		
20.000	I	4	3	5	33.33	31.48
	II	4	3	4	30.56	
	III	4	4	3	30.56	
Aceite de Citronela 0.220	I	10	12	11	91.67	95.37
	II	12	11	12	97.22	
	III	12	12	11	97.22	
Agua del chorro Reposada	I	0	0	0	0.00	0.00
	II	0	0	0	0.00	
	III	0	0	0	0.00	

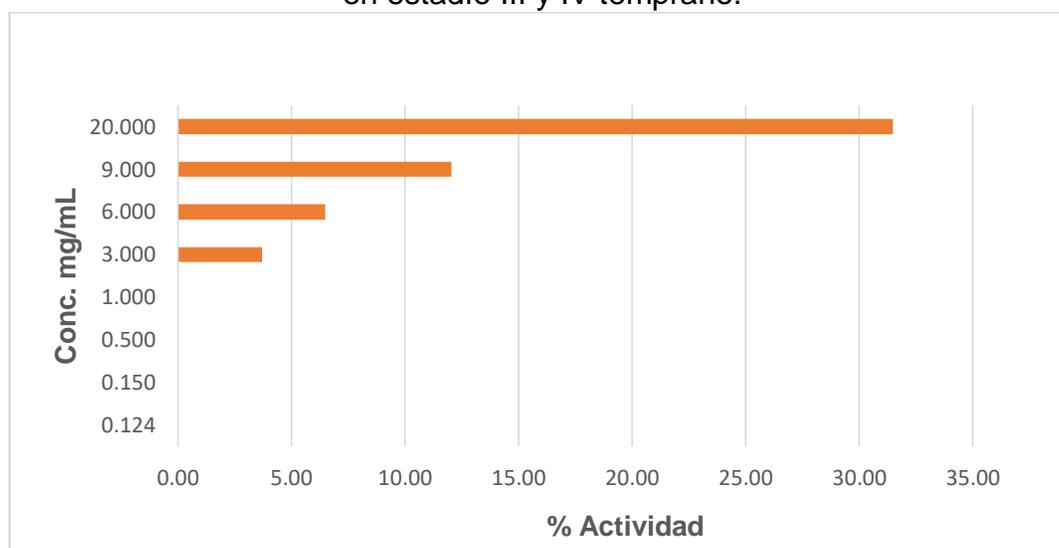
¹ mg/mL = miligramo por mililitro

² % = porcentaje

*Cada unidad de muestreo (A, B y C) fue de 12 larvas, por lo cual se reporta el número de larvas muertas por cada 12 larvas de *A. aegypti*.

Fuente: datos obtenidos en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales -LIPRONAT- Edificio T 10, USAC.

Gráfica 1. Actividad larvica del extracto de la corteza de *Q. amara* contra *A. aegypti* en estadio III y IV temprano.



Fuente: datos obtenidos en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales -LIPRONAT- Edificio T 10, USAC.

Tabla 4. Actividad larvica contra *Aedes aegypti*, en estadio III y IV temprano, obtenida con el extracto de *Equisetum arvense* a diferentes concentraciones.

Concentración (mg/mL) ¹	Repeticiones	Unidad de Muestreo*			% ² Mortalidad	Promedio % Mortalidad
		A	B	C		
0.124	I	0	0	0	0	0
	II	0	0	0	0	
	III	0	0	0	0	
Aceite de Citronela 0.220	I	12	11	10	91.67	96.30
	II	12	11	12	97.22	
	III	12	12	12	100.00	
Agua del chorro Reposada	I	0	0	0	0.00	0.00
	II	0	0	0	0.00	
	III	0	0	0	0.00	
0.150	I	0	0	0	0	0
	II	0	0	0	0	
	III	0	0	0	0	
Aceite de Citronela 0.220	I	11	12	12	97.22	94.44
	II	11	11	11	91.67	
	III	11	12	11	94.44	
Agua del chorro Reposada	I	0	0	0	0.00	0.93
	II	0	0	0	0.00	
	III	0	1	0	2.78	
0.500	I	0	0	0	0	0
	II	0	0	0	0	
	III	0	0	0	0	
Aceite de Citronela 0.220	I	12	11	12	97.22	96.30
	II	11	11	11	91.67	
	III	12	12	12	100.00	
Agua del chorro Reposada	I	0	0	0	0.00	0.00
	II	0	0	0	0.00	
	III	0	0	0	0.00	
1.000	I	0	0	0	0	0
	II	0	0	0	0	
	III	0	0	0	0	

¹ mg/mL = miligramo por mililitro

² % = porcentaje

*Cada unidad de muestreo (A, B y C) fue de 12 larvas, por lo cual se reporta el número de larvas muertas por cada 12 larvas de *A. aegypti*.

Concentración (mg/mL) ¹	Repeticiones	Unidad de Muestreo			% ² Mortalidad	Promedio % Mortalidad
		A	B	C		
Aceite de Citronela 0.220	I	12	11	10	91.67	95.37
	II	11	12	12	97.22	
	III	12	12	11	97.22	
Agua del chorro Reposada	I	0	0	0	0.00	0.00
	II	0	0	0	0.00	
	III	0	0	0	0.00	
3.000	I	1	1	0	5.56	4.63
	II	2	0	0	5.56	
	III	0	1	0	2.78	
Aceite de Citronela 0.220	I	12	11	10	91.67	95.37
	II	11	11	12	94.44	
	III	12	12	12	100.00	
Agua del chorro Reposada	I	0	0	0	0.00	0.00
	II	0	0	0	0.00	
	III	0	0	0	0.00	
6.000	I	1	2	1	11.11	12.04
	II	2	1	1	11.11	
	III	2	1	2	13.89	
Aceite de Citronela 0.220	I	12	11	11	94.44	95.37
	II	11	12	11	94.44	
	III	12	12	11	97.22	
Agua del chorro Reposada	I	0	0	0	0.00	0.00
	II	0	0	0	0.00	
	III	0	0	0	0.00	
9.000	I	2	3	3	22.22	25.00
	II	3	4	3	27.78	
	III	3	3	3	25.00	
Aceite de Citronela 0.220	I	11	11	12	94.44	95.37
	II	11	11	12	94.44	
	III	12	12	11	97.22	
Agua del chorro Reposada	I	0	0	0	0.00	0.00
	II	0	0	0	0.00	
	III	0	0	0	0.00	

¹ mg/mL = miligramo por mililitro

² % = porcentaje

*Cada unidad de muestreo (A, B y C) fue de 12 larvas, por lo cual se reporta el número de larvas muertas por cada 12 larvas de *A. aegypti*.

Concentración (mg/mL) ¹	Repeticiones	Unidad de Muestreo*			% ² Mortalidad	Promedio % Mortalidad
		A	B	C		
20.000	I	6	7	7	55.56	54.63
	II	6	7	7	55.56	
	III	7	6	6	52.78	
Aceite de Citronela 0.220	I	12	11	11	94.44	95.37
	II	11	11	12	94.44	
	III	12	11	12	97.22	
Agua del chorro Reposada	I	0	0	0	0.00	0.93
	II	0	0	1	2.78	
	III	0	0	0	0.00	

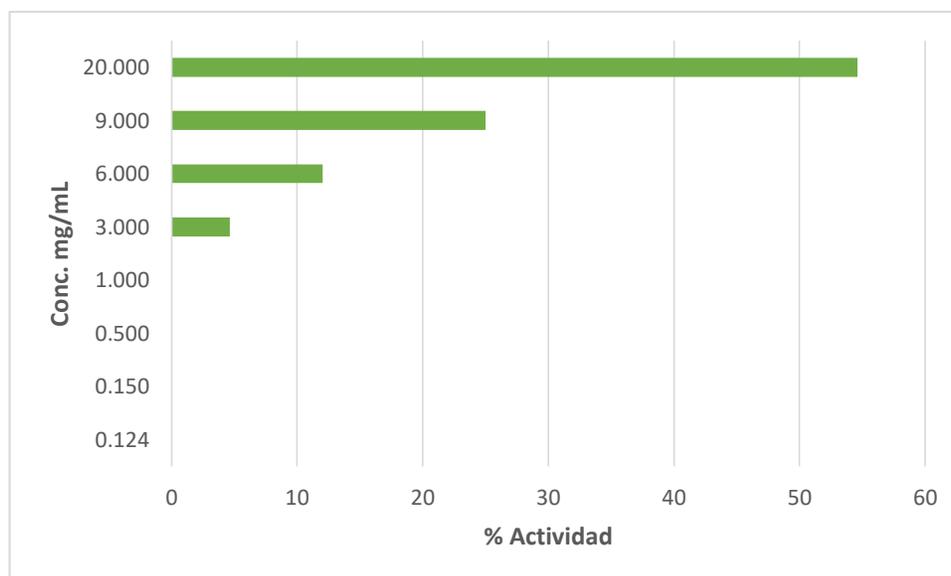
¹ mg/mL = miligramo por mililitro

² % = porcentaje

*Cada unidad de muestreo (A, B y C) fue de 12 larvas, por lo cual se reporta el número de larvas muertas por cada 12 larvas de *A. aegypti*.

Fuente: datos obtenidos en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales -LIPRONAT- Edificio T 10, USAC.

Gráfica 2. Actividad larvicida del extracto de los tallos de *E. arvense* contra *A. aegypti* en estadio III y IV temprano



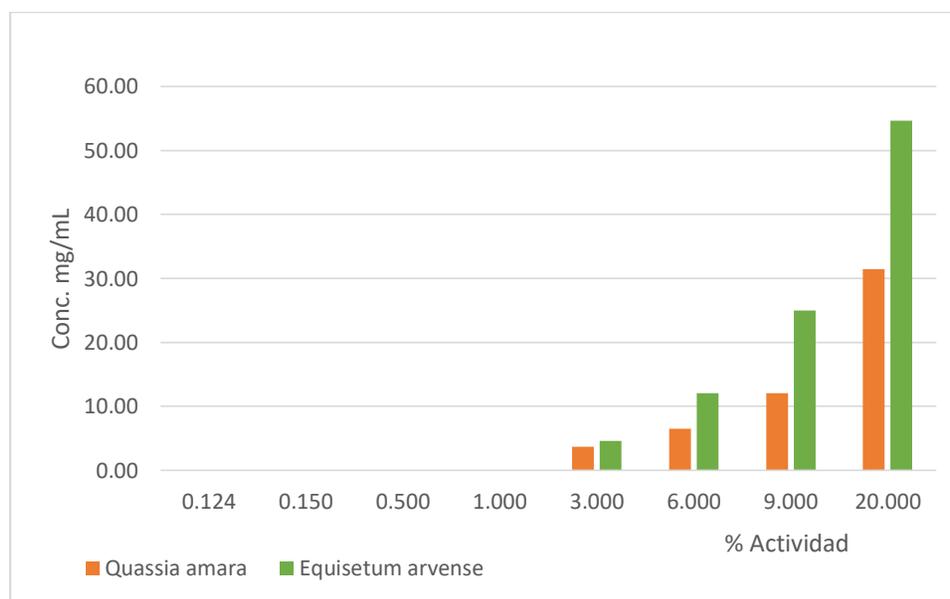
Fuente: datos obtenidos en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales -LIPRONAT- Edificio T 10, USAC.

Tabla 5. Comparación de la Actividad Larvicida de *Quassia amara* y *Equisetum arvense* contra *Aedes aegypti* en estadio III y IV temprano.

Concentración (mg/mL)	% Actividad	
	<i>Quassia amara</i>	<i>Equisetum arvense</i>
0.124	0.00	0.00
0.150	0.00	0.00
0.500	0.00	0.00
1.000	0.00	0.00
3.000	3.70	4.63
6.000	6.48	12.04
9.000	12.04	25.00
20.000	31.48	54.63

Fuente: datos obtenidos en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales -LIPRONAT- Edificio T 10, USAC.

Gráfica 3. Comparación de la actividad Larvicida de los extractos de *Quassia amara* y *Equisetum arvense* contra *Aedes aegypti*.



Fuente: datos obtenidos en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales -LIPRONAT- Edificio T 10, USAC.

Tabla 6. Actividad adulticida contra *Aedes aegypti* obtenida con el extracto de *Quassia amara* a diferentes concentraciones.

Concentración ¹ (mg/mL)	Muestra	² # insectos expuestos	# insectos muertos	³ % Mortalidad
50	⁴ Mx 1	20	1	3.66
	Mx 2	21	1	
	Mx 3	21	1	
	Mx 4	20	0	
	Control 1	21	1	2.44
	Control 2	20	0	
75	Mx 1	21	2	7.23
	Mx 2	20	1	
	Mx 3	20	1	
	Mx 4	22	2	
	Control 1	22	1	2.38
	Control 2	20	0	
100	Mx 1	21	2	9.88
	Mx 2	20	2	
	Mx 3	20	2	
	Mx 4	20	2	
	Control 1	20	1	2.50
	Control 2	20	0	

¹ mg/mL: miligramo por mililitro

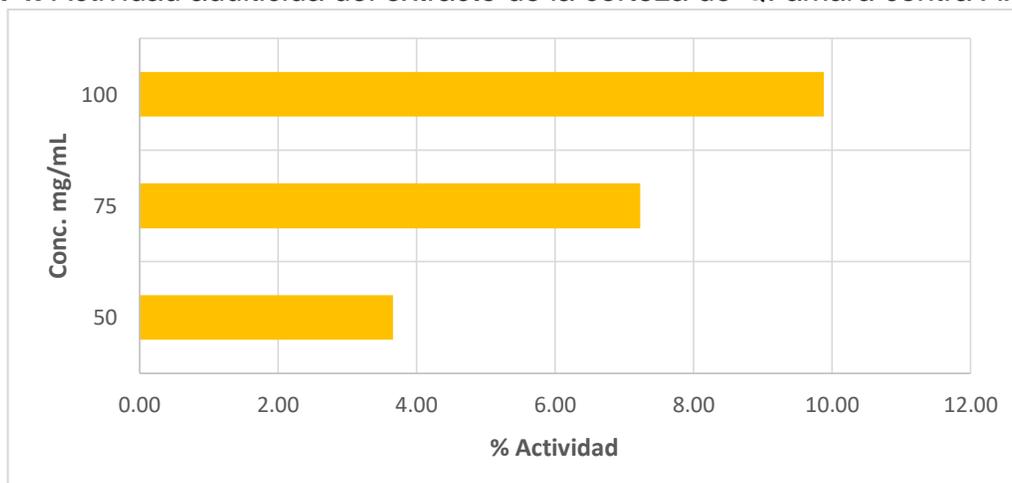
² #: número

³ %: porcentaje

⁴ Mx: muestra

Fuente: datos obtenidos en el Laboratorio de Entomología Aplicada y Parasitología -LENAP- USAC.

Gráfica 4. Actividad adulticida del extracto de la corteza de *Q. amara* contra *A. aegypti*.



Fuente: datos obtenidos en el Laboratorio de Entomología Aplicada y Parasitología -LENAP- USAC.

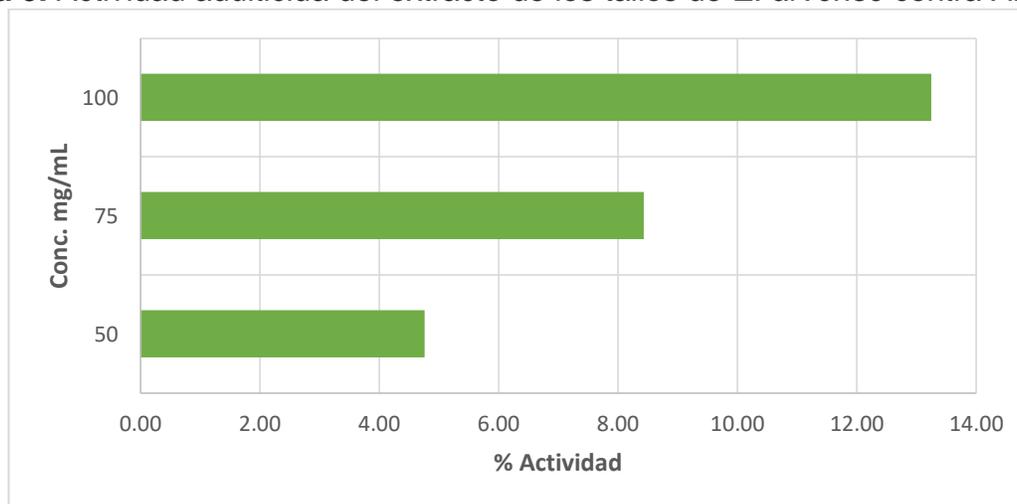
Tabla 7. Actividad insecticida (adulticida) contra *Aedes aegypti* obtenida con el extracto de *Equisetum arvense* a diferentes concentraciones.

Concentración ¹ (mg/mL)	Muestra	² # insectos expuestos	# insectos muertos	³ % Mortalidad
50	⁴ Mx 1	22	1	4.76
	Mx 2	21	1	
	Mx 3	21	1	
	Mx 4	20	1	
	Control 1	21	0	2.33
	Control 2	22	1	
75	Mx 1	21	2	8.43
	Mx 2	20	2	
	Mx 3	20	1	
	Mx 4	22	2	
	Control 1	21	1	4.76
	Control 2	21	1	
100	Mx 1	21	3	13.25
	Mx 2	22	3	
	Mx 3	20	2	
	Mx 4	20	3	
	Control 1	20	0	2.44
	Control 2	21	1	

¹ mg/mL: miligramo por mililitro ² #: número ³ %: porcentaje ⁴ Mx: muestra

Fuente: datos obtenidos en el Laboratorio de Entomología Aplicada y Parasitología -LENAP- USAC.

Gráfica 5. Actividad adulticida del extracto de los tallos de *E. arvense* contra *A. aegypti*.



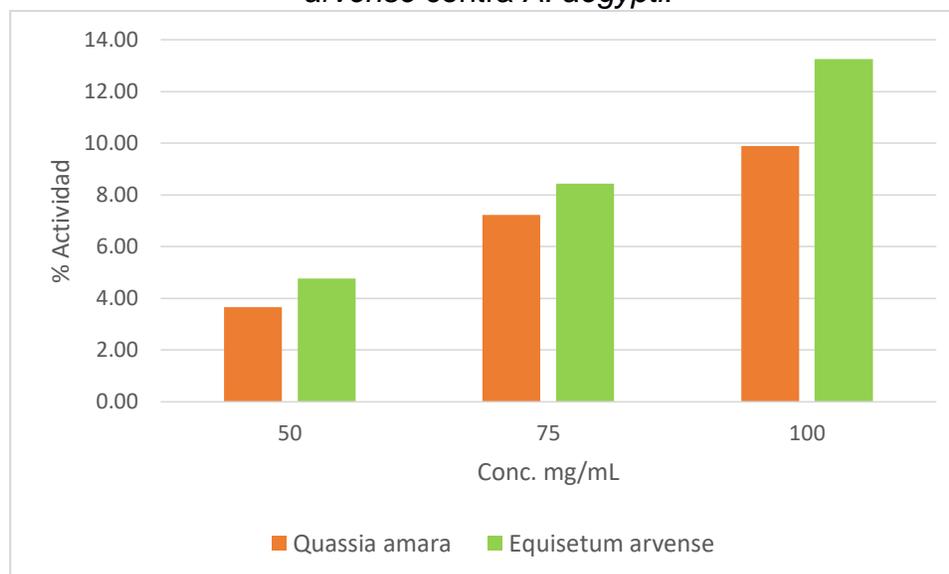
Fuente: datos obtenidos en el Laboratorio de Entomología Aplicada y Parasitología -LENAP- USAC.

Tabla 8. Comparación de la actividad adulticida de *Q. amara* y *E. arvense* contra mosquitos adultos de *A. aegypti*.

Concentración (mg/mL)	% Actividad	
	<i>Quassia amara</i>	<i>Equisetum arvense</i>
50	3.66	4.76
75	7.23	8.43
100	9.88	13.25

Fuente: datos obtenidos en el Laboratorio de Entomología Aplicada y Parasitología -LENAP- USAC.

Gráfica 6. Comparación de la actividad Adulticida de los extractos de *Q. amara* y *E. arvense* contra *A. aegypti*.

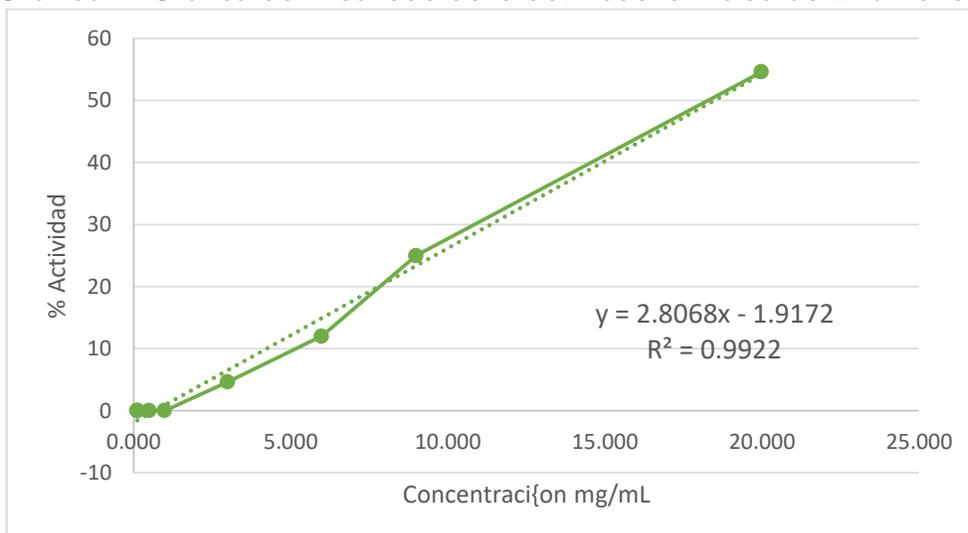


Fuente: datos obtenidos en el Laboratorio de Entomología Aplicada y Parasitología -LENAP- USAC.

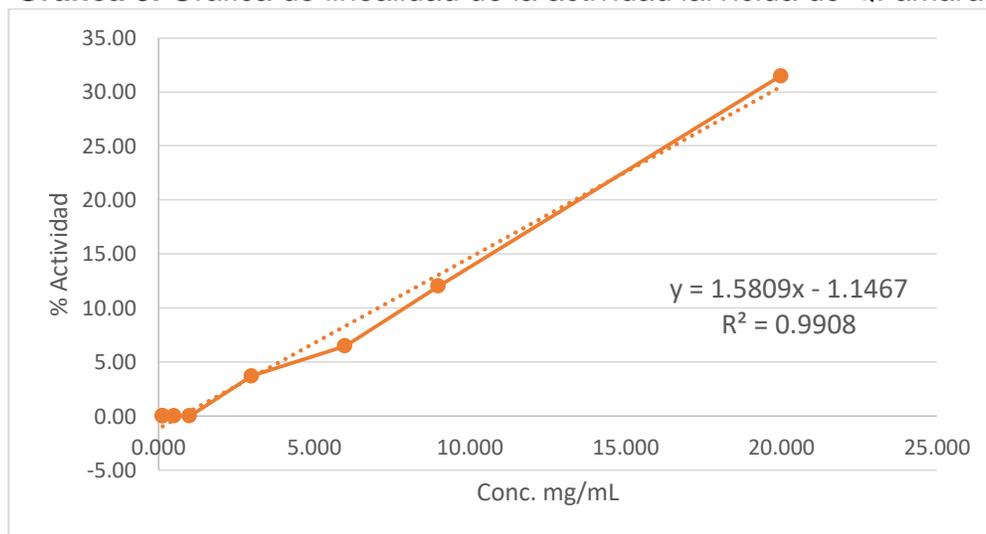
Tabla 9. Linealidad de la actividad larvicida y adulticida de *Q. amara* y *E. arvense*.

ACTIVIDAD	PLANTA	ECUACIÓN DE LA RECTA	R ²
Larvicida	<i>Q. amara</i>	$y = 1.5809x - 1.1467$	0.9908
	<i>E. arvense</i>	$y = 2.8068x - 1.9172$	0.9922
Adulticida	<i>Q. amara</i>	$y = 0.1244x - 2.4078$	0.9928
	<i>E. arvense</i>	$y = 0.1698x - 3.9217$	0.9939

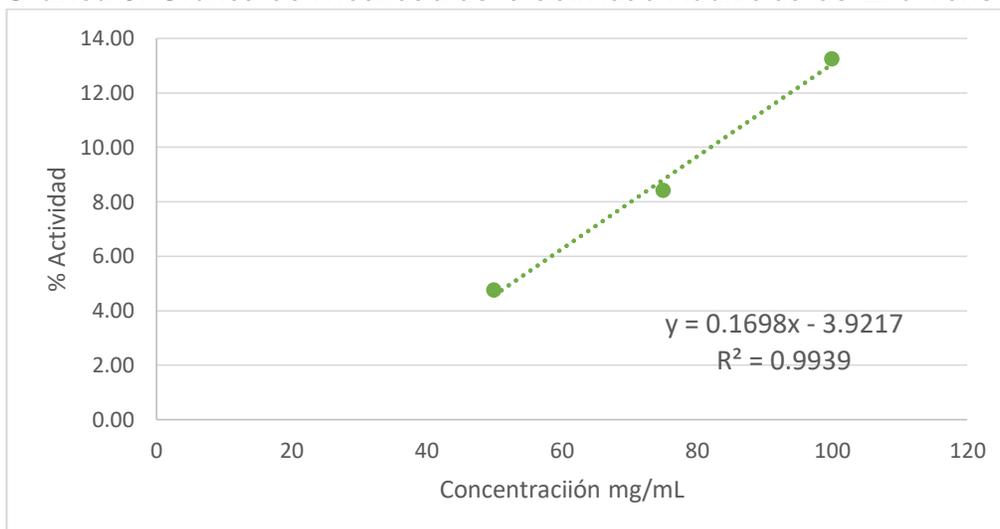
Fuente: datos obtenidos en LENAP y LIPRONAT, USAC.

Gráfica 7. Gráfica de linealidad de la actividad larvica de *E. arvense*.

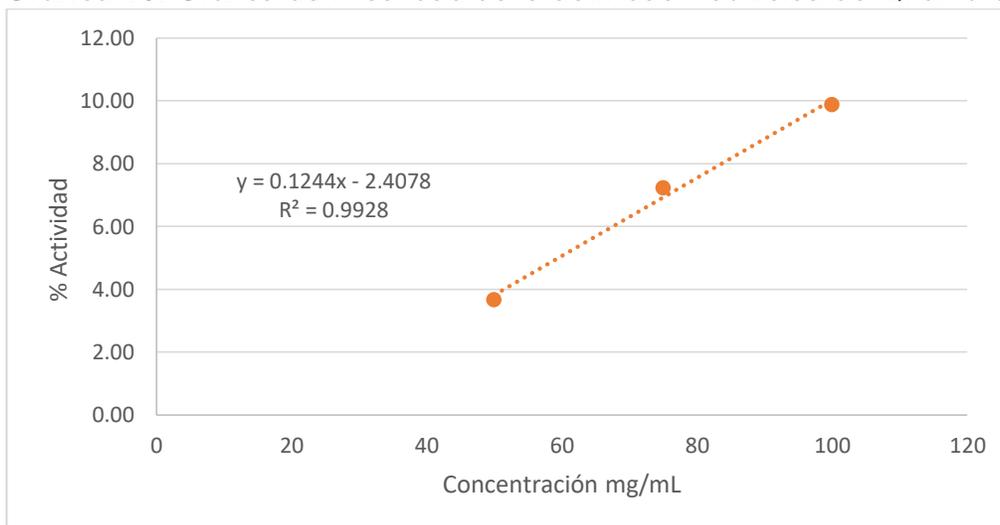
Fuente: datos obtenidos en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales -LIPRONAT- Edificio T 10, USAC.

Gráfica 8. Gráfica de linealidad de la actividad larvica de *Q. amara*.

Fuente: datos obtenidos en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales -LIPRONAT- Edificio T 10, USAC.

Gráfica 9. Gráfica de linealidad de la actividad Adulticida de *E. arvense*.

Fuente: datos obtenidos en el Laboratorio de Entomología Aplicada y Parasitología, USAC.

Gráfica 10. Gráfica de linealidad de la actividad Adulticida de *Q. amara*.

Fuente: datos obtenidos en el Laboratorio de Entomología Aplicada y Parasitología, USAC.

Tabla 10. CL₅₀ de la actividad larvicida y adulticida de *Q. amara* y *E. arvense* contra *A. aegypti*.

ACTIVIDAD	PLANTA	CL ₅₀
Larvicida	<i>Q. amara</i>	32.75 mg/mL
	<i>E. arvense</i>	18.50 mg/mL
Adulticida	<i>Q. amara</i>	421.28 mg/mL
	<i>E. arvense</i>	317.56 mg/mL

Fuente: datos obtenidos en LENAP y LIPRONAT, USAC.

9. DISCUSIÓN

En Guatemala recientemente se ha reportado un alto porcentaje de enfermedades transmitidas por vectores como lo son el dengue, zika y chikungunya (ver anexo 13.1). Estas enfermedades son transmitidas principalmente por el mosquito *Aedes aegypti* (ver anexo 13.2) que crece rápidamente en cualquier charco o estancamiento de agua, por ello en este trabajo se realizó la investigación de la actividad larvicida e insecticida de los extractos etanólicos de *Quassia amara* (ver anexo 13.5) y *Equisetum arvense* (ver anexo 13.4) contra este vector.

Para la obtención de los extractos secos de las plantas en estudio se realizó la prueba del mejor solvente (Anexo 13.12, imagen 1), obteniéndose el etanol al 25% como mejor solvente tanto para *Quassia amara* como para *Equisetum arvense* como se observa en la tabla 1. Es decir, que el etanol al 25% extrae la mayor cantidad de metabolitos de la planta, siendo estos mayoritariamente acuosos en ambas plantas.

Se realizó el percolado de la materia vegetal de las plantas, corteza para *Q. amara* y tallos para *E. arvense* con etanol al 25% y se concentró en rotavapor (Anexo 13.12, imagen 2) con el objetivo de obtener el extracto seco de los metabolitos de cada planta (Anexo 13.12, imagen 3). Los porcentajes de rendimiento obtenidos fueron de 14.42% para *Q. amara* y 18.40% para *E. arvense* (ver tabla 2), por lo que se observa que los rendimientos de extracción de metabolitos para estas plantas son bajos, en comparación con la extracción de los metabolitos de otras plantas obtenidos de igual forma por rotavapor y utilizando solventes polares. Por ejemplo, en un estudio para los frutos de *Solanum americanum* Miller (Quilete), se realizó la extracción de los metabolitos por rotavapor y utilizando etanol al 70% como disolvente, en este estudio se obtuvo un porcentaje de rendimiento de 35.33% y utilizando agua como disolvente se obtuvo un porcentaje de rendimiento de 32.60% (Rodríguez, 2016). En otro estudio donde se realizó la extracción de los metabolitos para las hojas de *Tabebuia rosea* (Matilisguate) por percolación, utilizando etanol 50% como disolvente se obtuvo un porcentaje de rendimiento de 32.88% (Flores, 2017). Además, en otro estudio realizado para las hojas de *Justicia spicigera* Schltl en donde se extrajeron los metabolitos en etanol al 50% utilizando rotavapor se obtuvo un porcentaje de rendimiento de 46.05% lo que indicó que tiene una

gran rentabilidad a su buen porcentaje de rendimiento (Salcedo, 2018). En comparación con estos estudios se puede observar que los porcentajes de rendimiento obtenidos tanto para *Q. amara* como para *E. arvense* son relativamente bajos.

Al obtener el extracto seco de los metabolitos de cada planta se realizó la prueba para la Determinación de la Actividad Larvívica (Anexo 13.12, imagen 4). Ésta se realizó en Larvas de *A. aegypti* de tercer estadio y/o cuarto estadio temprano (ver anexo 13.2) obtenidas de la Unidad de Vectores del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social.

Se utilizó agua del chorro reposada como medio de disolución de las concentraciones a probar en el ensayo, debido a que es el medio en el cual se desarrollan las larvas, teniendo así la seguridad de que la muerte de las mismas fue debido al extracto y no al medio de disolución. Cabe destacar que se utilizó etanol como medio de disolución en las primeras pruebas, en donde se observó que el etanol al 25% produce la muerte de las larvas en estudio, por lo cual se descartó como medio de disolución. Además, se utilizó como control positivo aceite de citronela a una concentración de 0.220mg/mL, dosis con la cual se asegura obtener una mortalidad alrededor de 100%, debido a que estudios previos demostraron que la CL_{50} del aceite de citronela es de 0.1063mg/mL (106.3ppm) (Muñoz, et al, 2014). Como control negativo se utilizó agua del chorro reposada, por ser el medio en donde se desarrollan las larvas de *A. aegypti* como se mencionó anteriormente.

Se probaron las concentraciones recomendadas en la metodología estandarizada en Alvarado & Santizo, 2014; Cruz, 2013 y Aldana & Cruz, 2017. Sin embargo, a estas concentraciones se obtuvo un porcentaje de mortalidad de cero por ciento (0%) para ambas plantas (ver tablas 3 y 4 y gráficas 1 y 2). Por ello se realizaron pruebas con concentraciones de 3.00, 6.00, 9.00 y 20.00 mg/mL para ambas plantas. No se probaron concentraciones mayores, debido a que mayores cantidades de extracto sobresaturaban el medio de disolución, lo cual no permitió obtener una solución homogénea ya que el extracto sedimentaba en el recipiente.

Con el extracto de la corteza de *Q. amara* se observó una leve mortalidad desde los 3.00mg/mL como se observa en la tabla 3 y gráfica 1. A 20.00mg/mL, la concentración más alta probada, se obtuvo una mortalidad de 31.48%.

No se encontraron estudios previos de extractos etanólico obtenidos por rotavapor de esta planta sobre larvas de *A. aegypti*; sin embargo, en un estudio realizado en Nicaragua se evaluó la actividad nematocida, en juveniles de *Meloidogyne sp.* Se utilizaron extractos metanólicos de *Q. amara* en donde los metabolitos fueron extraídos por Soxhlet. Se realizó un estudio *in vitro* y otro sobre maceteras (los extractos se aplicaron a plantas de tomate en macetas bajo condiciones de invernadero). En el experimento *in vitro* el extracto al 10% (10mg/mL) presentó un alto porcentaje de mortalidad después de 48h de exposición, alcanzando 89% de juveniles muertos. En macetas se evaluó la mortalidad de juveniles obteniéndose los mejores resultados de mortalidad a los 25 días de exposición con el extracto al 10%, con un porcentaje de mortalidad de 80%. Estos resultados evidenciaron que el extracto metanólico de *Q. amara* posee propiedades nematocidas, ya que redujo significativamente las poblaciones de nematodos y su reproducción (Salazar & Guzmán, 2014).

En comparación con este estudio se puede evidenciar que *Q. amara* presenta mejor actividad nematocida que larvicida, el factor que difiere en mayor medida con este estudio es el tiempo de exposición y en menor medida el solvente y el tipo de extracción, debido a que el metanol es más polar que el etanol (McMurry, 2008); sin embargo, el etanol utilizado fue al 25%, por lo cual fue en mayor porcentaje un solvente acuoso. Por lo cual, para estudios posteriores es recomendable aumentar el tiempo de exposición (mayor de 24h) del extracto sobre las larvas y determinar si es un factor influyente sobre la actividad larvicida del extracto de *Q. amara*.

Con el extracto de los tallos de *E. arvense* al igual que con *Q. amara* se observó una leve mortalidad a los 3.00mg/mL como se observa en la tabla 4 y gráfica 2. Ahora bien, a 20.00mg/mL se obtuvo una mortalidad de 54.63%, por lo cual se puede determinar la CL_{50} experimentalmente.

En la revisión bibliográfica de *E. arvense* no se encontraron estudios previos con *A. aegypti*; pero si presenta actividad antifúngica y antibacteriana demostrada (Tayupanta, 2012; Esmail, 2017). En otros estudios también se ha observado que los extractos en agua caliente de *E. giganteum* (de la misma familia) tienen actividad citotóxica contra *A. salina*. Además, *E. arvense* a concentración de 1g/mL ha mostrado actividad

antibacteriana frente a algunas bacterias como *E. coli*, *Neumonía por Klebsiella*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus* y *Enterococcus faecalis* (Esmail, 2017).

El protocolo para realizar los cálculos de la mortalidad en larvas de *A. aegypti* indica que si la mortalidad de los controles está entre 5% y 20% se deben corregir por la Fórmula de Abbott el porcentaje de mortalidad de larvas tratadas (Moncayo *et. al*, 2005); sin embargo, como se observa en las tablas 3 y 4, la corrección no fue necesaria ya que se obtuvo un porcentaje <5% para los controles negativos.

Si bien ambos extractos tuvieron actividad larvicida desde los 3.00mg/mL, el extracto que obtuvo porcentajes más altos de mortalidad en las larvas de *A. aegypti* fue el extracto de *E. arvense* como se observa en la tabla 5 y gráfica 3. Por lo cual se determina que los extractos de *E. arvense* presentan mejor actividad larvicida contra *A. aegypti* en comparación con los extractos de *Q. amara*.

La metodología fue realizada por triplicado para cada concentración en estudio cada una con su respectivo control positivo y control negativo.

Se calculó la ecuación de la recta y el R^2 ; con estos datos se pudieron extrapolar los resultados, tomando en cuenta el criterio de la Organización Panamericana de la Salud, la cual indica que el valor mínimo para el R^2 es de $\geq 0,99$ hasta $\geq 0,9999$ (PAHO, s.f.) para poder extrapolar datos, por lo que los valores obtenidos en este trabajo cumplen con el valor de cuadrados mínimos (ver tabla 9).

La concentración letal 50 para la actividad larvicida se determinó experimentalmente y por extrapolación para el extracto de *E. arvense*, ya que con la concentración más alta probada se obtuvo un porcentaje de mortalidad mayor del 50%. Tomando en cuenta los datos obtenidos se realizó la linealidad de los mismos obteniendo un R^2 de 0.9922 (ver tabla 9 y gráfica 7), y con la ecuación de la recta se extrapoló para obtener el valor real de la CL_{50} , la cual es la concentración que ocasiona la muerte de la mitad de los organismos durante el período de prueba (Ramírez & Mendoza, 2008), obteniéndose un valor de CL_{50} de 18.50mg/mL (ver tabla 10).

Para el extracto de *Q. amara* se determinó la CL_{50} únicamente por extrapolación, ya que con la concentración más alta probada no se obtuvo una mortalidad mayor del cincuenta por ciento; de la misma forma, se realizó la gráfica de linealidad y se obtuvo un R^2 de 0.9908 y se calculó la ecuación de la recta (ver tabla 9 y gráfica 8), con estos datos se obtuvo una CL_{50} de 32.75mg/mL para *Q. amara* (ver tabla 10).

Por otro lado, también se determinó el potencial para la actividad insecticida en los mosquitos adultos de *A. aegypti* de ambas plantas según la metodología de la OMS.

Utilizando como referencia las concentraciones probadas para la actividad larvicida se probaron concentraciones de 50, 75 y 100mg/mL usando como disolvente el mismo etanol al 25% utilizado para extraer los metabolitos de cada planta. Para esta prueba se utilizó etanol como disolvente de los extractos, debido a que para realizar la prueba se impregnaron los papeles ya sea con la solución del extracto a ensayar o con etanol 25% como control negativo y se dejaron secar a temperatura ambiente.

Los mosquitos adultos utilizados para la prueba fueron obtenidos de la Unidad de Vectores del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, estos se mantuvieron en jaulas y fueron alimentados únicamente con agua azucarada al 10% (Anexo 13.12, imagen 5) como lo indica la metodología de la OMS.

Cada concentración se probó por cuadruplicado y se realizaron dos controles por concentración analizada. Cada tubo contenía de 20 a 25 mosquitos hembras de aproximadamente 5 días de haber emergido como adulto (Anexo 13.12, imagen 6).

Como se muestra en la tabla 6 y 7 los controles mostraron una mortalidad <5% por lo cual no fue necesaria la corrección de los resultados finales de las pruebas tal y como lo indica el protocolo de la OMS (OMS, 2017).

El extracto etanólico de la corteza de *Q. amara* obtuvo una baja actividad adulticida como se muestra en la tabla 6 y gráfica 4. A 100mg/mL, la concentración más alta probada, se obtuvo un porcentaje de mortalidad de 9.88%.

Caba destacar que con *Q. amara* se esperaba un mayor porcentaje de mortalidad ya que esta planta presenta antecedentes de efecto insecticida contra otro tipo de insectos como

ácaros, coleópteros, hemípteros, himenópteros, lepidópteros y thisanópteros (López & Pérez, 2008).

Se realizó otro estudio en Costa Rica en donde se evaluó el efecto insecticida y repelente de *Q. amara* sobre la mosca blanca. Se utilizaron extractos acuosos y se aplicó con una bomba en el envés de las hojas, posteriormente se introdujo el insecto y se contó el número de insectos posados en las hojas en donde se determinó que los extractos de *Q. amara* si presenta actividad repelente. Por otro lado, se evaluaron dosis desde 5-50mL/L de agua. El extracto fue preparado a partir de 400g de madera por litro de agua. En este estudio todas las concentraciones causaron mortalidad de los adultos en comparación con el testigo después de 24h de exposición, el mayor porcentaje de mortalidad obtenido fue de aproximadamente 10% con la concentración más alta probada (Ocampo, 1995).

Se puede observar que en el presente estudio y el presentado por Ocampo, 1995 se utilizaron extractos mayoritariamente acuosos para evaluar la actividad tóxica de la planta contra el insecto de prueba (excepto para la actividad repelente que se utilizó el polvo seco), el tiempo de exposición fue el mismo y se obtuvieron resultados muy parecidos en ambos trabajos.

De la misma forma, con el extracto etanólico de los tallos de *E. arvense* también se obtuvo una baja actividad adulticida como se observa en la tabla 7 y gráfica 5, obteniéndose un porcentaje de mortalidad de 13.25% a 100mg/mL; sin embargo, fueron mayores los porcentajes de actividad adulticida obtenidos con los extractos de *E. arvense* en comparación a los obtenidos con los extractos de *Q. amara* como se observa en la tabla 8 y gráfica 6.

Se realizó un bioensayo en Perú con *E. arvense* para evaluar su efecto tóxico y repelente contra el gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais*). El polvo seco se evaluó entre 0.2 y 1.6g por 10g de maíz, se expusieron los gorgojos al polvo por 5 días y se obtuvo un porcentaje de mortalidad de 22.5%. Para el efecto repelente se utilizó el extracto acuoso del polvo seco de las hojas al 20%, exponiendo a los gorgojos 120h, obteniendo un porcentaje de repelencia del 26% (Iannacone *et al*, 2008). Al comparar este estudio con los resultados obtenidos se observa mejores resultados en la mortalidad de los insectos, por lo que en

otros estudios es recomendable exponer los insectos a los extractos por un tiempo mayor y así observar la tendencia de mortalidad respecto al tiempo de exposición.

La dosis recomendada por la GTZ (Agencia de Cooperación Técnica Alemana, por sus siglas en alemán Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit) para la determinación de la actividad adulticida es de 100 hasta 5,000 ppm (0.1 a 5 mg/mL) (Hellpap, 1993). Sin embargo, se probaron concentraciones por encima de 5mg/mL al obtener baja mortalidad en la determinación de la actividad larvicida. Ahora bien, no se probaron concentraciones más altas debido a que el disolvente se sobresaturaba por las grandes cantidades de extracto en la solución, lo cual ocasionada que los metabolitos sedimentaran en el matraz volumétrico al momento de preparar la solución de ensayo.

Las CL₅₀ para la actividad adulticida tanto para *Q. amara* como para *E. arvense* fueron determinadas por extrapolación de los datos, por lo cual se realizó la gráfica de linealidad y se calculó la ecuación de la recta (ver tabla 9). Para *Q. amara* se obtuvo una CL₅₀ de 421.28mg/mL y para *E. arvense* una CL₅₀ de 317.56mg/mL lo cual se observa en la tabla 10. Estos datos se exponen de manera predictiva; para afirmarlos sería necesario realizar el ensayo experimental; sin embargo, se dificulta por la alta concentración de extracto que se debe probar.

Como se describió anteriormente, estudios previos *Q. amara* y *E. arvense* demostraron tener actividad insecticida, pero frente a otros organismos, no específicamente contra *A. aegypti*.

En el caso de *Q. amara*, los metabolitos responsables de esta actividad son principalmente los cuassinoides que se encuentran en mayor cantidad en las partes leñosas de la planta, poco solubles en agua (López & Pérez, 2008). Además, es importante resaltar que es probable que esta actividad biológica insecticida de la cuasia surja como un proceso de autodefensa química, ya que su madera no es atacada por insectos; esto sugiere que por medio de los cuasinoides crea una barrera protectora en la planta que más que presentar actividad insecticida presenta actividad repelente frente a los insectos que atacan la planta (Porcuna, 2011). La actividad repelente no se pudo determinar en esta investigación debido a que la metodología de la OMS mide

únicamente actividad insecticida, por lo cual se sugiere medir esta actividad para obtener más información sobre el potencial repelente de *Q. amara*.

Por su parte, *E. arvense* y otras plantas de la misma especie demostraron principalmente actividad fitopatógena y biocida (Iaconne et al, 2008; Hernández, 2016). Además, se ha utilizado como agua de riego y actúa como agente desinfectante del suelo (Millan, 2008). Los metabolitos responsables de esta actividad son principalmente los compuestos de silicio (Cáceres, 2009). Estos compuestos se encuentran en forma de ácido silícico (hidrosolubles) y como un hidrato amorfo de sílice, $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (solubilidad 0.1g/L) (GTM, 2017; Ovalle, 1994)

Tomando en cuenta ello se puede concluir que los extractos etanólicos de *Quassia amara* y *Equisetum arvense* presentan cierta actividad larvicida y adulticida contra *Aedes aegypti* pero a muy altas concentraciones las cuales no son viables para utilizar en la práctica, disminuyendo así la posibilidad de utilizar los extractos de estas plantas como una alternativa natural de insecticida contra el vector *Aedes aegypti*.

10. CONCLUSIONES

- Se determinó que la concentración letal 50 de los extractos etanólicos de los tallos de *Equisetum arvense* (Cola de caballo) es de 18.50mg/mL y para la corteza de *Quassia amara* (Cuasia) es de 32.75mg/mL en larvas de *Aedes aegypti*.
- Se determinó que la concentración letal 50 de los extractos etanólicos de los tallos de *Equisetum arvense* (Cola de caballo) es de 317.56mg/mL y para la corteza de *Quassia amara* (Cuasia) es de 421.28mg/mL en mosquitos adultos de *Aedes aegypti*.
- El extracto de *Equisetum arvense* presentó mejor actividad insecticida contra larvas de *Aedes aegypti* en comparación con el extracto de *Quassia amara*.
- El extracto de *Equisetum arvense* presentó mejor actividad insecticida contra mosquitos adultos de *Aedes aegypti* en comparación con el extracto de *Quassia amara*.
- Los extractos etanólicos de corteza de *Quassia amara* y tallos de *Equisetum arvense* presentaron actividad larvicida y adulticida contra *Aedes aegypti* pero a altas concentraciones, comparadas con el aceite de citronela, las cuales no son viables para utilizar en la práctica, disminuyendo así la posibilidad de utilizar los extractos de estas plantas como una alternativa natural de insecticida contra el vector *Aedes aegypti*.

11. RECOMENDACIONES

- No utilizar etanol al 25% para preparar las diluciones de los extractos utilizados en la actividad larvicida ya que el etanol mata al estadio larvario de *Aedes aegypti*.
- Si no se dispone de microplacas para determinar la actividad larvicida se puede realizar en tubos de ensayo o beaker siempre y cuando se mantenga la proporción de las concentraciones de la sustancia a ensayar (Díaz et al., 2012; Mendoza, 2016; Leyva, 2009).
- Si se dispone de larvas de II estadio es necesario alimentarlas con Incaparina® una vez al día y cambiarles el agua diariamente, hasta que lleguen al III estadio, para evitar que se adhieran a las partículas aglomeradas de su alimento y así evitar que mueran en su medio de crianza.
- Determinar la actividad repelente de los extractos de *Q. amara* y *E. arvense* utilizando una metodología que pueda medir dicha actividad como la descrita en Colorado et al, 2016.
- Ejecutar las pruebas realizando el conteo de larvas y/o adultos de *A. aegypti* muertos después de 48 y 72h de exposición al extracto, para determinar la actividad insecticida en relación al tiempo y verificar si este es un factor influyente.
- La extracción fraccionada es una técnica que permite extraer todos los metabolitos de la planta haciendo pasar por la droga vegetal solventes de distinta polaridad, obteniendo los metabolitos desde los más apolares hasta los más polares (Cruz, et al., 2016). Esta técnica se recomienda con el objetivo de obtener una fracción de cuassinoides y compuestos de silicio en mayor concentración, y así probar específicamente estos metabolitos que son los que han reportado la actividad insecticida frente a otros organismos.

12. REFERENCIAS

- Alcalde, M. & Del Pozo, A. (2007). *Vinagre de Quassia como tratamiento cosmético natural contra los piojos*. *Offarm*, 26 (3), p. 132-133.
- Aldana, F. & Cruz, S. (2017). *Actividad larvicida de aceites esenciales de Lippia alba y Lippia graveolens, contra Aedes aegypti L.* *Revista Científica*. Vol.26 No. 2, p. 36-48.
- Alvarado, H. & Santizo, A. (2014). *Manual de laboratorio de toxicología*. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Escuela de Química Farmacéutica USAC.
- Cáceres, A. (2009). *Vademécum Nacional de Plantas Medicinales*. Guatemala: Universitaria USAC.
- Cruz, S. (2013). *Evaluación biológica y fisicoquímica de extractos de hojas del complejo laurel (Litsea glaucescens Kunth, L. guatemalensis Mez y L. neesiana (Schauer) Hemsl.)*. (Tesis doctoral). Universidad de San Carlos de Guatemala, Universidad Nacional de Costa Rica.
- Cruz, S., Medinilla, B. & Mó, M. (2016). *Manual de Laboratorio de farmacognosia*. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Escuela de Química Farmacéutica. USAC.
- Cruz, S., Memedilla, B., Valdez, C. & Alvarado, J. (2016). *Manual de Laboratorio de Fitoquímica*. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Escuela de Química Farmacéutica. USAC.
- Díaz, F., Morelos, S., Carrascal, M., González, Y. & Gómez, H. (2012). *Actividad larvicida de extractos etanólicos de Tabernaemontana cymosa y Trichilia hirta sobre larvas de estadio III y IV de Aedes aegypti (Diptera: Culicidae)*. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. Vol. 17, No. 3, p. 256-267.

- Esmail, A. (2017). *The pharmacology of Equisetum arvense- A review*. IOSR Journal of Pharmacy. Volume 7, Issue 2 Version 1, p. 31-42.
- Flores, I. (2017). *Evaluación de la actividad antioxidante y caracterización fitoquímica del extracto de hojas de Matilisguate (Tabebuia rosea)*. (Tesis de grado). USAC. Guatemala.
- González, A. (2004). *Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del amazonas*. (Tesis de grado). Universidad Nacional de Colombia. Colombia.
- Grainge M, Ahmed S. (1998). *Handbook of Plants with pest-control properties* (p.52, 121, 179). New York: John Wiley & Sons.
- Gupta, M., Santana, A., Espinoza, A. (s.f.). *Plantas Medicinales de Panamá*. Monografías de Plantas Medicinales. Panamá.
- GTM (2017). Dióxido de Silicio. Ficha de datos de seguridad. Versión 3. Recuperado de: <http://www.gtm.net/images/industrial/d/DIOXIDO%20DE%20SILICIO.pdf>
- Hellpap, G. (1993). Steps for developing botanical pesticides. Manuscrito G.T.Z.
- Hernández, T. (2016). *Fungicida a base de cola de caballo (Equisetum arvense)*. (Tesis de grado). Universidad del Valle de México.
- Iannacone, J., Seng, Y., Alcantra, P., Rodríguez, R. (2008, enero). *Actividad Insecticida y Repelentes de Plantas en el Gorgojo Del Maíz Sitophilus Zeamais*. Scintia, p. 146-154.
- Jiménez, M. (2005). *Determinación de la Actividad Biocida de cinco plantas del género Acalypha (A. guatemalensis, A. arvensis, A. polystaquia, A. indica y A. pseudoalopecuroides)*. (Tesis de grado). USAC. Guatemala.

- Leyva, M., French, L., Pino, O., Montada, D., Morejón, G., Marquetti, M. (2017). *Plantas con actividad insecticida: una alternativa natural contra mosquitos*. Revista -Biomedica 2017, Vol 28, No. 3, p.28:139-181.
- Leyva, M., Marqueti, M., Tacoronte, J., Scull, R., Tiomno, O., Mesa, A. & Montada, D. (2009). *Actividad larvicida de aceites esenciales de plantas contra Aedes aegypti (L.) (Diptera: Culicidae)*. Revista Biomed. Vol. 20, No. 1, p. 5-10.
- López, J. & Pérez, J. (2008). *Etnofarmacología y actividad biológica de Quassia amara (Simaroubaceae): Estado de la cuestión*. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, 7 (5), p. 234 – 246.
- McMurry John. (2008). *Química Orgánica*. 7ma edición. México: Cengage Learning.
- Mendoza, M. (2016). *Determinación de la presencia de piretrinas, evaluación de actividad larvicida contra larvas de Aedes aegypti y citotoxicidad contra nauplios de Artemia salina en fracciones de los extractos hexánicos de las hojas y flores de las especies endémicas Tithonia tubaeformis (Jacq.) Cass. y Lasianthaeae fruticosa (L.) K. Becker de la región de San Lucas - Sacatepéquez, Guatemala*. (Tesis de grado). USAC. Guatemala.
- Millán, C. (2008). *Las plantas una opción saludable para el control de plagas*. Red de acción en plaguicidas y sus alternativas para América Latina. Uruguay: Global Greengrants Fund.
- Moncayo, B., Natharn, B., Orellana, B., Vásquez, C. & Zerva, M. (2005). *Protocolo para determinar la susceptibilidad o resistencia a insecticidas de mosquitos de la especie Aedes aegypti*. Red Latinoamericana de Control de Vectores. Iguazú.

- Muñoz, J. Staschenko, E. & Ocampo, C. (2017). *Actividad insecticida de aceites esenciales de plantas nativas contra Aedes aegypti (Diptera: Culicidae)*. Revista Colombiana de Entomología. 40 (2), p.198-202.
- MSPAS, (2016). Situación de las enfermedades transmisibles y no transmisibles prioritarias de vigilancia epidemiológica, Guatemala 2015. Informe anual, p. 55.
- Ocampo, R. (1995). *Potencial de Quassia amara como insecticida natural*. Proyecto Conservación para el desarrollo sostenible en América Central. Turrialba: Costa Rica.
- OMS (2017). *Procedimientos de las pruebas para la vigilancia de la resistencia a los insecticidas en los mosquitos vectores del paludismo*. 2ª edición. Programa Mundial sobre Paludismo.
- OMS. (2018). *Enfermedades transmitidas por vectores*. 3ª edición. Programa para la prevención de enfermedades vectoriales.
- Ovalle, D. (1994). *Revisión documental y comentarios sobre la importancia de silicio en plantas (Equisetaceae)*. Revista de la Facultad de Farmacia. Universidad de los Andes, Venezuela. Vol. 30, p. 7-12.
- PAHO, (s.f.). Validación de métodos analíticos. Buenas Prácticas para Laboratorios Nacionales de Control Farmacéutico Anexo 3 informe 36, 2002. Pan American Health Organization
- Porcuna, J. (2011). *Ficha práctica, Quassia amara*. Servicio de sanidad vegetal. Valencia. No. 5, p. 62.
- Ramírez, P. & Mendoza, A. (2008). *Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo*. México.
- Ricco, R., Agudelo, I., Garcés, M., Evelson, P., Wagner, M. & Gurni, A. (2011). *Polifenoles y actividad antioxidante en Equisetum giganteum L.*

- (*Equisetaceae*). Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas 10 (4), p. 325 – 332.
- Rodríguez, A. (2016). *Evaluación del Extracto de Quilete (Solanum americanum Miller) como Insecticida y Larvicida contra el Vector Transmisor del Dengue (Aedes aegypti)*. (Tesis de grado). USAC. Guatemala.
- Salazar, W. & Guzmán, J. (2014). *Efecto nematocida de extractos de Quassia amara y Brugmansia suaveolens sobre Meloidogyne sp. asociado al tomate en Nicaragua*. Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, - España y Portugal. 25(1), p. 111-119.
- Salcedo, F. (2018). *Extracción e identificación de los metabolitos secundarios con capacidad tintórea de Justicia spicigera Schlttd para su posible uso cosmético*. (Tesis de Grado). USAC. Guatemala.
- SIGSA (2018). *Enfermedades transmitidas por vectores: Dengue, Chikungunya y Zika. Años 2016 y 2017*. Ministerio de salud pública y Asistencia social. Guatemala.
- SIGSA (2018). *Morbilidad por plaguicidas. Años 2017 y 2018*. Ministerio de salud pública y Asistencia social. Guatemala.
- Tayupanta, B. (2012). *Control In vitro de Botrytis (Botrytis cinerea), Mildiu (Bremia lactucae), y Esclerotina (Sclerotinia scleroriotum) en Lechuga (Lactuca sativa), usando extractos de cola de caballo (Equisetum arvense), Ortiga (Ortiga dioica), Ruda (Ruta graveolens) y Tomillo (Thymus vulgaris)*. (Tesis de Grado). Universidad Salesiana Politécnica de Quito. Ecuador.
- Velásquez, V. (2011). *Evaluación del efecto bactericida en Campylobacter jejuni de extractos de: Equisetum giganteum, Mentha spicata, Litsea guatemalensis, Thymus vulgaris, Apium graveolens e Hibiscus sabdariffa*. (Tesis de grado). USAC. Guatemala.

13. ANEXOS

13.1. ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR VECTORES

Los vectores son organismos vivos que pueden transmitir enfermedades infecciosas entre personas, o de animales a personas. Muchos de esos vectores son insectos hematófagos que ingieren los microorganismos patógenos junto con la sangre de un portador infectado (persona o animal), y posteriormente los inoculan a un nuevo portador al ingerir su sangre.

Los mosquitos son los vectores de enfermedades mejor conocidos. Garrapatas, moscas, flebótomos, pulgas, triatominos y algunos caracoles de agua dulce también son vectores de enfermedades.

Dentro de los mosquitos se encuentran:

Aedes

- Dengue
- Fiebre del Valle del Rift
- Fiebre amarilla
- Chikungunya

Anopheles

- Paludismo

Culex

- Encefalitis japonesa
- Filariasis linfática
- Fiebre del Nilo Occidental

(OMS, 2018).

Debido a que el mosquito *Aedes aegypti* es uno de los vectores que transmiten las enfermedades con mayor incidencia, se describe a detalle las características de éste tipo de insecto.

13.2. AEDES AEGYPTI

Es un mosquito principalmente doméstico que se asocia muy estrechamente con los humanos. Los recipientes artificiales son sus más importantes lugares de cría.

Este mosquito se desarrolla en envases caseros que puedan retener agua, tales como latas, barriles, cubos, tanques, llantas descartadas, floreros, y cisternas; todos los cuales se hallan frecuentemente en ambientes urbanos domésticos. Aunque los mosquitos *Aedes aegypti* se reproducen también en los huecos de los árboles y posiblemente en otras cavidades naturales con agua acumulada; y cualquier objeto hecho por el hombre que pueda retener agua y que no esté rodeado de tierra por sus costados.

13.2.1. Ciclo biológico del *Aedes aegypti*

Consiste en cinco fases:

Huevo

Luego de una alimentación sanguínea las hembras *Aedes aegypti* pueden colocar entre 50 y 150 huevos. Estos son de aproximadamente 1mm de largo; de superficie lisa, color blanco y se oscurecen a partir de las dos horas de vida hasta alcanzar un color negro brillante. Aproximadamente de 2 a 3 días después de puesto el huevo se desarrolla la fase larval, si no encuentran humedad se secan y mueren; pero si hay abundante humedad estos huevos con las larvas desarrolladas tendrán resistencia a sequías y pueden sobrevivir hasta 2 años.

Generalmente los huevos son puestos individualmente en las paredes de depósitos de agua, cerca de la superficie y nunca en el agua (Rodríguez, 2016).

Larva

Del huevo de *Aedes aegypti* emerge la forma larvaria, acuática, nadadora, de respiración aérea. Estos se alimentan por filtración de material en suspensión o acumulado en paredes y fondo del recipiente, para lo cual utilizan las cerdas bucales en forma de abanico. Son fotosensibles, al iluminarlas se desplazan al fondo del recipiente casi de inmediato (Rodríguez, 2016).

La fase larval es el período de mayor alimentación, crecimiento y vulnerabilidad en el ciclo de vida de *Aedes aegypti*. La duración del desarrollo larval depende de la temperatura, la disponibilidad de alimento y la densidad de larvas en el recipiente. En condiciones óptimas (temperaturas de 25 °C a 29 °C) el período desde la eclosión hasta la pupación es de 5 a 7 días, habitualmente es de 7 a 14 días. Las larvas no pueden resistir temperaturas inferiores a 10 °C o superiores a 45 °C, a menos de 13 °C se interrumpe el pasaje a estado de pupa (Rodríguez, 2016).

La fase larval del *Aedes aegypti* presenta 4 fases (larva I, II, III, IV). Cada uno de estas de mayor tamaño que la precedente. Los tiempos estimados de duración de cada una de las fases son:

- Fase I: 1-1,5 días
- Fase II: 1,7-2,20 días
- Fase III: 2,5 -2,8 días
- Fase IV: 2,9-3,15 días

Las características morfológicas que diferencian a las larvas de *Aedes aegypti* son:

- Pelo cefálico superior e inferior simple
- Espina torácica lateral en forma de uña
- Escama del peine con tres dientes laterales y una espina central

Pupa

Es la etapa transitoria de la fase acuática o larval, a la fase aérea (adulto). En esta etapa el mosquito no se alimenta. La duración de este estadio es de 2 a 3 días.

Adulto

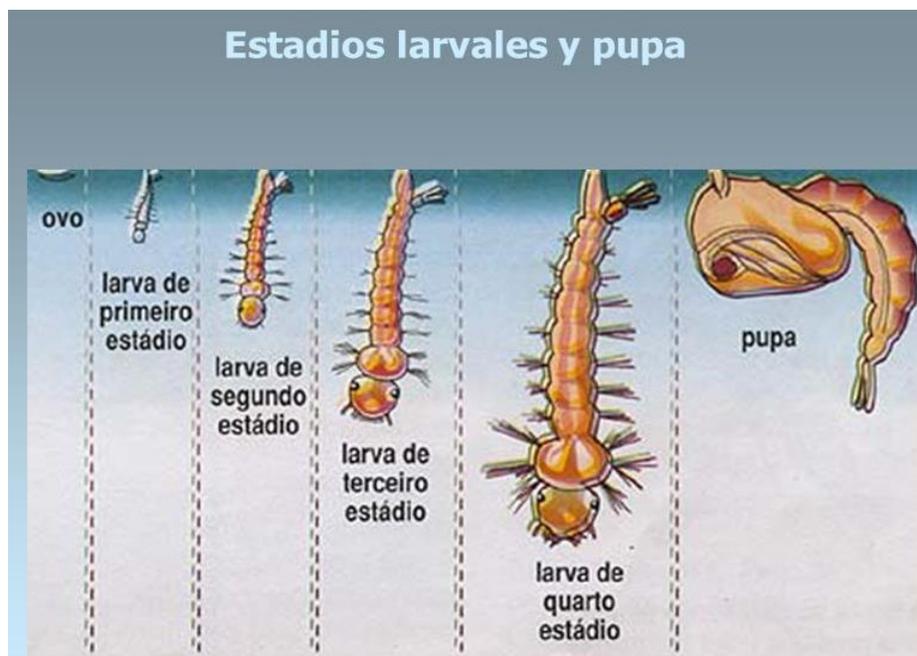
Es la última fase de desarrollo del mosquito conocida como la etapa reproductora. En esta fase emerge de la pupa el insecto adulto, posándose sobre las paredes del recipiente por varias horas. Esto le permite el endurecimiento de su exoesqueleto. En el caso de los machos se produce la rotación de 180° de la parte terminal del abdomen.

A partir de las 24 horas del estadio adulto se produce el apareamiento, generalmente durante el vuelo. Puede haber múltiples apareamientos durante la vida adulta del mosquito.

Tanto la hembra como el macho se alimentan del néctar de las flores; la hembra se alimenta además de sangre caliente, que es la fuente de proteínas para la maduración de los huevos. Después de la alimentación sanguínea, en condiciones óptimas de temperatura y alimentación, desarrolla un lote de huevos cuya postura se realiza a los 3 días. La mortalidad típica diaria del *Aedes aegypti* es de 10 % durante el primer mes.

Las características morfológicas que diferencian a los insectos adultos de *Aedes aegypti* son: escamas claras en el pedicelo y clípeo con escamas claras. La superficie anterior del fémur medio se caracteriza por la presencia de una línea delgada de escamas blancas, y los esternitos abdominales III-V están cubiertos por escamas claras.

(Rodríguez, 2016).



13.3. EXTRACCIÓN DE MATERIALES VEGETALES

EL término extracción desde el punto de vista farmacéutico se refiere a la separación de porciones medicinales o activas provenientes de tejidos vegetales o animales mediante el uso de solventes selectivos. Los productos así obtenidos son líquidos relativamente impuros, semisólidos o sólidos.

Existen diferentes métodos para la extracción de drogas crudas para la obtención de la porción terapéuticamente activa y eliminar el material inerte mediante el tratamiento con un solvente selectivo, conocido como “menstruo” (Cruz, Medinilla & Mó, 2016).

El solvente utilizado puede ser cualquier sustancia, líquido por lo general, con propiedades de disolver el principio activo, molécula o metabolitos de interés. Uno de los disolventes más utilizados es el etanol o alcohol etílico el cual presenta buenos rendimientos de extracción y es muy utilizado para la extracción de metabolitos en plantas, a estos extractos se les llaman extractos etanólicos.

Extractos etanólicos

Extracto con olor característico, obtenido a partir de materia prima desecada de origen vegetal, por maceración o percolación en contacto con etanol, seguida de la eliminación de dicho solvente por un procedimiento físico. Estos procesos pueden ser sometidos a determinadas operaciones para eliminar algunos de sus componentes y así mejorar notablemente la calidad del producto deseado (González, 2004).

Entre los principales métodos de extracción se encuentran los siguientes:

Maceración:

Es una extracción que se realiza a temperatura ambiente. Consiste en remojar el material vegetal, debidamente fragmentado en un solvente (agua o etanol, se prefiere el etanol puesto que a largos tiempos de extracción el agua puede propiciar la fermentación o la formación de mohos) hasta que éste penetre y disuelva las porciones solubles. Se puede utilizar cualquier recipiente con tapa

que no sea atacado con el disolvente; en éste se colocan el material vegetal con el disolvente y tapado se deja en reposo por un período de 2 a 14 días con agitación esporádica. Luego se filtra el líquido, se exprime el residuo, se recupera el solvente en un evaporador rotatorio y se obtiene el extracto (González, 2004).

Percolación:

Este es el procedimiento más utilizado para extraer los ingredientes activos en la preparación de tinturas y extractos fluidos. Se utiliza un percolador, es decir, un recipiente con forma de cono, más o menos estrecho, con dos extremos abiertos. Los ingredientes sólidos son humedecidos con una cantidad apropiada de solvente, se deja en reposo durante aproximadamente 4 horas en un recipiente bien cerrado, y luego se coloca dentro del percolador.

Se añade suficiente solvente para saturar el material vegetal, y se tapa la parte superior del percolador. En el momento en que el líquido comienza a gotear a través del cuello del percolador, se cierra el orificio de salida. Se añade solvente adicional de manera que haya una capa superficial de solventes sobre el material vegetal, y la mezcla se deja en maceración dentro del percolador cerrado, durante 24 horas.

Transcurrido este tiempo, se abre el orificio del percolador, y se deja gotear lentamente el líquido, añadiéndose suficiente solvente extra, según se requiera. El material sólido que ha quedado, se saca, se filtra a través de manta o gasa, presionando fuertemente, y el líquido obtenido se añade al percolador, el cual posteriormente es clarificado mediante filtración o decantación. Luego que se ha obtenido una solución de los constituyentes activos, puede utilizarse para producir ciertas tinturas o extractos fluidos, o puede ser procesado posteriormente para producir un extracto sólido o semisólido.

Digestión:

Es una forma de maceración en la que se emplea calor moderado durante el proceso de extracción. Se utiliza cuando el material vegetal no se ve afectado por temperaturas moderadamente elevadas, sino que por el contrario, se ve incrementada la eficiencia del solvente.

Infusión:

El material vegetal se extrae con agua caliente, pero sin someter a ebullición. El agua se vierte sobre la planta, manteniendo bien cerrado el recipiente, durante unos 30 minutos.

Decocción:

Mediante este proceso se extrae constituyentes acuosolubles y termoestables, hirviendo en agua el material a extraer durante 15 minutos, luego se enfría y se cuela.

(Cruz, Medinilla & Mó, 2016).

13.4. MONOGRAFÍA COLA DE CABALLO (*Equisetum arvense*)



Fuente: Ricco *et al*, 2011.

Nombres comunes en los países Iberoamericanos

Cola de caballo (Argentina, Brasil, Colombia, España, Guatemala, Honduras, Uruguay).
Canutillo (Colombia, Perú).

Partes usadas medicinalmente

Hojas y tallos

Descripción botánica

Planta vivaz de 0,2 a 0,65 m de altura. Echa dos clases de tallos, los fértiles, precoces pero mucho más endebles, y a lo sumo, de poco más de 1 palmo de altura, simples, sin ramas, de color parduzco rojito, con las vainas formadas por la soldadura de 6 a 12 hojas, con otros tantos dientes en su extremo. La parte esporangífera forma una espiga de no más de 4 cm de longitud por 1 de anchura que desaparece en verano. Los tallos que nacen después pueden alcanzar de 1 a 2 palmos, son verdes, surcados, huecos y tienen ramitas de cuatro esquinas. Maduran los esporangios en primavera y se seca en invierno. Tiene rizomas profundos, hasta 2m.

Hábitat

Algunas especies son nativas de Asia y Europa que se han hecho cosmopolitas (*E. arvense* L.) y otras son nativas de América (*E. giganteum*). Crecen en lugares húmedos, arenosos y pantanosos, taludes, bordes de caminos, pedregales, hasta 2,000 msnm. Se han descrito varias especies en casi todo el país.

Obtención

Crecen silvestres en regiones templadas, se obtiene por recolección, aunque hay pequeñas zonas manejadas. La propagación es por cortes del rizoma o esporas. Los tallos y hojas se usan frescos o secos.

Usos y propiedades medicinales

Usada desde la antigüedad, descrita en el Pen Tsao y por Dioscórides, es oficial en Europa desde el siglo XVI. Se usan indistintamente todas las especies del género, por no estar en la Flora de Guatemala no hay un estudio preciso. Todas las especies del género se parecen y tienen usos similares.

En Portugal esta planta se considera como diurética, facilita la remineralización de los tuberculosos y actúa como hemostático para detener hemorragias nasales, en las hemorroides sanguinolentas y en las menstruaciones excesivas. Se emplean los tallos y ramas verdes desecados. Se administra el cocimiento de la planta seca, aproximadamente 50 g, hervida durante media hora en ½ litro de agua. Se deja enfriar, se cuela y se coloca en tres tazas; se toma una por la mañana, otra al mediodía y la tercera por la noche.

Por su actividad contra hongos fitopatógenos se usa para tratar flores de jardín, vegetales y frutales. El extracto es moluscosida y antiviral. El polvo de las plantas es insecticida (*A. aegypti*).

Farmacología experimental y clínica

Están reportadas patentes que indican que los extractos de *Equisetum arvense* son activos en el tratamiento de la Toxoplasmosis y son beneficiosos en la remineralización del organismo, desempeñando actividad benéfica en tratamientos de fracturas óseas,

osteoporosis, y en las enfermedades de los dientes y de las uñas. La Comisión E Alemana indica los siguientes usos por vía oral de equiseto: edemas post traumáticos y estáticos, como diuréticos en terapéutica de lavado en caso de afecciones bacterianas e inflamatorias de vías urinarias y en caso de presencia de arenilla. Por vía externa, se usa como coadyuvante en el tratamiento de difícil cicatrización.

Composición química y principios activos

La composición química de 5 especies de *Equisetum* indica que todas son muy similares. La planta contiene los ácidos silícico, oxálico, málico, acotínico o equisético y gálico. Contiene también triterpenoides, derivados de la estilpirona, flavonoides y glicósidos fenólicos. Conjugados del ácido caféico. Más del 10% (12 a 25%) de materiales minerales, de los cuales unas 2/3 aproximadamente están constituidas por ácido salicílico en forma de silicatos hidrosolubles; contiene también sales de potasio. Entre los flavonoides se encuentran kaempferol, isoquercitina y su éster en 6" con el ácido málico. Se reporta la presencia de nicotina en trazas.

Toxicología

Es tóxica al ganado por la tiaminasa; el heno con 20% de *E. arvense* produce síntomas (debilidad, ataxia) en caballos a 2-5 semanas, aunque sin pérdida de apetito, puede producir coma. El ácido aconítico es tóxico al ganado, se manifiesta en varias semanas con pérdida del control muscular, excitación, dificultad respiratoria, convulsiones, coma y muerte. Todas las especies pueden producir daño cuando el ganado se alimenta con ellas porque lastima mecánicamente las vísceras y produce disentería. La administración de 1- 5 g/ kg por vía oral no demostró ningún efecto tóxico.

Contraindicaciones

Los alcaloides pueden inducir una acción anticolinérgica y oxitócica por lo que debe evitarse su uso durante el embarazo, lactancia y disfunción cardíaca.

Precauciones y reacciones adversas

El uso prolongado puede causar cefalea, tenesmo, anorexia, glaucoma y deficiencia de tiamina.

Indicaciones terapéuticas

Unas especies se encuentran en algunas de las farmacopeas. Es considerada por el FDA como una hierba de seguridad indefinida. Se distribuyen diversos preparados como infusión, extracto, tintura, tabletas y polvo para tratamiento alopático y homeopático.

Por su actividad astringente, antiséptica, diurética, hemostática y vulneraria su uso por vía oral está indicado en enuresis, enfermedad prostática, cistitis, incontinencia e infección urinaria, hematuria y uretritis. Por su propiedad antiséptica y cicatrizante se aplica a lesiones de la piel como llagas y úlceras.

Formas galénicas/posología

Administrar 2-3 veces/día después de las comidas durante 3-4 semanas en dosis de:

- 1-3 g de infusión o decocción,
- 2-4 g de extracto líquido 1:1 en alcohol al 25%,
- 2-4 ml/taza de tintura 1:8,
- 400-900 mg/día, en tres dosis diarias.

Tópicamente se aplica la infusión, decocción o tintura diluida en forma de lavados o compresas.

(Cáceres, 2009; Gupta, *et al.* s.f.).

13.5. MONOGRAFÍA CUASIA (*Quassia amara*)



Fuente: Alcalde & Del Pozo, 2007.

Nombres comunes en los países Iberoamericanos

Hombre grande, hombrón (Costa Rica y Panamá) Bitterwood, Cruceta, Crucete, Guabita amarga, Guabito, Guabito amargo, Guabo amargo, Hombre grande, Puesilde, Quassia, Udud bungid, Udut pulu (STRI Panamá).

Partes usadas medicinalmente

Madera del tronco y ramas

Descripción botánica

Arbusto o árbol pequeño, alcanza hasta 9 m de altura y tallo de 10 cm de grueso. Hojas compuestas, con pecíolos y raquis alados, 5 pinnas opuestas acuminadas, obovadas a oblongas, 5-11 cm de largo y 4-7 cm de ancho, verde profundo en el haz, ligeramente pálida en el envés. Panículas delgadas, tan largas como las hojas; flores rojas con cáliz de 2-3 cm de largo; segmentos ovados, obtusos, ciliados; pétalos de 2.5-4.5 cm de largo linear lanceolados, glabros; estambres más largos que la corona. Frutos drupáceos ovales, sincápicos, 1-1.5 cm de longitud, en grupos de cinco o menos.

Hábitat

Nativa de bosques secos o húmedos en laderas con regular penetración de luz, desde el sur de México al norte de Sud América y Brasil hasta los 950 msnm. Cultivada como ornamental en lugares del Caribe y Sud América, introducida y cultivada en la India. En Guatemala se ha descrito en Izabal y Santa Rosa.

Obtención

Crece silvestre en regiones húmedas tropicales. Por ser un árbol que rebrota es posible su manejo agrotecnológico. Se propaga por semillas, estacas y acodos. Las primeras son viables por un mes; los acodos se hacen por cortes en tallos maduros, al enraizar se siembran en el campo definitivo, en un lugar del bosque con escasa penetración de luz. Se cortan las ramas cada 5 años. La madera se trocea y se seca al sol.

Usos y propiedades medicinales

Conocida por los indígenas americanos para combatir fiebres. *Quassia* en el siglo XVIII adquirió fama aliviando fiebres malignas con un tratamiento secreto; en 1756 se investiga y en 1764 aparece la primera referencia de *Lignum quassiae*, con actividad febrífuga, antiamebiana y tónica. Se usa como insecticida desde 1850.

La infusión o macerado de la madera se usa como tónico amargo para combatir fiebre, malaria, afecciones digestivas, gonorrea y aumentar la secreciones. La tintura se usa para tratar fiebre, afecciones hepáticas y mordedura de serpientes; en homeopatía se usa para debilidad, dispepsia, hepatitis e ictericia. El vino amargo se usa para combatir la náusea y mejorar la digestión. Se le atribuye propiedad amebicida, antianémica, aperitiva, catártica, colagoga, depurativa, diurética, insecticida, tónica y vermífuga.

El extracto de corteza se usa en bebidas tónicas, postres y alimentos. Por la propiedad insecticida se usa para fabricar papel matamoscas y cajas para proteger de la polilla.

Farmacología experimental y clínica

La tintura de corteza y madera es activa contra *C. albicans*, *S. typhi*, *S. aureus*, *M. gypseum* y *T. rubrum*. La actividad insecticida de contacto fue demostrada hace un siglo y ha sido usada en el control de plagas de muchos cultivos.

El extracto acuoso es antiinflamatorio en ratas, aumenta el tránsito intestinal, protege contra la ulceración y muestra reducción de acidez y actividad péptica. El extracto hexánico es analgésico y relajante muscular.

Composición química y principios activos

La madera contiene principios amargos de cuasinoides (cuasina, cuasimarina, cuasinol, hidroxicuasina, neocuasina, simalikalactonas) , esteroides (sitosterol, sitostenona, stigmast-4-en-3-ona), picranina, isocuasina, alcaloides indólicos derivados de carbolina y 2-metoxicantina-6-ona 13, aceite volátil, extracto gomoso, pectina, fibra y sales minerales.

Se usa en la industria farmacéutica como antihelmíntico y en la producción de licores como imitador del lúpulo. El extracto es muy amargo, no es astringente ni aromático; en dosis elevadas no provoca irritación local, náusea, ni diarrea, predominando su acción tónica y estomáquica; en cambio la cuasina es muy activa y tóxica por lo que se prefiere el uso de la tintura de la madera. De la madera se obtiene 0.5 g/kg de cuasina pura cristalizada y 0.8 g/kg de neocuasina. La cuasina comercial es una mezcla de cuasinoides.

La cuasina es una lactona muy amarga, con propiedad antiamebiana más potente que la emetina, pero menos tóxica, estimula la secreción gástrica y tiene efecto colerético. La simalikalactona es antimalárica y antiviral.

Toxicología

La administración de 1 g/kg del extracto acuoso liofilizado no produce signos de toxicidad aguda en ratas. El extracto de madera y corteza no es tóxico, pero la cuasina en dosis elevadas provoca vértigo, disminución de la agudeza visual, cólico y fiebre. La cantidad máxima permitida en bebidas no alcohólicas es de 75ppm; presenta una moderada actividad narcótica. El extracto metanólico inhibe la secreción de testosterona de las células de Leydig en ratas; el extracto clorofórmico IM presenta varios efectos de toxicidad reproductiva en ratas macho.

Contraindicaciones

Embarazo.

Precauciones y reacciones adversas

La administración oral puede producir ligeros mareos y cólicos uterinos. A dosis elevadas irrita la mucosa gástrica y provoca vómito.

Indicaciones terapéuticas

Se encuentra en algunas farmacopeas, la FDA la cataloga como una droga generalmente conocida por segura y se comercializan preparaciones fitofarmacéuticas alopáticas y homeopáticas como polvo, tintura y extracto fluido.

Por su actividad antiamebiana, estomáquica, colerética, febrífuga y tónica, está indicada por vía oral para el tratamiento de dispepsia atónica, disentería amebiana y convalecencia de diversas afecciones febriles.

Por su actividad acaricida e insecticida, está indicada tópicamente en el tratamiento de pediculosis y otras afecciones por insectos y ácaros.

Formas galénicas/posología

Administrar 2-3 veces al día durante 2-3 semanas en dosis de:

- 2-5 g/taza en maceración o infusión,
- 1-2 g del extracto fluido 1:1,
- 1-2 ml de tintura 1:5 en etanol 50%.

Tópicamente se aplica como pomada, gel o loción.

(Cáceres, 2009; Gupta, *et al.* s.f.).

13.6. PRUEBA DE LA OMS PARA MEDIR LA SUSCEPTIBILIDAD EN MOSQUITOS ADULTOS

Es una prueba de respuesta directa a la exposición, que mide la mortalidad de mosquitos al ser expuestos a una concentración estándar conocida de determinado insecticida, ya se trate de una concentración discriminante o de múltiplos de esta, utilizados para determinar la intensidad.

13.6.1. Selección de los ejemplares de prueba

La edad, el estado fisiológico y el sexo de los mosquitos son factores importantes, que pueden influir en los resultados de las pruebas de susceptibilidad a los insecticidas. Para las labores de vigilancia de la resistencia no se aconseja el uso de machos, que en general son más pequeños, tienen menor esperanza de vida y son más frágiles que las hembras, por lo cual suelen registrar una mayor mortalidad en las pruebas. Para llevar a cabo las pruebas de susceptibilidad, por consiguiente, se utilizan solo mosquitos hembra.

Los estudios con hembras adultas de mosquito han demostrado repetidamente que tanto la edad como el estado fisiológico (en ayunas o alimentadas de sangre, semigrávidas o grávidas) tienen un marcado efecto sobre la susceptibilidad a los insecticidas. Los mosquitos de mayor edad, por ejemplo, son a veces menos resistentes, sobre todo cuando el factor que confiere resistencia es la presencia de una enzima desintoxicante, cuya actividad puede decaer con la edad. Por ello se recomienda efectuar las primeras pruebas de susceptibilidad a la concentración discriminante empleando hembras adultas de 3 a 5 días de edad que no hayan ingerido sangre (esto es, alimentadas con azúcares y en ayunas desde al menos 6 horas antes).

Cuando se utilicen colecciones de larvas para obtener hembras jóvenes adultas con fines de vigilancia de la resistencia, es importante registrar el tipo de hábitat larvario (p.ej. arrozal, sumidero de agua lluvia, canal de irrigación, pozo, etc.) y las coordenadas del sistema global de localización (GPS) de donde provenga la colección, porque:

- La exposición a residuos de plaguicidas diferirá según el lugar de reproducción.
- Dentro de un mismo complejo de especies, algunos taxones tendrán preferencia por uno u otro tipo de habitat larvario.

Una tercera opción consiste en utilizar directamente hembras capturadas en campo. En tal caso se deberán seleccionar y someter a prueba únicamente hembras que no estén alimentadas con sangre. De ser necesario, se les puede proporcionar agua azucarada para que resistan y a continuación, unas horas antes de la prueba, dejarlas ayunar.

La principal ventaja de emplear directamente hembras capturadas en campo es que ello resulta cómodo y que constituyen la población que tiene relevancia desde el punto de vista operativo. El principal inconveniente es que se desconoce su edad, lo que puede dar lugar a una mayor variabilidad en los resultados de la prueba (y seguramente a una subestimación de la resistencia).

13.6.2. Tamaño de muestra

Lo ideal es disponer de 120 a 150 hembras adultas de mosquitos de una determinada especie. De ellas, 100 serán expuestas al insecticida estudiado (en cuatro o cinco réplicas, de unos 20 a 25 ejemplares cada una). Los 50 mosquitos restantes servirán de “controles” (esto es, dos réplicas de unos 20 a 25 ejemplares cada una). Cuando se someta a prueba más de un insecticida, se requerirán otros tantos lotes de mosquitos para cada insecticida adicional.

Los mosquitos de control son expuestos a papeles impregnados solo con el correspondiente aceite portador, esto es, sin insecticida. En todos los demás sentidos, los mosquitos de control pasan por el mismo tratamiento que los mosquitos expuestos al insecticida. La inclusión de controles sirve para poder estimar la mortalidad natural durante la prueba y tener en cuenta todas las variables que puedan inducir mortalidad aparte del propio insecticida.

13.6.3. Condiciones ambientales

La temperatura ambiental puede influir en la toxicidad de los insecticidas, y la humedad relativa puede afectar a la supervivencia de los mosquitos durante el periodo de espera. Por ello es preciso controlar la temperatura y la humedad durante las fases de prueba y espera. Lo idóneo es que los ensayos se realicen a $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ de temperatura y a un $80\% \pm 10\%$ de humedad relativa. Durante los periodos de exposición y espera hay que vigilar ambos parámetros y registrar los valores máximo y mínimo al principio del periodo de exposición y, de nuevo, al final del periodo de espera.

A lo largo de la prueba los tubos de exposición y de mantenimiento deben permanecer en posición vertical, independientemente de la clase de insecticida de que se trate. Durante la fase de exposición es preciso cubrir con una cartulina los extremos que tienen malla de los tubos de exposición para reducir la intensidad luminosa. No hay que realizar prueba alguna a temperaturas superiores a los 30°C . En ausencia de insectario o de nevera portátil que haga las veces de “insectario de campo”, los tubos deben colocarse dentro de un contenedor recubierto con un paño humedecido que se dejará en un lugar protegido y sombreado.

13.6.4. Mortalidad y ajustes a los cálculos

La mortalidad (esto es, el número de mosquitos muertos en los tubos de exposición y en los de control) se determina al término del periodo post-exposición especificado.

La mortalidad de la muestra sometida a prueba se calcula sumando el número de mosquitos muertos en todas las réplicas expuestas y expresándolo como porcentaje del número total de mosquitos expuestos:

$$\text{Mortalidad observada} = \frac{\text{Total de mosquitos muertos}}{\text{Total de mosquitos expuestos}} \times 100$$

Para obtener el valor de la mortalidad del control se efectúa un cálculo similar. Si la mortalidad del control es $\geq 20\%$, la prueba debe ser desechada. Cuando sea $< 20\%$, se deberá corregir la mortalidad observada en los expuestos aplicando la fórmula de Abbott como sigue:

$$\text{Mortalidad corregida} = \frac{(\% \text{ mortalidad observada} - \% \text{ mortalidad control})}{(100 - \% \text{ mortalidad control})} \times 100$$

Cuando la mortalidad del control sea inferior al 5% (es decir, un mosquito muerto por cada 25), no se precisará corrección alguna de los resultados de la prueba, que sí deberá efectuarse cuando la mortalidad sea $\geq 5\%$.

Al presentar los recuentos de mortalidad siempre hay que indicar el tamaño de la muestra y también, de ser posible, ofrecer una estimación de los intervalos de confianza al 95%.

13.6.5. Composición del kit de prueba de la OMS

A continuación, se detalla la composición del kit de prueba de la OMS, aunque también cabe encargar por separado tubos y clips metálicos adicionales:

- Doce tubos de plástico (125 mm de longitud y 44 mm de diámetro), cada uno de ellos con una malla en un extremo de tamiz 16: cuatro tubos marcados con un punto **rojo** que servirán de tubos de exposición (esto es, para exponer a los mosquitos al papel impregnado de insecticida);
 - dos tubos marcados con un punto **amarillo** que servirán de tubos de control sin insecticida (esto es, para exponer a los mosquitos al papel de control, tratado solo con aceite);

- seis tubos marcados con un punto **verde** que servirán de tubos de mantenimiento en los que mantener a los mosquitos antes de la exposición y después de ella; y
 - seis unidades corredizas, cada una de ellas con tapón de rosca en ambos lados y un orificio de llenado de 15 mm de diámetro.
-
- Cuarenta hojas de papel blanco limpio (12 × 15 cm) con las que forrar los tubos de mantenimiento.
 - Doce clips metálicos (seis de acero y seis de cobre) para mantener el papel fijado a la pared de los tubos: los seis clips de acero se utilizan con los seis tubos de mantenimiento (punto verde), y los seis clips de cobre con los cuatro tubos de exposición (punto rojo) y los dos tubos de control (punto amarillo).
 - Dos tubos aspiradores de vidrio de 12 mm de diámetro interno, junto con una manguera de goma de 60 cm de longitud y dos boquillas.
 - Un rollo de cinta adhesiva.
 - Una hoja de instrucciones.
 - Un formulario de reporte.
 - Una hoja de papel logarítmico.
 - Una etiqueta.

13.6.6. Interpretación de resultados

Para efectos de las pruebas, en la definición de *derribado* (*knocked-down*) y *muerto* se tiene en cuenta no solo el estado del insecto, sino también el momento en el que se efectúa la observación. Se considera que un mosquito está “muerto” o “derribado” cuando está inmóvil o es incapaz de tenerse en pie o alzar el vuelo. La diferencia entre *derribado* y *muerto* depende solamente del momento de la observación: se determina si un individuo está *derribado* dentro de la hora siguiente a la exposición, mientras que la mortalidad se determina como mínimo 24 horas después de la exposición. Cabe golpear varias veces el tubo de mantenimiento antes de proceder a la observación final. En el

caso de insecticidas de acción lenta, el periodo de recuperación (espera) puede ser superior a 24 horas. Hay que respetar el mismo periodo de recuperación para medir la mortalidad registrada en los controles. Es preciso anotar la mortalidad al cabo de 24 horas y, en algunos casos, quizá convenga efectuar observaciones repetidas. A continuación, se resumen los criterios de clasificación de los mosquitos adultos en vivos, derribados o muertos que se aplican en una prueba.

VIVOS	DERRIBADOS O MUERTOS TRAS LA EXPOSICIÓN	
	DERRIBADOS	MUERTOS
Pueden tenerse en pie y volar de forma coordinada	<ul style="list-style-type: none"> • No pueden tenerse en pie (p.ej. solo tienen una o dos patas) • No pueden volar de forma coordinada • Yacen sobre el dorso, moviendo patas y alas pero sin poder alzar el vuelo • Pueden tenerse en pie y alzar el vuelo brevemente, pero caen rápidamente 	<ul style="list-style-type: none"> • No dan señales de vida • Están inmóviles • No se tienen en pie

**13.7. FORMULARIO PARA REGISTRAR LOS RESULTADOS DE LA
ACTIVIDAD LARVICIDA**

Nombre investigador (a): _____ Fecha: _____

Nombre de la planta: _____

Concentración del extracto: _____

Registro del número de larvas muertas.

		NÚMERO DE LARVAS MUERTAS		
	Unidad de Muestreo (12 larvas)	Muestra (12 larvas)	Control positivo (12 larvas)	Control negativo (12 larvas)
REPETICIÓN 1	#1			
	#2			
	#3			
Promedio de larvas muertas				
REPETICIÓN 2	#1			
	#2			
	#3			
Promedio de larvas muertas				
REPETICIÓN 3	#1			
	#2			
	#3			
Promedio de larvas muertas				

OBSERVACIONES:

**13.8. FORMULARIO PARA REGISTRAR LOS RESULTADOS DE LA
ACTIVIDAD INSECTICIDA**

Nombre investigador (a): _____ Fecha: _____

Nombre de la planta: _____

Concentración del extracto: _____

	Replica 1	Replica 2	Replica 3	Replica 4	Control 1	Control 2
No. expuestos						

Número de mosquitos derribados tras 60 minutos en tubos de mantenimiento.

	Replica 1		Replica 2		Replica 3		Replica 4		Control 1		Control 2	
	Hora	No.										
Inicio												
60 min												

Número de mosquitos muertos/vivos* al final del periodo de espera (24 horas).

	Replica 1	Replica 2	Replica 3	Replica 4	Control 1	Control 2
No. Muertos						
No. Vivos						

OBSERVACIONES:

13.9. CERTIFICADO DE QUASSIA AMARA



DROGUERÍA Y LABORATORIO QUINFICA S.A.
 DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD
 13 calle 1-65 zona 2 El zapote Guatemala Ciudad.
 Tel: 2308-4444
 Calidad@quinfica.com

INFORME DE RESULTADOS DE ANÁLISIS

I DATOS GENERALES		DICTAMEN: APROBADO	
No. DE ANÁLISIS:	1258/2018	CÓDIGO:	1041
	171204		QUASSIA
NOMBRE CIENTIFICO	<i>Quassia amara</i>		PAIZ DE ORIGEN: GUATEMALA
FORMA FARMACÉUTICA	POLVO		FECHA DE VENCIMIENTO: 12/2020

II CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS

PARÁMETRO	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS
APARIENCIA	Polvo fino homogéneo	Polvo fino homogéneo
COLOR	Beige a café claro	Café claro
OLOR	Característico	Característico

III ANÁLISIS FISCOQUÍMICO

PARÁMETRO	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS
PORCENTAJE DE HUMEDAD	< 10%	4.12 %

IV ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

PARÁMETRO	ESPECIFICACIONES	RESULTADO	MÉTODO
Recuento aeróbico total	5.0×10^3 UFC/g	< 100 UFC/g	Ph Eur 7
Recuento de mohos y levaduras	5.0×10^4 UFC/g	< 100 UFC/g	Ph Eur 7
Recuento de bacterias Gram-negativo tolerantes a la bilis	5.0×10^4 UFC/g	< 100 UFC/g	Ph Eur 7
<i>Escherichia coli</i>	Ausente (1g)	Ausente (1g)	Ph Eur 7
<i>Salmonella sp.</i>	Ausente (25g)	Ausente (25g)	Ph Eur 7
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausente	Ausente	Ph Eur 7

Este informe pertenece única y exclusivamente a la muestra descrita, tal y como fue recibida por el laboratorio.

CONCLUSIÓN.

La muestra recibida y analizada en el laboratorio, satisface los límites recomendados.

Nomenclatura utilizada:

UFC/g Unidades Formadoras de Colonias por gramo.

N.A. no aplica

N.R. no reportado


 Mao Duarte
 Vo.Bo. Control de calidad
 DROGUERÍA Y LABORATORIO QUINFICA S.A.
 DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD
 13 calle 1-65 zona 2 El zapote Guatemala Ciudad.
 Tel: 2308-4444 • Fax: 2308-7431

13.10. CETIFICADO DE *EQUISETUM ARVENSE*

DROGUERÍA Y LABORATORIO QUINFICA S.A.
DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD
13 calle 1-65 zona 2 El zapote Guatemala Ciudad.
Tel: 2308-4444
Calidad@quinfica.com

INFORME DE RESULTADOS DE ANÁLISIS

I DATOS GENERALES		DICTAMEN: APROBADO	
No. DE ANÁLISIS:	189N/2018	CÓDIGO:	8070
	171204	COLA DE CABALLO	
NOMBRE CIENTIFICO	<i>Equisetum arvense</i>		No. DE LOTE : Ea 16218-189
FORMA FARMACÉUTICA	ENTERO		PARTE UTILIZADA: TALLO
			PAIZ DE ORIGEN: GUATEMALA
			FECHA DE VENCIMIENTO 6/2020
II CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS			
PARÁMETRO	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS	
APARIENCIA	Droga vegetal fragmentada, compuesta por tallo rollizos, huecos y cabezuelas con esporas	Droga vegetal fragmentada, compuesta por tallo rollizos, huecos y cabezuelas con esporas	
COLOR	Café verdoso	Café verdoso	
OLOR	Característico	Característico	
III ANÁLISIS FISCOQUÍMICO			
PARÁMETRO	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS	
PORCENTAJE DE HUMEDAD	< 10%	5.3 %	
IV ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO			
PARÁMETRO	ESPECIFICACIONES	RESULTADO	MÉTODO
Recuento aeróbico total	5.0×10^5 UFC/g	< 100 UFC/g	Ph Eur 7
Recuento de mohos y levaduras	5.0×10^4 UFC/g	< 100 UFC/g	Ph Eur 7
Recuento de bacterias Gram-negativo tolerantes a la bilis	5.0×10^4 UFC/g	< 100 UFC/g	Ph Eur 7
<i>Escherichia coli</i>	Ausente (1g)	Ausente (1g)	Ph Eur 7
<i>Salmonella sp.</i>	Ausente (25g)	Ausente (25g)	Ph Eur 7
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausente	Ausente	Ph Eur 7

Este informe pertenece única y exclusivamente a la muestra descrita, tal y como fue recibida por el laboratorio.

CONCLUSIÓN.

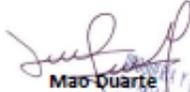
La muestra recibida y analizada en el laboratorio, satisface los límites recomendados.

Nomenclatura utilizada:

UFC/g Unidades Formadoras de Colonias por gramo.

N.A. no aplica

N.R. no reportado


 Mao Duarte
 Vo.Bo. Control de calidad
 DROGUERÍA Y LABORATORIO QUINFICA S.A.
 DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD
 13 calle 1-65 zona 2 El zapote Guatemala Ciudad.
 Tel: 2308-4444 - Fax: 2308-1101

13.11. CERTIFICADO DE ACEITE DE CITRONELA



DROGUERÍA Y LABORATORIO QUINFICA S.A.
 DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD
 13 calle 1-65 zona 2 El zapote Guatemala Ciudad.
 Tel: 2308-4444
 Calidad@quinfica.com

CERTIFICADO DE CALIDAD

Producto:

ACEITE ESENCIAL DE CITRONELA

Fecha de Análisis

Abril, 2018

No. de Muestra:

N.A.

No. de Lote:

IAB180446

Fecha de Produccion:

Abril, 2018

Fecha de Expiracion:

Abril, 2020

RESULTADOS DE ANALISIS

Temperatura:

25.2°

ENSAYO	METODO*	RESULTADO	ESPECIFICACIONES**
Apariencia y olor	Visual	CUMPLE	Líquido que se caracteriza por un color amarillo claro, baja viscosidad y aroma pronunciadamente aldehídico
Gravedad específica	MA-01 Section 1.1	0.885	0.883 - 0.900
Rotación óptica	MA-01 Section 1.2	-3.6	-0.30° a -6.0°
Índice de refracción	MA-01 Section 1.3	1.4668	1.4660 -1.4745
Solubilidad en etanol	MA-01 Section 1.4	1.2 vols. Soluble	Soluble entre 1 y 2 volúmenes etanol al 80%.
COMPOSICION			
Limoneno	Cromatografía de Gases	4.18%	2% a 5%
Citronellal		35.65%	31% a 40%
Linalol		1.19%	0.5% a 1.5%
Acetato Citronelilo		3.40%	2% a 4%
Geranial		0.80%	0.3% a 1%
Acetato de Geranilo		4.20%	1% a 5.5%
Citronellol		12.30%	8.5% a 14.0%
Geraniol		21.66%	20.0% a 25.0%

13.12. FOTOGRAFÍAS DE LA PARTE EXPERIMENTAL

Imagen 1. Determinación de sólidos totales de *Q. amara* y *E. arvense* por medio de la Prueba del Mejor Solvente.



Imagen 2. Obtención del extracto seco por Rotavapor.



Imagen 3. Metabolitos obtenidos de los extractos de *Q. amara* y *E. arvense*.

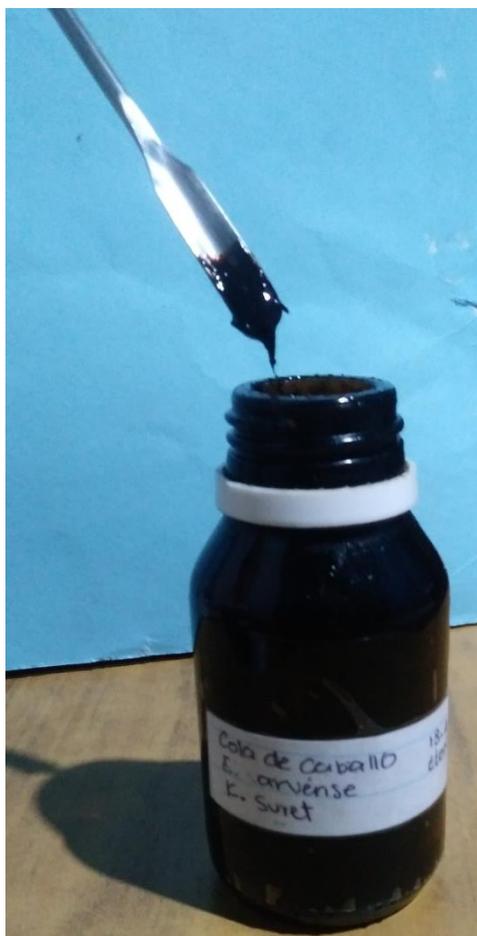
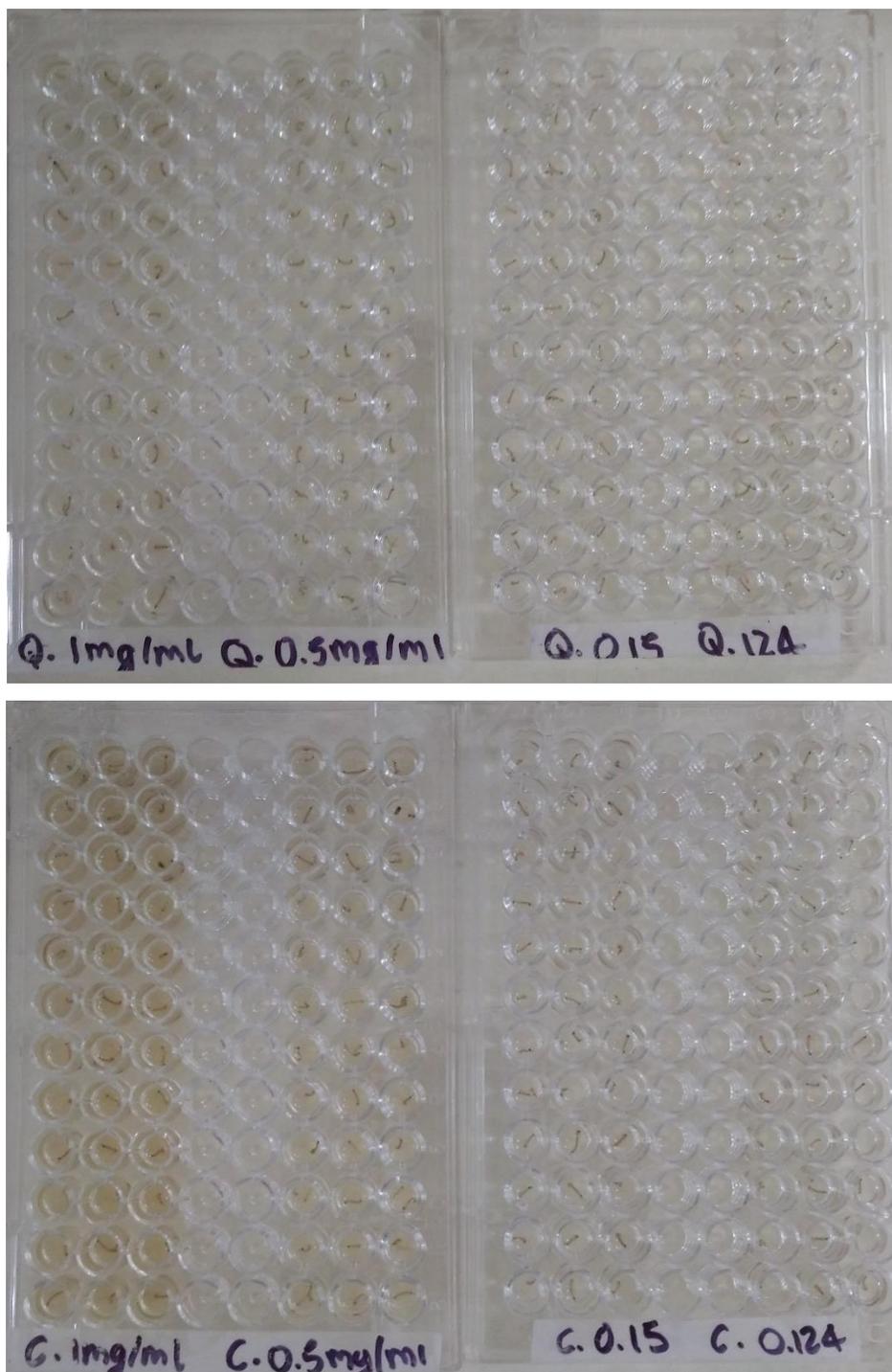
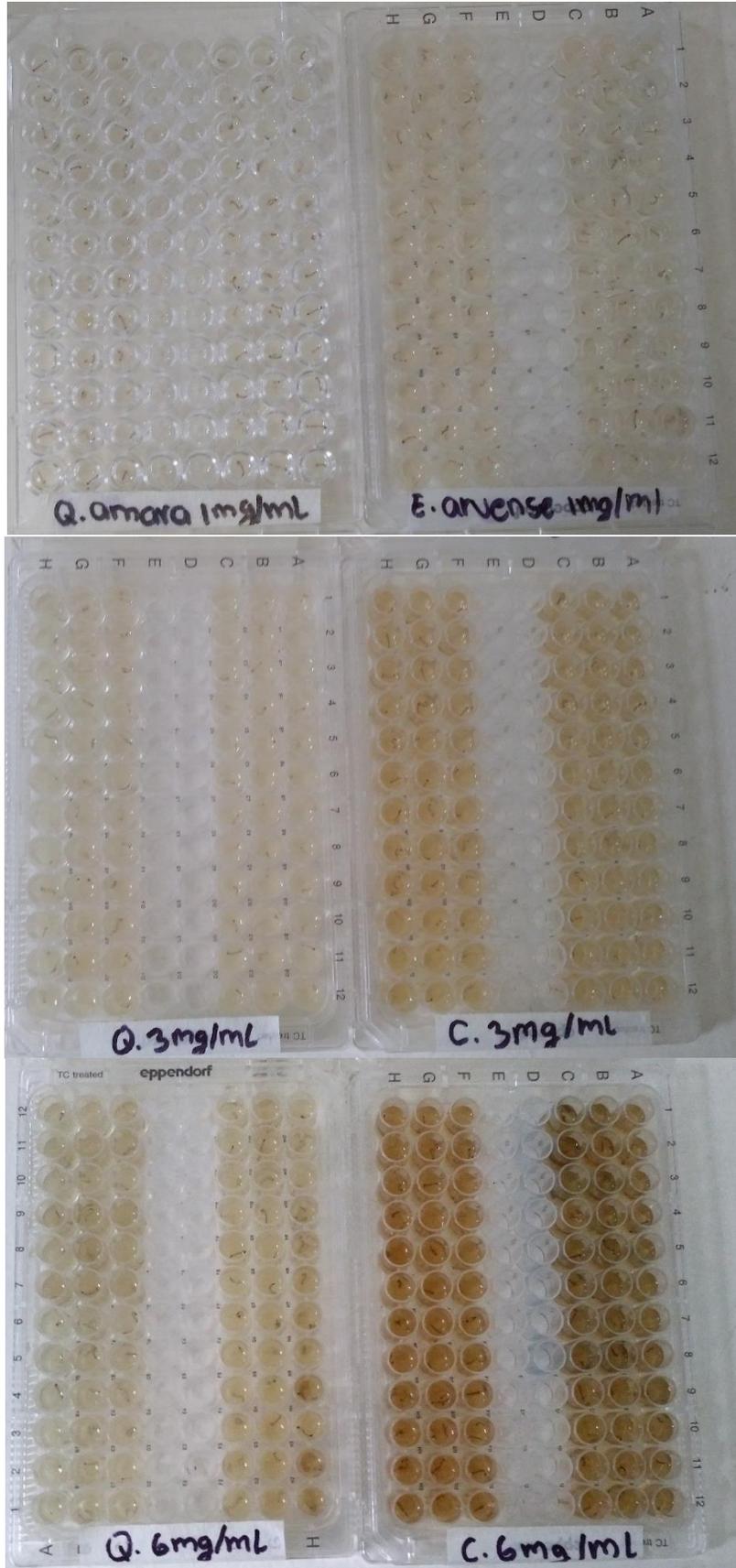
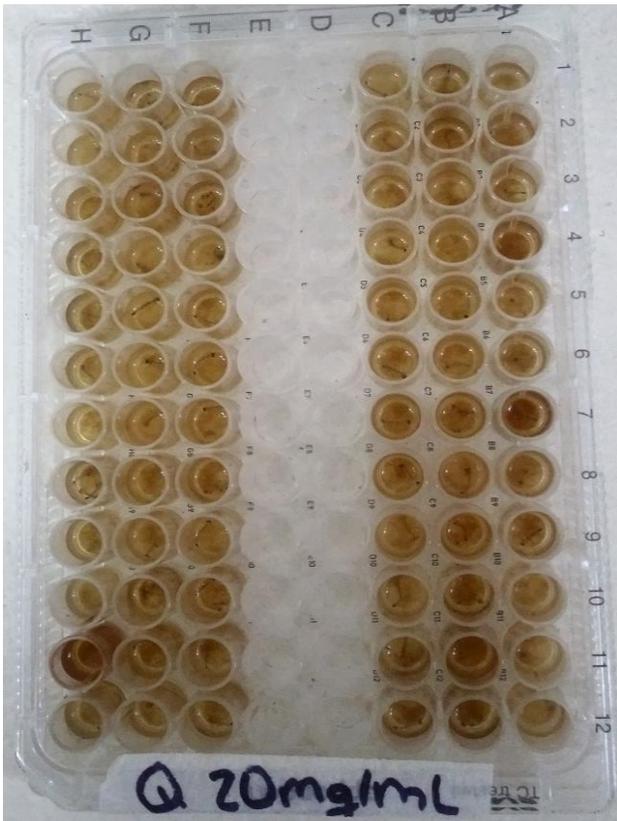
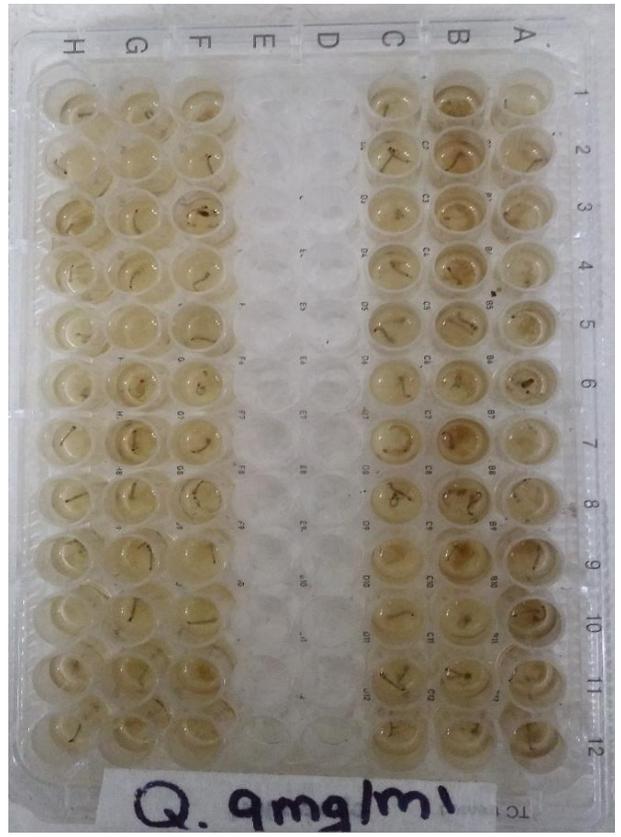


Imagen 4. Determinación de la actividad Larvicida.









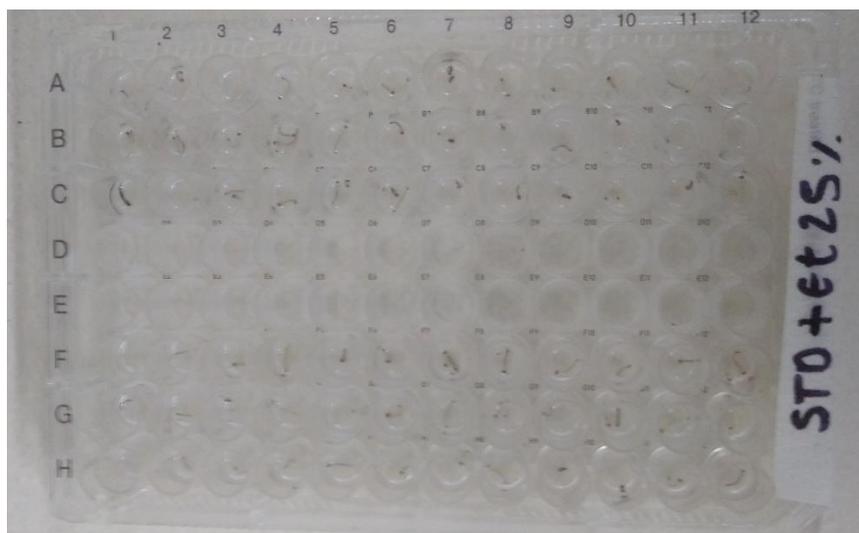
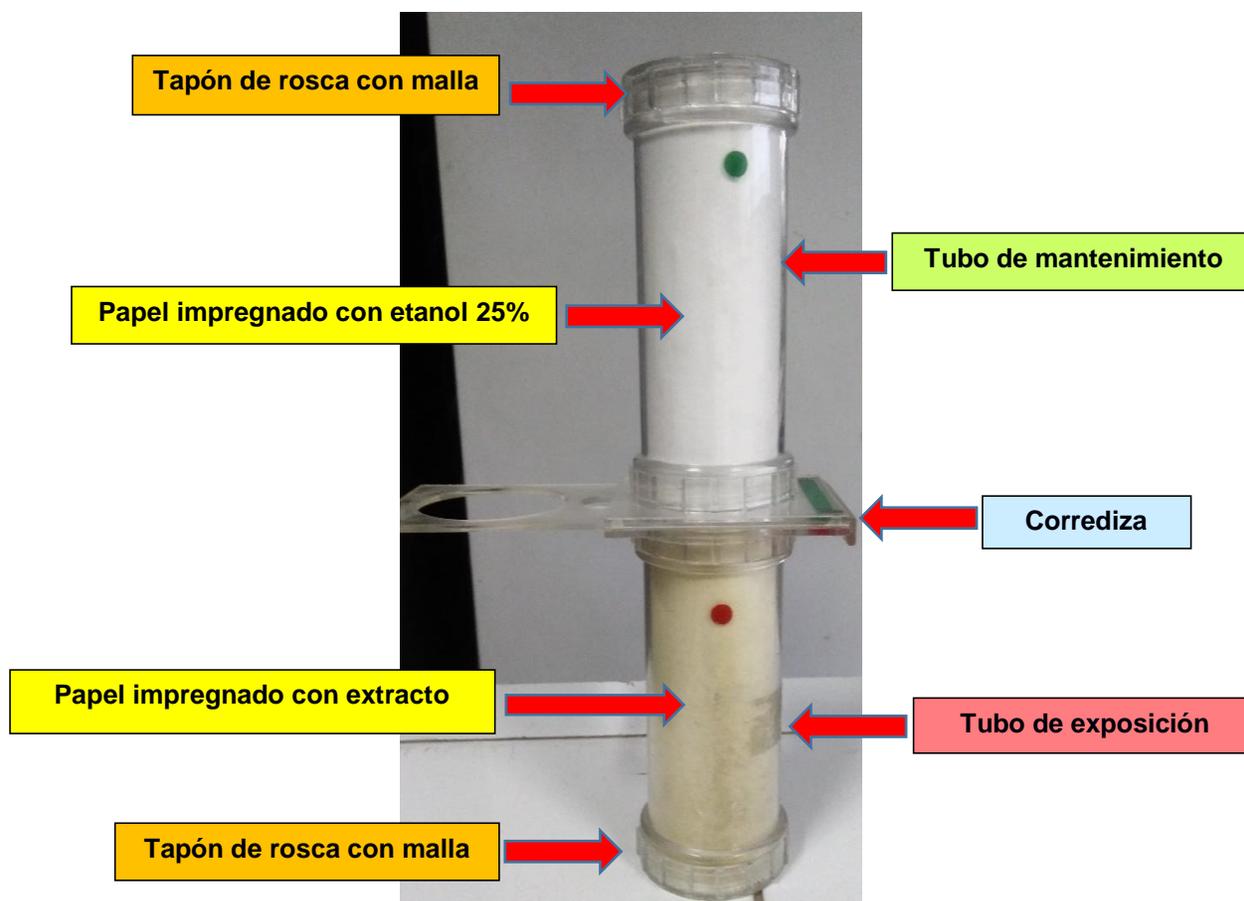


Imagen 5. Mosquitos adultos hembras de *A. aegypti* obtenidas de la Unidad de Vectores de MSPAS.



Imagen 6. Determinación de la actividad adulticida de los extractos de *Q. amara* y *E. arvense* contra *A. aegypti*.





**Quassia
amara**



**Equisetum
arvense**



INSECTOS DENTRO DE TUBOS DE EXPOSICIÓN

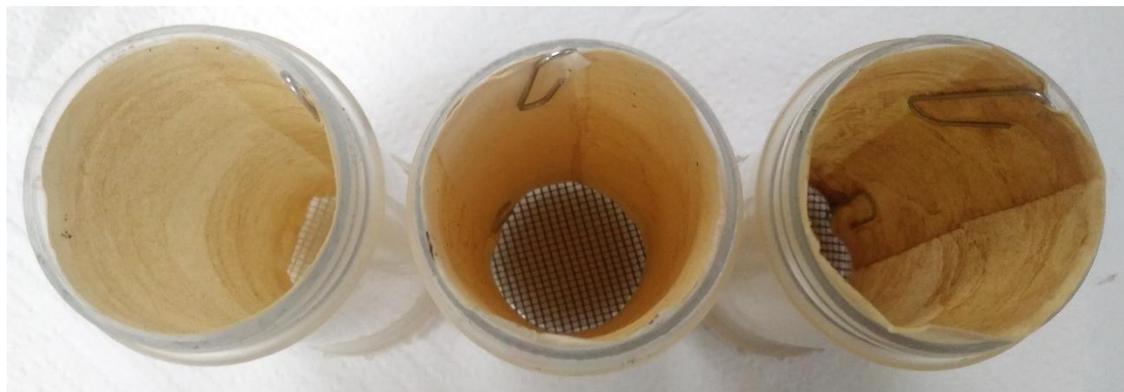


CONTEO DE MOSQUITOS MUERTOS

50mg/mL

75mg/mL

100mg/mL



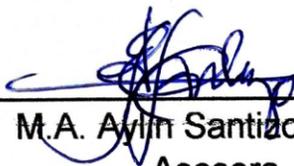
Papeles impregnados con extracto de *Q. amara*



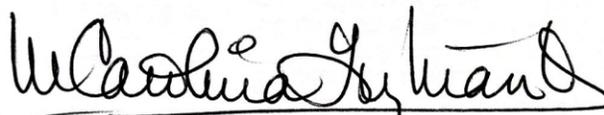
Papeles impregnados con extracto de *E. arvense*



Br. Kimberly Damaris Suret Soyos
Tesisista



M.A. Arlin Santizo Juárez
Asesora



M.Sc. Carolina Guzmán Quilo
Revisora



M.A. Lucrecia Martínez de Haase
Directora de Escuela



M.A. Pablo Ernesto Oliva Soto
Decano