(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 574 562**

(51) Int. CI.:

***A01N 65/44*** (2009.01)
***A01N 31/06*** (2006.01)
***A01N 25/18*** (2006.01)
***A01N 35/04*** (2006.01)
***A01P 17/00*** (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.01.2007 E 07710142 (6)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.04.2016 EP 1978803**

(54) Título: **Composición de repelente de insectos**

(30) Prioridad:

**16.01.2006 US 766388 P**

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
**20.06.2016**

(73) Titular/es:

**DARLING, SAMUEL T. (100.0%)**
**415 WILKIE WAY**
**SALT SPRING ISLAND BC V8K2J4, CA**

(72) Inventor/es:

**DARLING, SAMUEL T.**

(74) Agente/Representante:

**ARIAS SANZ, Juan**

**Observaciones :**

**Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Composición de repelente de insectos

**Campo de la invención**

La presente solicitud se refiere composiciones de repelente de insectos.

**Antecedentes de la invención**

En muchas zonas del mundo, las picaduras de insectos no son sólo una molestia; son un grave peligro para la salud. Lo más notablemente, tales picaduras pueden dar como resultado la transmisión de enfermedades debilitantes y potencialmente mortales tales como malaria, fiebre del dengue, fiebre amarilla o el virus del Nilo occidental. Por tanto, sigue habiendo una necesidad en curso de mejorar los insecticidas disponibles actualmente.

El reciente trabajo de modelado, basado en datos de población y de riesgo de infección por malaria en 2002[1], indica que el 61%, es decir aprox. 656 millones de casos, se producen anualmente en las regiones de las Américas, del sureste de Asia y del Pacífico occidental de la OMS. En 2005, la OMS notificó que el 41% de de los casos clínicos de malaria se producen fuera de África[2], un aumento en comparación con su estimación de 2001 del 13,6%[3]. Esta conciencia creciente de que el problema de la malaria va más allá de África debe fomentar la diversificación de una búsqueda global del control del vector de la malaria, una cuestión de gran importancia, ya que los vectores de mosquito en estas regiones presentan generalmente un comportamiento que les hace menos susceptibles a medidas de control que han mostrado ser eficaces en el África subsahariana, incluyendo mosquiteras tratadas con insecticidas (MTI) y pulverización residual en interiores (PRI).

Estos comportamientos incluyen tendencia a 1) descansar en exteriores, por ejemplo *Anopheles darlingi*[4] y *An. dirus*[5]; 2) alimentarse en exteriores, por ejemplo *An. minimums,*[5] *An. darlingi*[4] y *An. sinensis*[5]; y 3) actividad alimentaria significativa durante las primeras horas de la noche, por ejemplo *An. albimanus,*[6] *An. nunetzovari*[6], *An. farauti* n.º 2[7] y *An. darlingi.*[8] La introducción de MTI en varias zonas también parece haber producido cambios de comportamiento entre vectores de malaria, haciéndose más frecuente la alimentación en exteriores y a primeras horas de la noche en zonas donde se colocan estas herramientas de control [9, 10]. Un estudio de viabilidad para implementar MTI en cuatro países de Latinoamérica mostró que el 25% de *An. albimanus* en Nicaragua, el 28% de *An. punctimacula* en Ecuador, el 57% de *An. albimanus* en Perú y el 30% de *An. nunetzovari,* también en Perú, se alimentaba antes de las 9 p.m., cuando las personas todavía están activas y a menudo todavía en exteriores.[11] Más recientemente, un estudio de casos y controles en Colombia[12] mostró que las MTI proporcionaban sólo una reducción del 50% en la malaria, y los autores atribuyeron esto a las picaduras de mosquito cuando las personas no estaban durmiendo bajo las mosquiteras.

En tales condiciones de transmisión, las MTI pueden complementarse de manera útil mediante repelentes de insectos [13, 14]. Un reciente ensayo aleatorizado interno realizado en Pakistán[15] ha confirmado que la provisión generalizada de repelentes (en este caso, un jabón repelente que incorporaba DEET y permetrina) puede reducir significativamente el riesgo de malaria en >50%. Además, un ensayo clínico realizado en el Amazonas boliviano,[16] con un repelente con un 30% de p-mentano-3,8-diol (PMD) mostró una reducción del 80% en *P. vivax,* entre los que usaban repelente y MTI, en comparación con un grupo sólo con MTI.

Gran parte de la transmisión de malaria y arbovirus en América está relacionada con prácticas de trabajo, y el movimiento de personas no inmunes en zonas endémicas de malaria en busca de trabajo en los bosques (minería, talas, etc.).[17] Los trabajadores jóvenes soportan las mayores penurias por esta enfermedad, que crea graves presiones económicas para toda la familia a través de la pérdida de ingresos,[18] sustitución de mano de obra y costes de tratamiento.[19] Para las familias más pobres en Latinoamérica, estos costes indirectos pueden corresponder a entre el 12 y el 20% de los ingresos internos anuales[19, 20]. Teniendo esto en cuenta, se desarrolló un repelente de bajo coste que contiene componentes naturales que les resultan aromáticamente familiares a los usuarios y que en última instancia pueden tener su origen localmente.

Se sabe que hay sustancias, incluyendo aislados naturales, que pueden proporcionar un efecto de repelencia a insectos. Se sabe que las sustancias repelentes proporcionan este efecto cuando se aplican a una superficie (por ejemplo, piel humana o superficies duras) habitualmente con un vehículo de administración apropiado (por ejemplo aerosol, loción, espray, gel, etc.) y se denominan comúnmente “repelentes de insectos o bichos”.

Los ejemplos de materiales repelentes que confieren un efecto de repelencia incluyen, pero no se limitan a, materiales tales como N,N-dietil-m-toluamida (denominada a continuación en el presente documento DEET), p-mentano-3,8-diol (denominado comúnmente Coolact® 38D, marca comercial registrada de Takasago International Corp.), permetrina, aletrina, butóxido de piperonilo, aceite de hierba limón, aceite de citronela, aceite de eucalipto, alcanfor, aceite de geranio, etil-hexanodiol, butilacetilaminopropionato de etilo e hidroxietil-isobutil-piperidina.

En una formulación de repelente comercial, los agentes repelentes normalmente se añaden como un único principio activo para producir el efecto deseado. Debe observarse que hay al menos dos ejemplos de una combinación de dos materiales repelentes que se usan en una composición. Por ejemplo, la patente estadounidense n.º 5.698.209

da a conocer una composición que contiene un monoterpenodiol seleccionado de carano-3,4-diol y p-mentano-3,8-diol (Coolact® 38D) y un compuesto piretroide seleccionado de fenotrina y permetrina como principios activos. La composición muestra supuestamente una alta repelencia a artrópodos durante un largo periodo de tiempo. Además, la publicación japonesa n.º JP 3-133906 da a conocer una combinación de p-mentano-3,8-diol y N,N-dietil-m-toluamida (DEET). También debe observarse que hay otros ejemplos en la bibliografía de patentes en los que se reivindica que una composición que contiene aceite esencial posee propiedades repelentes (véase por ejemplo, la solicitud publicada estadounidense n.º 2005/0112164 A1).

El principio activo en la mayoría de los repelentes de insectos comerciales es DEET que se ha mostrado que es eficaz contra una amplia variedad de insectos que pican. Sin embargo, el uso de DEET tiene varios inconvenientes incluyendo posibles preocupaciones y riesgos para la salud, especialmente para los niños, puesto que se absorbe a través de la piel humana. Además, muchos consideran que el olor de DEET es “químico” y desagradable y puede escocer cuando se aplica a la piel. Por tanto, se necesita una formulación de repelente inocua para el consumidor.

El documento WO 02/43656 describe una emulsión de agua en aceite repelente de insectos que tienen una fase acuosa interna y una fase oleosa externa. También tiene una cantidad de agente activo repelente de insectos eficaz para repeler insectos cuando la composición se aplica a la piel. El agente activo repelente de insectos está presente sustancialmente en la fase oleosa.

El documento WO 02/43489 describe una composición tópica que comprende (a) un repelente de insectos sustancialmente anhidro seleccionado del grupo que consiste en 3-(N-butilacetilamino)propionato de etilo o un derivado del mismo, p-mentano-3,8-diol, carboxilato de hidroxietil-isobutil-piperidina (ácido 1-piperidincarboxílico), y mezclas de los mismos, y (b) un disolvente no volátil.

Ansari *et al* (1995. Indian Journal of Malariology. V. 32:3, págs. 104-111) revisan la eficacia relativa de diversos aceites en repeler mosquitos.

Oyedele *et al* (202. Phyomedicine. Vo 9:3, págs. 259-262) describen una formulación de un producto tópico repelente de mosquitos eficaz a partir de aceite de hierba limón.

Barnard *et al* (2004. Journal of Medical Entomology. Vol. 41:4, págs. 726-730) evalúan los repelentes de mosquito contra *Aedes albopictus, Culex nigripalpus* y *Ochlerotatus triseriatus.*

Trongtokit *et al* (2005. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health, págs. 1423-1431) describen la eficacia de productos repelentes contra mosquitos *Anopheles stefensi* en jaulas y libres.

El documento WO 2005/112632 describe una composición de repelente de insectos que contiene 3,8-p-mentano-diol y benzoato de bencilo como compuestos activos.

Tawastin *et al* (2001. Journal of Vector Ecology. Vol. 26, págs. 76-82) investigan la repelencia de aceites volátiles de plantas contra tres vectores de mosquito.

**Breve descripción de los dibujos**

La figura 1 muestra la protección en porcentaje de formulaciones de la presente solicitud, en comparación con una formulación control del 15% de DEET.

La figura 2 muestra la protección en porcentaje de una formulación de la presente solicitud, en comparación con una formulación control del 20% de DEET.

**Sumario de la invención**

La presente solicitud se basa en un descubrimiento sorprendente que palia las limitaciones de producto mencionadas anteriormente. El descubrimiento engloba el uso de dos materiales repelentes, en combinación, en una única formulación para proporcionar un producto con beneficio añadido y eficacia superior que puede estar disponible para individuos en países en vías de desarrollo a un precio asequible. Se ha descubierto que la combinación novedosa de p-mentano-3,8-diol y aceite de hierba limón proporciona un repelente de insectos eficaz con eficacia superior y atributos tanto para los repelentes individuales como para cualquier otro producto comercial. También se ha encontrado que la inclusión de vainillina o un componente similar a vainillina también es útil para repeler insectos. Se ha mostrado que las formulaciones que contienen aceite de hierba limón y p-mentano-3,8-diol repelen eficazmente los mosquitos *Anopheles darlingi* y *Anopheles albimanus* que son vectores de malaria, el mosquito *Aedes aegypti* que es un vector de la fiebre del dengue y de la fiebre amarilla.

**Descripción detallada**

Definiciones

Tal como se usa en el presente documento, el término “insecticida” o “repelente” se refiere cualquier sustancia o mezcla de sustancias usada para matar o controlar o repeler cualquier insecto. En el presente documento, el

insecticida o repelente tal como se define tiene un uso preferido para matar o controlar o repeler insectos que vuelan (por ejemplo mosquitos). Sin embargo, se prevé que la formulación de insecticida descrita también sea eficaz contra ácaros, garrapatas (enfermedad de Lyme) y numerosos otros insectos.

Tal como se usa en el presente documento, la abreviatura “PMD” se refiere a p-mentano-3,8-diol.

Tal como se usa en el presente documento, la abreviatura “aceite de LG” se refiere a aceite de hierba limón.

Tal como se usa en el presente documento, el término “agente de fijación” se refiere a compuestos que prolongan la duración de los repelentes ralentizando la evaporación de agentes activos repelentes volátiles (por ejemplo PMD y aceite de hierba limón). Un ejemplo de un agente de fijación preferido es vainillina.

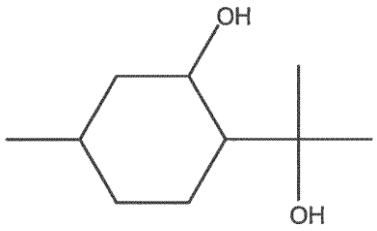
Aceite de hierba limón

El aceite de hierba limón es un destilado de hojas de *Cymbopogon citratus*. Está disponible comercialmente de diversas fuentes, incluyendo de The Essential Oil Company Ltd., Worting House, Church Lane, Basingstoke, Hants., Reino Unido, Berje Inc., Bloomfield, NJ y Polarome, Jersey City, NJ. El aceite de hierba limón puede obtenerse aproximadamente por 12-25 dólares por kilogramo.

El aceite de hierba limón puede ser menos caro que la mayoría de los principios activos usados en repelentes de insectos. Sorprendentemente, el aceite de hierba limón, cuando se combina con p-mentano-3,8-diol y/o vainillina, proporciona un repelente de insectos que es tan potente, o más potente que los repelentes de insectos que contienen cantidades mucho más grandes de agentes activos más caros. Por consiguiente, la inclusión de aceite de hierba limón en repelentes de insectos de la presente solicitud proporciona un repelente de insectos con eficacia aumentada que es asequible para individuos que viven en zonas propensas a insectos, incluyendo países en vías de desarrollo de América Central y del Sur.

p-metano-3,8-diol

El p-mentano-3,8-diol (PMD) tiene la siguiente estructura:



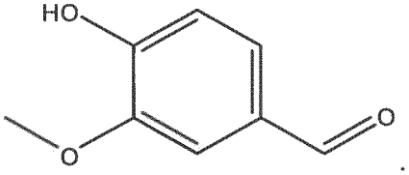

El PMD está disponible comercialmente (como una mezcla de (+)-cis y (-)-trans p-mentano-3,8-diol) con la marca comercial Coolact® 38D de Takasago Int’l Corporation (EE.UU.), Rockleigh, NJ.

El p-mentano-3,8-diol también puede derivarse mediante modificación con ácido del aceite de *Corymbia citriodora* (el eucalipto limón), que se cultiva comercialmente (por ejemplo, se cultiva comercialmente en Brasil y otros países latinoamericanos). El citriodiol, que es un producto del extracto de las hojas de *Corymbia citriodora,* contiene aproximadamente un 60% de p-mentano-3,8-diol. Véase Annals of Tropical Medicine & Parasitology (Ann. trop. med. parasitol.) 2005, vol. 99, nº 7, págs. 695-715.

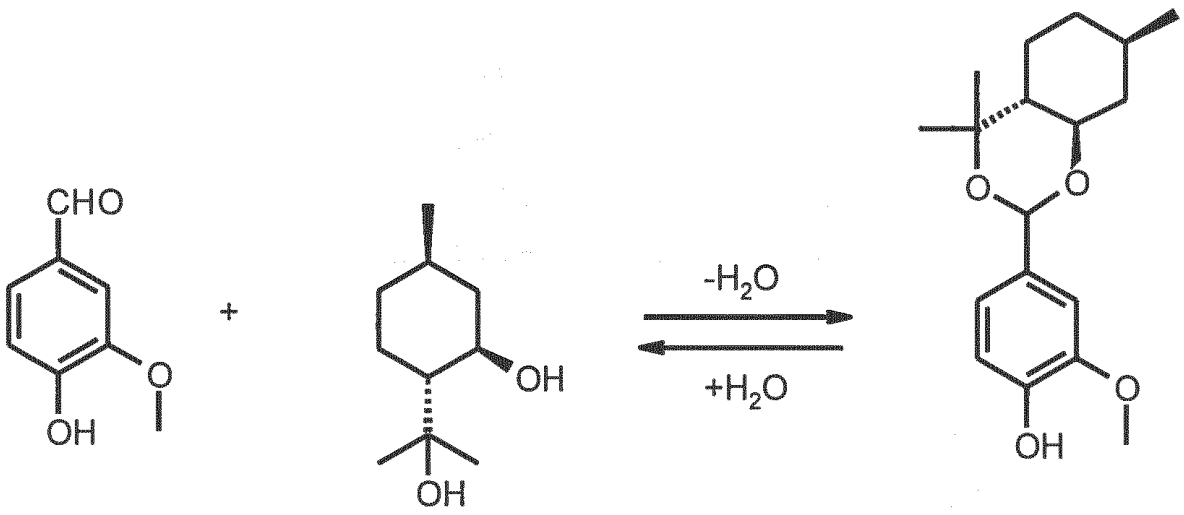
Coolact® 38D es una fuente preferida de p-mentano-3,8-diol puesto que es una forma más pura, en comparación con PMD derivado de *Corymbia citriodora.*

Vainillina y compuestos relacionados

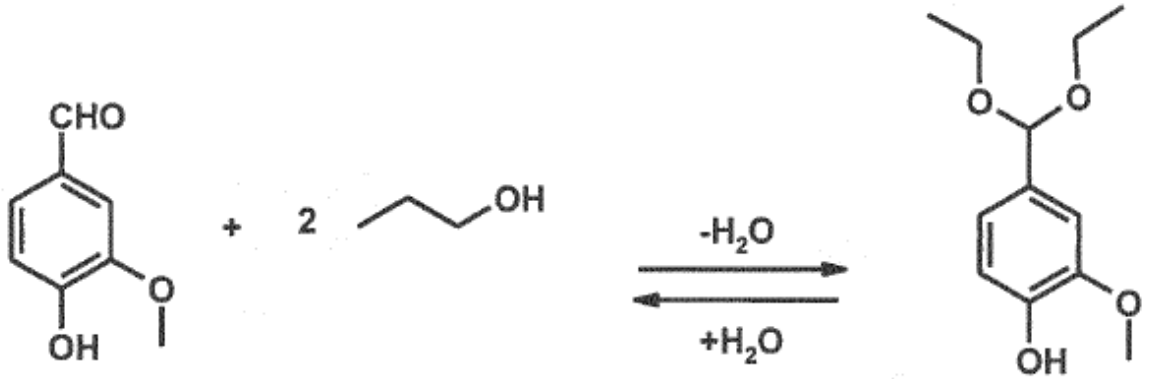
Las composiciones de repelente de insectos de la presente solicitud también contienen vainillina, que está disponible comercialmente de Rhodia Inc. (Cranbury, NJ) y tiene la siguiente estructura:



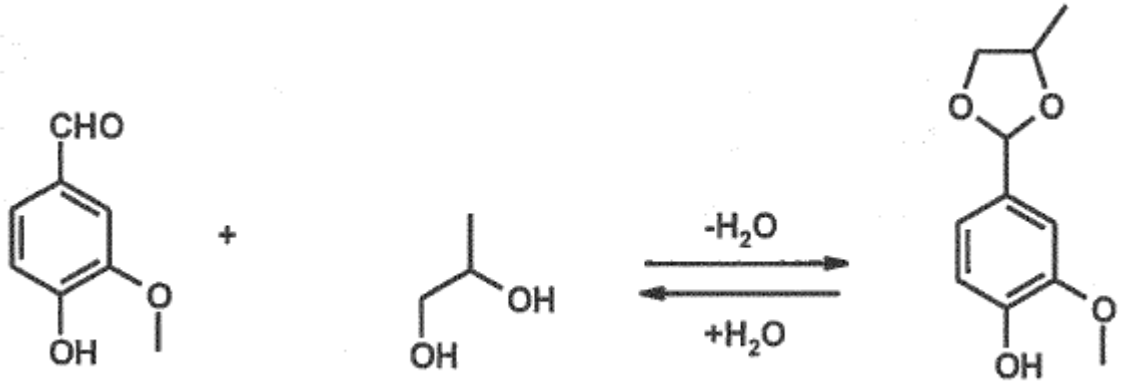

Aunque sin vincularse a ninguna teoría particular, se cree que la vainillina reacciona con aceite de hierba limón, PMD, alquilenglicoles o etanol encontrados en el repelente de insectos para formar compuestos de acetal para aumentar la eficacia del repelente de insectos. A lo largo del tiemplo, se cree que los acetales se hidrolizan dando de nuevo el material de partida, (por ejemplo PMD). A continuación se muestran esquemas de reacción a modo de ejemplo:




vainillina p-mentano-3-8-diol vainillina PMD acetal




vainillina etanol vainillina dietil acetal




vainillina 1,2-propilenglicol vainillina propilenglicol acetal

* anteriormente se muestra la configuración trans de p-mentano-3,8-diol. Generalmente, el p-mentano-3,8-diol puede estar presente tanto en forma cis como trans.

Componentes adicionales

Pueden añadirse componentes adicionales a los repelentes de insectos de la presente solicitud, tales como fragancias, disolventes, diluyentes y agentes de fijación. Los ejemplos no limitativos de tales materiales se dan a conocer en la patente estadounidense n.º 6.660.288, e incluyen: aldehído C11 (aldehído undecilénico); aldehído iso

C11 (GIV); aceite de pimienta de Jamaica; propionato de alilciclohexilo; salicilato de amilo; aldehído amilcinámico; anetol; alcohol anísico; aldehído anísico; aplinal (Q); aceite de laurel; acetato de bencilo; benzoato de bencilo; cinamato de bencilo; propionato de bencilo; salicilato de bencilo; bourgeonal (Q); Brahmanol; polvo de alcanfor sintético; madera de cedro de Virginia; cedrenol; acetato de cedrilo; celestolida (IFF); cineol; alcohol cinámico; aldehído cinámico; aceite de hoja de canela: acetato de cinamilo; cis-3-hexenol; citral; aceite de citronela; citronelal; citronelol; acetato de citronelilo; oxiacetaldehído de citronelilo; aceite de clavo; aceite de cilantro; cumarina; aldehído cumínico; aldehído ciclamen; decanal; 9-decenol; dibencil éter; ftalato de dibutilo; ftalato de dietilo; dihidromircenol; antranilato de dimetilo; ftalato de dimetilo; dimicretol (IFF); difenilmetano; óxido de difenilo; acetato de dimetilbencilcarbinilo; dodecanol; dodecanal; aceite de elemí; glicidato de etilmetilfenilo; cinamato de etilo; safranato de etilo (Q); vainillina de etilo; eugenol; aceites de árboles de hoja perenne (aceites de pino, etc.); gamma-nonalactona; gamma-undecalactona; geraniol; geranio bourbon; acetato de geranilo; formiato de geranilo; goma de benzoína; heliotropina; Hercolyn D (HER); benzoato de hexilo; aldehído hexilcinámico; aldehído hidratrópico dimetil acetal; hidroxicitronelal; hidroxicitronelal dimetil acetal; indol; acetato de isobomilo; miristato de isopropilo; isociclocitral (GIV, IFF); jasmacicleno; aceite de jazmín; *Lavandin abrialis*; aceite de lavanda; lilial (GIV); linalol; acetato de linalilo; levomentol; antranilato de metilo; metil cedril cetona; dihidrojasmonato de metilo; metilionona; miristato de metilo; metil naftil cetona; salicilato de metilo; musgo arbóreo; almizcle cetona; nerol; nerolina bromelia; acetato de nerilo; nonanal; absoluto de musgo de roble; resinoide de octanol olíbano; fenilacetato de para-cresilo; para-metoxiacetofenona; aceite de pachuli; aceite de menta piperita; aceite de petitgrain; 2-fenoxietanol; isobutirato de fenoxietilo; acetato de feniletilo; alcohol feniletílico; butirato de feniletilo; fenilacetato de feniletilo; aceite de pimiento; alfa-pineno; acetato de para-terc-butil-ciclohexilo; resinoide de benzoína de Siam; aceite de rosa; aceite de romero; aceite de sándalo; terpineol; tetrahidrolinalol; tetrahidromuguol (IFF); tomillo rojo; undecanal; vainillina; aceite de verbena; vetiver bourbon; yara yara e ylang-ylang, mucopolisacáridos ácidos y sus sales, *Aesculus hipocastanum*, *Aloe barbadenisis Mil* (*Aloe Vera Linne*), ácidos alfa-hidroxicarboxílicos, ácidos alfa-cetocarboxílicos, derivados de amida, aminoácidos, derivados anfifílicos de ciclodextrina, beta-sitosterol, sales solubles en agua de polímero de carboxivinilo, carboximetilcelulosa, carragenano, quitina, quitosano, colesterol, éster de ácido graso de colesterol, colágeno, ésteres monoestearílicos de ácido dicarboxílico, ésteres de glicerol de diácidos grasos, digalactosildiglicérido, ersterol, etanol, extracto de *Swertia japonica Makino*, ácidos grasos, ésteres de citrato de ácidos grasos, alcoholes grasos, extracto de ginseng, ésteres de glucosa de ácidos grasos superiores, goma guar, goma arábiga, *Hamamelidaceae* (*Hamamelis virginiana,* avellano de bruja), ácido hialurónico, hidroquiloesterol, ácidos hidroxibenzoicos, isomaltosa, alcohol isopropílico, lactosa, lanosterol, lípidos extraídos de la biomasa de microorganismos, levaduras, mohos y bacterias, liposomas, goma garrofín, mucopolisacáridos ácidos de bajo peso molecular y sus sales, componentes humectantes de bajo peso molecular, maltosa, aceites minerales, polvos minerales, ácido mono cis alquenoico, mucopolisacáridos, micosterol, N-acil-lisinas, N-isoestearil-lisina, N-lauroil-lisina, N-miristil-lisina, N-palmitoil-lisina, N-estearoil-lisina, bentonita de tipo sodio, aminoácido natural o sintético con enlaces proteicos o peptídicos, componentes de NMF, siliconas no volátiles, agentes oleosos, materia oleosa, oligosacáridos, ácidos orgánicos, ácido pantoténico y sus derivados, gelatina de petróleo, fosfatidiletanolamina, fosfatidilcolina, fosfolípidos, polisacáridos, poli(alcohol vinílico), polipéptidos, proteínas, rafinosa, saponinas, hialuronato de sodio, fuentes de ácido linoleico, esteroles, ésteres de esterol, estigmasterol, sacarosa, ésteres de azúcares de ácidos grasos superiores, sulfátido, protectores solares, tensioactivos, talco, timosterol, tocoferol, mono, di o triglicéridos, vitaminas y análogos, vitamina E y/o sus compuestos de éster, fluidos de silicona volátiles, agentes de retención de humedad solubles en agua, polímeros solubles en agua y ceras.

Composiciones de repelente de insectos

El nivel de uso de la composición de repelente, es decir la cantidad de la composición que contiene aceite de hierba limón y p-mentano-3,8-diol y, cuando está presente en la composición de repelente de insectos, vainillina, puede variar desde aproximadamente el 1,0% en peso hasta aproximadamente el 100,0% en peso del producto terminado, dependiendo del producto específico y de la aplicación. En una realización preferida, el nivel de uso de la composición de repelente oscila entre aproximadamente el 5% y aproximadamente el 50%, más preferiblemente entre aproximadamente el 10% y aproximadamente el 35%. En una realización, el nivel de uso de la composición de repelente es de aproximadamente el 20-30%.

La razón en peso de p-mentano-3,8-diol (por ejemplo Coolact® 38D) con respecto a aceite de hierba limón (PMD:aceite de LG) en la combinación de repelente varía desde 10:1 hasta 2:1.

La razón en peso de vainillina (o un compuesto de tipo vainillina relacionado) con respecto a aceite de hierba limón (vainillina:aceite de LG) oscila entre aproximadamente 3:1 y aproximadamente 0,25:1, más preferiblemente entre aproximadamente 2:1 y 0,5:1 (por ejemplo 1:1). En una realización preferida, la vainillina está presente en la composición de repelente de insectos en la cantidad de aproximadamente el 5 al 10% en peso.

En una realización, el porcentaje en peso de p-mentano-3,8-diol es de menos de aproximadamente el 30% en peso, basado en el peso total de la composición de repelente de insectos. En otras realizaciones, el porcentaje en peso de p-mentano-3,8-diol es de menos de aproximadamente el 25% en peso, o el 24% en peso, o el 23% en peso, o el 22% en peso o el 21% en peso, o el 20% en peso, o el 19% en peso, o el 18% en peso, o el 17% en peso, o el 16% en peso, o el 15% en peso o el 14% en peso, o el 13% en peso, o el 12% en peso, o el 11% en peso, o el 10% en peso, basado en el peso total de la composición de repelente de insectos.

**Ejemplos**

Los siguientes ejemplos ilustran la invención sin limitación.

Ejemplo 1 – Formulación bifásica

Loción de repelente de insectos

| COMPONENTES | PORCENTAJE (% en peso) |
|---|---|
| Aceite mineral | 39,0% |
| Etanol | 26,0% |
| p-Mentano-3,8-diol | 16,0% |
| Dipropilenglicol | 8,5% |
| Aceite de hierba limón | 5,0% |
| Vainillina | 5,5% |

El nivel de uso de la combinación de repelente en la formulación de loción para el siguiente ejemplo fue del 26,5% en peso.

Se añadió vainillina a la última la formulación. Antes de añadir la vainillina, se aplica calor al PMD de modo que tiene una viscosidad adecuada para su introducción a la mezcla. La composición resultante tiene un tacto no graso y tiene la viscosidad de un aceite ligero.

Un volumen adecuado de la formulación anterior que va a aplicarse a la piel del usuario es de aproximadamente 2 ml por 1000 $cm^2$ de piel. La formulación debe ser una formulación bifásica transparente y entonces puede llenarse en envases de plástico adecuados (se prefiere de PET) y ha de agitarse vigorosamente antes de aplicarse a un usuario.

Ejemplo 2 – Formulación monofásica

Se combinaron los siguientes componentes tal como se describe a continuación:

| Componente | Proveedor | Porcentaje (% en peso) |
|---|---|---|
| Aceite mineral | ISP | 30,00 |
| Hidrocarburo isoparafínico | ExxonMobil[A] | 8,00 |
| p-Mentano-3,8-diol | Takasago | 16,00 |
| Acetato de isononilo | IFF | 35,50 |
| Aceite de hierba limón | Berje Guatamala | 5,00 |
| Vainillina | Rhodia | 5,50 |

[A] Disponible con la marca comercial Isopar L

Procedimiento

1. En un recipiente adecuado, mezclar el aceite mineral, Isopar L y el p-mentano-3,8-diol. Puede ser necesario calentar ligeramente el PMD (aproximadamente 100ºF) de modo que sea líquido. Esta disolución debe ser transparente.

2. En un recipiente separado, mezclar el acetato de isononilo, el aceite de hierba limón y la vainillina hasta que la vainillina se disuelva completamente y la disolución sea transparente. Un calor muy leve acelerará esto (100ºF).

3. Con agitación, añadir la parte 2 a la parte 1 y mezclar hasta que sea uniforme.

La formulación debe ser transparente y entonces puede llenarse en envases de plástico adecuados (se prefiere de PET).

Ejemplo 3 – Formulación en gel

Se añadieron los siguientes componentes secuencialmente:

| | |
|---|---|
| 1) AGUA | 42,95% |
| 2) ACEITE MINERAL | 30,00% |
| 3) PMD | 16,0% |
| 4) GOMA XANTANA | 0,55% |
| 5) VAINILLINA | 5,5% |
| 6) ACEITE DE HIERBA LIMÓN | 5,0% |

Se mezcló la mezcla hasta que se formó un gel viscoso. La viscosidad del gel puede ajustarse basándose en la cantidad del agente de gelificación (goma xantana).

Ejemplo 4 -- Evaluación de la eficacia de la formulación del ejemplo 1

*Estudio A -- Estudio de Guatemala.* Se usaron las siguientes formulaciones de repelente (% en peso): (1) $C_{15}$: repelente que contenía las cantidades de componentes descritas en el ejemplo 1 – el PMD obtenido de la modificación con ácido de aceite de *Corymbia citriodora*, CAS: 42822-86-6, adquirido de Chemian Technology Ltd con la marca comercial Citriodiol; (2) T15: repelente que contenía las cantidades de componentes descritas en el ejemplo 1 – el PMD obtenido de Coolact® 38D; (3) T20: que contenía el 20% en peso de PMD en lugar del 15%, obtenido de Coolact® 38D; (4) control positivo: 15% de DEET (N,N-dietil-meta-toluamida, CAS 134-62-3; Sigma-Aldrich Co.) en etanol; (5) control negativo: mezcla de 20% de aceite mineral y etanol.

*Estudio B -- Estudio de Perú.* Se usaron formulaciones de repelente (% en peso): (1) "PMD + LG" que contenía aproximadamente el 16% de PMD tal como se indica en el ejemplo 1 -- PMD obtenido de Coolact® 38D; (2) control positivo: 20% de DEET (Sigma-Aldrich Co.) en etanol (Sigma-Aldrich Co.); (3) control negativo: 20% de aceite mineral (ExxonMobil Corporation) en etanol.

*Estudio A y B.* Ambos estudios fueron de diseño controlado doble ciego, con cebos humanos. Se colocaron todas las disoluciones en envases no marcados etiquetados mediante código. En una noche, se trataron las partes inferiores de ambas piernas de los voluntarios humanos con cualquiera de los repelentes candidatos de PMD/LG o un control positivo o negativo a una tasa de 0,002 ml/cm$^2$ entre el tobillo y la rodilla. Se midieron la longitud y la circunferencia de la pierna de los voluntarios para calcular el área superficial y se midió la dosis de tratamiento correcta usando una micropipeta, y se aplicó usando un guante de látex para minimizar la absorción de material sobre la mano del voluntario. Durante la utilización de los cebos humanos, los voluntarios vistieron pantalones cortos hasta la rodilla, botas de trabajo y una chaqueta de protección contra insectos suelta (ProBuy) para garantizar que los mosquitos en busca de sangre tuvieran acceso sólo a la parte inferior de las piernas. Además, para minimizar la variación en las kairomonas de su espacio de cabeza[27, 28], tras el mediodía los voluntarios no fumaron, ni consumieron alcohol y se lavaron usando jabón.

Las ubicaciones designadas dentro de los áreas de campo estaban a 10 m entre sí a un mínimo de 20 m de fuentes alternativas de kairomonas tales como casas y ganado. Puesto que los repelentes de insectos actúan a lo largo de una distancia de menos de un metro, y la distancia máxima de atracción del huésped de un único ser humano a los mosquitos es de 10 m,[29] el diseño elimina cualquier "efecto de relatividad" en el que los insectos eligen entre dos huésped simultáneamente. Se recogieron los mosquitos de las partes inferiores de las piernas de los voluntarios una vez que se habían posado (sin necesidad de esperar a que picaran) usando un aspirador de boquilla, una linterna y un recipiente de recogida. Los recipientes de recogida se cambiaron cada hora para proporcionar medidas de repelencia cada hora. También se proporcionaron paraguas para proteger a los voluntarios de cualquier lluvia que pudiera eliminar su repelente.

Todos los voluntarios tenían experiencia en actuar como cebos humanos. Se facilitó a los voluntarios un formulario que explicaba resumidamente el procedimiento para garantizar que comprendía completamente los riesgos potenciales de un estudio de este tipo. Además, a cada uno se le administró profilaxis con cloroquina (Guatemala) o mefloquina (Perú) según las directrices de la OMS.[30] Se obtuvo la autorización ética de la Universidad del Valle, Guatemala (estudio A); y de la Junta de Ética de la Escuela de Higiene y Medicina Tropical de Londres y el Instituto Nacional de Salud, Perú (estudio B).

*Estudio A.* Se aplicaron los tres repelentes y dos controles a los cinco voluntarios a las 14:30 horas, y actuaron como cebos humanos en el área de campo durante una hora antes y después de la puesta del sol (17:30-19:30 horas), cuando la picadura de mosquito vespertina está en su punto álgido tal como se muestra mediante cebos humanos preliminares. Los tiempos elegidos permitieron una evaluación de la protección proporcionada por el repelente a lo largo de 5 horas mientras que los voluntarios se exponían a las picaduras sólo durante 2 horas. Esto ayudó a minimizar la exposición y el riesgo para los encargados de la recogida. El estudio fue un diseño de cuadrado latino 5x5 equilibrado que requirió que cada voluntario sometiera a prueba cada tratamiento cinco veces a lo largo de todo el estudio durante un periodo de veinticinco noches. Cada noche, se asignó a cada individuo uno de los cinco tratamientos, y se sentó en una de las cinco posiciones asignadas. Por consiguiente, los voluntarios cambiaron de posición cada cinco días.

*Estudio B.* Se aplicaron el repelente y dos controles a las 16:00 horas y se realizaron recogidas de cebos humanos en el campo, entre las 18:00 y las 22:00 horas, ya que ese es el momento del punto álgido de actividad de *An. darlingi* en la zona (Chan, A. datos no publicados). Los tiempos elegidos permitieron que se realizara una evaluación de la protección proporcionada por el repelente de la protección relativa de las muestras durante un periodo de 6 horas mientras los voluntarios se exponían a las picaduras sólo durante 4 horas. Esto ayudó a minimizar la exposición y el riesgo para los encargados de la recogida. Los voluntarios tuvieron un descanso de 15 minutos entre las 20:00 horas y las 20:15 horas. El estudio fue un diseño de cuadrado latino 3x3 equilibrado realizado usando tres voluntarios durante nueve noches, cambiando los voluntarios de posiciones cada tres noches. Debido a circunstancias imprevistas, se sustituyó a uno de los voluntarios tras 4 noches y esto se usó como factor en el análisis estadístico.

Los mosquitos se mantuvieron durante la noche y se les mató mediante enfriamiento antes de la identificación a la

mañana siguiente. Se normalizaron los datos usando log (x+1) natural y se analizaron con el modelo lineal general (MLG) usando Minitab 11.0 para Windows. Se realizaron pruebas adicionales de variables individuales usando Kruskal Wallis, ya que los datos no pudieron normalizarse suficientemente para usar un análisis de varianza unidireccional (ANOVA) debido al bajo número de recogidas en los individuos tratados con repelente.

Resultados

*Estudio A -- Estudio de Guatemala.*

En 25 noches, se capturaron 6140 mosquitos que comprendían el 55,6% de *Psorophora varipes* (Coquillett) y el 24,8% de *Aedes Ochlerotatus taeniorhynchus* (Say). El número promedio de mosquitos que se posaban sobre el control negativo fue de 108 por persona/hora y no hubo diferencia significativa en los números de posados por hora en este tratamiento (H = 1,22, d.f. = 3 *p* = 0,637). No hubo diferencia significativa en los posados por hora cuando se analizaron los datos para repelentes por separado (H = 0,84, d.f. = 1, *p* = 0,360), lo que indica que la protección del repelente no disminuía significativamente a lo largo del transcurso de la prueba.

Cada uno de los cuatro repelentes proporcionó protección excelente de mosquitos que buscaban un huésped, y los repelentes de PMD/LG proporcionaron una protección de >96% hasta cinco horas tras la aplicación, con T15 y T20 proporcionando una protección del 99%. DEET (15%) proporcionó el 91% (tabla 1). El análisis del MLG mostró que hubo una diferencia significativa entre los cuatro repelentes y el control negativo, y entre los tres repelentes basados en PDM y DEET; aunque no hubo diferencia significativa entre los tres repelentes de PMD/LG (d.f. = 4, *F* = 110,02. *p*<0,0001) (tabla 1). También se investigaron las fuentes de error en el diseño experimental. No hubo diferencia significativa entre la posición de recogida dentro del área de campo (d.f. = 4, F = 1,95, *p* = 0,115), aunque los individuos variaron en su atracción para los mosquitos/capacidad de recogida en el MLG (d.f. = 4, *F* = 6,17, *p*<0,0001), pero la variación individual ya no fue significativa cuando se analizó por separado (*H* = 6,99, d.f. = 4, *p* = 0,137). No hubo interacción significativa entre el individuo y el tratamiento (d.f. = 16, *F* = 3,08*, p* = 0,001), pero cuando se analizaron los datos para cada tratamiento individual por separado, la única interacción significativa restante entre el individuo y los repelentes basados en el 15% de DEET (d.f. = 4, *F* = 4,82, *p* = 0,007) y PMD funcionó igual de bien en los cinco voluntarios.

*Estudio B -- Estudio de Perú*

En nueve noches, se capturaron 2358, de los cuales el 86% eran *Anopheles darlingi.* El número promedio de posados de *An. darlingi* sobre el control negativo fue de 46,27 por persona/hora. No hubo diferencia significativa en el número de mosquitos capturados por hora a partir de los individuos tratados con control (d.f. = 3, F = 1,18, *p* = 0,333) o repelente (H = 1,90, d.f. = 3, *p* = 0,594), lo que indica que la eficacia de los repelentes no se redujo significativamente durante las cuatro horas de la prueba.

El repelente de PMD/LG ("PMD + LG") superó significativamente a DEET, proporcionando un promedio de protección del 95% 6 horas tras la aplicación (d.f. = 2, F = 156,65, p <0,0001) (tabla 2). En cambio, 20% de DEET proporcionó un promedio de protección del 62% a lo largo de la duración del ensayo. Se investigaron las fuentes de sesgo y no hubo diferencia en el número de mosquitos capturados en las tres posiciones dentro del campo (p = 0,972). Sin embargo, hubo una interacción significativa entre la persona sometida a prueba y el repelente (d.f. = 6, *F* = 4,85, *p* <0,0001). Cuando se analizaron los datos por separado hubo una diferencia significativa entre los individuos cuando llevaban el control negativo (d.f. = 3*, F* = 4,51, *p* = 0,010) y cuando llevan el repelente "PMD + LG" (H = 17,94, d.f. = 3, *p*<0,0001), aunque DEET protegió a cada individuo por igual (H = 6,85, d.f. = 3, *p* = 0,077).

Tabla 1. Eficacia de cuatro formulaciones de repelente sometidas a prueba cuatro y cinco horas tras la aplicación durante el estudio A en Guatemala. Las cifras representan el número de mosquitos que se posan sobre las partes inferiores de los voluntarios.

| | | Horas tras la aplicación | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Tratamiento | | 4 | 5 | Media | I.C. del 95% |
| Control de mezcla de carga | AM | 115,52 | 100,48 | 108,00 | |
| | WM | 79,83 | 66,64 | 56,82[a] | 39,64 - 82,27 |
| | % de P | - | - | - | |
| C15 | AM | 1,28 | 5,73 | 3,36 | |
| | WM | 0,64 | 1,40 | 1,05[b] | 0,59 - 1,86 |
| | % de P | 94,52 | 94,30 | 96,88 | |
| T15 | AM | 1,36 | 1,44 | 1,40 | |
| | WM | 0,79 | 0,72 | 0,93[b] | 0,64 - 1,36 |
| | % de P | 98,82 | 98,57 | 98,75 | |
| T20 | AM | 0,84 | 1,84 | 1,34 | |
| | WM | 0,43 | 0,77 | 0,74[b] | 0,49 - 1,12 |
| | % de P | 99,27 | 98,17 | 98,75 | |
| 15% de DEET | AM | 6,33 | 12,21 | 9,27 | |
| | WM | 3,63 | 4,87 | 3,60[c] | 2,08 - 6,29 |
| | % de P | 94,52 | 87,85 | 91,42 | |

AM = media aritmética de posados de mosquito/hora

WM = Media de William de posados de mosquito/hora. Las medias seguidas por la misma letra no son significativamente diferentes.

% de P = Protección en porcentaje es decir 100 - ((posados de mosquito con tratamiento ÷ posados de mosquito con control) X 100)

El % de protección con las formulaciones sometidas a prueba en el estudio A también se muestra en la figura 1.

El % de protección contra *Anophelus darlingi* para las formulaciones sometidas a prueba en el estudio B también se muestran en la figura 2.

Tabla 2 Eficacia de 2 repelentes sometidos a prueba de 3 a 6 horas tras la aplicación durante el estudio B en Perú

| | | Todos los mosquitos<br>Horas tras la aplicación | | | | | | *Anopheles darlingi*<br>Horas tras la aplicación | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Tratamiento | | 3 | 4 | 5 | 6 | Media | I.C. del 95% | 3 | 4 | 5 | 6 | Media | I.C. del 95% |
| 20% de control con aceite | AM | 44,44 | 62,11 | 38,44 | 40,11 | 46,27 | 28,08 - 46,47 | 31,11 | 54,78 | 34,11 | 35,44 | 38,86 | 20,12 - 37,47 |
| | WM | 34,52 | 53,05 | 31,46 | 29,27 | 35,97[a] | | 22,10 | 44,60 | 23,05 | 24,79 | 27,50[a] | |
| | % de P | - | - | - | - | - | | - | - | - | - | - | |
| Repelente de PMD + LG | AM | 1,33 | 1,78 | 1,67 | 4,78 | 2,38 | 00,73 - 02,10 | 1,11 | 1,56 | 1,44 | 3,89 | 2,00 | 0,63 - 1,80 |
| | WM | 0,82 | 1,08 | 1,15 | 2,52 | 1,32[b] | | 0,66 | 0,93 | 1,05 | 2,17 | 1,14[b] | |
| | % de P | 97,07 | 97,10 | 95,57 | 87,50 | 94,85 | | 96,43 | 97,16 | 95,77 | 89,03 | 94,85 | |
| 20% de DEET | AM | 15,22 | 19,78 | 13,89 | 18,44 | 16,83 | 10,13 - 17,17 | 13,56 | 18,33 | 12,89 | 17,22 | 15,00 | 9,18 - 15,78 |
| | WM | 10,59 | 16,12 | 11,68 | 15,28 | 13,30[c] | | 9,59 | 14,96 | 10,59 | 13,59 | 12,07[c] | |
| | % de P | 65,77 | 68,12 | 63,80 | 52,08 | 63,63 | | 56,43 | 66,53 | 62,21 | 51,41 | 61,40 | |

AM = media aritmética de posados de mosquito/hora

WM = Media de William de posados de mosquito/hora. Las medias seguidas por la misma letra no son significativamente diferentes.

% de P = Protección en porcentaje es decir 100 - ((posados de mosquito con tratamiento ÷ posados de mosquito con control) X 100)

Discusión

En ambos ensayos de campo, los repelentes de PMD/LG con agentes de fijación mostraron eficacia excelente contra una amplia variedad de especies de mosquito, con una longevidad mayor de la esperada para una formulación del 15% de PMD. Además, en estos ensayos, los repelentes basados en PMD mostraron mayor eficacia que las dosis correspondientes de DEET, mientras que varios estudios de campo revisados por homólogos habían mostrado que las formulaciones sólo de PMD tenían una longevidad similar,[21] o inferior, [31] en comparación con DEET a una dosis correspondiente. Durante un ensayo de campo boliviano en 2001 contra *An. darlingi,* donde la presión de picadura fue de 75 posados de mosquito por ser humano-hora, un repelente que contenía el 30% de PMD proporcionó una protección del 97%, y con el 15% de DEET proporcionó una protección del 85% durante 4 horas tras la aplicación.[22] Sin embargo, en el estudio A actual, el repelente que contenía la mitad de esa concentración de PMD (T15) proporcionó una protección del 99% durante 5 horas tras la aplicación con una presión de picadura de 108 mosquitos por persona-hora en comparación con el 91% para el 15% de DEET. En el estudio B, un repelente con el 16% de PMD ("PMD + LG") proporcionó una protección del 95% durante 6 horas tras la aplicación en comparación con el 62% para el 20% de DEET.

Puede deducirse a partir de esto que la adición de agentes de fijación a los repelentes sometidos a prueba en

Guatemala y Perú ralentizó la liberación de componentes volátiles del repelente, prolongando de ese modo la duración de los repelentes. Debe hacerse hincapié en que el PMD es el componente más costoso en el repelente, y el ahorro obtenido mediante una reducción en el contenido de PMD desde el 30% hasta el 15% es sustancial. Los datos de Population Services International (PSI) calcularon que el coste diario para un repelente basado en el 30% de PMD era de 0,16 dólares estadounidenses por persona por día [32] (en dólares de 2001). Puesto que la mayoría de los otros componentes en el repelente de PMD/LG son relativamente de bajo coste cuando se adquieren en volumen, se ha mejorado significativamente la oportunidad de proporcionar una herramienta de prevención de enfermedades asequible. Hay una fuerte evidencia de que es menos probable que las personas de nivel socio-económico más bajo adquieran esas formas de protección personal que son relativamente más caras pero eficaces, tales como MTI y repelentes, y es más probable que confíen en métodos tradicionales menos eficaces de protección personal, tales como humo.[33] Claramente, hacer que el repelente esté disponible al menor coste posible mejorará la conformidad del usuario.[34]

La importancia potencial de esta herramienta en campañas contra la malaria en las Américas puede ilustrarse por las circunstancias a las que se enfrentan las clínicas del Ministerio de Salud del Perú (MINSA) en el departamento de Loreto. Se ha estimado que el coste total de tratar la malaria en Loreto en 1998 fue de 190 dólares por caso individual por año (en dólares de 1998). Este coste incluía el transporte de los pacientes a clínicas estatales, el tratamiento, la medicación, la pérdida de ingresos y el coste para el estado de su subvención del tratamiento gratuito.[35]

Ajustado a dólares de 2006, tiene el equivalente de 235 dólares. Sin embargo, el coste anual estimado para la intervención con repelente (cobertura para un hombre adulto durante la estación de transmisión de 7 meses a 0,047 dólares/día) es de 10,00 dólares. Esto es el 4,2% del coste total del tratamiento (usando clínicas de MINSA) en la actualidad, por lo que puede ser un candidato excelente para su incorporación en estrategias de control de vectores existentes.

Si en Perú pudiera lograrse un ahorro de este tipo, a la vez que se redujera sustancialmente la carga de enfermedad de la malaria, este modelo podría ser aplicable a otras regiones en las que las picaduras vespertinas suponen un problema. Esencialmente, el modelo de repeler la malaria propone: (1) que dondequiera que el comportamiento de alimentación al crepúsculo de la mayoría de los vectores de malaria significativos ya está establecido, o donde puede estar cambiando a primeras horas de la noche (a partir del uso de PRI y/o MTI [36] que reduce la disponibilidad del huésped más tarde por la noche; o a partir de una diversidad creciente de anofelinos, incluyendo las especies crepusculares, que pueden resultar de cambios en el uso de la tierra)[37], entonces (2) en zonas remotas donde el reservorio humano de enfermedad es migratorio;[38] puede ser posible lograr en el plazo de un año una reducción de quizás el 30-60% en la malaria, y este logro podría realizarse inundando estas zonas con una loción cutánea altamente repelente (eficacia a las 6 horas >95%) que sea asequible y atractiva aromáticamente para las poblaciones indígenas pobres. De manera importante, según este modelo, en las poblaciones de mayor tamaño más estables de ciudades y localidades pequeñas donde la API es generalmente inferior y donde el acceso a repelentes se facilita en clínicas, farmacias y mercados, la malaria tiene el potencial de disminuir incluso más.

Un estudio de fase 3 de cinco meses (con un repelente de PMD/LG) que se está organizando actualmente en el Amazonas peruano, proporcionará pronto una oportunidad para medir los parámetros del modelo propuesto, con 3750 sujetos divididos en tres cohortes (sólo repelente, repelente + MTI y sin intervención). Este estudio que abarca toda la comunidad marcará la primera vez que se ha medido el efecto de una intervención con sólo repelente sobre la parasitemia en un grupo de población diferenciada. Si la capacidad demostrada del repelente para repeler eficazmente los vectores de malaria conduce a una reducción medible en la tasa de infección, entonces Puerta del Cielo, la fundación sin ánimo de lucro que está financiando y dirigiendo el estudio de fase 3, comenzará a distribuir el repelente al coste a comunidades endémicas de malaria pobres por todo el Amazonas peruano.

Ejemplo 4 -- Evaluación de la eficacia de la formulación del ejemplo 2

Se evaluó la eficacia de la formulación monofásica del ejemplo 2 contra un control positivo (repelente de insectos de la marca Walgreen que contiene el 23% de DEET) en un cubo de un $m^3$ que contenía mosquitos. El cubo con mosquitos contenía aproximadamente 186 mosquitos, que tenían una mediana de edad de aproximadamente 2 días tras la eclosión. Extrapolando a partir de un tamaño de muestra de 11 mosquitos, se estima que el cubo contenía aproximadamente 110 hembras.

La “zona de prueba” consistió en una banda de 4X25 cm (100 cm cuadrados) del antebrazo justo por encima de cada muñeca. Se midió cada banda y se marcó usando una plantilla de papel. Esta zona se bordeó con tiras de cinta adhesiva de primeros auxilios 3M Transpore. Esta zona se aisló adicionalmente llevando un par de guantes de látex con puños que se superponían a la cinta adhesiva. “La zona de control” consistió en una zona de piel sin tratar en la parte inferior del antebrazo y la muñeca creada enrollando parcialmente el puño del guante hacia arriba.

Se aplicaron 200 microlitros de cada repelente con el lateral de una pipeta Pipetman a la zona de prueba para extender el repelente uniformemente sobre toda la zona marcada. Se aplicó la formulación del ejemplo 2 al brazo izquierdo, se aplicó el 23% de DEET de la marca Walgreen al brazo derecho. Tras la aplicación, se dejó secar 10 minutos antes de introducir los brazos en el cubo de mosquitos. Se llevaron guantes de látex en cada mano, con

puños que se superponían a la banda inferior de la cinta adhesiva.

Se evaluó un control negativo (piel sin tratar) antes de cada exposición a repelente enrollando hacia abajo el puño para exponer aproximadamente 4 cm de la piel sin tratar por debajo de la banda de cinta adhesiva. Se contó el número de posados e intentos de sondeo en esta zona a lo largo de un periodo de 2 minutos. (Nota: Se produjeron muchos más posados y sondeos en los guantes de látex y el manguito de cubierta de algodón que en la piel expuesta, pero estos no se contaron). Se definió un posado como el cese completo del movimiento de las alas tras el contacto del tarso con la piel. Se definió un sondeo como el contacto directo con la piel acompañado por el contacto de las partes bucales con la piel. Se desecharon los mosquitos una vez realizado el recuento y se repitieron las observaciones a lo largo de un periodo de 2 minutos.

Algunos posados fueron accidentales y parecieron implicar mosquitos que se enredaban en el vello del brazo. Los sondeos son un indicador más robusto de no repelencia, pero los posados son útiles porque tienden a aumentar en frecuencia cuando un repelente está comenzando a fallar a lo largo del tiempo.

Los resultados se muestran a continuación:

| | | Brazo izquierdo – control negativo | | 23% de DEET | | Brazo derecho – control negativo | | Formulación del ejemplo 2 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Tiempo | Hora | Posado | Sondeo | Posado | Sondeo | Posado | Sondeo | Posado | Sondeo |
| 920 | 0 | 20 | 16 | 1 | 0 | 13 | 10 | 0 | 0 |
| 1020 | 1 | 21 | 20 | 2 | 0 | 23 | 21 | 0 | 0 |
| 1120 | 2 | 35 | 34 | 0 | 0 | 16 | 14 | 0 | 0 |
| 1220 | 3 | 25 | 25 | 0 | 0 | 12 | 11 | 1 | 0 |
| 1320 | 4 | 19 | 16 | 1 | 0 | 20 | 16 | 0 | 0 |
| 1420 | 5 | 41 | 37 | 0 | 0 | 34 | 32 | 3 | 0 |
| 1520 | 6 | 40 | 36 | 2 | 0 | 27 | 24 | 1 | 0 |

**Bibliografía**

1. Hay SI, Guerra CA, Tatem AJ, Noor AM, Snow RW, 2004. The global distribution and population at risk of malaria: past, present, and future. Lancet Infect Dis 4: 327-36.

2. WHO, 2005. World malaria report 2005 (WHO/HTM/MAL/2005.1102). Geneva: World Health Organization and UNICEF, http://www.rbm.who.int/wmr2005/html/1-2.htm.

3. WHO, 2002. The World health Report 2002: reducing risks, promoting healthy life. Geneva: World Health Organization.

4. Tadei WP, Dutary Thatcher B, 2000. Malaria vectors in the Brazilian amazon: Anopheles of the subgenus Nyssorhynchus. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 42: 87-94.

5. Trung HD, Bortel WV, Sochantha T, Keokenchanh K, Briet OJ, Coosemans M, 2005. Behavioural heterogeneity of Anopheles species in ecologically different localities in Southeast Asia: a challenge for vector control. Trop Med Int Health 10: 251-62.

6. Rubio-Palis Y, Curtis CF, 1992. Biting and resting behaviour of anophelines in western Venezuela and implications for control of malaria transmission. Med Vet Entomol 6: 325-34.

7. Benet A, Mai A, Bockarie F, Lagog M, Zimmerman P, Alpers MP, Reeder JC, Bockarie MJ, 2004. Polymerase chain reaction diagnosis and the changing pattern of vector ecology and malaria transmission dynamics in papua new Guinea. Am J Trop Med Hyg 71: 277-84.

8. Harris AF, Matias-Arnez A, Hill N, 2006. Biting time of Anopheles darlingi in the Bolivian Amazon and implications for control of malaria. Trans R Soc Trop Med Hyg 100: 45-7.

9. Takken W, 2002. Do insecticide-treated bednets have an effect on malaria vectors? Trop Med Int Health 7: 1022-30.

10. Braimah N, Drakeley C, Kweka E, Mosha F, Helinski M, Pates H, Maxwell C, Massawe C, Kenward MG, Curtis C, 2005. Tests of bednet traps (Mbita traps) for monitoring mosquito populations and time of biting in Tanzania and possible impact of prolonged insecticide treated bednet use. Int J Trop Insect Sci 25: 208-13.

11. Kroeger A, Meyer R, Mancheno M, Gonzalez M, Pesse K, 1997. Operational aspects of bednet impregnation for commuity-based malaria control in Nacaragua, Equador, Peru and Colombia. Trop Med Int Health 2: 589-602.

12. Alexander N, Rodriguez M, Perez L, Caicedo JC, Cruz J, Prieto G, Arroyo JA, Cotacio MC, Suarez M, F DLH, Hall AJ, 2005. Case-control study of mosquito nets against malaria in the Amazon region of Colombia. Am J Trop

Med Hyg 73: 140-8.

13. Costantini C, Badolo A, Ilboudo-Sanogo E, 2004. Field evaluation of the efficacy and persistence of insect repellents DEET, IR3535, and KBR 3023 against Anopheles gambiae complex and other Afrotropical vector mosquitoes. Trans R Soc Trop Med Hyg 98: 644-52.

14. Hii JLK, Kanai, L., Foligela, A., Kan, K. P., Burkot, T. R. and Wirtz, R. A., 1993. Impact of permethrin-impregnated bednets compared with DDT house-spraying against malaria transmission by Anopheles farauti and An. Punctulatus in the Solomon Islands. Medical and Veterinary Entomology, 333-338.

15. Rowland M, Downey G, Rab A, Freeman T, Mohammad N, Rehman H, Durrani N, Reyburn H, Curtis C, Lines J, Fayaz M, 2004. DEET mosquito repellent provides personal protection against malaria: a household randomized trial in an Afghan refugee camp in Pakistan. Trop Med Int Health 9: 335-42.

16. Hill N, Lenglet A, Arnez AM, Carneiro I, 2005. Clinical evaluation of combined use of ITNs and plant-based insect repellents to control malaria in Bolivia. London: Malaria Centre Report, London School of Hygiene and Tropical Medicine, 50-51 http://www.lshtm.ac.uk/malaria/annualreport/report20042005.pdf.

17. Prothero RM, 2001. Migration and Malaria Risk. Health, Risk and Society 3: 19-38.

18. Jackson S, Sleigh AC, Liu XL, 2002. Cost of malaria control in China: Henan's consolidation programme from community and government perspectives. Bull World Health Organ 80: 653-9.

19. Vosti S, 1990. Malaria among gold miners in Southern Para, Prazil: estimates of determinants and individual costs. Soc Sci Med 30: 1097-105.

20. Pang LW, Piovesan-Alves F, 2001. Economic advantage of a community-based malaria management programme in the Brazilian Amazon. Am J Trop Med Hyg 65: 883-6.

21. Trigg JK, 1996. Evaluation of a eucalyptus-based repellent against Anopheles spp. in Tanzania. J Am Mosq Control Assoc 12: 243-6.

22. Moore SJ, Lenglet A, Hill N, 2002. Field evaluation of three plant-based insect repellents against malaria vectors in Vaca Diez Province, the Bolivian Amazon. J Am Mosq Control Assoc 18: 107-10.

23. Schreck CE, Leonhardt BA, 1991. Efficacy assessment of Quwenling, a mosquito repellent from China. J Am Mosq Control Assoc 7: 433-6.

24. Sears R, 1996. An ethnobotanical survey of insect repellents in Brazil. Tropical Resources Institiute Working Pages. New Haven.

25. Rutledge LC, Gupta RK, Mehr ZA, Buescher MD, Reifenrath WG, 1996. Evaluation of controlled-release mosquito repellent formulations. J Am Mosq Control Assoc 12: 39-44.

26. Curtis CF, Lines JD, Ijumba J, Callaghan A, Hill N, Karimazad MA, 1987. The relative efficacy of repellents against mosquito vectors of disease. Medical and Veterinary Entomology 1: 109-19.

27. de Jong R, Knols BGJ, 1995. Selection of biting sites on man by two malaria mosquito species. Experientia 51: 80-4.

28. Shirai OT, Tsuda T, Kitagawa S, Naitoh K, Seki K, K. K, Morohashi M, 2002. Alcohol ingestion stimulates mosquito attraction. J Am Mosq Control Assoc 18: 91-6.

29. Gillies MT, Wilkes TJ, 1970. Range of attraction of single baits for some West-African mosquitoes. Bulletin of Entomological Research 60: 225-235.

30. WHO, 2005. International travel and health. Geneva: World Health Organisation.

31. Barnard DR, Bernier UR, Posey KH, Xue RD, 2002. Repellency of IR3535, KBR3023, para-menthane-3,8-diol, and deet to black salt marsh mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the Everglades National Park. J Med Entomol 39: 895-9.

32. Harris A, 2003. The potential for plant-based insect repellents to play a significant role in the control of vectorborne disease. ITD MSc Thesis. London: London School of Hygiene and Tropical Medicine.

33. Worrall E, Basu S, Hanson K, 2005. Is malaria a disease of poverty? A review of the literature. Tropical Medicine and International Health 10: 1047-1059.

34. Kroeger A, Gerhardus A, Kruger G, Mancheno M, Pesse K, 1997. The contribution of repellent soap to malaria control. Am J Trop Med Hyg 56: 580-4.

35. MINSA/USAID, 2000. Impacto Económico de La Malaria En El Perú. Lima, Perú: Ministerio de Salud.

36. Charlwood JD, 1996. Biological variation in Anopheles darlingi (Root). Memorias de Instituti Oswaldo Cruz 91: 391-8.

37. Povoa MM, Conn JE, Schlichting CD, Amaral JC, Segura MN, Da Silva AN, Dos Santos CC, Lacerda RN, De Souza RT, Galiza D, Santa Rosa EP, Wirtz RA, 2003. Malaria vectors, epidemiology, and the re-emergence of Anopheles darlingi in Belem, Para, Brazil. J Med Entomol 40: 379-86.

38. Conn JE, Wilkerson RC, Segura MN, de Souza RT, Schlichting CD, Wirtz RA, Povoa MM, 2002. Emergence of a new neotropical malaria vector facilitated by human migration and changes in land use. Am J Trop Med Hyg 66: 18-22.

39. Rowland M, Freeman T, Downey G, Hadi A, Saeed M, 2004a. DEET mosquito repellent sold through social marketing provides personal protection against malaria in an area of all-night mosquito biting and partial coverage of insecticide-treated nets: a case-control study of effectiveness. Trop Med Int Health 9: 343-50.

A la luz de la descripción detallada anterior se les sugerirán a los expertos en la técnica muchas variaciones de la presente invención. Todas estas variaciones obvias están dentro del alcance completamente intencionado de las reivindicaciones adjuntas.

**REIVINDICACIONES**

1. Composición de repelente de insectos que comprende (a) aceite de hierba limón, (b) p-mentano-3,8-diol y (c) vainillina, en la que el p-mentano-3,8-diol y el aceite de hierba limón están presentes en una razón en peso de desde 10:1 hasta 2:1 de PMD:aceite de hierba limón.

2. Composición de repelente de insectos según la reivindicación 1, que comprende además al menos uno de aceite mineral, etanol, dipropilenglicol, hidrocarburo isoparafínico y acetato de isononilo.

3. Composición de repelente de insectos según la reivindicación 1, que comprende además aceite mineral, etanol y dipropilenglicol.

4. Composición de repelente de insectos según la reivindicación 1, que comprende además aceite mineral, hidrocarburo isoparafínico y acetato de isononilo.

5. Composición de repelente de insectos según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que contiene menos del 20% en peso de p-mentano-3,8-diol.

6. Composición de repelente de insectos según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que la formulación es una formulación monofásica.

7. Composición de repelente de insectos según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que la formulación es una formulación bifásica.

8. Composición de repelente de insectos según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para su uso en repeler insectos, en la que la composición se aplica a la piel de un animal.

9. Composición de repelente de insectos según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para su uso en prevenir la malaria, en la que la composición se aplica a la piel de un animal.

10. Composición de repelente de insectos según la reivindicación 9, en la que el animal es un ser humano.

11. Composición de repelente de insectos según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que la composición comprende además un vehículo de administración, seleccionado del grupo que consiste en agua, un aerosol, espray, gel o loción.

12. Composición de repelente de insectos según la reivindicación 11, en la que el vehículo de administración es un gel, y en la que el gel contiene un agente de gelificación de goma xantana.