

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Instituto de Ciências Biológicas

Programa de Pós-graduação em Parasitologia

**Avaliação da eficiência de repelentes caseiros contra picada de
mosquitos *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762)
(Diptera: Culicidae)**

KÊNIA MARIA DE PAULA MARTINS

Belo Horizonte

2020

Kênia Maria de Paula Martins

**AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE REPELENTES CASEIROS
CONTRA PICADA DE MOSQUITOS *Aedes (Stegomyia) aegypti*
(LINNAEUS, 1762) (DIPTERA: CULICIDAE).**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Parasitologia.

Orientador: Dr. Álvaro Eduardo Eiras (UFMG)

Belo Horizonte

2020

- 043 Martins, Kênia Maria de Paula.
Avaliação da eficiência de repelentes caseiros contra picada de mosquitos *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) [manuscrito] / Kênia Maria de Paula Martins. – 2020.
- 74 f. : il. ; 29,5 cm.
- Orientador: Prof. Dr. Álvaro Eduardo Eiras. Coorientadora: Dra. Kelly da Silva Paixão.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Parasitologia.
1. Culicidae. 2. Aedes. 3. Repelentes de Insetos. 4. Syzygium. 5. Cymbopogon. 6. Ocimum basilicum. I. Eiras, Álvaro Eduardo. II. Paixão, Kelly da Silva. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. IV. Título.
- CDU: 576.88/.89



Universidade Federal de Minas Gerais



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PARASITOLOGIA
Instituto de Ciências Biológicas
Departamento de Parasitologia

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Kênia Maria de Paula Martins

415/2020/13

entrada

1º/2018

2018637016

Às quatorze horas do dia 22 de outubro do ano de 2020, reuniu-se, por videoconferência, sala <https://conferenciaweb.rnp.br/events/dissertacao-de-mestrado-kenia-maria-de-paula-martins>, a Comissão Examinadora da Dissertação, indicada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Parasitologia, para julgar, em exame final, o trabalho final intitulado: “Avaliação da eficiência de repelentes caseiros contra picada de mosquitos *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae)” área de concentração: Entomologia. Abrindo a sessão, o(a) Presidente da Comissão, Dr. Álvaro Eduardo Eiras, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares do Trabalho Final, passou a palavra ao(a) candidato(a), para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa do(a) candidato(a). Logo após, a Comissão se reuniu, sem a presença do(a) candidato(a) e do público, para julgamento e expedição do resultado final. Foram atribuídas as seguintes indicações:

Prof./Pesq.	Instituição	Indicação
Dr. Álvaro Eduardo Eiras	UFMG	Aprovada
Dra. Ivoneide Maria Silva	UFPA	Aprovada
Dra. Tatiana Mingote Ferreira de Ázara	SVS-MS	Aprovada

Expedição do resultado final.

CONSIDERAÇÕES GERAIS – SOBRE TESE APRESENTADA PELO (A) O (A) CANDIDATO (A):

Exigências	Não se aplica
Recomendações	Não se aplica
Sugestões	As sugestões de mudanças e correções no texto da dissertação encontram-se nas cópias dos examinadores entregues após a defesa.

Pelas indicações, o(a) candidato(a) foi considerado(a): APROVADA. O resultado final foi comunicado publicamente ao(a) candidato(a) pelo Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar o(a) Presidente encerrou a reunião e lavrou a presente ATA, que será assinada digitalmente por todos os membros participantes da Comissão Examinadora.

Belo Horizonte, 22 de outubro de 2020.

Dr. Álvaro Eduardo Eiras
(Orientador)

Dra. Ivoneide Maria Silva

Dra. Tatiana Mingote Ferreira de Ázara

Este documento não terá validade sem a assinatura e carimbo do Coordenador

AGRADECIMENTOS

Estar no mestrado da UFMG era um sonho que parecia ser muito distante, quase impossível ... mas consegui! E esse caminho não percorri sozinha. Por isso, sinto profunda gratidão a todos que me estenderam a mão.

À Deus, por ser o centro da minha vida. À Nossa Senhora por me amparar no seu colo nos momentos difíceis e ao meu anjo da guarda, por estar sempre ao meu lado.

A minha mãe, Vera Lúcia, por ser o meu exemplo de vida. Sempre muito amorosa e dedicada. Ao meu pai, Continentino de Paula, pelo incentivo e apoio. Sua presença torna meus dias mais alegres! Vocês estiveram sempre por perto durante toda esta trajetória, cuidando de mim e do meu filho com muito amor. Obrigada!

Aos meus irmãos, Clayson e Marcos, pelo carinho e por terem aceitado as minhas faltas em nossa empresa para dedicar ao mestrado e ao meu irmão Alexandre, pelo carinho.

Ao meu marido, Fabiano, por ter aceitado e vivido este sonho comigo. Agradeço por ter compreendido a minha ausência e por cuidar do nosso Gui com tanto zelo.

Ao meu filho Guilherme, meu maior tesouro, que se privou de mim, mas que no final, você é a razão de tudo isso. A você, todo o meu amor!

Aos meus familiares e amigos pelo incentivo, por entender minhas ausências e vibrar a cada conquista.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Álvaro Eduardo Eiras, pelo acolhimento em seu laboratório, mesmo sabendo das minhas limitações. Muito obrigada por me guiar no desenvolvimento deste trabalho.

À minha co-orientadora, Dra. Kelly da Silva Paixão, por ser sempre tão disponível. Obrigada pelos ensinamentos e por me acompanhar com tanto cuidado.

Aos colegas do Laboratório de Inovação Tecnológica e Empreendedorismo em Controle de Vetores (LINTEC), Agustin, Amanda, André, Hil, Luana, Richard, Ju, Léo, Tales e Elizângela, a ajuda de vocês foi essencial para a realização deste trabalho.

Agradeço também de maneira especial a Dra. Elis Paula de Almeida Batista, sua colaboração na estatística foi fundamental para a conclusão deste trabalho. Obrigada pela paciência nas correções e pelas dicas de apresentação. Saiba que, suas palavras sinceras foram muito bem vindas!

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Parasitologia do ICB/UFMG, em especial a Profa. Dra. Grasielle Caldas D'Avila Pessoa pelo incentivo e ao Prof. Dr. Ricardo Toshio Fujiwara pelo apoio. À Sumara e Sibebe, agradeço pelas nossas conversas sempre tão agradáveis e pela disponibilidade em ajudar.

Aos voluntários deste estudo, meus pais, Kátia e Alexandre, sem vocês este trabalho não seria possível!

Ao Laboratório Núcleo de Plantas Medicinais do Departamento de Química ICEX/UFMG, em especial ao Prof. Diogo Montes Vidal e ao Gregório, pela colaboração nos experimentos.

Ao Prof. Dr. João Renato Stehmann e a Nayara do herbário do Departamento de Botânica, ICB/UFMG pela disponibilidade em identificar as espécies das plantas utilizadas neste trabalho.

Aos colegas da turma do mestrado, pela convivência harmoniosa e alegre. Vocês estão em meu coração!

RESUMO

O mosquito *Aedes aegypti* é o vetor de arbovírus causadores de doenças como a dengue, febre amarela urbana, zika vírus e chikungunya. A transmissão ocorre por meio da picada das fêmeas de *Ae. aegypti* durante a hematofagia. Uma maneira de evitar picadas de mosquito é o uso de repelentes tópicos que estão comercialmente disponíveis no mercado. Receitas de repelentes caseiros tem sido amplamente divulgadas pelas mídias digitais como *Youtube*, sendo visualizadas por milhares de pessoas. Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar a eficácia de repelentes caseiros mais visualizados no *Youtube* contra picadas de *Ae. aegypti*. Os três vídeos mais visualizados no *YouTube* de repelentes caseiros foram selecionados, sendo baseados em cravo-da-índia; citronela e mistura de citronela, cravo-da-índia e manjerição. Quatro voluntários adultos (2 homens e 2 mulheres) foram testados em cinco gaiolas do tipo BG-Cage. Cada formulação (1 ml) foi avaliada em dias distintos e aplicada individualmente no antebraço direito, enquanto o braço esquerdo foi utilizado como controle. O repelente comercial *Off! Refresh* (DEET), e os repelentes caseiros de cravo-da-índia; citronela e mistura de citronela, cravo-da-índia e manjerição foram testados no tempo 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 minutos totalizando 864 testes. Os óleos essenciais de cravo-da-índia, manjerição e citronela foram testados nas concentrações 25%, 50%, 75%, e 100%, totalizando 288 testes. Os resultados mostraram que todos os repelentes têm um nível de eficácia acima de 95% de repelência até 30 min. No entanto, após 30 min, os repelentes caseiros apresentaram resultados abaixo do preconizado pelos órgãos de saúde. O repelente comercial *Off!* (padrão ouro) conferiu proteção de 95% mesmo após 4 horas de aplicação. Os repelentes caseiros estudados não apresentaram eficiência prolongada contra a picada do *Ae. aegypti* e que os óleos essenciais de citronela, manjerição e cravo-da-índia podem servir como potenciais produtos repelentes.

Palavras-chave: repelente caseiro; *Aedes aegypti*; cravo-da-índia; citronela; manjerição.

ABSTRACT

The *Aedes aegypti* mosquito is the vector of arboviruses that cause diseases such as dengue, urban yellow fever, zika virus and chikungunya. Transmission occurs through the bite of females *Ae. aegypti* during hematophagy. One way to avoid mosquito bites is to use topical repellents that are commercially available on the market. Recipes for homemade repellents have been widely publicized by digital media such as Youtube, being viewed by thousands of people. Thus, the objective of the present study was to evaluate the effectiveness of homemade repellents most viewed on Youtube against *Ae. aegypti* bites. The three most viewed videos on YouTube of homemade repellents were selected, based on cloves; citronella and mixture of citronella, clove and basil. Four adult volunteers (2 men and 2 women) were tested in five BG-Cage cages. Each formulation (1 ml) was evaluated on different days and applied individually to the right forearm, while the left arm was used as a control. The commercial repellent Off! Refresh (DEET), and homemade clove repellents; citronella and mixture of citronella, clove and basil were tested at 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 and 240 minutes, totaling 864 tests. The essential oils of clove, basil and citronella were tested in concentrations of 25%, 50%, 75%, and 100%, totaling 288 tests. The results showed that all repellents have an efficiency level above 95% repellency up to 30 min. However, after 30 minutes, homemade repellents showed results below those recommended by health agencies. The commercial repellent Off! (gold standard) provided 95% protection even after 4 hours of application. The homemade repellents studied did not show prolonged efficiency against the *Ae. aegypti* bite and that the essential oils of citronella, basil and clove can serve as potential repellent products.

Key words: homemade repellent; *Aedes aegypti*; cloves; citronela; basil.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ciclo de vida do mosquito <i>Aedes aegypti</i>	14
Figura 2 - Ciclo de transmissão de uma arbovirose através da picada de fêmeas de <i>Aedes aegypti</i>	15
Figura 3 - Botões florais de cravo-da-índia (<i>Syzygium aromaticum</i>)	23
Figura 4 - <i>Ocimum basilicum</i>	24
Figura 5 - <i>Cymbopogon winterianus</i>	26
Figura 6 - Comportamento do mosquito modulado pelo DEET	28
Figura 7 - Balão volumétrico acoplado ao aparelho de Clevenger sob uma manta de aquecimento para extração de óleos essenciais	39
Figura 8 - Gaiola BugDorm para criação de mosquitos de <i>Aedes aegypti</i>	40
Figura 9 - Esquema da gaiola de seleção de insetos. A. Produção do fluxo de ar com exaustor, B. —Gaiola de seleção, C. Gaiola de criação contendo os insetos, D. Recipiente para captura dos insetos. A seta indica o sentido do fluxo de ar	41
Figura 10 - Recipientes contendo fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> selecionadas para o bioensaio	41
Figura 11- BG-Cage com sistema de ventilação na parte superior da gaiola	42
Figura 12 - Fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> pousadas na tela da janela da BG-Cage durante o teste de sondagem com o braço do voluntário abaixo da tela de proteção contra picadas	44
Figura 13 - Cromatógrafo a gás da marca Shimadzu, modelo GCMS-QP 2010 Plus..	47
Figura 14 - Cromatograma das amostras dos repelentes caseiros de cravo-da-índia (A), de cravo-da-índia, citronela e manjerição (B) e de citronela (C)	48
Figura 15 - Ranking das taxas de repelência de <i>Aedes aegypti</i> em relação aos tratamentos testados em laboratório no interior da BG-Cage	54
Figura 16 - Comparação da taxa de repelência em relação aos repelentes caseiros em laboratório no interior da BG-Cage.	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Receitas dos repelentes caseiros dos vídeos mais acessados no YouTube ..	38
Tabela 2 - Atividade de repelência em porcentagem do óleo essencial de citronela, cravo-da-índia e manjerição sobre as fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> no interior da BG-Cage	49
Tabela 3 - Atividade de repelência em porcentagem do repelente caseiro de citronela sobre as fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> no interior da BG-Cage	50
Tabela 4 - Atividade de repelência em porcentagem do repelente caseiro de manjerição, cravo da índia e citronela sobre as fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> no interior da BG-Cage.	51
Tabela 5 - Atividade de repelência em porcentagem do repelente caseiro de cravo da índia sobre as fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> no interior da BG-Cage.....	52
Tabela 6 - Porcentagem da atividade de repelência do repelente comercial Off! Refresh sobre as fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> no interior da BG-Cage	53
Tabela 7 - Média de proteção contra picadas de <i>Ae. aegypti</i> em relação aos tratamentos avaliados em laboratório no interior da BG-Cage.....	54
Tabela 8 - Comparação dos tratamentos em pares através do Teste de Tukey	55
Tabela 9 - Duração e percentual de repelência (média $\pm$ erro padrão) de fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> em respostas aos repelentes caseiros em gaiolas BG-Cages.....	56

LISTA DE SIGLAS

ACE	Agentes de Combate a Endemias
ACS	Agentes Comunitários de Saúde
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BTI	<i>Bacillus thuringiensis israelenses</i>
CDI	Repelente caseiro de cravo da Índia
CTN	Repelente caseiro de citronela
DNPCEd	Diretrizes Nacionais para Prevenção e Controle de Epidemias da Dengue
EPA	Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos da América
GGCOS	Gerência Geral de Cosméticos
IC	Intervalo de Confiança
LINTEC	Laboratório de Inovação Tecnológica e Empreendedorismo em Controle de Vetores
MLG	Modelos Lineares Generalizados
MJC	Manjerição
OCDI	Óleo essencial de cravo-da-índia
OCTN	Óleo essencial de citronela
OLM	Óleo mineral
OMJC	Óleo essencial de manjerição
OMS	Organização Mundial da Saúde
ORNs	Neurônios Receptores Olfativos
RR	Risco Relativo
UBV	Ultra Baixo Volume

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
1.1 Biologia do <i>Aedes aegypti</i>	13
1.2 Arbovírus transmitidos por <i>Aedes aegypti</i>	15
1.3 Metodologias de controle contra o <i>Aedes aegypti</i>	17
1.4 Uso de repelentes na prevenção de arboviroses	19
1.5 Compostos químicos de repelentes comerciais	20
1.5.1 DEET	20
1.5.2 Icaridina	21
1.5.3 IR 3535	21
1.6 Óleos essenciais das plantas e seu uso como repelentes	22
1.6.1 Cravo-da-índia	23
1.6.2 Manjerição	24
1.6.3 Citronela	26
1.7 Mecanismo de repelência do DEET contra os mosquitos	27
1.8 Parâmetro e formas de avaliação de repelentes	31
1.9 A importância da mídia no comportamento humano	32
1.10 Repelentes caseiros: mito ou verdade?	33
2. JUSTIFICATIVA	35
3. OBJETIVOS	37
3.1 Objetivo geral	37
3.2 Objetivos específicos	37
4. MATERIAIS E MÉTODOS	37
4.1 Seleção dos repelentes caseiros	37
4.2 Produção dos repelentes caseiros	38
4.3 Extração dos óleos essenciais	39
4.4 Criação e manutenção de <i>Aedes aegypti</i> em laboratório	40
4.5 Separação das fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> para os testes de repelência.	41
4.6 Gaiolas de repelência BG-Cages	42
4.7 Aclimação das fêmeas de <i>Aedes aegypti</i>	43
4.8 Teste de sondagem.....	43
4.9 Bioensaios.....	44
4.10 Preparação e avaliação da composição dos repelentes caseiros por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG/EM)	46
4.11 Análise estatística dos resultados	47

5. RESULTADOS	48
5.1 Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa	48
5.2 Bioensaios com óleos essenciais de plantas	48
5.3 Bioensaios com repelentes caseiros.....	49
5.3.1 Citronela	49
5.3.2 Cravo-da-índia, manjerição e citronela	50
5.3.3 Cravo-da-índia	51
5.4 Bioensaios com repelente comercial <i>Off! Refresh</i>	52
6. DISCUSSÃO	57
7. CONCLUSÃO.....	63
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	64
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65

1. INTRODUÇÃO

Os arbovírus (*Arthropod-borne virus*) são vírus transmitidos aos seres humanos e outros animais através da picada de artrópodes hematófagos (RUST, 2012). Grande parte dos arbovírus pertence aos gêneros Alphavirus (família Togaviridae) e Flavivirus (família Flaviviridae), tendo ainda as famílias Bunyaviridae, Reoviridae e Rhabdoviridae (WEAVER; REISEN, 2010). Existe mais de 150 tipos de arbovírus que estão relacionados com doenças em seres humanos, sendo a maioria zoonótica (CLETON et al., 2012).

A incidência das arboviroses como a febre amarela, dengue, chikungunya e zika, têm se tornado cada vez mais frequentes em regiões tropicais (RUST, 2012). Além das mudanças climáticas e desmatamentos, outros fatores também estão relacionados à emergência de arboviroses nessas regiões, como o crescimento populacional desordenado, a globalização e migração populacional (MCMICHAEL; WOODRUFF, 2008), além da adaptação dos vetores ao ambiente urbano (GOULD et al., 2017).

O Brasil está situado em uma área predominantemente tropical, apresentando condições ambientais favoráveis para a permanência e disseminação de mosquitos vetores (GREGIANINI et al., 2017), como o *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae), com isso, favorecendo a ocorrência de arboviroses (FIGUEIREDO, 2000).

Doenças transmitidas por insetos hematófagos representam uma ameaça a nível mundial, podendo causar mortes, principalmente em países subtropicais e tropicais (LUPI et al., 2013). Aproximadamente 3,5 bilhões de pessoas no mundo estão em área de risco com possibilidade de contrair doenças causadas por arbovírus, como dengue, zika e chikungunya (CDC, 2018).

1.1 Biologia do *Aedes aegypti*

Ae. aegypti é um mosquito de origem africana e, provavelmente, foi introduzido nas Américas a bordo de navios vindos da Europa no período colonial (RODRÍGUEZ et al., 2002). É um mosquito mundialmente conhecido e suas fêmeas, além de provocarem grande desconforto ao hospedeiro devido à picada, podem transmitir vários patógenos ao homem, como a febre amarela, dengue, chikungunya e zika (EIRAS, 2005).

O mosquito *Ae. aegypti* possui um comportamento que beneficia sua ampla dispersão, estando presente nos ambientes urbanos, preferencialmente no intra e no peridomicílio (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994). Tem alto grau de antropofilia e sua

infestação mais intensa se dá no verão em função da elevação da temperatura e intensificação das chuvas (RODRIGUEZ, 2002).

Os culicídeos apresentam a metamorfose completa: ovo, larva (com quatro estádios), pupa e adulto, sendo os três primeiros aquáticos e apenas o último terrestre (FIG.1). Os ovos são depositados nas paredes de depósitos artificiais de água doce e parada (pneus, vasos, garrafas) (FORATTINI, 2002). Em condições adversas, estes ovos podem entrar em quiescência e permanecerem viáveis no ambiente por um período superior a um ano (SILVA; SILVA, 1999). A larva passa por quatro instares, que varia de 7 a 14 dias. Em seguida, se transforma em pupa e, em 2 ou 3 dias, há a emergência do adulto alado que sobrevive de 30 a 45 dias (FORATTINI, 2002).

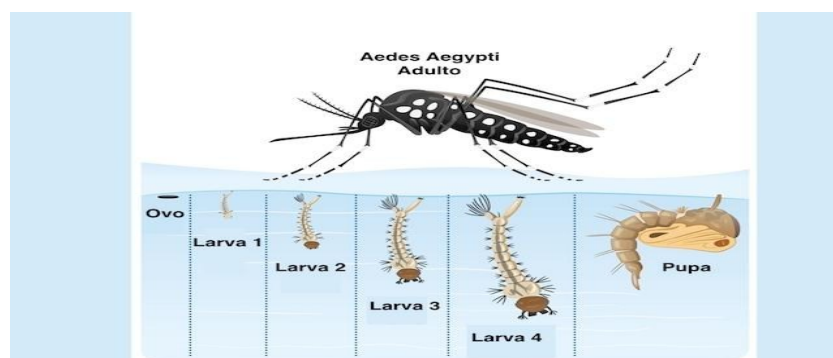


Figura 1 - Ciclo de vida do mosquito *Aedes aegypti*

Fonte: <https://www.tuasaude.com/ciclo-de-vida-do-aedes-aegypti/>

Os adultos, tanto os machos quanto as fêmeas, alimentam-se de néctar presente em flores (TSUNODA et al., 2010). Porém, as fêmeas também se alimentam de sangue, realizando a hematofagia preferencialmente em humanos. Através do repasto sanguíneo que o inseto obtém os aminoácidos que serão utilizados na maturação dos ovos (FORATTINI, 2002).

Além de provocarem desconforto ao hospedeiro devido à picada, as fêmeas de *Ae. aegypti* durante a hematofagia, podem transmitir uma série de patógenos ao homem, como por exemplo os arbovírus da dengue, zika, febre amarela urbana e chikungunya (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2019) (FIG. 2).

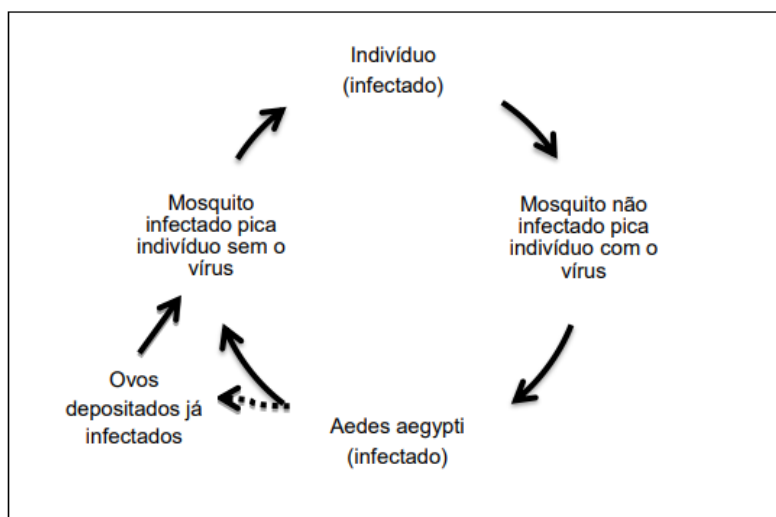


Figura 2 - Ciclo de transmissão de uma arbovirose através da picada de fêmeas de *Aedes aegypti*

Fonte: GONÇALVES (2010). Adaptado por SANTIAGO (2017).

A orientação da fêmea se dá através dos órgãos dos sentidos, como a visão e o olfato, sendo este o responsável pela percepção das substâncias atrativas que são liberadas pelo hospedeiro através da respiração e do suor (FORATTINI, 2002). A pluma de odor emitida por um hospedeiro vertebrado através das secreções e respiração possui diversos compostos orgânicos voláteis, sendo que alguns são fundamentais para a localização do hospedeiro, como o dióxido de carbono (EIRAS; JEPSON, 1994), amônia (GEIER; BOSCH; BOECKH, 1999), ácido lático (GEIER; SASS; BOECKH, 1996) e acetona (BERNIER et al., 2003), sendo mais atraente a presença de diferentes odores do que compostos isolados (GEIER et al., 1999).

1.2 Arbovírus transmitidos por *Aedes aegypti*

Atualmente no Brasil, os arbovírus de maior circulação e importância epidemiológica pertencem aos gêneros *Flavivírus* (Dengue, Zika) e *Alphavirus* (Chikungunya) (FARES et al., 2015). Mais recentemente, a febre amarela, desencadeada por um *Flavivírus*, tem despertado preocupação epidemiológica, com surtos em áreas urbanas.

A dengue é a mais importante arbovirose que afeta o homem, sendo um sério problema de saúde pública no mundo e, em especial, nos países tropicais e subtropicais, onde as condições do meio ambiente favorecem o desenvolvimento e a proliferação do *Ae.*

aegypti, principal mosquito vetor (MINISTERIO DA SAÚDE, 2002). Possui como agente etiológico o vírus dengue (DENV), com quatro sorotipos distintos (MINISTERIO DA SAÚDE, 2019).

Em 2019, foram notificados 1.544.987 (taxa de incidência de 735,2 casos por 100 mil habitantes) casos de dengue com 782 óbitos confirmados, além de 312 óbitos ainda sendo investigados. Os estados de Minas Gerais, São Paulo e Goiás, concentraram 67,9% dos casos no país (MINISTERIO DA SAÚDE, 2020).

O zika vírus (ZIKV) é um dos flavivírus de grande relevância epidemiológica (IOOS et., 2014), ainda que a infecção pelo vírus Zika, possua baixa virulência e letalidade, com relatos de casos em outros países há mais de 60 anos (MINISTERIO DA SAÚDE, 2017).

Foram notificados 10.768 casos (taxa de incidência 5,1 casos por 100 mil habitantes) de ZIKV em 2019 no Brasil. A região Nordeste apresentou a maior taxa de incidência com 9,5 casos/100 mil habitantes e três óbitos confirmados, todos no estado da Paraíba, já a região Sudeste obteve a taxa de incidência de 4,0 casos/100 mil (MINISTERIO DA SAÚDE, 2020).

A chikungunya é uma arbovirose causada pelo vírus chikungunya (CHIKV), da família Togaviridae e do gênero *Alphavirus*. A transmissão se dá através da picada de fêmeas dos mosquitos *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* infectadas pelo CHIKV. A fase crônica da doença, possivelmente incapacitante por anos, representa um problema de saúde pública nos países de clima tropical (CAMPBELL, 2015).

Em 2019, foram notificados no Brasil 132.205 casos (taxa de incidência de 62,9 casos por 100 mil habitantes) de chikungunya, sendo que a região Sudeste apresentou as maiores taxas de incidência, 104,6 casos/100 mil habitantes (MINISTERIO DA SAÚDE, 2020).

O vírus da febre amarela pertence ao gênero *Flavivirus* da família Flaviviridae (do latim flavus = amarelo) e se mantém endêmico ou enzoótico nas florestas tropicais da América e África. Mas, ao longo do tempo, vem causando surtos isolados ou mesmo epidemias (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018). Um exemplo de surto expressivo de febre amarela teve início em dezembro de 2016, estendendo até julho de 2018. Esse surto afetou principalmente os estados da região Sudeste, culminando em 1.376 casos humanos

confirmados e 483 óbitos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019b). Nele destacam-se o estado de Minas Gerais, com 1.002 casos confirmados e 340 óbitos (SES-MG, 2019).

1.3 Metodologias de controle do *Aedes aegypti*

Para combater as arboviroses de maneira efetiva, ações governamentais são necessárias para uma maior eficiência dos planos estratégicos que integram as políticas de saúde. A atualização e deliberação das Diretrizes Nacionais para Prevenção e Controle de Epidemias da Dengue em 2009, que inclui os esforços integrados da esfera pública e popular, definiu a responsabilidade de cada um, para prevenção e controle do vetor. A população juntamente com os Agentes Comunitários de Saúde (ACS) e Agentes de Combate a Endemias (ACE) promovem o combate ao mosquito com o controle mecânico e químico. Durante esta ação, detectam, destroem ou destinam adequadamente os reservatórios naturais ou artificiais de água que poderiam ser depósito para os ovos do mosquito. Durante a visita domiciliar, estes agentes promovem também ações educativas com o objetivo de orientar os moradores ou proprietários dos imóveis a eliminar os criadouros (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

Segundo o Ministério da Saúde (2009), o controle do vetor deve dispor de várias alternativas, adequadas à realidade local, que permitam sua execução de forma integrada e seletiva. Nesse sentido, o controle mecânico visa impedir a procriação do *Ae. aegypti*, com utilização de capas e tampas em depósitos de armazenamento de água, destruição de criadouros e a drenagem de reservatórios (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009; OMS, 1996). Esse tipo de controle é eficaz, uma vez que elimina o criadouro, porém, depende do envolvimento da comunidade (FIOCRUZ, 2016). Já a instalação de telas em portas e janelas reduz a possibilidade de contato do mosquito com o homem (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

O controle biológico tem como objetivo a redução da população vetorial com a utilização de predadores naturais, como larvas de outros dípteros e peixes que se alimentam das larvas e pupas (SHULSE, 2013). É possível também o uso de bactérias entomopatogênicas que liberam toxinas, como bactérias, fungos e parasitas (BRAGA; VALLE, 2007), como por exemplo o uso do *Bacillus thuringiensis israelensis* (BTI) que produz endotoxinas que ao serem ingeridas pelas larvas, provocando sua morte

(MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009). Experiências recentes de sucesso com esta abordagem tem sido descritas para controle de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* (MOHIDDIN; LASIM; ZUHARAH, 2016; SANTOS et al., 2017).

Uma nova forma de controle biológico de maneira natural e autossustentável é feito a partir de cepas específicas de *Wolbachia* (MOREIRA et al., 2009). Trata-se de uma bactéria intracelular presente em 60% dos insetos da natureza, porém ausente no *Ae. aegypti*. Uma vez inserida artificialmente em ovos de *Ae. aegypti*, mosquitos com a *Wolbachia*, ao serem soltos na natureza, se reproduzem com os mosquitos locais e geram *Ae. aegypti*, porém, com a capacidade reduzida de transmitir o vírus da dengue, zika e chikungunya (FIOCRUZ, 2019; MINISTERIO DA SAUDE, 2020).

O controle químico consiste no uso de substâncias químicas que podem ser neurotóxicas, análogas do hormônio juvenil e inibidores de síntese de quitina, para controle da fase larvária e adulta do vetor (BRAGA; VALLE, 2007). É recomendado o uso racional e seguro dos inseticidas para o controle vetorial, pois, seu uso indiscriminado pode causar impactos ambientais e desenvolvimento da resistência dos vetores aos produtos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

Os organofosforados, desde a década de 1970, eram únicos agentes de controle químico usados no Brasil, tanto de larvas quanto de adultos do *Ae. aegypti*. No ano 2000 foi confirmada a resistência ao organofosforado temephos, único larvicida para água potável disponível. Optou-se assim pelo uso de produtos de classes distintas para o controle de larvas e de adultos do mosquito. Passou-se a utilizar um piretróide para adultos e BTI para larvas. A resistência do *Ae. aegypti* ao piretróide, por volta de 2003, fez com que fosse substituído pelo organofosforado malathion. Já a baixa persistência das formulações de BTI para utilização em grande escala fez com que, em 2009, o controle de larvas fosse realizado por reguladores de desenvolvimento dos insetos, notadamente os inibidos de síntese de quitina (VALLE; BELINATO; MARTINS, 2015).

Em momento de surtos ou epidemias, é recomendado a aplicação espacial a Ultra Baixo Volume (UBV), com o objetivo a eliminação de formas adultas de *Ae. aegypti*. O UBV é feito com equipamento portátil costal ou acoplado a veículos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009; OMS, 2009). Este método consiste na fragmentação de uma pequena quantidade de inseticida, formando partículas denominadas “aerossóis (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

Os municípios também podem instituir o controle legal, a partir da aplicação de normas de conduta, regulamentando instrumentos legais de apoio às ações de controle da

dengue. Desta maneira, podem responsabilizar o proprietário pela manutenção e limpeza de terrenos baldios. Além disso, podem assegurar a visita domiciliar do ACE aos imóveis fechados e abandonados (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

1.4 Uso de repelentes na prevenção de arboviroses

Para evitar as picadas de insetos hematófagos, deve-se fazer o uso de repelentes tópicos, usar roupas de proteção, além de evitar habitats infestados (FRADIN, 2001). Os repelentes tópicos têm sido amplamente empregados, reduzindo o contato do homem com esses insetos, o que os torna ferramentas relevantes na luta contra as doenças transmitidas por vetores (PAULA et al., 2004).

Os repelentes de uso tópico são comercializados em diversas formas, seja em creme, em loções, em aerossóis, em óleos e ativos impregnados em roupas (FRADIN, 1998). Alguns fatores podem interferir na eficácia dos repelentes, como a predisposição individual de acordo com substâncias exaladas pela pele (como, por exemplo, o ácido láctico, suor, CO₂), sexo, idade, temperatura ambiente, umidade e velocidade do vento (FRADIN, 2001). Sendo assim, um repelente não protege igualmente todos os seus usuários (FRADIN; DAY, 2002).

A utilização de repelente de insetos de uso tópico tem sido bastante empregada por conferir proteção individual, independentemente dos movimentos de seu usuário (RIBAS; CARREÑO, 2010). Durante as epidemias de arboviroses, ocorre um aumento na procura desses produtos, sendo vendidos em farmácias e supermercados, com marcas variadas e princípios ativos diferenciados, conforme preço e tempo de proteção (SALGE et al., 2016). A adesão ao uso de repelentes como medida de proteção às picadas de *Ae. aegypti* ocorreu principalmente pelas gestantes devido o surgimento do vírus Zika (WYLIE et al., 2016).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) sugere que ao adquirir um repelente comercial, o indivíduo deve ler o rótulo do repelente de insetos e verificar as instruções com relação ao modo de uso, tempo de duração, especificações de aplicação, idade, ativo, entre outros (ANVISA, 2015). Entretanto, a distribuição gratuita de repelentes é uma medida importante para evitar, por exemplo, a febre amarela, dengue, Chikungunya e Zika (MINISTERIO DA SAÚDE, 2018), já que repelentes comerciais não são amplamente utilizados em áreas endêmicas muitas vezes por não serem acessíveis à população carente. Além da condição financeira, algumas pessoas não são favoráveis ao uso de repelentes sintéticos (TAN et al., 2019).

Por isso, segundo o Ministério da Saúde (2018), em 2017 foram distribuídos frascos de repelentes a gestantes beneficiárias do Programa Bolsa Família. Em 2018, foi ampliado o público-alvo, distribuindo-os para indivíduos em situação de vulnerabilidade que vivem em áreas endêmicas, pessoas com contraindicação à imunização da febre amarela, além de agentes comunitários de saúde expostos à situação de risco.

Atualmente, com a acessibilidade à internet e às redes sociais, a tendência de utilização de repelentes vem sendo seguida em massa, como milhões de pessoas assistindo e compartilhando conteúdos de como preparar repelentes feitos em casa (KULMA et al., 2018). Em decorrência destes fatores, há um número crescente do uso de repelentes caseiros e naturais. No Brasil, o repelente caseiro feito com os botões florais de *Syzygium aromaticum*, o cravo-da-índia, é um dos mais populares, principalmente contra picadas de mosquitos o *Ae. aegypti* (AFFONSO et al., 2012; TAN et al., 2019).

1.5 Compostos químicos de repelentes comerciais

Repelentes comerciais se utilizam de alguns compostos base em suas formulações para repelir o *Ae. aegypti*. A seguir serão vistos, com base nos objetivos da presente pesquisa, alguns compostos químicos relacionados aos repelentes.

1.5.1 DEET

Em 1946, o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos da América (EUA) desenvolveu o DEET (N,N-dietil-3-metilbenzamida ou N,N-dietil-m-toluamida) para uso militar, em áreas afetadas por insetos. Depois de novos estudos, foi lançado no mercado para o público em 1956 (RIBAS; CARREÑO, 2010). O DEET possui a fórmula molecular $C_{12}H_{17}NO$, peso molecular 191,26, incolor, densidade 0,997 a 1.000 g/ml inscrito no *Chemical Abstract Service* (CAS) sob nº 134-62-3 (ANVISA, 2016).

O DEET é um dos produtos sintetizados quimicamente mais utilizados (FRADIN; DAY, 2002; OMS, 2008). A eficácia do DEET está relacionada com a concentração da substância e a quantidade que é aplicada, garantindo a proteção contra uma variedade grande de dípteros e considerado o padrão ouro (BROWN; HEBERT, 1997; FRADIN, 1998; ISLAM, et al., 2016). Não se faz necessário o uso de altas concentrações de DEET, para uso em geral, mas em áreas com grande chance de transmissão de doença, situações de altas temperaturas, umidade, chuva, e dificuldade de reaplicação seriada (BROWN;

HEBERT, 1997; FRADIN, 1998), recomenda-se o uso de produtos com maior quantidade de princípio ativo (FRADIN, 1998).

No Brasil, a maioria dos produtos destinados a crianças e adultos contém DEET <10% (STEFANI et al., 2009). A Gerência Geral de Cosméticos da ANVISA (GGCOS/ANVISA) é o órgão que estabelece as normas e condições específicas para o uso de todos os repelentes registrados no Brasil e recomenda a utilização de repelentes em crianças de acordo com a fórmula do produto. O DEET está indicado para crianças de dois a doze anos para apenas três aplicações ao dia. Concentrações superiores a 10% são indicadas somente para maiores de doze anos (BRASIL, 2015).

1.5.2 Icaridina

Icaridina (1- ácido piperidinocarboxílico, 2- (2-hidroxiethyl) -1-metilpropiléster) é um repelente derivado da pimenta (do gênero *Capsicum*) também conhecida como picaridina ou KBR 3023, incolor e quase inodora. O composto foi desenvolvido pela empresa Bayer na década de 1980 e comercializado na década de 1990 na Europa, com forma molecular $C_{12}H_{23}F_9NO_3$ (ISLAM, 2017). Foi aprovada para uso como repelente de insetos nos EUA em 2005 e no mesmo ano no Brasil (RIBAS; CARRENO, 2010).

A sua concentração de 10% confere proteção por um período de três a cinco horas e, a 20%, de oito a dez horas (NAUCKE et al.; 2007). Quando comparado ao DEET, por um tempo maior de 10 horas de exposição, se mostra mais eficaz (COSTANTINI et al., 2004).

Em 2009, havia apenas uma única marca no Brasil que disponibilizava o produto. Após a epidemia do ZIKV, diversos repelentes a base de icaridina estão disponíveis (como por exemplo SBP, Exposis e Henlau) e seu uso é recomendado para crianças acima de dois anos (STEFANI et al., 2009). Segundo a ANVISA, no Brasil não há qualquer impedimento para a utilização deste ativo por mulheres grávidas, desde que a marca utilizada seja devidamente registrada na Anvisa e que sejam seguidas as instruções de uso descritas no rótulo (ANVISA, 2015).

1.5.3 IR 3535

O etil butilacetilaminopropionato, com fórmula molecular $C_{11}H_{21}NO_3$ e IUPAC 3-(N-acetyl-N-butyl), também conhecido como IR 3535 ou AI 3-70763, foi criado utilizando

como modelo molecular o aminoácido beta-alanina. É um líquido incolor a levemente amarelado, quase inodoro, utilizado como repelentes para a pele e vestuário. Pode ser usado por gestantes e crianças, pois possui bom perfil de segurança. Testes no Brasil, com o IR3535 e o KBR 3023, mostram que a uma concentração entre 10 e 20%, apresentam cerca de seis horas de proteção contra picadas de fêmeas de *Ae. aegypti* (NAUCKE, 2007).

1.6 Óleos essenciais das plantas e seu uso como repelentes

Os óleos essenciais das plantas são metabólitos secundários extraídos de diversas partes de plantas aromáticas (OUSSALAH et al., 2007). São misturas complexas de constituintes voláteis que conferem aromas e sabores característicos. Quando estão em temperatura ambiente, apresentam-se como líquidos oleosos de alta volatilidade. De maneira geral, os óleos essenciais são instáveis, especialmente na presença de luz, calor, umidade, ar e metais (SIMÕES et al., 1999).

Geralmente, os óleos essenciais são incolores ou ligeiramente amarelados e a composição química de um óleo essencial extraído de uma mesma espécie vegetal pode variar significativamente, de acordo com a época do ano, condições climáticas e tipos de solo (AMER, 2006). Os principais compostos que formam um óleo essencial são derivados terpênicos, como os monoterpenos oxigenados, monoterpenos, sesquiterpenos, sesquiterpenos oxigenados (MEIRELES, 2009; SOLÓRZANO-SANTOS; MIRANDA-NOVALES, 2012) e fenilpropanóides (SOUZA JÚNIOR et al., 2009).

Hoje sabe-se que os que possuem os maiores potenciais como repelentes de insetos são os de citronela, cravo, verbena, cedro, lavanda, pinho, canela, alecrim, manjerição e pimenta da Jamaica (TAJUDDIN et al., 2004).

Os gêneros de plantas mais utilizados para a produção de óleos essenciais para repelir insetos são: o *Cymbopogon*, onde se encontra a citronela; o *Ocimum*, do manjerição; e *Eucalyptus*, do eucalipto. Alguns dos compostos presentes nestas misturas incluem cânfora-pineno, limoneno, citronelol e timol (NERIO et al., 2010). Os óleos essenciais do eucalipto e do manjerição, por exemplo, já apresentaram em testes um nível de repelência de 70% respectivamente. Já o óleo de citronela, a 5 e 10% apresentou índices médios de proteção de quase 100% (BUENO; ANDRADE, 2017).

Além de ação repelente, outra das principais características de um óleo essencial são sua fragrância e suas atividades antimicrobianas e antioxidantes. Por isso, são largamente utilizados em indústrias de perfume, indústrias farmacêuticas e indústrias de cosméticos (SILVEIRA et al., 2012).

1.6.1 Cravo-da-índia

O *S. aromaticum*, ou cravo-da-índia, como é conhecido popularmente, pertence à família Myrtaceae e é nativo das ilhas Molucas na Indonésia (PAOLI et al., 2007). O nome cravo, em português, deriva da palavra latina *clavus*, que significa prego, devido sua aparência (KIPLE; ORNELAS, 1999). É o botão floral seco da planta que é frequentemente usado na culinária e medicina popular (FIG. 3).



Figura 3 - Botões florais de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*)

Fonte: <https://yamanutri.com.br/produto/cravo-da-india-flor/>

Trata-se de uma planta de porte arbóreo que pode atingir de 8 a 10 metros de altura. Suas folhas possuem características ovais e aromáticas e as flores são pequenas, dispostas em corimbos terminais em um tom verde-amarelado. Quando estão com a cor avermelhada, estão prontas para coleta. Atualmente, estão disponíveis no mercado nacional produtos derivados do cravo-da-índia, como o óleo essencial puro ou produtos derivados dele, cuja principal aplicação é como anestésico local em odontologia (PAOLI et al., 2007).

O óleo essencial possui como componentes o (a) β -cariofileno (inseticida, inibidor de edemas, repelente, anti-inflamatório, antitumoral, antialérgico) (VEIGA; PINTO, 2002); (b) α -humuleno (anestésico e anti-inflamatório) (PAOLI et al., 2007); e (c) eugenol, como principal constituinte e que possui grande parte dos efeitos farmacológicos atribuídos à

planta (antiviral, antiúlcera, afrodisíaco, antioxidante, antitumoral, anestésico, anti-inflamatório, antimicrobiano e inseticida) (PRAMOD et al. 2010, TAN et al., 2019).

Testes de repelência com essa planta têm conseguido bons resultados. Por exemplo, com uma amostra de 0,1 ml de óleo essencial do cravo-da-índia em concentração de 10%, é possível a repelência de 100% de *Ae. aegypti* durante 30 min. Com 50% de concentração do óleo essencial, o resultado obtido atinge a 70 min (TRONGTOKIT et al., 2005). Testes com repelentes caseiros a base do mesmo composto, feitos no Brasil, mostraram que este confere 63% de proteção contra picadas do mosquito *Ae. aegypti*. Dessa forma, o uso do repelente caseiro a base de cravo-da-índia parece eficiente na prevenção de picadas de mosquitos. Além disso, é acessível à população carente e de fácil preparação (AFFONSO et al., 2018).

1.6.2 Manjerição

Pertencente à família Lamiaceae, o gênero *Ocimum* compreende mais de 60 espécies. O manjerição, *O. basilicum* (FIG. 4), é uma planta medicinal e aromática, originária da Índia (RODRIGES et al, 2005). Trata-se de uma erva perene que cresce em várias regiões do mundo e é também conhecida como alfavaca, alfavaca-cheirosa, basílico ou manjerição (SAJJADI, 2006). Esta espécie está distribuída nas regiões tropicais e subtropicais da Ásia, América Central, América do Sul e África, considerado o principal centro de diversidade deste gênero (PATON, 1992).



Figura 4 - *Ocimum basilicum*

Fonte: PAULA, 2019.

O manjeriço foi introduzido no Brasil durante a colonização europeia. Sua implantação intensificou-se após a chegada dos imigrantes italianos, já que é uma planta muito utilizada na culinária desse povo (REIS et al, 2007).

Devido à venda das folhas e da extração e comercialização do óleo essencial, o manjeriço se torna uma boa possibilidade de cultivo, gerando renda para os agricultores, especialmente em países em desenvolvimento (RUNYORO et al., 2010). No nordeste do Brasil, seu cultivo é feito em grande escala para a produção de óleo essencial, sendo também produzido em outras regiões brasileiras, principalmente por pequenos produtores, para venda das folhas verdes aromáticas (MAY et al., 2008).

A planta possui o caule ereto e ramificado, podendo atingir de 50 a 100 cm de altura. Suas folhas são verdes ou roxas, podendo ser lisas ou onduladas. As flores são pequenas com tons de branco, lilás ou vermelho. O manjeriço com folhas verdes é o mais conhecido e cultivado (SIMON, 1985).

Diversos componentes químicos de manjeriço foram identificados e sua classificação é feita de acordo com a concentração das substâncias químicas. Com uso terapêutico apresenta o linalol, sendo o composto mais abundante, 1,8-cineol, eugenol e cânfora. Já os compostos tóxicos são o chavicol, o estragol e o metil-eugenol (BASER e BUCHBAUER, 1989). Em relação ao eugenol, presente tanto no cravo-da-índia como no manjeriço, este possui baixas concentrações, quando comparado aquele, sendo que o *S. aromaticum* possui 90% de eugenol em sua composição (HO et al., 2006).

As folhas do *O. basilicum* são popularmente utilizadas em afecções de pele, no controle dos níveis de açúcar no sangue, como antiespasmódicos e analgésicos, para a pressão sanguínea, para redução de febre. Há relato de ter ação bactericida, fungicida e anti-inflamatória (MATOS, 2000), além de atividade de repelência de insetos (GOVINDARAJAN et al., 2010).

O óleo essencial do manjeriço pode ser extraído de folhas e ápices que possuam inflorescências. Comumente este processo é realizado por meio de hidrodestilação para obtenção de linalol. Atualmente este produto vem ganhando espaço também na agricultura devido à suas propriedades antimicrobianas, inseticidas e repelentes, sendo assim largamente usado como composto de partida para várias sínteses importantes, como a do acetato de linalila, muito útil em operações curativas, preventivas e na conservação de grãos (FERNANDES et al., 2004).

Quanto ao uso da planta como repelente contra picadas de fêmeas de *Ae. aegypti*, testes em campo não confirmaram sua repelência. Já em laboratório os testes foram

satisfatórios, com resultado de aproximadamente 50% de repelência. Além disso, uma justificativa para falta de eficiência em campo é que nele não é possível controlar o vento, luz solar, temperatura e umidade, sendo que estes fatores podem impactar significativamente na resposta comportamental do *Ae. aegypti* (SATHANTRIPHOP et al., 2015).

1.6.3 Citronela

Cymbopogon winterianus, conhecido popularmente como capim-citronela, é uma planta perene, de origem indiana, pertencente à família Poaceae, presente em regiões tropicais e subtropicais do mundo e cultivada em países como Sri Lanka, Malásia, Guatemala, Brasil e México (MARCO, 2007). Suas folhas são inteiras, estreitas e longas com bordas ásperas e cortantes, podendo atingir até 1 metro de altura (CASTRO; CHIMALE, 1995) (FIG. 5).



Figura 5 - *Cymbopogon winterianus*

Fonte: PAULA, 2019.

Devido sua propriedade medicinal e aromática, é grande a procura pelo seu óleo essencial, tanto no mercado interno, quanto para exportação (ROCHA *et al.*, 2000). Esse óleo, extraído de suas folhas, é rico em aldeído citronelal, com pequenas quantidades de geraniol, citronelol e ésteres. O citronelol é excelente aromatizante de ambientes, tem efeito repelente conhecido contra variedade de insetos, apresentando potencial atividade acaricida, antimicrobiana e antifúngica (MATTOS, 2000; BLANK et al., 2007).

A capacidade de repelência do óleo essencial da planta ao *Ae. aegypti* já foi demonstrada em testes em gaiolas, realizados em laboratório, para a espécie *Cymbopogon*

nardus, em concentrações a partir de 50% por até 60 minutos. Na concentração de 100%, este óleo essencial repele o mosquito por até 120 min (TRONGTOKIT, et al., 2005). Amer e Mehlhorn (2006) demonstraram que o óleo essencial da citronela *C. winterianus* tem capacidade parecida de repelência, assim como o de *O. basilicum*.

1.7 Mecanismo de repelência do DEET contra mosquitos

Desde a década de 1970, o DEET é um composto presente nos principais repelentes, porém, a forma de ação molecular era desconhecida (DENNIS et al., 2019). No final dos anos 90, os receptores olfativos de insetos foram identificados, dando início a busca pelo alvo molecular do DEET, já que uma melhor compreensão de como os odores repelem os mosquitos pode levar à geração de repelentes mais aprimorados (BOHBOT et al., 2007). Atualmente, o modo de ação do mecanismo de repelência ainda não está totalmente elucidado, mas alguns fatores têm sido esclarecidos, sobretudo utilizando-se testes com o DEET (DENNIS et al., 2019).

Alguns autores acreditam que os repelentes de mosquitos podem envolver diferentes mecanismos (DEGENNARO, 2015; DENNIS et al., 2019). Pesquisas mostram, por exemplo, que o DEET pode interferir nos neurônios receptores olfativos dos mosquitos, que são sintonizados na detecção de semioquímicos que tem como função induzir e facilitar o comportamento de busca de hospedeiros (DITZEN et al., 2008). Outros estudos, ainda com o DEET, sugerem que ele pode ser detectado ativamente por neurônios receptores olfativos nas antenas ou palpos maxilares (SYED; LEAL, 2008; STANCZYK et al., 2010).

Em relação aos mecanismos olfativos e de contato da repelência para os mosquitos, o DEET tem pelo menos dois alvos moleculares: Receptores Odorantes (ORs) que mediam o efeito do DEET à distância, e os quimiorreceptores que mediam a repelência ao contato (DEGENNARO, 2015).

Os insetos possuem neurônios quimiosensoriais em suas partes bucais, patas e até mesmo em suas asas (STOCKER, 1994). Já foi sugerido que há uma ação multimodal do DEET, atuando por três mecanismos distintos: olfato, ingestão e contato. Com bioensaios feitos em laboratório, é possível mostrar que o mecanismo de contato com DEET é mediada exclusivamente pelos segmentos tarsais das patas das fêmeas de *Ae. aegypti* e não pela probóscide. Portanto, os neurônios e receptores quimiosensoriais que detectam DEET devem estar presentes no tarso das seis pernas (DENNIS et al., 2019).

O ácido láctico, principalmente quando associado a outros caïromônios, como o dióxido de carbono, pode atrair mosquitos. Testes eletrofisiológicos mostraram que o DEET diminui a sensibilidade dos neurônios receptores olfativos aos odores, reduzindo as respostas dos neurônios estimulados pelo ácido láctico (MCMENIMAN et al., 2014). Por meio de testes comportamentais em repelômetro também já se confirmou que o DEET inibe a atração de *Ae. aegypti* ao ácido láctico, classificando assim o DEET como um inibidor comportamental que reduz a atração, ao invés de ativar o comportamento de esquiva (DOGAN et al., 1999).

E apesar do ácido láctico e outros odores do hospedeiro apresentarem alta volatilidade em comparação ao DEET, ainda assim este composto é eficaz na fase de vapor. Para elucidar o modo de ação deste composto, estudos feitos em laboratório sugerem três hipóteses: a hipótese da inibição, a de confusão e a de odor e repelência (DEGENNARO, 2015) (Figura 6).

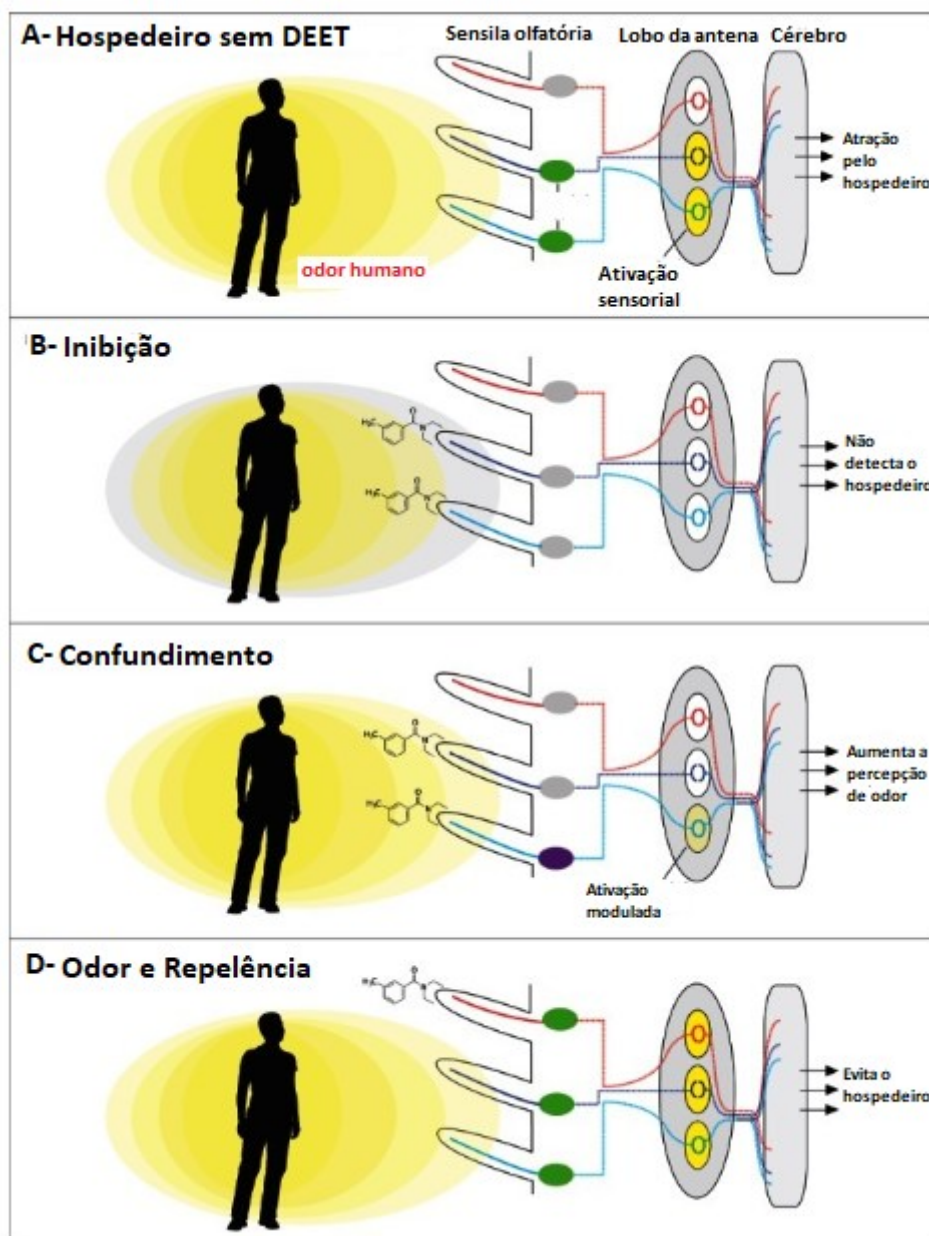


Figura 6 - Comportamento do mosquito modulado pelo DEET

Fonte: DEGENNARO, 2015, adaptado pela autora da pesquisa, 2019.

Na ausência do DEET, a pluma de odor humano (em amarelo) liga-se aos receptores olfativos específicos (azul e azul claro), ativando neurônios receptores olfativos (ORNs) (em verde), que por sua vez ativa glomérulos no lobo antenal (amarelo), levando a atração do hospedeiro (Figura 6-A). O DEET inibe o odor do hospedeiro ao ligar aos receptores olfativos, bloqueando a ativação de ORNs (cinza) (Figura 6-B). O DEET modula a ativação do receptor olfativo pelo odor humano (azul e azul claro), com isso levando a alterações na ativação do neurônio do receptor olfativo (cinza e roxo) (Figura 6-C). E por

fim, o DEET se liga a um receptor olfativo específico (vermelho) que ativa um circuito neural que causa aversão, substituindo o padrão de ativação neural provocado por sinais atraentes detectados por outros ORNs (Figura 6-D). A molécula representada é do DEET.

1.8 Parâmetro e formas de avaliação de repelentes

Desde a década de 1940 já era percebida a necessidade de padronizar os processos de testagem de repelentes (CRISTOPHERS, 1947) e atualmente ainda é um tema em discussão (OBERMAYR et al., 2010). Sabe-se que, ao se realizar bioensaios em laboratório para avaliar os repelentes, fatores bióticos e abióticos (como por exemplo a idade dos mosquitos, densidade populacional, forma e tamanho da gaiola) influenciam o resultado (BARNARD et al., 1998). Nesse sentido, a Organização Mundial da Saúde (OMS) e a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos da América (EPA) criaram diretrizes para padronizar os testes de eficácia de repelentes. Estas diretrizes informam os procedimentos que devem ser feitos ao realizar bioensaios tanto em laboratório como em campo (ANVISA, 2018).

Para os testes, a criação dos mosquitos teve ser feita em condições padronizadas para garantir a confiabilidade e a reprodutibilidade dos dados. Os mosquitos devem ser criados a $27 \pm 2^\circ \text{C}$ de temperatura, $\pm 80 \pm 10\%$ de umidade relativa e com um fotoperíodo 12:12 (claro:escuro) (OMS, 2009).

Para testes de repelentes comerciais, são utilizados três ou mais espécies de mosquitos antropofílicos, de preferência *Ae. aegypti*, *Culex quinquefasciatus*, *Anopheles stephensi*, *Anopheles albimanus* ou *Anopheles gambiae* (OMS, 2009; EPA, 2017) A idade das fêmeas dos mosquitos deve ser de preferência entre 5 a 7 dias após a emergência, sendo alimentadas somente com solução de açúcar (OMS, 2009).

Esses parâmetros estão de acordo com o Art. 4º da RDC 19/2013, que formaliza a necessidade de comprovação de eficácia de produtos cosméticos repelentes de insetos por parte das empresas produtoras, sendo que essa deverá apresentar, no ato da solicitação do registro do produto, estudos de sua eficácia, efetuados de acordo com as diretrizes da EPA e da OMS ou outras metodologias validadas e reconhecidas internacionalmente (ANVISA, 2018).

Já as gaiolas para o teste dos repelentes, os parâmetros internacionais estabelecem que elas devam ser feitas com estrutura metálica para facilitar a descontaminação. A base e

a parte superior devem ser sólidas, e um dos lados deve ser feito com uma folha de acrílico transparente (para permitir a visualização). A parte da frente deve ter uma manga de tecido para permitir a inserção do antebraço do voluntário no momento do teste. É recomendável o uso de duas gaiolas, sendo que uma gaiola é designada para testar o repelente e a outra para o controle positivo. Além disso, cada gaiola deve conter de 200 a 250 fêmeas (OMS, 2009). Naquela que será utilizada como controle positivo, indica-se um repelente comercial que contenha o DEET como ingrediente ativo (OMS, 2009; EPA, 2008).

Para testar repelentes comerciais no Brasil, as especificações mínimas aceitas pela ANVISA são de gaiolas de 35 cm x 35 cm x 35 cm, com densidade populacional de 1 mosquito por 1160 cm³. Além disso, é necessária a utilização de duas espécies de mosquitos antropofílicos, em testes separados, sendo um deles obrigatoriamente *Ae. aegypti* e a outra preferencialmente *Cu. quinquefasciatus*, *An. stephensi*, *An. gambiae* ou *An. albimanus* (ANVISA, 2018).

Outro importante ponto é que o teste de repelentes deve ser feito em seres humanos, pois é esse o usuário final, produzindo assim resultados relevantes para as condições reais de uso. Esses voluntários devem ser adultos, com um número igual para os do sexo masculino e feminino, com sensibilidade leve ou inexistente a picadas de mosquitos (OMS, 2009; EPA, 2008).

A área de teste do voluntário deve ser lavada com sabão sem perfume, enxaguando com água e seco com uma toalha. Vários fatores podem alterar a atratividade aos mosquitos, afetando desta forma, os resultados dos ensaios de repelência. Por isso, os voluntários do teste não devem ser fumantes, ou pelo menos não ter fumado 12 horas antes do experimento. Além disso, são orientados a evitar o uso de fragrâncias e produtos repelentes por 12 horas antes e durante o teste (OMS, 2009).

Durante o teste, o antebraço do voluntário é inserido na gaiola e as mãos são protegidas por luvas a fim de evitar picadas (OMS, 2009). Porém isto gera um desconforto para o voluntário, pois o antebraço fica sujeito às picadas dos mosquitos. Além disso, ao inserir o antebraço na gaiola, não há uma padronização referente ao tamanho da área de teste (OBERMAYR et al., 2010).

Com objetivo de resolver esta situação e outras questões que podem comprometer os experimentos, Obermayr e colaboradores (2010) desenvolveram a gaiola para testar repelentes denominado de BG-Cage. Este novo modelo de gaiola permite que a área de tratamento no antebraço do voluntário seja padronizada através de uma janela no qual ocorre o teste. Esta janela de teste não expõe diretamente o antebraço do voluntário,

evitando as picadas. Desta forma, permite uma melhor confiabilidade nos resultados e oferece um maior conforto ao voluntário. A densidade populacional de mosquitos na BG-Cage é menor, com 1 mosquito por 900 cm³, com apenas 30 fêmeas de mosquito por gaiola. Este modelo de gaiola possui um sistema de ventilação de ar quente e úmido, que reduz o acúmulo de odores do hospedeiro e de substâncias ativas em seu interior (OBERMAYR et al., 2010).

Para a estimativa de dose efetiva, o repelente deve ser diluído em etanol e em seguida aplicado 1 ml da dose a ser testada no antebraço do voluntário com auxílio de uma pipeta. Devem ser testadas no mínimo cinco doses crescentes de cada repelente testado. Em cada voluntário, é recomendável realizar pelo menos três repetições, com lotes diferentes de mosquitos, para cada dose testada. E cada teste deve durar 3 minutos (OMS, 2009).

Com intuito de verificar se as fêmeas de *Ae. aegypti* estão ativas para a realização dos testes de comportamento de procura do hospedeiro para a hematofagia, é realizado um teste de sondagem que antecede cada bioensaio. Para o teste de sondagem, deve conter de 50 a 100 fêmeas de mosquitos e a mão do voluntário deve estar protegida com luvas que impeçam a sua picada. O antebraço controle do voluntário é inserido com 1 ml do diluente a 20% e, em seguida, é contado o número de pousos das fêmeas no antebraço do voluntário. Para que o teste seja validado, no mínimo 10 mosquitos precisam sondar por 30 segundos. Este procedimento é repetido a cada dose adicional de repelente, para verificar se as fêmeas dos mosquitos estão ativas (OMS, 2009).

A proteção do repelente (p) é calculada através da fórmula:

$$p = 1 - (T / C) = (C - T) / C$$

Na fórmula, T é o número de pousos ou sondagem no braço tratado, C é o número de pousos e sondagens no braço não tratado do mesmo indivíduo. Para a estimativa do tempo de proteção do repelente (CTP), cada teste deve ser repetido a cada 30 minutos após a aplicação, chegando até 8 horas de teste (OMS, 2009).

1.9 A importância da mídia no comportamento humano

Com os avanços tecnológicos recentes, e com a velocidade de seus surgimentos e evoluções, o mundo vive o que muitos autores chamam, de “A era da informação”. Tem-se

hoje celulares avançados, com funções diversas, *tablets* e computadores, proporcionando ao ser humano formas de comunicação ímpares. E por meio desses aparelhos, a internet alcançou mundialmente a sociedade de maneira mais veloz do que qualquer outro meio de comunicação na história (CASTELLS, 2007).

Um dos maiores fenômenos da internet é o *YouTube*. Criado em 2005 por três jovens programadores, ele é uma plataforma e um agregador de informação que hospeda e compartilha arquivos audiovisuais com a participação dos internautas como provedores de informação, não sendo assim o *Youtube* o produtor de conteúdo. Já em 2006, o *YouTube* foi considerado como a melhor invenção do ano pela revista norte-americana Times (G1, 2006), mesmo ano em que foi comprado pela empresa Google. Um ano depois, em novembro de 2007, o *YouTube* era o site mais visitado no Reino Unido e, em 2008, estava entre os dez sites mais visitados no mundo (BURGESS; GREEN, 2009).

Dada sua imensa influência, não é possível conceber a troca de informação digital sem o *YouTube*. Ele permite a postagem de vídeos independentemente da qualidade ou do assunto tratado (exceto pornográfico) e o acesso a estes conteúdos são gratuitos. Esses vídeos são visualizados por milhões de pessoas como fonte de informação e entretenimento. Apesar do principal recurso disponível ser a postagem dos conteúdos, os comentários do público ganham uma grande repercussão, incentivando a interação dos usuários, fazendo com que estes possam difundir sua opinião, gerando uma integração entre o público e o autor (MEILI, 2011; SERRANO; PAIVA, 2008).

Por isso essa mídia é vista como uma importante ferramenta de informações em saúde, e por isso careça grande atenção. Em um estudo sobre a interferência dos meios de comunicação na saúde, foi notado que o *Youtube* contribuía para veiculação de informações benéficas, como por exemplo, a prevenção de doenças, mas também vinha persuadindo seu público a comportamentos de forma prejudicial (SILVA; LINHARES, 2016).

Ainda que os meios de comunicação exerçam influência na sociedade e na cultura, há, porém, pouco conhecimento sobre função social da mídia em relação à saúde e, em particular, sobre doenças transmitidas por vetores biológicos (VILLELA; NATAL, 2014). Portanto, é necessário compreender se os conteúdos relacionados a prevenção de doenças que estão disponíveis nas mídias, são de fato eficazes (ALMEIDA, 2012).

1.10 Repelentes caseiros: mito ou verdade?

Plantas medicinais são utilizadas pela população desde as antigas civilizações. A partir de experiências adquiridas, o ser humano foi aprendendo a conhecer as propriedades

medicinais de cada vegetal e a utilizar como recurso terapêutico para tratamento e prevenção de doenças, transmitindo este conhecimento de geração em geração (TESKE; TRENTINE, 2001). Não só isso, estratégia de uso de plantas aromáticas, a fim de repelir insetos, também é usada por outros animais. Primatas, por exemplo, tem o hábito de esfregar sua pelagem em plantas do gênero *Citrus* no momento em que há uma grande atividade dos mosquitos hematófagos (VALDERRAMA, et al., 2000).

No Brasil, o uso de plantas medicinais como base terapêutica é uma tendência generalizada na medicina popular. Em 2006, o Ministério da Saúde liberou o decreto nº 5.813, que aprova a política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos. Um dos objetivos desse decreto é a promoção e o reconhecimento das práticas populares do uso de plantas medicinais e remédios caseiros (MINISTERIO DA SAUDE, 2006). Entretanto, ainda que o uso de algumas plantas com propriedades farmacológicas possa ser benéfico à saúde, se não for usada de maneira adequada, pode desencadear problemas como reações alérgicas e intoxicação, ou ainda, a falsa sensação de cura (PEREIRA; DEFANI, 2009).

Em 2016, o Ministério da Educação lançou um projeto intitulado “Desafios da Educação ZikaZero” para escolas de todo o país. Esta iniciativa tinha como objetivo premiar projetos educacionais voltados ao combate ao *Ae. aegypti*. A escola premiada foi da região metropolitana de João Pessoa (PB), no qual uma professora de Química desenvolveu um projeto com seus alunos para a produção de um repelente caseiro a base de cravo-da-índia e álcool. Este repelente foi testado pela própria professora em sua residência com seus familiares e, a partir deste teste, ela concluiu que o repelente era eficiente. De acordo com a docente, uma das justificativas da eficiência do produto se devia ao odor forte, liberado pelo cravo-da-índia, que tem a capacidade de afastar os mosquitos de *Ae. aegypti*.

Ainda que louvável, é preciso ter em conta os problemas metodológicos em relação à comprovação da eficácia desse repelente, bem como outros produtos feitos desse modo. Tanto que em 2005 a Confederação Nacional das Cooperativas Médicas (Unimed) produziu um informativo alertando sobre os riscos à saúde que algumas crenças populares podem ocasionar, com os seguintes dizeres:

Você já deve ter escutado por aí que tomar vitamina B ajuda a espantar o mosquito da dengue, né? Ou que a própolis tem o poder de eliminar o vírus do organismo contaminado, além de atuar como repelente e tratar a febre e a dor de cabeça, sintomas comuns da doença? Então fique atento, pois essas são algumas receitas que caíram na boca do povo e podem ajudar a aumentar o número de pessoas infectadas. Outra “fórmula mágica” que tem sido bastante disseminada nesse sentido é a mistura de cânfora, cravo-da-índia e outros ingredientes. Há ainda a citronela, planta que ficou conhecida por fornecer matéria-prima para a

fabricação de repelentes contra mosquitos “comuns”, e que também está sendo colocada na lista popular de “remédios” que afugentam o mosquito da dengue. Assim como nos outros casos, não há estudos que comprovem seu efeito contra o *Aedes*.

Portanto, vê-se uma instituição médica chamando atenção para o fato de que fazer o uso de repelentes caseiros sem comprovação científica de sua eficácia não é recomendável. O problema mais sério em relação a isso é que o indivíduo pode ter uma falsa sensação de proteção, estando desta forma exposto às picadas de mosquitos hematófagos e às arboviroses. E tais eventos só reforçam a importância de se ter meios de informação efetivos e mais estudos sobre a eficiência de repelentes desse tipo.

2. JUSTIFICATIVA

As doenças de maior caráter epidemiológico, econômico e sanitário transmitidas pelo *Ae. aegypti* são a dengue, o zika e a chikungunya. Mais recentemente surtos de febre amarela tem causado preocupação, tanto pela gravidade clínica da doença e sua elevada letalidade, bem como pelo seu potencial epidêmico (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019). Já no caso da dengue, sua forma hemorrágica, por exemplo, é responsável por hepatomegalia e insuficiência cardíaca, podendo evoluir para a morte (MINISTERIO DA SAÚDE, 2002). Há, por outro lado, dentre outros problemas de saúde, a relação da microcefalia com a infecção pelo ZIKV e casos da síndrome congênita (COES, 2016). A chikungunya, na fase aguda, os sinais e sintomas são clinicamente parecidos aos da dengue. A principal manifestação clínica que a difere são as fortes dores nas articulações. Já na fase crônica, possivelmente incapacitante por anos, a chikungunya representa um problema de Saúde Pública nos países de clima tropical (CAMPBELL, 2015).

Por isso, metodologias de controle contra o mosquito precisam ser propostas, além de haver constante necessidade de desenvolver novas ferramentas. A utilização de repelente pela população é uma das estratégias mais utilizadas a fim de evitar a transmissão de doenças pelos mosquitos e também inibir as picadas que causam desconforto e alergia (RIBAS; CARREÑO, 2010). Alguns fatores podem interferir na eficácia dos repelentes, como a predisposição individual de acordo com substâncias exaladas pela pele, sexo, idade, temperatura ambiente, umidade e velocidade do vento (FRADIN, 2001).

A maioria dos produtos comerciais que utilizam compostos como o DEET tem custos elevados e seu acesso é dificultado para a população carente. Além da condição financeira, algumas pessoas não são favoráveis ao uso de repelentes sintéticos (TAN et al., 2019). Por isso plantas são usadas para produção de repelentes naturais e caseiros, não só em comunidades rurais, mas também em cidades. O uso popular deste tipo de repelente se deve a alta disponibilidade de material vegetal, baixo custo de fabricação e por ser um produto natural (AFFONSO et al., 2012).

Atualmente, a acessibilidade à internet e às redes sociais faz parte da vida cotidiana, no qual receitas de repelentes caseiros vêm sendo seguida em massa, amplamente divulgadas em mídias sociais e televisão com pouca ou nenhuma prova de eficácia (KULMA et al., 2018). Isto é, até o momento há poucos estudos científicos que comprovem a eficácia ao usar os repelentes caseiros para o *Ae. aegypti* (AFFONSO et al., 2018; BUENO; ANDRADE, 2010; TRONGTOKIT et al., 2005).

Um grande problema disso é que a crença na veracidade de eficácia, aliada ao fato dessas receitas estarem sendo divulgadas em mídias sociais, podem dar aos indivíduos a falsa impressão de estarem protegidos, quando na verdade estão expostos a picadas de insetos que se alimentam de sangue e, por consequência, às doenças associadas (VILLELA; NATAL, 2014). Por isso, é de fundamental importância que pesquisadores busquem testar a eficácia destes repelentes e divulguem para sociedade os resultados do nível de proteção que estes repelentes oferecem. É importante também que essas pesquisas sejam feitas baseando-se nas diretrizes para padronizar os testes de eficácia de repelentes, diretrizes essas estabelecidas por órgãos de saúde internacionais e brasileiros, e com base na bibliografia especializada.

Portanto, estudos de avaliação de repelentes devem respeitar os procedimentos de padronização de testes de repelência em laboratório com espécies de mosquitos antropofílicos; controle da idade das fêmeas e de sua alimentação antes do experimento; controle da quantidade do produto aplicado; controle das condições físicas do local do experimento, entre outros. As ferramentas de avaliação utilizadas são de fundamental importância em estudos desse tipo, que se valem de estudos que ajudem para que elas sejam aperfeiçoadas e padronizadas constantemente. Nesse sentido, utilizou-se a gaiola BG-Cage, desenvolvida por Obermayr e colaboradores (2010).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a eficácia de três repelentes caseiros mais visualizados na internet confeccionados com citronela, cravo-da-índia e manjerição em diferentes formulações para uso tópico contra o mosquito *Ae. aegypti*.

3.2 Objetivos específicos

- Comparar a eficácia em laboratório destes repelentes caseiros baseados em citronela, cravo-da-índia e da mistura de citronela, cravo-da-índia e manjerição;
- Verificar o tempo de duração dos repelentes caseiros para uso tópico de citronela, de cravo-da-índia e da mistura de citronela, cravo-da-índia e manjerição para o mosquito *Ae. aegypti*;
- Avaliar a composição química dos repelentes caseiros com o uso da técnica de cromatografia a gás;
- Comparar o efeito repelente dos óleos essenciais do manjerição, citronela e cravo-da-índia com as receitas dos repelentes caseiros divulgados na internet.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Seleção dos repelentes caseiros

Foi realizada uma pesquisa na internet com as seguintes palavras-chave: “repelente caseiro Aedes” no *site* da plataforma digital, www.youtube.com. No *YouTube* foram encontrados cerca de 50 vídeos, nos quais a grande maioria ensinava receitas de repelentes caseiros a base de cravo-da-índia e citronela.

Na visualização dos vídeos é informado que os repelentes aí apresentados são eficientes e, além disso, existem muitos comentários de internautas confirmando sua eficácia. A pesquisa de repelentes caseiros foi feita somente no *YouTube* sendo selecionados três vídeos. O critério para escolha foi a partir dos vídeos mais visualizados.

4.2 Produção dos repelentes caseiros

A metodologia utilizada para produzir os repelentes caseiros foi a mesma indicada nos vídeos encontrados no *YouTube*, conforme Tabela 1.

Tabela 1- Receitas dos repelentes caseiros dos vídeos mais acessados no *YouTube*

REPELENTE	INGREDIENTES	MODO DE PREPARO	LINK E NÚMERO DE VISUALIZAÇÕES
Repelente de citronela, cravo-da-índia e manjerição	- 1 litro de álcool de cereal - 40 g de cravo-da-índia - 300 g de citronela fresca picada - 300 g de manjerição fresco picado	Misturar os ingredientes e deixar em repouso por 4 a 5 dias, agitando 2 vezes ao dia (manhã e noite). Após o repouso, coar o líquido e, em seguida, acrescentar 50 ml de óleo mineral e agitar.	www.youtube.com/watch?v=UkdxDn1n1ZE Em 31/01/2019 com 31.363 visualizações. Publicado em 21 de novembro de 2018
Repelente De cravo-da-índia	- 500 ml de álcool - 40 g de cravo-da-índia - 50 ml de óleo mineral.	Adicionar o cravo-da-índia na garrafa do álcool e deixar em repouso por 4 dias, agitando 2 vezes ao dia (manhã e noite). Coar o líquido e em seguida acrescentar 50 ml de óleo mineral agitar.	www.youtube.com/watch?v=bbzdiCMTzRw&t=224s Em 31/01/2019 com 691.800 visualizações. Publicado em 7 de mar de 2015.
Repelente de citronela	- 500 ml de álcool 70% - 3 folhas de citronela - 50 ml de óleo mineral	Colocar a citronela inteira no álcool por 2 dias. Após este período, retirar as folhas de citronela e acrescenta o óleo mineral e agitar.	https://www.youtube.com/watch?v=mMHVtWTdnWo Em 31/01/2019 com 19.600 visualizações. Publicado em 28 de dezembro de 2017

4.3 Extração dos óleos essenciais

Em junho de 2019, em uma área residencial da região Noroeste de Belo Horizonte, foram coletadas 300 gramas de folhas frescas de citronela (*C. winterianus*) e manjerição (*O. basilicum*) entre 7 horas e 8 horas da manhã, sem precipitação de chuva. Foi comprado em um supermercado da região 300 gramas de cravo-da-índia (*S. aromaticum*) da marca Kitano. Em seguida, todo o material vegetal foi levado para o Laboratório Núcleo de Plantas Medicinais do Departamento de Química ICEX/UFMG para a extração dos óleos essenciais.

A técnica utilizada para a extração dos óleos essenciais foi a hidrodestilação do tipo Clevenger, sendo este método ideal para extrações em pequena escala (BIASI; DESCHAMPS, 2009). O material vegetal foi transferido com água destilada para um balão volumétrico de fundo chato com capacidade de 4 litros, acoplado ao aparelho de Clevenger sob uma manta de aquecimento (FIG. 7), por um período de aproximadamente de 6 horas variando de acordo com a espécie em questão. Após atingir a temperatura de 100 °C reduziu-se posteriormente a temperatura para 75°C, conforme metodologia descrita pela Farmacopeia Brasileira (2005).



Figura 7 - Balão volumétrico acoplado ao aparelho de Clevenger sob uma manta de aquecimento para extração de óleos essenciais

Fonte: PAULA, 2019

O conteúdo do balão, ao entrar em ebulição, faz com que o óleo presente na planta evapore juntamente com os vapores formados durante a hidrodestilação, arrastando desta forma

os compostos voláteis ao condensador e posteriormente ao tubo de resfriamento. Devido a sua baixa densidade, o óleo essencial separa da fase aquosa por decantação (PAIVA et al., 2012). Ao final, os óleos essenciais foram coletados com uma pipeta e armazenados em tubos Eppendorf.

4.4 Criação e manutenção de *Aedes aegypti* em laboratório

As fêmeas de *Ae. aegypti* utilizadas no estudo eram da geração F6, as quais foram obtidas da colônia do insetário do Laboratório de Inovação Tecnológica e Empreendedorismo em Controle de Vetores (LINTEC), Departamento de Parasitologia, da UFMG, sob condições controladas de temperatura e umidade ($27,0 \pm 2^\circ \text{C}$, $70,0 \pm 10\% \text{ UR}$ e 12L:12E de fotoperíodo).

Os mosquitos adultos foram alimentados com solução açucarada a 10% e as fêmeas receberam alimentação de sangue de galinha heparinizado em um sistema de alimentação artificial uma vez por semana (SIRIA et al., 2018). Os ovos foram coletados em papel filtro, sendo mantidos em ambiente úmido em um recipiente de plástico dentro de cubas. As larvas foram mantidas em uma cuba plástica com água de torneira desclorada (29 x 20 x 6 cm) e alimentadas com ração para réptil (Pleion®). As pupas foram separadas diariamente, colocadas em potes plásticos e transferidas para gaiolas de criação (30x30x30cm, BugDorm) (FIG.8).



Figura 8 - Gaiola BugDorm para criação de mosquitos de *Aedes aegypti*

Fonte: PAULA, 2019

4.5 Separação das fêmeas de *Aedes aegypti* para os testes de repelência.

A separação das fêmeas de *Ae. aegypti* foi realizada no insetário, no qual a gaiola com os mosquitos adultos foi colocada dentro de uma gaiola de acrílico adaptado para seleção de insetos (FIG. 9). A gaiola de seleção contém um dispositivo de exaustão, permitindo que o odor de uma mão humana, posicionada no recipiente para captura dos insetos, seja levado até os insetos condicionados em uma gaiola de criação. Ou seja, as fêmeas à procura de alimentação sanguínea voam ativamente para dentro do recipiente para captura (POSEY; SCHREK, 1981). No final desta seleção, cada recipiente recebeu cerca de 20 a 30 fêmeas, ficando em repouso por alguns minutos para que as fêmeas se acomodassem para facilitar a contagem e a conferência da sexagem (FIG. 10).

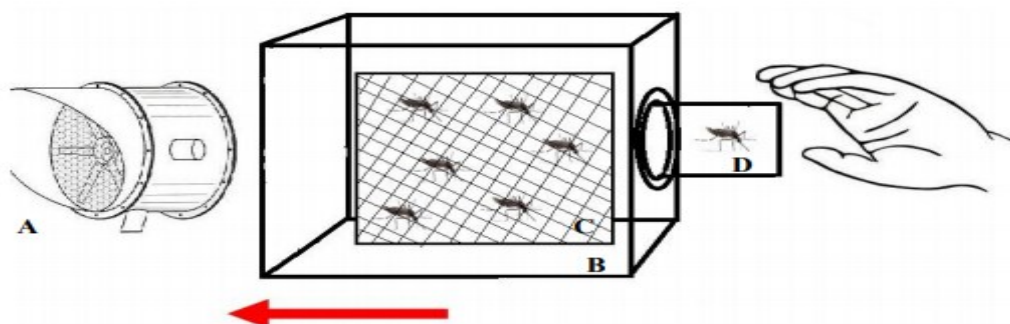


Figura 9 - Esquema da gaiola de seleção de insetos. A. Produção do fluxo de ar com exaustor, B. —Gaiola de seleção, C. Gaiola de criação contendo os insetos, D. Recipiente para captura dos insetos. A seta indica o sentido do fluxo de ar

Fonte: PAIXÃO, 2011.



Figura 10 - Recipientes contendo fêmeas de *Aedes aegypti* selecionadas para o bioensaio

Fonte: PAULA, 2019

4.6 Gaiolas de repelência BG-Cages

A BG-Cage (FIG. 11) é uma gaiola que possui um volume aproximado de 27 m³ (41 x 41 x 16 cm), é construída com folha de alumínio (2 mm) no piso, os três lados da caixa são de acrílico e a parede do fundo de nylon. Esta última parte da gaiola permite a introdução das fêmeas em seu interior. A folha de metal tem um recorte na parte central de 56 cm² (14,8 x 3,8 cm) para a exposição do antebraço do voluntário. O teto da gaiola possui uma abertura que conecta a um sistema de ventilação de ar quente e úmido ($26 \pm 1^\circ\text{C}$ e $60 \pm 5\%$ UR) a uma taxa de fluxo de 40-80 cm /s (OBERMAYR et al., 2010).

Foram utilizadas 30 fêmeas de *Ae. aegypti* em cada gaiola, com idade de 5 a 10 dias, contados após a emergência do adulto. As fêmeas utilizadas nos testes não receberam repasto sanguíneo e ficaram em jejum da solução de sacarose 12 horas antes do bioensaio (OBERMAYR et al., 2010).

Os testes com os repelentes caseiros e os óleos essenciais foram realizados em cinco BG-Cage. No interior de cada gaiola foi colocado um algodão embebido com solução de sacarose como fonte de energia. Portanto, cinco repetições poderiam ser realizadas sequencialmente com o mesmo voluntário. A janela de teste possui um tamanho padronizado, evitando assim uma variação na área exposta do antebraço do voluntário. A tela da gaiola permite que o braço do voluntário mantenha a pele a uma distância da janela de teste, não permitindo picadas das fêmeas (OBERMAYR et al., 2010).



Figura 11- BG-Cage com sistema de ventilação na parte superior da gaiola

Fonte: PAULA, 2019

4.7 Aclimação das fêmeas de *Aedes aegypti*

Os experimentos foram realizados em sala de testes localizada no Instituto de Ciências Biológicas da UFMG com umidade e temperatura foram monitoradas e controladas (25 - 27°C) e a umidade (55 – 65%) (OBERMAYR et al., 2010). Os insetos permanecem na sala teste por um período de aclimação de 15 min. e, ao fim deste período, foram transferidas para a BG-Cage para uma nova aclimação no interior da BG-Cage por 5 min.

4.8 Teste de sondagem

A atividade de sondagem é caracterizada pelo momento em que o mosquito insere a probóscide na janela de teste da gaiola, com o objetivo de se alimentar do sangue do voluntário. Assim, antes de iniciar cada bioensaio com os repelentes caseiros e óleos essenciais, foi realizado o teste de sondagem utilizando o antebraço esquerdo (entre o punho e cotovelo) do voluntário, sem aplicação de nenhum produto, sendo considerado desta forma como o braço controle. O antebraço foi previamente lavado com água e detergente neutro, secando naturalmente (OBERMAYR et al.; 2010).

Por consequência, o teste permitia fazer a seleção das gaiolas com fêmeas aptas a participar dos bioensaios. Cada teste de sondagem durava 2 min, porém, no mínimo 10 fêmeas de *Ae. aegypti* tinha que pousar na tela sobre o antebraço com 30 s de teste. Eram selecionadas para participar do bioensaio somente as BG-Cages que atingia o mínimo de fêmeas. Os insetos eram substituídos quando não atingia o mínimo recomendado e um novo teste de sondagem era feito com o novo lote de fêmeas de *Ae. aegypti*. Além de verificar se o *Aedes* estava apto a fazer o repasto sanguíneo, o teste de sondagem avaliava também se o voluntário estava atrativo para os mosquitos (FIG.12).



Figura 12 - Fêmeas de *Aedes aegypti* pousadas na tela da janela da BG-Cage durante o teste de sondagem com o antebraço do voluntário abaixo da tela de proteção contra picadas

Fonte: PAULA, 2019

4.9 Bioensaios

Os testes foram realizados com quatro voluntários adultos (2 homens e 2 mulheres), maiores de 18 anos, não fumantes e sem ingestão de álcool por 24 horas antes do teste. Os bioensaios com os voluntários seguiram as recomendações do protocolo da EPA (2000). O antebraço direito foi utilizado para aplicar os tratamentos testados, sendo foi lavado a cada mudança de formulação do repelente com água e detergente neutro, secando naturalmente (OBERMAYR et al.; 2010).

Os testes foram feitos de maneira individual com cada voluntário, testando um produto por dia. Foi aplicado 1 ml de cada produto, utilizando uma pipeta, aplicando o volume no antebraço direito (entre o punho e cotovelo). Os testes foram efetuados no período diurno, respeitando a preferência da atividade hematofágica do *Ae. aegypti* (WHO, 2009). A aplicação dos repelentes e dos óleos essenciais foi realizada em uma sala separada, ou seja, fora da sala de teste, para evitar a saturação da sala causada pelo odor dos compostos, evitando assim, o comprometimento dos resultados.

Com o intuito de analisar se o óleo mineral puro que compunha os repelentes caseiros interferiria nos seus resultados, foi feita uma bateria de seis testes por voluntário na BG-Cage.

O repelente comercial *Off! Refresh* (SC Johnson) que contém 15% de DEET, foi considerado o controle positivo nos bioensaios, devido OMS recomendar repelentes com este ingrediente ativo.

Enfim, oito produtos diferentes (1 repelente comercial *Off! Refresh*, 3 repelentes caseiros, 1 óleo mineral puro e 3 óleos essenciais) foram avaliados em 4 voluntários, com 6 repetições em gaiolas BG-Cage, com 30 fêmeas de *Ae. aegypti* cada, utilizando aproximadamente 5.040 fêmeas ao total.

Os bioensaios foram feitos com um voluntário por vez. Cada teste teve duração de 2 min e foram analisados os seguintes parâmetros nos experimentos:

- 1- Duração do efeito de repelência: o repelente testado foi aplicado apenas no tempo 0 no antebraço do voluntário;
- 2- Tempo de repelência: nos repelentes caseiros e comercial, foram avaliados as repelências dos tempos de 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 min após a introdução dos tratamentos;
- 3- Avaliação dos óleos essenciais nas concentrações de 25%, 50%, 75% e 100%. Os óleos essenciais foram diluídos em álcool com 92,8% (INPM, marca Santa Cruz).

Em relação ao repelente comercial *Off! Refresh*, repelente caseiro de citronela, repelente caseiro de cravo-da-índia e repelente caseiro feito com mix de citronela, cravo-da-índia e manjerição, cada voluntário participou de seis repetições para cada tempo testado, totalizando 864 testes. O modo de preparo dos repelentes caseiros estão descritos na página 40. Já com o óleo mineral puro, óleo essencial de cravo-da-índia, óleo essencial de manjerição e óleo essencial de citronela, foram realizados 312 testes.

Ao fim de cada repetição com o voluntário, o sistema de ventilação foi ligado por 5 min para evitar o acúmulo de substâncias ativas e odores do hospedeiro. Durante cada teste, o número de pousos na janela de teste foi registrado através de observações e anotações. Para todos os testes de eficácia, a porcentagem de repelência foi calculada em comparação com o número de tentativas de picadas no braço controle, de acordo com a seguinte fórmula de Abbot:

$$\%R = \frac{(BC \times Y - BT) \times 100}{(BC \times Y)}$$

Nessa fórmula, %R é a porcentagem de proteção repelente, BC é o número de picadas no braço controle, BT é o número de picadas no braço de teste e Y é o tempo de exposição do braço em minutos (OBERMAYR et al. 2010). Segundo a recomendação do EPA (2000), um repelente deve conferir no mínimo 95% de proteção a picadas de insetos.

4.10 Preparação e avaliação da composição dos repelentes caseiros por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG/EM).

Foi coletada uma amostra de 100 µl do repelente caseiro de cravo-da-índia, de citronela e da de cravo-da-índia, citronela e manjerição. Cada amostra foi diluída com 900 µl de acetato de etila. Em seguida, foi transferido com uma pipeta 200 µl desta amostra para um novo vial, sendo novamente diluída com 300 µl de acetato de etila. Ou seja, a diluição final foi de 50x. Ao término da diluição, as amostras foram mantidas no freezer a -20°C até o momento da cromatografia gasosa (ARMSTRONG, 1984).

A análise dos repelentes caseiros foi realizada em colaboração com o Laboratório Núcleo de Plantas Medicinais, do Departamento de Química ICEX/UFMG. Para cada amostra, as análises cromatográficas foram injetadas com seringa de vidro (Hamilton, 10µl, Nevada) 1µl diretamente em um cromatógrafo a gás (Marca: Shimadzu, modelo GCMS-QP 2010 Plus) (FIG. 13), modo de injeção Splitless. O equipamento possuía uma coluna DB-5 usando hélio como gás de arraste. O programa de temperatura do injetor foi o seguinte: temperatura inicial de 50°C, aumentando 7°C por minuto até atingir 250°C, permanecendo nesta temperatura por 7 minutos. Cada amostra foi separada dentro do equipamento de acordo com a volatilidade dos compostos.



Figura 13 - Cromatógrafo a gás da marca Shimadzu, modelo GCMS-QP 2010 Plus

Fonte: PAULA, 2019

O cromatógrafo gasoso estava acoplado a um detector seletivo de massa (Espectômetro de Massa). O método de ionização utilizado no espectrômetro de massa foi o de impacto de elétrons (IE), operando com energia de ionização de 70 eV (ARDREY, 2003). O analisador de massas foi o de quadrupolo.

4.11 Análise estatística dos resultados

Para os experimentos de avaliação dos repelentes na BG-Cage, a análise dos resultados foi realizada utilizando o software R versão 3.6.2. e utilizando-se Modelos Lineares Generalizados (MLG) para estimar a taxa de repelência em função dos diferentes repelentes. Para explicar a dispersão, a taxa de repelência foi modelada seguindo uma distribuição binomial negativa com função de ligação log (BATES et. al 2015). Os fatores fixos foram o tipo de repelente ou o tempo de realização dos testes e os fatores ambientais (temperatura e umidade) durante o período de estudo, a data do experimento, o número de repetições e os voluntários foram tratados como fatores aleatórios.

O Risco Relativo (RR) e o Intervalo de Confiança 95% (IC) foram utilizados para estimar a influência para cada análise nos respectivos experimentos. As estimativas foram consideradas estatisticamente diferentes se $p < 0,05$. Adicionalmente, uma comparação de pares foi realizada utilizando o teste post-hoc HSD de Tukey para avaliar a diferença entre os grupos individuais.

5. RESULTADOS

5.1 Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa

A análise da composição química dos repelentes caseiros de cravo-da-índia (A), de cravo-da-índia, citronela e manjerição (B) e de citronela (C) por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa encontra-se na Figura 14.

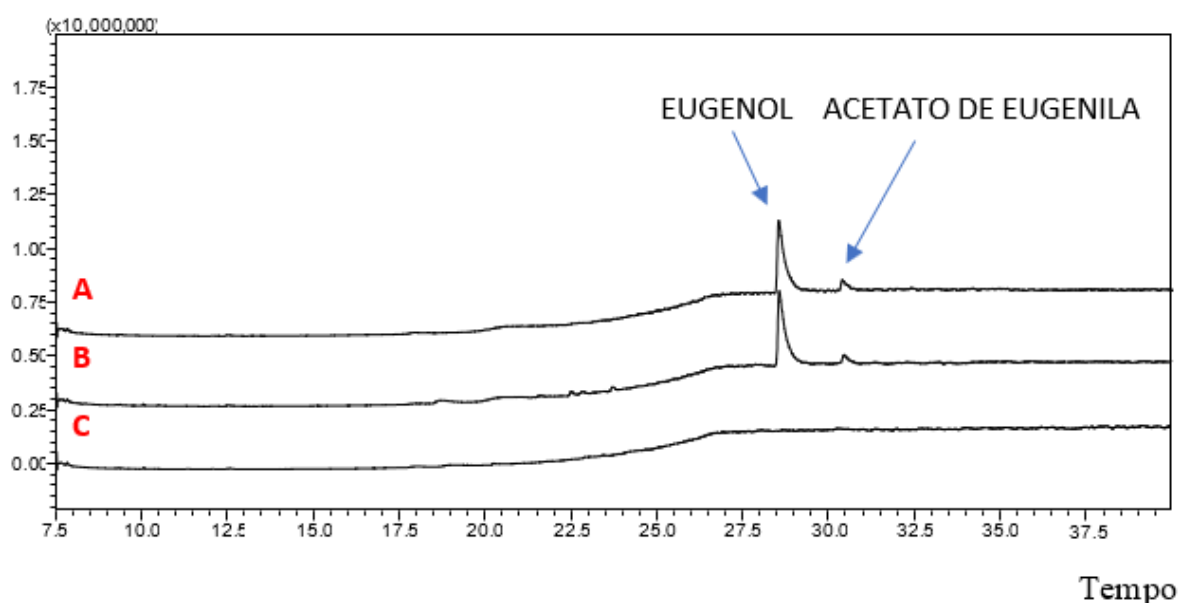


Figura 14 - Cromatograma das amostras dos repelentes caseiros de cravo-da-índia (A), de cravo-da-índia, citronela e manjerição (B) e de citronela (C)

Fonte: PAULA, 2019

Os resultados demonstraram que os repelentes caseiros de cravo-da-índia (A) e o de cravo-da-índia, citronela e manjerição (B) apresentaram o eugenol e o acetato de eugenila como componentes mais abundantes. Já com o repelente caseiro a base de citronela (C) não foi possível detectar nenhum composto.

5.2 Bioensaios com óleos essenciais de plantas

Os resultados dos testes nas BG-Cages, utilizando a concentração de 25% do óleo essencial de citronela, obtiveram o índice de repelência de 100%, exceto em um voluntário do sexo masculino, onde a porcentagem de repelência foi de 92,7% (Tabela 2).

Tabela 2 - Atividade de repelência em porcentagem do óleo essencial de citronela, cravo-da-índia e manjerição sobre as fêmeas de *Aedes aegypti* no interior da BG-Cage

Óleo essencial	Concentração do óleo essencial (%)	Voluntários (% de repelência)*				Média ± DP
		VF1	VF2	VM1	VM2	
Citronela	25	100,0	100,0	92,7	100,0	98,2 ± 3,63
	50	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0 ± 0,00
	75	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0 ± 0,00
	100	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0 ± 0,00
Cravo-da-índia	25	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0 ± 0,00
	50	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0 ± 0,00
	75	-	100,0	-	100,0	100,0 ± 0,00
	100	-	100,0	-	100,0	100,0 ± 0,00
Manjerição	25	97,7	95,7	59,5	98,2	87,7 ± 18,82
	50	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0 ± 0,00
	75	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0 ± 0,00
	100	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0 ± 0,00

*VF1 e VF2: voluntárias do sexo feminino; VM1 e VM2: voluntários do sexo masculino.

O óleo essencial de cravo-da-índia foi o único que apresentou 100% de repelência em todas as concentrações, em relação aos demais óleos essenciais testados. Porém, ao testá-lo nas concentrações de 75 e 100%, dois voluntários apresentaram alergia, impossibilitando a continuidade dos testes com o óleo essencial de cravo da índia (Tabela 2).

O óleo essencial de manjerição obteve 100% de repelência ao *Ae. aegypti* em todas as concentrações, exceto a de 25%. Nessa concentração foi observada a média de 87,7% de proteção, sendo essa a menor taxa de repelência. Nesta mesma concentração, o óleo essencial de citronela obteve 98,2% de repelência e o de cravo-da-índia alcançou 100%. A taxa de repelência do voluntário 1 (sexo masculino) obteve uma porcentagem de proteção de apenas 59,2%, sendo inferior quando comparado com os resultados dos outros voluntários quando testados com o mesmo repelente (TAB.2).

5.3 Bioensaios com repelentes caseiros

5.3.1 Citronela

No início dos testes (0 min) com repelente de citronela, todos os voluntários obtiveram 100% de proteção, exceto o voluntário do sexo masculino 1, que ficou com um nível de

repelência abaixo do recomendado. A partir de 30 minutos de teste todos os voluntários apresentaram o índice de repelência abaixo de 95%. Durante os testes foi observado que, com o passar o tempo, havia uma tendência de queda de proteção contra as picadas das fêmeas de *Ae. aegypti* em ambos os sexos. Com 240 min de teste, a porcentagem de repelência ficou entre 53% a 65% (TAB. 3).

Tabela 3 - Atividade de repelência em porcentagem do repelente caseiro de citronela sobre as fêmeas de *Aedes aegypti* no interior da BG-Cage

Tempo (min.)	Voluntários*				
	VF1	VF2	VM1	VM2	Média ± DP
0	100,0	100,0	89,9	100,0	97,4 ± 5,04
30	91,9	93,6	76,5	94,9	89,2 ± 8,59
60	89,0	86,6	75,6	81,7	83,2 ± 5,91
90	83,6	82,2	60,8	68,6	73,8 ± 11,00
120	66,8	66,2	63,7	69,1	66,5 ± 2,18
150	71,0	65,6	70,1	62,9	67,4 ± 3,82
180	65,3	62,1	65,2	63,9	64,1 ± 1,47
210	61,3	61,7	78,0	56,1	64,3 ± 9,50
240	53,0	54,8	65,3	57,8	57,7 ± 6,65

DP = desvio padrão

* VF1 e VF2: voluntárias do sexo feminino; VM1 e VM2: voluntários do sexo masculino.

5.3.2 Cravo da índia, manjerição e citronela

Todos os voluntários obtiveram 100% de proteção no início do teste com o repelente da mistura de cravo-da-índia, manjerição e citronela. A partir de 30 min, houve um decréscimo gradativo da porcentagem de repelência à medida que o tempo passava, sempre estando abaixo do recomendado pelo EPA (2000). A porcentagem de repelência também variou entre os voluntários com o passar do tempo e após 240 min (4h) de teste, o nível de proteção nas voluntárias mulheres (VF1 e VF2) foi de aproximadamente a 51%, sendo que nos voluntários homens (VM1 e VM2) foi de 54,77% e 57,65% (TAB 4).

Tabela 4 - Atividade de repelência em porcentagem do repelente caseiro de manjerição, cravo-da-índia e citronela sobre as fêmeas de *Aedes aegypti* no interior da BG-Cage

Tempo (min.)	Voluntários*				
	VF1	VF2	VM1	VM2	Média ± DP
0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0 ± 0,00
30	93,3	93,8	51,3	94,9	83,3 ± 21,40
60	87,8	87,2	62,8	81,0	79,7 ± 11,70
90	83,1	82,4	59,0	72,8	74,3 ± 11,30
120	65,0	64,8	50,2	66,9	61,7 ± 7,72
150	75,7	60,8	61,1	50,9	62,1 ± 10,20
180	72,7	63,3	59,0	65,8	65,2 ± 5,75
210	58,9	60,7	67,2	54,8	60,4 ± 5,17
240	51,3	51,8	54,7	57,6	53,9 ± 2,92

DP = desvio padrão

*VF1 e VF2: voluntárias do sexo feminino; VM1 e VM2: voluntários do sexo masculino.

5.3.3 Cravo-da-índia

Os testes utilizando o repelente de cravo-da-índia atingiram 100% de repelência no tempo 0 min em todos os voluntários. Com 30 min de aplicação, este repelente garantiu uma taxa elevada de proteção. Os próximos testes feitos com os voluntários, todos ficaram abaixo de 95%, ou seja, apresentando um menor índice de proteção de acordo com o que é recomendado pela OMS (TAB.5). Como nos demais testes com repelentes caseiros citados acima, é observado uma tendência de queda de cerca de 50% de proteção comparando entre o tempo 0 a 240 min.

Tabela 5 - Atividade de repelência em porcentagem do repelente caseiro de cravo da índia sobre as fêmeas de *Aedes aegypti* no interior da BG-Cage

Tempo (min.)	Voluntários*				
	VF1	VF2	VM1	VM2	Média $\pm$ DP
0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0 $\pm$ 0,00
30	94,1	96,5	86,6	88,2	91,4 $\pm$ 4,69
60	91,1	87,8	83,0	78,4	85,1 $\pm$ 5,53
90	89,5	75,4	75,4	69,5	77,4 $\pm$ 8,51
120	79,2	75,9	58,7	68,6	70,6 $\pm$ 9,10
150	65,6	72,2	59,4	56,6	63,4 $\pm$ 6,93
180	61,2	56,8	58,6	58,8	58,8 $\pm$ 1,80
210	54,8	51,7	57,2	53,0	54,2 $\pm$ 2,38
240	49,2	51,2	53,2	50,5	51,0 $\pm$ 1,69

DP = desvio padrão

*VF1 e VF2: voluntárias do sexo feminino; VM1 e VM2: voluntários do sexo masculino.

Ao comparar os resultados de proteção entre os repelentes caseiros no tempo 0, tanto o repelente de cravo-da-índia (TAB. 5) e o repelente caseiro feito de um mix a base de cravo-da-índia, manjerição e citronela (TAB.4) alcançaram 100% de repelência em ambos os sexos.

5.4 Bioensaios com repelente comercial *Off! Refresh*

A tabela 6 a seguir refere-se aos testes realizados com o repelente comercial *Off!*. De acordo com o rótulo do fabricante, este produto oferece proteção de até 5 horas (300 min.). Em três dos voluntários, o repelente comercial apresentou 100% de repelência durante todo o período de teste, de 240 min. Porém, nos testes realizados com o voluntário do sexo masculino 1, o repelente obteve proteção dentro do recomendado somente até 1 hora, sendo seu valor de 98,55%. Com 90 min de teste, a porcentagem de repelência caiu para 94,44% e no tempo final do bioensaio, em 240 min, esse valor foi de somente 80,19%. Ou seja, já não atendia ao tempo de proteção informado no rótulo do produto.

Tabela 6 - Porcentagem da atividade de repelência do repelente comercial *Off!* Refresh sobre as fêmeas de *Aedes aegypti* no interior da BG-Cage

Tempo (min.)	Voluntários*				
	VF1	VF2	VM1	VM2	Média ± DP
0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0 ± 0,00
30	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0 ± 0,00
60	100,0	100,0	98,5	100,0	99,6 ± 0,73
90	100,0	100,0	94,3	100,0	98,5 ± 2,83
120	100,0	100,0	94,0	100,0	98,5 ± 2,96
150	100,0	100,0	91,6	100,0	97,9 ± 4,18
180	100,0	100,0	85,0	100,0	96,2 ± 7,46
210	100,0	100,0	84,8	100,0	96,2 ± 7,58
240	100,0	100,0	80,1	100,0	95,0 ± 9,91

DP = desvio padrão

*VF1 e VF2: voluntárias do sexo feminino; VM1 e VM2: voluntários do sexo masculino

Tanto os testes com o repelente comercial *Off!*, como os testes utilizando-se o OCDI, OCTN e de manjerição OMJC, atingiram uma porcentagem superior ao mínimo recomendado de 95%. Entre todos os óleos essenciais testados, o de cravo-da-índia foi o único que atingiu 100% de proteção contra as picadas de fêmeas de *Ae. aegypti* em todos os testes.

Comparando o efeito de proteção pessoal contra picada de *Ae. aegypti* no controle (*Off!*) e no nível preconizado pelo EPA (2000), os resultados dos testes com CDI, CTN e de CTN+CDI+MJC não apresentaram proteção recomendada contra as picadas das fêmeas nos voluntários. Já o óleo mineral puro, utilizado como controle negativo, oferece uma média de proteção de 55%, sendo sua taxa a menor em comparação com os demais tratamentos (TAB. 7).

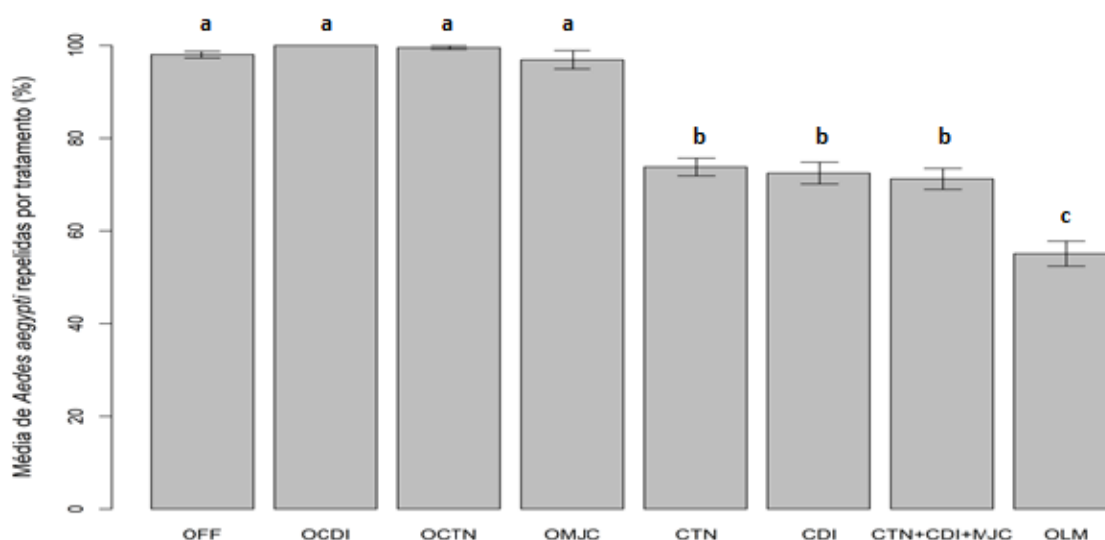
Tabela 7 - Média de proteção contra picadas de *Ae. aegypti* em relação aos tratamentos avaliados em laboratório no interior da BG-Cage

Tratamento*	Média ± EP	RR (95% IC)	Valor de P
OFF	98,0 ± 0,70	1	-
OCDI	100,0 ± 0,00	1,02 (0,98 – 1,06)	0,355
OCTN	99,5 ± 0,39	1,01 (0,98 – 1,05)	0,428
OMJC	96,9 ± 1,99	0,99 (0,95 – 1,03)	0,567
CTN	73,8 ± 1,91	0,75 (0,73 – 0,78)	<0,001
CDI	72,5 ± 2,34	0,74 (0,72 – 0,76)	<0,001
CTN+CDI+MJC	71,2 ± 2,26	0,73 (0,70 – 0,75)	<0,001
OLM	55,1 ± 2,70	0,56 (0,52 – 0,61)	<0,001

*OFF = repelente comercial, OCDI = Óleo essencial de cravo da índia, OCTN = Óleo essencial de citronela; OMJC = Óleo essencial de manjerição; CTN = repelente caseiro de citronela; CDI = repelente caseiro de cravo-da-índia; CTN+CDI+MJC = repelente caseiro do mix de citronela, cravo e manjerição; OLM = Óleo mineral.

A figura 15, mostra que não há diferença significativa em relação a repelência entre o *Off!* e os óleos essenciais. No entanto, quando comparado o *Off!* e os óleos essenciais aos repelentes caseiros (CTN, CDI, CTN+CDI+MJC), observa-se diferenças maiores que 20%. Foi observado uma diferença ainda maior ao óleo mineral (OLM), que apresentou a menor capacidade de repelir as fêmeas, em relação aos repelentes caseiros e aos óleos essenciais.

Figura 15 - Ranking das taxas de repelência de *Aedes aegypti* em relação aos tratamentos testados em laboratório no interior da BG-Cage



Já a Tabela 8 apresenta a comparação feita em pares entre os tratamentos. Ao comparar os resultados entre o *Off!* e óleos essenciais em relação ao CDI, CTN e do CTN+CDI+MJC, o valor de P é $<0,001$. Ou seja, houve diferença significativa entre eles.

Tabela 8 - Comparação dos tratamentos em pares através do Teste de Tukey

TRATAMENTOS*	OFF	OCDI	OCTN	OMJC	CTN	CDI	CTN+CDI+MJC
OFF	NA	-	-	-	-	-	-
OCDI	0,982	NA	-	-	-	-	-
OCTN	0,993	1	NA	-	-	-	-
OMJC	0,999	0,905	0,937	NA	-	-	-
CTN	$<0,001$	$<0,001$	$<0,001$	$<0,001$	NA	-	-
CDI	$<0,001$	$<0,001$	$<0,001$	$<0,001$	0,953	NA	-
CTN+CDI+MJC	$<0,001$	$<0,001$	$<0,001$	$<0,001$	0,349	0,958	NA
OLM	$<0,001$	$<0,001$	$<0,001$	$<0,001$	$<0,001$	$<0,001$	$<0,001$

*Valores de P.

*OFF = repelente comercial, OCDI = Óleo essencial de cravo da Índia, OCTN = Óleo essencial de citronela; OMJC = Óleo essencial de manjeriço; CTN = repelente de citronela; CDI = repelente de Cravo da Índia; CTN+CDI+MJC = repelente do mix de citronela, cravo e manjeriço; OLM = Óleo mineral.

O repelente *Off!*, após 4 horas de aplicação, ainda confere proteção de 95% aos voluntários (TAB. 9). No entanto, oCDI, CTN e o CTN+CDI+MJC, garantiram proteção acima de 95% somente no tempo 0, com queda acentuada com o passar do tempo. Dos três repelentes caseiros, foi o de cravo-da-Índia que conferiu uma maior atividade de repelência após a aplicação aos 30 min, no valor de 91%. Depois de 30 min da aplicação, nenhum dos repelentes caseiros obteve proteção.

Tabela 9 - Duração e percentual de repelência (média $\pm$ erro padrão) de fêmeas de *Aedes aegypti* em respostas aos repelentes caseiros em gaiolas BG-Cages

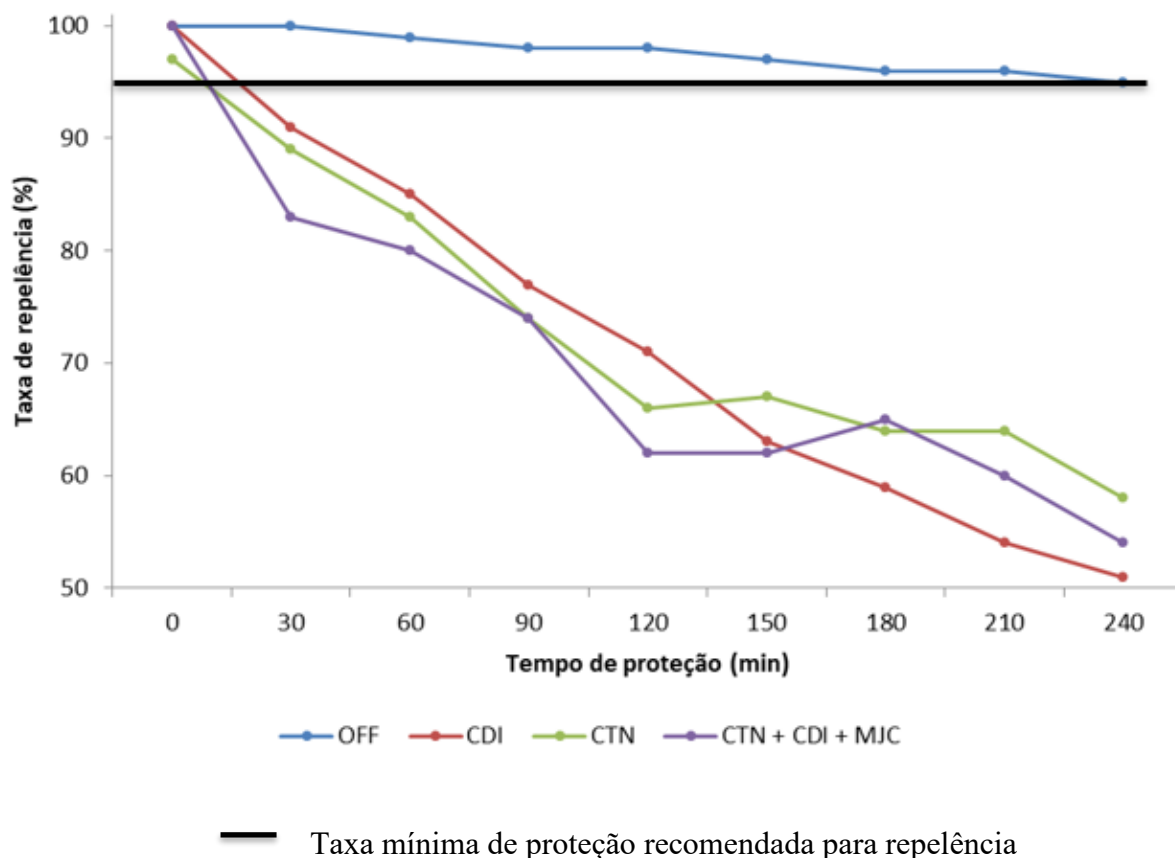
Tempo (min)	Tratamento* (%)			
	OFF	CDI	CTN	CTN + CDI + MJC
0	100,0 $\pm$ 0,00 ^a	100,0 $\pm$ 0,00 ^a	97,0 $\pm$ 2,03 ^a	100,0 $\pm$ 0,00 ^a
30	100,0 $\pm$ 0,00 ^a	91,0 $\pm$ 2,61 ^b	89,0 $\pm$ 3,27 ^{bc}	83,0 $\pm$ 7,73 ^c
60	99,0 $\pm$ 0,52 ^a	85,0 $\pm$ 3,00 ^b	83,0 $\pm$ 2,59 ^b	80,0 $\pm$ 4,49 ^b
90	98,0 $\pm$ 1,13 ^a	77,0 $\pm$ 3,84 ^b	74,0 $\pm$ 4,23 ^b	74,0 $\pm$ 4,30 ^b
120	98,0 $\pm$ 1,80 ^a	71,0 $\pm$ 3,67 ^b	66,0 $\pm$ 1,88 ^{bc}	62,0 $\pm$ 3,53 ^c
150	97,0 $\pm$ 1,65 ^a	63,0 $\pm$ 3,08 ^b	67,0 $\pm$ 2,16 ^b	62,0 $\pm$ 3,96 ^b
180	96,0 $\pm$ 2,78 ^a	59,0 $\pm$ 2,44 ^b	64,0 $\pm$ 1,65 ^c	65,0 $\pm$ 2,71 ^c
210	96,0 $\pm$ 2,89 ^a	54,0 $\pm$ 2,33 ^b	64,0 $\pm$ 3,66 ^c	60,0 $\pm$ 3,01 ^c
240	95,0 $\pm$ 3,66 ^a	51,0 $\pm$ 1,73 ^b	58,0 $\pm$ 2,52 ^c	54,0 $\pm$ 2,17 ^{bc}

*OFF = repelente comercial; CDI = repelente de Cravo da Índia; CTN = repelente de citronela; CTN+CDI+MJC = repelente do mix de citronela, cravo e manjeriço.

**Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

Observou-se que todos os repelentes caseiros testados possuem um período curto de duração, garantindo proteção somente no momento da aplicação (TABELA 9 e FIGURA 16). Após 4 horas de aplicação, apresenta uma taxa de proteção abaixo de 60%, não apresentando, portanto, segurança para evitar as picadas das fêmeas de *Ae. aegypti*. De acordo com os testes realizados, o repelente comercial *Off!* oferece 95% de proteção após 4 horas de aplicação, confirmando os dados da literatura científica da eficácia de proteção com produtos que utilizam o DEET (FIG. 16).

Figura 16 - Comparação da taxa de repelência em relação aos repelentes caseiros em laboratório no interior da BG-Cage.



*OFF = repelente comercial; CDI = repelente de Cravo da Índia; CTN = repelente de citronela; CTN+CDI+MJC = repelente do mix de citronela, cravo e manjeriço.

6. DISCUSSÃO

A Organização Mundial da Saúde (OMS, 2009) preconiza que o teste de eficácia de um repelente seja feito em voluntários humanos, tanto para gerar resultados relevantes em condições reais de uso, quanto pela questão de que o usuário será um humano. O presente estudo buscou obedecer a essa recomendação.

Outra recomendação é que a exposição excessiva às picadas durante os testes deveria ser evitada (OBERMAYR et al., 2010). Através das Diretrizes para Testes de Eficácia de Repelentes contra Mosquitos, a OMS preconiza o uso de gaiolas, onde o antebraço do voluntário é inserido durante o bioensaio. Sendo assim, pode causar um desconforto, já que o voluntário

fica exposto às picadas das fêmeas de mosquitos. Além disso, não há uma padronização para a área de teste, pois cada voluntário possui um tamanho diferente do antebraço, o que pode comprometer a segurança dos resultados. E como nelas não há um sistema de ventilação, é necessária uma maior densidade de fêmeas e é possível que haja acúmulo de odores no interior da gaiola (OMS, 2009).

Portanto, os testes no presente estudo foram realizados em gaiolas BG-Cage (Biogents), já que estas permitem um maior conforto e segurança ao voluntário ao fazer com que o antebraço fique abaixo da janela de teste, e que possui uma tela de proteção contra as picadas das fêmeas de *Ae. aegypti*. Além disso, a janela de teste possui uma área de tratamento padronizada, levando a uma melhor comparação e reprodução dos resultados. A BG-Cage possui também um sistema de ventilação de ar, reduzindo o acúmulo de odores e substâncias ativas do voluntário, permitindo desta forma, o uso de uma menor densidade de mosquitos durante o teste (OBERMAYR; ROSE; GEIER, 2014).

Outras das vantagens da BG-Gage, confirmadas na presente pesquisa, é que é possível usar o mesmo voluntário em testes consecutivos, fazer o teste em tempo reduzido, além de um número reduzido de insetos utilizados para os testes. A BG-Cage também minimiza a contaminação residual do repelente nas superfícies da gaiola, além de ocupar menos espaço, se comparada, por exemplo, ao método OPPTS 810.3700 (OBERMAYR et al., 2014).

Apesar do manjerição e da citronela estarem presentes nas formulações dos repelentes caseiros testados, nenhum de seus componentes químicos foi detectado pela cromatografia gasosa no presente estudo. No manjerição, não foram identificados os compostos majoritários linalol e o geraniol, por meio da CG-EM. Já no repelente caseiro de citronela não foi identificado o citronelal, o geraniol e o citronelol. A sua ausência foi provavelmente devido: (a) a baixa concentração dos componentes das plantas no repelente; (b) a diluição da amostra, preparada para o teste de cromatografia gasosa; (c) ausência do composto, já que baixos teores como o de linalol no óleo essencial de uma planta pode ser resultado de baixa quantidade de adubo na planta, recomendando para se evitar isso um aumento de nutrientes no cultivo, para que ocorra o metabolismo primário (CARVALHO FILHO et al., 2006).

A partir da análise da cromatografia, somente o eugenol e o acetato de eugenila, do cravo-da-índia, foram detectados como presentes nos repelentes caseiros testados. Os dados de ausência e presença dos compostos estudados devem ser ressaltados, pois, a presença dos componentes químicos é de fundamental importância para a comprovação da eficácia dos repelentes naturais (MATIAS, 2015).

No que concerne a análise da eficácia dos repelentes, é preciso ressaltar que o ser humano libera do corpo compostos voláteis que podem ser detectados por insetos hematófagos (FRADIN, 1998). Entre estes, o gás carbônico combinado com ácido láctico são atrativos para os mosquitos, ativando o voo das fêmeas de *Ae. aegypti*, localizando seu alvo e levando-a a pousar no hospedeiro (EIRAS; JEPSON, 1991). A temperatura e umidade da pele também servem como atrativo, porém em curta distância (EIRAS; JEPSON, 1994; FRADIN, 1998).

Existe também uma variação, de pessoa para pessoa, em relação à concentração dos compostos que são liberados. Em geral, os homens são mais atrativos para *Ae. aegypti* do que as mulheres (KNOLS et al., 1995; ISLAM et al., 2016). No presente estudo participaram dos testes apenas quatro voluntários, sendo que dois deles eram do sexo masculino e dois do sexo feminino. Esta limitação de voluntários ocorreu devido ao grande número de testes que foram realizadas no presente trabalho (1.152 testes), sendo por isso estabelecido que apenas 4 voluntários fossem usados. No entanto, o protocolo elaborado para a condução dos testes por voluntário/dia foi eficiente para obter os resultados para verificar a eficácia dos repelentes caseiros.

O repelente *Off! Refresh* foi escolhido como padrão ouro no presente trabalho. Este repelente comercial foi avaliado em gaiolas da BG-Cage e garantiu 100% de proteção durante as 4 horas (240 min) de teste para três dos quatro participantes. No entanto, um dos voluntários, do sexo masculino, só obteve índice de repelência superior a 95% somente na primeira hora do teste, declinando com o passar do tempo. Ainda assim é possível inferir que o repelente comercial testado é eficaz, dado que nos outros três voluntários a repelência foram de 100%. É provável que a eficácia no outro voluntário tenha sido afetada por algumas variáveis não controladas, como a predisposição individual, de acordo com substâncias exaladas pela pele, como o ácido láctico, suor, CO₂ ou ainda a idade da pessoa. (FRADIN, 2001; FRADIN; DAY, 2002)

Fradin e Day (2002), embora tenham utilizado gaiolas diferentes das do presente estudo, observaram uma média de 5 horas de proteção contra picadas de *Ae. aegypti* utilizando uma formulação contendo 23,8% de DEET. Tais dados indicam conformidade com as afirmações de Maibach e colaboradores (1974), de que a proteção fornecida pelo DEET é proporcional a sua concentração. Ou seja, doses mais altas do ativo fornecem proteção mais duradoura, porém, a ação tende a se estabilizar em uma concentração de 50%.

Testes de repelência em laboratório com fêmeas de *Ae. albopictus*, utilizando gaiolas preconizadas pela OMS, verificaram no teste de sondagem com óleo mineral uma taxa de 92,4% de repelência para os mosquitos (BUENO; ANDRADE, 2010). Já o presente trabalho o OLM

garantiu somente 55,1% de taxa de repelência, mostrando assim uma discrepância em comparação com os resultados de Bueno e Andrade (2010). Provavelmente, esta diferença ocorreu devido a utilização de diferentes espécies do gênero *Aedes*, ou possivelmente pela diferença da marca do óleo mineral testado, ou, ainda, pela utilização de diferentes gaiolas de testes.

Com relação à análise dos óleos essenciais, o de citronela, avaliado nas concentrações de 50%, 75% e 100% no presente estudo, obteve o índice de repelência de 100% para picadas de fêmeas de *Ae. aegypti*. Estes resultados são semelhantes aos do estudo de Trongtokit e colaboradores (2005), em testes de laboratório na Tailândia utilizando gaiolas preconizadas pela OMS. O OCTN também teve bons resultados desde a menor concentração testada no presente estudo, isto é, de 25%. A média de repelência, nesse caso, foi de 98% para fêmeas de *Ae. aegypti*. Resultados semelhantes foram observados também por Bueno e Andrade (2010) em fêmeas de *Ae. albopictus*, porém nas concentrações de 5% e 10%. Já que tenham sido utilizadas espécies diferentes do inseto, e já que o presente trabalho não tenha avaliado concentrações inferiores a 25%, sugere-se que mais estudos sejam realizados para testar e confirmar a dose mínima de repelência de OCTN ao *Ae. aegypti*.

No presente trabalho, o OCDI foi o único repelente natural testado que apresentou 100% de repelência em todas as concentrações testadas e em todos os voluntários. Estes resultados corroboram os achados de Trongtokit e colaboradores (2005), sugerindo que o OCDI seja um ingrediente ativo promissor para produção de repelente. Foi observado que ao aplicar este óleo na concentração de 75%, no antebraço de dois voluntários (um do sexo feminino e o outro do sexo masculino), isso desencadeou em seguida um processo alérgico em todo o antebraço, provocando coceiras e vermelhidão. Esse fato deve ser levando em conta em pesquisas futuras para seu desenho metodológico, bem como serem feitas pesquisas para confirmar possível toxicidade do composto. Observação semelhante, de que o OCDI também causou dermatite em alguns voluntários, ocorreu no estudo conduzido por Barnard (1999). Na presente pesquisa, o processo dermatológico desencadeado impossibilitou os testes com o óleo essencial nas concentrações de 75% e 100% nestes indivíduos, provavelmente devido às altas concentrações colocadas no antebraço dos voluntários.

O OMJC também já foi avaliado quanto ao efeito repelente, mas para as espécies *An. braziliensis* (PAULA et al., 2003) e *Ae. albopictus* (BUENO; ANDRADE, 2010). Os resultados do presente trabalho demonstraram que o OMJC exibiu repelência efetiva significativa contra *Ae. aegypti*, com 100% de proteção em até 120 min. Kumar e colaboradores (2017) também

testaram a repelência do composto no *Ae. aegypti* e obtiveram resultados semelhantes com a aplicação de 1 ml do óleo essencial puro no antebraço dos voluntários.

Comparado aos dados de repelência do estudo de Kumar e colaboradores (2017), o presente estudo demonstrou que a exposição de adultos de *Ae. aegypti* no interior das gaiolas BG-Cage, com menor quantidade do OMJC, na concentração de 25%, apresentou aproximadamente 88% de repelência. Em concentrações mais elevadas, como em Kumar e colaboradores (2017), resultou em 100% de repelência. E, ao se comparar a taxa de repelência dos três óleos essenciais testados no presente trabalho, observou-se que o OMJC é o que apresenta a menor taxa de repelência. Esses resultados indicam um possível motivo da ausência deste óleo nas formulações dos repelentes comerciais disponíveis no mercado.

Além dos óleos essenciais, a presente pesquisa objetivou fazer bioensaios para avaliar a eficácia e tempo de proteção contra as fêmeas de *Ae. aegypti* dos principais repelentes caseiros citados no *YouTube*. Embora a literatura abordada ao longo desse trabalho demonstre a repelência das plantas utilizadas e de seus óleos, e de alguns repelentes caseiros, nesses estudos não há referências sobre as formulações específicas aqui testadas e retiradas da citada mídia social, não sendo assim explorada a bioeficácia desses repelentes caseiros, *stricto sensu*. Entretanto, dentre os ingredientes utilizados nas receitas caseiras avaliadas no presente trabalho, o cravo-da-índia é o mais descrito na literatura científica. No Brasil, Tan e colaboradores (2019) usaram uma gaiola em laboratório para mensurar pouso e alimentação dos mosquitos no antebraço, e testaram um repelente caseiro feito com três marcas diferentes de botões florais do cravo-da-índia, sendo as marcas Portuense, Beija Flor e Kitano. Os autores não encontraram diferença significativa de repelência entre os repelentes caseiros testados, mesmo com alguns deles contendo cinco vezes mais concentrações que receitas originais. Quando comparados a produtos comerciais, os repelentes caseiros de cravo-da-índia nas concentrações mais elevadas possuíam proteção menor do que o produto com DEET em concentração de 1% (TAN et al., 2019).

No presente estudo, o repelente a base de cravo-da-índia ficou com um nível de repelência abaixo de 95% a partir de 30 min após a aplicação, decrescendo gradativamente com o passar do tempo, apresentando um menor índice de proteção do que é recomendado. Entretanto, em curto prazo, este repelente se mostrou eficiente, obtendo uma taxa de repelência de 100% às fêmeas de *Ae. aegypti* no tempo imediatamente após aplicação.

Note-se ainda o decréscimo da atividade de repelência do produto caseiro a base de cravo-da-índia mostrado neste estudo, que chegou a próximo a 50% com 4 horas de teste. Isso indica que esse repelente não é eficaz com o passar do tempo. Esses dados reforçam os

apontamentos de Tan e colaboradores (2019), mostrando que é preciso cautela e mais estudos para que haja afirmação da eficiência de repelentes a base de cravo-da-índia.

Affonso e colaboradores (2018) realizaram testes em gaiolas preconizadas pela OMS para repelente caseiro feito a partir de extrato etanólico de botões florais de cravo-da-índia macerados. Segundo os autores, o produto conferiu 63% de atividade de repelência para as fêmeas de *Ae. aegypti*. Isto é, com resultados próximos ao presente estudo, com índice médio de repelência de 72,4%. Mesmo que aqui a taxa de repelência tenha sido maior que a encontrada por Affonso e colaboradores (2018), ainda assim está muito abaixo do mínimo recomendado que é de 95%.

Para Affonso e colaboradores (2018), repelentes produzidos com o cravo-da-índia parecem ser eficientes para a prevenção de picadas dos mosquitos, mas precisam ser mais bem estudados. Notam ainda que a importância de se comprovar essa eficiência tem valor social, já que repelentes dessa substância são de fácil preparação e tem baixo custo. Por consequência, podem ser utilizados por populações de baixa renda que não tem acesso físico ou financeiro a produtos comerciais.

Produtos naturais a base de citronela têm sido provavelmente os mais divulgados nos meios de comunicação para repelir insetos. Essa é também a provável razão porque a citronela vem sendo cada vez mais utilizada na medicina popular como repelente contra as picadas de *Ae. aegypti* (SANTIAGO, 2017). Fradin e Day (2002), ao testar repelentes naturais à base dessa planta, perceberam que o tempo de proteção era de até 20 minutos. Nesse período, os resultados foram parecidos, por exemplo, a produtos a base de DEET e de IR3535. De forma parecida, no presente trabalho o repelente de citronela obteve 97% de repelência no tempo 0. No entanto,, após 30 min de teste, a taxa de repelência reduziu para 89%, isto é, abaixo do nível recomendado. E em comparação a todos os repelentes caseiros avaliados no presente estudo, o de citronela apresentou uma média de repelência ligeiramente maior, mas ainda assim ineficaz para garantir a proteção contra picadas das fêmeas de *Ae. aegypti*, de acordo com o que é preconizado pela OMS.

Quanto ao repelente escolhido no *YouTube* para análise, a base da mistura de cravo-da-índia, citronela e manjerição, não existe na literatura científica estudo sobre a eficácia desta formulação, no qual uma mistura de plantas medicinais para atuar como repelentes de *Ae. aegypti*. Por outro lado, estudos sobre a ação dos óleos essenciais e de repelentes de cada uma das plantas, são citados na literatura científica, como a eficácia da citronela (TRONGTOKIT, et al., 2005; AMER; MEHLHORN, 2006), do manjerição (SATHANTRIPHOP et al., 2015) e do

cravo-da-índia (AFFONSO et al., 2018; TRONGTOKIT et al., 2005). Portanto, o presente trabalho é pioneiro em avaliar receitas caseiras mais visitadas pelo site *YouTube*.

Os repelentes caseiros produzidos da mistura de cravo-da-índia, citronela e manjerição demonstraram a menor média na taxa de repelência, quando comparado aos outros repelentes testados. Verificou-se que partir de 30 min, houve um decréscimo gradativo da porcentagem de repelência em função do tempo, com valores abaixo do recomendado, porém de forma menos acentuada que nos outros repelentes.

7. CONCLUSÃO

Na avaliação da composição química dos repelentes caseiros com o uso da técnica de cromatografia gasosa:

- ✓ Foi possível detectar somente os componentes químicos eugenol e acetato de eugenila, nos repelentes caseiros que possuem o de cravo-da-índia em sua composição;
- ✓ Apesar do manjerição e da citronela estarem presentes nas formulações dos repelentes caseiros testados, não foi possível detectar nenhum componente químico, como por exemplo o linalol e citrionelol, respectivamente.

Os resultados da avaliação da eficácia de repelentes caseiros confeccionados com citronela, cravo-da-índia, e manjerição em diferentes formulações para uso tópico contra o mosquito *Ae. aegypti*, disponibilizados no *YouTube*, demonstraram que:

- ✓ Todos eles têm um nível de eficácia acima de 95% de repelência até 30 min. Após 30 min, os resultados se mostram abaixo do preconizado pelos órgãos de saúde;
- ✓ Entre os repelentes caseiros testados, o repelente a base de citronela apresentou uma média de repelência ligeiramente maior, mas ainda assim ineficaz para garantir a proteção contra picadas das fêmeas de *Ae. aegypti*, baseando-se no que é preconizado pela OMS.

Os resultados da avaliação dos óleos essenciais de citronela, manjerição e cravo-da-índia, mostraram que:

- ✓ A concentração de 25% do óleo essencial de citronela obteve um índice de repelência de 100%, exceto em um voluntário do sexo masculino, onde a porcentagem de repelência foi de 92,7%;

- ✓ O óleo essencial de cravo-da-índia foi o único que apresentou 100% de repelência em todas as concentrações, em relação aos demais óleos essenciais testados.
- ✓ O óleo essencial de manjerição obteve 100% de repelência em todas as concentrações, exceto a de 25%, sendo essa a menor taxa de repelência entre os óleos essenciais.
- ✓ Na concentração de 25%, o óleo essencial de citronela obteve 98,2% de repelência e o de cravo-da-índia alcançou 100%.
- ✓ De maneira geral, o nível de repelência dos três óleos essenciais foi similar ao do repelente *Off!*;

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Todos repelentes caseiros tiveram um nível de eficácia aceitável nos primeiros 30 min de testes, sendo, portanto, eficazes por um período muito curto. Isso provavelmente se deve a alta volatilidade e consequente baixa concentração dos seus componentes químicos com o passar do tempo.

É preciso notar que a mistura de cravo-da-índia, citronela e manjerição teve o decréscimo de eficiência de forma menos acentuada que os outros repelentes, sugerindo que a mistura dá uma maior estabilidade ao composto.

A eficácia dos óleos essenciais de citronela, manjerição e cravo-da-índia sugere que estes são potenciais produtos para confecção de repelentes caseiros para a picada do *Ae. aegypti*.

O óleo essencial de cravo-da-índia foi o único que apresentou 100% de repelência em todas as concentrações testadas. Porém, já na sua na concentração de 75%, desencadeou no antebraço de dois voluntários um processo alérgico.

Esse fato deve ser levando em conta no desenho metodológico de futuras pesquisas, tanto para o cuidado com a saúde dos participantes, como para verificação da possível toxicidade do composto. Sobretudo que é dele que a maioria das receitas de repelentes caseiros é feita.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFFONSO, R. D. S. et al. Chemical and biological aspects of the essential oil of indian cloves. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 2, p. 146-161, 2012.

AFFONSO, R. S. et al. Quantification through TLC-densitometric analysis, repellency and anticholinesterase activity of the homemade extract of Indian cloves. **Biomedical Chromatography**, v. 32, n. 2, p. e4096, 2018.

ALMEIDA, M. A. **A promoção da saúde nas mídias sociais: uma análise do perfil do Ministério da Saúde no Twitter**. 2012. 85 f. Monografia (Especialização em Assessoria de Comunicação e Marketing) - Faculdade de Comunicação e Biblioteconomia, Universidade Federal do Goiás, Goiânia, 2012.

AMER, A.; MEHLHORN, H. Persistency of larvicidal effects of plant oil extracts under different storage conditions. **Parasitology Research**, v. 99, n. 4, p. 473-477, 2006.

ARDREY, R. E. **Liquid chromatography-mass spectrometry: an introduction**. Wiley: Huddersfield, 2003.

ARMSTRONG, D. W; BROWN, L. A. Aliphatic, aromatic, and lactones compounds. In: GABELMAN, Alan (Ed.). **Bioprocess production of aroma, fragrance, and color ingredients**. Wiley: Huddersfield, 1994.

BARNARD, D. R. et al. Mosquito density, biting rate and cage size effects on repellent tests. **Medical and veterinary entomology**, v. 12, n. 1, p. 39-45, 1998.

BASER, K. H. C. B.; BUCHBAUER, G. **Handbook of essential oils: science, technology, and applications**. Boca Raton: CRC Press, 2010. 991p.

BATES, D. et al. Fitting linear mixed-effects models using lme4. **arXiv preprint arXiv:1406.5823**, 2014.

BERNIER, U. R. et al. Synergistic attraction of *Aedes aegypti* (L.) to binary blends of L-lactic acid and acetone, dichloromethane, or dimethyl disulfide. **Journal of medical entomology**, v. 40, n. 5, p. 653-656, 2003.

BLANK, A. F. et al. Influence of season, harvest time and drying on Java citronella (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) volatile oil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 4, p. 557-564, 2007.

BIASI, L. A.; DESCHAMPS, C. **Plantas aromáticas: do cultivo à produção de óleo essencial**. Curitiba: Layer Graf, 2009.

BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. **Epidemiol. Serv. Saúde**, Brasília, v. 16, n. 4, p. 279-293, out-dez, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência de Saúde. **Brasil avalia expandir Wolbachia com experiência do México.** Brasília: Ministério da Saúde, 2020. Disponível em: <<https://www.saude.gov.br/noticias/agencia-saude/46405-brasil-avalia-expandir-wolbachia-com-experiencia-do-mexico>>. Acesso em: 01 set. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Agência e Saúde: saúde amplia público-alvo para utilização de repelentes.** Brasília: Ministério da Saúde, 2018. Disponível em: <<https://www.saude.gov.br/noticias/agencia-saude/42607-saude-amplia-publico-alvo-para-utilizacao-de-repelentes>>. Acesso em: 14 fev. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Agência e Saúde: brasil apresenta balanço após 4 anos de epidemia do zika.** Brasília: Ministério da Saúde, 2019. Disponível em: <<https://www.saude.gov.br/noticias/agencia-saude/46118-brasil-apresenta-balanco-apos-4-anos-de-epidemia-do-zika>>. Acesso em: 01 jan. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Agência e saúde: saúde amplia público-alvo para utilização de repelentes.** Brasília: Ministério da Saúde, 2018. Disponível em: <https://www.saude.gov.br/noticias/agencia-saude/42607-saude-amplia-publico-alvo-para-utilizacao-de-repelentes>. Acesso em: 01 jan. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária Gerência de Produtos de Higiene, Perfumes, Cosméticos e Saneantes. **Nota técnica nº 01/2018 - GHCOS/DIARE/ANVISA.** Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/106351/4322048/Esclarecimentos+para+o+Registro+d+e+Repelentes+de+Insetos/e17b7e4c-07de-401b-8f0a-770ef1969c74>>. Acesso em: 14 de fev. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Consumo e saúde: os cuidados na escolha e no uso de repelentes:** Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Protocolo de vigilância das microcefalias relacionadas ao vírus Zika no Brasil.** Brasília: Ministério da Saúde, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Anvisa não vê restrições no uso de repelentes por gestantes.** Brasília: Ministério da Saúde, 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Dengue: aspectos epidemiológicos, diagnóstico e tratamento** Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 2002. 20p.: il. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos, nº 176).

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Plano de Erradicação do *Aedes aegypti* (PEAa).** Brasília: Ministério da Saúde, 1996.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. **Febre amarela : guia para profissionais de saúde /** Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde. 1. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2018. 67 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico**, v. 4, n. 2, Jan, 2020. Disponível em: <<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2020/janeiro/20/Boletim-epidemiologico-SVS-02-1-.pdf>>. Acesso em: 09 fev. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Balanço da Dengue**. Informa Técnicos. 2011; 1: 1-12. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/area.cfm?id_area=1525>. Acesso em: 12 out. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. **Guia de Vigilância em Saúde**: volume único [recurso eletrônico]. Brasília : Ministério da Saúde, 2019. 740 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Guia de vigilância Epidemiológica**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Protocolo de vigilância e resposta à ocorrência de microcefalia relacionada à infecção pelo vírus Zika**. Brasília: Ministério da Saúde, 2015. p. 55.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Diretrizes nacionais para a prevenção e controle de epidemias de dengue**. Brasília: Ministério da Saúde, 2009. (Série A. Normas e Manuais Técnicos).

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Secretaria de Atenção Básica. **Chikungunya: manejo clínico**. Brasília: Ministério da Saúde, 2017. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/publicacoes/chikungunya_manejo_clinico_1ed.pdf>. Acesso em: 12 out. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Vírus Zika no Brasil: a resposta do SUS** [recurso eletrônico]. Brasília: Ministério da Saúde, 2017. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/virus_zika_brasil_resposta_sus.pdf>. Acesso em: 17 out. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Vigilância Epidemiológica. **Manual de Vigilância Epidemiológica da Febre Amarela**. Brasília: Ministério da Saúde, 1999.

BROWN, M.; HEBERT, A. A. Insect repellents: an overview. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 36, n. 2, p. 243-249, 1997.

BUENO, V.; ANDRADE, C. Avaliação preliminar de óleos essenciais de plantas como repelentes para *Aedes albopictus* (Skuse, 1894)(Diptera: Culicidae). **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v. 12, n. 2, p. 215-219, 2010.

BURGESS, J.; GREEN, J. **YouTube e a revolução digital**. São Paulo: Aleph, 2009.

CAMPBELL, L. P. et al. Climate change influences on global distributions of dengue and chikungunya virus vectors. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 370, n. 1665, p. 20140135, 2015.

CARVALHO FILHO, J. L. S. et al. Influence of the harvesting time, temperature and drying period on basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 1, p. 24-30, 2006.

CASTELLS, M. A. **Sociedade em Rede**. São Paulo: Paz e Terra, 2007.

CASTRO, L. O.; CHEMALE, V. M. **Plantas Medicinais, condimentares e aromáticas: descrição e cultivo**. Guaíba: Agropecuária, 1995.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Dengue Fever**. DeKalb: Centers for Disease Control and Prevention, 2019.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases. **Division of Vector-Borne Diseases**. DeKalb: Centers for Disease Control and Prevention, 2018.

CLETON, N. et al. Come fly with me: review of clinically important arboviruses for global travelers. **Journal of Clinical Virology**, v. 55, n. 3, p. 191-203, 2012.

CENTRO DE OPERAÇÕES DE EMERGÊNCIA EM SAÚDE. **Microcefalias atualizações: entrevista coletiva sobre microcefalia**. Brasil: Ministério da Saúde, 2016.

CONSOLI, R. A.; OLIVEIRA, R. L. D. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 1994.

COSTANTINI, C.; BADOLO, A.; ILBOUDO-SANOGO, E. Field evaluation of the efficacy and persistence of insect repellents DEET, IR3535, and KBR 3023 against *Anopheles gambiae* complex and other Afrotropical vector mosquitoes. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 98, n. 11, p. 644-652, 2004.

CHRISTOPHERS, R. Mosquito repellents. **J. Hyg**, n. 45, p. 176-231, 1947.

DEGENNARO, M. The mysterious multi-modal repellency of DEET. **Fly (Austin)**, v. 9, n. 1, p. 45-51, 2015.

DENNIS, E. J.; GOLDMAN, O. V.; VOSSHALL, L. B. *Aedes aegypti* mosquitoes use their legs to sense DEET on contact. **Current Biology**, v. 29, n. 9, p. 1551-1556. e5, 2019.

DITZEN, M.; PELLEGRINO, M.; VOSSHALL, L. B. Insect odorant receptors are molecular targets of the insect repellent DEET. **Science**, v. 319, n. 5871, p. 1838-1842, 2008.

DOGAN, E.; AYRES, J.; ROSSIGNOL, P. Behavioural mode of action of deet: inhibition of lactic acid attraction. **Medical and veterinary entomology**, v. 13, n. 1, p. 97-100, 1999.

EIRAS, A. Culicídeos. In: NEVES, D. P. (Ed.). **Parasitologia Humana**. Rio de Janeiro: Ateneu, 2005. p.355-367.

EIRAS, A. E.; JEPSON, P. Responses of female *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) to host odours and convection currents using an olfactometer bioassay. **Bulletin of Entomological Research**, v. 84, n. 2, p. 207-211, 1994.

EIRAS, A. E.; JEPSON, P. C. Host location by *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): a wind tunnel study of chemical cues. **Bulletin of Entomological Research**, v. 81, n. 2, p. 151-160, 1991.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **EPA product performance test guidelines: insect repellents to be applied to human skin.** v.23. Washington: Environmental Protection Agency, 2008.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Test Guidelines OPPTS 810.3700:** insect repellents to be applied to human skin. Washington: Environmental Protection Agency, 2017. Disponível em: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2017-07/documents/810_3700_insect_repellent_guideline.pdf>. Acesso em: 01 fev. 2020.

FARES, R. C. et al. Epidemiological scenario of dengue in Brazil. **BioMed research international**, v. 2015, 2015.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 1988,

FERNANDES, P. C. et al. Cultivo de manjeriço em hidroponia e em diferentes substratos sob ambiente protegido. **Horticultura Brasileira**, v. 22, n. 2, p. 260-264, 2004.

FIGUEIREDO, L. T. M. The brazilian flaviviruses. **Microbes and Infection**, v. 2, n. 13, p. 1643-1649, 2000.

FORATTINI, O. P. **Entomologia médica.** São Paulo: Edusp, 2002.

FRADIN, M. S. Mosquitoes and mosquito repellents: a clinician's guide. **Annals of internal medicine**, v. 128, n. 11, p. 931-940, 1998.

FRADIN, M. S. Repelentes de insetos. In: WOLVERTON, S. E, (ed). **Terapia medicamentosa dermatológica abrangente.** Filadélfia: WB Saunders, 2001. p. 717-734.

FRADIN, M. S.; DAY, J. F. Comparative efficacy of insect repellents against mosquito bites. **New England Journal of Medicine**, v. 347, n. 1, p. 13-18, 2002.

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. Comunicação e informação. **Notícias: Aedes aegypti:** método Wolbachia para o combate ao mosquito chega em sua etapa final, 2019. Disponível em: <<https://portal.fiocruz.br/noticia/aedes-aegypti-metodo-wolbachia-para-o-combate-ao-mosquito-chega-em-sua-etapa-final>>. Acesso em: 24 fev. 2020.

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. **Nota técnica n.º 4/2016/ioc-fiocruz/diretoria.** 2016.

G1. **Revista Time eleger YouTube a melhor invenção do ano.** G1, novembro 2006. Disponível em: <<http://g1.globo.com/Noticias/Tecnologia/0,,AA1340903-6174-363,00.html>>. Acesso em: 5 jan. 2020.

GEIER, M.; BOSCH, O. J.; BOECKH, J. Ammonia as an attractive component of host odour for the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. **Chemical senses**, v. 24, n. 6, p. 647-653, 1999.

GEIER, M.; SASS, H.; BOECKH, J. A search for components in human body odour that attract females of *Aedes aegypti*. In: CIBA FOUNDATION SYMPOSIUM, 1996. p.132-148.

GONÇALVES, C. M. **O estudo da competência vetorial das populações de *Aedes aegypti* da cidade de Belo Horizonte, Minas Gerais, ao Dengue vírus 2**. 2010. 95 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde). Fundação Oswaldo Cruz, Belo Horizonte, 2010.

GOULD, E. et al. Emerging arboviruses: why today? **One Health**, v. 4, p. 1-13, 2017.

GOVINDARAJAN, M. Larvicidal and repellent activities of *Sida acuta* Burm. F.(Family: Malvaceae) against three important vector mosquitoes. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 3, n. 9, p. 691-695, 2010.

GREGIANINI, T. S. et al. Emerging arboviruses in Rio Grande do Sul, Brazil: Chikungunya and Zika outbreaks, 2014-2016. **Reviews in medical virology**, v. 27, n. 6, p. e1943, 2017.

HO, Y. C.; HUANG, F. M.; CHANG, Y. C. Mechanisms of cytotoxicity of eugenol in human osteoblastic cells in vitro. **International Endodontic Journal**, v.39, n.3, p.389-393, 2006.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **Aromatic natural raw materials**: Vocabulary. Genebra: International Organization for Standardization, 1997. 14 p.

ISLAM, J. et al. Mosquito repellents: An insight into the chronological perspectives and novel discoveries. **Acta tropica**, v. 167, p. 216-230, 2017.

KIPLE, K. F.; ORNELAS, K. C. **The Cambridge world history of food**. São Paulo: Cambridge University Press, 1999.

KNOLS, B. G.; DE JONG, R.; TAKKEN, W. Differential attractiveness of isolated humans to mosquitoes in Tanzania. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 89, n. 6, p. 604-606, 1995.

KULMA, M. et al. Laboratory evaluation of repellency of traditional Czech homemade repellents against *Aedes aegypti*. **Epidemiol Mikrobiol Imunol**, v. 67, p. 129-133, 2018.

KUMAR, S. et al. Impact of Ocimum basilicum Leaf Essential Oil on The Survival and Behaviour of An Indian Strain of Dengue Vector, *Aedes aegypti* (L.). **Vector Biol J**, v. 6, p. 12-16, 2017.

LUPI, E.; HATZ, C.; SCHLAGENHAUF, P. The efficacy of repellents against *Aedes*, *Anopheles*, *Culex* and *Ixodes* spp.—A literature review. **Travel medicine and infectious disease**, v. 11, n. 6, p. 374-411, 2013.

MAIBACH, H. I. et al. Topical insect repellents. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 16, n. 5part2, p. 970-973, 1974.

MARCO, C. A. et al. Características do óleo essencial de capim-citronela em função de espaçamento, altura e época de corte. **Horticultura brasileira**, v. 25, n. 3, p. 429-432, 2007.

MATIAS, N. G. **Avaliação da atividade larvívica de extratos vegetais frente ao *Aedes aegypti***. 2015. 48 f. Monografia (Especialização em Farmácia) – Faculdade de Pindamonhangaba, Pindamonhangaba, 2015.

MATTOS, S. H. 2000. **Estudos fitotécnicos da *Mentha arvensis* L. var. Holmes como produtora de mentol no Ceará.** 2000. 98 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2000.

MAY, A. et al. Ocorrência de Cercosporiose em *Ocimum basilicum* L. no Estado de São Paulo. **Centro de horticultura – Plantas Aromáticas e Medicinais**, v. 17, 2008.

MEIRELES, M. A. A. **Extracting bioactive compounds for food products: theory and applications.** Boca Ranton: CRC, 2009. 464p.

MCMICHAEL, A. J.; WOODRUFF, R. E. Climate change and infectious diseases. In: (Ed.). **The social ecology of infectious diseases:** Elsevier, 2008. p.378-407.

MEILI, A. M. O audiovisual na era YouTube: pro-amadores e o mercado. **Sessões do Imaginário**, v. 16, n. 25, 2011.

MOHIDDIN, A.; LASIM, A. M.; ZUHARAH, W. F. Susceptibility of *Aedes albopictus* from dengue outbreak areas to temephos and *Bacillus thuringiensis subsp. israelensis*. **Asian Pacific journal of tropical biomedicine**, v. 6, n. 4, p. 295-300, 2016.

MOREIRA, L. A. et al. A *Wolbachia* symbiont in *Aedes aegypti* limits infection with dengue, Chikungunya, and Plasmodium. **Cell**, v. 139, n. 7, p. 1268-1278, 2009.

NAUCKE, T. et al. Field evaluation of the efficacy of proprietary repellent formulations with IR3535® and Picaridin against *Aedes aegypti*. **Parasitology research**, v. 101, n. 1, p. 169, 2007.

NERIO, L. S.; OLIVERO-VERBEL, J.; STASHENKO, E. Repellent activity of essential oils: a review. **Bioresource technology**, v. 101, n. 1, p. 372-378, 2010.

OBERMAYR, U.; ROSE, A.; GEIER, M. A novel test cage with an air ventilation system as an alternative to conventional cages for the efficacy testing of mosquito repellents. **Journal of medical entomology**, v. 47, n. 6, p. 1116-1122, 2014.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Arthropod-borne and rodent-borne viral diseases. **Technical Report Series**, v. 719, p. 1–116, 1985.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Chemical methods for the control of vectors and pests of public health importance** [Internet]. Genebra: Organização Mundial da Saúde, 1996. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/63504/1/WHO_CTD_WHOPES_97.2.pdf>. Acesso em: 15 ago. 2020.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Coronavirus disease (COVID-19) outbreak.** Genebra: Organização Mundial da Saúde, 2019. Disponível em: <<https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>> Acesso: 14 mai. 2020.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Dengue guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control.** Genebra: Organização Mundial da Saúde, 2009.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Diretrizes para testes de eficácia de repelentes de mosquitos para peles humanas**. Genebra: Organização Mundial da Saúde, 2009. Disponível em: <<https://apps.who.int/iris/handle/10665/70072>>. Acesso em: 23 jul. 2020.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Number of reported cases of chikungunya fever in the Americas, by country or territory 2013-2014**. Genebra: Organização Mundial da Saúde, 2014. Disponível em: <http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_download&Itemid=270&gid=28697&lang=en>. Acesso em: 14 de jan. 2020.

OUSSALAH, M. et al. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157: H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. **Food control**, v. 18, n. 5, p. 414-420, 2007.

PAOLI, S. D. et al. Effects of clove (*Caryophyllus aromaticus* L.) on the labeling of blood constituents with technetium-99m and on the morphology of red blood cells. **Brazilian archives of biology and technology**, v. 50, n. spe, p. 175-182, 2007.

PATON, A. A synopsis of *Ocimum* L.(Labiatae) in Africa. **Kew Bulletin**, p. 403-435, 1992.

PAULA, J. P. et al. Atividade repelente do óleo essencial de *Ocimum selloi* Benth.(variedade eugenol) contra o *Anopheles braziliensis* Chagas. **Acta farmaceutica bonaerense**, v. 23, p. 376-378, 2004.

PEREIRA, Marli Candido; DEFANI, Marli Aparecida. **Plantas medicinais: modificando conceitos**. 2009. Secretaria da Educação do Paraná. Disponível em: <http://www.gestaoescolar.diaadia.pr.gov.br/arquivos/File/producoes_pde/artigo_marli_candido_pereira.pdf>. Acesso em: 20 out. 2019.

POSEY, K. H.; SCHRECK, C. E. An airflow apparatus for selecting female mosquitoes for use in repellent and attraction studies. **Mosq News**, v. 41, p. 566-568, 1981.

PRAMOD, K.; ANSARI, S. H.; ALI, J. Eugenol: a natural compound with versatile pharmacological actions. **Natural product communications**, v. 5, n. 12, p. 1934578X1000501236, 2010.

REIS, A. et al. Murcha do manjeriço (*Ocimum basilicum*) no Brasil: agente causal, círculo de plantas hospedeiras e transmissão via semente. **Summa Phytopathologica**, v. 33, n. 2, p. 137-141, 2007.

RIBAS, J.; CARRENO, A. M. Evaluation of the use of repellent against mosquito bite by military personnel in the Amazon Basin. **Anais brasileiros de dermatologia**, v. 85, n. 1, p. 33-38, 2010.

ROCHA, S.; MING, L. C.; MARQUES, M. Influência de cinco temperaturas de secagem no rendimento e composição do óleo essencial de citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, p. 73-78, 2000.

RODRÍGUEZ, M. M. et al. Cross-resistance to pyrethroid and organophosphorus insecticides induced by selection with temephos in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Cuba. **Journal of medical entomology**, v. 39, n. 6, p. 882-888, 2002.

RUNYORO, D. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of four *Ocimum* species growing in Tanzania. **Food chemistry**, v. 119, n. 1, p. 311-316, 2010.

RUST, R. S. Human arboviral encephalitis. In: SEMINARS IN PEDIATRIC NEUROLOGY, 2012. Elsevier. p.130-151.

SAJJADI, S. E. Analysis of the essential oils of two cultivated basil (*Ocimum basilicum* L.) from Iran. **DARU Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 14, n. 3, p. 128-130, 2006.

SANTIAGO, A. C. **Uso de repelentes naturais como estratégia de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão de literatura**. 2017. 62f. Monografia (Bacharelado em Farmácia) – Faculdade Maria Milza, Governador Mangabeira, 2017.

SANTOS, M. A. V. D. M. et al. Tecnologias integradas para controle biológico, mecânico e genético de *Aedes aegypti*. **Comunicação em Ciências da Saúde**, v. 28, n. 01, p. 58-63, 2017.

SATHANTRIPHOP, S. et al. Comparison of field and laboratory-based tests for behavioral response of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) to repellents. **Journal of economic entomology**, v. 108, n. 6, p. 2770-2778, 2015.

SERRANO, P.; PAIVA, C. C. Critérios de Categorização para os vídeos do Youtube. In: XXXI CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIAS DA COMUNICAÇÃO, 2008.

SHULSE, C. D.; SEMLITSCH, R. D.; TRAUTH, K. M. Mosquitofish dominate amphibian and invertebrate community development in experimental wetlands. **Journal of Applied Ecology**, v. 50, n. 5, p. 1244-1256, 2013.

SILVA, H. H. G. D.; SILVA, I. G. D. Influência do período de quiescência dos ovos sobre o ciclo de vida de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762)(Diptera, Culicidae) em condições de laboratório. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, n. 4, p. 349-355, 1999.

SILVA, M. J.; LINHARES, R. N. Mídia, saúde e educação: um estudo teórico. **Revista Eletrônica Debates em Educação Científica e Tecnológica**, v. 6, n. 01, 2016.

SILVEIRA, J. C. et al. Levantamento e análise de métodos de extração de óleos essenciais. **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, n. 15, p. 2038-2052, 2012.

SIMON, J. E. **Sweet basil: a production guide**. West Lafayette: Purdue University, 1985.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis: Ed Universidade/UFRGS/Ed. Universidade/UFSC, 1999.

SOLÓRZANO-SANTOS, F.; MIRANDA-NOVALES, M. G. Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. **Current opinion in biotechnology**, v. 23, n. 2, p. 136-141, 2012.

SOUZA JÚNIOR, I. T.; SALES, N. L. P.; MARTINS, E. R. Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado do maracujazeiro amarelo. **Biotemas**, v. 22, n. 3, p. 77-83, 2009.

STANCZYK, N. M. et al. Behavioral insensitivity to DEET in *Aedes aegypti* is a genetically determined trait residing in changes in sensillum function. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 19, p. 8575-8580, 2010.

STEFANI, G. P. et al. Repelentes de insetos: recomendações para uso em crianças. **Rev Paul Pediatr**, v. 27, v. 1, p. 81-99, 2009.

STOCKER, R. F. The organization of the chemosensory system in *Drosophila melanogaster*: a review. **Cell and tissue research**, v. 275, n. 1, p. 3-26, 1994.

SYED, Z.; LEAL, W. S. Mosquitoes smell and avoid the insect repellent DEET. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, n. 36, p. 13598-13603, 2008.

TAJUDDIN, S.; LATIF, A.; QASMI, I. A. Effect of 50% ethanolic extract of *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry.(clove) on sexual behaviour of normal male rats. **BMC complementary and Alternative medicine**, v. 4, n. 1, p. 1-7, 2004.

TAN, K. et al. A popular Indian clove-based mosquito repellent is less effective against *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* than DEET. **PLoS One**, v. 14, n. 11, p. e0224810, 2019.

TRONGTOKIT, Y. et al. Comparative repellency of 38 essential oils against mosquito bites. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives**, v. 19, n. 4, p. 303-309, 2005.

TSUNODA, T. et al. Effect of body size and sugar meals on oviposition of the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Journal of Vector Ecology**, v. 35, n. 1, p. 56-60, 2010.

UNIMED. Confederação Nacional das Cooperativas Médicas. **Cuidado com o que você ouve sobre a dengue**. 2005. Disponível em: <http://www.unimed.coop.br/pct/index.jsp?cd_canal=34471&cd_secao=43894&cd_materia=60567>. Acesso em: 17 fev. 2020.

VALDERRAMA, X. et al. Seasonal anointment with millipedes in a wild primate: a chemical defense against insects? **Journal of Chemical Ecology**, v. 26, n. 12, p. 2781-2790, 2000.

VALLE, D.; BELINATO, T. A.; MARTINS, A. D. J. Controle químico de *Aedes aegypti*, resistência a inseticidas e alternativas. **Dengue: teorias e práticas**. Rio de Janeiro: Fiocruz, p. 93-126, 2015.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C. O gênero *copaifera* L. **Química nova**, v. 25, n. 2, p. 273-286, 2002.

VILLELA, E. F. D. M.; NATAL, D. Mídia, saúde e poder: um jogo de representações sobre dengue. **Saúde e sociedade**, v. 23, p. 1007-1017, 2014.

WEAVER, S. C.; REISEN, W. K. Present and future arboviral threats. **Antiviral research**, v. 85, n. 2, p. 328-345, 2010.

WYLIE, B. J. et al. Insect repellants during pregnancy in the era of the Zika virus. **Obstetrics and gynecology**, v. 128, n. 5, p. 1111, 2016.

ZARA, A. L. D. S. A. et al. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 25, p. 391-404, 2016.