



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
DEPARTAMENTO DE PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCS**

**EDLA LÍDIA VASQUES DE SOUSA DOS SANTOS**

**ATIVIDADE LARVICIDA DA NANOEMULSÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE  
*Ocimum basilicum* Linn (LAMIALES: LAMIACEA) EM *Aedes aegypti* Linnaeus e  
*Culex quinquefasciatus* Say (DIPTERA: CULICIDAE)**

Macapá/AP  
2018

**EDLA LÍDIA VASQUES DE SOUSA DOS SANTOS**

**ATIVIDADE LARVICIDA DA NANOEMULSÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE  
*Ocimum basilicum* Linn (LAMIALES: LAMIACEA) EM *Aedes aegypti* Linnaeus e  
*Culex quinquefasciatus* Say (DIPTERA: CULICIDAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, na área de concentração Ensaios Biológicos, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Raimundo Nonato Picanço Souto

Macapá/AP  
2018

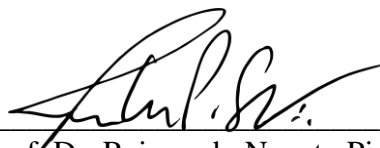
**EDLA LÍDIA VASQUES DE SOUSA DOS SANTOS**

**ATIVIDADE LARVICIDA DA NANOEMULSÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE  
*Ocimum basilicum* Linn (LAMIALES: LAMIACEA) EM *Aedes aegypti* Linnaeus e  
*Culex quinquefasciatus* Say (DIPTERA: CULICIDAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação  
em Ciências da Saúde, na área de concentração Ensaio  
Biológicos, como requisito para obtenção do título de  
Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Raimundo Nonato Picanço Souto

DATA DE APROVAÇÃO: 30/04/2018



---

Orientador: Prof. Dr. Raimundo Nonato Picanço Souto  
Universidade Federal do Amapá-UNIFAP

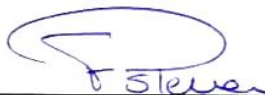


---

Examinador: Prof. Dr. Patrick de Castro Cantuária  
Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá-IEPA

---

Examinador: Prof. Dr. Madson Ralide Fonseca Gomes  
Universidade Federal do Amapá-UNIFAP



---

Examinadora: Prof. Dra. Francineide Pereira da Silva Pena  
Universidade Federal do Amapá-UNIFAP

Macapá/AP  
2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Biblioteca Central da Universidade Federal do Amapá  
Elaborado por Mara Patrícia Corrêa Garcia – CRB-2/1248

---

Santos, Edla Lúcia Vasques de Sousa dos

Atividade larvicida da nanoemulsão do óleo essencial de *Ocimum basilicum* Linn (Lamiales: Lamiaceae) em *Aedes aegypti* (...) / Edla Lúcia Vasques de Sousa dos Santos ; orientador, Raimundo Nonato Picanço Souto. – Macapá, 2018.

63 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Amapá, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.

1. Atividade larvicida. 2. Óleo essencial. 3. Plantas medicinais. 4. Doenças epidêmicas - Prevenção. I. Souto, Raimundo Nonato Picanço, orientador. II. Fundação Universidade Federal do Amapá. III. Título.

615.321 S237a

CDD. 22 ed.

---

## **DEDICATÓRIA**

À minha mãe Edla, que sempre foi o meu maior exemplo de superação, dedicação, força e persistência. A confiança, preocupação, amizade, otimismo, apoio, companheirismo e amor incondicional que sempre teve comigo. Dedico este trabalho a você que é, a minha verdadeira MESTRA!

Ao meu filho Christian, que foi a maior bênção que recebi nessa vida. Me orgulho de você a cada dia e a cada dia faço o melhor para que se orgulhe de mim também. Dedico este trabalho ao meu pequeno e muito amado Coautor.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, por ouvir minhas preces, me fortalecer e me guiar.

À minha mãe Edla Regina, que esteve comigo em todos os momentos, que acreditou que eu seria capaz, que me compreende e me ajuda sempre que preciso e que principalmente, não me permite desistir dos meus sonhos. Infinitamente, obrigada!

Ao meu filho Christian, meu pequeno coautor e companheiro das madrugadas. Obrigada por estar na minha vida e por me motivar a ser uma pessoa melhor a cada dia.

Ao Klefson, que sempre me incentivou a tentar, fez os problemas parecerem insignificantes, compreendeu minha ausência e mesmo nos momentos mais delicados, foi paciente e me ajudou prontamente.

Aos meus avós Antônio Carlos e Lídia, pela sua infinita compreensão e carinho.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Raimundo Nonato, por me dar uma chance e confiar que eu conseguiria chegar ao final com êxito. E por toda paciência, prestatividade, atenção, compreensão e tranquilidade, com que me orientou nesses dois anos.

À Lúcia e a Dona Lecy, que com seu conhecimento sobre remédios caseiros e plantas, não pouparam esforços para me ajudar a encontrar o que precisava.

À minha amiga e comadre Railani, pelos conselhos, risos e rezas, por ser um porto seguro com quem pude contar e desabafar e por ser alguém que sempre se importou. Ao meu amigo Yuri Medeiros, que diversas vezes largou seu projeto para me socorrer. Aos meus amigos, Neylane, Wagner, Joah, Fernando, pelo apoio e pensamentos positivos que depositaram em mim.

Ao Laboratório de Artrópodes (ARTHROLAB). Em especial ao Prof. Me. Ricardo e a Karen pelas conversas esclarecedoras, ensinamentos, boa vontade e paciência. Ao Me. Tiago Costa, por me ensinar a acreditar no meu potencial e me fazer pensar positivo.

Ao Laboratório de Bioprospecção e Absorção Atômica (LAAB), amigos e colaboradores, Wenderson, Sônia, Hina, Gabi, Prof. Dr. Alexandro, em especial Prof. Dr. Roberto Messias, que acreditou em mim, não me deixou desanimar e abriu meus olhos para certos questionamentos que mudaram minha forma de ver minha pesquisa e o mundo.

Ao Laboratório de Nanobiotecnologia Fitofarmacêutica (NANOFITO). Em especial à Prof. Dra. Anna Eliza e ao Jonatas Lobato, pela boa vontade, paciência e comprometimento que foram substanciais para a realização da minha pesquisa.

Ao Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análise (LMCA) do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos da Universidade Federal da Paraíba (UFPB). Em especial ao Prof. Dr. Josean Fechine, que contribuiu de forma rápida e prestativa às análises da pesquisa.

Ao Laboratório de Pesquisa em Fármacos, pela utilização do Zetasizer Nano ZS para realização de algumas análises.

À Unifap e ao PPGCS, pela oportunidade de estar concluindo o mestrado.

Ao CNPq pela concessão da bolsa.

À todos que, direta ou indiretamente, contribuíram com o desenvolvimento deste trabalho.

Muito obrigada!

*“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.”*

*Arthur Schopenhauer*

*“Você precisa desaprender o que aprendeu”*

*Mestre Yoda, Star Wars*



## RESUMO

Os mosquitos das espécies *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus* transmitem uma série de doenças epidêmicas, representando uma ameaça para milhões de seres humanos e animais em todo o mundo. O presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade larvicida da nanoemulsão do óleo essencial das folhas de *Ocimum basilicum* em *A. aegypti* e *C. quinquefasciatus*. O óleo essencial (OE) foi obtido por hidrodestilação e as identificações dos constituintes químicos bioativos presentes no mesmo foram realizadas por cromatografia gasosa e espectroscopia de massa (GC-MS). Identificou-se o Linalol como composto majoritário, correspondendo a 32.66% da porcentagem relativa do óleo seguido pelo Anetol com 32.48% que possuem conhecida ação inseticida e repelente. Diversas nanoemulsões foram desenvolvidas usando um método de baixo aporte de energia, sendo que, nos melhores resultados utilizou-se o Tween 20, sugerindo que o equilíbrio hidrofílico-lipofílico deste óleo é de cerca de 16,7 com tamanho médio de partícula de 294.9nm e índice de polidispersão de 0.070. No bioensaio de atividade larvicida foi testada a nanoemulsão nas concentrações de 10, 20, 30, 40 e 50 mg/L em larvas de 4º estágio. Após 24 e 48 horas de exposição foram observados valores de  $CL_{50}$ = 42.15mg/L e 40.94mg/L e  $CL_{90}$ = 50.35mg/L e 48.87mg/L para *A. aegypti*; e  $CL_{50}$ = 39.64mg/L e 38.08mg/L e  $CL_{90}$ = 52.58mg/L e 54.26mg/L para *C. quinquefasciatus*, respectivamente. Desta forma, a nanoemulsão estudada mostrou-se altamente eficiente contra larvas de *A. aegypti* e *C. quinquefasciatus*, tornando-se uma alternativa em potencial como bioinseticida.

Palavras-Chave: Anetol, Bioinseticida, Cromatografia Gasosa, Linalol, Manjeriçãõ.

## ABSTRACT

Mosquitoes of the species *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* transmit a series of epidemic diseases, posing a threat to millions of humans and animals around the world. The present study aimed to evaluate the nanoemulsion larvicidal activity of the essential oil of the *Ocimum basilicum* leaves in *A. aegypti* and *C. quinquefasciatus*. The essential oil (OE) was obtained by hydrodistillation and the identifications of the bioactive constituents present in it were performed by gas chromatography and mass spectroscopy (GC-MS). Linalool was identified as the major compound, corresponding to 32.66% of the relative percentage of oil followed by Anethole with 32.48% that have a known insecticidal and repellent action. Several nanoemulsions were developed using a low energy input method, with the best results using Tween 20, suggesting that a hydrophilic-lipophilic balance of this oil is about 16.7 with a mean particle size of 294.9nm and polydispersity index of 0.070. In the bioassay of larvicidal activity, the nanoemulsion was tested at concentrations of 10, 20, 30, 40 and 50 mg / L in 4th instar larvae. After 24 and 48 hours of exposure, the following values were observed: LC50 = 42.15mg / L and 40.94mg / L and CL90 = 50.35mg / L and 48.87mg / L for *A. aegypti*; and LC50 = 39.64mg / L and 38.08mg / L and CL90 = 52.58mg / L and 54.26mg / L for *C. quinquefasciatus*, respectively. Thus, the nanoemulsion studied was highly efficient against *A. aegypti* and *C. quinquefasciatus*, becoming a potential alternative as a bioinsecticide.

Keywords: Anethole, Basil, Bioinsecticide, Gas Chromatography, Linalool.

## LISTA DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 1:</b> Ciclo de desenvolvimento do <i>Aedes aegypti</i> (Adulto, ovos, instars larvais e pupa). .....   | 19 |
| <b>Figura 2:</b> Fases de desenvolvimento do <i>Culex quinquefasciatus</i> : 1. Mosquito adulto; 2.Ovos; 3. Larvas; 4. Pupa.....  | 21 |
| <b>Figura 3:</b> 1. Arbusto de <i>Ocimum basilicum</i> ; 2. Folhas de <i>Ocimum basilicum</i> ; 3. Flores de <i>Ocimum basilicum</i> .....  | 27 |
| <b>Figura 4:</b> Exsicata da espécie <i>Ocimum basilicum</i> , depositada no Herbário Amapaense do Instituto de Pesquisa Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá (HAMAB/IEPA)..   | 31 |
| <b>Figura 5:</b> Bioensaio da atividade larvicida em <i>Aedes aegypti</i> da nanoemulsão de <i>Ocimum basilicum</i> nas concentrações de 10, 20, 30, 40 e 50 mg/L e os controles. ....  | 34 |
| <b>Figura 6:</b> Bioensaio da atividade larvicida em <i>Culex quinquefasciatus</i> da nanoemulsão de <i>Ocimum basilicum</i> nas concentrações de 10, 20, 30, 40 e 50 mg/L e os controles. ....   | 34 |
| <b>Figura 7:</b> Leitura da mortalidade do bioensaio da atividade larvicida em <i>Aedes aegypti</i> e <i>Culex quinquefasciatus</i> da nanoemulsão de <i>Ocimum basilicum</i> nas concentrações de 10, 20, 30, 40 e 50 mg/L e os controles.....   | 35 |
| <b>Figura 8:</b> Aparência final da nanoemulsão de óleo essencial de <i>Ocimum basilicum</i> . ....   | 40 |
| <b>Figura 9.</b> Distribuição do tamanho das partículas das nanoemulsões de <i>O. basilicum</i> preparadas com Tween 20. Tamanho médio de gotículas: Dia 0: 278,3±1,102nm; Dia 1: 244,6±3,102nm; Dia 14: 280,4±2,957nm. Índice de polidispersividade: Dia 0: 0,231±0,021; Dia 1: 0,152±0,022; Dia 7: 0,209±0,015..... | 41 |
| <b>Figura 10.</b> Influência de temperatura no tamanho de gotículas de nanoemulsões preparadas com óleo essencial extraído de folhas de <i>O. basilicum</i> e Tween 20. Cada medida representa média ± desvio padrão. ....  | 42 |
| <b>Figura 11.</b> Perfil cromatográfico do óleo essencial de <i>Ocimum basilicum</i> .....  | 62 |
| <b>Figura 12.</b> Espectro de massa dos quatro principais compostos do <i>Ocimum basilicum</i> : Linalol, Anetol, Eucaliptol e Limoneno. ....   | 63 |

## LISTA DE QUADROS

|  |    |
|--|----|
| <b>Quadro 1:</b> Tipos de controle.....  | 22 |
| <b>Quadro 2:</b> Tipos de inseticidas sintéticos e suas características. ....  | 23 |
| <b>Quadro 3:</b> Comprovação através de estudos científicos sobre a ação inseticida e repelente do <i>O. basilicum</i> e de outras espécies do mesmo gênero.....       | 28 |
| <b>Quadro 4.</b> Arboviroses transmitidas pelo <i>Aedes aegypti</i> .....  | 59 |
| <b>Quadro 5.</b> Doenças transmitidas pelo <i>Culex quinquefasciatus</i> . ....  | 60 |
| <b>Quadro 6.</b> Epidemiologia dos casos prováveis de Dengue, Febre Amarela, Zika e Chikungunya nos anos de 2017 e 2018 no Brasil, no Norte e no Estado do Amapá. .... | 61 |

## LISTA DE TABELAS

|  |    |
|--|----|
| <b>Tabela 1:</b> Composição química do óleo essencial de <i>Ocimum basilicum</i> .....   | 36 |
| <b>Tabela 2:</b> Tamanho das gotículas, índice de polidispersão e potencial zeta das nanoemulsões preparadas com óleo essencial de <i>Ocimum basilicum</i> (EHL= 16,7).....  | 41 |
| <b>Tabela 3:</b> Percentual médio de mortalidade de larvas de <i>Aedes aegypti</i> e <i>Culex quinquefasciatus</i> em 24 e 48 horas nas concentrações de 10, 20, 30, 40 e 50 mg/L da nanoemulsão do óleo essencial de <i>Ocimum basilicum</i> e dos controles..... | 43 |
| <b>Tabela 4:</b> Estimativa da análise Probit da CL <sub>50</sub> e CL <sub>90</sub> em larvas de <i>Aedes aegypti</i> e <i>Culex quinquefasciatus</i> em bioensaios contendo nanoemulsão de <i>Ocimum basilicum</i> . .....                                       | 44 |

## SUMÁRIO

|  |           |
|--|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO .....</b>                                    | <b>16</b> |
| <b>2 REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>                           | <b>18</b> |
| 2.1 Família Culicidae.....                                   | 18        |
| 2.1.1 <i>Aedes Aegypti</i> Linnaeus.....                     | 18        |
| 2.1.2 <i>Culex quinquefasciatus</i> Say.....                 | 20        |
| 2.2 Estratégias para controle vetorial .....                 | 21        |
| 2.3 Inseticidas e Mecanismos de resistência .....            | 22        |
| 2.4 Óleo Essencial e Metabólitos Secundários.....            | 24        |
| 2.5 Nanoemulsões.....  | 25        |
| 2.6 <i>Ocimum basilicum</i> Linn .....                       | 26        |
| 2.6.1 Característica Botânica .....                          | 26        |
| 2.6.2 Atividade Biológica.....                               | 27        |
| <b>3 OBJETIVOS .....</b>                                     | <b>30</b> |
| 3.1 OBJETIVO GERAL.....                                      | 30        |
| 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....                              | 30        |
| <b>4 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>                            | <b>31</b> |
| 4.1 MATERIAL VEGETAL .....                                   | 31        |
| 4.2 OBTENÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL .....                         | 32        |
| 4.3 CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA POR CROMATOGRAFIA GASOSA..... | 32        |
| 4.4 PREPARO DA NANOEMULSÃO .....                             | 33        |
| 4.4.1 Método de emulsificação.....                           | 33        |
| 4.4.2 Caracterização física da nanoemulsão.....              | 33        |
| 4.5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA.....                    | 33        |
| 4.5.1 Obtenção das Larvas.....                               | 33        |
| 4.5.3 Desenho experimental para o ensaio biológico .....     | 34        |
| <b>5 RESULTADOS .....</b>                                    | <b>35</b> |
| 5.1 RENDIMENTO DO ÓLEO ESSENCIAL.....                        | 35        |
| 5.2 CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA .....                         | 36        |
| 5.3 CARACTERIZAÇÃO DA NANOEMULSÃO .....                      | 40        |
| 5.4 ATIVIDADE LARVICIDA .....                                | 42        |
| <b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>                           | <b>45</b> |

**REFERÊNCIAS ..... 46**  
**ANEXO..... 59**

## 1 INTRODUÇÃO

Os mosquitos das espécies *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus* transmitem uma série de doenças epidêmicas, representando uma ameaça para milhões de seres humanos e animais em todo o mundo (ISLAM et al., 2017; ALI; GOPALAKRISHNAN; VENKATESALU, 2018). O *C. quinquefasciatus* é vetor da Filariose Linfática, Encefalites e da Febre do Nilo; o *A. aegypti* é o principal transmissor da Dengue, Zika, Chikungunya e Febre Amarela Urbana no mundo, ambos com destaque em países tropicais com condições ambientais favoráveis ao seu desenvolvimento e proliferação (BRAGA; VALLE, 2007<sup>b</sup>; MORAIS, 2011; ZARA et al., 2016; ALI; GOPALAKRISHNAN; VENKATESALU, 2018). A inexistência de vacinas para boa parte dessas doenças nos obriga a focar em estratégias profiláticas para reduzir a população de vetores (RUBIO et al., 2018).

Entretanto, devido a utilização contínua de inseticidas químicos sintéticos, o controle de mosquitos se tornou um grande desafio após o surgimento de populações de insetos resistentes. Desde então, abordagens alternativas para controle de vetores são propostas com diferentes formas de ação e mecanismos. Apostas em controles físicos, biológicos, genéticos e remodelações do controle químico, como os inseticidas provenientes de extratos de plantas, são as melhores alternativas para driblar a resistência, bem como diminuir os danos causados ao homem e ao meio ambiente (MAGALHÃES, 2015; ZARA et al., 2016; RUBIO et al., 2018).

Os óleos essenciais, são uns dos principais produtos obtidos das plantas, normalmente pode-se conceituar como misturas complexas de substâncias voláteis, líquidas, lipofílicas e geralmente são odoríferas (FRANÇOSO, 2012). Frequentemente os óleos essenciais são constituídos por alguns compostos químicos bioativos como: terpenos, hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples e terpênicos, ésteres, fenóis, aldeídos e cetonas (CAMARGO, 2008). Esses compostos químicos podem ser chamados de metabólitos secundários, que apesar de não exercer influência direta no desenvolvimento ou crescimento, desempenham funções ecológicas preponderantes, principalmente em ambientes estressantes, promovendo a defesa contra herbivoria, proteção contra fungos, vírus ou bactérias patogênicas e atração de polinizadores e organismos simbiotes (ANSANTE, 2014).

As nanoemulsões são sistemas de distribuição de compostos ativos bastante promissores constituídos geralmente, por líquidos imiscíveis usualmente estabilizados por um ou mais tensoativos (BRUXEL et al., 2012). Além da escolha correta dos tensoativos



usados, outro fator importante para formação e estabilidade da nanoemulsão é o seu método de preparo (PEY et al., 2006). Levando isso em consideração, as nanoemulsões podem ser formadas por métodos de alto ou de baixo aporte de energia. Este envolve formação espontânea ou inversão de fases para obtenção de nanoemulsões estáveis possibilitando ótimos resultados com técnicas de baixo custo e livres de solventes orgânicos potencialmente tóxicos (SOLANS; SOLÉ, 2012). Tendo em vista que muitos pesticidas de origem natural são pouco solúveis em água, o desenvolvimento de nanoformulações seria uma alternativa viável para aumentar a atividade inseticida dessas substâncias, uma vez que, as do tipo óleo em água permitiriam a incorporação de substâncias de baixa polaridade como óleos essenciais em meios aquosos (GHOSH; MUKHERJEE; CHANDRASEKARAN, 2013a). O tamanho nanométrico das gotículas pode oferecer vantagens relacionadas ao aumento da estabilidade e liberação controlada (BOEHM et al., 2003). Assim sendo, os nanopesticidas de origem natural podem ser estrategicamente usados no controle de pragas agrícolas (KHOT et al., 2012) ou vetores de doenças com a vantagem de induzirem um menor impacto sobre o meio ambiente devido ao fato de serem biodegradáveis (BOEHM et al., 2003; KAH; HOFMANN, 2014). Diversos estudos usando nanoemulsões de óleos vegetais mostraram o potencial poder inseticida desses produtos frente a vetores de doenças. O óleo essencial obtido por hidrodestilação dos frutos de *Pterodon emarginatus* se mostrou bastante eficaz contra larvas do mosquito *A. aegypti* (OLIVEIRA et al., 2017). A nanoemulsão do óleo essencial da folha de *Rosmarinus officinalis* apresentou estabilidade além de produzir alta mortalidade em 24 horas ( $80\pm 10\%$ ) e em 48 horas ( $90\pm 10\%$ ) mostrando uma potencial atividade larvicida frente a *A. aegypti* (DUARTE et al., 2015).

O *Ocimum basilicum* é uma erva de ciclo anual que pode ser encontrada em diversos países. Trata-se de uma planta arbustiva, com altura que varia de 50 a 130cm. O óleo essencial dessa planta é extraído principalmente de folhas e flores. É muito usada na culinária por conceder às refeições seu aroma e sabor característico, como agente medicinal para o tratamento de diversas patologias e como repelente e inseticida para diversas espécies, entre elas o: *A. aegypti*, *C. quinquefasciatus*, *Culex pipens*, *Anopheles stephensi* e *Callosobruchus maculatus* (NERIO; OLIVERO-VERBEL; STASHENKO, 2010; KALAIIVANI; SENTHIL-NATHAN; MURUGESAN, 2012; GOVINDARAJAN et al., 2013; ALAMO-NOLE; SU, 2017; PIRAS et al., 2018).

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 FAMÍLIA CULICIDAE

A família dos Culicidae ganhou visibilidade no momento da descoberta do papel dos insetos na veiculação de uma diversidade de agentes etiológicos. Os cientistas procuram esclarecer suas características biológicas e suas vulnerabilidades, para que desta forma possam combater, entender e monitorar de forma mais positiva (GUEDES, 2012).

São conhecidos principalmente pela transmissão de diversas arboviroses como: Dengue, Zika, Chikungunya e Febre Amarela, que durante esses anos no Brasil, ganharam repercussão devido ao número elevado de casos. Os culicídeos são encontrados em zona rural e urbana, limitados por uma faixa de altitude. Pode-se destacar os gêneros: *Culex*, *Anopheles* e *Aedes* (FÉ et al., 2003).

#### 2.1.1 *Aedes Aegypti* Linnaeus

O *A. aegypti* é um Artrópode da família dos Culicídeos, que se alimenta predominantemente de líquidos açucarados como néctares, porém as fêmeas possuem hábitos hematófagos para maturação dos ovos, dessa forma acabam tornando-se vetores de diversas arboviroses (Anexo: Quadro 4 e 6) (GUARIDO, 2009). Habitam áreas tropicais e subtropicais e localizam-se habitualmente até 1000 metros do solo. É um mosquito de hábitos diurnos e com grande facilidade em adaptação ao meio. Em seu dorso existem manchas branco prateadas, que foram obtidas durante sua evolução e através de adaptações ao meio. São encontrados tanto nos ambientes silvestres, quanto em ambientes urbanos, utilizando uma multiplicidade de criadouros. Para procriar, o *A. aegypti* precisa somente de um recipiente com água parada e limpa, o que é facilmente encontrado tanto em meio natural quanto em meio urbano, por exemplo: plantas como as bromélias, folhas secas, tocos de árvores, latas, garrafas, pneus, tambores, caixas d'água entre outros (MARCONDES, 2011). A postura dos ovos é feita usualmente em locais úmidos, nas paredes dos recipientes próximo a água ou na água diretamente, o número de ovos será proporcional a quantidade adquirida durante os repastos sanguíneos, serão postos entorno de 120 ovos se a quantidade necessária de sangue tiver sido ingerida. Os ovos são elípticos, alongados e fusiformes, tem cerca de 1 mm de comprimento. Logo após a postura, apresentam coloração branca e após algumas horas irá adquirir uma coloração negra de aspecto brilhante. A eclosão ocorrerá de 4 a 7 dias se a temperatura e a umidade forem

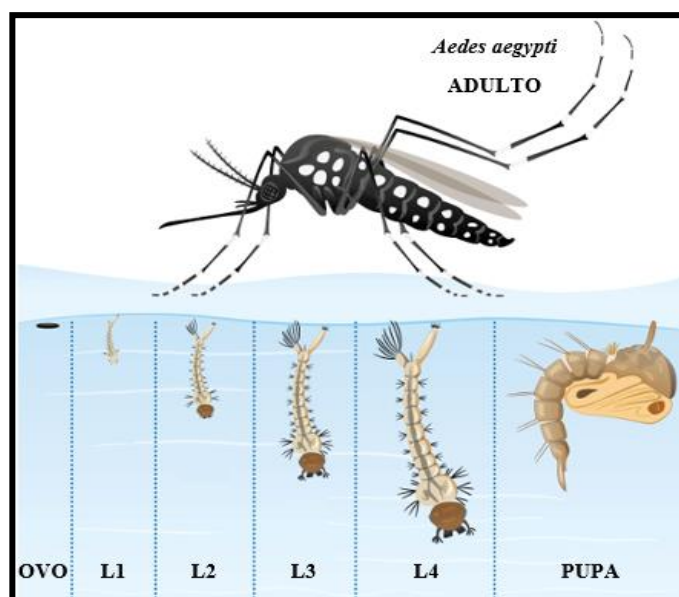
adequadas, caso não apresente condições favoráveis, o ovo do *A. aegypti* não irá eclodir podendo resistir por meses e até ano, devido uma membrana formada por quitina e lipídeos que confere aos ovos impermeabilização. Este foi um mecanismo de resistência adquirido conforme foram evoluindo (FORATTINI, 2002; ACIOLE, 2009).

O desenvolvimento pós-embrionário do *A. aegypti* apresenta quatro estádios larvais (L1, L2, L3 E L4) e uma fase de pupa. Seu corpo enquanto larva é alongado e vermiforme com coloração esbranquiçada. É formado por: abdômen, cabeça, tórax, antenas, olhos, sifão respiratório e aparelho respirador-mastigador. A alimentação ocorre por meio de partículas orgânicas contidas no reservatório, toda essa transformação ocorre de 8 a 10 dias a partir da eclosão dos ovos, sofrendo influência de questões ambientais (FORATTINI, 2002; ACIOLE, 2009).

Quando chegam no estágio de pupa, deixam de se alimentar e inicia a alteração de coloração, modificações tissulares e a formação do cefalotórax, continuam em fase móvel e ainda se localizam próximos da superfície por grande parte do tempo, este processo dura aproximadamente 2 dias (FORATTINI, 2002; ACIOLE, 2009).

As manchas brancas em formato de "lira" e a coloração escura são grandes diferenças entre o mosquito *A. aegypti* e os demais mosquitos, o que facilita a comparação. Além dessas diferenças entre as espécies, existem também diferenças dentro da própria espécie entre as fêmeas e os machos (FORATTINI, 2002; ACIOLE, 2009) (Figura 1).

**Figura 1:** Ciclo de desenvolvimento do *Aedes aegypti* (Adulto, ovos, instars larvais e pupa).



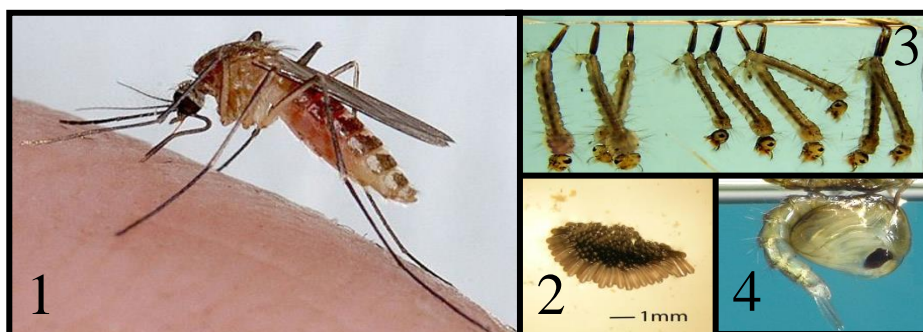
Fonte: Prefeitura de Veranópolis (2017)

### 2.1.2 *Culex quinquefasciatus* Say

O *C. quinquefasciatus* é um Artrópode da ordem Diptera, pertencente à família Culicidae, popularmente conhecido por: “pernilongo” ou “muriçoca”. Possuem hábitos noturnos, são cosmopolitas, antropofílicos e habitam as regiões tropicais e subtropicais do mundo. As fêmeas desta espécie consomem sangue de humanos e animais (exemplo: roedores, cachorros, gatos, aves), durante a noite enquanto dormem (MORAIS, 2011). Em regiões subdesenvolvidas com carência de infraestrutura e saneamento, ocorre maior proliferação desse mosquito. Os criadouros são de preferência: ralos, fossas, poços, latas e copos usados, bebedouros de animais e qualquer depósito artificial ou não, com água parada, poluída, suja, malcheirosa e com grande quantidade de dejetos humanos. Devido ao acúmulo de água nos criadouros, o aparecimento do *C. quinquefasciatus* se torna mais frequente durante o inverno (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994).

O ciclo de vida do *C. quinquefasciatus* é considerado curto, passando por quatro fases: ovo, larva (L1, L2, L3 e L4), pupa e adulto (Figura 2). As fêmeas de *C. quinquefasciatus*, depositam seus ovos em forma de “jangada” na superfície da água, normalmente 48 horas após o repasto sanguíneo. Normalmente após 48 horas, os ovos que eclodirem darão origem as larvas em estágio L1. A mudança entre os estádios larvais acontece em aproximadamente cada 24 horas até alcançar a fase de pupa. A fase de pupa leva entorno de 24 a 48 horas, elas apresentam características curvadas em forma de vírgulas, não se alimentam e apesar de ser uma fase móvel, elas passam maior parte do tempo paradas próximas a lâmina d’água, ao contrário da fase larval, que se movimentam bastante pelo recipiente e se alimentam da matéria orgânica disponível, agindo como filtradoras. Após o término da fase de pupa, os mosquitos iniciam a fase alada, necessitando de um tempo para realizar a esclerotinização das cutículas e ter capacidade para voar. A cópula e alimentação ocorrem em seguida, dando início a um novo ciclo. O tempo de vida de um *C. quinquefasciatus*, é de 30 a 60 dias, com 4 ou 5 posturas de ovos (CHALEGRE, 2008). O *C. quinquefasciatus*, é considerado o principal transmissor da Filariose no Brasil, mas também pode veicular o vírus Oropouche e encefalites (Anexo: Quadro 5) (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994).

**Figura 2:** Fases de desenvolvimento do *Culex quinquefasciatus*: 1. Mosquito adulto; 2.Ovos; 3. Larvas; 4. Pupa.



Fonte: 1. Newman (2009); 2. Morais (2009); 3. Woods (2006); 4. Dept. Medical Entomology (2002).

## 2.2 ESTRATÉGIAS PARA CONTROLE VETORIAL

Para entender o problema do *A. aegypti*, é necessário entender porque é tão fácil a sua proliferação. O Brasil oferece ambiente ideal à reprodução e sobrevivência deste mosquito, nas últimas três décadas foi possível observar o fenômeno do êxodo rural, que trouxe do campo para cidade um fluxo enorme de pessoas, na maioria das vezes não possuíam moradia ou fonte de renda, e por este motivo começavam a morar em favelas, cortiços e invasões. Esse crescimento populacional brusco, trouxe para as cidades problemas como falta de saneamento básico e tratamento de água, tornando necessário que se faça reservas em tonéis e caixas d'água, que podem facilmente tornar-se criadouros, bem como a falta de saneamento, que faz com que a coleta de lixo se torne precária, facilitando o acúmulo de reservatórios. O aumento na produção de veículos trouxe criadouros, tais como: os pneus, que são excelentes locais de reprodução e transportadores passivos de ovos, larvas. A intensa produção industrial, nos trouxe diversos materiais descartáveis, que nem sempre recebem a destinação correta e acabam poluindo, facilitando a reprodução do mosquito (TAUIL, 2002).

O controle desses vetores pode ter diversos objetivos, de acordo com os recursos tecnológicos, conhecimento a respeito, as condições políticas, econômicas e sociais. É necessário que se estabeleça medidas prioritárias preventivas, para que ocorra a redução na incidência, gravidade, mortalidade e a erradicação. Para o controle é necessário a coleta frequente de lixo com destino adequado, ampliação, regularização do sistema de água e esgoto, mobilização comunitária, atividades de vigilância sanitária com legislações de

apoio, fiscalização, tratamento ou eliminação de reservatórios, ou possíveis reservatórios (TAUIL, 2002).

Diversas tecnologias estão disponíveis para os mais diversos tipos de controles, que são: físicos, químicos, biológicos e genéticos (Quadro 1).

**Quadro 1:** Tipos de controle

| <b>Tipos de controle</b> | <b>Exemplos</b>  |
|--------------------------|--|
| <b>Físico</b>            | -Utilização de água quente;<br>-Produção de uma película monomolecular sobre a superfície da água.   |
| <b>Biológico</b>         | -Utilização de peixes larvófagos devido a sua manutenção e obtenção fácil, são os mais comuns para utilização em bebedouros, fossos, fontes, piscinas, depósitos de água não potável.  |
| <b>Genético</b>          | -Utilização de cepas refratárias (imunes aos agentes das doenças);<br>-Redução da fertilidade da população com a inserção de machos estéreis.  |
| <b>Químico</b>           | -Uso de temophos para o tratamento focal de ação larvicida com liberação gradual;<br>-Para ação adulticida o tratamento é perifocal com utilização de inseticida com ação residual de forma rotineira e em casos de transmissão;<br>-Aplicação espacial de inseticida de baixo volume (UBV). |

(DONALÍSIO; GLASSER, 2002).

Durante muitos anos foram utilizados inseticidas (controle químico) como principal forma de combate ao *A. aegypti*, devido ao uso indiscriminado e frequente, foram encontrados mosquitos resistentes aos inseticidas mais comuns, mostrando a necessidade da busca por novas tecnologias e formas alternativas de combate aos vetores (TAUIL, 2002).

### 2.3 INSETICIDAS E MECANISMOS DE RESISTÊNCIA

O desenvolvimento de resistência é um processo comum em uma população submetida a uma grande quantidade de inseticidas, onde os indivíduos capazes de desenvolver um mecanismo de resistência sobrevivem e propagam seus genes. Além das formas de resistência que podem ser adquiridas por modificações e adaptações biológicas, existe também um tipo de resistência comportamental, desenvolvida por alguns mosquitos que tem a capacidade de evitar parcialmente ou totalmente o contato que seria letal. Para driblar a resistência são utilizados outros tipos de inseticidas ou outros métodos de controle como biológicos e físicos por exemplo. A resistência aos inseticidas pode ser monitorada através de ensaios biológicos, moleculares e bioquímicos, essa supervisão do avanço da

resistência é uma das propostas feitas pela OMS (Organização Mundial da Saúde) para o controle vetorial, além da divulgação do problema, determinação de estratégias para retardar ou minimizar a resistência e a vigilância desses (DONALÍSIO; GLASSER, 2002).

O uso de inseticidas como forma de controle químico foi utilizado em larga escala tanto na agricultura quanto na saúde pública, seja na forma orgânica ou inorgânica. O primeiro inseticida químico sintético foi o DDT (diclorodifeniltricloroetano), desenvolvido durante a segunda guerra mundial. Após esse marco, outras classes de inseticidas foram desenvolvidas, como: organofosforados, carbamatos e piretróides (BRAGA; VALLE, 2007<sup>a</sup>) (Quadro 2).

**Quadro 2:** Tipos de inseticidas sintéticos e suas características.

| <b>Inseticida</b>       | <b>Características</b>   |
|-------------------------|--|
| <b>Organoclorados</b>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>-São aqueles inseticidas que possuem cloro, hidrogênio e carbono em sua formulação;</li> <li>-Tem como característica sua forma de ação nos canais de sódio, mantendo-os abertos, desequilibrando íons e intervindo nos impulsos nervosos;</li> <li>-Sua ação ocorre de acordo com a temperatura, quanto mais frio mais tóxico;</li> <li>-O principal exemplo é o DDT, que tem seu desuso é altamente estimulado pela OMS.</li> </ul> |
| <b>Organofosforados</b> | <ul style="list-style-type: none"> <li>-São os inseticidas que contém fósforo em sua formula;</li> <li>-Agem na inibição da Acetilcolinesterase (AChE), que prejudica a propagação dos impulsos nervosos causando paralisia;</li> <li>-São biodegradáveis e seu efeito residual é baixo, necessitando a renovação de tempos em tempos;</li> <li>- Possuem três classes: heterocíclicos, alifáticos e derivados de fenil.</li> </ul>  |
| <b>Carbamatos</b>       | <ul style="list-style-type: none"> <li>-Possuem ação letal e rápida, curto período residual e são relativamente solúveis em água;</li> <li>-Atuam na inibição da Acetilcolinesterase (AChE) por meio da carbamilação, podendo tornar-se reversível.</li> </ul>   |
| <b>Piretróides</b>      | <ul style="list-style-type: none"> <li>-São sintéticos, produzidos a partir de crisântemos, não cumulativos, atóxicos (exceto para animais aquáticos) e degradam-se facilmente no ambiente;</li> <li>-Também atuam nos canais de sódio desestabilizando os íons, que culminam em paralisia;</li> <li>-Alguns exemplos de piretróides são: bifentrina, flucitrinato, fluvalinato, deltametrina, cipermetrina, praletrina.</li> </ul>  |

(BRAGA; VALLE, 2007<sup>a</sup>).

A resistência foi evidenciada em diversos tipos de inseticidas, tornando-se um grave problema de saúde pública, por influenciar o reaparecimento de doenças que já

havia sido controladas. Atuam em diversos pontos, tais como: redução na taxa de penetração do inseticida, resistência metabólica causada por alterações de enzimas tornando-as capazes de degradar os compostos dos inseticidas, através da resistência das Esterases à hidrólise e a transformação do metabolismo oxidativos por meio das monooxigenases, Glutathione S-transferase (GST) que detoxificam os xenobióticos, alteração de sítio-alvo que dificultam ou impedem a ligação, interferências na Acetilcolinesterase (AChE) culminando na diminuição da afinidade do neurotransmissor com os compostos do inseticida, através da diminuição da sensibilidade dos canais de sódio aos compostos dos inseticidas ou mutação dos receptores do ácido gama-aminobutírico (GABA) causando insensibilidade do receptor a esses compostos (BRAGA; VALLE, 2007<sup>a</sup>).

#### 2.4 ÓLEO ESSENCIAL E METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

O metabolismo é o conjunto de reações químicas que ocorrem a todo momento dentro das células. Compostos químicos transformados, degradados ou formados são chamados de metabólitos, esses podem ser divididos em: metabólitos primários e metabólitos secundários (SILVA, 2013).

Os metabólitos primários são as substâncias essenciais para a manutenção da vida e comuns a maioria dos organismos vivos, como: carboidratos, proteínas e ácido nucleicos (GAIA, 2014). Os metabólitos secundários são compostos que não exercem influência direta no desenvolvimento ou crescimento. Entretanto, desempenham funções ecológicas preponderantes para as plantas principalmente em ambientes estressantes, promovendo a defesa contra herbivoria, proteção contra fungos, vírus ou bactérias patogênicas e atração de polinizadores e organismos simbiotes (ANSANTE, 2014). Os três maiores grupos de metabólitos secundários são: compostos fenólicos, terpenos e alcalóides (SILVA, 2013). Diversos fatores podem interferir no processo de produção dos metabólitos secundários, como: sazonalidade, temperatura, índice pluviométrico, exposição ao sol, poluição, altitude, nutrientes, competição, desenvolvimento e crescimento da planta, ritmo circadiano e estímulos patogênicos ou mecânicos (ESTEVEZ-PEDRO, 2013).

O óleo essencial, é um dos principais produtos obtidos das plantas, normalmente pode-se conceituar como misturas complexas de substâncias voláteis, líquidas, lipofílicas e geralmente são odoríferas (FRANÇOSO, 2012), que podem ser obtidas em uma variedade de órgãos vegetais tendo como principais formas de extração: hidrodestilação ou arraste à



vapor; extração por solventes e a enfloração (*enfleurage*) (ARAUJO, 2010).

Frequentemente os óleos essenciais são constituídos por terpenos, hidrocarbonetos terpenicos, álcoois simples e terpênicos, ésteres, fenóis, aldeídos e cetonas. A predominância está entre os compostos terpênicos como monoterpênos (por exemplo, tujona, cânfora, linalol e limoneno) e sesquiterpênos (exemplo: bisaboleno, farnesol e nerolidol). Muitos destes compostos são utilizados há séculos pela medicina popular e atualmente tem se mostrado efetivos perante comprovação científica como perfumes, condimentos, analgésicos, laxantes, antiespasmódicos, antiinflamatórios, larvicidas e repelentes de insetos (CAMARGO, 2008).

## 2.5 NANOEMULSÕES

O conceito de nanoemulsão se refere a um sistema metaestável, com estrutura dependente da estabilização estérica dos polímeros ou tensoativos não-iônicos e da forma como é preparada (MARUNO, 2009). Se tratando de sistemas transparentes ou translúcidos, cineticamente estáveis e com faixa de tamanho de 50 a 200 nm. O grau de sua transparência, está de acordo com o tamanho das gotículas (TADROS et al., 2004). O processo de fabricação de uma nanoemulsão está diretamente ligado ao movimento browniano que a deixa mais estável, o tornando responsável por não permitir a sedimentação ou a descoloração. A questão da estabilidade da nanoemulsão se mostra tão importante, que ao contrário da emulsão, pode ser diluído com água sem alterar a distribuição do tamanho das gotículas (FERNANDEZ et al., 2004).

Pode-se obter a nanomeulsão estável de forma espontânea, para que isso ocorra é importante o fornecimento de energia para o meio. As nanoemulsões podem ser obtidas por dois métodos: Os que utilizam baixa energia, que empregam majoritariamente propriedades físico-químicas; e as que utilizam alta energia, um exemplo seria a homogeneização de alta pressão (PEY et al., 2006). Além da estabilidade, existem diversas outras vantagens a respeito da utilização das nanoemulsões, entre elas podemos citar: ausência de sedimentação, floculação e coalescência, penetração na pele de forma mais eficiente, uniformidade e maior aceitabilidade sensorial, entrega de substâncias ativas, diminuição na utilização de surfactantes e substituição de lipossomas e vesículas (BOUCHEMAL et al., 2004; TADROS et al., 2004).

Por ser um método novo, ainda é pouco usado, mas mostra crescente aplicabilidade no mercado de cosméticos, fármacos e alimentos por apresentarem inúmeras vantagens

citadas anteriormente (SILVA; CERQUEIRA; VICENTE, 2011). Para evidenciar a utilidade das nanoemulsões, temos como exemplo a indústria farmacêutica, onde são muito utilizadas como veículo para os fármacos atravessarem a pele com maior facilidade e eficiência (SADURNÍ et al., 2005). A nanoemulsão já foi utilizada para o combate de glaucoma, por armazenar cloridrato de dorzolamida e ter liberação regular na mucosa ocular, segundo (AMMAR et al., 2009). Segundo Bruxel et al., (2012), a administração via intravenosa é possível englobando fármacos encapsulados com o objetivo de atingir tecidos-alvo ou realizar nutrição parenteral. Goto et al., (2013), conseguiram obter nanocápsulas após submeter as nanoemulsões provenientes de acrilato a reação de polimerização in situ posteriormente período reacional de 4 horas. Liu et al., (2013), obtiveram em microemulsões A/O conduzido via oral com efeito protetor contra a destruição de peptídeo encapsulado e melhor captação pelo intestino, devido ao reduzido tamanho das suas gotículas.

## 2.6 *Ocimum basilicum* LINN

### 2.6.1 Característica Botânica

O *Ocimum basilicum* é popularmente conhecido como alfavaca cheirosa, manjeriço, manjeriço branco, manjeriço grande, manjeriço ricão graúdo, efinrin, quioiô, basil e sweet basil. Está presente principalmente na Ásia, África, América do Sul e Central com grandes possibilidades que tenha sido cultivada primeiramente na Índia. Trata-se de um angiosperma da família Lamiaceae, gênero *Ocimum*, neste gênero provavelmente existem mais de 50 espécies.

O manjeriço é uma planta de ciclo anual, que se desenvolve em forma de arbusto com aproximadamente 50 cm de altura. As folhas são normalmente verde-claro, ovais e largas com medidas entorno dos 6,5 cm, a textura varia de sedoso, brilhante até maçante e enrugado. Suas flores são pequeninas de coloração branca ou roxa, dispostas em arranjos no topo dos ramos e normalmente só florescem no verão. As sementes são produzidas a partir das flores, com coloração que varia de preto a marrom, são facilmente semeadas e germinadas. Normalmente é cultivado em jardins domésticos e é muito apreciado devido seu aroma característico (DEPARTMENT OF AGRICULTURE FORESTRY AND FISHERIES, 2012) (Figura 3).

**Figura 3:** 1. Arbusto de *Ocimum basilicum*; 2. Folhas de *Ocimum basilicum*; 3. Flores de *Ocimum basilicum*.



Fonte: 1. Dreamstime (2012); 2. Oliveira (2011); 3. Magalhães (2012).

### 2.6.2 Atividade Biológica

As substâncias presentes no *O. basilicum* são capazes de atuar no sistema respiratório (como antitussígeno e na prevenção de bronquites) e no sistema digestivo (protegendo o estômago). Atua também contra dores de cabeça, como diurético, febrífugo, estimulante e antiespasmódico. Na gastronomia é muito conhecido como condimento e em rituais religiosos é usado na forma de banhos. A ação repelente e inseticida é vinculada ao *O. basilicum* de forma recorrente na medicina popular e comprovada em diversos estudos (Quadro 3) (ANDRADE; ALBUQUERQUE, 1998).

**Quadro 3:** Comprovação através de estudos científicos sobre a ação inseticida e repelente do *O. basilicum* e de outras espécies do mesmo gênero.

| Espécie Vegetal   | Porção Vegetal   | Óleo Essencial ou Extrato  | Atividade  | Espécie Animal   | Referência  |
|---|------------------|--|--|--|---|
| <i>O. basilicum</i>   | Folhas           | Óleo Essencial   | Larvicida  | <i>A. aegypti</i>  | (KALAIVANI; SENTHIL-NATHAN; MURUGESAN, 2012)                |
| <i>O. basilicum</i>   | -                | Óleo Essencial   | Larvicida  | <i>A. aegypti</i><br><i>A. stephensi</i><br><i>C. quinquefasciatus</i> | (AMER; MEHLHORN, 2006a)                                     |
| <i>O. basilicum</i>   | Folhas           | Extrato Metanólico   | Larvicida Pupicida   | <i>A. aegypti</i>  | (MURUGAN; MURUGAN; NOORTHEEN, 2007)                         |
| <i>O. canum</i><br><i>O. sanctum</i>  | Folhas           | Extrato cetônico, clorofórmico, de acetato de etila, hexânico e metanólico | Larvicida  | <i>S. litura</i><br><i>A. aegypti</i><br><i>C. quinquefasciatus</i>    | (KAMARAJ; RAHUMAN; BAGAVAN, 2008)                           |
| <i>O. sanctum</i>   | Folhas<br>Flores | Extrato Clorofórmico e Metanólico  | Larvicida  | <i>A. aegypti</i><br><i>C. quinquefasciatus</i>                        | (ANEES, 2008)   |
| <i>O. basilicum</i><br><i>O. gratissimum</i><br><i>O. tenuiflorum</i>                         | Folhas           | Óleo Essencial   | Larvicida  | <i>A. aegypti</i>  | (FURTADO et al., 2005)                                      |
| <i>O. basilicum</i>   | -                | Óleo Essencial   | Larvicida, Ovicida, Adulticida, Repelente e Inibição de Ovoposição | <i>A. aegypti</i><br><i>A. stephensi</i><br><i>C. quinquefasciatus</i> | (PRAJAPATI et al., 2005)                                    |
| <i>O. basilicum</i>   | Folhas           | Óleo Essencial   | Ovoposição, Repelência e Atração                                   | <i>A. aegypti</i><br><i>C. quinquefasciatus</i><br><i>A. dirus</i>     | (PHASOMKUSOLSIL; SOONWERA, 2011a)                           |
| <i>O. basilicum</i>   | -                | Óleo Essencial   | Repelência   | <i>A. aegypti</i><br><i>A. Stephensi</i><br><i>C. quinquefasciatus</i> | (AMER; MEHLHORN, 2006b)                                     |
| <i>O. basilicum</i>   | Folha            | Óleo Essencial   | Repelência   | <i>A. aegypti</i><br><i>C. quinquefasciatus</i><br><i>A. dirus</i>     | (TAWATSIN et al., 2001)                                     |
| <i>O. basilicum</i>   | Folhas           | Óleo Essencial   | Repelência   | <i>A. aegypti</i><br><i>C. quinquefasciatus</i><br><i>A. dirus</i>     | (PHASOMKUSOLSIL; SOONWERA, 2011b)                           |
| <i>O. tenuiflorum</i><br><i>O. americanum</i><br><i>O. gratissimum</i><br><i>O. basilicum</i> | Folhas           | Óleo Essencial   | Repelência   | <i>A. aegypti</i>  | (CHOKECHAIJAROENPORN; BUNYAPRAPHATSARA; KONGCHUENSIN, 1994) |

Segundo um estudo de revisão bibliográfica realizado por Nério; Olivero-Verbel; Stashenko (2010), o *O. basilicum* possui ação repelente contra *C. pipens* e *C. quinquefasciatus*, *A. stephensi*, *A. aegypti* e *Callosobruchus maculatus*. Outras espécies de *Ocimum* também foram estudadas, como o *O. forskolei* e *O. fischeri*, que possuem repelência contra *A. gambiae* e o *O. americanum* possui repelência contra *C. quinquefasciatus*.

Estudos envolvendo nanotecnologia estão começando a ser aplicados em pesquisas envolvendo a espécie *O. basilicum*. Ghosh; Mukherjee; Chandrasekaran (2013b), formularam uma nanoemulsão para atuar como bactericida, que se mostrou muito promissor contra *E. coli* mesmo após diluição, evidenciando grande potencial na indústria de alimentos. Ainda segundo Ghosh; Mukherjee; Chandrasekaran (2013a), em um outro estudo, foi avaliado o potencial larvicida da nanoemulsão à base de óleo essencial de *O. basilicum*, que se mostrou eficaz no controle de larvas de *A. aegypti*, com dosagem dependente do estágio de desenvolvimento.

Um dos mecanismos mais conhecidos responsáveis pela ação inseticida é a inibição da Acetilcolinesterase (AChE). O Linalol é o composto fitoquímico majoritário no *O. basilicum*. Esse monoterpene é característico dessa espécie e como alguns monoterpenos, o linalol inibe a ação da AChE nos artrópodes. A inibição desse neurotransmissor, provoca o acúmulo de acetilcolina nas sinapses nervosas, causando a morte do inseto por estímulo contínuo da membrana pós-sináptica, ocasionando desordem no sistema neuromuscular (MOURA, 2015; MARTINS, 2016).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Estudar a atividade larvicida da nanoemulsão de *Ocimum basilicum* em *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus*.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

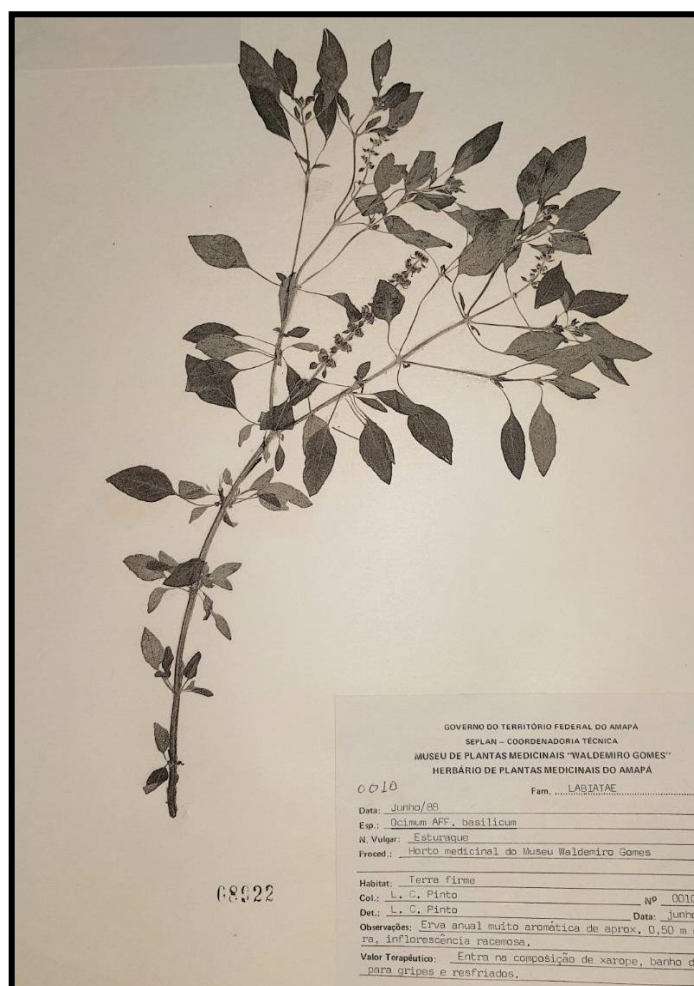
- Estimar o rendimento da extração do óleo essencial de *O. basilicum*;
- Determinar a composição química do óleo essencial de *O. basilicum*;
- Realizar o preparo e a caracterização da nanoemulsão de *O. basilicum*;
- Avaliar a atividade larvicida da nanoemulsão de *O. basilicum* frente a larvas em 4º estágio de *A. aegypti* e *C. quinquefasciatus*.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAL VEGETAL

As folhas e flores de *O. basilicum* foram coletadas no período de menor precipitação pluviométrica, em uma área de agricultura familiar no município de Macapá, Amazônia Oriental. A exsicata da espécie vegetal em estudo, está acondicionada sob o número 68922 no Herbário Amapaense do Instituto de Pesquisa Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá (HAMAB/IEPA) (Figura 4).

**Figura 4:** Exsicata da espécie *Ocimum basilicum*, depositada no Herbário Amapaense do Instituto de Pesquisa Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá (HAMAB/IEPA)



Fonte: Herbário Amapaense do Instituto de pesquisa Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá (HAMAB/IEPA)

#### 4.2 OBTENÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL

A obtenção do óleo essencial foi realizada a partir de folhas e flores de *O. basilicum* com método de hidrodestilação por meio de aparelho do tipo Clevenger. O peso total de massa fresca utilizado foi 492,05g. O material foi colhido, lavado, selecionado, triturado e colocado em erlenmeyer de 1000ml, onde foi adicionado água destilada até imersão. Houve o fracionamento para garantir que as folhas estivessem recém-colhidas e frescas durante o processo. A hidrodestilação durou aproximadamente 3 horas para cada fração, contando a partir da formação da primeira gotícula de óleo no condensador. O óleo obtido foi armazenado em tubo de ensaio (vidro âmbar), tampado e refrigerado a 7° C (LEÃO, 2012).

O rendimento foi estimado utilizando a seguinte fórmula:

$$R\% = \frac{\text{massa}_O}{\text{massa}_F} \cdot 100$$

onde:

R% = rendimento em porcentagem;

massa<sub>O</sub> = massa de óleo em g;

massa<sub>F</sub> = massa seca de folhas em g. (BRASIL, 2010)

#### 4.3 CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA POR CROMATOGRAFIA GASOSA

A análise foi realizada através da técnica de Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrômetro de Massa (CG-EM). A cromatografia foi realizada usando o instrumento Shimadzu modelo GCMS-QP2010 Ultra. Foi utilizado uma coluna capilar RTX-5MS (5% Difênil/95% Dimetil polissiloxano) com 30 m (comprimento) / 0.25 mm de Diâmetro Interno/0.25 um df. O hélio foi usado como gás transportador a uma taxa de fluxo de 3,0 mL/min e pressão de entrada de 57,0 kPa. A temperatura do forno da coluna GC passou de 60 ° C a 250 ° C a uma taxa de 3° C/min, com um tempo de equilíbrio de 3 min. Os constituintes do óleo foram identificados usando compostos de referência padrão e combinando o padrão de fragmentação de espectro de massa com a Biblioteca de Espectro de Massa NIST armazenada no banco de dados CG-MS.

A identificação dos constituintes químicos foi feita em parceria com a equipe do Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análise (LMCA) coordenada pelo prof. Dr. Josean Fachine no Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos da Universidade Federal da Paraíba (UFPB).



## 4.4 PREPARO DA NANOEMULSÃO

### 4.4.1 Método de emulsificação

A nanoemulsão óleo em água (O/A) foi preparada a partir de um método que utiliza baixo consumo de energia. Foram produzidos 4g de nanoemulsão, em sua composição há 5% de tensoativo (polissorbato 20), 5% do óleo essencial de *O. basilicum* e 90% água destilada. A mistura do óleo essencial e o tensoativo se deu por meio de agitador do tipo vórtex (modelo: AP59-Phoenix) com intensa agitação (800rpm) por 2 minutos. O Volume de água destilada foi adicionada durante o processo por gotejamento. A nanoemulsão foi armazenada em temperatura ambiente ( $20 \pm 2$  °C) e avaliada após 0, 1 e 14 dias de preparo. A taxa de Equilíbrio Hidrofílico-Lipofílico (EHL) obtida para essa nanoemulsão foi de 16,7 (OSTERTAG; WEISS; MCCLEMENTS, 2012).

### 4.4.2 Caracterização física da nanoemulsão

A caracterização da nanoemulsão foi realizada a partir de Espectroscopia de Correlação de Fótons utilizando o Zetasizer Nano ZS.

Para determinar o tamanho da gotícula, o índice de polidispersão e o potencial zeta, foi necessária a diluição da formulação em água ultrapura (1:25) e medida realizada em triplicata (FERNANDES et al., 2013).

## 4.5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA

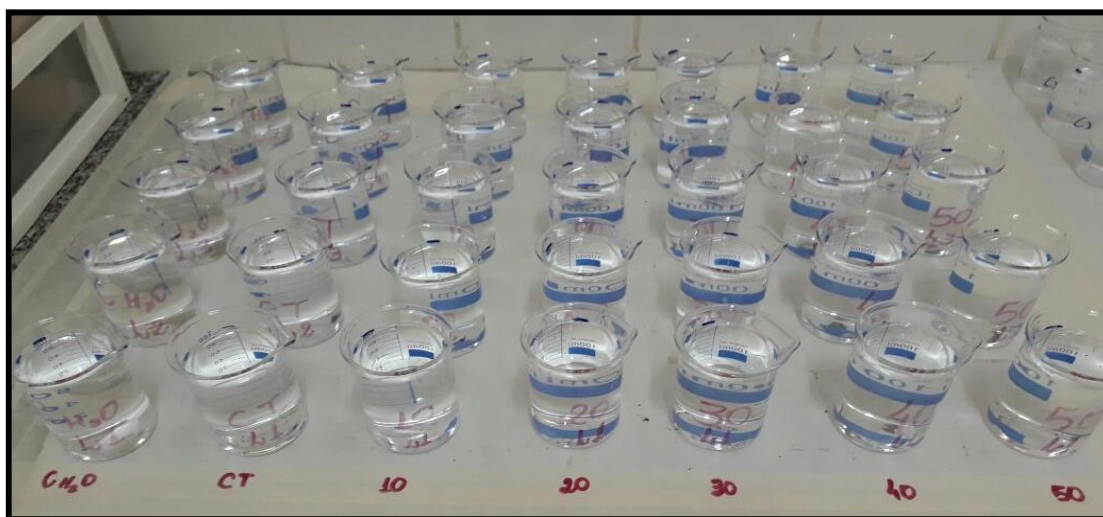
### 4.5.1 Obtenção das Larvas

As larvas de *A. aegypti* (cepa Rokeffeller) e de *C. quinquefasciatus* (cepa Macapá) utilizadas nos experimentos, foram oriundas do Laboratório de Arthropoda (ARTHROLAB) da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP), todas do 4º estágio jovem, para evitar que durante o experimento atingissem o estágio de pupa. Foram mantidas em condições climáticas controladas, com temperatura de  $25 \pm 2$ °C e umidade relativa do ar de  $75 \pm 5$  % e fotoperíodo de 12 horas, segundo técnica proposta pela WHO (2005).

#### 4.5.3 Desenho experimental para o ensaio biológico

Para realização dos ensaios biológicos, tanto para *A. aegypti* quanto para *C. quinquefasciatus*, foram testadas as seguintes concentrações: 10, 20, 30, 40 e 50 mg/L. O teste foi feito em quintuplicata, com dois grupos controle, água destilada e o tensoativo (Polisorbato 20) usado na nanoemulsão. Para cada tratamento utilizou-se um Becker com 99 ml de água destilada e 1ml da solução testada. Ao total, foram utilizados 35 becker de 100 ml e um total de 350 larvas, 10 para cada becker. A técnica utilizada foi adaptada de WHO (2005) (Figura 5 e 6).

**Figura 5:** Bioensaio da atividade larvicida em *Aedes aegypti* da nanoemulsão de *Ocimum basilicum* nas concentrações de 10, 20, 30, 40 e 50 mg/L e os controles.



Fonte: Autor: SANTOS, E.L.V.S.

**Figura 6:** Bioensaio da atividade larvicida em *Culex quinquefasciatus* da nanoemulsão de *Ocimum basilicum* nas concentrações de 10, 20, 30, 40 e 50 mg/L e os controles.



Fonte: Autor: SANTOS, E.L.V.S.

As leituras da mortalidade foram verificadas nos períodos de 24 e 48h, após a exposição das larvas as soluções. O número de mortos foi observado quando da ausência total de movimentos e por meio da estimulação exaustiva externa do recipiente com pipetas de Pasteur (Figura 7).

**Figura 7:** Leitura da mortalidade do bioensaio da atividade larvicida em *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus* da nanoemulsão de *Ocimum basilicum* nas concentrações de 10, 20, 30, 40 e 50 mg/L e os controles.



Fonte: Autor: SANTOS, E.L.V.S.

#### 4.6 ANÁLISES DE DADOS

Para se estimar os valores de  $CL_{50}$  e da  $CL_{90}$  da atividade larvicida da nanoemulsão de *O. basilicum* frente às larvas de *A. aegypti* e *C. quinquefasciatus*, foi utilizada a análise Probit levando em consideração os tempos 24 e 48 horas. Foi utilizado o software StatGraphic Centurium XXV.1 (StatEase Co. MA. USA).

### 5 RESULTADOS

#### 5.1 RENDIMENTO DO ÓLEO ESSENCIAL

O rendimento da amostra de óleo essencial de *O. basilicum* foi de 0,6%, tendo em vista que a extração foi feita a partir de 492,05g de flores e folhas frescas, que renderam 3,14g de óleo essencial. Essa porcentagem de rendimento foi confirmada por Tshilanda et al., (2016), que obteve 0.65% de óleo essencial de *O. basilicum*.

Dris et al., (2017), que obtiveram um rendimento melhor, 1.56%, caracterizando o resultado como uma excelente performance ao comparar com outros estudos sobre a mesma planta que obtém sempre rendimentos próximos aos 0.7%. Os resultados obtidos por Dris et al., (2017), podem estar associados ao período de coleta, verão, que possui clima muito seco.

## 5.2 CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA

Foram identificados 53 compostos, entre eles os compostos majoritários encontrados foram: Linalol 32,66% e Anetol 32,48% (Tabela 1; Anexo: Figura 11 e 12). Ao comparar com o estudo realizado por Al Abbasy et al., (2015), o óleo essencial extraído de *O. basilicum* possui cerca de doze compostos idênticos aos encontrados nesta pesquisa. O composto majoritário é o Linalol 69,86%, e algumas das demais substâncias presentes em ambos são: E- $\alpha$ -bergamoteno 2.3%, cãfora 0.3%,  $\alpha$ -terpineol 0.5%,  $\beta$ -pineno 0.3%,  $\beta$ -ocimeno 0.2%,  $\beta$ -elemene 0.1%, sabineno 0.1%. Em contraponto, Dris et al., (2017), mostra que o Linalol (22,52%) é o segundo componente majoritário do óleo essencial de *O. basilicum*. O composto majoritário é o Acetato de Linalol (53.89%), que não foi encontrado neste estudo, porém aproximadamente outras doze substâncias compõem ambos, como: eucaliptol 3.29%,  $\alpha$ -terpineol 4.57%,  $\alpha$ -selineno 0.10%,  $\beta$ -ocimeno 0.42%, E-cariofileno 0.63%,  $\gamma$ -terpineno 0.15%, sabineno 0.14%. As diferenças encontradas provavelmente se devem à condição de obtenção, época de cultivo, clima e temperatura.

**Tabela 1:** Composição química do óleo essencial de *Ocimum basilicum*.

| <b>Pico</b> | <b>Index Kovats</b> | <b>Composto</b>     | <b>Teor (%)</b> |
|-------------|---------------------|---------------------|-----------------|
| <b>1</b>    | 831                 | 3-Hexanona          | 0.09            |
| <b>2</b>    | 833                 | Metil-N-butilcetona | 0.12            |
| <b>3</b>    | 835                 | 3-Hexanol           | 0.05            |
| <b>4</b>    | 837                 | 2-Hexanol           | 0.07            |
| <b>5</b>    | 867                 | E-2-Hexenal         | 0.21            |
| <b>6</b>    | 868                 | Z-4-Hexenol         | 0.21            |
| <b>7</b>    | 925                 | $\alpha$ -Thujeno   | 0.19            |
| <b>8</b>    | 932                 | $\alpha$ -Pineno    | 0.61            |
| <b>9</b>    | 941                 | Não Identificado    | 0.01            |
| <b>10</b>   | 947                 | Canfeno             | 0.04            |
| <b>11</b>   | 972                 | Sabineno            | 0.26            |
| <b>12</b>   | 976                 | $\beta$ -Pineno     | 0.77            |
| <b>13</b>   | 988                 | Mirceno             | 0.54            |
| <b>14</b>   | 1004                | 4-Careno            | 0.05            |
| <b>15</b>   | 1015                | $\alpha$ -Terpineno | 0.20            |
| <b>16</b>   | 1023                | E-Cimeno            | 0.24            |
| <b>17</b>   | 1027                | Limoneno            | 6.65            |
| <b>18</b>   | 1030                | Eucaliptol          | 8.65            |
| <b>19</b>   | 1034                | E- $\beta$ -Ocimeno | 0.10            |

(Continuação)

| <b>Pico</b> | <b>Index Kovats</b> | <b>Composto</b>               | <b>Teor (%)</b> |
|-------------|---------------------|-------------------------------|-----------------|
| 20          | 1044                | $\beta$ -Ocimeno              | 0.66            |
| 21          | 1056                | $\gamma$ -Terpineno           | 0.48            |
| 22          | 1065                | Hidrato de Sabineno           | 0.07            |
| 23          | 1087                | Terpinoleno                   | 0.20            |
| 24          | <b>1099</b>         | <b>Linalol</b>                | <b>32.66</b>    |
| 25          | 1103                | Não Identificado              | 0.02            |
| 26          | 1144                | Cânfora                       | 0.61            |
| 27          | 1166                | $\delta$ -Terpinoleno         | 0.20            |
| 28          | 1174                | Não Identificado              | 0.01            |
| 29          | 1177                | L-4-Terpineol                 | 3.38            |
| 30          | 1190                | $\alpha$ -Terpineol           | 1.02            |
| 31          | <b>1199</b>         | <b>Anetol</b>                 | <b>32.48</b>    |
| 32          | 1210                | Ácido acético, éster octílico | 0.06            |
| 33          | 1219                | E-Carveol                     | 0.05            |
| 34          | 1230                | Z-Carveol                     | 0.05            |
| 35          | 1243                | Carvotanacetona               | 3.41            |
| 36          | 1286                | Acetato de Bornil             | 0.03            |
| 37          | 1337                | Acetato de Carveol            | 0.04            |
| 38          | 1358                | Eugenol                       | 0.13            |
| 39          | 1385                | $\beta$ -Bourboneno           | 0.05            |
| 40          | 1391                | $\beta$ -Elemeno              | 0.40            |
| 41          | 1420                | E-Cariofileno                 | 0.64            |
| 42          | 1435                | Z- $\alpha$ -Bergamoteno      | 0.06            |
| 43          | 1439                | $\alpha$ -Guaieno             | 0.08            |
| 44          | 1455                | E- $\beta$ -Bergamoteno       | 0.89            |
| 45          | 1482                | $\beta$ -Cubebeno             | 0.23            |
| 46          | 1487                | $\beta$ -Selineno             | 0.78            |
| 47          | 1496                | $\alpha$ -Selineno            | 0.82            |
| 48          | 1506                | $\delta$ -Guaieno             | 0.28            |
| 49          | 1515                | $\gamma$ -Cadineno            | 0.16            |
| 50          | 1562                | E-Nerolidol                   | 0.07            |
| 51          | 1615                | Epicubeol                     | 0.10            |
| 52          | 1641                | $\delta$ -Cadinol             | 0.73            |
| 53          | 1651                | $\beta$ -Eudesmol             | 0.10            |
|             |                     |                               | 100%            |

Fonte: LMCA–UFPB.

O Linalol é o principal componente do óleo essencial do *O. basilicum* em estudo, possuindo diversas atividades biológicas comprovadas. Segundo Santos et al., (2018), o linalol mostra atividades antidepressivas sem comprometimento de retenção de memória ou locomoção espontânea. Outro efeito sob o sistema nervoso foi comprovado por Sabogal-Guáqueta; Osorio; Cardona-Gómez (2016), no tratamento de Alzheimer com utilização oral de linalol em ratos no estágio avançado da doença, onde foi verificada a reversão das características histopatológicas, bem como a restauração de funções cognitivas e emocionais.

Lyu et al., (2017), propuseram um curativo antibacteriano para feridas que acelerou a taxa de cicatrização, impediu a formação de cicatrizes e inflamações utilizando a amilase oxidativa (AO) como veículo para o linalol até a matriz de colágeno. Ainda sobre a utilização de amilase oxidativa como veículo para o linalol, Zhou et al., (2016), obtiveram efeitos potencializados da atividade antimicrobiana em meio aquoso por torná-lo mais solúvel, menos volátil e controlar sua liberação no meio, devido à combinação com a AO. Lee et al., (2018), também testaram o efeito anti-inflamatório do linalol associado ao cinamaldeído, comprovando que foram responsáveis pela inibição de efeitos inflamatórios confirmando o uso potencial como agente profilático em problemas de saúde associados à inflamações. O linalol inibiu a inflamação pulmonar causada pela fumaça de cigarro devido a inativação do NF-kB, que por este motivo não libera citocinas promovendo a inibição da inflamação nos pulmões, tornando-se um excelente agente de profilaxia e tratamento Ma et al., (2015).

No estudo de Cheng; Sheen; Chang (2018), realizado com camundongos, onde foi proposta a alimentação com folhas de *Cinnamomum osmophloeum* contendo linalol e S-  $\beta$ -linalol para o controle de lipidemia, obtiveram bons resultados na redução da produção e acumulação de lipídeos indicando uma alternativa em potencial no controle do peso corporal.

Mei et al., (2017), investigaram a superprodução de linalol em um chá típico oriental, onde se utiliza ataques mecânicos contínuos de *Empoasca onukii* às plantas de forma proposital para causar estresse e aumentar a produção do composto e desta forma deixar o chá mais cheiroso, fornecendo um bom exemplo de como fazer com que plantas produzam mais metabólitos de interesse.

Uma ação biológica de suma relevância para esta pesquisa, e desempenhada pelo linalol, é a atividade larvicida. Segundo Fujiwara et al., (2017) esse composto se apresenta

eficaz contra larvas de *A. aegypti* devido sua toxicidade, mas quando associado ao metil cinnamato, potencializa a ação larvicida e mantém baixa sua toxicidade, tanto para mamíferos quanto para o meio ambiente. Segundo Tabari et al., (2017) durante um estudo sobre repelência e toxicidade do linalol, timol e carvacrol, concluíram que seriam boas alternativas para homens e para o meio ambiente, inclusive se tratando de formulações que potencializem os efeitos, devido à baixa produção de resíduos e a baixa toxicidade. Em outro estudo, Tabari et al., (2017) estudaram a toxicidade do óleo essencial de *Pelargonium roseum* e dos compostos isolados:  $\beta$ -citronelol, geraniol e linalol em adultos, larvas e ovos de *C. pipens*, concluíram que os compostos possuem boa ação larvicida e ovicida, uma atividade mais branda contra adultos, apresentando ao final, maior toxicidade para o geraniol e menor para o linalol.

Knio et al., (2008) estudaram os compostos majoritários das principais ervas usadas no Líbano contra *Ochelerotatus caspius* que foram: timol, sabineno, carvacol, anetol e linalol. Todos os compostos estudados por ele mostraram fortes propriedades larvicidas. Cheng et al., (2004) compararam a atividade larvicida do óleo essencial das folhas de *Cinnamomum osmophloeum* provenientes de oito províncias. A que mostrou melhores resultados ( $CL_{50}$ : <50mg/L) apresentava os seguintes compostos: cinamaldeído, eugenol, anetol e acetato de cinamilo. Chang; Ahn (2002) relataram forte atividade fumigante do anetol isolado do *Illicium verum* contra *Blattella germânica*. Padilha De Paula; Gomes-Carneiro; Paumgarten (2003) evidenciaram a possibilidade do *Ocimum selloi* como uma excelente alternativa de repelente, por mostrar efetividade contra *Anopheles braziliensis* e ter baixa toxicidade, anulando riscos de mutações ou irritações. Tendo em vista que na composição fitoquímica do *O. selloi*, foram encontrados 34.2% de anetol (segundo composto majoritário). Além da atividade repelente e larvicida, o anetol ainda possui diversas atividades biológicas como: antimicrobiana (DE et al., 2002; FUJITA; FUJITA; KUBO, 2007), bactericida (KUBO; FUJITA, 2001) e até nematicida (OKA et al., 2000; CAMURÇA-VASCONCELOS et al., 2007).

Além dos compostos presentes no óleo essencial de *O. basilicum* que possuem ação inseticida, ainda existe segundo a literatura um mecanismo anticolinesterásico. Segundo Singh et al., (2016) o *O. basilicum* possui atividade de inibição de acetilcolinesterase (AChE). Os anticolinesterásicos atuam através do mecanismo de inibição da enzima acetilcolinesterase, culminando em um acúmulo de acetilcolina na fenda sináptica. Esse acúmulo potencializa efeitos parassimpáticos, causando a morte do inseto por estímulo

contínuo da membrana pós-sináptica, ocasionando desordem no sistema neuromuscular (MOURA, 2015; MARTINS, 2016). Desta forma, todos esses compostos tornam o óleo essencial de *O. basilicum* um excelente larvicida e uma boa alternativa como bioinseticida.

### 5.3 CARACTERIZAÇÃO DA NANOEMULSÃO

A nanoemulsão obtida a partir do óleo essencial de *O. basilicum*, apresentou aspecto azulado e fluido, não apresentou sedimentação ou separação de fases e não se prendeu ao vidro, apresentando as características visuais de uma boa nanoemulsão (SOLANS; SOLÉ, 2012) (Figura 8).

**Figura 8:** Aparência final da nanoemulsão de óleo essencial de *Ocimum basilicum*.



Fonte: Autor: SANTOS, E.L.V.S.

A Tabela 2 mostra o tamanho das gotículas, a distribuição do tamanho (índice de polidispersão) e o potencial zeta das formulações preparadas com o óleo essencial das folhas de *O. basilicum*. Segundo Espectroscopia de Correlação de Fótons utilizando o aparelho Zetasizer Nano ZS, as gotículas da nanoemulsão do *O. basilicum* possuíram tamanho médio no dia de sua preparação de 278.3nm, índice de polidispersão de 0.231 e potencial zeta de -18.6 mV. No dia 1 observou-se uma diminuição do tamanho das gotículas que pode ter sido causado por uma organização das mesmas. Após o período de 14 dias notou-se que o tamanho de partícula, índice de polidispersão e potencial zeta retornou os valores para próximo ao dia 0. O índice de polidispersão informa a respeito da homogeneidade na distribuição do tamanho das gotículas no meio. Valores baixos como o obtido neste estudo mostram que as chances de obter a formação de sistemas monodispersos são maiores. Valores alterados podem indicar quebra ou agregação das gotículas. Observou-se altos valores negativos de potencial zeta que possivelmente estão relacionados com as cargas que podem ser geradas devido a protonação ou desprotonação de moléculas presentes na constituição dos óleos vegetais.



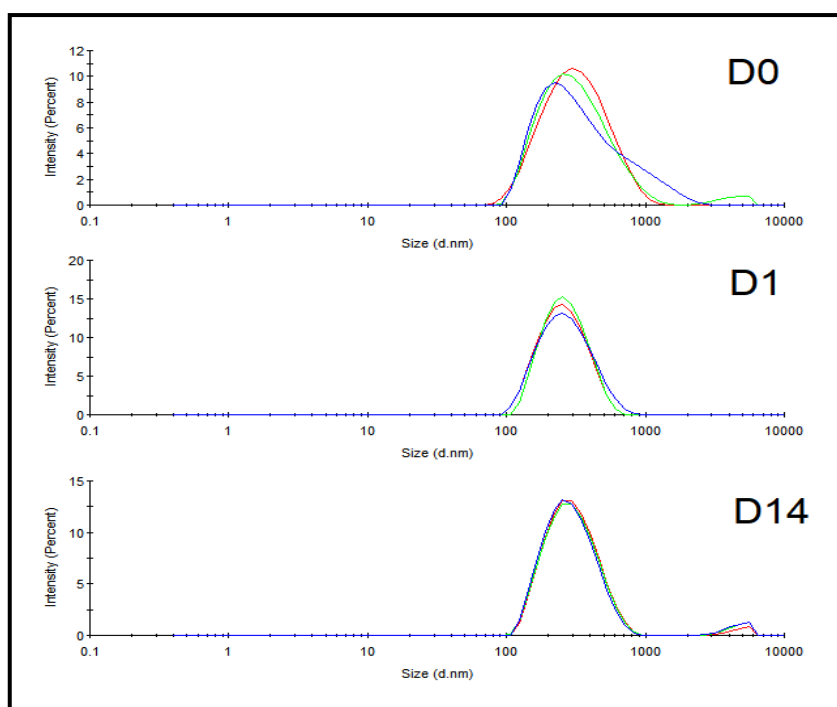
**Tabela 2:** Tamanho das gotículas, índice de polidispersão e potencial zeta das nanoemulsões preparadas com óleo essencial de *Ocimum basilicum* (EHL= 16,7).

| Dias | Tamanho (nm) | Índice de Polidispersão | Potencial Zeta (mV) |
|------|--------------|-------------------------|---------------------|
| 0    | 278.3±1.102  | 0.231±0.021             | -18.6±0.265         |
| 1    | 244.6±3.102  | 0.152±0.022             | -17.1±0.0577        |
| 14   | 280.4±2.957  | 0.209±0.015             | -15.7±0.289         |

Fonte: Zetasizer Nano ZS

A nanoemulsão do óleo essencial do *O. basilicum* apresentou uma diminuição dos tamanhos das gotículas e índice de polidispersão no primeiro dia após o preparo. Além disso observou-se uma distribuição homogênea da população das gotículas que se manteve com valores adequados mesmo após 14 dias. Forgiarini et al., (2000) diz que as nanoemulsões adequadas devem possuir pequeno tamanho médio de gotículas da fase dispersa (20-500nm). Além de serem transparentes ou translúcidas, frequentemente com um reflexo azulado. Izquierdo et al., (2005) assevera em seu estudo que os valores de índice de polidispersão próximos a 0.2 são indicativos de estabilidade cinética apresentando uma distribuição quase monomodal (Figura 9).

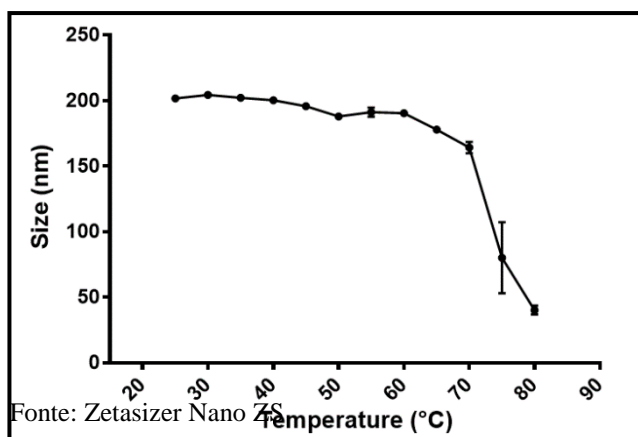
**Figura 9.** Distribuição do tamanho das partículas das nanoemulsões de *O. basilicum* preparadas com Tween 20. Tamanho médio de gotículas: Dia 0: 278,3±1,102nm; Dia 1: 244,6±3,102nm; Dia 14: 280,4±2,957nm. Índice de polidispersividade: Dia 0: 0,231±0,021; Dia 1: 0,152±0,022; Dia 7: 0,209±0,015.



Fonte: Zetasizer Nano ZS

A figura 10 mostra a influência da temperatura sobre o tamanho da gotícula na nanoemulsão. Observa-se que o tamanho sofreu pouca alteração entre 25 a 40° C. Após esta temperatura começou a cair lentamente até 60° C. Em seguida houve uma queda brusca do tamanho até a temperatura de 80° C. Isso pode ser relacionado a perda de estabilidade da nanoemulsão em altas temperaturas ou volatilização e perda dos componentes presentes na fase oleosa. Sabemos que os óleos essenciais, são uns dos principais produtos obtidos das plantas podendo normalmente se conceituar como misturas complexas de substâncias voláteis, líquidas e lipofílicas (FRANÇOSO, 2012), sendo assim a perda dessas substâncias com o aumento da temperatura seria algo provável e consequentemente isso resultaria numa quebra da nanoemulsão.

**Figura 10.** Influência de temperatura no tamanho de gotículas de nanoemulsões preparadas com óleo essencial extraído de folhas de *O. basilicum* e Tween 20. Cada medida representa média  $\pm$  desvio padrão.



#### 5.4 ATIVIDADE LARVICIDA

A nanoemulsão de óleo essencial de *O. basilicum* produziu ação larvicida em *A. aegypti* e *C. quinquefasciatus*, com mortalidade máxima de 100% e 90% em 48h, respectivamente (Tabela 3).

**Tabela 3:** Percentual médio de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus* em 24 e 48 horas nas concentrações de 10, 20, 30, 40 e 50 mg/L da nanoemulsão do óleo essencial de *Ocimum basilicum* e dos controles.

| Espécie                       | T  | C<br>H <sub>2</sub> O <sup>b</sup> | C.<br>T. <sup>c</sup> | 10<br>mg/L | 20<br>mg/L | 30<br>mg/L | 40<br>mg/L | 50<br>mg/L |
|-------------------------------|----|------------------------------------|-----------------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| <i>Aedes aegypti</i>          | 24 | 0                                  | 0                     | 0          | 2          | 4          | 20         | 98         |
|                               |    | ±                                  | ±                     | ±          | ±          | ±          | ±          | ±          |
|                               |    | 0.0                                | 0.0                   | 0.0        | 0.4        | 0.5        | 1.0        | 0.4        |
|                               | 48 | 0                                  | 0                     | 0          | 2          | 4          | 30         | 100        |
|                               |    | ±                                  | ±                     | ±          | ±          | ±          | ±          | ±          |
|                               |    | 0.0                                | 0.0                   | 0.0        | 0.4        | 0.5        | 1.2        | 0.0        |
| <i>Culex quinquefasciatus</i> | 24 | 0                                  | 0                     | 0          | 0          | 26         | 44         | 86         |
|                               |    | ±                                  | ±                     | ±          | ±          | ±          | ±          | ±          |
|                               |    | 0.0                                | 0.0                   | 0.0        | 0.0        | 0.5        | 1.5        | 1.1        |
|                               | 48 | 0                                  | 0                     | 4          | 4          | 30         | 44         | 90         |
|                               |    | ±                                  | ±                     | ±          | ±          | ±          | ±          | ±          |
|                               |    | 0.0                                | 0.0                   | 0.5        | 0.5        | 1.0        | 1.5        | 1.0        |

<sup>a</sup>T= Tempo/Horas; <sup>b</sup> Controle apenas com água destilada e <sup>c</sup>Controle com Tensoativo na mesma quantidade usada na concentração de 50mg/L.

Fonte: Autor: SANTOS, E.L.V.S.

As estimativas da análise Probit apontam uma CL<sub>50</sub>= 42,15mg/L em 24 horas e 40,94mg/L em 48 horas para *A. aegypti*. Para *C. quinquefasciatus* as estimativas mostraram a CL<sub>50</sub>= 39,64mg/L em 24 horas e 38,08mg/L em 48 horas (Tabela 4). Segundo Cheng et al., (2003) testes larvicidas realizados com óleos essenciais que obtém CL<sub>50</sub> >100mg/L, são considerados ineficientes, os que obtém CL<sub>50</sub> <100mg/L são considerados eficientes e os que obtém CL<sub>50</sub> <50mg/L são altamente eficientes. Desta forma, a nanoemulsão do óleo essencial de *O. basilicum* mostrou ação larvicida altamente eficiente, por manter a CL<sub>50</sub> abaixo dos 50mg/L em ambas espécies.

Desta forma, obteve-se a CL<sub>90</sub>= 50,35mg/L e 48,87mg/L em 24 e 48 horas respectivamente para a espécie *A. aegypti*. Para a espécie *C. quinquefasciatus*, a estimativa é a CL<sub>90</sub>= 52,58mg/L em 24 horas e 54,26mg/L em 48 horas. Em comparação, ao final das 48 horas de teste, o mosquito *C. quinquefasciatus* mostrou maior susceptibilidade aos compostos na avaliação da CL<sub>50</sub> em comparação com o *A. aegypti*. Por sua vez, na avaliação de CL<sub>90</sub>, o mosquito *A. aegypti* mostrou maior susceptibilidade do que o *C. quinquefasciatus* à nanoformulação. Os resultados obtidos mostraram valores bem próximos uns dos outros e baixas concentrações letais, conferindo eficácia à nanoemulsão do óleo essencial de *O. basilicum*.

**Tabela 4:** Estimativa da análise Probit da CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub> em larvas de *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus* em bioensaios contendo nanoemulsão de *Ocimum basilicum*.

| Espécie                       | Tempo (horas) | CL <sub>50</sub> (mg/L) | CL <sub>90</sub> (mg/L) | X <sup>2</sup> | P value |
|-------------------------------|---------------|-------------------------|-------------------------|----------------|---------|
| <i>Aedes aegypti</i>          | 24            | 42.15<br>(37.79-46.87)* | 50.35<br>(45.93-62.81)* | 34.80          | <0.0001 |
|                               | 48            | 40.94<br>(36.64-45.42)* | 48.87<br>(44.63-60.28)* | 37.45          | <0.0001 |
| <i>Culex quinquefasciatus</i> | 24            | 39.64<br>(34.52-46.00)* | 52.58<br>(46.16-69.15)* | 27.48          | <0.0001 |
|                               | 48            | 38.08<br>(32.36-45.55)* | 54.26<br>(46.47-74.23)* | 23.54          | <0.0001 |

$P > 0.0001$  = representa heterogeneidade na população de larvas testadas, \*Limites de Confiança (95% ↓↑),  $\chi^2$ =Qui-quadrado. Fonte: Autor: SANTOS, E.L.V.S.

Os valores obtidos em *Qui-quadrado* expõem a relação de dose dependência da formulação, ou seja, o potencial da ação está totalmente ligado a quantidade da formulação que é utilizada. Já o *Valor-P* trata-se de uma medida quantitativa que evidencia a probabilidade da hipótese nula ser verdadeira ou não, neste caso a estatística mostra que não é verdadeira quando o resultado está <0,0001, reafirmando que a nanoemulsão do óleo essencial de *O. basilicum* possui ação larvicida para as espécies *A. aegypti* e *C. quinquefasciatus*.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos resultados obtidos com os bioensaios realizados nesta pesquisa, é possível concluir que:

- O rendimento da extração do óleo essencial de *O. basilicum* foi: 0,6%, encaixando-se em um valor padrão para a espécie;
- Os compostos majoritários presentes no óleo essencial de *O. basilicum* são Linalol 32,66% e Anetol 32,48%. Diversos estudos foram realizados acerca da ação inseticida e repelente destes compostos, não somente com plantas, mas também a partir dos compostos isolados. Sazonalidade, temperatura, umidade, índice pluviométrico, desenvolvimento da planta são algumas questões que podem interferir na porcentagem dos compostos na espécie;
- No preparo da nanoemulsão foi empregado um método com baixa utilização de energia. A caracterização da nanoemulsão de *O. basilicum* foi boa tanto nos aspectos visuais para determinar a fluidez e homogeneidade da formulação, quanto nas medidas para determinar o tamanho das gotículas e nos situar quanto a sua estabilidade. A EHL obtida para este óleo essencial foi de: 16,7;
- A nanoemulsão proveniente do óleo essencial de *O. basilicum* pode ser um forte candidato como bioinseticida, mostrando-se estável e eficiente. Segundo a literatura, tanto o Linalol quanto o Anetol são compostos com baixa toxicidade tanto para o homem quanto para o meio ambiente, conferindo a esta nanoformulação mais um ponto positivo. Entretanto, diversos outros testes devem ser feitos a fim de garantir a segurança para um futuro uso comercial.
- Com relação a ação larvicida da nanoemulsão de *O. basilicum* frente às larvas em 4º estágio de *A. aegypti* e *C. quinquefasciatus*, obteve-se excelentes resultados com morte de aproximadamente 100% da população testada com apenas 50 mg/L;
- Na análise Probit sobre a ação larvicida da nanoemulsão de *O. basilicum* frente às larvas de *A. aegypti* e *C. quinquefasciatus*, obteve-se excelentes resultados principalmente na CL50, sempre menores que 50mg/L, constatando-se que a nanoemulsão é altamente eficiente;

## REFERÊNCIAS

ACIOLE, S. D. G. **Avaliação da Atividade Inseticida dos Óleos Essenciais das Plantas Amazônicas Annonaceae, Boraginaceae e de Mata Atlântica Myrtaceae como Alternativa de Controle às Larvas de Aedes aegypti (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae)**. 2009. Universidade de Lisboa, São Paulo, 2009.

AL ABBASY, D. W.; PATHARE, N.; AL-SABAHI, J. N.; KHAN, S. A. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil isolated from Omani basil (*Ocimum basilicum* Linn.). **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 5, n. 8, p. 645–649, 2015. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S2222-1808\(15\)60905-7](http://dx.doi.org/10.1016/S2222-1808(15)60905-7)>.

ALAMO-NOLE, L.; SU, Y.-F. Translocation of cadmium in *Ocimum basilicum* at low concentration of CdSSe nanoparticles. **Applied Materials Today**, v. 9, p. 314–318, dez. 2017. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2352940717302184>>.

ALI, S. I.; GOPALAKRISHNAN, B.; VENKATESALU, V. Evaluation of larvicidal activity of *Senecio laetus* Edgew. against the malarial vector, *Anopheles stephensi*, dengue vector, *Aedes aegypti* and Bancroftian filariasis vector, *Culex quinquefasciatus*. **South African Journal of Botany**, v. 114, p. 117–125, jan. 2018. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0254629917312152>>.

AMER, A.; MEHLHORN, H. Larvicidal effects of various essential oils against *Aedes*, *Anopheles*, and *Culex* larvae (Diptera, Culicidae). **Parasitology Research**, v. 99, n. 4, p. 466–472, 2006a.

AMER, A.; MEHLHORN, H. Repellency effect of forty-one essential oils against *Aedes*, *Anopheles*, and *Culex* mosquitoes. **Parasitology Research**, v. 99, n. 4, p. 478–490, 2006b.

AMMAR, H. O.; SALAMA, H. A.; GHORAB, M.; MAHMOUD, A. A. Nanoemulsion as a Potential Ophthalmic Delivery System for Dorzolamide Hydrochloride. **AAPS PharmSciTech**, v. 10, n. 3, p. 808–819, 18 set. 2009. Disponível em: <<http://www.springerlink.com/index/10.1208/s12249-009-9268-4>>.

AMORIM, L. B. **Populações de *Culex quinquefasciatus* Say, 1983 (Diptera: Culicidae) do Estado de Pernambuco: diversidade genética e perfil de susceptibilidade ao organofosforado temephos**. 2013. UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO, 2013.

ANDRADE, L.; ALBUQUERQUE, U. Etnobotánica del género *Ocimum* L. (Lamiaceae)

en las comunidades afrobrasileñas. **Anales del Jardín Botánico de Madrid**, v. 56, 1998.

ANEES, A. M. Larvicidal activity of *Ocimum sanctum* Linn. (Labiatae) against *Aedes aegypti* (L.) and *Culex quinquefasciatus* (Say). **Parasitology Research**, v. 103, n. 6, p. 1451–1453, 2008.

ANSANTE, T. F. **Metabólitos secundários de Annonaceae: triagem, fracionamento biomonitorado e bioatividade frente a *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae)**. 2014. Universidade de São Paulo, 2014.

ARAUJO, R. C. de. **Óleos Essenciais De Plantas Brasileiras Como Manipuladores Da Fermentação Ruminal in Vitro**. 2010. Universidade de São Paulo, 2010.

AZEVEDO, R. do S. da S.; OLIVEIRA, C. S.; VASCONCELOS, P. F. da C. Chikungunya risk for Brazil. **Revista de Saúde Pública**, v. 49, p. 1–6, 2015. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-89102015000100509&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89102015000100509&lng=en&tlng=en)>.

BOEHM, A. L.; MARTINON, I.; ZERROUK, R.; RUMP, E.; FESSI, H. Nanoprecipitation technique for the encapsulation of agrochemical active ingredients. **Journal of Microencapsulation**, v. 20, n. 4, p. 433–441, 2003.

BOUCHEMAL, K.; BRIANÇON, S.; PERRIER, E.; FESSI, H. Nano-emulsion formulation using spontaneous emulsification: Solvent, oil and surfactant optimisation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 280, n. 1–2, p. 241–251, 2004.

BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: histórico do controle no Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 16, n. 2, p. 113–118, 2007a. Disponível em: <[http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1679-49742007000200006&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt](http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-49742007000200006&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt)>. Acesso em: 2 jul. 2018.

BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: vigilância, monitoramento da resistência e alternativas de controle no Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 16, n. 4, dez. 2007b. Disponível em: <[http://scielo.iec.pa.gov.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1679-49742007000400007&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt](http://scielo.iec.pa.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-49742007000400007&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt)>.

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira**: 5 Ed. [s.l: s.n.].

BRASIL. **Febre Amarela**. Disponível em: <<http://portalms.saude.gov.br/saude-de-a-z/febre-amarela-sintomas-transmissao-e-prevencao>>. Acesso em: 14 maio. 2018a.

BRASIL. **Febre do Nilo Ocidental**. Disponível em: <<http://portalms.saude.gov.br/saude-de-a-z/febre-do-nilo-ocidental>>. Acesso em: 18 maio. 2018b.

BRASIL. **Saúde atualiza casos de febre amarela no Brasil**. Disponível em: <<http://portalms.saude.gov.br/noticias/agencia-saude/42496-ministerio-da-saude-atualiza-casos-de-febre-amarela-5>>. Acesso em: 6 mar. 2018a.

BRASIL. **Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 7 de 2018**. Brasília Ministério da Saúde, 2018b. Disponível em: <<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/marco/06/2018-008-Publicacao.pdf>>.

BRUXEL, F.; LAUX, M.; WILD, L. B.; FRAGA, M.; KOESTER, L. S.; TEIXEIRA, H. F. Nanoemulsions As Parenteral Drug Delivery Systems. **Quimica Nova**, v. 35, n. 9, p. 1827–1840, 2012.

CAMARGO, M. F. P. de. **Desenvolvimento de nanoemulsões à base de óleo de maracujá ('Passiflora edulis') e óleo essencial de lavanda ('Lavandula officinalis') e avaliação da atividade antiinflamatória tópica**. 2008. Universidade de São Paulo, 2008. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/60/60137/tde-06062008-164634/en.php>>.

CAMURÇA-VASCONCELOS, A. L. F.; BEVILAQUA, C. M. L.; MORAIS, S. M.; MACIEL, M. V.; COSTA, C. T. C.; MACEDO, I. T. F.; OLIVEIRA, L. M. B.; BRAGA, R. R.; SILVA, R. A.; VIEIRA, L. S. Anthelmintic activity of Croton zehntneri and Lippia sidoides essential oils. **Veterinary Parasitology**, v. 148, n. 3–4, p. 288–294, set. 2007. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304401707002907>>.

CHALEGRE, K. D. M. **Diagnóstico da resistência do vetor Culex quinquefasciatus ao biolarvicida Bacillus sphaericus**. 2008. Fundação Oswaldo Cruz-FIOCRUZ, 2008.

CHANG, K.-S.; AHN, Y.-J. Fumigant activity of (E)-anethole identified in Illicium verum fruit against Blattella germanica. **Pest Management Science**, v. 58, n. 2, p. 161–166, fev. 2002. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/ps.435>>.

CHENG, B.-H.; SHEEN, L.-Y.; CHANG, S.-T. Hypolipidemic effects of S -(+)-linalool and essential oil from Cinnamomum osmophloeum ct. linalool leaves in mice. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, v. 8, n. 1, p. 46–52, jan. 2018. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2225411017300160>>.

CHENG, S.-S.; CHANG, H.-T.; CHANG, S.-T.; TSAI, K.-H.; CHEN, W.-J. Bioactivity of selected plant essential oils against the yellow fever mosquito Aedes aegypti larvae. **Bioresource Technology**, v. 89, n. 1, p. 99–102, ago. 2003. Disponível em:



<<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852403000087>>.

CHENG, S.-S.; LIU, J.-Y.; TSAI, K.-H.; CHEN, W.-J.; CHANG, S.-T. Chemical Composition and Mosquito Larvicidal Activity of Essential Oils from Leaves of Different *Cinnamomum osmophloeum* Provenances. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 14, p. 4395–4400, jul. 2004. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf0497152>>.

CHOKENCHAIJAROENPORN, O.; BUNYAPRAPHATSARA, N.; KONGCHUENSIN, S. Mosquito repellent activities of ocimum volatile oils. **Phytomedicine**, v. 1, n. 2, p. 135–139, 1994.

CONSOLI, R. A. G. B.; OLIVEIRA, R. L. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. 1ª ed. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 1994.

DA SILVA-JÚNIOR, E. F.; LEONCINI, G. O.; RODRIGUES, É. E. S.; AQUINO, T. M.; ARAÚJO-JÚNIOR, J. X. The medicinal chemistry of Chikungunya virus. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 25, n. 16, p. 4219–4244, ago. 2017. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0968089617310982>>.

DE, M.; DE, A. K.; SEN, P.; BANERJEE, A. B. Antimicrobial properties of star anise (*Illicium verum* Hook f). **Phytotherapy Research**, v. 16, n. 1, p. 94–95, fev. 2002. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/ptr.989>>.

DEPARTMENT OF AGRICULTURE FORESTRY AND FISHERIES. **Basil production ESSENTIAL OIL CROPS: Production guidelines**: 2ª Ed. [s.l: s.n.].

DERLET, R. W. **Venezuelan Equine Encephalitis Clinical Presentation**. Disponível em: <<https://emedicine.medscape.com/article/233913-clinical>>. Acesso em: 3 jul. 2018.

DONALÍSIO, M. R.; GLASSER, C. M. Vigilância entomológica e controle de vetores do dengue. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 5, n. 3, p. 259–279, dez. 2002. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1415-790X2002000300005&lng=pt&tln=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-790X2002000300005&lng=pt&tln=pt)>.

DOS SANTOS, É. R. Q.; MAIA, C. S. F.; FONTES JUNIOR, E. A.; MELO, A. S.; PINHEIRO, B. G.; MAIA, J. G. S. Linalool-rich essential oils from the Amazon display antidepressant-type effect in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 212, p. 43–49, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.10.013>>.

DRIS, D.; TINE-DJEBBAR, F.; BOUABIDA, H.; SOLTANI, N. Chemical composition and activity of an *Ocimum basilicum* essential oil on *Culex pipiens* larvae: Toxicological,

biometrical and biochemical aspects. **South African Journal of Botany**, v. 113, p. 362–369, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.09.013>>.

DUARTE, J. L.; AMADO, J. R. R.; OLIVEIRA, A. E. M. F. M.; CRUZ, R. A. S.; FERREIRA, A. M.; SOUTO, R. N. P.; FALCÃO, D. Q.; CARVALHO, J. C. T.; FERNANDESA, C. P. Evaluation of larvicidal activity of a nanoemulsion of rosmarinus officinalis essential oil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 25, n. 2, p. 189–192, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bjp.2015.02.010>>.

ESTEVEZ-PEDRO, N. M. **Avaliação in vitro da toxicidade de óleos essenciais da flora Latino- americana candidatos ao uso em cosméticos Avaliação in vitro da toxicidade de óleos essenciais da flora Latino- americana candidatos ao uso em cosméticos**. 2013. UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2013.

FÉ, N. F.; BARBOSA, M. das G. V.; FÉ, F. A. A.; GUERRA, M. V. de F.; ALECRIM, W. D. Fauna de Culicidae em municípios da zona rural do estado do Amazonas, com incidência de febre amarela. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 3, p. 343–348, jun. 2003. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0037-86822003000300005&lng=pt&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822003000300005&lng=pt&tlng=pt)>.

FERNANDES, C. P.; MASCARENHAS, M. P.; ZIBETTI, F. M.; LIMA, B. G.; OLIVEIRA, R. P. R. F.; ROCHA, L.; FALCÃO, D. Q. HLB value, an important parameter for the development of essential oil phytopharmaceuticals. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 23, n. 1, p. 108–114, jan. 2013. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0102695X13700140>>.

FERNANDEZ, P.; ANDRÉ, V.; RIEGER, J.; KÜHNLE, A. Nano-emulsion formation by emulsion phase inversion. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 251, n. 1–3, p. 53–58, dez. 2004. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927775704006326>>.

FIOCRUZ. **Dengue**. Disponível em: <<https://agencia.fiocruz.br/dengue-0>>. Acesso em: 18 maio. 2018.

FORATTINI, O. P. **Culicidologia Médica: Identificação, Biologia, Epidemiologia**. 2<sup>a</sup> ed. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo-EdUSP, 2002.

FORGIARINI, A.; ESQUENA, J.; GONZÁLEZ, C.; SOLANS, C. Studies of the relation between phase behavior and emulsification methods with nanoemulsion formation. In: **Trends in Colloid and Interface Science XIV**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2000. p. 36–39.

FRANÇOSO, R. **Óleos essenciais na alimentação de equinos**. 2012. Universidade de São Paulo, 2012.

FUJITA, K.; FUJITA, T.; KUBO, I. Anethole, a potential antimicrobial synergist, converts a fungistatic dodecanol to a fungicidal agent. **Phytotherapy Research**, v. 21, n. 1, p. 47–51, jan. 2007. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/ptr.2016>>.

FUJIWARA, G. M.; ANNIES, V.; DE OLIVEIRA, C. F.; LARA, R. A.; GABRIEL, M. M.; BETIM, F. C. M.; NADAL, J. M.; FARAGO, P. V.; DIAS, J. F. G.; MIGUEL, O. G.; MIGUEL, M. D.; MARQUES, F. A.; ZANIN, S. M. W. Evaluation of larvicidal activity and ecotoxicity of linalool, methyl cinnamate and methyl cinnamate/linalool in combination against *Aedes aegypti*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 139, p. 238–244, maio 2017. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0147651317300556>>.

FURTADO, R. F.; LIMA, M. G. A. de; ANDRADE NETO, M.; BEZERRA, J. N. S.; SILVA, M. G. de V. Atividade larvicida de óleos essenciais contra *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 5, p. 843–847, 2005. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1519-566X2005000500018&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-566X2005000500018&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt)>.

GAIA, A. M. **Metabólitos secundários e ontogenia em espécies de Piper**. 2014. Universidade de São Paulo, 2014.

GHOSH, V.; MUKHERJEE, A.; CHANDRASEKARAN, N. Formulation and Characterization of Plant Essential Oil Based Nanoemulsion : Evaluation of its Larvicidal Activity Against *Aedes aegypti* †. **Asian Journal of Chemistry**, v. 25, n. March, p. 18–20, 2013a.

GHOSH, V.; MUKHERJEE, A.; CHANDRASEKARAN, N. Ultrasonic emulsification of food-grade nanoemulsion formulation and evaluation of its bactericidal activity. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, n. 1, p. 338–344, 2013b. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.08.010>>.

GOTO, P. L.; VILELA, J. M. C.; ANDRADE, M. S.; SANTOS, O. D. H. dos. Preparation and Characterization of Polymeric Nanocapsules Produced by in Situ Polymerization From Nanoemulsions Produced by Direct Emulsification. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 34, n. 2, p. 228–233, fev. 2013. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01932691.2012.658321>>.

GOVINDARAJAN, M.; SIVAKUMAR, R.; RAJESWARY, M.; YOGALAKSHMI, K. Chemical composition and larvicidal activity of essential oil from *Ocimum basilicum* (L.) against *Culex tritaeniorhynchus*, *Aedes albopictus* and *Anopheles subpictus* (Diptera):

Culicidae). **Experimental Parasitology**, v. 134, n. 1, p. 7–11, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.exppara.2013.01.018>>.

GUARIDO, M. M. **Atividade inseticida de extratos de Annona foetida Mart. (Annonaceae) sobre imaturos de Aedes aegypti (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae)**. 2009. Universidade Federal do Paraná, 2009. Disponível em: <<http://livros01.livrosgratis.com.br/cp146902.pdf>>.

GUEDES, M. P. CULICIDAE (DIPTERA) NO BRASIL: RELAÇÕES ENTRE DIVERSIDADE, DISTRIBUIÇÃO E ENFERMIDADES. **Oecologia Australis**, v. 16, n. 02, p. 283–296, jun. 2012. Disponível em: <<https://revistas.ufrj.br/index.php/oa/article/view/8208>>.

ISLAM, J.; ZAMAN, K.; TYAGI, V.; DUARAH, S.; DHIMAN, S.; CHATTOPADHYAY, P. Protection against mosquito vectors *Aedes aegypti*, *Anopheles stephensi* and *Culex quinquefasciatus* using a novel insect repellent, ethyl anthranilate. **Acta Tropica**, v. 174, p. 56–63, out. 2017. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0001706X17301511>>.

IZQUIERDO, P.; FENG, J.; ESQUENA, J.; TADROS, T. F.; DEDEREN, J. C.; GARCIA, M. J.; AZEMAR, N.; SOLANS, C. The influence of surfactant mixing ratio on nano-emulsion formation by the pit method. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 285, n. 1, p. 388–394, maio 2005. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002197970401077X>>.

KAH, M.; HOFMANN, T. Nanopesticide research: Current trends and future priorities. **Environment International**, v. 63, p. 224–235, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2013.11.015>>.

KALAIVANI, K.; SENTHIL-NATHAN, S.; MURUGESAN, A. G. Biological activity of selected Lamiaceae and Zingiberaceae plant essential oils against the dengue vector *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). **Parasitology Research**, v. 110, n. 3, p. 1261–1268, 2012.

KAMARAJ, C.; RAHUMAN, A. A.; BAGAVAN, A. Antifeedant and larvicidal effects of plant extracts against *Spodoptera litura* (F.), *Aedes aegypti* L. and *Culex quinquefasciatus* Say. **Parasitology Research**, v. 103, n. 2, p. 325–331, 2008.

KHOT, L. R.; SANKARAN, S.; MAJA, J. M.; EHSANI, R.; SCHUSTER, E. W. Applications of nanomaterials in agricultural production and crop protection: A review. **Crop Protection**, v. 35, p. 64–70, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2012.01.007>>.

KNIO, K.; USTA, J.; DAGHER, S.; ZOURNAJIAN, H.; KREYDIYYEH, S. Larvicidal

activity of essential oils extracted from commonly used herbs in Lebanon against the seaside mosquito, *Ochlerotatus caspius*. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 4, p. 763–768, mar. 2008. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852407001022>>.

KORTE, R. L.; KORTE, R. L. **Filariose Bancroftiana Na Amazônia Ocidental Brasileira: Implicações Para Transmissão E Controle**. Universidade de São Paulo, 2013.

KUBO, I.; FUJITA, K. Naturally Occurring Anti- Salmonella Agents. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 12, p. 5750–5754, dez. 2001. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf010728e>>.

LEÃO, M. M. **Características do óleo essencial extraído das folhas de *Campomanesia phaea* (O. Berg.) Landrum (cambuci) obtido em duas microrregiões da Mata Atlântica**. 2012. Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11150/tde-29102012-100529/>>.

LEE, S.-C.; WANG, S.-Y.; LI, C.-C.; LIU, C.-T. Anti-inflammatory effect of cinnamaldehyde and linalool from the leaf essential oil of *Cinnamomum osmophloeum* Kanehira in endotoxin-induced mice. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 26, n. 1, p. 211–220, jan. 2018. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1021949817300819>>.

LIU, D.; KOBAYASHI, T.; RUSSO, S.; LI, F.; PLEVY, S. E.; GAMBLING, T. M.; CARSON, J. L.; MUMPER, R. J. In Vitro and In Vivo Evaluation of a Water-in-Oil Microemulsion System for Enhanced Peptide Intestinal Delivery. **The AAPS Journal**, v. 15, n. 1, p. 288–298, 30 jan. 2013. Disponível em: <<http://www.springerlink.com/index/10.1208/s12248-012-9441-7>>.

LYU, Y.; REN, H.; YU, M.; LI, X.; LI, D.; MU, C. Using oxidized amylose as carrier of linalool for the development of antibacterial wound dressing. **Carbohydrate Polymers**, v. 174, p. 1095–1105, out. 2017. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861717307993>>.

MA, J.; XU, H.; WU, J.; QU, C.; SUN, F.; XU, S. Linalool inhibits cigarette smoke-induced lung inflammation by inhibiting NF- $\kappa$ B activation. **International Immunopharmacology**, v. 29, n. 2, p. 708–713, dez. 2015. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1567576915301089>>.

MAGALHÃES, M. dos S. **AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA DO EXTRATO HIDROALCÓOLICO DA ESPÉCIE *Anacardium occidentale* Linneu**. 2015. UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ, 2015.

MARCONDES, C. B. **Entomologia Médica e Veterinária**. 2<sup>a</sup> ed. São Paulo: Atheneu, 2011.

MARTINS, R. L. **Estudo químico e avaliação das atividades antioxidante, microbiológica, de citotoxicidade e inseticida do óleo essencial de *Aeollanthus suaveolens* Mart. ex Spreng ( Lamiaceae)**. 2016. Disponível em: <[http://www2.unifap.br/ppgcf/files/2015/04/Dissertacao\\_Rosany-Lopes-Martins\\_16-09-2016.pdf](http://www2.unifap.br/ppgcf/files/2015/04/Dissertacao_Rosany-Lopes-Martins_16-09-2016.pdf)>.

MARUNO, M. **Desenvolvimento de nanoemulsões à base de óleo de gergelim aditivadas de óleo de framboesa para queimaduras da pele**. 2009. Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/60/60137/tde-22102009-154453/>>.

MEI, X.; LIU, X.; ZHOU, Y.; WANG, X.; ZENG, L.; FU, X.; LI, J.; TANG, J.; DONG, F.; YANG, Z. Formation and emission of linalool in tea ( *Camellia sinensis* ) leaves infested by tea green leafhopper ( *Empoasca ( Matsumurasca ) onukii* Matsuda). **Food Chemistry**, v. 237, p. 356–363, dez. 2017. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814617309378>>.

MONATH, T. P.; VASCONCELOS, P. F. C. Yellow fever. **Journal of Clinical Virology**, v. 64, p. 160–173, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcv.2014.08.030>>.

MORAIS, S. A. de. **Relações morfométricas e genética populacional de *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae)**. 2011. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/6/6132/tde-04032011-164328/>>.

MOURA, E. da S. **ATIVIDADE INSETICIDA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE MANJERICÃO E CANDEEIRO E SEUS COMPONENTES SOBRE *Callosobruchus maculatus* (COLEOPTERA: BRUCHIDAE)**. 2015. Universidade Federal de Viçosa, 2015.

MURUGAN, K.; MURUGAN, P.; NOORTHEEN, A. Larvicidal and repellent potential of *Albizia amara* Boivin and *Ocimum basilicum* Linn against dengue vector, *Aedes aegypti* (Insecta:Diptera:Culicidae). **Bioresource Technology**, v. 98, n. 1, p. 198–201, 2007.

MUSTAFA, M. S.; RASOTGI, V.; JAIN, S.; GUPTA, V. Discovery of fifth serotype of dengue virus (DENV-5): A new public health dilemma in dengue control. **Medical Journal Armed Forces India**, v. 71, n. 1, p. 67–70, jan. 2015. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0377123714001725>>.

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. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2009.07.048>>.

NUNES, R. M. T.; VASCONCELOS, H. B.; MEDEIROS, D. B. D. A.; RODRIGUES, S. G.; AZEVEDO, R. do S. da S.; CHIANG, J. O.; MARTINS, L. C.; VASCONCELOS, P. F. D. C. A febre do Oropouche: uma revisão dos aspectos epidemiológicos e moleculares na Amazônia brasileira. **Cadernos de Saúde Coletiva**, v. 15, n. 3, p. 303–18, 2007.

OKA, Y.; NACAR, S.; PUTIEVSKY, E.; RAVID, U.; YANIV, Z.; SPIEGEL, Y. Nematicidal Activity of Essential Oils and Their Components Against the Root-Knot Nematode. **Phytopathology**, v. 90, n. 7, p. 710–715, jul. 2000. Disponível em: <<http://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PHYTO.2000.90.7.710>>.

OLIVEIRA, A. E. M. F. M.; DUARTE, J. L.; CRUZ, R. A. S.; SOUTO, R. N. P.; FERREIRA, R. M. A.; PENICHE, T.; CONCEIÇÃO, E. C.; OLIVEIRA, L. A. R.; FAUSTINO, S. M. M.; FLORENTINO, A. C.; CARVALHO, J. C. T.; FERNANDES, C. P. Pterodon emarginatus oleoresin-based nanoemulsion as a promising tool for Culex quinquefasciatus (Diptera: Culicidae) control. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 15, n. 1, p. 1–11, 2017.

OSTERTAG, F.; WEISS, J.; MCCLEMENTS, D. J. Low-energy formation of edible nanoemulsions: Factors influencing droplet size produced by emulsion phase inversion. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 388, n. 1, p. 95–102, dez. 2012. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021979712008879>>.

PADILHA DE PAULA, J.; GOMES-CARNEIRO, M. R.; PAUMGARTTEN, F. J. . Chemical composition, toxicity and mosquito repellency of Ocimum selloi oil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 88, n. 2–3, p. 253–260, out. 2003. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378874103002332>>.

PEY, C. M.; MAESTRO, A.; SOLÉ, I.; GONZÁLEZ, C.; SOLANS, C.; GUTIÉRREZ, J. M. Optimization of nano-emulsions prepared by low-energy emulsification methods at constant temperature using a factorial design study. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 288, n. 1–3, p. 144–150, 2006.

PHASOMKUSOLSIL, S.; SOONWERA, M. The effects of herbal essential oils on the ovipositiondeterrent and ovicidal activities of Aedes aegypti ( Linn ... deterrent and ovicidal activities of Aedes aegypti ( Linn .),. v. 29, n. March 2012, p. 29(1) : 138-150, 2011a.

PHASOMKUSOLSIL, S.; SOONWERA, M. Comparative mosquito repellency of essential oils against Aedes aegypti, Anopheles dirus and Culex quinquefasciatus. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, p. 113–118, 2011b.

PIRAS, A.; GONÇALVES, M. J.; ALVES, J.; FALCONIERI, D.; PORCEDDA, S.; MAXIA, A.; SALGUEIRO, L. *Ocimum tenuiflorum* L. and *Ocimum basilicum* L., two spices of Lamiaceae family with bioactive essential oils. **Industrial Crops and Products**, v. 113, p. 89–97, mar. 2018. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0926669018300244>>.

PRAJAPATI, V.; TRIPATHI, A. K.; AGGARWAL, K. K.; KHANUJA, S. P. S. Insecticidal, repellent and oviposition-deterrent activity of selected essential oils against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. **Bioresource Technology**, v. 96, n. 16, p. 1749–1757, 2005.

REINA, M. C. F. P.; FREITAS, A. C.; FERNANDES, F. C.; SILVA, J. A. M. da; GARCIA, M. H. O.; LISE, M. L. Z.; KATZ, G.; SPINOLA, R. **Investigação de casos de Encefalite Viral de Saint Louis, notificados no município de São José do Rio Preto – SP, agosto de 2006**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <[ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc\\_tec/ZOO/NT2\\_ENCEFA.pdf](ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/ZOO/NT2_ENCEFA.pdf)>.

RUBIO, A.; CARDO, M. V.; JUNGES, M. T.; CARBAJO, A. E.; VEZZANI, D. Field efficacy of triflumuron against *Aedes* and *Culex* mosquitoes in temperate Argentina. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 21, n. 1, p. 150–155, mar. 2018. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1226861517303321>>.

SABOGAL-GUÁQUETA, A. M.; OSORIO, E.; CARDONA-GÓMEZ, G. P. Linalool reverses neuropathological and behavioral impairments in old triple transgenic Alzheimer's mice. **Neuropharmacology**, v. 102, p. 111–120, mar. 2016. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0028390815301660>>.

SADURNÍ, N.; SOLANS, C.; AZEMAR, N.; GARCÍA-CELMA, M. J. Studies on the formation of O/W nano-emulsions, by low-energy emulsification methods, suitable for pharmaceutical applications. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 26, n. 5, p. 438–445, dez. 2005. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0928098705002460>>.

SILVA, C. M. A. da. **Metabólitos Secundários de Plantas do Semi-Árido de Pernambuco – Uma Inovação no Semi-Árido de Pernambuco – Uma Inovação no Controle de Fitopatógenos**. 2013. UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO CENTRO, 2013.

SILVA, H.; CERQUEIRA, M.; VICENTE, A. Nanoemulsions for food applications: development and characterization. **Food and Bioprocess Technology**, p. 1–14, 2011.

SILVA, M. S. **Aspectos clínicos e epidemiológicos de doenças transmitidas por *Aedes aegypti***. São Luís Universidade Federal do Maranhão. UNA-SUS/UFMA, , 2016. .



Disponível em: <[http://repcursos.unasus.ufma.br/vigilancia\\_20161/aedes/unidade\\_1/creditos.html](http://repcursos.unasus.ufma.br/vigilancia_20161/aedes/unidade_1/creditos.html)>.

SINGH, V.; KAHOL, A.; SINGH, I. P.; SARAF, I.; SHRI, R. Evaluation of anti-amnesic effect of extracts of selected *Ocimum* species using in-vitro and in-vivo models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 193, p. 490–499, dez. 2016. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378874116312120>>.

SOLANS, C.; SOLÉ, I. Nano-emulsions: Formation by low-energy methods. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, v. 17, n. 5, p. 246–254, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cocis.2012.07.003>>.

TABARI, M. A.; YOUSSEFI, M. R.; MAGGI, F.; BENELLI, G. Toxic and repellent activity of selected monoterpenoids (thymol, carvacrol and linalool) against the castor bean tick, *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v. 245, p. 86–91, out. 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304401717303618>>.

TADROS, T.; IZQUIERDO, P.; ESQUENA, J.; SOLANS, C. Formation and stability of nano-emulsions. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 108–109, p. 303–318, 2004.

TAUIL, P. L. Aspectos críticos do controle do dengue no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 18, n. 3, p. 867–871, jun. 2002. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-311X2002000300030&lng=pt&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2002000300030&lng=pt&tlng=pt)>.

TAUIL, P. L. Aspectos críticos do controle da febre amarela no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 44, n. 3, p. 555–558, jun. 2010. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-89102010000300020&lng=pt&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89102010000300020&lng=pt&tlng=pt)>.

TAWATSIN, a; WRATTEN, S. D.; SCOTT, R. R.; THAVARA, U.; TECHADAMRONGSIN, Y. Repellency of volatile oils from plants against three mosquito vectors. **Journal of vector ecology : journal of the Society for Vector Ecology**, v. 26, n. 1, p. 76–82, 2001.

TSHILANDA, D. D.; BABADY, P. B.; ONYAMBOKO, D. N. V.; TSHIONGO, C. M. T.; TSHIBANGU, D. S. T.; NGBOLUA, K. te N.; TSALU, P. V.; MPIANA, P. T. Chemo-type of essential oil of *Ocimum basilicum* L. from DR Congo and relative in vitro antioxidant potential to the polarity of crude extracts. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 6, n. 12, p. 1022–1028, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.apjtb.2016.08.013>>.

VASCONCELOS, P. F. da C. Febre amarela. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 2, p. 275–293, abr. 2003. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0037-86822003000200012&lng=pt&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822003000200012&lng=pt&tlng=pt)>.

WHO, W. H. O. **Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides**. Switzerland-Geneva World health organization: Communicable disease control, prevention and eradication who pesticide evaluation scheme., , 2005. . Disponível em: <[http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/69101/WHO\\_CDS\\_WHOPES\\_GCDPP\\_2005.13.pdf;jsessionid=1D57408E9568066B041A8A153175A5AE?sequence=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/69101/WHO_CDS_WHOPES_GCDPP_2005.13.pdf;jsessionid=1D57408E9568066B041A8A153175A5AE?sequence=1)>.

ZARA, A. L. S. A.; SANTOS, S. M.; FERNANDES-OLIVEIRA, E. S.; CARVALHO, R. G.; COELHO, G. E. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 25, n. 2, p. 1–2, jun. 2016. Disponível em: <[http://www.iec.pa.gov.br/template\\_doi\\_ess.php?doi=10.5123/S1679-49742016000200391&scielo=S2237-96222016000200391](http://www.iec.pa.gov.br/template_doi_ess.php?doi=10.5123/S1679-49742016000200391&scielo=S2237-96222016000200391)>.

ZHOU, Y.; YE, Y.; ZHANG, W.; LI, S.; CHEN, J.; WANG, S.; LI, D.; MU, C. Oxidized amylose with high carboxyl content: A promising solubilizer and carrier of linalool for antimicrobial activity. **Carbohydrate Polymers**, v. 154, p. 13–19, dez. 2016. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861716309651>>.

## ANEXO

Quadro 4. Arboviroses transmitidas pelo *Aedes aegypti*.

| <b>DENGUE</b>        |  |  |
|----------------------|--|--|
| <b>Vírus</b>         | Família: Flaviviridae.<br>Gênero: <i>Flavivirus</i> .<br>Sorotipos: DENV-1, DENV-2, DENV-3, DENV-4 e DENV-5.   | (FIOCRUZ, 2013;<br>MUSTAFA et al.,<br>2015)<br>BRASIL, 2014 <sup>a</sup>                             |
| <b>Sintomas</b>      | Febre alta, dor de cabeça e nos olhos, cansaço, falta de apetite, vômitos, dores musculares e ósseas e erupções na pele.   | (FIOCRUZ, 2013)  |
| <b>Agravos</b>       | Dengue Hemorrágica e Choque de Dengue  | (FIOCRUZ, 2013)  |
| <b>Considerações</b> | -Manifestações: Dengue Clássica, Dengue Hemorrágica e Síndrome do Choque de Dengue.  | (BRAGA; VALLE,<br>2007a)   |
| <b>FEBRE AMARELA</b> |  |  |
| <b>Vírus</b>         | Família: Flaviviridae.<br>Gênero: <i>Flavivirus</i> .  | (MONATH;<br>VASCONCELOS,<br>2015)  |
| <b>Sintomas</b>      | Febre alta, calafrios, dores na cabeça e nos músculos, fraqueza, cansaço e vômitos.  | (BRASIL, 2017a)  |
| <b>Agravos</b>       | Insuficiências hepática e renal e manifestações hemorrágicas   |  |
| <b>Considerações</b> | -Existe a Febre Amarela Urbana e a Febre Amarela Silvestre<br>-Manifestações: assintomática, oligossintomática, moderada, grave e maligna.<br>-A vacina é fabricada desde 1937 pela Fundação Oswaldo Cruz. Utiliza-se ovos de galinha embrionados e o vírus atenuados da cepa 17-DD. | (VASCONCELOS,<br>2003; TAUIL, 2010;<br>BRASIL, 2018a)  |
| <b>ZIKA</b>          |  |  |
| <b>Vírus</b>         | Família: Flaviviridae.<br>Gênero: <i>Flavivirus</i> .  | (ZANLUCA et al.,<br>2015)  |
| <b>Sintomas</b>      | Febre, edema intenso, exantema, mal-estar, cefaleia, dores articulares.  | (BRASIL et al.,<br>2016 <sup>a</sup> )   |
| <b>Agravos</b>       | Comprometimento do sistema nervoso de bebês que foram contaminados durante a gestação.   | (BRASIL et al.,<br>2016 <sup>a</sup> )   |
| <b>Considerações</b> | -Os primeiros casos notificados no Brasil ocorreram na Bahia, em 2015.<br>-O vírus foi isolado pela primeira vez em uma macaca <i>Rhesus</i> , na floresta Zika (Uganda, África) em 1947.  | (CALVET et al.,<br>2016)<br>(ZANLUCA et al.,<br>2015)  |
| <b>CHIKUNGUNYA</b>   |  |  |
| <b>Vírus</b>         | Família: Togaviridae.<br>Gênero: <i>Alphavirus</i> .<br>Sorotipos: Asiático, Centro-Sul-Africano (ECSA) e África Ocidental (WA).   | (AZEVEDO;<br>OLIVEIRA;<br>VASCONCELOS,<br>2015; SILVA, 2016;<br>DA SILVA-<br>JÚNIOR et al.,<br>2017) |
| <b>Sintomas</b>      | Febre, artralgia, erupção maculopapular (em alguns casos) e dores articulares graves que podem atingir: tornozelos, dedos, dedos do pé, cotovelo, joelhos e pulsos.  | (DA SILVA-<br>JÚNIOR et al.,<br>2017)  |
| <b>Agravos</b>       | Complicações: oculares, cardíacas, gastrointestinais e neurológicas.   |  |
| <b>Considerações</b> | -Chikungunya, em Makonde significa “aquele que se curva”. O termo foi atribuído devido a forma que o doente assume.<br>-Manifestações: Aguda, Subaguda e Crônica (pode durar anos)<br>-Os primeiros casos no Brasil ocorreram em 2014 no Oiapoque-AP e Feira de Santana-BA.          | (SILVA, 2016; DA<br>SILVA-JÚNIOR et<br>al., 2017)  |

**Quadro 5.** Doenças transmitidas pelo *Culex quinquefasciatus*.

| <b>FILARIOSE BANCROFTIANA</b>        |   |                                 |
|--------------------------------------|---|---------------------------------|
| <b>Helminto</b>                      | Família: Filariidae.<br>Espécie: <i>Wuchereria bancrofti</i> .  | (MORAIS, 2011)                  |
| <b>Hospedeiros</b>                   | -H. Definido: Homem<br>-H. Intermediário: <i>Culex quinquefasciatus</i> (principal vetor)   |                                 |
| <b>Sintomas</b>                      | Normalmente é assintomática mas pode apresentar: febre, cefaleia, dor local, calafrios e vômitos.   | (KORTE; KORTE, 2013)            |
| <b>Agravos</b>                       | Obstrução de vasos linfáticos e o inchaço do local.   |                                 |
| <b>Considerações</b>                 | -As larvas podem viver até 10 anos nos vasos linfáticos.<br>-A formação de um “novelo” de larvas é o que causa a obstrução e retenção de líquido, culminando na tradicional “pata de elefante”. | (AMORIM, 2013)                  |
| <b>FEBRE DO NILO OCIDENTAL</b>       |   |                                 |
| <b>Vírus</b>                         | Família: Flaviviridae.<br>Gênero: <i>Flavivirus</i> .   | (BRASIL, 2017b)                 |
| <b>Hospedeiros</b>                   | -H. Naturais: Aves<br>-H. Acidentais: Humanos   | (CHALEGRE, 2008)                |
| <b>Sintomas</b>                      | Febre, dor de cabeça, dor nos olhos, mialgia, anorexia, náusea e vômito, exantema máculo-papular e linfadenopatia.  |                                 |
| <b>Agravos</b>                       | Acometimento do sistema nervoso central por encefalite ou meningoencefalite grave.  | (BRASIL, 2017b)                 |
| <b>Considerações</b>                 | -Mosquitos do gênero <i>Culex</i> ganham destaque sobre sua capacidade vetorial, devido a sua alimentação pouco seletiva.   | (MORAIS, 2011;<br>AMORIM, 2013) |
| <b>ENCEFALITE DE SAINT LOUIS</b>     |   |                                 |
| <b>Vírus</b>                         | Família: Flaviviridae.<br>Gênero: <i>Flavivirus</i> .   | (FORATTINI, 2002)               |
| <b>Hospedeiros</b>                   | -H. Naturais: Aves<br>-H. Acidentais: Humanos   | (MORAIS, 2011)                  |
| <b>Sintomas</b>                      | Febre, cefaleia, mialgia, náuseas e vômitos, sonolência e exantema  | (REINA et al., 2006)            |
| <b>Agravos</b>                       | Convulsões e sequelas neurológicas, como: paralisia, perda de memória ou perda da habilidade motora fina  |                                 |
| <b>Considerações</b>                 | - <i>Culex</i> é o principal gênero transmissor dessa encefalite, entre eles as espécies: <i>C. tarsalis</i> , <i>C. pipens</i> , <i>C. nigripalpus</i> e <i>C. quinquefasciatus</i> .          | (FORATTINI, 2002)               |
| <b>ENCEFALITE EQUINA VENEZUELANA</b> |   |                                 |
| <b>Vírus</b>                         | Família: Togaviridae.<br>Gênero: <i>Alphavirus</i> .<br>Sorotipos: I, II, III, IV, V, VI.   | (FORATTINI, 2002)               |
| <b>Hospedeiros</b>                   | -H. Naturais: Equinos<br>-H. Acidentais: Humanos  | (MORAIS, 2011)                  |
| <b>Sintomas</b>                      | Febre, dor de cabeça, fotossensibilidade, mialgia, dor na lombar ou garganta, diarreia, vômito e cansaço.   | (DERLET, 2016)                  |
| <b>Agravos</b>                       | Encefalite e meningite  |                                 |
| <b>Considerações</b>                 | -Os principais gêneros de vetores são: <i>Culex</i> , <i>Aedes</i> e <i>Mansonia</i> .  | (FORATTINI, 2002)               |

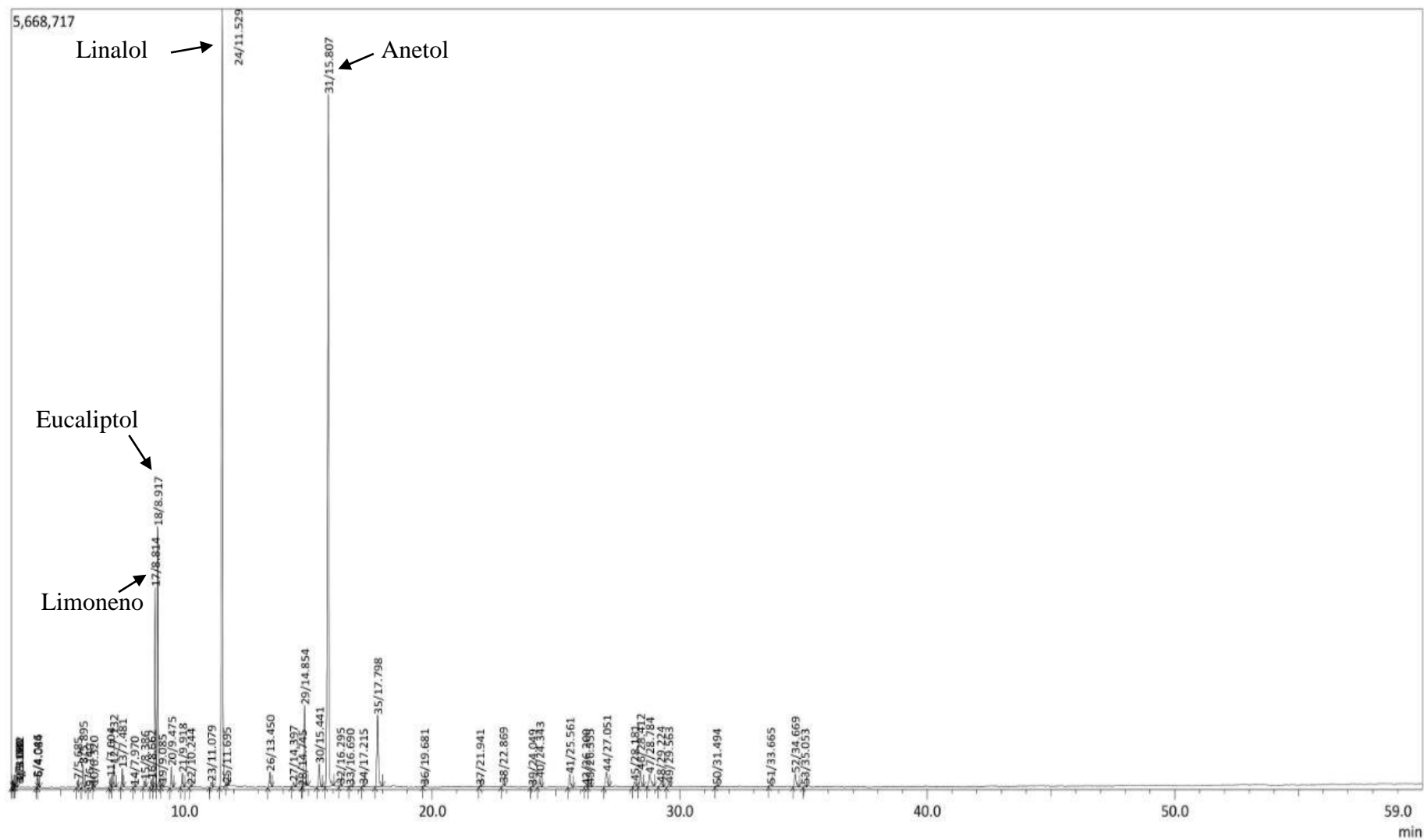
| <b>OROPOUCHE</b>     |  |   |
|----------------------|--|---|
| <b>Vírus</b>         | Família: Bunyaviridae.<br>Gênero: <i>Orthobunyavirus</i> .   | (NUNES et al., 2007)                          |
| <b>Hospedeiros</b>   | -H. Naturais: Mamíferos (ex. macaco, preguiça) e Aves<br>-H. Acidentais: Humanos   |   |
| <b>Sintomas</b>      | Febre, cefaleia, artralgia, dor nas articulações, mialgia, dor abdominal, fotofobia, anorexia, queimação, diarreia   | (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994)                     |
| <b>Agravos</b>       | Meningite  |   |
| <b>Considerações</b> | -Possui dois ciclos: Urbano e Silvestre.<br>-O vetor primário é o <i>Culicoides paraenses</i> Goeldi, conhecido popular mente por “maruim”.<br>-Casos predominantes em regiões tropicais, com destaque em áreas extrativistas da Amazônia. | (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; NUNES et al., 2007) |

**Quadro 6.** Epidemiologia dos casos prováveis de Dengue, Febre Amarela, Zika e Chikungunya nos anos de 2017 e 2018 no Brasil, no Norte e no Estado do Amapá.

| <b>DENGUE</b>        |               |              |              |
|----------------------|---------------|--------------|--------------|
| <b>Ano</b>           | <b>Brasil</b> | <b>Norte</b> | <b>Amapá</b> |
| <b>2017</b>          | 47.299        | 7.220        | 287          |
| <b>2018</b>          | 32.161        | 2.983        | 77           |
| <b>FEBRE AMARELA</b> |               |              |              |
| <b>Ano</b>           | <b>Brasil</b> | <b>Norte</b> | <b>Amapá</b> |
| <b>2017/2018</b>     | 4.131         | 97           | 3            |
| <b>ZIKA</b>          |               |              |              |
| <b>Ano</b>           | <b>Brasil</b> | <b>Norte</b> | <b>Amapá</b> |
| <b>2017</b>          | 4.263         | 756          | 3            |
| <b>2018</b>          | 705           | 132          | 5            |
| <b>CHIKUNGUNYA</b>   |               |              |              |
| <b>Ano</b>           | <b>Brasil</b> | <b>Norte</b> | <b>Amapá</b> |
| <b>2017</b>          | 16.642        | 4.184        | 23           |
| <b>2018</b>          | 7.460         | 716          | 24           |

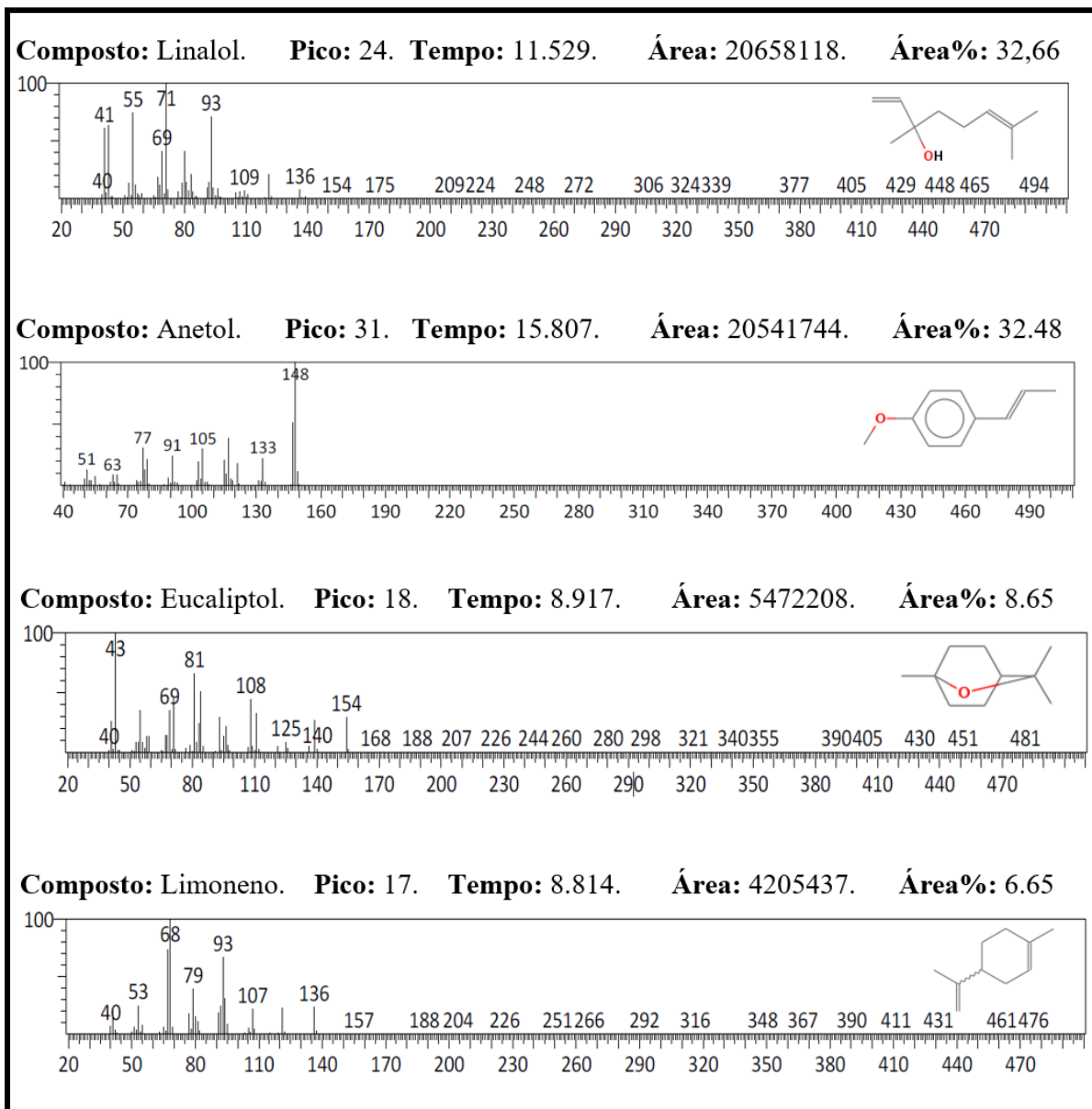
Fonte: (BRASIL, 2018b, 2018a)

Figura 11. Perfil cromatográfico do óleo essencial de *Ocimum basilicum*.



Fonte: LMCA-UFPB; Webbook NIST.

**Figura 12.** Espectro de massa dos quatro principais compostos do *Ocimum basilicum*: Linalol, Anetol, Eucaliptol e Limoneno.



Fonte: LMCA–UFPB; Webbook NIST.