



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA**

LUANA ARAÚJO LOPES

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE
PRELIMINAR DE REPELENTES DE EFEITO PROLONGADO COM
ATIVOS DE ORIGEM NATURAL**

Fortaleza
2017

LUANA ARAÚJO LOPES

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE PRELIMINAR DE
REPELENTES DE EFEITO PROLONGADO COM ATIVOS DE ORIGEM
NATURAL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Graduação em Farmácia da
Universidade Federal do Ceará, como um dos
requisitos para a obtenção do Bacharelado em
Farmácia

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Tamara Gonçalves de Araújo

Co-orientadora: Samia Sousa de Queiroz

Fortaleza
2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

L854d Lopes, Luana.

Desenvolvimento e Avaliação da Estabilidade Preliminar de Repelentes de Efeito Prolongado com Ativos de Origem Natural / Luana Lopes. – 2017.

38 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Curso de Farmácia, Fortaleza, 2017.

Orientação: Profa. Dra. Tamara Gonçalves de Araújo.
Coorientação: Profa. Esp. Samia Sousa de Queiroz.

1. Arbovirose. 2. Cymbopogon. 3. Eucalyptus globulus . 4. Lippia. I. Título.

CDD 615

LUANA ARAÚJO LOPES

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE PRELIMINAR DE
REPELENTE DE EFEITO PROLONGADO COM ATIVOS DE ORIGEM NATURAL**

Monografia apresentada ao Curso de Farmácia da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Aprovado em: ____ / ____ / ____.

BANCA EXAMINADORA

Professora Dra. Juvenia Bezerra Fontenele
(Instituição: Universidade Federal do Ceará)

Professor Dr. Paulo Sérgio Dourado Arrais
(Instituição: Universidade Federal do Ceará)

Professora Dra. Tamara Gonçalves de Araújo (orientadora)
(Instituição: Universidade Federal do Ceará)

RESUMO

Arboviroses como dengue, chikungunya, zika e outros, são transmitidos por picadas de mosquitos fêmeas da família culicidae. Essas doenças têm alto índice de morbidade e mortalidade em nosso país. Uma maneira de prevenir essas picadas é por uso de repelentes. Todavia, muitos repelentes presentes no mercado apresentam ativos sintéticos que possuem restrições para uso em crianças, grávidas e pessoas com hipersensibilidade. Por esse motivo, tem-se buscado outras alternativas, como repelentes a base de óleos essenciais. Estes componentes têm demonstrado atividade repelente, entretanto o desafio é a obtenção de uma formulação que seja eficaz na fixação destes compostos, aumentando a duração da repelência. Durante o estudo foram elaboradas diversas bases de formulações a fim de desenvolver uma que apresentasse resultados satisfatórios com os componentes mais apropriados. Com esta base foram elaboradas três formulações, uma contendo óleo de *Cymbopogon nardus*, outra com óleo de *Lippia sidoides*, por fim, uma contendo óleo de *Eucalyptus globulus*. Foi realizado um teste de estabilidade preliminar, onde as amostras de cada formulação foram submetidas a condições extremas de temperatura. As emulsões também foram avaliadas segundo parâmetros físico-químicos, como aspecto, cor, odor, pH e viscosidade. Além disso, foram realizados testes microbiológicos, como método de contagem em placas e pesquisa de micro-organismos patogênicos. Os resultados de todos os testes foram satisfatórios. Com este estudo, pôde-se perceber que a incorporação de óleos essenciais de citronela, alecrim-pimenta e eucalipto em bases contendo carbômero 940 e PVP K 90 para a formação de um gel-creme repelente é possível. Contudo, testes de eficácia ainda são necessários para comprovar a atividade repelente da formulação para sua posterior comercialização.

Palavras-chave: Arboviroses, *Cymbopogon*, *Eucalyptus globulus* e *Lippia*.

ABSTRACT

Arboviruses, such as, dengue fever, chikugunya, zika and others, are transmitted by bites of female mosquitoes of the culicidae family. These diseases have high morbidity and mortality in our county. A way to prevent these mosquito bites is by using repellents. However, many repellents in the market today use synthetic repellent actives which present restriction uses in children, pregnant women and hypersensitivity people. For this reason, repellents containing essential oils are being studied. These oils have shown repellent activity. The challenge is to develop a formulation that is effective in fixing these compounds, increasing the duration of the repellent activity. In this study several formulation bases were elaborated until developing one that presented satisfactory results with the most appropriate components. With this base, three formulations were prepared, one containing *Cymbopogon nardus* oil, another with *Lippia sidoides* oil, and finally, one containing *Eucalyptus globulus* oil. A preliminary stability test was performed, where the samples from each formulation were submitted to extreme temperature conditions. The emulsions prepared were also evaluated according to physico-chemical parameters, such as appearance, color, odor, pH and viscosity. In addition, microbiological tests were performed, such as plaque assay method and pathogenic microorganism research. The results of all test were satisfactory. So, the incorporation of essential oils of citronella, rosemary-pepper and eucalyptus globulus in bases containing carbomer and PVP k 90 for a gel cream was possible. However, efficacy tests are still needed to prove the repellent activity of the formulation for later commercialization.

Keywords: Arboviruses, *Cymbopogon*, *Eucalyptus globulus* e *Lippia*.

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 01 Avaliação de pH do produto 29

LISTA DE TABELAS

Tabela 01	Avaliação de Aspecto do Produto	27
Tabela 02	Avaliação de Cor do Produto	27
Tabela 03	Avaliação de Odor do Produto	28
Tabela 04	Avaliação da Viscosidade do Produto	30
Tabela 05	Avaliação Microbiológica do Produto	31

SUMÁRIO

Introdução.....	09
1. Referencial Teórico e Justificativa.....	12
1.1. Gênero <i>Aedes</i>	12
1.2. Arboviroses: Dengue, Zika e Chikungunya.....	12
1.3. Controle dos vetores.....	14
1.4. Repelentes.....	15
1.4.1. Repelentes sintéticos.....	16
1.4.2. Repelentes Orgânicos.....	16
1.4.2.1 <i>Cymbopogon nardus</i>	17
1.4.2.2 <i>Lippia sidoides</i>	17
1.4.2.3 <i>Eucalyptus globulus</i>	18
1.5 Polivinil pirrolidona k90.....	18
2. Objetivos.....	19
2.1. Geral.....	19
2.2. Específicos.....	19
3. Material e Método.....	20
3.1 Material e Excipientes.....	20
3.2 Equipamentos.....	20
3.3 Métodos.....	21
3.3.1 Preparo das formulações.....	21
3.3.2 Ensaios de estabilidade preliminar.....	22
3.3.2.1 Ensaios organolépticos.....	22
3.3.2.1.1 Aspecto.....	22
3.3.2.1.2 Cor.....	22
3.3.2.1.3 Odor.....	23
3.3.2.2 Centrifugação.....	23
3.3.2.3 Determinação de pH.....	23
3.3.2.4 Determinação de Viscosidade.....	23
3.3.3 Avaliação Microbiológica.....	23
3.3.3.1 Método de Contagem em placas.....	23
3.3.3.2 Pesquisa de Micro-organismos patogênicos.....	24
3.3.3.2.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	24

3.3.3.2.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	24
3.3.3.2.3 Pesquisa de Micro-organismos mesófilos aeróbios.....	24
3.3.3.2.4 Bolores e Leveduras.....	25
4. Resultado e Discussão.....	26
4.1 Preparo das formulações.....	26
4.2 Ensaio de estabilidade preliminar.....	26
4.2.1 Ensaio organoléptico.....	26
4.2.1.1 Aspecto.....	26
4.2.1.2 Cor.....	26
4.2.1.3 Odor.....	28
4.2.1.4 Centrifugação.....	28
4.2.1.5 Determinação do pH.....	29
4.2.1.6 Determinação da viscosidade.....	29
4.2.2 Avaliação microbiológica.....	30
5. Conclusão.....	32
Referências	33

INTRODUÇÃO

Certas patologias humanas como dengue, zika, chikungunya, dentre outras, são adquiridas por meio de picadas de insetos que são atraídos por odores humanos. Além disso, as picadas também podem causar desconforto localizado, alergia, irritação e inchaço (PACHECO, 2013).

O *Aedes aegypti* é o principal responsável por essas patologias, pois as suas adaptações permitiram que se tornasse abundante nas cidades e fosse facilmente levado para outras áreas pelos meios de transporte, o que aumentou sua competência vetorial, ou seja, a sua habilidade em tornar-se infectado por um vírus, replicá-lo e transmiti-lo (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994).

Entre 1958 e 1973, o *Aedes aegypti* chegou a ser erradicado do país por duas vezes. Entretanto, em 1976, surgiram os primeiros registros da reintrodução do vetor no Brasil ocasionada por falhas na vigilância epidemiológica e pelo crescimento populacional acelerado. Desde então, o *Ae. aegypti* está presente em todas as Unidades da Federação (ZARA *et al.*, 2016).

Aspectos relacionados a problemas de infraestrutura das cidades, tais como baixa cobertura na coleta de lixo e a intermitência no abastecimento de água, são fatores que comprometem a efetividade dos métodos tradicionais de controle do *Aedes aegypti*. (ZARA *et al.*, 2016).

A dengue é uma doença infecciosa, febril aguda, transmitida pelo *Aedes aegypti*. Tal doença pode ainda se manifestar mais severamente, denominada forma grave da doença (MORAES, 2015). No Ceará, há casos de dengue notificados desde 1986 e já foram isolados os quatro sorotipos: DENV1, DENV2, DENV3 e DENV4 (CEARÁ, 2017).

Em 2017, até o mês de julho, foram notificados 67.128 casos de dengue no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (Sinan), correspondendo a uma taxa de incidência no Estado do Ceará de 748,9 casos por 100 mil habitantes, distribuídos em 98,9% dos municípios (CEARÁ, 2017).

A partir de 2015, foi confirmada, também, a transmissão autóctone dos vírus da chikungunya (CHIKV) e da zika (ZIKV) (CEARÁ, 2017).

CHIKV é um alfavírus originário da África, que chegou às Américas pelo Caribe, resultando em milhares de infecções. Seu principal vetor é o *Aedes aegypti*, contudo já foram identificadas transmissões por outro mosquito, o *Aedes albopictus*. A infecção por CHIKV produz uma síndrome febril de início súbito e debilitante que, em virtude da intensidade dos

sintomas articulares, deram origem ao nome Chikungunya, que, no idioma africano Makonde, significa “andar curvado” (HONÓRIO *et al.*, 2015).

Com relação a transmissão de chikungunya no Estado do Ceará, em 2016, caracterizou-se um cenário epidêmico, com 49.516 casos suspeitos, sendo que 63,6% foram confirmados, distribuídos em 80,8% dos municípios. Em 2017, observa-se uma tendência crescente de casos notificados. Até julho de 2017 foram notificados 107.545 casos, destes, 59,7% foram confirmados (CEARÁ, 2017).

O vírus Zika recebeu a mesma denominação do local de origem de sua identificação em 1947, após detecção em macacos sentinelas para monitoramento da febre amarela, na floresta Zika, em Uganda. Embora a primeira evidência de infecção humana pelo vírus Zika tenha ocorrido em 1952, a comunidade internacional somente passou a reconhecer o potencial epidêmico do vírus Zika a partir de 2005 e principalmente após o surto de 2007 na Oceania (BRASIL, 2015).

A microcefalia relacionada ao vírus Zika está sendo descrita pela primeira vez na história e com base no surto que está ocorrendo no Brasil (BRASIL, 2015). Esta é uma malformação congênita de etiologia complexa e multifatorial, podendo ocorrer em decorrência de processos infecciosos durante a gestação. (BRASIL, 2016)

Até o mês de julho de 2017, foram notificados 2.984 casos suspeitos de zika, onde 15,0% foram confirmados e 48,5% foram descartados. Do total de casos notificados, 35,8% foram em gestantes, sendo 5,0% confirmados (CEARÁ, 2017).

Atualmente, o controle do vetor é feito por meio de aplicações de inseticidas, porém, o uso frequente e em doses cada vez maiores destes produtos têm contribuído para o aparecimento de populações resistentes de mosquitos e danos ambientais provocados por seu uso intensivo (GOMES *et al.*, 2016).

Outra forma de combate é o uso de telas nas residências e locais de trabalho e a aplicação de repelentes durante o dia, que são as medidas mais eficazes para a proteção individual de crianças, mulheres grávidas ou com risco de engravidar que vivem em áreas com alta infestação do mosquito (PAUMGARTTEN; DELGADO, 2016).

Repelentes de insetos são tratamentos adjuvantes para prevenir doenças transmitidas por artrópodes incluindo dengue, chikungunya, zika e outras. Pelo menos duas dessas doenças transmitidas por mosquitos (malária e zika) foram associadas com desfechos adversos da gravidez como perdas gestacionais, baixo peso ao nascer e defeitos congênitos graves (PAUMGARTTEN; DELGADO, 2016).

A maior parte dos repelentes utilizam compostos sintéticos, como o DEET (N, N-dietil-3-metilbenzamida), a Icaridina e o IR3535, em sua formulação. Estes compostos apresentam risco de toxicidade, afetando a pele, sistema nervoso e sistema imunológico que ocorre quando o produto é utilizado de forma incorreta ou por longos períodos. Além disso, possuem restrições de uso em crianças (PACHECO, 2013).

Diante do contexto do crescimento da doença, dos prejuízos causados pelas arboviroses no país, da resistência aos inseticidas e do risco do uso de repelentes sintéticos, torna-se de suma importância o desenvolvimento de novos métodos de combate ao vetor. Dessa forma, pelo fato de muitas plantas, por natureza, repelirem os mosquitos, os óleos essenciais podem representar uma saída eficiente para esse problema (GOMES *et al.*, 2016). Contudo, esses compostos apresentam baixa fixação na pele, indicando a necessidade de uma formulação eficiente, que promova o aumento da duração da repelência.

Portanto, este trabalho tem como objetivo o desenvolvimento de um repelente seguro, com efeito duradouro e eficaz contra diversos insetos, à base de óleos essenciais.

1 REFERENCIAL TEÓRICO E JUSTIFICATIVA

1.1 Gênero *Aedes*

Os mosquitos Culicidae são os que mais têm atraído a atenção da saúde pública, pelo fato de estarem envolvidos na transmissão de múltiplas infecções ao homem (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994). O gênero *Aedes*, pertencente a família Culicidae, é encontrado, preferencialmente, em locais de maior concentração humana, pois ali existe uma maior deposição de objetos que lhes servem de criadouros (SOUZA; CHIVA; LAMBERTI, 2018).

Há duas espécies principais de mosquitos do gênero *Aedes* capazes de transmitir, além da dengue, outras arboviroses como chikungunya, zika e febre amarela: *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* (ZARA *et al.*, 2016).

O *Aedes aegypti*, descrito cientificamente pela primeira vez em 1762, é originário do Egito. Primeiramente foi denominado *Culex aegypti*, que significa mosquito egípcio. Contudo, quando o gênero *Aedes* foi descrito em 1818, verificou-se que a espécie *aegypti* apresentou características morfológicas e biológicas semelhantes às de espécies do gênero *Aedes*. Então, foi estabelecido o nome *Aedes aegypti* (BRASIL, 2017).

O *Ae. aegypti* é considerado cosmopolita, tendo sido disseminado pelo homem de forma passiva através de embarcações, trens, automóveis, aviões, caminhões, entre outros (SOUZA; CHIVA; LAMBERTI, 2018). Raramente são encontrados em ambientes semissilvestres ou onde não há presença intensa do homem. Seus criadouros preferenciais são recipientes artificiais, tanto aqueles abandonados a céu aberto, que servem como reservatório de água de chuva, como os utilizados para armazenar água para uso doméstico (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994).

Já o *Ae. albopictus*, originário da Ásia, se adapta em ambientes naturais ou reservatórios artificiais. São atraídos por humanos, porém podem se alimentar de néctar e de sangue de animais silvestres (PUERTO RICO, 2012).

A transmissão das arboviroses ocorre através da picada de fêmeas infectadas do mosquito (MORAES, 2015). As fêmeas conseguem fazer ingestões múltiplas de sangue durante um único ciclo gonadotrófico, o que amplia a sua capacidade de se infectar e de transmitir os vírus (PUERTO RICO, 2012).

1.2 Arboviroses: Dengue, Zika e Chikungunya

O vírus da Dengue é transmitido, principalmente, pelo *Aedes aegypti* e em menor proporção pelo *Ae. albopictus* (WHO, 2000). É classificado como um arbovírus, pertencente a família Flaviviridae, a mesma do vírus da febre amarela (SIMMONS *et al.*, 2012). Existem

quatro sorotipos: DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4, e todos podem causar tanto a forma clássica da doença quanto a forma mais grave (BRASIL, 2017). Após o período de incubação de 4 a 10 dias, um mosquito infectado pode transmitir o vírus durante todo o seu ciclo de vida (IOC, 2017).

Após a picada do mosquito, inicia-se o ciclo de replicação viral nas células estriadas, lisas, fibroblastos e linfonodos locais, a seguir ocorre a viremia, com a disseminação do vírus no organismo do indivíduo (IOC, 2017).

Quando os sintomas se manifestam, o paciente apresenta febre alta e 2 dos seguintes sintomas: dor de cabeça severa, dor atrás dos olhos, dores musculares e articulares, náusea, vômito, inchaço das glândulas ou petéquias. Os sintomas duram de 2 a 7 dias após o período de incubação (IOC, 2017). Os sintomas seguem 3 fases: uma fase inicial, caracterizada por febre, em seguida uma fase mais crítica e, por fim, uma recuperação espontânea (SIMMONS *et al.*, 2012).

A fase crítica, também denominada, forma grave da doença ou dengue hemorrágica, manifesta-se na minoria dos pacientes. Nesta fase, pode ocorrer um extravasamento de plasma, geralmente próximo do período de defervescência. O paciente apresenta febre alta, fenômenos hemorrágicos, muitas vezes com hepatomegalia e, em casos extremos, sinais de insuficiência circulatória. Na tentativa de compensar esse quadro, pode ocorrer um choque hipovolêmico, denominado síndrome do choque associado à dengue, que muitas vezes pode levar à morte do paciente (BRASIL, 2016) (SIMMONS *et al.*, 2012).

Uma vez infectada por um dos sorotipos do vírus, a pessoa adquire imunidade para aquele sorotipo específico. Como não há imunidade cruzada que proteja o indivíduo para os outros sorotipos, um mesmo indivíduo pode ser infectado por todos os quatro sorotipos (SIMMONS *et al.*, 2012). A hipótese da infecção secundária sugere que pessoas que vivem em regiões endêmicas podem ser infectadas com três a quatro sorotipos de dengue durante a sua vida, aumentando as chances de contrair a forma grave da doença (MORAES, 2015).

Em 2016, o Brasil foi surpreendido por uma avassaladora epidemia do vírus Zika (ZIKV), um flavivírus que, da mesma forma que o vírus da dengue (DENV), é transmitido pelo mosquito *Aedes aegypti* (VALLE; PIMENTA; AGUIAR, 2016).

A partir de novembro de 2014, começou a ser reportado um grande número de casos de uma síndrome exantemática indeterminada, posteriormente identificada como zika. O quadro clínico era caracterizado por exantema, como principal e muitas vezes o primeiro sintoma; febre ausente ou de pequena intensidade e de curta duração; dor articular; edema de mãos, pés e tornozelos; e, por fim, conjuntivite (BRASIL, 2017) (BRITO, 2015).

Depois do surto de Zika em sua forma clássica, os casos neurológicos e de microcefalia começaram a surgir (BRITO, 2015). A microcefalia não é uma doença transmissível, tem etiologia complexa e multifatorial, envolvendo fatores genéticos e ambientais, entre as causas mais comuns, estão: traumas disruptivos (AVC) e infecções (BRASIL, 2015).

A identificação da microcefalia se dá principalmente pela medição do Perímetro Cefálico (PC), procedimento comum no acompanhamento clínico do recém-nascido, visando à identificação de doenças neurológicas (BRASIL, 2015).

Considerando que o vírus Zika possa ter sido introduzido no Brasil a partir da segunda metade de 2014 e ocasionando uma nova doença por não ter circulado anteriormente no país, considera-se que a maior parte da população brasileira seja suscetível à infecção e não possua imunidade natural contra o vírus Zika (BRASIL, 2015).

O Chikungunya (CHIKV) é um RNA vírus da família Togaviridae do gênero Alphavirus. O nome “chikungunya” deriva de uma palavra em Makonde que significa “aqueles que se dobraram”, descrevendo a aparência encurvada de pacientes que sofrem de artralgia intensa (BRASIL, 2014).

A Chikungunya se caracteriza por quadros de febre associados à dor articular intensa e debilitante, cefaleia e mialgia (POWERS; LOGUE, 2007). Embora possua sintomas semelhantes ao da dengue, chama a atenção devido a poliartrite/artralgia simétrica (principalmente punhos, tornozelos e cotovelos), que, em geral, melhora após 10 dias, mas que pode durar meses após o quadro febril (POWERS; LOGUE, 2007).

No Brasil, os primeiros casos autóctones da febre de chikungunya foram notificados em agosto e setembro de 2014 em municípios dos estados do Amapá e Bahia. Dessa forma, considerando-se a ampla distribuição dos potenciais vetores da doença no Brasil, *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, e o intenso deslocamento das pessoas, tornam o país vulnerável à disseminação do vírus CHIKV (BRASIL, 2014).

1.3 Controle dos vetores

O controle do *Aedes* tem constituído um importante desafio, especialmente nos países em desenvolvimento (ZARA *et al.*, 2016). Vários métodos de controle podem ser utilizados rotineiramente. Alguns deles são executados no domicílio pelo morador e, complementarmente, pelo Agente de Controle de Endemias ou Agente Comunitário de Saúde (BRASIL, 2009).

Uma das estratégias preconizadas pelo Ministério da Saúde é a promoção de ações educativas durante a visita domiciliar pelos Agentes Comunitários, com o objetivo de garantir a sustentabilidade da eliminação dos criadouros pelos proprietários dos imóveis, na tentativa de romper a cadeia de transmissão das doenças (BRASIL, 2009).

Como métodos de controle, podemos citar o mecânico, o biológico e o químico.

O controle mecânico tem como objetivo impedir a procriação do *Aedes*, ou seja, consiste na eliminação mecânica de criadouros. Quando não é possível a eliminação, trata-se os criadouros com larvicidas e aplica-se outros tipos de inseticidas (SIMMONS *et al.*, 2012; ZARA *et al.*, 2016).

Outra alternativa de controle é o biológico, que utiliza predadores ou patógenos. Entre as alternativas disponíveis de predadores estão os peixes e os invertebrados aquáticos, que comem as larvas e pupas. Já os patógenos, como bactérias, fungos e parasitas, liberam toxinas (ZARA *et al.*, 2016).

A terceira alternativa, controle químico, baseia-se na utilização de inseticidas para o controle do vetor nas fases larvária e adulta. Deve-se levar em consideração o uso racional e seguro dos inseticidas nas atividades de controle vetorial, já que o seu uso indiscriminado determina impactos ambientais (BRASIL, 2009). Além disso, já foi detectada uma resistência do vetor aos inseticidas (ZARA *et al.*, 2016).

1.4 Repelentes

Algumas estratégias como, o uso de repelentes na pele, uso de roupas que cobrem toda a região exposta do corpo e tempo limitado em áreas externas são utilizadas para evitar as picadas de insetos (KATZ; MILLER; HEBERT, 2008).

Repelentes são substâncias químicas naturais ou sintéticas, aplicadas sobre a pele, roupas e superfícies que inibem a busca ao hospedeiro pelo inseto. Seu uso reduz o risco de transmissão de inúmeras doenças infecciosas e reações imunoalérgicas resultantes das picadas (RIBAS; CARREÑO, 2010).

Estes são classificados como produtos cosméticos de Grau 2 que possuem indicações específicas, cujas características exigem comprovação de segurança e eficácia, bem como informações e cuidados, modo e restrições de uso (BRASIL, 2005; MORAES, 2015).

Para ser considerado um bom repelente de insetos, devem ser observadas as seguintes características: eficácia prolongada contra várias espécies, não ser irritante à pele, não apresentar um odor desagradável, não deixar resíduo oleoso na pele, ser resistente à água ou ao

suor, ser inerte e estável quimicamente, ser viável economicamente, ser atóxico e apresentar um efeito com tempo de duração suficiente (KATZ; MILLER; HEBERT, 2008).

1.4.1 Repelentes sintéticos

Quase a totalidade dos repelentes sintéticos no mercado possui DEET (N, N-dietil-3-metilbenzamida) como ativo. Contudo, esse composto possui restrições de uso (MORAES, 2015). Apesar de sua segurança ser comprovada, apresenta efeitos adversos, como urticária e dermatite. Além disso, existem relatos de encefalopatia associados ao seu uso (RIBAS; CARREÑO, 2010; PAUMGARTTEN; DELGADO, 2016). É geralmente utilizado em concentrações entre 5 a 40% e quanto maior a sua concentração, maior é a duração da repelência (MORAES, 2015).

A ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) não permite o uso de repelentes para insetos contendo DEET em crianças menores de 2 anos. Crianças entre 2 a 12 anos só podem utilizar repelentes para insetos contendo DEET se a sua concentração não for superior a 10%, e, só podem ser feitas 3 (três) aplicações diárias, evitando o uso prolongado (CATEC, 2006).

Outro composto repelente sintético, aplicado na pele e em roupas, é o IR3535 (Etilbutilacetilaminopropionato). Esse é um ativo contra os mosquitos *Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus* e contra espécies do gênero *Anopheles*, sendo algumas formulações deste repelente eficazes por pelo menos 8 horas. É, geralmente, utilizado em concentrações de 10 a 30% e não pode ser aplicado em crianças abaixo dos 6 meses de vida (CARVALHO *et al.*, 2016; PAUMGARTTEN; DELGADO, 2016).

A picaridina (1-piperidinacarboxilato 2-(2-hidroxietil)-1-metilpropilester), é outro ativo eficaz presente em repelentes. É um líquido inodoro, incolor e não gorduroso que deixa um pequeno vestígio na pele e repele os mosquitos (SC JOHNSON, 2017). Não pode ser utilizado em crianças abaixo de 6 meses de vida. A eficácia é mais longa (até 10 horas) e permite aplicações mais espaçadas que o DEET, com eficácia comparável (CARVALHO *et al.*, 2016).

1.4.2 Repelentes Orgânicos

As plantas, as quais possuem substâncias cujas moléculas possuem ação fagoinibidora, repelente e inseticida, têm sido utilizadas como alternativa ao uso de repelentes sintéticos. Os óleos essenciais, produzidos no metabolismo secundário das plantas, também têm se apresentado como fontes de materiais com atividade inseticida, larvicida e repelente (GOMES *et al.*, 2016).

Os óleos essenciais são misturas químicas complexas formadas, às vezes, por mais de cem componentes responsáveis, entre outras coisas, pelo seu aroma. Diferentes partes das plantas têm sido usadas para obtenção do óleo essencial: flores, folhas, sementes, raízes, frutos, cascas, rizomas e tubérculos (ARIDOGAN *et al.*, 2002). Esses compostos voláteis afastam e impedem a alimentação de insetos fitófagos, mas alguns deles repelem também os hematófagos. Não surpreende, portanto, que plantas e seus óleos essenciais sejam tradicionalmente usados por diferentes populações como repelentes de mosquitos e outros artrópodes hematófagos (PAUMGARTTEN; DELGADO, 2016).

1.4.2.1 *Cymbopogon nardus*

O capim Citronela (*Cymbopogon nardus*) é uma planta do sudeste asiático, porém mostrou-se bastante adaptada ao clima tropical do Brasil. Possui folhas de margens ásperas, ápice agudo, e uma altura que pode ultrapassar 1,20 metros. É utilizada na Indonésia como chá calmante e digestivo e pode ser utilizada nos mais diversos produtos. Entretanto, o seu uso mais conhecido é como repelente. O óleo essencial extraído de *C. nardus* possui alto teor de geraniol e citronelal. O citronelal é utilizado como material básico para a síntese de importantes compostos químicos denominados iononas e para a síntese de vitamina A. Também possui atividade repelente de insetos, justificando seu uso como repelente natural (CASTRO *et al.*, 2010; UCKER, 2013).

1.4.2.2 *Lippia sidoides*

O Alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*) é frequente na América do Sul. No Brasil, encontra-se nas regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste. É uma planta arbustiva, caducifólia, aromática, própria da vegetação nordestina. Tem caule grosso ereto muito ramificado e quebradiço, medindo aproximadamente de 2 a 3 metros de altura. Possui folhas longas e finamente crenadas com até 3cm por 1,5cm de largura, flores muito pequenas, esbranquiçadas reunidas em pequenas espigas de eixo curto nas axilas das folhas (RAMOS, 2017). Suas folhas são fortemente aromáticas. É empregada na medicina popular e na culinária, sendo comercializada em mercados. Por ser largamente utilizada na fitoterapia em nosso país, pertence a relação de plantas medicinais do Programa Farmácias Vivas, bem como compõe a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse do SUS (RENISUS) e é recomendada pela farmacopeia brasileira (BRASIL, 2016) (MORAES, 2015).

Tem forte ação antimicrobiana contra fungos, bactérias e larvas de mosquito da dengue. Suas preparações são muito eficientes no tratamento da acne, sarna infectada, panos brancos, impigens, caspas e do mau-cheiro nos pés, axilas e virilhas. Pode ser utilizado como

tintura ou como sabonete líquido (RAMOS, 2017). Também é indicado como antisséptico. Possui em sua composição óleos essenciais, como o timol, que apresenta atividade repelente. O timol também é responsável por suas outras propriedades farmacológicas já mencionadas. Sendo este o composto majoritário encontrado em *L. sidoides*, seu teor varia entre 34,5 a 95,1% (MORAES, 2015).

1.4.2.3 *Eucalyptus globulus*

A *Eucalyptus Globulus* pertence à família Myrtaceae. É uma espécie nativa da Austrália e Tasmânia, introduzida na China nos anos de 1890 e de fácil adaptação em regiões tropicais e subtropicais. Trata-se de uma árvore de grande porte, podendo atingir até 90 metros de altura, de tronco liso, folhas perenes, lanceoladas e opostas. A espécie possui flores de até 4 cm de diâmetro, solitárias ou em pequenos grupos (BRASILIA, 2015). As folhas de várias espécies de eucalipto são uma rica fonte de óleos essenciais que possuem uma gama de propriedades biológicas, incluindo fungicida, repelente de insetos e herbicidas (BATISH *et al.*, 2008). No Brasil, as principais espécies de *Eucalyptus* utilizadas para produção comercial de óleos essenciais são *E. straigeriana*, *C. citriodora* e *E. globulus*. A mais utilizada, *Eucalyptus globulus*, tem como componente principal o 1,8 cineol, que possui forte atividade repelente (VITTI; BRITO, 2003).

Entretanto, a utilidade da maioria destas substâncias derivadas de plantas como repelente de uso tópico é em grande parte limitada pela curta duração do efeito, após aplicação na pele ou nas roupas, em decorrência da alta volatilidade (PAUMGARTTEN; DELGADO, 2016). Portanto, é necessário a elaboração de uma formulação eficiente, que promova o aumento da duração da repelência. Com o intuito de evitar a evaporação rápida dos óleos essenciais, optou-se por utilizar o polivinil pirrolidona K 90.

1.5 Polivinil pirrolidona k 90 (PVP K90)

O polivinil pirrolidona atua como agente formador de filme, lubrificante e adesivo. É um componente essencial de sprays, mousse de cabelo, géis, loções e soluções. Também auxilia nas propriedades de outros produtos, como maquiagem dos olhos, desodorante, batons, xampus e outros (GARDEN QUÍMICA, 2017). É um composto livre de toxicidade e que quanto maior a numeração, maior é o número de monômeros presentes na estrutura e consequentemente maior é o poder de fixação. Há no mercado os seguintes tipos de PVP: PVP K15, PVP K30, PVP K60 e PVP K 90. Dessa forma, o PVP K15 é o mais solúvel em água e confere maior transparência ao gel, porém não confere retenção desejada, já o PVP K 90 é o que apresenta maior fixação (SEMMLER, 2011).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver e avaliar a estabilidade preliminar de formulações repelentes de efeito prolongado com ativos de origem natural.

2.2 Objetivos específicos

- Desenvolver formulações de repelentes de efeito prolongado contendo óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Eucalyptus globulus* e *Lippia sidoides*;
- Realizar a caracterização físico-química das formulações;
- Avaliar a estabilidade preliminar das formulações;
- Avaliar a estabilidade microbiológica das formulações.

3. MATERIAL & MÉTODO

3.1 Materiais e Excipientes

- ButilHidroxiTolueno - INCI: BHT;
- EDTA Dissódico - INCI: Disodium EDTA;
- Álcool cetoestearílico - INCI: Cetearyl Alcohol;
- Álcool Cetílico - INCI: Cetyl Alcohol;
- Polivinil pirrolidona K 90 - INCI: PVPK 90;
- Carbômero 940 - INCI: Carbomer;
- Cera Lanette N - INCI: Cetearyl alcohol, sodium cetearyl sulfate;
- Polisorbato 20 - INCI: Polysorbate - 20;
- Óleo essencial de citronela - INCI: *Cymbopogon Nardus* (Citronella) Oil;
- Óleo esencial de eucalipto - INCI: *Eucalyptus globulus* (Eucalyptus) Oil;
- Óleo essencial de alecrim - pimenta - INCI: *Lippia sidoides* Oil;
- Óleo de milho - INCI: *Zea mays* (Corn) oil;
- Silicone DC 245 - INCI: Cyclopentasiloxane;
- Glicerina - INCI: Glycerin;
- Extrato glicólico de Aloe Vera - INCI: Aloe (*Aloe Vera*) Leaf Extract;
- Phenova - INCI: Phenoxyethanol, Methylparaben, Ethylparaben, Propylparaben, Butylparaben, Isobutylparaben;
- AMP 95 - INCI: Aminomethyl Propanol;
- Água destilada;
- Béquer;
- Espátulas;
- Bastão de vidro;
- Tubos de ensaio;
- Placas de Petri.

3.2 Equipamentos

- Balança analítica (GEHAKA, modelo: BK5002);
- Chapa Aquecedora (QUIMIS, modelo: Q3132122);
- Agitador mecânico eletrônico (QUIMIS, modelo Q250-2);
- Phmetro (Digimed, modelo DM 22);
- Centrífuga microprocessada (QUIMIS, modelo: Q222TM);
- Viscosímetro (Brookfield, modelo DV-II);

- Estufa (QUIMIS, modelo: Q317M, temperatura 37 °C)
- Estufa (QUIMIS, modelo: Q316M, temperatura 22,5 °C)
- Estufa (QUIMIS, modelo: Q316M, temperatura 32,5 °C)
- Câmara Climática (QUIMIS, modelo Q315C22);
- Geladeira Consul Facilite;
- Câmara de Fluxo Laminar Vertical (Pachane, modelo PA-115);

3.3 Métodos

3.3.1 Preparo das formulações

As formulações de gel-creme foram preparadas por emulsificação, onde a fase hidrofílica foi adicionada na fase lipofílica. As duas fases foram preparadas e aquecidas separadamente.

Foram pesquisadas e desenvolvidas oito bases para a formulação, porém somente uma foi escolhida para adição do óleo repelente.

Produziu-se uma batelada de cada formulação em quantidade necessária para o estudo. Iniciou-se o preparo da fase aquosa com o aquecimento de parte da água destilada a 80 °C para hidratação do carbômero 940 e adição do EDTA. Posteriormente, adicionou-se polisorbato 20 nesta fase. A outra parte da água foi utilizada para dissolução do polivinilpirrolidona K 90. Já a fase oleosa constituiu-se de ButilHidroxiTolueno, álcool cetoestearílico, álcool cetílico, cera lanette N e óleo de milho, fundidos em chapa quente. Em temperatura adequada, a fase aquosa (90°C) foi adicionada na fase oleosa (75°C) sob agitação constante, utilizando o agitador mecânico.

Depois da formação da emulsão, foi adicionado o PVP K90 na formulação. Após resfriamento até 45 °C da emulsão, adicionou-se os demais excipientes: silicone DC 245, glicerina, extrato glicólico de aloe vera, phenova e óleo repelente. Na primeira formulação incorporou-se o óleo essencial de citronela (*Cymbopogon nardus*), na segunda formulação o óleo essencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus*) e na terceira formulação o óleo essencial de alecrim pimenta (*Lippia sidoides*). Os óleos repelentes foram adicionados ao final da formulação para evitar a sua evaporação no processo de agitação. O pH foi ajustado na faixa de 6,0 - 6,5 com AMP 95.

Também foi elaborado uma formulação controle a ser utilizada futuramente para fins comparativos nos testes de eficácia. A formulação em branco constituiu-se de fase aquosa, fase oleosa e demais componentes, com exceção dos óleos repelentes.

3.3.2 Ensaios de estabilidade preliminar

Este teste também é conhecido como Teste de Triagem, Estabilidade Acelerada ou de Curto Prazo, tem como objetivo auxiliar e orientar a escolha das formulações. Os testes foram realizados com base no Guia de Controle de Qualidade de Cosméticos da ANVISA (BRASIL, 2007) e no Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos da ANVISA (ANVISA, 2004).

Amostras das formulações foram submetidas a condições extremas de temperatura com o intuito de acelerar possíveis sinais de instabilidade e reações entre seus componentes. Devido às condições em que é conduzido, este estudo não teve a finalidade de estimar a vida útil do produto.

A duração do estudo foi de quinze dias e auxiliou na triagem das formulações. Neste estudo, as amostras foram armazenadas em condições distintas de temperatura, alternadas em intervalos regulares de tempo. Para tal procedimento, utilizou-se uma estufa (QUIMIS, modelo: Q317M) a 37 °C, um refrigerador (5 °C) e uma câmara climática a 47°C e 70% de umidade.

3.3.2.1 Ensaios organolépticos

Observou-se visualmente as características das amostras, verificando se ocorreram modificações macroscópicas, tais como: aspecto, cor e odor em relação a amostra no tempo zero (T0).

3.3.2.1.1 Aspecto

Observaram-se as características da amostra, verificando se ocorreram modificações macroscópicas. As amostras foram classificadas segundo os seguintes critérios: sem modificações; levemente modificado (somente para o analista); levemente modificado (claramente visível); modificado; irreconhecível.

3.3.2.1.2 Cor

Comparou-se a cor da amostra a ser analisada com as amostras analisadas em tempo zero (T0), em um frasco de mesma especificação. As fontes de luz empregadas foram luz branca e natural. As amostras foram catalogadas segundo os seguintes critérios: sem modificações; levemente modificado (somente para o analista); levemente modificado (claramente visível); modificado; irreconhecível.

3.3.2.1.3 Odor

Comparou-se o odor da amostra ao longo de 15 dias com a amostra de tempo zero. As amostras foram classificadas de acordo com as características da essência e da intensidade da essência, descritas na Tabela 01.

3.3.2.2 Centrifugação

O teste de centrifugação produziu estresse na amostra simulando um aumento na força de gravidade, aumentando a mobilidade das partículas e antecipando possíveis instabilidades. A amostra foi centrifugada em temperatura, tempo e velocidade padronizados. Em seguida, avaliou-se a amostra. Centrifugou-se o produto a 3.000 rpm durante 30 minutos.

3.3.2.3 Determinação do pH

Utilizou-se o pHmetro (potenciômetro) e a determinação do pH foi medida pela diferença de potencial entre dois eletrodos imersos na amostra em estudo. A faixa de aceitação estabelecida para este teste foi de 6,0 a 6,5, por ser a faixa em que o carbômetro 940 forma gel.

3.3.2.4 Determinação da viscosidade

A avaliação desse parâmetro ajudou a determinar se o produto apresentava a consistência ou fluidez apropriada. Utilizou-se o viscosímetro Brookfield, série DV-II. O “spindle” empregado foi o de nº4. Para a realização da leitura, as amostras foram acondicionadas em um recipiente adequado ao aparelho, tomando-se o cuidado necessário para que não houvesse interferência de ruídos e impactos sobre a superfície. As leituras foram realizadas na velocidade de rotações de 0,6 RPM. Para cada amostra de cada repelente foram realizadas 3 leituras, posteriormente, foi feita uma média aritmética das leituras de cada amostra.

3.3.3 Avaliação microbiológica

Os parâmetros estabelecidos para o controle microbiológico das amostras foram baseados na RDC 481/99 da ANVISA (ANVISA, 1999) e na 5^a edição da Farmacopeia Brasileira (ANVISA, 2010).

3.3.3.1 Método de Contagem em placas

Retirou-se 10 g da amostra e adicionou-se ao erlenmeyer com 90 mL de água peptonada, preparando uma diluição 1:10. Adicionou-se 1 mL da diluição preparada em placa de Petri e verteu-se, separadamente, 15 mL de ágar caseína-soja e ágar Sabouraud-dextrose

mantidos a 45 - 50 °C. Foram utilizadas duas placas para cada meio e diluição. Incubou-se as placas contendo ágar caseína-soja a 32,5 °C ± 2,5 °C durante 3 - 5 dias e as placas contendo ágar Sabouraud-dextrose a 22,5 °C ± 2,5 °C durante 5-7 dias para determinação do número de micro-organismos aeróbicos totais, bolores e leveduras, respectivamente.

3.3.3.2 Pesquisa de micro-organismos patogênicos

3.3.3.2.1 *Staphylococcus aureus*

Uma amostra usando a diluição 1:10 de não menos que 1 g do produto examinado foi preparada. Utilizou-se 10 mL da diluição para 90 mL de Caldo de Enriquecimento (Caldo Caseína-soja) ou uma quantidade correspondente a 1 g ou 1 mL. Foi feita a homogeneização e a amostra foi incubada a 32,5 °C ± 2,5 °C durante 18 a 24 horas.

Foi realizada uma agitação e transferência de uma alça para placa contendo Ágar Sal Manitol. A placa foi incubada a 32,5 °C ± 2,5 °C durante 18 – 72 horas.

O crescimento de colônias amarelas ou brancas rodeadas por uma zona amarela indica presença provável de *S. aureus* que deve ser confirmada por testes de identificação microbiana. O produto cumpre o teste se não for observado crescimento de tais colônias ou se as provas de identificação forem negativas.

3.3.3.2.2 *Pseudomonas aeruginosa*

Preparou-se a amostra usando a diluição 1:10 de não menos que 1 g do produto examinado. Utilizou-se 10 mL da diluição para 90 mL de Caldo de Caseína-soja ou quantidade correspondente a 1 g ou 1 mL. Foi feita a homogeneização e a amostra foi incubada a 32,5 °C ± 2,5 °C durante 18 a 24 horas.

Foi realizada uma agitação e transferência de uma alça para placa contendo Ágar Cetrimida. A placa foi incubada a 32,5 °C ± 2,5 °C durante 18 – 72 horas.

O crescimento de colônias indica presença provável de *Pseudomonas aeruginosa* que deve ser confirmada por testes de identificação microbiana. O produto cumpre o teste se não for observado crescimento de tais colônias ou se as provas de identificação forem negativas.

3.3.3.2.3 Pesquisa de Micro-organismos mesófilos aeróbios

No método de semeadura em profundidade (pour plate) foi adicionado 1 mL da amostra preparada em duas placas de Petri. Verteu-se nas placas inoculadas 15mL de Ágar Caseína-soja, fundido e resfriado a 45°C. As placas foram homogeneizadas, fazendo

movimentos em forma de oito. Após a solidificação do meio em uma superfície plana, as placas foram incubadas invertidas, a $32,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 3-5 dias.

Somente as placas que apresentarem número de colônias inferior a 250 (bactérias) por placa deverão ser consideradas para o registro dos resultados.

3.3.3.2.4 Bolores e Leveduras

No método de semeadura em superfície foi adicionado 20mL de Ágar Sabouraud-dextrose em placas de Petri. Após solidificação, foi adicionado à superfície de cada meio de cultura, 0,1 mL da amostra preparada. As placas contendo ágar Sabouraud-dextrose foram incubadas a $22,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 5 – 7 dias para determinação do número de bolores e leveduras.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Preparo das formulações

Das oito bases desenvolvidas na pesquisa do repelente, somente uma foi escolhida. Para critério de escolha foram observadas as características organolépticas, as análises físico-químicas e a estabilidade por centrifugação.

As fórmulas 1 a 5 não apresentaram viscosidade adequada, portanto, foi adicionado carbômero 940 e realizado um ajuste de excipientes da fase oleosa. Nas três últimas formulações foram adicionados emolientes. Após os ajustes mencionados, foi verificado que o conservante escolhido estava interagindo na formulação, afetando a estabilidade do produto. Desta maneira, optou-se por modificar o conservante utilizado. Por fim, a última formulação, apresentou resultados satisfatórios e permaneceu estável após centrifugação e adição dos óleos repelentes.

A partir disso, foram elaboradas três formulações. A primeira, contendo óleo de citronela. A segunda, contendo óleo de eucalipto. A última, contendo óleo de alecrim pimenta.

4.2 Ensaio de Estabilidade Preliminar

4.2.1 Ensaio Organoléptico

Amostras das três formulações foram submetidas ao ensaio de estabilidade preliminar durante 15 dias. Suas características organolépticas e físico-químicas foram analisadas uma vez por semana e submetidas a três condições de armazenamento: refrigeração (5°C), estufa (37°C) e câmara climática (47°C e 70% de umidade). Todas as amostras foram comparadas com a análise em tempo zero, em ambiente controle.

4.2.1.1 Aspecto

As amostras de cada formulação foram analisadas no intervalo de uma semana durante 15 dias. Verificou-se que nenhuma das amostras apresentou modificações macroscópicas quanto a sua aparência em relação ao tempo zero (Tabela 01).

4.2.1.2 Cor

Cada amostra de cada formulação foi analisada visualmente, utilizando luz branca e natural. Todas as amostras apresentaram cor adequada, ou seja, não sofreram alterações mesmo sendo submetidas a condições extremas de temperatura (Tabela 02).

Tabela 01: Avaliação de Aspecto do Produto

Condições do Estudo							
Amostra	Data	Tempo	5°C	Ambiente Controle	37°C	47°C	
Citronela			-	1	-	-	
Eucalipto	06/10/2017	T0	-	1	-	-	
Alecrim Pimenta			-	1	-	-	
Citronela			1	-	1	1	
Eucalipto	13/10/2017	T1	1	-	1	1	
Alecrim Pimenta			1	-	1	1	
Citronela			1	-	1	1	
Eucalipto	20/10/2017	T2	1	-	1	1	
Alecrim Pimenta			1	-	1	1	

Legenda: 1- Sem modificações; 2- Levemente modificado (somente para o analista); 3- Levemente modificado (Claramente visível); 4- Modificado; 5- Irreconhecível.

Tabela 02: Avaliação de Cor do Produto

Condições do Estudo							
Amostra	Data	Tempo	5°C	Ambiente Controle	37°C	47°C	
Citronela			-	1	-	-	
Eucalipto	06/10/2017	T0	-	1	-	-	
Alecrim Pimenta			-	1	-	-	
Citronela			1	-	1	1	
Eucalipto	13/10/2017	T1	1	-	1	1	
Alecrim Pimenta			1	-	1	1	
Citronela			1	-	1	1	
Eucalipto	20/10/2017	T2	1	-	1	1	
Alecrim Pimenta			1	-	1	1	

Legenda: 1- Sem modificações; 2- Levemente modificado (somente para o analista); 3- Levemente modificado (Claramente visível); 4- Modificado; 5- Irreconhecível.

4.2.1.3 Odor

Através do olfato as amostras de cada formulação foram analisadas no intervalo de uma semana durante 15 dias. Comparou-se a característica da essência e a sua intensidade com relação a amostra em tempo zero. Nenhuma das amostras apresentou alteração com relação aos dois critérios.

Pode-se entender que a presença do odor forte está relacionada com a presença do óleo repelente na formulação. Ou seja, como não houve alteração do odor (Tabela 03), podemos cogitar que houve uma boa incorporação do ativo repelente, evitando a sua rápida evaporação.

Tabela 03: Avaliação de Odor do Produto

Condições do Estudo

Amostra	Data	Tempo Refrigeração	Ambiente Escuro	37°C	47°C
Citronela		-	1A	-	-
Eucalipto	06/10/2017 T0	-	1A	-	-
Alecrim Pimenta		-	1A	-	-
Citronela		1A	-	1A	1A
Eucalipto	13/10/2017 T1	1A	-	1A	1A
Alecrim Pimenta		1A	-	1A	1A
Citronela		1A	-	1A	1A
Eucalipto	20/10/2017 T2	1A	-	1A	1A
Alecrim Pimenta		1A	-	1A	1A

Legenda: Características de essência: 1- Sem modificações; 2- Modificações muito ligeiras; 3- Modificações ligeiras; 4- Modificado; 5- Definitivamente modificado. Intensidade da essência: A- Sem alterações; B- Perda de intensidade muito pequena; C - Perda de intensidade pequena; D Perda de intensidade moderada; E - Perda de intensidade notável.

4.2.1.4 Centrifugação

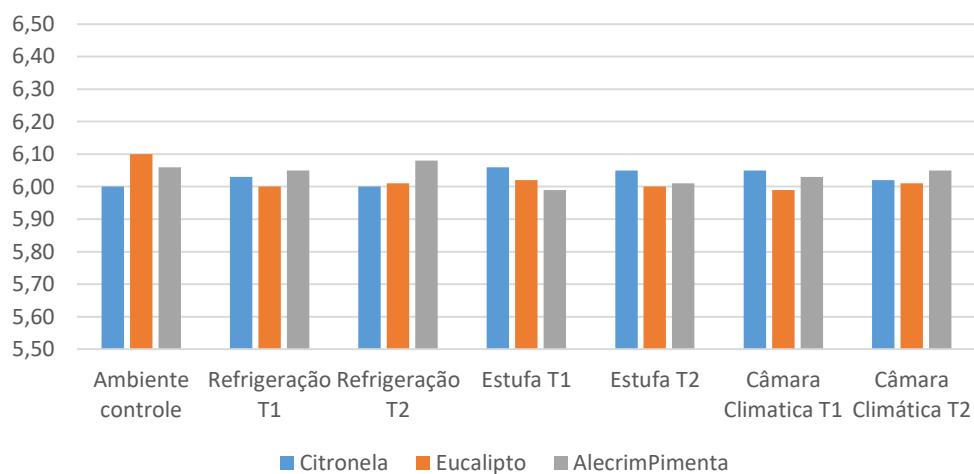
Amostras de cada formulação foram centrifugadas durante 30 minutos a 3.000 rpm. Esse método foi utilizado para definir e verificar a estabilidade da base do repelente natural. Nenhuma das amostras submetidas a esse processo apresentou separação de fase oleosa e aquosa, confirmando que as formulações são estáveis.

4.2.1.5 Determinação do pH

O pH foi medido no início do teste (tempo T0). Após 7 dias (T1) foi analisado o pH das amostras em ambiente refrigerado, estufa e em câmara climática. Por fim, no decorrer de mais uma semana (T2), o pH foi avaliado novamente nas mesmas condições da análise anterior.

Desde o início dos testes os valores de pH estavam de acordo com a faixa de aceitação. As variações de pH observadas foram pequenas (Gráfico 01).

Gráfico 01: Avaliação de pH do Produto



Fonte: Dados da Pesquisa

A amostra de eucalipto, em tempo zero, apresentou o valor mais alto de todas as suas análises, apesar desse valor ter sido alto em relação as outras análises, permaneceu dentro do limite aceitável.

A avaliação do pH da amostra de alecrim pimenta após uma semana em estufa apresentou valor de 5,99. O mesmo valor foi encontrado para a amostra eucalipto em câmara climática no tempo T1. Essas variações foram mínimas quando comparadas ao tempo zero (6,06 e 6,1, respectivamente), estando as amostras dentro dos padrões aceitáveis.

4.2.1.6 Determinação da viscosidade

A viscosidade é a medida da resistência que o material apresenta para fluir, sendo assim, quanto maior a viscosidade, maior é a resistência para fluir. A faixa padronizada para o produto foi obtida a partir da análise de produtos repelentes semelhantes, sendo esta de 28899 cP a 88500 cP. Os resultados obtidos na avaliação da viscosidade de cada amostra para as condições extremas do estudo sugeriram que os produtos apresentaram viscosidade adequada (Tabela 04).

Tabela 04: Avaliação da Viscosidade do Produto

Amostra	Data	Tempo	Condições do Estudo		
			5°C	Ambiente Escuro	37°C
Citronela			-	338000 cP	-
Eucalipto	10/6/2017	T0	-	418333 cP	-
Alecrim Pimenta			-	567330 cP	-
Citronela			676666 cP	-	436666 cP 402000 cP
Eucalipto	10/13/2017	T1	517666 cP	-	488666 cP 363333 cP
Alecrim Pimenta			708333 cP	-	441000 cP 412000 cP
Citronela			492333 cP	-	425333 cP 391666 cP
Eucalipto	10/20/2017	T2	874333 cP	-	338000 cP 298000 cP
Alecrim Pimenta			695967 cP	-	473666 cP 364333 cP

Legenda: Os resultados são baseados na média aritmética de três leituras de cada amostra.

4.2.2 Avaliação microbiológica

As placas contendo ágar caseína-soja, no método de contagem de placas, foram retiradas da estufa depois de cinco dias do início do teste. As placas contendo ágar Sabouraud-dextrose foram retiradas 7 dias após o início do teste. Não foi encontrado nenhuma formação de colônia. Sugerindo que as amostras estavam livres de contaminação microbiológica.

As placas de petri para a pesquisa de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*s e de micro-organismos mesófilos foram retiradas da estufa e analisadas após 5 dias. Não foi identificado crescimento de colônia em nenhuma das placas, ou seja, o produto cumpriu o teste nesse quesito. Por fim, as placas de petri para a pesquisa de bolores e leveduras foram retiradas da estufa após 7 dias, durante a análise não foi identificado nenhuma modificação na placa, estando o produto dentro dos padrões aceitáveis (Tabela 05).

Tabela 05: Avaliação Microbiológica do Produto

Amostra	Micro-organismos:	Limite	Resultado
Citronela	Mesófilo aeróbios	10^3 - 5×10^3 UFC/g ou mL	0×10^3 UFC/g
Eucalipto			0×10^3 UFC/g
Alecrim Pimenta			0×10^3 UFC/g
Citronela	Bolores e leveduras	< 100 UFC/g ou mL	0 UFC/g
Eucalipto			0 UFC/g
Alecrim Pimenta			0 UFC/g
Citronela	Staphylococcus aureus	Ausente em 1g ou 1 mL	Ausente
Eucalipto			Ausente
Alecrim Pimenta			Ausente
Citronela	Pseudomonas aeruginosa	Ausente em 1g ou 1 mL	Ausente
Eucalipto			Ausente
Alecrim Pimenta			Ausente

5. CONCLUSÃO

O desenvolvimento e avaliação de estabilidade de emulsões repelentes de efeito prolongado com óleos de citronela, eucalipto e alecrim-pimenta foi o objetivo deste estudo.

Foram desenvolvidas as três formulações com seus respectivos óleos essências. Foi realizado a caracterização físico-química das amostras e foram submetidas a testes de estabilidade preliminar, físico-químicos e microbiológicos. Ao avaliar os resultados dos testes, percebeu-se que os resultados dos parâmetros estavam de acordo com o desejável, ou seja, as formulações apresentaram estabilidade preliminar adequada e resultados físico-químicos e microbiológicos satisfatórios. Através dos testes realizados, concluiu-se que é possível a adição destes óleos repelentes em emulsões contendo PVP k 90 e carbômero 940, formando um gel-creme que evita a rápida perda do ativo.

Os óleos foram escolhidos com base em estudos comprovando a sua eficácia repelente. Contudo é necessário a continuação dos estudos relacionados à eficácia repelente destas formulações.

REFERÊNCIAS

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopeia Brasileira. 5^a ed. Brasília; 2010. v. 1.

ANVISA. **Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos / Agência Nacional de Vigilância Sanitária.** -- 1. ed. -- Brasília: ANVISA, 2004.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº481, de 23 de setembro de 1999. **Estabelece os parâmetros de controle microbiológico para os produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes.** Diário Oficial da União, 27 de setembro de 1999.

ARIDOGAN, B.C; BAYDAR, H.; KAYA, S.; DEMIRCI, M. Özbaşar D.; Mumcu E. **Antimicrobial activity and chemical composition of some essential oils.** Archives of Pharmacal Research, v. 25, n. 6, p. 860-864, 2002.

BATISH, D. R.; PAL SINGH, H.; KOHLI, R.K.; KAUR, S. et al. Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. **Forest Ecology And Management**, [s.l.], v. 256, n. 12, p.2166-2174, dez. 2008. Elsevier BV.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Protocolo de vigilância e resposta à ocorrência de microcefalia relacionada à infecção pelo vírus zika.** 2015. Disponível em: <<http://portalsauda.saude.gov.br/images/pdf/2015/dezembro/09/Microcefalia--Protocolo-de-vigil--ncia-e-resposta---vers--o-1----09dez2015-8h.pdf>>. Acesso em: 10 ago. 2017.

BRASIL. PORTAL DA SAÚDE. **Orientação e Prevenção Aedes aegypti.** Disponível em: <<http://portalsauda.saude.gov.br/index.php/links-de-interesse/301-dengue/14610-curiosidades-sobre-o-aedes-aegypt>>. Acesso em: 23 ago. 2017.

BRASIL. Roberto Fontes Vieira. Ministério do Meio Ambiente. **Espécies Nativas da Flora Brasileira de Valor Econômico Atual ou Potencial: Plantas para o Futuro - Região Centro-Oeste.** 2016. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1073456/1/EspeciesNativasdaFloraBrasil/eiradeValorEconomicoAtualouPontencialPlantasparaofuturoRegiaoCentroOestepg399.pdf>>. Acesso em: 13 out. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das **Doenças Transmissíveis. Dengue: diagnóstico e manejo clínico: adulto e criança** [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – 5. ed. – Brasília. Ministério da Saúde, 2016.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos/ Agência Nacional de Vigilância Sanitária.** – Brasília : Anvisa, 2007.

BRASILIA. MINISTÉRIO DA SAÚDE E ANVISA. **Monografia da Espécie Eucalyptus globulus Labill (EUCALIPTO).** 2015. Disponível em:

<<http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2016/fevereiro/05/Monografia-Eucalyptus.pdf>>. Acesso em: 13 out. 2017.

BRITO, Carlos. Zika Virus: **A New Chapter in the History of Medicine**. Revista Científica da Ordem dos Médicos, [s.i], v. 28, n. 6, p.679-680, nov. 2015.

CARVALHO, Vânia Oliveira. **Picadas de Inseto Prurido Estrófculo ou Urticária Papular**. 2016. Disponível em: <http://www.sbp.com.br/fileadmin/user_upload/2016/12/Dermatologia-Picadas-de-Inseto-Prurigo.pdf>. Acesso em: 23 ago. 2017.

CASTRO, H.G; PERINI, V.B.; SANTOS, G.R.; LEAL, T.C.A.B.; **Avaliação do teor e composição do óleo essencial de Cymbopogon nardus (L.) em diferentes épocas de colheita**. Revista Ciência Agronômica, Fortaleza, v. 41, n. 2, p.308-314, abr. 2010.

CEARÁ. GOVERNO DO ESTADO DO CEARÁ. **Boletim epidemiológico Dengue, Zika e Chikungunya**. 2017. Disponível em:

<<http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:AZ1FKW4YJAwJ:www.saude.ce.gov.br/index.php/boletins?download=2984%3Aboletim-epidemiologico-arboviroses-2-de-junho-de-2017+&cd=2&hl=pt-BR&ct=clnk&gl=br&client=firefox-b-ab>>. Acesso em: 16 ago. 2017.

COELHO, Luisa G. **Desenvolvimento e estudo da estabilidade de emulsões com propriedades repelentes naturais**. 2014. 48 f. Trabalho de Conclusão de Curso, curso superior de Tecnologia em Processos Químicos – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Toledo, 2014.

CONSOLI, R.A.G.B.; OLIVEIRA, R.L. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil [online]**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 1994. 22 8 p. ISBN 85-85676-03-5. Available from SciELO Books <<http://books.scielo.org>>.

CATEC DE COSMÉTICOS, Câmara Técnica. **Parecer Técnico Nº 2**, de 11 de dezembro de 2006.

GARDEN QUÍMICA. **Boletim Técnico Polivinil pirrolidona k 90**. Disponível em: <<http://gardenquimica.com.br/boletim/POLIVINIL-PIRROLIDONA-90.pdf>>. Acesso em: 15 out. 2017.

GOMES, P.R.B.; SILVA, A.L.S.; PINHEIRO, H.A.; CARVALHO, L.L.; LIMA, H.S.; SILVA, E.F.; SILVA, R.P.; LOUZEIRO, C.H.; OLIVEIRA, M.B.; FILHO, V.E.M. **Avaliação da atividade larvicida do óleo essencial do Zingiber officinale Roscoe (gengibre) frente ao mosquito Aedes aegypti**. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, [s.l.], v. 18, n. 21, p.597-604, 2016. FapUNIFESP (SciELO). http://dx.doi.org/10.1590/1983-084x/15_214. Acesso em: 16 set. 2017.

INSTITUTO OSVALDO CRUZ. **Dengue vírus e vetor**. Disponível em: <<http://www.ioc.fiocruz.br/dengue/textos/sobreovirus.html>>. Acesso em: 25 set. 2017.

KATZ, Tracy M.; MILLER Jason H., HEBERT Adelaide. A. Insect repellents: Historical perspectives and new developments. J am acad dermatol.v. 58 p. 865 - 871. 2008

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

MORAES, Anderson de Souza. **Caracterização Farmacêutica de Nanocápsulas de Timol e Avaliação da Permeação Cutânea e da Atividade Repelente Contra Aedes Aegypti.** 2015. 93 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Farmácia, Farmácia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2015.

PACHECO, Camila del Nero. **Desenvolvimento e caracterização de sistemas nanoestruturados bioadesivos com óleo de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) e estudo da ação repelente frente a *Aedes aegypti*.** 2013. 42 f. TCC (Graduação) - Curso de Farmácia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Araraquara, 2013.

PAUMGARTTEN, Francisco José Roma; DELGADO, Isabella Fernandes. **Repelentes de mosquitos, eficácia para prevenção de doenças e segurança do uso na gravidez.** Vigilância Sanitária em Debate, [s.l.], v. 4, n. 2, p.97-104, 31 maio 2016. Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciencia y Tecnologia. <http://dx.doi.org/10.3395/2317-269x.00736>.

Powers A.M; Logue C.H. **Changing patterns of chikungunya virus: re-emergence of a zoonotic arbovirus.** Journal of General Virology,2007; 88(9), 2363-2377.

PUERTO RICO. National Center for Emergent and Zoonotic Infectious Diseases. **Dengue and the Aedes albopictus mosquito.** 2012. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/dengue/resources/30jan2012/albopictusfactsheet.pdf>>. Acesso em: 25 set. 2017.

RAMOS, Amelia. **Alecrim Pimenta.** Disponível em: <<http://farmaciaviva-ufc.blogspot.com.br/2012/02/alecrim-pimenta.html>>. Acesso em: 13 out. 2017.

RIBAS, Jonas; CARREÑO, Ana Maria. **Avaliação do uso de repelentes contra picada de mosquitos em militares na Bacia Amazônica.** Anais Brasileiros de Dermatologia, [s.l.], v. 85, n. 1, p.33-38, fev. 2010. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0365-05962010000100004>.

SC JOHNSON. **Ficha Técnica Picaridina.** Disponível em: <<http://www.scjohnson.com/en/mosquitoes/pt/tips/picaridin-fact-sheet.aspx>>. Acesso em: 19 set. 2017.

SEMMLER, Talita Carla. **Estudos de Pré-formulação e Desenvolvimento de Preparações Cosméticas.** 2011. 150 f. TCC (Graduação) - Curso de Farmacia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2011. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/121120/semmler_tc_tcc_arafcf.pdf?sequence=1>. Acesso em: 13 out. 2017.

SIMMONS, C.P.; FARRAR, J.J; NGUYEN, V.V.; WILLS,B. **Dengue.** The New England Journal Of Medicine, Massachusetts, v. 1, n. 366, p.1423-1432, abr. 2012.

SOUZA, Rita de Cassia de; CHIVA, Enrique Querol; LAMBERTI, Marcíria Pintos. **Relação entre as Condições Ambientais e o Número de Focos de Mosquitos Aedes Aegypti e Aedes Albopictus no Município de Uruguaiana, RS.** Biodiversidade Pampeana, Uruguaiana, v. 2, n. 6, p.44-48, dez. 2018. Disponível em: <<http://revistaseletronicas.pucrs.br/ojs/index.php/biodiversidadepampeana>>. Acesso em: 25 set. 2017.

UCKER, Anna Paula Ferreira Batista Goldfeld. **Desenvolvimento de Plantas e Produção de Óleo Essencial de Citronela (cymbopogon w interianus jowitt) Sob Diferentes Adubações.** 2013. 68 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2013.

VALLE, Denise; PIMENTA, Denise Nacif; AGUIAR, Raquel. **Zika, dengue e chikungunya: desafios e questões. Epidemiologia e Serviços de Saúde,** [s.l.], v. 25, n. 2, p.1-2, jun. 2016. Instituto Evandro Chagas. <http://dx.doi.org/10.5123/s1679-49742016000200020>.

VITTI, Andrea Silveira.; BRITO, José Otavio. **Óleo essencial de Eucalipto. IPEF, Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais.** Documentos Florestais, v. 17, p. 2-25, 2003.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global Collaboration For Development Of Pesticides For Public Health (GCDPP). **Repellents and Toxicants for Personal Protection Position Paper By:** Dr. D. R. Barnard. 2000.

ZARA, A.L.S.A.; SANTOS, S.M.S.; OLIVEIRA, E.S.F.; CARVALHO, R.G.; COELHO, G.E. **Estratégias de controle do Aedes aegypti: uma revisão. Epidemiologia e Serviços de Saúde,** [s.l.], v. 25, n. 2, p.1-2, jun. 2016. Instituto Evandro Chagas. <http://dx.doi.org/10.5123/s1679-49742016000200017>.