



REDE NORDESTE DE BIOTECNOLOGIA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

LUCIANA PATRÍCIA LIMA ALVES PEREIRA

**POTENCIAL DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE DA ESQUISTOSSOMOSE:  
estado da arte e avaliação das atividades moluscicida e cercaricida do óleo volátil de  
*Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants (mastruz)**

São Luís-MA  
2021

LUCIANA PATRÍCIA LIMA ALVES PEREIRA

**POTENCIAL DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE DA ESQUISTOSSOMOSE:  
estado da arte e avaliação das atividades moluscicida e cercaricida do óleo volátil de  
*Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants (mastruz)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia, ponto focal Universidade Federal do Maranhão, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Biotecnologia.

Orientadora: Profa. Dra. Denise Fernandes Coutinho.

São Luís-MA  
2021

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).  
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Pereira, Luciana Patricia Lima Alves.

POTENCIAL DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE DA  
ESQUISTOSSOMOSE: estado da arte e avaliação das atividades  
moluscicida e cercaricida do óleo volátil de *Dysphania*  
*ambrosioides* L. Mosyakin & Clemants mastruz / Luciana  
Patricia Lima Alves Pereira. - 2021.

133 f.

Orientador(a): Denise Fernandes Coutinho.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em  
Biotecnologia - Renorbio/ccbs, Universidade Federal do  
Maranhão, São Luís-MA, 2021.

1. Caramujos. 2. Ecotoxicidade. 3. Estudo químico.  
4. Produtos voláteis. 5. *Schistosoma mansoni*. I.  
Coutinho, Denise Fernandes. II. Título.

LUCIANA PATRÍCIA LIMA ALVES PEREIRA

**POTENCIAL DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE DA ESQUISTOSSOMOSE:  
estado da arte e avaliação das atividades moluscicida e cercaricida do óleo volátil de  
*Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants (mastruz)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia, ponto focal Universidade Federal do Maranhão, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Biotecnologia.

Orientadora: Profa. Dra. Denise Fernandes Coutinho.

Aprovada em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/2021.

BANCA EXAMINADORA

---

**Profa. Dra. Denise Fernandes Coutinho**

Universidade Federal do Maranhão (UFMA) - Orientadora

---

**Profa. Dra. Maria do Socorro de Sousa Cartágenes**

Universidade Federal do Maranhão (UFMA) – 1º Examinador

---

**Profa. Dra. Audirene Amorim Santana**

Universidade Federal do Maranhão (UFMA) - 2º Examinador

---

**Prof. Dr. Wellyson da Cunha Araújo Firmo**

Universidade Ceuma (UNICEUMA) - 3º Examinador

---

**Profa. Dra. Mariana Oliveira Arruda**

Faculdade Maurício de Nassau (UNINASSAU) - 4º Examinador

*A Jesus Cristo, o principal responsável pela minha existência e pela perseverança que tive ao longo dessa jornada, e à minha filha, Ana Luísa, por ter dado um novo sentido para minha vida e ter feito eu conhecer o verdadeiro amor. Te amo para sempre minha Aninha!!!!*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo seu grande amor por mim e por sempre me ajudar a vencer os desafios.

À minha mãe, Telma Lucila, e minha irmã, Liziane Nathália, por sempre me incentivar e acreditar no meu potencial.

À minha avó, Francisca Frazão, pelo seu amor, cuidado e pelos seus ensinamentos.

Ao meu esposo, Charles Pereira, cujo amor, carinho, dedicação, compreensão e cooperação foram suficientes para fortalecer nossa união durante esta jornada e para eu não desistir em meio às dificuldades.

À minha orientadora, Denise Fernandes Coutinho, pela oportunidade, credibilidade, compreensão, motivação e ensinamentos, que foram fundamentais para o desenvolvimento desta pesquisa. Obrigada, Profa. Denise, por ser uma pessoa tão generosa e um exemplo de pesquisadora para todos os seus alunos!

Aos meus amigos de turma, em especial à Maria Cristiane, Fernanda Araruna e Felipe Araruna, pelas palavras de encorajamento e pela inesquecível companhia durante a nossa jornada.

Aos alunos do Laboratório de Farmacognosia II, em especial, José Antônio, Daniella Patrícia, Edilene Ribeiro e Joyciane pela amizade, carinho, disponibilidade no decorrer deste trabalho e, principalmente, no auxílio inestimável nas saídas de campo e na manutenção dos moluscos em laboratório.

Aos professores do Doutorado, pelos conhecimentos transmitidos durante as aulas.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo auxílio financeiro.

A todos que direta ou indiretamente colaboraram com esta pesquisa, meus sinceros agradecimentos!

*“Entrega o teu caminho ao Senhor; confia nele,  
e ele tudo fará”.*

*(Salmos 37:5)*

## RESUMO

A esquistossomose mansônica é uma doença parasitária causada pelo helminto *Schistosoma mansoni*, que necessita de caramujos do gênero *Biomphalaria* como hospedeiros intermediários para desenvolver o seu ciclo evolutivo. Um dos meios de se combater a parasitose é o controle de moluscos transmissores através de produtos moluscicidas. *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants, sinônimo e basiônimo *Chenopodium ambrosioides* L., é uma herbácea dotada de aroma forte e popularmente conhecida como mastruz. O seu óleo essencial apresenta potencial biológico e demonstrou efeitos letais sobre caramujos transmissores de *Schistosoma haematobium*. Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo realizar um estudo de revisão sobre a ação moluscicida de óleos essenciais (OE) em caramujos transmissores da esquistossomose, bem como avaliar a composição química, os efeitos moluscicida e cercaricida, e a ecotoxicidade do óleo essencial de partes aéreas de *D. ambrosioides* (DAOE). Esta tese foi dividida em dois capítulos. O capítulo I consiste em um artigo de revisão de estudos científicos acerca do potencial moluscicida de OE, realizados entre 1984 e 2019. Este artigo demonstrou que 50 óleos voláteis de 46 espécies vegetais, distribuídas entre 29 gêneros e 13 famílias, foram avaliados em caramujos transmissores da esquistossomose. Mais de 80% destes OE foram ativos contra caramujos dos gêneros *Bulinus* e *Biomphalaria* ( $CL_{90}$  ou  $CL_{100} \leq 100 \mu\text{g/mL}$  ou  $CL_{50} < 40 \mu\text{g/mL}$ ). Os OE com maior toxicidade para os moluscos apresentaram em sua composição altos teores de monoterpenos. Alguns componentes desses OE foram testados isolados nos moluscos vetores e, entre estes, os compostos da classe dos monoterpenos exibiram atividade moluscicida significativa, tendo destaque timol, canfeno e geraniol. Menos da metade dos OE estudados foram submetidos a ensaios de toxicidade aguda com organismos não alvo. Dentre os avaliados, apenas os OE de *Curcuma longa* L., *Citrus limon* (L.) Osbeck e *Citrus sinensis* (L.) Osbeck demonstraram baixa ecotoxicidade, atendendo aos parâmetros da Organização Mundial de Saúde (OMS). O artigo de revisão confirmou a importância dos OE como matéria-prima para o desenvolvimento de produtos moluscicidas naturais e evidenciou o potencial de compostos monoterpênicos para o controle dos caramujos transmissores da esquistossomose. O capítulo II relata o estudo experimental da constituição química, do potencial moluscicida e cercaricida, e toxicidade ambiental do DAOE. Para obtenção do óleo estudado, partes aéreas de *D. ambrosioides* foram coletadas no município de Paço do Lumiar-MA em outubro de 2016, foram secas em temperatura ambiente e submetidas à técnica de hidrodestilação utilizando aparelho tipo Clevenger. A composição química do DAOE foi analisada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-EM). As atividades moluscicida e cercaricida foram avaliadas pelo método de imersão, enquanto que a ecotoxicidade foi investigada por meio de bioensaios com larvas de *Artemia salina* e peixes *Danio rerio*. O DAOE apresentou rendimento de 0,8%. A análise por CG-EM revelou a predominância de monoterpenos hidrocarbonetos (66,87%) no óleo, seguidos por monoterpenos oxigenados (25,46%). Os compostos principais identificados foram  $\alpha$ -terpineno (50,69%), p-cimeno (13,27%) e ascaridol (10,26%). O produto volátil estudado mostrou bioatividade sobre caramujos *Biomphalaria glabrata* e cercárias de *S. mansoni*, com valores de  $CL_{90}$  de 48,60 e 87,21  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente. Além disso, a toxicidade do DAOE para organismos aquáticos não alvo foi considerada baixa quando comparada à ecotoxicidade do moluscicida sintético niclosamida. O DAOE demonstrou potencial para ser empregado no controle de caramujos em áreas de transmissão da esquistossomose, contribuindo com a redução do número de casos da doença.

**Palavras-chave:** Caramujos. Ecotoxicidade. Estudo químico. Produtos voláteis. *Schistosoma mansoni*.



## ABSTRACT

Schistosomiasis mansoni is a parasitic disease caused by the helminth *Schistosoma mansoni*, which requires snails of the genus *Biomphalaria* as intermediate hosts to develop its evolutionary cycle. One of the ways to combat parasitosis is the control of transmitting molluscs through molluscicide products. *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants, synonym and basionym *Chenopodium ambrosioides* L., is an herbaceous plant with a strong aroma and popularly known as mastruz. Its essential oil has biological potential and has shown lethal effects on *Schistosoma haematobium* transmitting snails. Thus, the present work aimed to carry out a review study on the molluscicidal action of essential oils (EO) in snails that transmit schistosomiasis, as well as to evaluate the chemical composition, molluscicide and cercaricide effects, and the ecotoxicity of the essential oil of aerial parts of *D. ambrosioides* (DAEO). This thesis was divided into two chapters. Chapter I consists of a review article of scientific studies about the molluscicidal potential of EO, carried out between 1984 and 2019. This article demonstrated that 50 volatile oils from 46 plant species, distributed among 29 genera and 13 families, were evaluated in transmitter snails of schistosomiasis. More than 80% of these EO were active against snails of the genera *Bulinus* and *Biomphalaria* ( $LC_{90}$  or  $LC_{100} \leq 100 \mu\text{g/mL}$  or  $LC_{50} < 40 \mu\text{g/mL}$ ). The EO with greater toxicity to molluscs had high levels of monoterpenes in their composition. Some components of these EO were tested isolated in vector molluscs and, among them, the compounds of the monoterpene class exhibited significant molluscicidal activity, with emphasis on thymol, camphene and geraniol. Less than half of the EO studied underwent acute toxicity testing with nontarget organisms. Among those evaluated, only the EO of *Curcuma longa* L., *Citrus limon* (L.) Osbeck and *Citrus sinensis* (L.) Osbeck demonstrated low ecotoxicity, meeting the parameters of the World Health Organization (WHO). The review article confirmed the importance of EO as a raw material for the development of natural molluscicide products and highlighted the potential of monoterpene compounds for the control of snails that transmit schistosomiasis. Chapter II reports the experimental study of the chemical constitution, molluscicide and cercaricide potential, and environmental toxicity of DAEO. To obtain the studied oil, aerial parts of *D. ambrosioides* were collected in the city of Paço do Lumiar-MA in October 2016, dried at room temperature and submitted to the hydrodistillation technique using a Clevenger-type device. The chemical composition of DAEO was analyzed by gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS). The molluscicide and cercaricide activities were evaluated by the immersion method, while the ecotoxicity was investigated by means of bioassays with *Artemia salina* larvae and *Danio rerio* fish. DAEO showed a yield of 0.8%. GC-MS analysis revealed the predominance of hydrocarbon monoterpenes (66.87%) in the oil, followed by oxygenated monoterpenes (25.46%). The main compounds identified were  $\alpha$ -terpinene (50.69%), p-cymene (13.27%) and ascaridol (10.26%). The studied volatile product showed bioactivity on *Biomphalaria glabrata* snails and *S. mansoni* cercariae, with  $LC_{90}$  values of 48.60 and 87.21  $\mu\text{g/mL}$ , respectively. Furthermore, the toxicity of DAEO to nontarget aquatic organisms was considered low when compared to the ecotoxicity of the synthetic molluscicide niclosamide. DAEO has shown potential to be used in the control of snails in areas of transmission of schistosomiasis, contributing to a reduction in the number of cases of the disease.

**Keywords:** Snails. Ecotoxicity. Chemical study. Volatile products. *Schistosoma mansoni*.

## LISTA DE FIGURAS

### REFERENCIAL TEÓRICO

<b>Figura 1.</b>	Distribuição da esquistossomose mansônica no mundo .....	18
<b>Figura 2.</b>	Distribuição da esquistossomose mansônica no Brasil de acordo com a faixa de positividade por município .....	19
<b>Figura 3.</b>	Criadouros naturais de caramujos do gênero <i>Biomphalaria</i> em área periférica do município de São Luís-MA .....	21
<b>Figura 4.</b>	Ciclo biológico de <i>Schistosoma mansoni</i> .....	22
<b>Figura 5.</b>	Caramujos da espécie <i>Biomphalaria glabrata</i> .....	26
<b>Figura 6.</b>	Distribuição geográfica de <i>Biomphalaria glabrata</i> Say no Brasil .....	26
<b>Figura 7.</b>	<i>Dysphania ambrosioides</i> (L.) Mosyakin & Clemants .....	35

### CAPÍTULO II

<b>Figura 1.</b>	Structure of the main compounds identified in the essential oil of aerial parts of <i>Dysphania ambrosioides</i> (L.) Mosyakin & Clemants (DAEO) .....	92
<b>Figura 2.</b>	Mortality of snails <i>Biomphalaria glabrata</i> after 24 hours of exposure to the essential oil of aerial parts of <i>Dysphania ambrosioides</i> (L.) Mosyakin & Clemants (DAEO) in different concentrations ( $\mu\text{g/mL}$ ) .....	93
<b>Figura 3.</b>	Mortality of cercariae exposed to the essential oil of aerial parts of <i>Dysphania ambrosioides</i> (L.) Mosyakin & Clemants (DAEO) in different concentrations in relation to the exposure time .....	94

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO I

- Tabela 1.** Molluscicidal activity of essential oils against schistosomiasis transmitting snails ..... 63
- Tabela 2.** Toxicity of constituents identified in essential oils for transmitting mollusks 65

### CAPÍTULO II

- Tabela 1.** Chemical constituents identified in the essential oil of aerial parts of *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants (DAEO) ..... 95
- Tabela 2.** Lethal concentrations of the essential oil of aerial parts of *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants (DAEO) on cercariae of *Schistosoma mansoni* in relation to the exposure time ..... 96
- Tabela 3.** Toxicity of the essential oil of aerial parts of *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants (DAEO) against nontarget organisms ..... 97

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
AChE	Acetilcolinesterase
ANOVA	<i>Analysis of variance</i>
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CI	<i>Confidence interval</i>
CL <sub>50</sub>	Concentração letal para 50% dos indivíduos testados
CL <sub>90</sub>	Concentração letal para 90% dos indivíduos testados
CL <sub>100</sub>	Concentração letal para 100% dos indivíduos testados
CuSO <sub>4</sub>	Sulfato de cobre
DAOE	Óleo essencial de partes aéreas de <i>Dysphania ambrosioides</i>
DALYs	<i>Disability-adjusted life years</i>
DMSO	Dimetilsulfóxido
GC-FID	<i>Gas chromatograph-flame ionization detector</i>
GC-MS	<i>Gas chromatography-mass spectrometry</i>
µg/mL	Micrograma por mililitro
PCFNa	Pentaclorofenato de sódio
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Sulfato de sódio anidro
NC	<i>Negative control</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
PC	<i>Positive control</i>
RI	<i>Retention indices</i>
SD	<i>Standard deviation</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>16</b>
<b>2.1 Objetivo geral .....</b>	<b>16</b>
<b>2.2 Objetivos específicos .....</b>	<b>16</b>
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>18</b>
<b>3.1 Esquistossomose mansônica .....</b>	<b>18</b>
3.1.1 Epidemiologia .....	18
3.1.2 Ciclo de transmissão .....	21
3.1.3 Aspectos clínicos .....	23
3.1.4 Hospedeiros intermediários de <i>Schistosoma mansoni</i> no Brasil .....	24
3.1.5 Métodos de controle dos moluscos transmissores .....	27
3.1.6 Avaliação da atividade moluscicida de plantas .....	30
<b>3.2 Óleos essenciais .....</b>	<b>32</b>
<b>3.3 <i>Dysphania ambrosioides</i> (L.) Mosyakin &amp; Clemants (Amaranthaceae) .....</b>	<b>34</b>
<b>CAPÍTULO I. Essential oils as molluscicidal agents against schistosomiasis transmitting snails - a review (publicado) .....</b>	<b>38</b>
<b>CAPÍTULO II. Molluscicidal and cercaricidal activities of the essential oil of <i>Dysphania ambrosioides</i> (L.) Mosyakin &amp; Clemants: implications for the control of schistosomiasis .</b>	<b>68</b>
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>98</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>99</b>
<b>ANEXO A: Comprovante de publicação de parte do Referencial Teórico como capítulo de livro da Atena Editora .....</b>	<b>121</b>
<b>ANEXO B: Comprovante de publicação do artigo 1 na Revista Acta Tropica .....</b>	<b>122</b>
<b>ANEXO C: Normas da Revista Anais da Academia Brasileira de Ciências .....</b>	<b>123</b>
<b>ANEXO D: Comprovante de submissão do artigo 2 na Revista Anais da Academia Brasileira de Ciências .....</b>	<b>129</b>
<b>ANEXO E: Produção científica durante o período de realização do doutorado .....</b>	<b>130</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A relação desarmônica entre o homem e o meio ambiente propicia o surgimento de doenças parasitárias, que provocam impactos diretos na qualidade da vida humana (MELO et al., 2019). A ocupação desordenada de áreas urbanas, associada à alta vulnerabilidade social, ausência de saneamento básico e às condições inadequadas de moradia, tem contribuído substancialmente para a dispersão de doenças negligenciadas, dentre as quais se destaca a esquistossomose (PEREIRA, 2013).

Esquistossomose é uma infecção causada por trematódeos do gênero *Schistosoma* e caracteriza-se como a segunda doença tropical de maior abrangência após a malária, com registros de ocorrência em países da América e África (HE et al., 2017; CARVALHO et al., 2018; WANG et al., 2018). Esta parasitose é um fator limitante do desenvolvimento econômico e social, e ainda tem grande relevância no contexto da saúde pública, pois estima-se que existam quase 240 milhões de infectados no mundo e que mais de 700 milhões de pessoas se encontram em áreas de endemismo (CHENG et al., 2016; ROCHA et al., 2016; WHO, 2019).

No Brasil, a esquistossomose tem como agente etiológico o helminto *Schistosoma mansoni* e acomete cerca de 1,5 milhão de indivíduos (SOARES et al., 2019). Está distribuída em todas as regiões do país, com maior taxa de incidência e prevalência na região nordeste (BRASIL, 2017). No estado do Maranhão, é notificada em 49 dos 217 municípios existentes (BRASIL, 2011). O Litoral Norte e a microrregião da Baixada Maranhense concentram os focos de transmissão mais antigos e têm os maiores índices de casos da doença (MENDES, 2019).

A presença de caramujos do gênero *Biomphalaria* em determinadas localidades, associada à existência de indivíduos infectados pelo *S. mansoni*, representa a condição necessária para o estabelecimento da endemia esquistossomótica. Dentre as três espécies de *Biomphalaria* transmissoras do parasito no Brasil, *Biomphalaria glabrata* se destaca como a mais importante, em decorrência da alta suscetibilidade ao esquistossomo, dos elevados índices de infecção e sua larga distribuição geográfica (BRAGA, 2012; CALASANS et al., 2018). A distribuição desta espécie é relatada em 16 estados e 801 municípios do Brasil, localizados principalmente no Nordeste e Sudeste (BRASIL, 2014).

O controle da esquistossomose no Brasil ainda é um grande desafio para os serviços de saúde pública (VITORINO et al., 2012). Devido à ausência de vacina, as ações que se tem efetivado para combater a parasitose são apenas o diagnóstico e o tratamento dos

esquistossomóticos com o fármaco praziquantel (PEREIRA et al., 2017). Estas medidas têm diminuído o índice de formas clínicas graves, porém não têm reduzido a prevalência nem impedido a transmissão da endemia, de forma que o doente pode adquiri-la novamente (CANTANHEDE et al., 2010). Em função destas circunstâncias, muitos pesquisadores sugerem como estratégia promissora para o controle da helmintíase em médio e longo prazo a redução populacional dos moluscos hospedeiros conjugada com a quimioterapia, as obras sanitárias e as práticas de educação em saúde (COELHO; CALDEIRA, 2016; WANG et al., 2016; MELO et al., 2019).

O controle dos caramujos transmissores pode ser realizado por meio da aplicação de moluscidas nos seus criadouros naturais. O moluscida sintético niclosamida, comercialmente conhecido como Bayluscide<sup>®</sup>, possui alta eficiência contra todos os estágios de desenvolvimento dos caramujos *Biomphalaria* e formas larvárias de *Schistosoma* (BRASIL, 2008; MATA et al., 2011; MARTINS et al., 2017). Entretanto, é um produto pouco estável frente à luminosidade e tóxico para animais co-habitantes e plantas submersas. Além disso, possui alto custo operacional, devido ser aplicado várias vezes até mesmo em pequenas áreas, e o seu manuseio requer técnicos treinados (ANDREWS et al., 1983; OLIVEIRA-FILHO; PAUMGARTTEN, 2000; VINAUD, 2005; MOREIRA et al., 2010; LOPES et al., 2011; FAMA KINDE, 2018).

As limitações de ordem econômica e ambiental da niclosamida contribuíram para a redução de sua aceitabilidade e incentivaram o estudo de plantas para obtenção de novos moluscidas (EVERTON et al., 2018; FAMA KINDE, 2018). A utilização de moluscidas vegetais para a interrupção da transmissão da esquistossomose mansônica é uma alternativa biodegradável, simples e pouco dispendiosa (KUMAR; SING, 2006; OLIVEIRA-FILHO et al., 2010).

Estudos científicos evidenciaram que produtos vegetais apresentam ação moluscida significativa, tendo grande destaque os óleos essenciais (OE), os quais são misturas de substâncias voláteis de grande importância econômica e com potencial para diversas aplicações farmacêuticas (SILVA et al., 2014; RIBEIRO, 2016; ALBUQUERQUE et al., 2020). A atividade moluscida dos OE tem sido relacionada com a presença de seus constituintes químicos (EL-KAMALI et al., 2010; SALAMA et al., 2012). Entre os óleos voláteis ativos contra moluscos *B. glabrata*, estão os extraídos das plantas aromáticas *Xylopija langsdorffiana* A. St. Hil. et Tul., *Ocotea bracteosa* (Meisn.) Mez. e *Lippia gracilis* Schauer, cujas concentrações letais (CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub>) atendem às especificações da Organização Mundial de Saúde-OMS (COUTINHO et al., 2007; TAVARES et al., 2007; RIBEIRO, 2016).

Após a obtenção de um produto moluscicida, é necessário a avaliação da sua toxicidade ambiental para verificar se o seu emprego é seguro nos criadouros naturais dos caramujos transmissores ou se deve ser realizado somente em locais restritos, onde não há existência de espécies aquáticas não alvo, nem utilização da água pelo homem (ROCHA-FILHO et al., 2015). Os ensaios que utilizam como organismos-teste o microcrustáceo *Artemia salina* e o peixe *Danio rerio* têm demonstrado serem ferramentas eficientes para a determinação da ecotoxicidade de amostras vegetais com ação moluscicida, além de serem métodos simples, de baixo custo e rápida execução (DIAS et al., 2013; PEREIRA et al., 2017).

*Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants, sinonímia e basônimo mais importante *Chenopodium ambrosioides* L., é uma herbácea pertencente à família Amaranthaceae, conhecida popularmente como “erva-de-santa-maria”, “mastruz” ou “epazote” e nativa da América Central e do Sul (GRASSI et al., 2013; BRAHIM et al., 2015; SALIMENA et al., 2015; JESUS et al., 2017; BIBIANO et al., 2019; REYES-BECERRIL et al., 2019). Apresenta extensa distribuição geográfica no Brasil, com ocorrência em praticamente toda área territorial (LIMAVERDE et al., 2017). O OE obtido de suas partes aéreas é muito utilizado para o tratamento de helmintíases em algumas localidades (SÁ et al., 2015) e tem mostrado bioatividades cientificamente comprovadas, tais como ação leishmanicida (MONZOTE et al., 2014), antibacteriana (BEZERRA et al., 2019), antifúngica (CORREA-ROYERO et al., 2010), antioxidante (KUMAR et al., 2007), acaricida (PAES et al., 2015), inseticida (JARAMILLO et al., 2012), schistosomicida (SOARES et al., 2017) e tripanomicida (BORGES et al., 2012).

Considerando o cenário epidemiológico da esquistossomose no Brasil, sobretudo em estados do Nordeste, e diante da necessidade da investigação e descoberta de produtos moluscicidas mais viáveis que a niclosamida para um controle eficaz da parasitose, visto que apenas o tratamento dos indivíduos infectados não reduz o risco de transmissão, este trabalho tem como objetivo realizar um estudo de revisão sobre a ação moluscicida de OE em caramujos transmissores da esquistossomose, bem como avaliar a composição química, os efeitos moluscicida e cercaricida, e a ecotoxicidade do óleo essencial de partes aéreas de *D. ambrosioides* (DAOE).



## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Realizar um estudo de revisão sobre a ação moluscicida de OE em caramujos transmissores da esquistossomose, bem como avaliar a composição química, os efeitos moluscicida e cercaricida, e a ecotoxicidade do óleo essencial de partes aéreas de *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants (DAOE).

### 2.2 Objetivos específicos

- Evidenciar as plantas aromáticas com potencial moluscicida;
- Demonstrar os constituintes majoritários identificados nos óleos voláteis avaliados sobre os moluscos vetores da esquistossomose;
- Indicar os compostos voláteis ativos contra caramujos transmissores de trematódeos do gênero *Schistosoma*;
- Destacar a ecotoxicidade dos óleos estudados quanto à ação moluscicida;
- Determinar o rendimento do DAOE;
- Quantificar os constituintes químicos presentes no OE em estudo;
- Identificar o marcador químico do DAOE;
- Avaliar a atividade moluscicida do DAOE e de seu constituinte majoritário sobre caramujos *Biomphalaria glabrata*;
- Verificar a ação do OE extraído em cercárias de *Schistosoma mansoni*;
- Investigar a toxicidade do DAOE para larvas de *Artemia salina* e peixes *Danio rerio*.

## *Referencial Teórico*



*Parte do Referencial Teórico foi publicado como capítulo de livro da Atena Editora*

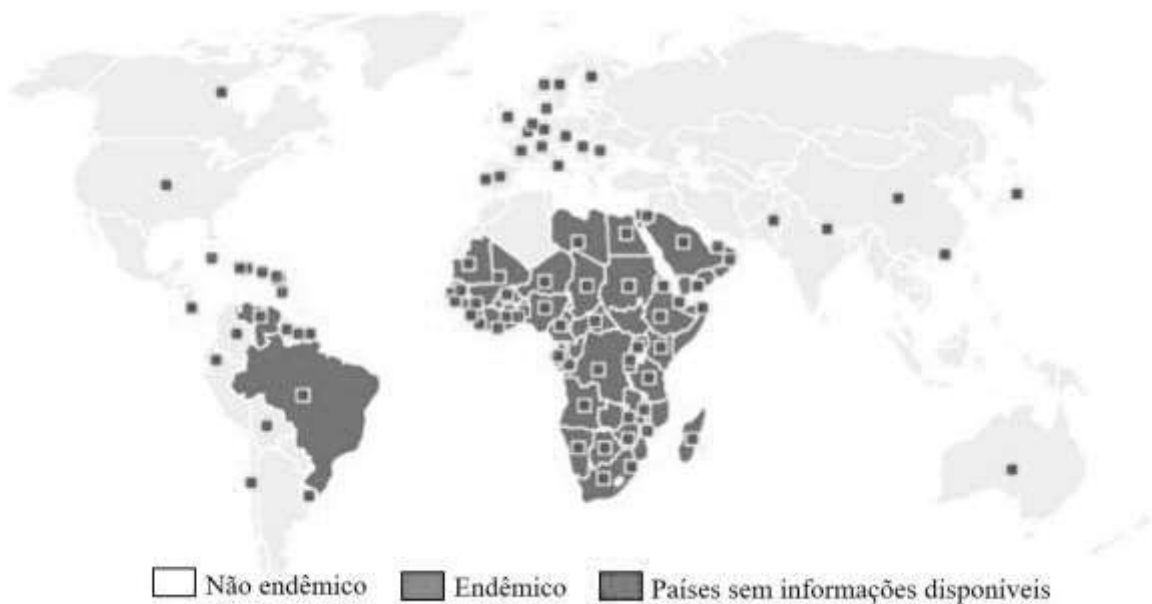
### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Esquistossomose mansônica

##### 3.1.1 Epidemiologia

A esquistossomose mansônica é uma doença negligenciada que tem como agente etiológico o trematódeo digenético *Schistosoma mansoni* Sambon (GOMES et al., 2016; SILVA, 2018). É considerada endêmica em áreas tropicais e tem grande distribuição geográfica, sendo registrada em países da América e África (Figura 1) (BRASIL, 2017; BERGER, 2019). Acomete aproximadamente 240 milhões de pessoas em todo o mundo e mais de 700 milhões estão sob risco de infecção (WHO, 2019).

**Figura 1.** Distribuição da esquistossomose mansônica no mundo.



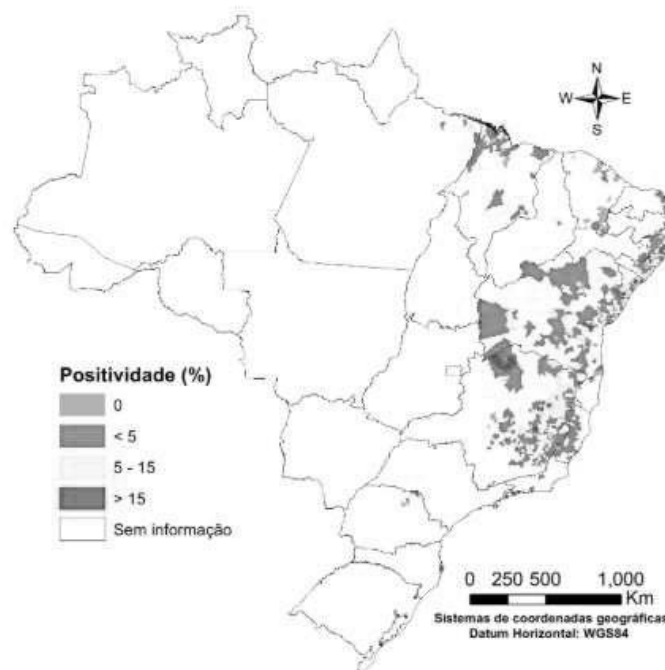
Fonte: Berger (2019).

Conhecida popularmente no Brasil como xistosa, doença do caramujo ou barriga d'água, acredita-se que a esquistossomose mansônica foi introduzida neste país no século XVII, com a chegada de escravos africanos trazidos pela Colônia Portuguesa, para trabalho nas plantações de cana-de-açúcar na região nordeste (KATZ; ALMEIDA, 2003; RIBEIRO et al., 2004). A utilização da mão-de-obra escrava na lavoura canavieira, atividade que utilizava grande aporte hídrico, somada às péssimas condições de vida e à existência dos hospedeiros intermediários, criou as condições bio-ecológicas necessárias para o estabelecimento e transmissão da doença (CARDIM, 2010).

A esquistossomose no Brasil é considerada como um dos mais sérios problemas de saúde pública, em virtude do déficit orgânico que produz (CARDIM et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2018). As regiões do país endêmicas para esta parasitose são conceituadas como um conjunto de localidades contínuas ou adjacentes onde a transmissão está plenamente estabelecida (MELO, 2011). Para a classificação destas regiões, a taxa de prevalência é utilizada como parâmetro. Assim, as localidades com prevalência inferior a 5% são denominadas de áreas de baixa endemicidade. As com prevalência entre 5 e 15% e superior a 15% são classificadas em áreas de média e alta endemicidade ou hiperendêmica, respectivamente (ROCHA et al., 2016).

Estima-se que cerca de 1,5 milhão de brasileiros são portadores da esquistossomose (SOARES et al., 2019). Esta helmintíase está distribuída em 19 Unidades Federativas do Brasil, ocorrendo de forma endêmica no Maranhão até Minas Gerais. Alguns focos de transmissão encontram-se nos estados do Piauí, Pará, Goiás, Distrito Federal, São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Figura 2) (BRASIL, 2017; BRASIL, 2019).

**Figura 2.** Distribuição da esquistossomose mansônica no Brasil de acordo com a faixa de positividade por município.



Fonte: Brasil (2019).

A esquistossomose no Maranhão foi relatada pela primeira vez em 1920, ano em que foram registrados 10 casos positivos. Dois destes casos foram diagnosticados em pacientes que viviam em São Luís, capital do Estado, e os outros oito foram de pacientes que viviam em

Cururupu, município pertencente à microrregião Litoral Ocidental Maranhense (CUTRIM, 1987).

De acordo com os dados do Ministério da Saúde, a esquistossomose no Maranhão é transmitida em 49 dos 217 municípios existentes. O Litoral Norte e a Baixada Maranhense configuram-se como regiões endêmicas da doença, apresentando altas prevalências (BRASIL, 2011; MENDES, 2019).

A Baixada Ocidental Maranhense é uma das localidades economicamente mais pobres do Estado, incorporando em suas atividades rotineiras a pesca, caça, agricultura de subsistência e criação de animais de pequeno porte, que propiciam o contato contínuo da população com águas contaminadas por *S. mansoni* e contribuem para que o controle da esquistossomose seja uma tarefa difícil para os serviços de saúde pública (FERREIRA et al., 1998; CANTANHEDE, 2010; LIRA et al., 2017).

Na região da Baixada Maranhense, acredita-se que a esquistossomose é mantida não só pela participação humana, mas também com o auxílio de roedores silvestres do gênero *Holochilus*. Estes animais são comumente encontrados na área e albergam grande quantidade do helminto adulto, podendo eliminar suas fezes com ovos viáveis do parasito em ambientes aquáticos onde estão presentes os caramujos vetores (SILVA-SOUZA, 2001). Estudo de monitoramento de roedores *Holochilus* sp., realizado entre 2012 e 2013 no município de São Bento, pertencente à Baixada Maranhense, mostrou que, por mês, uma média de 2,4 animais estavam infectados por *S. mansoni* (MIRANDA et al., 2015).

A esquistossomose mansônica, que era antes considerada uma doença rural, acompanhou a intensa mobilidade das populações originárias de áreas endêmicas do campo para os grandes centros urbanos. No meio urbano, estas populações se fixaram em regiões periféricas, onde não existia infraestrutura de saneamento ambiental adequada e ações políticas de educação sanitária. A partir daí, com o processo de urbanização desordenado, surgiram condições favoráveis para a manutenção da transmissão e expansão territorial da doença, através da propagação e do estabelecimento de novos focos da parasitose (GUIMARÃES; TAVARES-NETO, 2006; BARBOSA et al., 2013; SANTOS et al., 2016).

Na cidade de São Luís, Maranhão, os bairros da periferia consistem em potenciais áreas de transmissão da esquistossomose. Estas localidades apresentam condições sanitárias precárias e criadouros naturais de caramujos do gênero *Biomphalaria* (Figura 3) (OLIVEIRA et al., 2013; DAVID et al., 2018).

**Figura 3.** Criadouros naturais de caramujos do gênero *Biomphalaria* em área periférica do município de São Luís-MA.



Fonte: Autoria própria (2021).

Estudos demonstraram que existe uma forte associação entre variáveis socioeconômicas e infecção por *S. mansoni* (MATOSO, 2012; SISTE, 2016; SANTOS et al., 2019). Melo et al. (2019), analisando os fatores envolvidos na transmissão da esquistossomose em uma área endêmica do estado de Alagoas (Brasil), constataram que a ocorrência da doença variou em função do gênero, idade, etnia e condição socioeconômica. A maioria dos casos de esquistossomose, confirmados durante o período de 2016 a 2017, concentrou-se em trabalhadores da pesca, pertencentes ao sexo masculino, na faixa etária de 29 a 60 anos, sem escolaridade ou com ensino fundamental incompleto, negros ou pardos, com baixo poder aquisitivo.

Soares et al. (2019) realizaram uma avaliação epidemiológica da ocorrência de esquistossomose no estado de Pernambuco, Brasil, no período de 2007 a 2015. Estes autores relataram que houve correlação positiva entre a taxa de esquistossomose e o percentual de vulneráveis à pobreza.

### 3.1.2 Ciclo de transmissão

A esquistossomose é caracterizada como uma doença de veiculação hídrica (LOYO; BARBOSA, 2016; ROCHA et al., 2016). O seu ciclo de transmissão inicia quando fezes humanas contendo ovos viáveis de *S. mansoni* contaminam ambientes de água doce colonizados por caramujos do gênero *Biomphalaria* (BARBOSA et al., 2008). Condições adequadas de temperatura, luz e de oxigenação permitem a eclosão dos ovos e liberação dos

miracídios (MELO, 2011; SOUZA et al., 2011). Estas larvas têm um período de vida curto e um sistema nervoso primitivo que garante os movimentos natatórios necessários para seu encontro com os moluscos hospedeiros (MARQUES, 2012).

Os movimentos dos miracídios propiciam a invasão no tegumento do caramujo em um período de 10 a 15 minutos. Após a infecção do hospedeiro intermediário, os miracídios perdem suas placas ciliares e seus movimentos, sendo denominados de esporocistos primários, que apresentam de 50 a 100 células germinativas. Estas células originam os esporocistos secundários e estes, por reprodução assexuada, dão origem a milhares de cercárias (MARQUES, 2012). Estas larvas são liberadas no ambiente aquático e, quando entram em contato com o hospedeiro definitivo, penetram na sua pele, dando início ao processo de infecção (NEVES, 2016).

Após infectar o homem, as cercárias se transformam em esquistossômulos, os quais invadem os vasos venosos e/ou linfáticos, alcançando a circulação geral e sendo arrastados para o coração e pulmões, de onde migram ativamente até o fígado (LENZI et al., 2008). Ao chegar ao sistema porta intra-hepático, os esquistossômulos se desenvolvem, alcançando a fase adulta após 28 a 48 dias da infecção do hospedeiro. Os vermes adultos, machos e fêmeas, acasalam e se direcionam para os vasos do mesentério do intestino contra a corrente sanguínea da veia porta e das veias mesentéricas. Nas vênulas mesentéricas inferiores, as fêmeas eliminam ovos, podendo chegar até 300 por dia. Alguns ovos produzidos chegam à luz intestinal e saem com as fezes (Figura 4). Os outros ovos ficam retidos nos tecidos do fígado e paredes do intestino, dando origem a granulomas (REY, 2017).

**Figura 4.** Ciclo biológico de *Schistosoma mansoni*.



Fonte: Brasil (2014).

### 3.1.3 Aspectos clínicos

Os sintomas da esquistossomose variam de acordo com o seu estágio de evolução no homem (POVISNKE; PRESTES, 2012). A fase aguda manifesta-se em torno do 50º dia e dura até cerca de 120 dias após a penetração da cercária. Os principais sintomas nesta fase são febre alta, mal-estar, emagrecimento, tosse, diarreia, hepatoesplenomegalia e linfadenomegalia, além de alterações hematológicas como leucocitose e eosinofilia (MARONI, 2006).

Nas áreas consideradas hiperendêmicas (prevalência > 15%), a fase aguda da doença é rara (BARROS, 2008). Por outro lado, pessoas de áreas não endêmicas demonstram ser mais suscetíveis a desenvolverem infecção sintomática aguda. Após o primeiro contato com a doença, um indivíduo de área não endêmica possui resposta imune pouco efetiva contra antígenos de *Schistosoma* (ABDALA, 2012).

O quadro clínico crônico da esquistossomose mansônica inicia no doente a partir dos seis meses após infecção, podendo durar muitos anos (PORDEUS et al., 2008). A fase crônica pode apresentar as formas clínicas intestinal, hepatointestinal e hepatoesplênica. Esta última forma é classificada em compensada e descompensada (VALENÇA, 2000; BRASIL, 2019).

A forma crônica intestinal é muito comum nas áreas de alta endemicidade. Esta fase pode ser assintomática ou apresentar diversos sintomas, tais como diarreia, perda de apetite, cólicas intestinais e astenia (OLIVEIRA, 2006; BECK, 2007). A classificação clínica hepatointestinal é indicada pela ocorrência de diarreias e epigastralgia. O doente apresenta fígado com nódulos, os quais nas fases mais evoluídas da forma clínica configuram-se como áreas de fibrose resultantes de granulomatose periportal ou fibrose de Symmers (BRASIL, 2014).

A forma hepatoesplênica ocorre quando há aumento considerável do volume do baço e fígado. Na fase compensada, os portadores apresentam quadro clínico caracterizado pela presença de hepatoesplenomegalia e fibrose hepática. Já na fase descompensada os doentes manifestam um ou mais dos seguintes sinais: hipertensão portal, desenvolvimento de circulação colateral, hematêmese, ascite, varizes do esôfago, anemia acentuada, desnutrição e hiperesplenismo (CASTRO, 2009).

Em suas diferentes formas clínicas, a esquistossomose é muito semelhante a outras doenças (PORDEUS et al., 2008). O diagnóstico é confirmado com a presença de ovos de *S. mansoni* eliminados nas fezes dos pacientes e pode ser obtido através do método de Kato-Katz (MARTINS et al., 2019). Esta técnica parasitológica é recomendada pela OMS e



possibilita tanto a quantificação de ovos do parasito por grama de fezes como a determinação da intensidade da carga parasitária do doente (OLIVEIRA, 2015; SILVA-FILHO, 2017).

O tratamento da esquistossomose tem como objetivos curar, diminuir a carga parasitária dos pacientes e impedir que a doença evolua para as formas graves (GOMES et al., 2016). Os fármacos empregados para combater o helminto *S. mansoni* são o oxamniquine e o praziquantel.

Este último medicamento é o mais recomendado para tratar a esquistossomose no Brasil e apresenta ampla margem de segurança, baixo custo, eficácia para todas as formas clínicas da parasitose, além de ser indicado para diferentes faixas etárias (QUEIROZ et al., 2010; SILVA et al., 2012). É fabricado pelo laboratório de Farmanguinhos/Fiocruz e o Ministério da Saúde o distribui gratuitamente às Secretarias Estaduais de Saúde, as quais fornecem o medicamento aos municípios (FIGUEIREDO, 2017).

Embora o tratamento com o fármaco praziquantel tenha proporcionado como resultado a redução de casos com formas graves, a transmissão da esquistossomose mansônica ainda é constante (VITORINO et al., 2012). Por esta razão, o índice de internações hospitalares ainda é significativo, sendo que em 2016, no Brasil, foram internados 200 pacientes de diferentes regiões geográficas (BRASIL, 2019).

### 3.1.4 Hospedeiros intermediários de *Schistosoma mansoni* no Brasil

Caramujos do gênero *Biomphalaria* são considerados importantes para a epidemiologia da esquistossomíase humana, pois representam os hospedeiros intermediários do parasito *S. mansoni*. Estes animais pertencem ao Filo Mollusca, Classe Gastropoda, Subclasse Pulmonata, Ordem Basommatophora e Família Planorbidae. Apresentam uma concha discoidal arredondada, na qual se observa uma depressão no giro central, e são encontrados nas Américas, na África e Península Arábica (REY, 2017).

Das espécies de *Biomphalaria* identificadas, dez têm registro de ocorrência no Brasil. Estas são: *Biomphalaria tenagophila* Orbigny, *Biomphalaria straminea* Dunker, *Biomphalaria glabrata* Say, *Biomphalaria amazonica* Paraense, *Biomphalaria peregrina* Orbigny, *Biomphalaria occidentalis* Paraense, *Biomphalaria intermedia* Paraense & Deslandes, *Biomphalaria schrammi* Crosse, *Biomphalaria oligoza* Paraense e *Biomphalaria kuhniiana* Clessim. Apenas *B. tenagophila*, *B. straminea* e *B. glabrata* eliminam cercárias em seus ambientes naturais, sendo transmissoras da esquistossomose mansônica no país (NEVES, 2016; CARVALHO et al., 2018). Os moluscos *B. amazonica* e *B. peregrina* são considerados

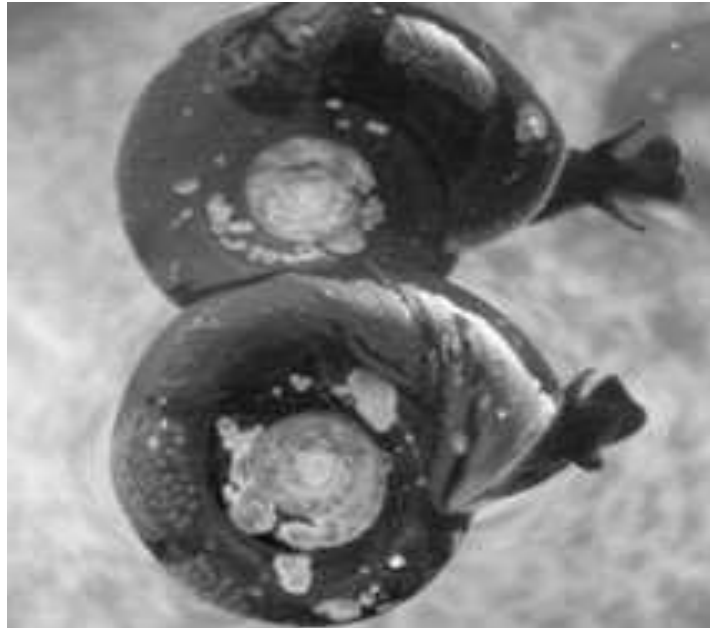
hospedeiros intermediários potenciais, visto que só são infectados com o parasito experimentalmente (THIENGO, 2007; AMARAL, 2008; GOMES et al., 2019).

O planorbídeo *B. tenagophila* apresenta, quando adulto, uma concha com sete a oito giros e com até 35 mm de diâmetro e 11 mm de largura (LIMA, 1995). Distingue-se do molusco *B. glabrata* por apresentar uma angulação um pouco acentuada na parede lateral dos giros, principalmente no lado esquerdo, e abertura mais larga, de contorno deltoide (PARAENSE, 1972). Ocorre na faixa litorânea que se estende do sul do estado da Bahia até o Rio Grande do Sul e é o principal transmissor de *S. mansoni* no estado de São Paulo (MUNIZ, 2007; CARVALHO et al., 2018). Já foi encontrado naturalmente em estivação (TELES; MARQUES, 1989) e possui boa plasticidade e capacidade de se adaptar às mudanças ambientais (TELES, 2005).

A espécie *B. straminea* possui uma concha de 10 mm a 16 mm de diâmetro, com 3 mm a 4 mm de largura e cerca de cinco giros (THIENGO; FERNANDEZ, 2008). Tem extensa distribuição geográfica no país, sendo predominante na região nordeste (MARQUES, 2012), principalmente nos estados do Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe e Bahia (CARVALHO et al., 2008). Está presente nos mais diferentes corpos hídricos e tem capacidade adaptativa a variações extremas das condições ambientais, podendo sobreviver a períodos de seca não muito longos (PAZ, 1997; CARVALHO et al., 1998). Embora apresente pouca suscetibilidade à infecção por *S. mansoni*, é responsável pela transmissão e manutenção da esquistossomose mansônica no estado do Ceará, em Fordlândia (Pará) e Goiânia (Goiás) (NEVES, 2016).

O caramujo *B. glabrata* é considerado o maior dentre os planorbídeos e sua concha calcária pode atingir 40 mm de diâmetro, 11 mm de largura, com seis a sete giros (Figura 5) (NEVES, 2016). Apresenta na região ventral do manto uma crista renal pigmentada, que é importante para sua identificação, e é hermafrodita, mas com preferência pela reprodução cruzada (PARAENSE, 1955). Em laboratório, já demonstrou alta suscetibilidade à infecção por várias linhagens de *S. mansoni* (MAGALHÃES; DIAS, 1973; BASTOS et al., 1978; COIMBRA-JÚNIOR, 1981). É caracterizado como o mais importante hospedeiro intermediário do esquistossomo no Brasil, por apresentar ampla plasticidade ecológica, alta taxa de infectividade e extensa distribuição geográfica (MORGAN et al., 2001; PARAENSE, 2001; CAMPOS et al., 2002; BRAGA, 2012; ARAÚJO et al., 2018).

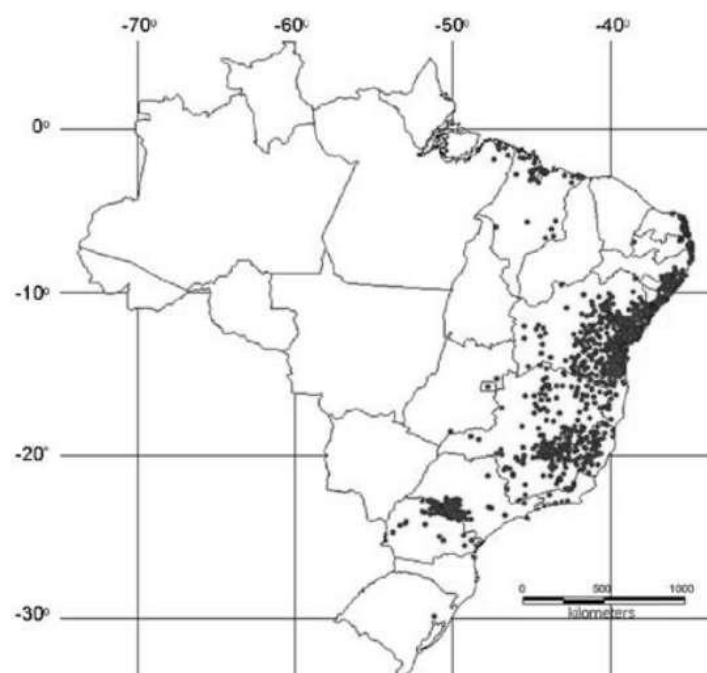
**Figura 5.** Caramujos da espécie *Biomphalaria glabrata*.



Fonte: Autorial própria (2021).

Segundo Lima (1995), os focos ativos de transmissão da esquistossomose no Brasil estão bastante relacionados com a ocorrência de *B. glabrata*. Este molusco encontra-se em 16 estados, assim como no Distrito Federal. No estado do Maranhão, está presente em 30 municípios, incluindo São Luís (Figura 6) (CARVALHO et al., 2008; BRASIL, 2014).

**Figura 6.** Distribuição geográfica de *Biomphalaria glabrata* Say no Brasil.



Fonte: Carvalho et al. (2008).

No município de São Luís (Maranhão), o molusco *B. glabrata* está presente em bairros com grande concentração populacional e desprovidos de infraestrutura sanitária adequada. Inquéritos malacológicos realizados na cidade, em diferentes períodos, demonstraram que este caramujo é um participante ativo do ciclo biológico do *S. mansoni* e, conseqüentemente, da transmissão da esquistossomose (FERREIRA, 2008; MIRANDA et al., 2016; RODRIGUES et al., 2017).

Ambientes dulcícolas de pouca correnteza e com baixo teor de matéria orgânica e sódio eram considerados ideais para as espécies de *Biomphalaria*. Entretanto, estes caramujos vêm se modificando fisiologicamente, de modo que possuem a capacidade de tolerar a diferentes variações físico-químicas, habitando em locais adversos, como bueiros, valas de esgoto a céu aberto, poças de água e terrenos baldios alagados (SILVA-SOUZA; LOPES, 2002; SILVA et al., 2006; GOMES et al., 2017). A presença desses planorbídeos já foi observada até mesmo em terrenos secos com áreas lamosas, relativamente distantes de coleções hídricas. Esse importante aspecto relaciona-se a capacidade dos caramujos permanecerem em estado de latência durante a estiagem, fator que não isenta a possibilidade de infecção e disseminação da esquistossomose (NEVES, 2016).

### 3.1.5 Métodos de controle dos moluscos transmissores

O controle dos hospedeiros intermediários, integrado ao tratamento quimioterápico dos doentes, além de melhoria no saneamento básico e práticas de educação em saúde, formam um conjunto de estratégias promissoras para o controle da esquistossomose (FENWICK; SAVIOLI, 2011; WANG et al., 2016; MELO et al., 2019). A redução populacional de moluscos transmissores pode ser realizada por meio de métodos físicos, biológicos e químicos (WHO, 1993; DIAS et al., 1995).

Como método físico para o controle dos hospedeiros intermediários de *S. mansoni*, considera-se a mudança das condições naturais do ambiente ocupado por estes planorbídeos, através de alterações físicas do solo, água ou vegetação (WHO, 1980).

As principais ações de controle físico são drenagem de depressões naturais, brejos e pântanos, os quais são criadouros de moluscos; aterro de pequenas coleções hídricas contaminadas; mudança no curso de canais e córregos, para melhorar o fluxo de água e reduzir a população planorbídica; alteração periódica no nível da água de regos e córregos, para diminuir a quantidade de vegetação aquática e provocar a morte de caramujos por dessecação; a retirada de plantas aquáticas das margens dos criadouros; e a retificação das

margens sinuosas de riachos e córregos, para reduzir a área de deposição de sedimentos ricos em detritos, que servem como alimento para os moluscos *Biomphalaria* (SOUZA; LIMA, 1997; AMARAL et al., 2008; NEVES, 2016; REY, 2017).

Os métodos físicos podem gerar bons resultados quando são realizados em pequenas áreas de risco ou quando conjugados a outras medidas de controle. Todavia, para a sua operação é necessário investimentos dispendiosos e manutenção constante (BARBOSA, 1995), os quais o tornam não muito indicado para o controle da esquistossomose.

O uso de organismos predadores ou de competidores, que vão reduzir o crescimento populacional dos caramujos transmissores ou ocasionalmente eliminá-los dos criadouros, corresponde ao método biológico de controle desses animais (SOUZA; LIMA, 1997). Segundo Amaral et al. (2008), estudos para avaliar a eficácia deste método começaram a ser realizados a partir da década de 50, especialmente em caráter experimental.

De acordo com a literatura especializada, várias espécies de diferentes grupos zoológicos são predadoras de *Biomphalaria*. Destas, merecem destaque algumas espécies de aves (patos, marrecos, gansos, gavião caracoleiro e pirulico, ave silvestre encontrada na Baixada Maranhense e que ingere mais de mil exemplares de *B. glabrata* por dia), peixes (tilapia, peixe-paraíso, apaiari), insetos (larvas de odonata, larvas de mosca Sciomizidae, hemípteros aquáticos), quelônios (cágado e tartaruga) (NEVES, 2016) e uma espécie de sanguessuga, *Helobdella triserialis lineata* Blanchard, que tem a capacidade de se alimentar de exemplares recém-eclodidos, jovens e adultos de *B. tenagophila*, *B. straminea* e *B. glabrata* (GUIMARÃES et al., 1983; 1984).

Outras espécies de moluscos demonstraram ser competidoras ou predadoras de caramujos *Biomphalaria*. O molusco da espécie *Marisa cornuarietis* Linnaeus controlou eficientemente a densidade populacional de *B. glabrata* em Porto Rico (GUIMARÃES, 1983), pois compete por alimento e é um predador acidental dos ovos e exemplares jovens deste planorbídeo (FREITAS; SANTOS, 1995). O caramujo ampulariídeo *Pomacea haustum* Reeve competiu por espaço físico com *B. glabrata* em córregos e valas localizados no município Baldim, Minas Gerais, substituindo significativamente populações desta espécie (MILWARD-DE-ANDRADE; CARVALHO, 1979). Em laboratório, foi observado que a espécie *P. haustum* é uma excelente predadora de desovas de *B. tenagophila*, *B. straminea* e *B. glabrata*, podendo ser indicada para controlar esses hospedeiros intermediários de *S. mansoni* (GUIMARÃES, 1983).

Competição entre espécies de *Biomphalaria* é bem relatada na literatura. Michelson e Dubois (1979), em estudos de laboratório, verificaram que *B. straminea* compete com *B.*

*glabrata* e é mais agressiva, apresentando maior vagilidade ao invadir o território ocupado por esta última espécie. Barbosa et al. (1984), ao estudarem a interação entre *B. straminea* (resistente ao *S. mansoni*) e *B. glabrata* (suscetível ao *S. mansoni*) em condições de laboratório, observaram que no período de 100 semanas a população de *B. glabrata* foi totalmente substituída pela de *B. straminea*. A substituição de *B. glabrata* por *B. straminea* foi interpretada por estes autores como um caso de exclusão competitiva.

Embora se tenha observado que o controle biológico reduz ou substitui populações de planorbídeos, a execução deste método não é muito viável, pois pode causar sérios problemas ambientais (AMARAL et al., 2008) e é muito onerosa quando comparada ao controle químico (MCCULLOUGH, 1981).

O emprego de substâncias moluscidas, que exercem efeito letal aos moluscos, compreende os métodos químicos de controle. Muitos produtos sintéticos foram utilizados como moluscidas, tendo destaque o pentaclorofenato de sódio (PCFNa), a N-Tritilmorfolina (Frescon<sup>®</sup>) e niclosamida (Bayluscide<sup>®</sup>) (STURROCK, 1995; GUIMARÃES, 2007; GRZESIUK, 2008; MEHRETIE et al., 2012; RAPADO, 2012).

O pentaclorofenato de sódio é um composto derivado do fenol que interfere em processos enzimáticos imprescindíveis para a vida das espécies de *Biomphalaria*, causando a morte destes animais (RAPADO, 2007). O PCFNa já foi considerado uma substância moluscida promissora, contudo a atuação em organismos não alvo colaboraram para sua substituição por outros produtos sintéticos (SOUZA, 1995).

A N-Tritilmorfolina é um produto químico que atua sobre os moluscos em concentrações de 0,1 a 0,5 mg/L, durante uma hora. Seu custo era baixo, entretanto, por não apresentar toxicidade para as desovas dos planorbídeos, era utilizada várias vezes, em curtos intervalos de tempo, para destruir as novas gerações de caramujos que surgiam (REY, 1987). Todo esse processo aumenta os custos operacionais do controle.

A niclosamida é uma substância química comercializada na forma de pó e com o nome de Bayluscide<sup>®</sup> (AMARAL et al., 2008). Tem ação moluscida, ovicida e cercaricida (GHANDOUR; WEBBE, 1975; LOWE et al., 2005; VINAUD, 2005; MARTINS et al., 2017). No entanto, este produto é muito oneroso, tem pouca estabilidade quando exposto à luz solar e é tóxico para maioria da flora e fauna dulcícola, causando impactos negativos no meio ambiente (COURA-FILHO et al., 1992; GIOVANELLI et al., 2002; DAI et al., 2010; OLIVEIRA-FILHO et al., 2010; LOPES et al., 2011; FAMAKINDE, 2018). Além disso, tem expressivo custo operacional, por ser aplicado diversas vezes até mesmo em pequenos criadouros de caramujos, e o seu emprego requer técnicos especializados (VINAUD, 2005).

### 3.1.6 Avaliação da atividade moluscicida de plantas

As limitações de ordem econômica e ambiental do moluscicida sintético niclosamida incentivaram a busca por moluscicidas de origem vegetal. O uso de plantas com propriedades moluscicidas pode ser uma alternativa biodegradável, simples e pouco dispendiosa para o controle da esquistossomose (MARSTON; HOSTETTMANN, 1985; SINGH et al., 1996; CLARK; APPLETON, 1997; KUMAR; SING, 2006; SILVA-FILHO et al., 2009; GOHAR et al., 2014).

O interesse pela utilização de moluscicidas vegetais, para o combate da esquistossomose, iniciou-se em 1930. Nesta época foi sugerido o cultivo de *Balanites aegyptiaca* (L.) Delile (Balanitaceae) nas margens dos sítios ativos de transmissão da esquistossomose, localizados no Sudão, África. Os frutos, quando caíam de exemplares da espécie vegetal, reduziam a densidade populacional de caramujos vetores, sem alterar a potabilidade da água (LEYTON et al., 2005).

No início da década de 1960, aplicou-se, pela primeira vez, extratos aquosos dos frutos de *Phytolacca dodecandra* L'Herit (Phytolaccaceae) em áreas de transmissão de *S. mansoni* na Etiópia. Estes extratos foram utilizados durante cinco anos nas campanhas de controle da esquistossomose e ajudaram na redução da prevalência da doença durante este período (KLOOS; MCCULLOUGH, 1982).

Os estudos com extratos, óleos essenciais ou constituintes químicos de plantas para o controle de caramujos transmissores têm sido realizados segundo a metodologia da OMS (1965). Para a avaliação da atividade moluscicida desses materiais vegetais, os pesquisadores se baseiam no guia da OMS, que considera como um bom moluscicida aquele que causar a morte de 90 a 100% dos moluscos adultos em concentração menor ou igual a 100 µg/mL. Além disso, este documento recomenda que o produto responsável pela toxicidade esteja presente em partes de fácil regeneração da planta em estudo, como folhas, flores, frutos e sementes, que o princípio ativo seja extraído preferencialmente com água e apresente estabilidade mesmo sob alterações físicas e químicas, como pH, luz solar e temperatura (WHO, 1983).

Muitos produtos vegetais têm demonstrado toxicidade contra caramujos dos gêneros *Biomphalaria*, *Bulinus* e *Oncomelania*. Schall et al. (1998) testaram o extrato aquoso do látex de *Euphorbia splendens* var. *hislopii* (NE Br.) Ursch & Leandri em espécimes de *Biomphalaria pfeifferi* Krauss, molusco transmissor de *S. mansoni* na África. No experimento, este extrato foi letal aos planorbídeos, apresentando uma CL<sub>90</sub> de 4 µg/mL.

Estes autores relataram que o uso do látex de *E. splendens* var. *hislopii* em criadouros naturais de *B. pfeifferi* é uma alternativa promissora para o controle da esquistossomose na África.

Lahlou e Berrada (2001) investigaram a atividade moluscicida de vinte e oito óleos essenciais isolados de plantas aromáticas coletadas em Marrocos. Os óleos essenciais de *Citrus aurantium* L. var. *valencia* Late e de *Origanum compactum* Benth. foram os mais tóxicos para *Bulinus truncatus* Audouin em menos de 24 horas de teste, na concentração de 0,28 e 0,44 µg/mL, respectivamente. A atividade moluscicida foi atribuída aos compostos fenólicos e aos da classe terpenos presentes nestes produtos vegetais.

Han et al. (2010), visando à obtenção de novos moluscicidas para serem utilizados no controle da esquistossomose na Ásia, testaram dezenove extratos de onze espécies vegetais do leste da China em caramujos *Oncomelania hupensis* Gredler, hospedeiros intermediários do parasito *Schistosoma japonicum* Katsurada. A fração n-butanol do extrato etanólico das folhas da espécie vegetal *Buddleja lindleyana* Fort foi ativa contra os moluscos testados, apresentando CL<sub>90</sub> de 59,28 µg/mL.

Espécies vegetais do Brasil, presentes principalmente nas regiões nordeste, centro-oeste e sudeste, já foram testadas em *B. glabrata* e demonstraram resultados promissores. Dentre estas, destacam-se as plantas *Byrsonima intermedia* Juss A. – Malpighiaceae (ALVES et al. 2000), *E. splendens* var. *hislopii* (NE Br.) Ursch & Leandri – Euphorbiaceae (SCHALL et al., 2001), *Marsypianthes chamaedrys* (Vahl) Kuntze – Lamiaceae (MENEZES et al., 1999), *Ocotea bracteosa* (Meisn.) Mez - Lauraceae (COUTINHO et al., 2007), e *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville – Fabaceae (BEZERRA et al., 2002).

Mais de quarenta constituintes químicos de plantas com potencial moluscicida em concentrações inferiores ou igual a 1 µg/mL foram isolados e identificados, mas os seus efeitos sobre a fisiologia e bioquímica dos caramujos ainda não foram elucidados. Os primeiros compostos identificados pertencem à classe das saponinas, cumarinas, flavonoides, sesquiterpenos, alcaloides, lactonas diterpênicas e taninos (RAPADO, 2007). Destes, os constituintes das classes saponinas e taninos foram os mais promissores (PARKHURST et al., 1973; HOSTETTMANN et al., 1982; BALDOQUI et al., 1999; LAGO et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2005; PEREIRA, 2013).

Na pesquisa e desenvolvimento de novos moluscicidas, é imprescindível a realização de testes ecotoxicológicos para a avaliação da segurança do emprego destes produtos em criadouros naturais dos caramujos transmissores. Os ensaios que utilizam como organismos-teste o microcrustáceo *A. salina* e o peixe *D. rerio* têm revelado serem ferramentas eficientes para a determinação da toxicidade ambiental de amostras vegetais com ação moluscicida,



além de serem métodos simples, de baixo custo e rápidos de serem executados (DIAS et al., 2013; PEREIRA et al., 2017).

### 3.2 Óleos essenciais

Os óleos essenciais, denominados também de óleos voláteis ou essências, são misturas de compostos químicos voláteis, de baixo peso molecular, que se apresentam na forma líquida oleosa, geralmente com odor intenso e característico. Sua produção está relacionada ao metabolismo secundário das plantas, sendo que nem todas as espécies vegetais os sintetizam. As plantas que produzem os componentes de óleos essenciais são chamadas de aromáticas (BAKKALI et al., 2008).

A principal função destas amostras voláteis na planta está relacionada à adaptação no meio ambiente, permitindo a sobrevivência do vegetal e podendo atuar na proteção contra predadores, pois apresentam ações inseticida e antimicrobiana. Podem ser encontrados nos diversos órgãos das plantas (raiz, caule, folhas, flores) e, geralmente, estão presentes em órgãos especializados chamados glândulas ou aparelhos secretores, tais como células secretoras, bolsas secretoras, canais e tricomas glandulares (BAKKALI et al., 2008; GONÇALVES, 2015).

Os óleos voláteis possuem grande importância econômica, pois são utilizados como matéria-prima na produção de alimentos, bebidas e cosméticos, e como coadjuvantes em medicamentos (BIZZO et al., 2009; STEFFENS, 2010). Estes produtos vegetais também são empregados como inseticidas, fungicidas e larvicidas no cultivo de frutas e hortaliças (RIBEIRO, 2016).

Diferentes métodos são utilizados para extrair os óleos essenciais. Todavia, dependendo da técnica a ser empregada, a constituição química destes óleos pode variar expressivamente (CASSEL et al., 2009). As técnicas mais utilizadas para a obtenção dos produtos vegetais voláteis são: destilação a vapor, hidrodestilação, extração por solventes orgânicos ou por fluido supercrítico, prensagem a frio e enfloração (LEITE-JÚNIOR, 2018).

O perfil químico dos óleos essenciais normalmente varia em relação ao número de constituintes, podendo apresentar de 20 a 200 compostos, classificados de acordo com suas concentrações na mistura em majoritários (20 a 95%), secundários (1 a 20%) e traços (menores que 1%) (SIMÕES et al., 2017). A composição destes óleos abrange terpenos, como mono e sesquiterpenos, raramente diterpenos, além de fenilpropanoides. Os compostos

terpênicos podem apresentar diferentes funções químicas, tais como hidrocarbonetos, álcoois, cetonas, aldeídos, ésteres, fenóis, éteres e outros (WILDWOOD, 1996).

Os monoterpenos são constituídos por duas moléculas isoprênicas ( $C_{10}H_{16}$ ) e sintetizados a partir da via do metileritritol, sendo importantes para a fabricação de medicamentos, perfumes ou biocombustíveis (MARMULLA; HARDER, 2014; YANG et al., 2014). O grupo dos sesquiterpenos é sintetizado em plantas superiores pela rota do mevalonato e apresenta um maior número de representantes de terpeno, incluindo cerca de 5000 substâncias orgânicas naturais, que podem ser oxigenadas ou não oxigenadas (MARTINS, 2012; BARTIKOVA et al., 2014).

Fenilpropanoides são metabólitos secundários constituídos por um anel aromático unido a uma cadeia de três carbonos e sintetizados a partir do aminoácido fenilalanina para proteção das plantas contra infecções, radiação ultravioleta e herbívoros (SILVA et al., 2014). Estes componentes podem ser detectados em proporções significativas em óleos voláteis de certas espécies vegetais, conferindo a estes produtos naturais um odor característico (JAKIEMIU, 2008).

A quantidade de compostos químicos, bem como seus teores relativos e rendimento dos óleos essenciais variam significativamente em plantas da mesma espécie (LEITE-JÚNIOR, 2018). A variabilidade química em uma espécie vegetal sugere a existência de diferentes quimiotipos e pode estar relacionada a fatores genéticos e climáticos, alterações na fisiologia, estágios de desenvolvimento ou tipo de material utilizado para extração, disponibilidade de nutrientes e método de coleta (GOBBO-NETO; LOPES, 2007; ANWAR et al., 2009; MORAIS, 2009; HARRAZ et al., 2014; SÁ et al., 2014).

Os óleos essenciais têm demonstrado importante potencial terapêutico e farmacológico. Dentre as atividades biológicas associadas a estas amostras voláteis, destacam-se as ações antioxidante (RUBERTO; BARATTA, 2000), antifúngica, bactericida, inseticida, anti-inflamatória, antiviral (ALI et al., 2015) e anti-hiperglicemiante (MOMTAZ; ABDOLLAHI, 2010).

Estudos também evidenciaram que os óleos essenciais são relevantes no combate ao agente etiológico e/ou vetor de doenças de grande importância epidemiológica. Augusto et al. (2020) avaliaram os efeitos do óleo essencial extraído do caule da planta *Eryngium triquetrum* sobre cercárias de *S. mansoni* e caramujos *B. glabrata* e demonstraram atividades cercaricida e moluscicida significativas, com 100% de mortalidade dos organismos testados nas concentrações de 0,5 e 10  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente. Govindarajan et al. (2016) investigaram o potencial larvicida do óleo essencial do rizoma de *Zingiber nimmonii* contra vetores da

malária, dengue e filariose linfática. Os autores observaram que o óleo volátil estudado apresenta toxicidade contra larvas em terceiro estágio dos mosquitos *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus*, com valores de CL<sub>50</sub> de 41,19, 44,46 e 48,26 µg/ml, respectivamente.

### **3.3 *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants (Amaranthaceae)**

A família Amaranthaceae apresenta predominância de ervas e subarbustos tropicais, reunindo 169 gêneros, cerca de 2.360 espécies vegetais e inclui representantes da família Chenopodiaceae (FANK-DE-CARVALHO et al., 2010; ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP, 2019). No Brasil, estão presentes 146 plantas deste grupo taxonômico, sendo 20 espécies com ocorrência exclusiva no segundo maior bioma do país, o Cerrado (FANK-DE-CARVALHO et al., 2012).

Esta família botânica é economicamente relevante no Brasil, com 7 gêneros e 20 espécies vegetais utilizados como alimentos e/ou para fins medicinais. Os gêneros que têm maior quantidade de espécies com importância econômica são *Alternanthera*, *Amaranthus* e *Gomphrena* (GOMES; BAO, 2010).

*Dysphania* consiste em um dos gêneros da família Amaranthaceae e inclui plantas com características peculiares, tais como: tricomas glandulares, pelos simples, nervuras foliares laterais bem desenvolvidas, inflorescência frondosa, caule ereto e geralmente pouco ramificado, perianto com glândulas subsessais e sementes de formato subsférico (MOSYAKIN; CLEMANTS, 2002; SHEPHERD; WILSON, 2008; SUKHORUKOV et al., 2015). Uma das espécies desse gênero que tem sido muito estudada e é considerada pela OMS como uma das plantas mais empregadas na medicina popular, é *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants, popularmente conhecida como erva-de-santa-maria, mastruz, epazote, ambrósia, quenopódio, erva-pomba-rola, erva-formigueira, chá-do-méxico, mastruço, erva-matapulga ou uzaidela (RIBEIRO, 2008; LIMA et al., 2011; BIBIANO et al., 2019).

*D. ambrosioides* apresenta como sinonímia e basônimo mais importante o nome científico *Chenopodium ambrosioides* L. Esta espécie foi transferida para o grupo *Dysphania* por questões morfológicas e após realização de estudos moleculares mais aprofundados (VERLOOVE, 2013). Consiste em uma herbácea que pode atingir até 1 m de altura e possui aroma forte, ciclo anual ou perene conforme o tipo de variedade, folhas com cinco lobos, de coloração verde pálido e borda dorsal serrilhada, e sementes marrons com ponta chanfrada (Figura 7) (GROZEVA; CVETANOVA, 2013; SÁ et al., 2015; SÁ et al., 2016).

**Figura 7.** *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants.



Fonte: Autoria própria (2021).

A espécie *D. ambrosioides* é silvestre ou cultivada, nativa da América Central e do Sul, com ocorrência também em outras regiões quentes e subtropicais (GRASSI et al., 2013; BRAHIM et al., 2015; SALIMENA et al., 2015; SILVA et al., 2015; REYES-BECERRIL et al., 2019). No Brasil, tem extensa distribuição, estando presente em praticamente todo o território (LIMAVERDE et al., 2017).

Na medicina tradicional, a planta é largamente utilizada em todo o país como um agente natural para o tratamento de inflamações, fraturas, diabetes, hipercolesterolemia, doenças parasitárias, gastrointestinais, respiratórias, vasculares e nervosas (COSTA; TAVARES, 2006; DEGENHARDT et al., 2016; CARVALHO et al., 2018; ASSAIDI et al., 2019). *D. ambrosioides* também é indicada para repelir insetos e eliminar tanto piolhos como pulgas (COSTA; TAVARES, 2006). A decocção ou infusão das folhas constitui a principal forma de uso da espécie vegetal (PEREIRA et al., 2010), porém o óleo essencial obtido de suas partes aéreas também é muito utilizado em algumas localidades (SÁ et al., 2015).

A literatura tem descrito diferentes e relevantes atividades biológicas do óleo essencial de *D. ambrosioides* e o destaca como anti-leishmania (MONZOTE et al., 2014), antibacteriano (BEZERRA et al., 2019), antifúngico (CORREA-ROYERO et al., 2010), antioxidante (KUMAR et al., 2007), acaricida (PAES et al., 2015), alelopático (HEGAZY; FARRAG, 2007), inseticida (JARAMILLO et al., 2012), larvicida (LEYVA et al., 2009), tripanomicida (BORGES et al., 2012) e schistosomicida frente a helmintos adultos da espécie *S. mansoni* (SOARES et al., 2017).

Em relação à composição química do óleo essencial de *D. ambrosioides*, estudos anteriores evidenciaram variação quanto ao composto majoritário e ao teor relativo de monoterpenos em função do local de coleta da planta (TAPONDJOU et al., 2002; CHEKEM et al., 2010; PAES et al., 2015). Esta variabilidade química pode ser associada aos fatores genéticos, alterações na fisiologia, ao material e técnica de extração ou à influência das condições ambientais (GOBBO-NETO; LOPES, 2007; ANWAR et al., 2009; SÁ et al., 2014), e permite a diferenciação de *D. ambrosioides* em quimiotipos, que são classificados de acordo com o componente majoritário identificado. Os quimiotipos reportados na literatura para a espécie vegetal são:  $\alpha$ -terpineno (MUHAYLMANA et al., 1998; ONOCHA et al., 1999; GUPTA et al., 2002; SINGH et al., 2008; OWOLABI et al., 2009; CHEKEM et al., 2010; JARAMILLO et al., 2012; SÁ et al., 2014), p-cimeno (TAPONDJOU et al., 2002), ascaridol (CAVALLI et al., 2004; DEGENHARDT et al., 2016), limoneno (SAGRERO-NIEVES; BARTLEY, 1995),  $\alpha$ -terpinil acetato (PINO et al., 2003), m-cimeno (PRASAD et al., 2009), o-cimeno (HARRAZ et al., 2014), cis de óxido de piperitona (SOARES et al., 2017) e  $\alpha$ -felandreno (LAHLOU; BERRADA, 2001).

A atividade moluscicida do óleo essencial da planta estudada já foi avaliada sobre outra espécie de caramujo transmissor da esquistossomose. No estudo de Lahlou e Berrada (2001), foi evidenciado a alta toxicidade do óleo volátil ( $CL_{90}$  de 0,74  $\mu\text{g/ml}$ ) da espécie coletada em Marrocos sobre moluscos *B. truncatus*. O composto predominante no óleo foi  $\alpha$ -felandreno, o qual pode ter sido responsável pelo efeito moluscicida.

Ensaio moluscicidas realizados por Frank et al. (2011) revelaram a eficácia do óleo essencial de *D. ambrosioides* contra planorbídeos do gênero *Biomphalaria*, coletados no município de Alegre, pertencente à região sul do estado do Espírito Santo (Brasil). A mortalidade de todos os moluscos testados foi obtida nas concentrações de 80 e 100  $\mu\text{g/ml}$ , no tempo de 6 horas de exposição ao óleo.

## *Capítulo I*



### **Essential oils as molluscicidal agents against schistosomiasis transmitting snails – a review**

*Artigo publicado na Revista Acta Tropica*

*Qualis Único: A1*

*Fator de Impacto: 2.555*

## Essential oils as molluscicidal agents against schistosomiasis transmitting snails – a review

**Luciana Patrícia Lima Alves Pereira<sup>a,\*</sup>, Edilene Carvalho Gomes Ribeiro<sup>a</sup>, Maria Cristiane Aranha Brito<sup>a,d</sup>, Daniella Patrícia Brandão Silveira<sup>b</sup>, Fernanda Oliveira Sousa Araruna<sup>a</sup>, Felipe Bastos Araruna<sup>a</sup>, José Antonio Costa Leite<sup>b</sup>, Andressa Almeida Santana Dias<sup>d</sup>, Wellyson da Cunha Araújo Firmo<sup>c</sup>, Marilene Oliveira da Rocha Borges<sup>a,b</sup>, Antônio Carlos Romão Borges<sup>a</sup>, Denise Fernandes Coutinho<sup>a,b</sup>**

<sup>a</sup> *Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Renorbio, Universidade Federal do Maranhão, 65065-545, São Luís, Maranhão, Brazil. \*Corresponding author: llucianapatricia@yahoo.com.br*

<sup>b</sup> *Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal do Maranhão, 65065-545, São Luís, Maranhão, Brazil*

<sup>c</sup> *Universidade Ceuma, 65075-120, São Luís, Maranhão, Brazil*

<sup>d</sup> *Faculdade Maurício de Nassau, 65040-840, São Luís, Maranhão, Brazil*

**Abstract** This review aims to describe essential oils with bioactivity on adult snails of the genera *Bulinus* and *Biomphalaria*, which are intermediate hosts of schistosomes, and brings together information relating to the importance of molluscicides and the chemical composition and toxicity of such oils for other aquatic species. Papers, dissertations and theses on the molluscicidal activity of essential oils against schistosomiasis transmitting snails were researched from various available online databases and the keywords used in the bibliographic survey consisted of “essential oils”, “molluscicidal activity”, “molluscicide”, “snails” and “schistosomiasis”, which were present in the title and/or abstract. Analysis of the data of original articles revealed that 50 essential oils obtained from 46 plant species were evaluated for molluscicidal activity against the genera cited. More than 80% of the volatile oils studied were active, according to the criteria of the World Health Organization ( $LC_{90}$  or  $LC_{100} \leq 100 \mu\text{g/mL}$  or  $LC_{50} < 40 \mu\text{g/mL}$ ), and most of the oils came from plants belonging to

the Rutaceae, Lamiaceae and Pinaceae. Around 37% of the surveyed plant species were obtained in Brazil and 88% of these plants were collected in the northeast of the country, a region with a high prevalence of schistosomiasis mansoni. The essential oils with the highest toxicity against host snails had high levels of hydrocarbon monoterpenes and oxygenated monoterpenes, which may be responsible for the molluscicidal activity. Some volatile components were subjected to molluscicidal evaluation, and the monoterpene compounds exhibited a significant molluscicide effect. This review confirmed the importance of essential oils as a promising alternative for the development of natural molluscicide products. However, in order to be safe for use at sites where schistosome intermediate hosts are found, information on ecotoxicity is required and, to date, few oils have been tested against non-target aquatic species.

Keywords - Essential oils; Molluscicidal activity; Vector snails; Schistosomiasis.

## 1. Introduction

Digenetic trematodes are helminths which are responsible for causing infections in groups of invertebrates and vertebrates (Crotti, 2013). They can be found parasitizing different parts of the human body, such as the blood vessels, the gastrointestinal tract, lungs, or liver; the affected organ is directly associated with the parasite species (Frezza et al., 2017). Species of *Schistosoma* are responsible for infections of the blood vessels of the digestive or urinary system, subsequently causing a serious disease in humans, schistosomiasis (Kebed et al., 2018).

Schistosomiasis is the most important helminth infection in humans in terms of morbidity and mortality, affecting more than 250 million people in 76 countries (Steinmann et al., 2006). It is estimated that 4.5 million disability-adjusted life years (DALYs) are lost as a result of the acute and chronic symptoms of this disease (Vos et al., 2012).



There are three main species of *Schistosoma* responsible for the disease in humans - *Schistosoma mansoni*, *Schistosoma haematobium* and *Schistosoma japonicum*, – all of which have similar life cycles, and depend on mollusks of the genera *Biomphalaria*, *Bulinus* and *Oncomelania*, respectively, as intermediate hosts (Cantanhede et al., 2010). *S. mansoni* is the only species present in the western hemisphere, being found in regions of South America. The intermediate hosts of this trematode primarily are *Biomphalaria glabrata*, *Biomphalaria tenagophila* and *Biomphalaria straminea*. These snails have a wide geographical distribution and are decisive in the transmission cycle of schistosomiasis, as once infected they release hundreds of larval forms that penetrate humans and some rodent species (Braga, 2012; Miranda et al., 2015).

The control of intermediate host mollusks is a promising strategy for combatting schistosomiasis. It is effective in the transmission phase, as it interrupts the life cycle of the parasite and, consequently, prevents the risk of infection and reinfection of the main definitive host, humans (McCullough et al., 1980; Cantanhede et al., 2010).

Plant derivatives can exhibit molluscicidal action (Rocha-Filho et al., 2015; Mandefro et al., 2017; Faria et al., 2018). Essential oils, for example, are being increasingly studied and described as potent molluscicides at low concentrations. Volatile oils are generally present in the specialized histological structures of a wide variety of plants and are characterized as complex mixtures of volatile and lipophilic chemicals from the secondary metabolism, which are not directly related to plant growth, development and reproduction (Lupe, 2007; García and Carril, 2011). Some authors have related the molluscicidal action of essential oils to the richness and complexity of the compounds present in their composition, which make it difficult for mollusks to become resistant to the essential oils (El-Kamali et al., 2010; Salama et al., 2012; Ribeiro, 2016).

Due to the high molluscicidal potential of essential oils, this paper presents a critical review of the current state of the effects of essential oils on the mortality of snails involved in schistosomiasis transmission. The search for natural molluscicides is important, since the use of synthetic compounds can cause impacts to the environment, as they are products with low biodegradability and non-selective toxicity (Lopes et al., 2011). The present review also provides information related to the importance of molluscicides, as well as reports on the chemical composition of the studied essential oils and their toxicity to other aquatic species.

This review was based on scientific studies searched from various available online databases such as Scielo, Web of Science, PubMed, Google Scholar and Science Direct. The keywords used in the bibliographic survey consisted of “essential oils”, “molluscicidal activity”, “molluscicide”, “snails” and “schistosomiasis”, which were present in the title and/or abstract. Inclusion criteria were papers, dissertations and theses on the molluscicidal activity of essential oils against schistosomiasis transmitting snails, without indicating time limit. Oils evaluated on species of snails that don’t transmit schistosomiasis were excluded from the literature search. The botanical families were organized according to the APG IV system (Stevens, 2017) and the scientific names and synonyms of plant species were written according to Tropicos (2019).

## **2. Control of transmission of schistosomiasis by molluscicides**

The application of molluscicides in natural breeding sites of *S. mansoni* host snails is a recommended practice by the World Health Organization (WHO) (WHO, 2013). Molluscicides can be classified as synthetic or natural. With regards to synthetic molluscicides, several substances with molluscicidal action have been tested on a large scale, though few stood out in terms of efficacy. Among synthetic products, the only molluscicide recommended in schistosomiasis control campaigns is niclosamide, commercially known as

Bayluscide® (WHO, 2002). This is a highly efficient product against all development stages of *Biomphalaria* and also larval forms of *Schistosoma*, even at low concentrations (Mata et al., 2011). However, it is toxic to aquatic plants, fish and amphibians, and recolonization of snail populations was identified after months of niclosamide application (Coura-Filho et al., 1992; Famakinde, 2018; Chen et al., 2019). These factors have led to the disuse of niclosamide.

Due to the severity of the disease and the high cost of niclosamide, there is a global interest in development of natural molluscicides for the control of schistosomiasis. Such interest dates from 1930, with the planting of *Balanites aegyptiaca* L. (Balanitaceae), a tree typical of the African desert, when it was observed that the fruits of the tree reduced snail density (Archibald, 1933). Since then, studies searching for bioactives originating from plants have intensified, with several reports in literature on plants and their active principles, which are studied for their molluscicidal potential. From this perspective, the discovery of new plant molluscicides which may be more selective to *Biomphalaria* snails and less harmful to the aquatic environment has been supported, due to the urgent need to combat schistosomiasis (Coelho and Caldeira, 2016; Silva et al., 2018).

The methodology for investigating molluscicidal activity is almost exclusively based on the method advocated by the WHO (1965), from which researchers make slight adjustments according to their needs. This methodology indicates the ideal conditions for bioassay, as well as the size of snails to be used, the suitable volume of snail molluscicide solution, the time of exposure and the time-concentration relationships. The WHO recently published guidelines on laboratory screening and field efficacy testing of molluscicides, so that different laboratories and institutions carry out the same test procedures, generating comparable efficacy trial data essential for the registration of these products by the national regulatory authorities (WHO, 2019).

In terms of the evaluation of the studied activity, according to a WHO document published in 1965, a plant extract is considered active when it produces snail mortality in the range of 70-100%, partially active when there is 40 to 60% mortality, and inactive if it does not cause snail mortality or causes mortality of up to 30% of the treated snails within 24 hours of exposure (WHO, 1965). However, a 1983 WHO publication updated the classification of plants considered molluscicidal and determined that a molluscicidal plant is considered active when it causes 90% mortality at concentrations of 20 ppm for isolated compounds and 100 ppm for extracts, within 24 hours of exposure (WHO, 1983).

Considering the classification of molluscicidal plant species as active or inactive, Hostettmann et al. (1982) established the following evaluation criterion: plant species that have a lethal concentration of 90% (LC<sub>90</sub>) below 400 ppm are considered bioactive. Even so, there is consensus among researchers to evaluate the molluscicidal capacity of a plant according to the criteria established by the WHO (1983), even though their studies have found values divergent or superior to these criteria (Ribeiro, 2016; Leite-Júnior, 2018).

It is noteworthy that the values normalized by the WHO, theoretically, suggest a limit based to ensure the toxic effects caused by the compounds present in the plant are as low as possible for non-target organisms. Thus, a lower concentration of the lethal dose for snails results in a lower amount of material used and better conditions for the use of these compounds in the environment (Moreira et al., 2010).

### **3. Molluscicidal activity of essential oils against schistosomiasis transmitting snails**

The review of literature showed that 50 essential oils obtained from 46 plant species have been tested for molluscicidal activity against schistosome transmitting snails. The molluscicide evaluation studies used plants distributed among 13 families, with Lamiaceae, Rutaceae, Myrtaceae and Pinaceae representing 19.56%; 19.56%; 13.04% and 10.86%,

respectively, of the species studied. In other reviews on the molluscicidal activity of plant samples, the most representative groups were Asteraceae, Annonaceae and Euphorbiaceae, which had the highest number of plants evaluated (Singh et al., 1996; Cantanhede et al., 2010; Pereira, 2013). Table 1 summarizes the plant species studied, as well as the characteristics of their essential oils.

The freshwater mollusks used in the studies surveyed belonged to the species *Bulinus truncatus*, *Biomphalaria peregrina*, *B. glabrata*, *B. tenagophila*, *Biomphalaria pfeifferi* and *Biomphalaria alexandrina*. The *B. truncatus* snail typically occurs in Africa and acts as an intermediate host of *S. haematobium*, the trematode helminth that causes urinary schistosomiasis in over 50 countries in Africa and the Middle East (Rey, 2008; Bakry and Abu-El-Einin, 2008; Abe et al., 2012; Bolaji et al., 2015). *Biomphalaria* species, with the exception of *B. peregrina*, are found naturally infected by *S. mansoni*, and play an important role in the transmission of schistosomiasis mansoni in Brazil and Africa, respectively (Olasehinde and Oyerinde, 2007; Paraense, 2008; Neves, 2016).

For the essential oils to be considered as good molluscicide candidates, they should cause 90 to 100% mortality of adult snails at concentrations less than or equal to 100 µg/mL or 50% at concentrations below 40 µg/mL, besides being obtained from plants easily cultivated and abundant in endemic areas for schistosomiasis, and having low toxicity to non-target organisms (WHO, 1983; 1993; Marston et al., 1993). Considering the standard criterion for the evaluation of molluscicidal activity, it was found that 82% of the volatile oils studied were active, with  $LC_{90}$  or  $LC_{100} \leq 100$  µg/mL or  $LC_{50} < 40$  µg/mL, while 18% showed no activity. Most of the active oils come from plants belonging to the Rutaceae (16%), Lamiaceae (14%) and Pinaceae (10%). These data demonstrate both the biological potential and relevance of these families as a criterion for the selection of plants for research aimed at

the discovery of new substances with toxic properties for epidemiologically important mollusks.

The most active essential oils were from the fruit of *Citrus aurantium* var. *valencia* Late (LC<sub>90</sub>= 0.37 µg/mL), the aerial parts of *Origanum compactum* Benth. (LC<sub>90</sub>= 0.69 µg/mL), the needles of *Cedrus atlantica* (Endl.) Carriere (LC<sub>90</sub>= 0.69 µg/mL) and the aerial parts of *Chenopodium ambrosioides* L. (LC<sub>90</sub> = 0.74 µg/mL) (Lahlou and Berrada, 2001; Lahlou, 2003). The LC<sub>90</sub> values of these plant products are lower than the lethal concentration of the reference molluscicide niclosamide (1 µg/mL) for *Biomphalaria* species in laboratory (Wang et al., 2018; Araújo et al., 2019).

Volatile samples were extracted from plant specific structures such as the aerial parts, leaves, fruits, fruit peel, needles, flowers, rhizomes, resin and stem bark. Aerial parts were predominant in the studies, representing the source of 34% of the extracted oils. However, only 76.47% of the essential oils obtained from the aerial parts were active, while over 85% of leaf-derived oils exhibited molluscicidal activity. According to WHO (1983), Marston and Hostettmann (1985) and Marston et al. (1993), when testing molluscicidal activity, the ideal approach is to use easily regenerating plant organs such as leaves, fruits, flowers and seeds.

Essential oils obtained from the same plant collected in two locations in Brazil expressed divergent results in the molluscicidal evaluations. The volatile oil extracted from the aerial parts from *Lippia gracilis* Schauer collected in Maranhão, Brazil, exhibited high toxicity to *B. glabrata*, with a LC<sub>90</sub> value of 27.41 µg/mL, while oil from the leaves of the plant obtained in Sergipe, Brazil, showed a LC<sub>90</sub> value of 82.8 µg/mL against this species (Teles et al., 2010; Ribeiro, 2016). The essential oil of the aerial parts of *Chrysanthemum viscidhirtum* (Schott) Tell evaluated in *Bulinus truncatus* by Khallouki et al. (2000) and Lahlou and Berrada (2001) caused different toxic effects, with an LC<sub>100</sub> of 1500 µg/mL and an LC<sub>90</sub> of 1.45 µg/mL, respectively. According to Sukumar et al. (1991), the biological

activity of a plant species can vary according to the part used (leaf, stem bark, root, flower, fruit and seed), the extraction procedure, the geographical and climatic situations of the plant collection site, and the methods and conditions applied in plant nutrition and cultivation. Chemical variability within plant species can also influence its bioactivity. Lima et al. (2018) evaluated the seasonal influence on chemical composition and acaricidal activity against *Rhipicephalus microplus* larvae of the essential oil of *Ocimum gratissimum* L. There was a quantitative variation of volatile constituents according to the season in which the leaves of the plant were collected, being observed high concentration of one of the main compounds, *p*-cymene, in the oil obtained in the dry season, which demonstrated better acaricidal effect (LC<sub>50</sub>= 0.84 mg/mL). The authors associated the high toxicity of dry season oil to *R. microplus* with the increase in the *p*-cymene content.

About 37% of the plant species tested were collected in Brazil, and 88% of these plants were obtained from different areas of the northeast of the country, a region whose states are among the most affected by schistosomiasis, with endemic areas, significant prevalences of the disease, and high rates of hospitalization and mortality (Brasil, 2018). The results of these toxicity tests of plants from Brazil indicate that these natural resources represent an option for the production of effective molluscicides for the control of schistosomiasis in transmission sites. In Brazil, it is estimated that more than 36,000 plant species have already been identified and cataloged (Filardi et al., 2018), however, more optimal uses and more scientific studies of these plants are needed (Dias and Moraes, 2014).

The elucidation of the physiological and biochemical performance of plant products on the metabolism of mollusks is fundamental for their use as molluscicides in areas where schistosomiasis is endemic. The essential oils discussed in this review were evaluated for their molluscicidal properties, but were not submitted to further studies indicating their mechanism of toxicity on snails. As a criterion for the mortality of mollusks, several authors have

considered important parameters, such as those described by Miyasato et al. (2012) and Tallarico et al. (2014): immobility, shell discoloration, visceral mass exposure, the retraction of the cephalopodal mass into the shell, with or without hemolymph release, absence of a heartbeat, among others. Information regarding the mechanism of action of molluscicides is limited, but it may act on more than one system (Rapado et al., 2011). According to literature, molluscicides may inhibit mollusk heartbeats; cause tissue swelling; alter the osmotic balance controlled by a neurohormonal process; and modify the chloride levels in neurons, affecting bicarbonate transport and increasing neuronal excitability (McCullough et al., 1980; Adewunmi and Adesogan, 1986).

Although essential oils have shown potential as molluscicides, their low water solubility and the instability of their constituents when exposed to light, air and high temperatures compromise their effectiveness, dispersion and permanence in the aquatic environments of snails (Araújo et al., 2019; Pavela et al., 2019). To solve problems of hydrosolubility and stability of essential oils, researchers have used nanotechnology as an ally, processing the oils into appropriate formulations, such as nanoemulsions (NEs) and microemulsions (MEs) (Echeverría and Albuquerque, 2019; Pavela et al., 2019). In NEs and MEs the oil droplet size is typically in the range 20-200 nm and 10-200 nm, respectively (Jaiswal et al., 2015; Soradech et al., 2018). These formulations are thermodynamically stable, prevent degradation of the essential oils active compounds and increase their bioavailability, as well as promoting the interaction of these substances with biological membranes (Xavier-Junior et al., 2016; Lu et al., 2018).

Evaluation of molluscicidal activity of NEs of essential oil has been done by Araújo et al. (2019), and the study indicated the need for further research on such formulations for more efficient and large-scale use of essential oils in schistosomiasis control. These authors investigated the effect of NEs containing the essential oil of the plant *Xylopiya ochrantha* Mart.



(Annonaceae) on *Biomphalaria* species from two regions of Brazil. The nanoemulsion with a hydrophilic-lipophilic balance (HLB) of 9.26 demonstrated greater ability to distribute vegetable oil and caused mortality of *B. tenagophila*, *B. straminea* and *B. glabarata* of different sizes at rates ranging from 50 to 100%, over a 24 h exposure period. The formulation also showed toxicity to eggs produced by snails, inhibiting their development at concentrations of 47 and 78 ppm in 24 h of treatment. The toxicity of the nanoemulsion to non-target aquatic organisms has not been evaluated.

#### **4. Chemical composition of essential oils**

The chemical profile of a volatile oil normally varies in relation to the number of constituents, and can present from 20 to 200 compounds, classified according to their concentrations in the mixture as major (20 to 95%), secondary (1 to 20%) and traces (less than 1%) (Simões et al., 2017). In their constitution, essential oils mainly include terpenic substances and phenylpropanoids, which give it its organoleptic characteristics, as well as other molecules such as organic acids, lactones, coumarins, aldehydes, phenols, short chain ketones and sulfur-containing compounds (Vallilo et al., 2006; Bizzo and Rezende, 2009; Alcântara, 2015; Tohidi et al., 2019).

The chemical composition of the volatile oils used in the molluscicidal assessments was also studied, in order to identify the compounds that were likely to be responsible for molluscicide effect. Chemical analysis showed that the major constituents of the oils belonged to the monoterpene, sesquiterpene, phenylpropanoid, ester and ketone classes, and to other undefined classes. However, a predominance of terpene classes was observed (Table 1). According to Silva et al. (2009) and Alcântara (2015), the most commonly found terpenes in essential oils are mono and sesquiterpenes. Monoterpenes are made up of two isoprenic molecules ( $C_{10}H_{16}$ ) and synthesized from the methylerythritol pathway, being important for

the manufacture of medicines, perfumes or biofuels, as well as demonstrating various biological effects, highlighting their insecticide, larvicide, fungicide, molluscicide and cercaricide potential (Marmulla and Harder, 2014; Michaelakis et al., 2014; Yang et al., 2014; Kweka et al., 2016; Zhang et al., 2016). The sesquiterpenes group is synthesized in higher plants by the mevalonate route, presenting a greater number of terpene representatives, as it includes about 5000 natural organic substances, which may be oxygenated or non-oxygenated (Martins, 2012; Bartikova et al., 2014). The biological actions of sesquiterpenes described in literature are mainly antimicrobial, antitumor, schistosomicide, antileishmanial, antiprotozoal, anti-inflammatory and antiulcerogenic (Klopell et al., 2007; Matejić et al., 2010; Wube et al., 2010; Rabito et al., 2014; Abe et al., 2015; Almeida et al., 2016).

The most toxic essential oils for vector mollusks include a high content of the hydrocarbon monoterpenes  $\alpha$ -phellandrene, p-cymene,  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinene, limonene and myrcene in their composition, and a predominance of carvacrol oxygenated monoterpene (Table 1). The molluscicidal activity of the oils can be attributed to the presence of these main compounds, but the possibility that the action may be triggered by the compounds with lower concentrations or by the synergism of the major and minor constituents of the essential oils cannot be ruled out. According to Zhai et al. (2018), the actions of essential oils are likely to result from the effects of all the secondary metabolites present and their interactions; however, two or three predominant substances in the volatile mixture may contribute to their primary property. Bakkali et al. (2008) report that, although major compounds generally determine the bioactivity of essential oils, it is possible that the biological property is due to the synergism of the constituents. An example of synergistic interactions between components of essential oils, is the action of the two main compounds of rosemary oil, the monoterpenes 1,8-cineole and camphor, against the insect *Trichoplusia ni*. It was observed that in individual topical administration from the compounds in the larvae of the studied insect 1,8-cineole

showed greater toxicity, while in the direct injection method camphor was more toxic. However, an assay combining injection and topical application methods showed that the mixture of these constituents promotes an increase in the penetration of both into the cuticle of the larvae, which contributes to the same larvicidal effect observed for larger amounts applied separately (Tak and Isman, 2015).

The molluscicidal effect of essential oils extracted from the same plant species may vary according to their chemical composition. Essential oils, as well as secondary metabolites, represent a chemical interface between plants and the surrounding environment, so their synthesis and proportions in plants are often affected by environmental conditions. From this perspective, variations in the chemical composition of the essential oil of the same species from different regions can be attributed to differences in climatic and geographical parameters, such as temperature, rainfall, soil type, among other environmental factors that influence the production of secondary metabolites (Gobbo-Neto and Lopes, 2007), and may consequently influence the performance of molluscicidal activity. Such chemical variability can be managed through blending of oils or extracts from different batches, as described by Isman (2017).

Understanding the relationship between essential oils and their molluscicidal activity can be achieved through studies involving their isolated main compounds. Several studies have sought to compare the action of essential oil with the activity of its major component, and molluscicidal evaluations involving 29 volatile components were found, distributed among hydrocarbon and oxygenated monoterpenes, phenylpropanoids, hydrocarbon and oxygenated sesquiterpenes, triterpenes and other non-identified groups. Among these evaluated constituents, 12 (41.37%) monoterpenic substances exhibited high toxicity for intermediate hosts at concentrations below the maximum dose (20  $\mu\text{g/mL}$ ) determined by the WHO for the molluscicidal evaluations of isolated compounds (Table 2). Considering these

results, it can be inferred that monoterpenes have the potential to be used as raw material for the production of new sustainable molluscicides.

Some constituents of essential oils were tested on both *B. glabrata* and *B. truncatus*, and the data revealed a varying response of the two species to most of the evaluated compounds, indicating greater sensitivity in *B. truncatus*. However, the mollusks demonstrated tolerance to the monoterpenes 1,8-cineole and linalool, with an absence of mortality in the experiments, which led to the classification of these volatiles as inactive (Table 2). Different reactions to the tested constituents may be associated with the physiology of the snails, which was probably influenced by the environmental factors of the collection site, with *B. truncatus* collected in Morocco and *B. glabrata* collected in Brazil.

The study of the chemical composition and biological activity of essential oils is important for the development of plant derived molluscicides. Gaps in knowledge of the chemistry related to biological activity may result in less use of molluscicidal plants. Another challenge for the use of plant molluscicides relates to their toxicity and safety for the environment, and they should therefore be investigated to ensure complete efficacy.

## **5. Toxicity of essential oils for non-target organisms**

Essential oils generally have a versatile chemical composition and as result, studies are required that evaluate their constitution and determine the content of their active constituents, which may vary according to season (Gobbo-Neto and Lopes, 2007). Knowledge of the chemical composition of volatile oils helps in the discovery of new biological actions, such as molluscicidal activity, but in order to ensure the bioprospecting potential of these oils, information on their toxicity must be given, emphasizing ecotoxicity tests (Dias et al., 2013; Rodrigues et al., 2013).

Ecotoxicological tests consist of the evaluation of the adverse effects of chemicals on aquatic organisms and humans (Guimarães, 2014). The toxicity of a chemical compound, depending on the exposure process, acts on the susceptibility of an organism and may directly influence its habitat, transforming its metabolism, lifestyle and reproductive capacity (Carvalho and Pivoto, 2011).

Organisms of different trophic levels are used in ecotoxicity tests to obtain a more detailed view of the possible degree of toxicity of a compound (Rapado, 2012). Microcrustaceans, such as *Artemia salina* Leach, are widely used as invertebrate test organisms in environmental toxicity assessments and are associated with the verification of the toxic activity of plant samples with molluscicidal properties (Silva-Filho et al., 2009; Teles et al., 2010; Dias et al., 2013; Rodrigues et al., 2013). According to Dolabela (1997), plant products with an LC<sub>50</sub> to *A. salina* lower than 80 µg/mL present high toxicity, those with LC<sub>50</sub> between 80 to 250 µg/mL are of moderate toxicity and the with LC<sub>50</sub> greater than 250 µg/mL have low toxicity.

Other aquatic organisms have been used to evaluate the ecotoxicity of products of plant origin, such as *Danio rerio* fish, popularly known as “*paulistinha*” or zebrafish. This species is used to determine real-time toxicity of the product studied on vertebrates as well as to observe possible physiological and behavioral changes. The test with *D. rerio* fishes lasts 48 hours and the results obtained are expressed in lethal concentrations (LC<sub>50</sub> and LC<sub>90</sub>) (Rapado, 2012).

Of the total essential oils evaluated for molluscicidal activity, described in Table 1, less than half (25%) were also submitted to ecotoxicity tests, demonstrating the need for information on the safety of the use of other oils studied in the field, considering the determinations of the WHO (1983). Most volatiles used in toxicity assays against non-target organisms were evaluated on *A. salina* larvae. The essential oils of the leaves of *L. gracilis*

and *Pimenta dioica* (L.) Merr. showed high toxicity to the microcrustacean, with LC<sub>50</sub> of 23.6 and 14.13 µg/mL, respectively (Teles et al., 2010; Everton et al., 2018). Oils extracted from leaves of *Cinnamomum zeylanicum* Blume, of *Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor and *Syzygium cumini* (L.) Skeels, from the fruit peels of *Citrus x limon* (L.) Osbeck and rhizome of *Zingiber officinale* Roscoe were moderately toxic, with LC<sub>50</sub> ranging from 96.81 to 190.55 µg/mL (Fernandes, 2011; Dias et al., 2013; Rodrigues et al., 2013; Carvalho, 2018; Gomes et al., 2019a). Silva-Filho et al. (2009), Leite-Júnior (2018) and Gomes et al. (2019c) reported low toxicity against *A. salina* for volatile samples of *Curcuma longa*, *Citrus limon* (L.) Osbeck and *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, respectively. The respective LC<sub>50</sub> values of these essential oils were 319.82, 743.35 and 511.6 µg/mL. From these data, it can be inferred that only the oils of *C. longa* and *C. limon*, with molluscicidal action and low toxicity to non-target species, are considered ideal for the development of molluscicides.

It should be highlighted that only the essential oils from aerial parts of the *Eugenia punicifolia*, *Hyptis dilatata*, *Lippia acutidens* and *L. gracilis* species, of which the molluscicidal effect was evaluated (Table 1), were submitted to acute toxicity tests with *D. rerio* fish. All volatile oils demonstrated ichthyotoxicity, especially *L. gracilis* oil, which showed high toxicity, with an LC<sub>90</sub> value of 8.36 µg/mL (Ribeiro, 2016). Such plant materials are also not recommended as natural molluscicides for use in areas where both mollusks and other aquatic species are found. However, these essential oils can be used in artificial breeding sites of schistosome intermediate hosts such as ditches, open sewers and pools of water, as the presence of other organisms is rarely observed at these sites. It is noteworthy that in poor countries, which have low levels of sanitation, these artificial breeding sites represent important focus areas for schistosomiasis-transmitting snails.

## 6. Conclusion

The present review confirmed the importance of essential oils as raw material for the development of natural molluscicide products. Compounds of the monoterpene class exhibited significant molluscicidal activity, with thymol, camphene and geraniol standing out. These monoterpenes may be alternative chemical agents for the control of schistosome intermediate hosts.

Essential oils obtained from the same plant may exhibit different toxic effects on vector mollusks. Such effects may be related to the part of the plant used or its origin.

Although most of the volatile oils discussed in this article have molluscicidal potential against *Bulinus* and *Biomphalaria* snails, so far, few oils have been subjected to acute toxicity testing against non-target organisms. For the use of essential oils to be safe at the sites of occurrence of intermediate *Schistosoma* hosts, further studies are required to provide information regarding their ecotoxicity, in accordance with the guidelines of the WHO.

## Competing interests

The authors declare there are no competing interests.

## Acknowledgments

The authors are grateful to the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel and to the Scientific and Technological Research and Development Support Foundation of Maranhão for financial grants through the concession of scholarships and financial support.

## References

- Abe, A.E., Oliveira, C.E., Dalboni, T.M., Chagas-Paula, D.A., Rocha, B.A., Oliveira, R.B., Gasparoto, T.H., Costa, F.B., Campanelli, A.P., 2015. Anti-inflammatory sesquiterpene lactones from *Tithonia diversifolia* trigger different effects on human neutrophils. *Rev. Bras. Farmacogn.* 25, 111–116. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjp.2015.01.005>.
- Abe, E.M., Oluwole, A.S., Ojo, D.A., Idowu, O.A., Mafiana, C.F., Braide, E.I., Ekpo, U.F., 2012. Predicting the geo-spatial distribution of *Bulinus* snail vector of urinary schistosomiasis in Abeokuta, South Western Nigeria. *The Zoologist* 10, 53-60.
- Adewunmi, C.O., Adesogan, E.K., 1986. Toxicology of some Nigerian plants used in schistosomiasis control. I. The effect of molluscicides on molluscan hearts. *Fitoterapia* 57, 353-358.
- Alcântara, J.M., 2015. Composição química e potencial biológico dos óleos essenciais de Annonaceae dos Campi INPA E UFAM. Dissertação, Universidade Federal do Amazonas.
- Almeida, L.M.S., Carvalho, L.S.A., Gazolla, M.C., Pinto, P.L.S., Silva, M.P.N., Moraes, J., Silva Filho, A.A., 2016. Flavonoids and sesquiterpene lactones from *Artemisia absinthium* and *Tanacetum parthenium* against *Schistosoma mansoni* worms. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 1-9. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/9521349>.
- Alva, M., Popich, S., Borkosky, S., Cartagena, E., Bardon, A., 2012. Bioactivity of the essential oil of an Argentine collection of *Acanthospermum hispidum* (Asteraceae). *Nat. Prod. Commun.* 7, 245-248.
- Araújo, F.P., Albuquerque, R.D.D.G., Rangel, L.S., Caldas, G.R., Tietbohl, L.A.C., Santos, M.G., Ricci-Júnior, E., Thiengo, S., Fernandez, M.A., Santos, J.A.A., Faria, R.X., Rocha, L., 2019. Nanoemulsion containing essential oil from *Xylopia ochrantha* Mart. produces molluscicidal effects against different species of *Biomphalaria* (*Schistosoma* hosts). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 114, 1-8. doi: 10.1590/0074-02760180489.
- Archibald, R.G., 1933. The use of the fruit of the tree *Balanites aegyptiaca* in the control of schistosomiasis in the Sudan. *T. Roy. Soc. Trop. Med. H.* 27, 207-210. [https://doi.org/10.1016/S0035-9203\(33\)90011-5](https://doi.org/10.1016/S0035-9203(33)90011-5).
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M., 2008. Biological effects of essential oils – a review. *Food Chem. Toxicol.* 46, 446–475. doi:10.1016/j.fct.2007.09.106.
- Bakry, F.A., Abu-El-Einin, H.M., 2008. Estimation of protein and free amino acids in *Bulinus truncatus* snail infected with *Schistosoma haematobium* or *Echinoparyphium recurvatum*. *Egypt. J. Exp. Biol.* 4, 89-95.
- Bartikova, H., Hanusova, V., Skalova, L., Ambroz, M., Bousova, I., 2014. Antioxidant, pro-oxidant and other biological activities of sesquiterpenes. *Curr. Top. Med. Chem.* 14, 2478-2494.
- Belmain, S.R., Amoah, B.A., Nyirenda, S.P., Kamanula, J.F., Stevenson, P.C., 2012. Highly variable insect control efficacy of *Tephrosia vogelii* chemotypes. *J. Agric. Food Chem.* 60, 10055–10063. [dx.doi.org/10.1021/jf3032217](http://dx.doi.org/10.1021/jf3032217).
- Bizzo, H.R., Hovell, A.M.C., Rezende, C.M., 2009. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. *Quim. Nova* 32, 588-594.
- Bolaji, O.S., Elkanah, F.A., Ojo, J.A., Ojurongbe, O., Adeyeba, O.A., 2015. Prevalence and intensity of *Schistosoma haematobium* among school children in Ajase-Ipo, Kwara State, Nigeria. *AJBPS* 5, 06-11.
- Braga, L.B., 2012. *Biomphalaria tenagophila guaiabensis* (Mollusca: Planorbidae): avaliação da suscetibilidade a *Schistosoma mansoni* e do status de subespécie. Dissertação, Centro de Pesquisas René Rachou.



- Brasil, 2018. Esquistossomose: causas, sintomas, tratamento, diagnóstico e prevenção. <http://portalms.saude.gov.br> (accessed 24 October 2018).
- Cantanhede, S.P.D., Marques, A.M., Silva-Souza, N., Valverde, A.L., 2010. Atividade moluscicida de plantas: uma alternativa profilática. *Rev. Bras. Farmacogn.* 20, 282-288. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2010000200024>.
- Carvalho, A.C.M., 2018. Controle da esquistossomose: atividade moluscicida e cercaricida do óleo essencial de *Citrus x limon* (L.) Osbeck. Dissertação, Universidade Federal do Maranhão.
- Carvalho, N.L., Pivoto, T.S., 2011. Ecotoxicologia: conceitos, abrangência e importância agrônômica. *Revista Eletrônica do PPGEAmb-CCR/UFSM* 2, 176 –192.
- Chen, Z., Wang, W., Yao, J., Li, S., Zhang, X., Hu, H., Liu, X., Luo, B., Liu, Y., Xu, H., Duan, L., 2019. Toxicity of a molluscicide candidate PPU07 against *Oncomelania hupensis* (Gredler, 1881) and local fish in field evaluation. *Chemosphere* 222, 56-61. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.01.102>.
- Coelho, P.M.Z., Caldeira, R.L., 2016. Critical analysis of molluscicide application in schistosomiasis control programs in Brazil. *Infect. Dis. Poverty* 5, 1-6. <http://doi.org/10.1186/s40249-016-0153-6>.
- Costa, A.V., Almeida, B.R., Gonçalves, L.V., Crico, K.B., Ignacchiti, M.D.C., Pereira Junior, O.S., Pinheiro, P.F., Queiroz, V.T., 2015. Efeito moluscicida do óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* Jowitt (Poaceae) sobre *Lymnaea columella* (Say, 1817) e *Biomphalaria tenagophila* (D'Orbigny, 1835). *Rev. Bras. Pl. Med.* 17, 707-712.
- Coura-Filho, P., Mendes, N.M., Souza, C.P., Pereira, J.P., 1992. The prolonged use of niclosamide as a molluscicide for the control of *Schistosoma mansoni*. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo* 34, 427-431.
- Coutinho, D.F., Dias, C.S., Barbosa-Filho, J.M., Agra, M.F., Martins, R.M., Silva, T.M.S., Da-Cunha, E.V.L., Silva, M.S., Craveiro, A.A., 2007. Composition and molluscicidal activity of the essential oil from the stem bark of *Ocotea bractelosa* (Meisn.) Mez. *J. Essent. Oil Res.* 19, 482-484. doi: 10.1080/10412905.2007.9699958.
- Crotti, M., 2013. Digenetic trematodes: an existence as parasites. Brief general overview. *Microbiologia Medica* 28, 97-101. doi: 10.4081/mm.2013.2256.
- Dias, C.N., Rodrigues, K.A.F., Carvalho, F.A.A., Carneiro, S.M.P., Maia, J.G.S., Andrade, E.H.A., Moraes, D.F.C., 2013. Molluscicidal and leishmanicidal activity of the leaf essential oil of *Syzygium cumini* (L.) Skeels from Brazil. *Chem. Biodivers.* 10, 1133-1141. doi:10.1002/cbdv.201200292.
- Dias, C.N., Moraes, D.F.C., 2014. Essential oils and their compounds as *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) larvicides: review. *Parasitol. Res.* 113, 565–592. doi: 10.1007/s00436-013-3687-6.
- Dolabela, M.F., 1997. Triagem *in vitro* para atividade antitumoral e anti-tripanosoma cruzi de extratos vegetais, produtos naturais e substâncias sintéticas. Dissertação, Universidade Federal de Minas Gerais.
- Echeverría, J., Albuquerque, R.D.D.G., 2019. Nanoemulsions of essential oils: new tool for control of vector-borne diseases and in vitro effects on some parasitic agents. *Medicines* 6, 1-11. doi:10.3390/medicines6020042.
- El-Kamali, H.H., EL-Nour, R.O., Khalid, S.A., 2010. Molluscicidal activity of the essential oils of *Cymbopogon nervatus* leaves and *Boswellia papyrifera* resins. *Curr. Res. J. Biol. Sci.* 2, 139-142.
- Everton, G.O., Teles, A.M., Mouchrek, A.N., Filho, V.E.M., 2018. Aplicação do óleo essencial de *Pimenta dioica* Lindl. como moluscicida frente ao caramujo transmissor da esquistossomose. *Revista Processos Químicos*, 85-93.

- Famakinde, D.O., 2018. Treading the path towards genetic control of snail resistance to schistosome infection. *Trop. Med. Infect. Dis.* 3, 1-15. doi:10.3390/tropicalmed3030086.
- Faria, R.X., Rocha, L.M., Souza, E.P.B.S.S., Almeida, F.B., Fernandes, C.P., Santos, J.A.A., 2018. Molluscicidal activity of *Manilkara subsericea* (Mart.) dubard on *Biomphalaria glabrata*. *Acta Trop.* 178, 163-168. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.11.012>.
- Fernandes, R.P., 2011. Caracterização química, avaliação da toxicidade e atividade moluscicida dos óleos essenciais da folha de *Pimenta dioica* Lindl, casca de *Citrus limon* Linneo e rizoma de *Zingiber officinale* Roscoe. Tese, Universidade Federal da Paraíba.
- Filardi, F.L.R., Barros, F., Baumgratz, J.F.A., Bicudo, C.E.M., Cavalcanti, T.B., Coelho, M.A.N., Costa, A.F., Costa, D.P., Goldenberg, R., Labiak, P.H., et al., 2018. Brazilian Flora 2020: Innovation and collaboration to meet Target 1 of the Global Strategy for Plant Conservation (GSPC). *Rodriguésia* 69, 1513-1527. doi: 10.1590/2175-7860201869402.
- Frezza, T.F., Madi, R.R., Silveira, C.R., Dos Anjos, M.C., Allegretti, S.M., 2017. Moluscos hospedeiros intermediários de trematódeos em lagoa urbana do município de Campinas, SP. *Interfaces Científicas - Saúde e Ambiente* 6, 75-82. doi: 10.17564/2316-3798.2017v6n1p75-82.
- García, A.A., Carril, E.P., 2011. Metabolismo secundário de plantas. *Reduca (Biología)* 2, 119-145.
- Gobbo-Neto, L., Lopes, N.P., 2007. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química Nova* 30, 374-381. doi: 10.1590/S0100-40422007000200026.
- Gomes, P.R.B., Reis, J.B., Silva, J.C., Oliveira, R.W.S., Paula, M.L., Louzeiro, H.C., Moucherek Filho, V.E., Fontenele, M.A., 2019a. Avaliação da toxicidade e atividade moluscicida do óleo essencial *Cinnamomum zeylanicum* Blume contra o caramujo *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.* 48, 112-127. doi: <http://dx.doi.org/10.15446/rcciquifa.v48n1.80069>.
- Gomes, P.R.B., Reis, J.B., Fernandes, R.P., Moucherek Filho, V.E., Souza, A.G., Fontenele, M.A., Silva, J.C., 2019b. Toxicity and molluscicidal activity of the essential oil *Pimenta dioica* against the snail *Biomphalaria glabrata*. *Rev. peru. biol.* 26, 101-108. doi: <http://dx.doi.org/10.15381/rpb.v26i1.15913>.
- Gomes, P.R.B., Oliveira, M.B., Sousa, D.A., Silva, J.C., Fernandes, R.P., Louzeiro, H.C., Oliveira, R.W.S., Paula, M.L., Moucherek Filho, V.E., Fontenele, M.A., 2019c. Larvicidal activity, molluscicide and toxicity of the essential oil of *Citrus limon* peels against, respectively, *Aedes aegypti*, *Biomphalaria glabrata* and *Artemia salina*. *Eclética Química Journal* 44, 85-95. doi: 10.26850/1678-4618eqj.v44.4.p85-95.
- Gomes, P.R.B., Fernandes, R.P., Reis, J.B., Fontenele, M.A., Freitas, A.C., Silva, J.C., Oliveira, R.W.S., Lyra, W.S., Paula, M.L., Louzeiro, H.C., Moucherek Filho, V.E., 2019d. Molluscicidal activity of the essential oil of *Zingiber officinale* roscoe rhizomes. *J. Essent. Oil Bear. Plants* 22, 526-534. doi: 10.1080/0972060X.2019.1611484.
- Guimarães, P.F.A.N., 2014. Ensaios ecotoxicológicos como ferramenta para avaliação de efluente de triticultura. Dissertação, Instituto de Pesca.
- Hostettmann, K., Kizu, H., Tomimori, T., 1982. Molluscicidal properties of various saponins. *Planta Med.* 44, 34-35. doi: 10.1055/s-2007-971396.
- Isman, M.B., 2017. Bridging the gap: moving botanical insecticides from the laboratory to the farm. *Ind. Crops Prod.* 110, 10-14. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.07.012>.
- Jaiswal, M., Dudhe, R., Sharma, P.K., 2015. Nanoemulsion: an advanced mode of drug delivery system. *3 Biotech* 5, 123-127. doi: 10.1007/s13205-014-0214-0.

- Katz, N., Almeida, K., 2003. Esquistossomose, xistosa, barriga d'água. *Ciência & Cultura* 55, 38-43.
- Kebed, T., Negash, Y., Erko, B., 2018. *Schistosoma mansoni* infection in human and nonhuman primates in selected areas of Oromia Regional State, Ethiopia. *J. Vector Borne Dis.* 55, 116-121. doi: 10.4103/0972-9062.242558.
- Khallouki, F., Hmamouchi, M., Younos, C., Soulimani, R., Bessiere, J.M., Essassi, E.M., 2000. Antibacterial and molluscicidal activities of the essential oil of *Chrysanthemum viscidhirtum*. *Fitoterapia* 71, 544-546.
- Klopell, F.C., Lemos, M., Sousa, J.P., Comunello, E., Maistro, E.L., Bastos, J.K., de Andrade, S.F., 2007. Nerolidol, an antiulcer constituent from the essential oil of *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae). *Z. Naturforsch. C.* 62, 537-542.
- Kweka, E.J., Lima, T.C., Marciale, C.M., Sousa, D.P., 2016. Larvicidal efficacy of monoterpenes against the larvae of *Anopheles gambiae*. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 6, 290-294. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apjtb.2016.03.001>.
- Lahlou, M., Berrada, R., 2001. Potential of essential oils in schistosomiasis control in Morocco. *International Journal of Aromatherapy* 11, 87-96. [https://doi.org/10.1016/S0962-4562\(01\)80023-0](https://doi.org/10.1016/S0962-4562(01)80023-0).
- Lahlou, M., 2003. Composition and molluscicidal properties of essential oils of five Moroccan Pinaceae. *Pharm. Biol.* 41, 207-210. doi: 10.1076/phbi.41.3.207.15097.
- Leite-Júnior, J.D.C., 2018. Avaliação da atividade moluscicida do óleo essencial de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck frente aos caramujos transmissores da esquistossomose. Dissertação, Universidade Federal do Maranhão.
- Lima, A.S., Milhomem, M.N., Monteiro, O.S., Arruda, A.C.P., Castro, J.A.M., Fernandes, Y.M.L., Maia, J.G.S., Costa-Junior, L.M., 2018. Seasonal analysis and acaricidal activity of the thymol-type essential oil of *Ocimum gratissimum* and its major constituents against *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). *Parasitol. Res.* 117, 59-65. <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5662-0>.
- Lopes, T.C., Gonçalves, J.R.S., Souza, N.S., Moraes, D.F.C., Amaral, F.M.M., Rosa, I.G., 2011. Avaliação moluscicida e perfil fitoquímico das folhas de *Caryocar brasiliense* Camb. *Cad. Pesq.* 18, 23-30.
- Lu, W., Huang, D., Wang, C., Yeh, C., Tsai, J., Huang, Y., Li, P., 2018. Preparation, characterization, and antimicrobial activity of nanoemulsions incorporating citral essential oil. *J. Food Drug Anal.* 26, 82-89. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfda.2016.12.018>.
- Lupe, F.A., 2007. Estudo da composição química de óleos essenciais de plantas aromáticas da Amazônia. Dissertação, Universidade Estadual de Campinas.
- Mandefro, B., Mereta, S.T., Tariku, Y., Ambelu, A., 2017. Molluscicidal effect of *Achyranthes aspera* L. (Amaranthaceae) aqueous extracts on adult snails of *Biomphalaria pfeifferi* and *Lymnaea natalensis*. *Infect. Dis. Poverty* 6, 133. <https://doi.org/10.1186/s40249-017-0349-4>.
- Marmulla, R., Harder, J., 2014. Microbial monoterpene transformations - a review. *Front. Microbiol.* 5, 1-14. doi: 10.3389/fmicb.2014.00346.
- Marston, A., Hostettmann, K., 1985. Plant molluscicides. *Phytochemistry* 24, 639-652.
- Marston, A., Maillard, M., Hostettmann, K., 1993. Search for antifungal, molluscicidal and larvicidal compounds from African medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.* 38, 215-223.
- Martins, C.M., 2012. Estudo químico, atividade antioxidante, atividade antimicrobiana e análise do óleo essencial da espécie *Kielmeyera coriacea* Mart. & Zucc (pau-santo) do cerrado. Dissertação, Universidade Federal de Uberlândia.
- Mata, R.C.S., Mendonça, D.I.M.D., Vieira, L., Santos, A.F., Silva, L.A., Gaspar, J.F., Martins, C., Rueff, J., Sant'Ana, A.E.G., 2011. Molluscicidal activity of compounds

- isolated from *Euphorbia conspicua* N. E. Br. J. Braz. Chem. Soc. 22, 1880-1887. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-50532011001000008>.
- Matejić, J., Šarac, Z., Ranđelović, V., 2010. Pharmacological activity of sesquiterpene lactones. Biotechnol. Equip. 24, 95-100. doi: 10.1080/13102818.2010.10817819.
- McCullough, F.S., Gayral, P.H., Duncan, J., Christie, J.D., 1980. Molluscicides in schistosomiasis control. Bull. World Health Organ. 58, 681-689.
- Michaelakis, A., Vidali, V.P., Papachristos, D.P., Pitsinos, E.N., Koliopoulos, G., Couladouros, E.A., Polissiou, M.G., Kimbaris, A.C., 2014. Bioefficacy of acyclic monoterpenes and their saturated derivatives against the West Nile vector *Culex pipiens*. Chemosphere 96, 74–80. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.07.032>.
- Miranda, G.S., Rodrigues, J.G.M., Lira, M.G.S., Nogueira, R.A., Gomes, G.C.C., Silva-Souza, N., 2015. Monitoramento de positividade para *Schistosoma mansoni* em roedores *Holochilus* sp. naturalmente infectados. Cienc. Anim. Bras. 16, 456-463. doi: 10.1590/1089-6891v16i331640.
- Miyasato, P.A., Kawano, T., Freitas, J.C., Berlinck, R.G.S., Nakano, E., Tallarico, L.F., 2012. Molluscicidal activity of some marine substances against the snail *Biomphalaria glabrata* (Mollusca, Planorbidae). Parasitol. Res. 110, 1873–1879. <https://doi.org/10.1007/s00436-011-2712-x>.
- Moreira, C.P.S., Zani, C.L., Alves, T.M.A., 2010. Atividade moluscicida do látex de *Synadenium carinatum* Boiss. (Euphorbiaceae) sobre *Biomphalaria glabrata* e isolamento do constituinte majoritário. Revista Eletrônica de Farmácia 8, 16-27. <https://doi.org/10.5216/ref.v7i3.12892>.
- Neves, D.P., 2016. Parasitologia Humana, thirteenth ed. Atheneu, São Paulo.
- Olasehinde, G.I., Oyerinde, J.P.O., 2007. Effect of calcium chloride on growth and survival of *Biomphalaria pfeifferi*-intermediate host of *Schistosoma mansoni*. Research Journal of Parasitology 2, 82-86. doi: 10.3923/jp.2007.82.86.
- Paraense, W.L., 2008. Histórico do gênero *Biomphalaria*, morfologia e sistemática morfológica, in: Carvalho, O.S., Coelho, P.M.Z., Lenzi, H.L. (Eds.), *Schistosoma mansoni* e esquistossomose: uma visão multidisciplinar, Rio de Janeiro, pp. 284-308.
- Pavela, R., Benelli, G., Pavoni, L., Bonacucina, G., Cespi, M., Cianfaglione, K., Bajalan, I., Morshedloo, M.R., Lupidi, G., Romano, D., Canale, A., Maggi, F., 2019. Microemulsions for delivery of Apiaceae essential oils—towards highly effective and eco-friendly mosquito larvicides? Ind. Crops Prod. 129, 631–640. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.11.073>.
- Pereira, L.P.L.A., 2013. Atividade moluscicida em *Biomphalaria glabrata* Say: revisão e avaliação do látex de *Euphorbia umbellata* (Pax) Bruyns (Euphorbiaceae). Dissertação, Universidade Federal do Maranhão.
- Pinheiro, P.F., Gonçalves, L.V., Cricco, K.B., Pinheiro, C.A., Tuler, A., Cunha, J.B., Costa, A.V., Pereira Júnior, O.S., Ignacchiti, M.D.C., 2017. Chemical characterization and molluscicidal activity of essential oil from leaves of *Eugenia uniflora* L. on *Lymnaea columella* (Say, 1817) and *Biomphalaria tenagophila* (D'Orbigny, 1835). J. Essent. Oil Bear. Pl. 20, 1482-1491. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2017.1410075>.
- Rabito, M.F., Britta, E.A., Pelegrini, B.L., Scariot, D.B., Almeida, M.B., Nixdorf, S.L., Nakamura, C.V., Ferreira, I.C., 2014. In vitro and in vivo antileishmania activity of sesquiterpene lactone-rich dichloromethane fraction obtained from *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz-Bip. Exp. Parasitol. 143, 18-23. doi: 10.1016/j.exppara.2014.04.014.

- Rapado, L.N., 2012. Obtenção e avaliação da atividade de compostos isolados de *Piper* em modelos biológicos para o controle da esquistossomose mansônica. Tese, Universidade de São Paulo.
- Rapado, L.N., Nakano, E., Ohlweiler, F.P., Kato, M.J., Yamaguchi, L.F., Pereira, C.A.B., et al., 2011. Molluscicidal and ovicidal activities of plant extracts of the Piperaceae on *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). *J. Helminthol.* 85, 66-72.
- Rey, L., 2008. Bases da Parasitologia Médica, second ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- Ribeiro, E.C.G., 2016. Atividade moluscicida de óleos essenciais de plantas aromáticas da região Amazônica Maranhense. Dissertação, Universidade Federal do Maranhão.
- Rocha-Filho, C.A., Albuquerque, L.P., Silva, L.R., Silva, P.C., Coelho, L.C., Navarro, D.M., et al., 2015. Assessment of toxicity of *Moringa oleifera* flower extract to *Biomphalaria glabrata*, *Schistosoma mansoni* and *Artemia salina*. *Chemosphere* 132, 188-192. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.03.041>.
- Rodrigues, K.A.F., Dias, C.N., Amaral, F.M.M., Moraes, D.F.C., Mouchrek-Filho, V.E., Andrade, E.H.A., Maia, J.G.S., 2013. Molluscicidal and larvicidal activities and essential oil composition of *Cymbopogon winterianus*. *Pharm. Biol.* 51, 1293–1297. <https://doi.org/10.3109/13880209.2013.789536>.
- Rouquayrol, M.Z., 1984. Atividade moluscicida de plantas do nordeste brasileiro. *RECCS*, 24-31.
- Salama, M.M., Taher, E.E., El-Bahy, M.M., 2012. Molluscicidal and mosquitocidal activities of the essential oils of *Thymus capitatus* Hoff. Et Link. and *Marrubium vulgare* L. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* 54, 281-286. doi: 10.1590/S0036-46652012000500008.
- Silva, C.B., Simionatto, E., Hess, S.C., Peres, M.T.L.P., Simionatto, E.L., Júnior, A.W., Poppi, N.R., Faccenda, O., Cândido, A.C.S., Scalón, S.P.Q., 2009. Composição química e atividade alelopática do óleo volátil de *Hydrocotyle bonariensis* Lam (Araliaceae). *Quim. Nova* 32, 2373-2376.
- Silva, H.A.M.F., Siqueira, W.N., Sá, J.L.F., Silva, L.R.S., Martins, M.C.B., Aires, A.L., Amâncio, F.F., Pereira, E.C., Albuquerque, M.C.P.A., Melo, A.M.M.A., Silva, N.H., 2018. Laboratory assessment of divaricatic acid against *Biomphalaria glabrata* and *Schistosoma mansoni* cercariae. *Acta Trop.* 178, 97-102. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.09.019>.
- Silva-Filho, C.R.M., Souza, A.G., Conceição, M.M., Silva, T.G., Silva, T.M.S., Ribeiro, A.P. L., 2009. Avaliação da bioatividade dos extratos de cúrcuma (*Curcuma longa* L., Zingiberaceae) em *Artemia salina* e *Biomphalaria glabrata*. *Rev. Bras. Farmacogn.* 19, 919-923.
- Simões, C.M.O., Schenkel, E.P., Mello, J.C.P., Mentz, L.A., Petrovick, P.R., 2017. Farmacognosia: do produto natural ao medicamento. *Artmed*, Porto Alegre.
- Singh, A., Singh, D.K., Misra, T.N., Agarwal, R.A., 1996. Molluscicides of plant origin. *Biological Agriculture and Horticulture* 13, 205-252.
- Soradech, S., Kusolkumbot, P., Thubthimthed, S., 2018. *J. Appl. Pharm. Sci.* 8, 046-054. doi: 10.7324/JAPS.2018.8307.
- Steinmann, P., Keiser, J., Bos, R., Tanner, M., Utzinger, J., 2006. Schistosomiasis and water resources development: Systematic review, meta-analysis, and estimates of people at risk. *Lancet Infect. Dis.* 6, 411–425. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(06\)70521-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(06)70521-7).
- Sukumar, K., Perich, M.J., Boobar, L.W., 1991. Botanical derivatives in mosquito control: a review. *J. Am. Mosq. Control. Assoc.* 7, 210–237.
- Tak, J., Isman, M.B., 2015. Enhanced cuticular penetration as the mechanism for synergy of insecticidal constituents of rosemary essential oil in *Trichoplusia ni*. *Sci. Rep.* 5, 1-10. <https://doi.org/10.1038/srep12690>.

- Tallarico, L.F., Borrely, S.I., Hamada, N., Grazeffe, V.S., Ohlweiler, F.P., Okazaki, K., Granatelli, A.T., Pereira, I.W., Pereira, C.A.B., Nakano, E., 2014. Developmental toxicity, acute toxicity and mutagenicity testing in freshwater snails *Biomphalaria glabrata* (Mollusca: Gastropoda) exposed to chromium and water samples. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 110, 208-215. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.09.005>.
- Tavares, J.F., Silva, M.V.B., Queiroga, K.F., Martins, R.M., Silva, T.M.S., Camara, C.A., Agra, M.F., Barbosa-Filho, J.M., Silva, M.S., 2007. Composition and molluscicidal properties of essential oils from leaves of *Xylopia langsdorffiana* A. St. Hil. etTul. (Annonaceae). *J. Essent. Oil Res.* 19, 282-284.
- Teles, T.V., Bonfim, R.R., Alves, P.B., Blank, A.F., Jesus, H.C.R., Quintans-Júnior, L.J., Serafini, M.R., Bonjardim, L.R., Araújo, A.A.S., 2010. Composition and evaluation of the lethality of *Lippia gracilis* essential oil to adults of *Biomphalaria glabrata* and larvae of *Artemia salina*. *Afr. J. Biotechnol.* 9, 8800-8804. <https://doi.org/10.5897/AJB10.113>.
- Tohidi, B., Rahimmalek, M., Trindade, H., 2019. Review on essential oil, extracts composition, molecular and phytochemical properties of *Thymus* species in Iran. *Ind. Crops Prod.* 134, 89-99. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.02.038>.
- Tropicos, 2019. <https://www.tropicos.org/> (accessed 21 October 2019).
- Vallilo, M.I., Bustillos, O.V., Aguiar, O.T., 2006. Identificação de terpenos no óleo essencial dos frutos de *Campomanesia adamantium* (Cambessédes) O. Berg – Myrtaceae. *Rev. Inst. Flor.* 18, 15-22.
- Vos, T., Flaxman, A.D., Naghavi, M., Lozano, R., Michaud, C., Ezzati, M., et al., 2012. Years lived with disability (YLDs) for 1160 sequelae of 289 diseases and injuries 1990–2010: a systematic analysis for the global burden of disease study 2010. *Lancet* 380, 2163–2196. doi: 10.1016/S0140-6736(12)61729-2.
- Wang, W., Mao, Q., Yao, J., Yang, W., Zhang, Q., Lu, W., Deng, Z., Duan, L., 2018. Discovery of the pyridylphenylureas as novel molluscicides against the invasive snail *Biomphalaria straminea*, intermediate host of *Schistosoma mansoni*. *Parasit. Vectors* 11, 1-8. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2868-7>.
- World Health Organization, 1965. Memoranda: molluscicide screening and evaluation. *Bull. World Health Organ.* 33, 567-576.
- World Health Organization, 1983. Report of the scientific working group on plant molluscicide e guidelines for evaluation of plant molluscicides. Geneva: World Health Organization.
- World Health Organization, 1993. Tropical Disease Research, World Health Organization, Geneva.
- World Health Organization, 2002. Niclosamide (2(5-dichloro-4(nitrosalicylanilide)). In: WHO, Specifications and Evaluations for Public Health Pesticides. World Health Organization. World Health Organization, Geneva, 2015. Fact Sheet 115.
- World Health Organization, 2013. Schistosomiasis: Progress Report 2001-2011, Strategic Plan 2012-2020. <http://www.who.int/iris/handle/10665/78074> (accessed 20 October 2019).
- World Health Organization, 2019. Guidelines for laboratory and field testing of molluscicides for control of schistosomiasis. Geneva: World Health Organization. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- Wube, A.A., Bucar, F., Gibbons, S., Asres, K., Rattray, L., Croft, S.L., 2010. Antiprotozoal activity of drimane and coloratane sesquiterpenes towards *Trypanosoma brucei rhodesiense* and *Plasmodium falciparum* in vitro. *Phytother. Res.* 24, 1468-1472. doi: 10.1002/ptr.3126.

- Xavier-Junior, F.H., Vauthier, C., Morais, A.R.V., Alencar, E.N., Egito, E.S.T., 2016. Microemulsion systems containing bioactive natural oils: an overview on the state of the art. *Drug Dev. Ind. Pharm.* doi: 10.1080/03639045.2016.1235186.
- Yang, F., Long, E., Wen, J., Cao, L., Zhu, C., Hu, H., Ruan, Y., Okanurak, K., Hu, H., Wei, X., Yang, X., Wang, C., Zhang, L., Wang, X., Ji, P., Zheng, H., Wu, Z., Lv, Z., 2014. Linalool, derived from *Cinnamomum camphora* (L.) Presl leaf extracts, possesses molluscicidal activity against *Oncomelania hupensis* and inhibits infection of *Schistosoma japonicum*. *Parasit. Vectors* 7, 1-13. doi: 10.1186/1756-3305-7-407.
- Zhai, H., Liu, H., Wang, S., Wu, J., Kluentner, A.M., 2018. Potential of essential oils for poultry and pigs. *Animal Nutrition* 4, 179–186. doi:10.1016/j.aninu.2018.01.005.
- Zhang, Z., Yang, T., Mi, N., Wang, Y., Li, G., Wang, L., Xie, Y., 2016. Antifungal activity of monoterpenes against wood white-rot fungi. *Int. Biodeterior. Biodegradation* 106, 157-160. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.10.018>.

**Table 1** Molluscicidal activity of essential oils against schistosomiasis transmitting snails.

Family	Plant species	Plant origin	Plant part harvested	Major constituents	Tested organism	LC (µg/mL)	References
Amaranthaceae	<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.	Morocco	Aerial parts	$\alpha$ -Phellandrene and <i>p</i> -Cymene	<i>Bulinus truncatus</i>	LC <sub>90</sub> = 0.74	Lahlou and Berrada (2001)
Annonaceae	<i>Xylopia langsdorffiana</i> A. St. Hil. et Tul.	Brazil	Leaves	Germacrene D and <i>trans</i> - $\beta$ -guaiene	<i>Biomphalaria glabrata</i>	LC <sub>90</sub> = 5.61	Tavares et al. (2007)
Asteraceae	<i>Acanthospermum hispidum</i> DC.	Argentina	Leaves	$\beta$ -Caryophyllene and $\alpha$ -Bisabolol	<i>Biomphalaria peregrina</i>	LC <sub>50</sub> = 37.8	Alva et al. (2012)
	<i>Anthemis cotula</i> L.	Morocco	Flower	Camphor and Chamazulene	<i>Bulinus truncatus</i>	LC <sub>90</sub> = 1.47	Lahlou and Berrada (2001)
	<i>Anthemis nobilis</i> L.	Morocco	Flower	Isobutyl angelate and Isoamyl angelate	<i>Bulinus truncatus</i>	LC <sub>90</sub> = 0.90	Lahlou and Berrada (2001)
	<i>Chrysanthemum viscidifirtum</i> (Schott) Tell	Morocco	Aerial parts	$\beta$ -Farnesene and Limonene	<i>Bulinus truncatus</i>	LC <sub>100</sub> = 1500	Khallouki et al. (2000)
		Morocco	Aerial parts	$\beta$ -Farnesene and Limonene	<i>Bulinus truncatus</i>	LC <sub>90</sub> = 1.45	Lahlou and Berrada (2001)
Burseraceae	<i>Boswellia papyrifera</i> Hochst.	Sudan	Resin	NI <sup>a</sup>	<i>Biomphalaria pfeifferi</i> <i>Bulinus truncatus</i>	LC <sub>50</sub> = 213.31 LC <sub>50</sub> = 311.05	EL-Kamali et al. (2010)
Geraniaceae	<i>Pelargonium capitatum</i> (L.) L'Hér.	Morocco	Aerial parts	Citronellol and Esters	<i>Bulinus truncatus</i>	LC <sub>90</sub> = 0.89	Lahlou and Berrada (2001)
Lamiaceae	<i>Hyptis dilatata</i> Benth	Brazil	Aerial parts	Camphor and 1,8-Cineole	<i>Biomphalaria glabrata</i>	LC <sub>90</sub> = 182.33	Ribeiro (2016)
	<i>Lavandula stoechas</i> L.	Morocco	Aerial parts	Fenchone and Camphre	<i>Bulinus truncatus</i>	LC <sub>90</sub> = 2.54	Lahlou and Berrada (2001)
	<i>Marrubium vulgare</i> L.	Egypt	Aerial parts	Thymol and $\gamma$ -Cadinene	<i>Biomphalaria alexandrina</i>	LC <sub>90</sub> = 100	Salama et al. (2012)
	<i>Mentha pulegium</i> L.	Morocco	Leaves	Pulegone and Menthadiene-3,8	<i>Bulinus truncatus</i>	LC <sub>90</sub> = 3.10	Lahlou and Berrada (2001)
	<i>Mentha rotundifolia</i> L.	Morocco	Leaves	Pulegone and 1,8-Cineole	<i>Bulinus truncatus</i>	LC <sub>90</sub> = 3.10	Lahlou and Berrada (2001)
	<i>Origanum compactum</i> Benth.	Morocco	Aerial parts	Carvacrol and <i>p</i> -Cymene	<i>Bulinus truncatus</i>	LC <sub>90</sub> = 0.69	Lahlou and Berrada (2001)
	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Morocco	Aerial parts	Borneol and $\alpha$ -Pinene	<i>Bulinus truncatus</i>	LC <sub>90</sub> = 1.90	Lahlou and Berrada (2001)
	<i>Thymus broussonetii</i> Boiss.	Morocco	Aerial parts	Thymol and $\gamma$ -Terpinene	<i>Bulinus truncatus</i>	LC <sub>90</sub> = 1.35	Lahlou and Berrada (2001)
	<i>Thymus capitatus</i> Hoff. et Link.	Egypt	Aerial parts	Carvacrol and Thymol	<i>Biomphalaria alexandrina</i>	LC <sub>90</sub> = 400	Salama et al. (2012)
Lauraceae	<i>Cinnamomum zeylanicum</i> Blume	Brazil	Leaves	Eugenol and Cariofileno	<i>Biomphalaria glabrata</i>	LC <sub>50</sub> = 18.62	Gomes et al. (2019a)
		Morocco	Bark	Cinnamaldehyde and $\alpha$ -terpineol	<i>Bulinus truncatus</i>	LC <sub>90</sub> = 1.35	Lahlou and Berrada (2001)
	<i>Ocotea bracteosa</i> (Meisn.) Mez.	Brazil	Stem bark	$\delta$ -Cadinene and Ledene	<i>Biomphalaria glabrata</i>	LC <sub>90</sub> = 8.3	Coutinho et al. (2007)
Myrtaceae	<i>Eucalyptus globulus</i> Labill.	Morocco	Leaves	1,8-Cineole and $\alpha$ -Pinene	<i>Bulinus truncatus</i>	LC <sub>90</sub> = 1.95	Lahlou and Berrada (2001)
	<i>Eugenia punicifolia</i> (HBK) DC	Brazil	Aerial parts	$\alpha$ -Pinene and 1,8-Cineole	<i>Biomphalaria glabrata</i>	LC <sub>90</sub> = 170.13	Ribeiro (2016)
	<i>Eugenia uniflora</i> L.	Brazil	Leaves	(-)-Selina-1,3,7(11)-trien-8-one and Oxidoxelina-1,3,7(11)-trien-8-one	<i>Biomphalaria tenagophila</i>	LC <sub>100</sub> = 60	Pinheiro et al. (2017)
	<i>Myrtus communis</i> L.	Morocco	Leaves	$\alpha$ -Pinene and 1,8-Cineole	<i>Bulinus truncatus</i>	LC <sub>90</sub> = 3.10	Lahlou and Berrada (2001)
	Brazil	Leaves	Eugenol and Chavicol	<i>Biomphalaria glabrata</i>	LC <sub>50</sub> = 39.81	Gomes et al. (2019b)	



Family	Plant species	Plant origin	Plant part harvested	Major constituents	Tested organism	LC ( $\mu\text{g/mL}$ )	References
Pinaceae	<i>Syzygium cumini</i> (L.) Skeels	Brazil	Leaves	$\alpha$ -Pinene and (Z)- $\beta$ -ocimene	<i>Biomphalaria glabrata</i>	LC <sub>50</sub> = 90	Dias et al. (2013)
	<i>Cedrus atlantica</i> (Endl.) Carriere	Morocco	Needles	$\alpha$ -Pinene and $\beta$ -Pinene	<i>Bulinus truncatus</i>	LC <sub>90</sub> = 0.69	Lahlou (2003)
	<i>Pinus brutia</i> L.	Morocco	Needles	$\beta$ -Pinene and $\alpha$ -Pinene	<i>Bulinus truncatus</i>	LC <sub>90</sub> = 1.59	
	<i>Pinus halepensis</i> Mill.	Morocco	Needles	$\alpha$ -Pinene and $\beta$ -Myrcene	<i>Bulinus truncatus</i>	LC <sub>90</sub> = 1.66	
	<i>Pinus pinaster</i> Sol.	Morocco	Needles	$\alpha$ -Pinene and $\beta$ -Caryophyllene	<i>Bulinus truncatus</i>	LC <sub>90</sub> = 1.94	
Poaceae	<i>Pinus pinea</i> L.	Morocco	Needles	$\alpha$ -Pinene and Farnesyl acetate	<i>Bulinus truncatus</i>	LC <sub>90</sub> = 2.18	
	<i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf	Morocco	Aerial parts	Citral	<i>Bulinus truncatus</i>	LC <sub>90</sub> = 2.54	Lahlou and Berrada (2001)
	<i>Cymbopogon nervatus</i> (Hochst.) Chiov.	Sudan	Leaves	NI <sup>a</sup>	<i>Biomphalaria pfeifferi</i> <i>Bulinus truncatus</i>	LC <sub>50</sub> = 213.09 LC <sub>50</sub> = 237.33	EL-Kamali et al. (2010)
Rutaceae	<i>Cymbopogon winterianus</i> Jowitt	Brazil	Aerial parts	Geraniol and Citronellal	<i>Biomphalaria tenagophila</i>	LC <sub>100</sub> = 80	Costa et al. (2015)
		Brazil	Leaves	Citronellal and Geraniol	<i>Biomphalaria glabrata</i>	LC <sub>90</sub> = 97.4	Rodrigues et al. (2013)
	<i>Citrus aurantium</i> var. <i>amara</i> L.	Morocco	Leaves	Limonene and <i>p</i> -Cymene	<i>Bulinus truncatus</i>	LC <sub>90</sub> = 1.73	Lahlou and Berrada (2001)
	<i>Citrus aurantium</i> subsp. <i>bergamia</i> (Risso & Poit.) Wight & Arn. ex Engl.	Morocco	Fruit	Linalyl acetate and Limonene	<i>Bulinus truncatus</i>	LC <sub>90</sub> = 0.94	Lahlou and Berrada (2001)
	<i>Citrus</i> $\times$ <i>aurantium</i> var. <i>dulcis</i> Hayne	Morocco	Fruit	Limonene and Myrcene	<i>Bulinus truncatus</i>	LC <sub>90</sub> = 0.96	Lahlou and Berrada (2001)
	<i>Citrus aurantium</i> var. <i>valencia</i> Late	Morocco	Fruit	Limonene and Myrcene	<i>Bulinus truncatus</i>	LC <sub>90</sub> = 0.37	Lahlou and Berrada (2001)
	<i>Citrus limon</i> (L.) Osbeck	Brazil	Fruit peels	Limonene	<i>Biomphalaria glabrata</i>	LC <sub>50</sub> = 13.48	Gomes et al. (2019c)
	<i>Citrus x limon</i> (L.) Osbeck	Brazil	Fruit peels	D-Limonene and Linalool	<i>Biomphalaria glabrata</i>	LC <sub>90</sub> = 90.08	Carvalho (2018)
	<i>Citrus limonum</i> Risso	Morocco	Fruit	Limonene and Geraniol	<i>Bulinus truncatus</i>	LC <sub>90</sub> = 0.94	Lahlou and Berrada (2001)
	<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck	Brazil	Fruit peels	D-Limonene and Linalool	<i>Biomphalaria glabrata</i>	LC <sub>90</sub> = 168.75	Leite-Júnior (2018)
Verbenaceae	<i>Ruta chalepensis</i> L.	Morocco	Aerial parts	2-undecanone and Caryophyllene oxide	<i>Bulinus truncatus</i>	LC <sub>90</sub> = 0.89	Lahlou and Berrada (2001)
	<i>Lippia acutidens</i> Mart.	Brazil	Aerial parts	1,8-Cineole and Linalool	<i>Biomphalaria glabrata</i>	LC <sub>90</sub> = 98.5	Ribeiro (2016)
	<i>Lippia gracilis</i> Schauer	Brazil	Leaves	Thymol and <i>p</i> -Cymene	<i>Biomphalaria glabrata</i>	LC <sub>90</sub> = 82.8	Teles et al. (2010)
Zingiberaceae		Brazil	Aerial parts	Thymol and Humulene epoxide II	<i>Biomphalaria glabrata</i>	LC <sub>90</sub> = 27.41	Ribeiro (2016)
	<i>Curcuma longa</i> L.	Brazil	Rhizome	NI <sup>a</sup>	<i>Biomphalaria glabrata</i>	LC <sub>90</sub> = 67.7	Silva-Filho et al. (2009)
	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	Brazil	Rhizome	$\alpha$ -Zingiberene and Geraniol	<i>Biomphalaria glabrata</i>	LC <sub>50</sub> = 56.23	Gomes et al. (2019d)

<sup>a</sup> NI: information is not available.

**Table 2** Toxicity of constituents identified in essential oils for transmitting mollusks.

Classes	Constituents	Snail species	Concentration ( $\mu\text{g/mL}$ )	Mortality rate (%)	References
Hydrocarbons monoterpenes	p-Cymene	<i>Bulinus truncatus</i>	0.89	90	Lahlou and Berrada (2001)
	Limonene	<i>Biomphalaria glabrata</i>	50	100	Rouquayrol (1984)
		<i>Bulinus truncatus</i>	2.59	90	Lahlou and Berrada (2001)
	Myrcene	<i>Bulinus truncatus</i>	0.89	90	
	Thymol	<i>Biomphalaria glabrata</i>	50	100	Rouquayrol (1984)
		<i>Bulinus truncatus</i>	0.19	90	Lahlou and Berrada (2001)
	(+)- $\alpha$ -Pinene	<i>Bulinus truncatus</i>	0.89	90	
	$\beta$ -Pinene	<i>Bulinus truncatus</i>	0.89	90	
Oxygenated monoterpenes	Ascaridole	<i>Biomphalaria glabrata</i>	100	60	Rouquayrol (1984)
	Camphene	<i>Bulinus truncatus</i>	0.40	90	Lahlou and Berrada (2001)
		<i>Biomphalaria glabrata</i>	50	100	Rouquayrol (1984)
	Carvacrol	<i>Bulinus truncatus</i>	0.92	90	Lahlou and Berrada (2001)
		<i>Bulinus truncatus</i>	1.18	90	Lahlou and Berrada (2001)
	Carveol	<i>Bulinus truncatus</i>	NI <sup>a</sup>	Inactive <sup>b</sup>	
	Carvone	<i>Bulinus truncatus</i>	100	Inactive <sup>b</sup>	Rouquayrol (1984)
		<i>Bulinus truncatus</i>	NI <sup>a</sup>	Inactive <sup>b</sup>	Lahlou and Berrada (2001)
	1,8-Cineole	<i>Bulinus truncatus</i>	3.15	90	
	Citral	<i>Bulinus truncatus</i>	2.90	90	
	Citronellal	<i>Bulinus truncatus</i>	1.73	90	
	Citronellol	<i>Bulinus truncatus</i>	NI <sup>a</sup>	Inactive <sup>b</sup>	
	(-)-Fenchone	<i>Bulinus truncatus</i>	50	100	Rouquayrol (1984)
	Geraniol	<i>Biomphalaria glabrata</i>	0.28	90	Lahlou and Berrada (2001)
		<i>Bulinus truncatus</i>	100	Inactive <sup>b</sup>	Rouquayrol (1984)
	Linalool	<i>Biomphalaria glabrata</i>	NI <sup>a</sup>	Inactive <sup>b</sup>	Lahlou and Berrada (2001)
		<i>Bulinus truncatus</i>	NI <sup>a</sup>	Inactive <sup>b</sup>	
L-menthol	<i>Bulinus truncatus</i>	NI <sup>a</sup>	Inactive <sup>b</sup>		
L-menthone	<i>Bulinus truncatus</i>	NI <sup>a</sup>	Inactive <sup>b</sup>		
Myrtenol	<i>Bulinus truncatus</i>	1.66	90		
(+)-Pulegone	<i>Bulinus truncatus</i>	1.34	90		

Classes	Constituents	Snail species	Concentration ( $\mu\text{g/mL}$ )	Mortality rate (%)	References
Phenylpropanoids	Eugenol	<i>Biomphalaria glabrata</i>	100	Inactive <sup>b</sup>	Rouquayrol (1984)
		<i>Bulinus truncatus</i>	1.92	90	Lahlou and Berrada (2001)
Hydrocarbons sesquiterpenes	Caryophyllene	<i>Biomphalaria glabrata</i>	100	60	Rouquayrol (1984)
	(-)- <i>trans</i> -Caryophyllene	<i>Bulinus truncatus</i>	2.59	90	Lahlou and Berrada (2001)
	Geijerene	<i>Biomphalaria glabrata</i>	50	100	Rouquayrol (1984)
Oxygenated sesquiterpenes	Nerolidol	<i>Biomphalaria glabrata</i>	100	Inactive <sup>b</sup>	Rouquayrol (1984)
Triterpenoids	Gedunine	<i>Biomphalaria glabrata</i>	50	100	Rouquayrol (1984)
Outros	Lipiona	<i>Biomphalaria glabrata</i>	100	Inactive <sup>b</sup>	Rouquayrol (1984)

<sup>a</sup> NI: information is not available.

<sup>b</sup> There was no mortality of snails in the tested concentration.

## *Capítulo II*



**Molluscicidal and cercaricidal activities of the essential oil of *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants: implications for the control of schistosomiasis**

*Artigo submetido à Revista Anais da Academia Brasileira de Ciências  
Qualis Único: A2*

**Molluscicidal and cercaricidal activities of the essential oil of *Dysphania ambrosioides***

**(L.) Mosyakin & Clemants: implications for the control of schistosomiasis**

LUCIANA P.L.A. PEREIRA<sup>1,\*</sup>, EDILENE C.G. RIBEIRO<sup>1</sup>, MARIA C.A. BRITO<sup>1,4</sup>,  
FERNANDA O.S. ARARUNA<sup>1</sup>, FELIPE B. ARARUNA<sup>1</sup>, JOSÉ A.C. LEITE<sup>2</sup>, DANIELLA  
P.B. SILVEIRA<sup>2</sup>, WELLYSON C.A. FIRMO<sup>3</sup>, SELMA P.D. CANTANHEDE<sup>4</sup>, ODAIR S.  
MONTEIRO<sup>5</sup>, JOSÉ G.S. MAIA<sup>6</sup> & DENISE F. COUTINHO<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Renorbio, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Maranhão. Av. dos Portugueses, s/n, Bacanga, 65065-545 São Luís, MA, Brazil

<sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Maranhão. Av. dos Portugueses, s/n, Bacanga, 65065-545 São Luís, MA, Brazil

<sup>3</sup>Programa de Pós-Graduação em Biologia Microbiana, Departamento de Biomedicina, Universidade Ceuma. Rua Josué Montello, nº 1, Renascença II, 65.075-120 São Luís, MA, Brazil

<sup>4</sup>Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros, Departamento de Química e Biologia, Universidade Estadual do Maranhão. Av. Lourenço Vieira da Silva, nº 1000, Jardim São Cristovão, 65055-310 São Luís, MA, Brazil

<sup>5</sup>Programa de Pós-Graduação em Química, Departamento de Química, Universidade Federal do Maranhão. Av. dos Portugueses, s/n, Bacanga, 65065-545 São Luís, MA, Brazil

<sup>6</sup>Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais da Amazônia, Universidade Federal do Oeste do Pará. Rua Vera Paz, s/n (Unidade Tapajós), Salé, 68040-255 Santarém, PA, Brazil

Correspondence to: Luciana Patrícia Lima Alves Pereira; Av. dos Portugueses, s/n, Bacanga, 65065-545, Departamento de Farmácia, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA, Brazil. Phone: (98) 98428-3935. *E-mail: llucianapatricia@yahoo.com.br*

**Abstract:** Schistosomiasis is one of the most important tropical diseases. A fundamental strategy to control its spread is the use of natural products against its vectors, which are snails of the genus *Biomphalaria*. The present study evaluated the chemical composition, the molluscicidal and cercaricidal effects, and the ecotoxicity of the essential oil of aerial parts of *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants (DAEO). The oil of mastruz was obtained by hydrodistillation and analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The molluscicidal and cercaricidal activities were determined by the immersion method. Environmental toxicity was assessed from bioassays using *Artemia salina* larvae and *Danio rerio* fish. DAEO presented a 0.8% yield. The GC-MS analysis revealed the predominance of hydrocarbon monoterpenes in oil. A total of 32 constituents was identified, being  $\alpha$ -terpinene (50.69%) the major compound. DAEO was active against adult *Biomphalaria glabrata* snails and demonstrated toxicity against *Schistosoma mansoni* cercariae, with LC<sub>90</sub> values of 48.60 and 87.21  $\mu\text{g/mL}$ , respectively. In addition, the oil showed low acute toxicity to nontarget aquatic organisms in comparison to the synthetic molluscicide niclosamide. The results demonstrate that DAEO is a promising natural product for the control of schistosomiasis, acting on both the vectors and the etiological agent of the disease.

**Key words:** *Biomphalaria glabrata*, ecotoxicity, GC-MS, *Schistosoma mansoni*, volatile oil.

## INTRODUCTION

Schistosomiasis, also known as bilharziasis, is the second most widespread tropical disease, occurring in more than 70 countries distributed in the Americas, Asia, and Africa (He et al. 2017, Melo et al. 2019). This parasitosis affects about 240 million individuals worldwide and it is estimated that thousands of people live in areas endemic (WHO 2019). Five species of *Schistosoma* can cause schistosomiasis in humans. However, only the trematode *Schistosoma mansoni* occurs in Brazil, and its complex life cycle involves freshwater molluscs of the genus *Biomphalaria* as mandatory intermediate hosts (Massara et al. 2016, Faria et al. 2018). The snail *Biomphalaria glabrata* has been considered the main vector of *S. mansoni* due to its extensive distribution, ecological plasticity, and high infection rates (Scholte et al. 2012, Carvalho et al. 2018).

Integrated strategies to limit the spread of schistosomiasis include the control of *B. glabrata* through molluscicides, combined with the treatment of infected individuals, basic sanitation, and health education (Wang et al. 2016). The synthetic molluscicide niclosamide is indicated by World Health Organization (WHO) for use in disease transmission sites, being highly lethal in low concentrations for all stages of development of vector snails and *S. mansoni* cercariae (Silva et al. 2013, Wang et al. 2018). However, has high production costs and toxicity for aquatic plants and other nontarget organisms (Chen et al. 2019). For this reason, the search for natural products with action against transmitting snails and etiological agent of schistosomiasis is necessary, especially in countries where the disease is considered endemic (Silva et al. 2018).

Assessing the effects of new molluscicides on the environment is important because it indicates whether their application in natural breeding grounds of vector snails is safe or whether it should be carried out only in restricted sites, where there is no nontarget aquatic species nor water use by humans (Rocha-Filho et al. 2015). Trials using the microcrustacean

*Artemia salina* and the fish *Danio rerio* as test organisms have proven to be efficient tools for determining the ecotoxicity of plant samples with molluscicidal action, in addition to being simple, low cost, and fast methods (Pereira et al. 2017).

*Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants, synonym and basionym *Chenopodium ambrosioides* L., is an herbaceous belonging to the family Amaranthaceae. This species is endowed with a strong aroma, has an annual or perennial cycle according to the type of variety, and is popularly known as “erva-de-santa-maria”, “mastruz”, or “epazote” (Jesus et al. 2018, Bibiano et al. 2019). It is native to Central and South America, and may be a weed in other warm and subtropical regions (Brahim et al. 2015). In Brazil, it has a wide distribution, occurring in practically every territorial area (Limaverde et al. 2017).

The essential oil of aerial parts of *D. ambrosioides* (DAEO) has been described as an antibacterial, antifungal, allelopathic, and antioxidant agent (Hegazy & Farrag 2007, Kumar et al. 2007, Correa-Royero et al. 2010, Bezerra et al. 2019), as well as a product with toxicity for larval stages of dengue vectors and for etiological agents of tropical diseases (Leyva et al. 2009, Borges et al. 2012, Monzote et al. 2014). Previous chemical studies have shown that DAEO has a predominance of monoterpenes, with a large variation in their relative content depending on the collection site (Chekem et al. 2010, Paes et al. 2015). Monoterpene constituents of essential oils have been active against snails involved in the transmission cycle of schistosomiasis, demonstrating potential for use in the control of this disease (Pereira et al. 2020).

Considering schistosomiasis as a parasitic disease of great importance worldwide, as well as the relevance of discovering new molluscicides for its control, the present study evaluated the chemical composition, the molluscicidal and cercaricidal effects, and the ecotoxicity of DAEO.



## **MATERIALS AND METHODS**

### **Plant material**

Aerial parts of *D. ambrosioides* were collected in October 2016, at 7 am, in the Maiobão neighborhood of Paço do Lumiar city, Maranhão State, Brazil (02°31'50" S; 44°6'19" W). The plant species was identified and an exsiccate was deposited in the MAR Herbarium of the Federal University of Maranhão (UFMA) under the number MAR-9248.

### **DAEO extraction**

The collected plant samples were dried at room temperature, cut into small pieces, and subjected to hydrodistillation using a Clevenger-type device to obtain the DAEO. After extraction, the oil was dehydrated with anhydrous sodium sulfate ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), centrifuged (5000 rpm/15 min), weighed, stored in a glass vial, and kept refrigerated (5-10 °C) (Coutinho et al. 2007).

### **Analysis of the DAEO composition**

DAEO was analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) by injecting 1  $\mu\text{L}$  of the oil into a Shimadzu QP2010 Ultra system equipped with a DB-5MS silica capillary column, under the following conditions: programmed temperature (60–240 °C) followed by an isotherm of ten minutes at 240 °C, injector temperature adjusted to 250 °C, ion source and connection parts at 200 °C, helium as carrier gas at a linear speed of 32 cm/s, measured at 100 °C. All mass spectra were obtained by electron impact at 70 eV, in a mass range of 35 to 450 Daltons (Luz et al. 2020).

The DAEO chemical compounds content was determined by peak area normalization using a gas chromatograph-flame ionization detector (GC-FID), with nitrogen as carrier gas. Retention index of volatile components was calculated using a homologous series of *n*-alkane. The constituents were identified by comparing their mass spectra and retention indices with

authentic samples existing in the spectral reference libraries and literature data (Nist 2005, Adams 2007).

### **Collection, maintenance, and selection of *Biomphalaria glabrata* snails**

Adult *B. glabrata* snails were collected in São Luís city (2°33'35.1" S; 44°18'05.3" W), Maranhão State, Brazil. The animals were kept at  $25 \pm 2$  °C in glass aquariums containing dechlorinated water. During maintenance, the molluscs were fed lettuce leaves (*Lactuca sativa* L.) and examined weekly for infection by *S. mansoni*, as described by Smithers & Terry (1974). Uninfected snails with intact shells (10-19 mm diameter) were selected for the molluscicidal assay, while infected snails were separated to obtain cercariae for the cercaricidal test.

### **Molluscicidal activity test**

The molluscicidal assay was carried out according to the WHO (1965) standard methodology. Groups of ten adult *B. glabrata* molluscs were exposed to DAEO for 24 h at  $25 \pm 1$  °C. The oil was dissolved in 0.1% Dimethyl Sulfoxide (DMSO), at concentrations of 10-50 µg/mL. The negative control group consisted of snails stored in dechlorinated water with 0.1% DMSO, while copper sulfate (CuSO<sub>4</sub>) at a concentration of 10 µg/mL was used as a positive control. After exposure, the surviving molluscs were washed with dechlorinated water, kept in aquariums, fed with lettuce leaves, and observed for up to 72 h. Snail mortality was recorded during the experiment; the animals that presented shell discoloration, retraction of the cephalopodal mass with or without hemolymph release, loss of motility, and abnormal externalization of the cephalopodal mass were considered dead. Two independent experiments were carried out in triplicate.

The commercial standard of the major constituent identified in DAEO ( $\alpha$ -terpinene) was also evaluated at a concentration of 20 µg/mL against *B. glabrata*, to verify whether the

molluscicidal activity of the essential oil is due to the presence of this chemical compound. The test was carried out according to the above methodology.

### **Lethality test on *Schistosoma mansoni* cercariae**

The cercariae used in the bioassay were obtained after the exposure of *S. mansoni*-infected *B. glabrata* molluscs to artificial light for 2 h. The cercaricidal test was performed according to the methodology of Martins et al. (2017), with modifications, and consisted of the exposure of 10 viable cercariae to 2 mL of DAEO dilutions (10-100 µg/mL) with 0.1% DMSO and dechlorinated water. A 0.1% DMSO solution and a copper sulfate solution at 50 µg/mL were used as negative and positive controls, respectively. The cercariae were observed using a stereomicroscope, at intervals of 15, 30, and 60 min after the beginning of the experiment. The mortality rate was recorded for each concentration of the essential oil. Two independent experiments were carried out in triplicate.

### **Assessment of toxicity to nontarget organisms**

#### **Bioassay with *Artemia salina* Leach**

The test to analyze the toxicity to *A. salina* was performed according to the methodology described by Meyer et al. (1982). Groups of 10 metanauplii larvae were exposed to 5 mL of DAEO dilutions (10-250 µg/mL) with 0.1% DMSO and synthetic saline. For the negative control, a synthetic saline solution with 0.1% DMSO was used. After the 24 h exposure period, the survival rate was recorded, considering as dead the larvae that did not move during the observation. Two independent experiments were carried out in triplicate.

### Bioassay with *Danio rerio* Hamilton Buchanan

The test with adult *Danio rerio* fish (zebrafish) was performed according to the method described by the Brazilian Association of Technical Standards (ABNT 2016). Groups of four zebrafish were placed in small aquariums containing DAEO diluted with 0.1% DMSO, at concentrations ranging between 15 and 30 µg/mL. The experiment was carried out in triplicate and lasted 48 h. Every 24 h, the number of animals killed was recorded, and variables such as pH, conductivity, dissolved oxygen, and temperature were measured. The negative control group comprised zebrafish in dechlorinated water containing 0.1% DMSO. Two independent experiments were carried out. The experimental protocol was approved by the Ethics Committee on the Use of Animals (CEUA/UFMA) under the registration number 23115.009327/2017-10.

### Statistical analysis

The results of both the molluscicidal bioassay and the tests of DAEO cercaricidal activity and its toxicity to nontarget organisms were analyzed using GraphPad Prism<sup>®</sup> 6.0 software, being expressed as mean and standard deviation. Lethal concentrations (LC<sub>50</sub> and LC<sub>90</sub>) were calculated by linear regression analysis with a 95% confidence interval. Significant differences between the treatment groups used in the bioassays were determined by analysis of variance (ANOVA) followed by the Tukey test (significance at  $p < 0.05$ ).

## RESULTS AND DISCUSSION

### Identification of DAEO components

The DAEO yield was 0.8%, considering the dry weight of the collected plant sample. The same volatile content has been reported for *D. ambrosioides* in Cameroon, Togo, and Mexico (Jiménez-Osornio et al. 1996, Tapondjou et al. 2002, Koba et al. 2009). On the other hand, essential oils extracted from samples collected in Nigeria, Rwanda, Colombia, India, and in

southeastern Brazil showed lower yields, ranging between 0.06 and 0.4% (Muhayimana et al. 1998, Onocha et al. 1999, Gupta et al. 2002, Jardim et al. 2008, Jaramillo et al. 2012). The environmental conditions and the time of collection can influence the content of essential oils from plants of the same species (Oliveira et al. 2012, Sá et al. 2015). This may justify the difference between the yield obtained in the evaluated oil and the identified in other studies.

In the essential oil studied it was possible to identify 32 volatile constituents, corresponding to 93.20% of the total chemical compounds present. The oil showed a predominance of hydrocarbon monoterpenes (66.87%), followed by oxygenated monoterpenes (25.46%) (Table I). Sesquiterpene constituents were not identified. The high concentration of monoterpenes found in DAEO agrees with literature data, showing that this volatile profile is a characteristic of the plant species. However, the relative content of monoterpene compounds differed in the volatile samples of *D. ambrosioides* analyzed in other studies, ranging from 75.17 to 94.1% (Cavalli et al. 2004, Chu et al. 2011, Al-kaf et al. 2016).

The major constituent of the essential oil was  $\alpha$ -terpinene (50.69%), followed by p-cymene (13.27%) and ascaridole (10.26%) (Figure 1; Table I). Essential oils from *D. ambrosioides* collected in Rwanda, Cameroon, India, and Nigeria also had  $\alpha$ -terpinene, p-cymene, and ascaridole as major compounds (Muhayimana et al. 1998, Taponjdjou et al. 2002, Singh et al. 2008, Owolabi et al. 2009). However, volatile oils from plants obtained in other regions showed different chemical profiles, with variation in the major compound and other constituents, as well as in the relative terpene content (Pino et al. 2003, Harraz et al. 2015). Thus, in comparison with literature data, the results obtained in the present study prove variability in the chemical composition of the aromatic species *D. ambrosioides*. This chemical variability allows differentiation of *D. ambrosioides* in chemotypes, classified according to the major component, and may correlate with genetic factors, changes in

physiology, material and extraction technique, and with the influence of environmental conditions (Gobbo-Neto & Lopes 2007, Anwar et al. 2009, Sá et al. 2014).

Some authors have indicated the terpene ascaridole as the predominant constituent (content from 31 to 51.12%) in essential oils of *D. ambrosioides* specimens, confirming the existence of the ascaridole chemotype of the plant (Koba et al. 2009, Correa-Royero et al. 2010, Degenhardt et al. 2016). The oil studied belongs to the  $\alpha$ -terpinene chemotype, given the high content of this compound (50.69%). Other chemotypes have also been reported for *D. ambrosioides*, such as limonene (Sagrero-Nieves & Bartley 1995),  $\alpha$ -phellandrene (Lahlou & Berrada 2001),  $\alpha$ -terpinyl acetate (Pino et al. 2003), m-cymene (Prasad et al. 2009), o-cymene (Harraz et al. 2015), carvacrol (Monzote et al. 2006), and cis-piperitone oxide (Soares et al. 2017). Some of these chemotypes have biological potential (Lahlou & Berrada 2001, Prasad et al. 2009, Soares et al. 2017), which may stem from the presence of the major compound or from the interaction between constituents.

The analysis of the chemical composition of essential oils is of paramount importance to correlate their biological properties with the identified compounds, allowing the use of the oils as a raw material in the production of new effective drugs or in the development of products to control the transmission of schistosomiasis mansoni.

### **Molluscicidal activity**

DAEO demonstrated significant molluscicidal activity against adult *B. glabrata* snails. Toxicity was concentration dependent, with lethal effects from the concentration of 25  $\mu\text{g/mL}$ . At a concentration of 50  $\mu\text{g/mL}$ , the oil induced 100% planorbid mortality. Exposure to copper sulfate at 10  $\mu\text{g/mL}$  (positive control) resulted in total snail mortality, while the negative control led to no mortality. The groups exposed to essential oil concentrations of 25 to 50  $\mu\text{g/mL}$  differed significantly from the negative control group ( $p < 0.05$ ) (Figure 2). The

DAEO LC<sub>50</sub> and LC<sub>90</sub> values after 24 h of exposure were 25.2 µg/mL (22.7-27.8) and 48.6 µg/mL (42.1-55.0), respectively.

The molluscicidal effect of DAEO has already been evaluated on *B. truncatus* snails, which act as intermediate hosts for *Schistosoma haematobium* in Africa (Rey 2017). According to Lahlou & Berrada (2001), the oil showed LC<sub>90</sub> of 0.74 µg/mL after a 24 h exposure period. Both this value of LC<sub>90</sub> and of the present study agree with the molluscicidal concentration established by WHO, which determines that plant products with molluscicidal activity can only be used in the field when they cause the mortality of 90 to 100% adult snails at concentrations less than or equal to 100 µg/mL (WHO 1983). Therefore, DAEO has the potential to control the species *B. glabrata* and *B. truncatus* in their natural breeding sites, which will certainly contribute to the reduction of cases of intestinal and urinary schistosomiasis.

Other essential oils made up mainly of monoterpenes have been described as active against snails of the genus *Biomphalaria*. Salama et al. (2012) reported that the volatile oil of *Marrubium vulgare* L. (family Lamiaceae; popular name marroio), with a high thymol content, was toxic to vector snails of *S. mansoni* in Egypt (*Biomphalaria alexandrina*), with LC<sub>90</sub> of 100 µg/mL. Costa et al. (2015) tested the essential oil of the plant *Cymbopogon winterianus* Jowitt (family Poaceae; popular name citronela) on the species *Biomphalaria tenagophila*, which is responsible for the spread of schistosomiasis in southeastern Brazil. The oil presented geraniol and citronellal as major compounds and was considered a promising molluscicide, causing 100% snail mortality at a concentration of 80 µg/mL.

The mechanism of toxicity of essential oils on *B. glabrata* snails has not yet been elucidated. However, the literature report that molluscicidal agents can affect more than one structure of planorbids (Rapado et al. 2011, Melo et al. 2019). Some molluscicides have altered the amount of vital enzymes of snails, demonstrating that they can interfere with

neurotransmission and energy metabolism (Al-Sayed et al. 2014, He et al. 2017). In the molluscicidal assay performed, retraction of the cephalopodal mass into the shell, no response to touch stimulus, and hemolymph release were observed in dead molluscs after contact with DAEO. Half of the animals exposed to the volatile sample at the highest concentration evaluated retracted their cephalopodal mass 20 min after the beginning of the experiment. Shell retraction can be considered a protective behavior of snails in the presence of molluscicides, given the lethal effect of these toxic agents through their epithelium (Pieri & Jurberg 1981). The hemolymph extravasation seen during oil exposure may correlate with the breakdown and rupture of the membrane of the cells of the integument of *B. glabrata*, as essential oils have demonstrated the ability to promote these events in the cells (Oussalah et al. 2006, Zhang et al. 2017). Thus, further studies are needed to explain the mechanism of action of DAEO in *B. glabrata* and its effect on cell membrane integrity.

Some studies correlate the molluscicidal activity of plants with the presence of secondary metabolism chemical substances (Lopes et al. 2011, Singh et al. 2012, Silva et al. 2019). In this sense, the major constituent of DAEO, the monoterpene  $\alpha$ -terpinene, was tested on *B. glabrata* snails to verify whether the molluscicidal property recorded in the present study is determined by this compound. In the bioassay,  $\alpha$ -terpinene did not demonstrate lethal effects on snails at the maximum concentration established by WHO for evaluations with isolated compounds (20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). This indicates that the molluscicidal activity of DAEO may have been determined by the other constituents also identified with high concentration (p-cymene and ascaridole), since they exhibited toxicity against *B. truncatus* and *B. glabrata* snails at concentrations of 0.89 and 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , respectively (Rouquayrol 1984, Lahlou & Berrada 2001). To confirm the influence of p-cymene and ascaridole on the toxic action of DAEO against *B. glabrata*, molluscicidal tests should be performed with these compounds alone. It is also possible that the interaction between the components present in the oil



contributes to its molluscicidal potential, since, according to Bakkali et al. (2008), the biological properties of volatile oils can also be determined by the synergistic effects of their compounds.

### **Cercaricidal activity**

The cercaricidal activity increased proportionally with concentration and exposure time. DAEO induced mortality of *S. mansoni* cercariae in all tested concentrations, except 10 µg/mL. At a concentration of 25 µg/mL, the oil showed lethal effects only in 60 min of exposure, whereas in concentrations of 50 to 100 µg/mL, cercariae mortality occurred in 15 min. The negative control showed a 100% survival rate throughout the experiment, while in the positive control all cercariae died after one min of exposure to copper sulfate at 50 µg/mL (Figure 3). The values of lethal concentrations decreased as the exposure time increased; at the end of the experiment, the LC<sub>50</sub> and LC<sub>90</sub> obtained were 62.4 and 87.2 µg/mL (Table II). These lethal concentrations indicate that DAEO is more effective against *S. mansoni* cercariae in 60 min of exposure.

Essential oils from other herbaceous plants have also demonstrated toxic effects on cercariae of the trematode *S. mansoni*. Augusto et al. (2020), for example, evaluated the cercaricidal activity of the essential oil extracted from the stem of the *Eryngium triquetrum* plant and demonstrated significant toxicity, with 100% mortality of cercariae at a concentration of 0.5 µg/mL after 4 h of exposure. When evaluating the cercaricidal effect of the volatile oil of *Apium graveolens* var. *secalinum*, Saleh et al. (1985) obtained promising results. At a concentration of 50 µg/mL, the oil killed 96% of the cercariae exposed. The authors attributed the toxicity to cercariae to the insoluble toxic constituents of essential oil.

The treatment with the essential oil led to changes in the motor behavior of cercariae, including slow rotation and vibration and contortions. These atypical movements were

dependent on concentration and exposure time (data not shown). Motor impairments affect the infectious capacity of cercariae (Brasil 2014), which may reduce the occurrence of schistosomiasis. Changes in motility are likely to occur due to oil interference with the catalytic activity of the enzyme acetylcholinesterase (AChE), damaging the cholinergic nervous system of cercariae. Essential oils have been reported as potential AChE inhibitors, with IC<sub>50</sub> values ranging from 0.03 to 150.33 µg/mL. The inhibitory activity of oils have been associated with the presence of terpene compounds (Perry et al. 2000, Souza et al. 2009, Hajlaoui et al. 2016).

Previous studies have also reported changes in cercariae motility during exposure to natural cercaricides. Silva et al. (2019) observed that the ether extract of the lichen *Ramalina aspera*, in addition to separating the body and tail of cercariae, promotes atypical rotation and vibration movements in these organisms within 30 min of exposure. When investigating the cercaricidal property of the plant *Glinus lotoides*, Kiros et al. (2014) found altered motility in *S. mansoni* cercariae exposed to the aqueous extract of the fruits, at a concentration of 18.7 mg/L. Changes in movement influenced the infectious potential of cercariae in mice, reducing parasitic load by 91.2%.

The discovery of molluscicides capable of combating in the same application both the vector and the larvae of the etiological agent of the disease is important for a more effective control of schistosomiasis (Silva et al. 2018, Silva et al. 2019). Infected snails can release hundreds of cercariae into the water each day, which are viable for up to 72 h under ideal temperature conditions (Gryseels et al. 2006, Nelwan 2019). As shown in Figure 3, DAEO is toxic to 100% cercariae at a concentration of 100 µg/mL, in 60 min of exposure, also eliminating *B. glabrata* molluscs at this dose. Thus, the oil has biological potential and its use may represent a promising strategy for the control of schistosomiasis.

### **Toxicity to nontarget organisms**

Ecotoxicity tests are essential to define safe environmental parameters for the use of molluscicidal and cercaricidal products (Martins et al. 2017). The microcrustacean *A. salina* and the fish *D. rerio* (zebrafish) are widely used as model organisms in environmental toxicity assessments, as they have a short life cycle, small body size, and easy maintenance and handling under laboratory conditions (Hill et al. 2005, Nunes et al. 2006, Garcia et al. 2016). In the present article, these biological models were used to assess the degree of toxicity of DAEO to nontarget aquatic species, since this volatile product showed molluscicidal and cercaricidal activities. The DAEO showed to be moderately toxic to *A. salina* according to the criteria established by Dolabela (1997, unpublished data), with LC<sub>50</sub> value of 86.9 µg/mL. In the bioassay with *D. rerio*, the oil was toxic, exhibiting a LC<sub>90</sub> of 19.7 µg/mL (Table III). This concentration is lower than the LC<sub>90</sub> determined in the molluscicidal evaluation (48.6 µg/mL).

Oliveira-Filho & Paumgarten (2000) evaluated the toxicity of niclosamide for *A. salina* and *D. rerio*, obtaining LC<sub>50</sub> of 0.32 and 0.25 µg/mL, respectively. Comparing these LC<sub>50</sub> with the LC<sub>50</sub> obtained in ecotoxicological tests of present study (Table III), it is possible to observe that niclosamide is more toxic for nontarget organisms than the DAEO. This synthetic molluscicide also demonstrated toxicity to amphibians, annelids, and to the microcrustacean *Daphnia similis* (Oliveira-Filho & Paumgarten 2000, Rapado et al. 2013).

Considering the results of ecotoxicity obtained, the DAEO demonstrated potential to affect other species present in natural environments of schistosomiasis-transmitting snails, such as rivers and lakes. Thus, the use of oil is not recommended in these locations. Notwithstanding, the DAEO can be used in artificial breeding sites, such as ditches and puddles, which are frequent in areas of schistosomiasis transmission and hardly harbor nontarget organisms of molluscicidal agents (Ribeiro 2016, unpublished data).

## CONCLUSION

The monoterpenes  $\alpha$ -terpinene, p-cymene and ascaridole were the main constituents of the DAEO, which showed potential for the control of schistosomiasis in endemic areas, with promising molluscicidal and cercaricidal activity. The DAEO exhibited lethal effects on adult *B. glabrata* snails and *S. mansoni* cercariae at concentrations recommended by the WHO. In addition, this natural product has low acute toxicity to non-target organisms when compared to the synthetic molluscicide niclosamide. Future studies should be carried out in order to verify the effects of DAEO on other life stages of *B. glabrata* (embryos and newborns) and its efficacy in field tests.

## Acknowledgments

The authors are grateful to the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior and to the Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão for financial grants through the concession of scholarships and financial support (EDITAL FAPEMA Nº 31/2016 – UNIVERSAL).

## Author contributions

Pereira LPLA. performed the experiments, analyzed the data and wrote the manuscript. Ribeiro ECG and Araruna FOS analyzed the data and assisted in the writing of the manuscript. Cantanhede SPD and Araruna FB assisted in collecting snails. Leite JAC, Brito MCA and Silveira DPB contributed to the perform of bioassays. Firmo WCA performed data analysis and interpretation, and revised the manuscript. Monteiro OS and Maia JGS contributed to the chemical analysis of the essential oil studied. Coutinho DF supervised the project, contributed to the design and implementation of the research, and revised the manuscript.

## REFERENCES

- ADAMS RP. 2007. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry, 4th ed. Allured: Carol Stream.
- AL-KAF AG, CROUCH RA, DENKERT A, PORZEL A, AL-HAWSHABI OSS, ALI NAA, SETZER WN & WESSJOHANN L. 2016. Chemical composition and biological activity of essential oil of *Chenopodium ambrosioides* from Yemen. *Am J Essent Oil Nat Prod* 4: 20-22.
- AL-SAYED E, HAMID HA & EININ HMAE. 2014. Molluscicidal and antischistosomal activities of methanol extracts and isolated compounds from *Eucalyptus globulus* and *Melaleuca styphelioides*. *Pharm Biol* 52: 698–705.
- ANWAR F, HUSSAIN AI, SHERAZI STH & BHANGER MI. 2009. Changes in composition and antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) fruit at different stages of maturity. *J Herbs Spices Med Plants* 15: 187-202.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. 2016. ABNT NBR 15088. Ecotoxicologia aquática – toxicidade aguda – método de ensaio com peixes (Cyprinidae).
- AUGUSTO RC, MERAD N, ROGNON A, GOURBAL B, BERTRAND C, DJABOU N & DUVAL D. 2020. Molluscicidal and parasiticidal activities of *Eryngium triquetrum* essential oil on *Schistosoma mansoni* and its intermediate snail host *Biomphalaria glabrata*, a double impact. *Parasit Vectors* 13: 1-11.
- BAKKALI F, AVERBECK S, AVERBECK D & IDAOMAR M. 2008. Biological effects of essential oils – a review. *Food Chem Toxicol* 46: 446–475.
- BEZERRA JWA et al. 2019. Chemical composition, antimicrobial, modulator and antioxidant activity of essential oil of *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin and Clemants. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*.
- BIBIANO CS, CARVALHO AA, BERTOLUCCI SKV, TORRES SS, CORRÊA RC & PINTO JEBP. 2019. Organic manure sources play fundamental roles in growth and qualitative production of essential oil from *Dysphania ambrosioides* L. *Ind Crops Prod* 139: 1-7.
- BRAHIM MAS, FADLI M, HASSANI L, BOULAY B, MARKOUK M, BEKKOUCHE K, ABBAD A, ALI MA & LARHSINI M. 2015. *Chenopodium ambrosioides* var. *ambrosioides* used in Moroccan traditional medicine can enhance the antimicrobial activity of conventional antibiotics. *Ind Crops Prod* 71: 37–43.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica, 2014. Vigilância da esquistossomose mansoni: diretrizes técnicas/ Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis, 4th ed., Brasília: Ministério da Saúde.
- CARVALHO OS et al. 2018. Geographical distribution of intermediate hosts of *Schistosoma mansoni* in the states of Paraná, Minas Gerais, Bahia, Pernambuco and Rio Grande do Norte, Brazil, 2012-2014. *Epidemiol Serv Saude* 27: 1-9.

- CAVALLI JF, TOMI F, BERNARDINI AF & CASANOVA J. 2004. Combined analysis of the essential oil of *Chenopodium ambrosioides* by GC, GC-MS and <sup>13</sup>C-NMR spectroscopy: quantitative determination of ascaridole, a heat-sensitive compound. *Phytochem Anal* 15: 275–279.
- CHEKEM MSG, LUNGA PK, TAMOKOU JD, KUIATE JR, TANE P, VILAREM G & CERNY M. 2010. Antifungal properties of *Chenopodium ambrosioides* essential oil against *Candida* species. *Pharmaceuticals* 3: 2900-2909.
- CHEN Z et al. 2019. Toxicity of a molluscicide candidate PPU07 against *Oncomelania hupensis* (Gredler, 1881) and local fish in field evaluation. *Chemosphere* 222: 56-61.
- CHU SS, HUB JF & LIU ZL. 2011. Composition of essential oil of chinese *Chenopodium ambrosioides* and insecticidal activity against maize weevil, *Sitophilus zeamais*. *Pest Manag Sci* 67: 714–718.
- CORREA-ROYERO J, TANGARIFE V, DURÁN C, STASHENKO E & MESA-ARANGO A. 2010. In vitro antifungal activity and cytotoxic effect of essential oils and extracts of medicinal and aromatic plants against *Candida krusei* and *Aspergillus fumigatus*. *Rev Bras Farmacogn* 20: 734-741. 10.1590/S0102-695X2010005000021.
- COSTA AV, ALMEIDA BR, GONÇALVES LV, CRICO KB, IGNACCHITI MDC, PEREIRA JUNIOR OS, PINHEIRO PF & QUEIROZ VT. 2015. Efeito moluscicida do óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* Jowitt (Poaceae) sobre *Lymnaea columella* (Say, 1817) e *Biomphalaria tenagophila* (D'Orbigny, 1835). *Rev Bras Pl Med* 17: 707–712.
- COUTINHO DF, DIAS CS, BARBOSA-FILHO JM, AGRA MF, MARTINS RM, SILVA TMS, CUNHA EVL, SILVA MS & CRAVEIRO AA. 2015. Composition and molluscicidal activity of the essential oil from the stem bark of *Ocotea bracteosa* (Meisn.) Mez. *J Essent Oil Res* 19: 482-484.
- DEGENHARDT RT, FARIAS IV, GRASSI LT, FRANCHI JÚNIOR GC, NOWILL AE, BITTENCOURT CMS, WAGNER TM, SOUZA MM, CRUZ AB & MALHEIROS A. 2016. Characterization and evaluation of the cytotoxic potential of the essential oil of *Chenopodium ambrosioides*. *Rev Bras Farmacogn* 26: 56–61.
- DÉNOU A, TOGOLA A, INNGJERDINGEN KT, DIALLO D & PAULSEN BS. 2016. Laboratory assessment of molluscicidal activity of *Glinus oppositifolius* (L.) Aug. DC. (Aizoaceae). *Int J New Technol Res* 2: 123-126.
- FARIA RX, ROCHA LM, SOUZA EPBSS, ALMEIDA FB, FERNANDES CP & SANTOS JAA. 2018. Molluscicidal activity of *Manilkara subsericea* (Mart.) dubard on *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). *Acta Trop* 178: 163–168.
- GARCIA GR, NOYES PD & TANGUAY RL. 2016. Advancements in zebrafish applications for 21st century toxicology. *Pharmacol Ther* 161: 11–21.
- GOBBO-NETO L & LOPES NP. 2007. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Quim Nova* 30: 374-381.

GRYSEELS B, POLMAN K, CLERINX J & KESTENS L. 2006. Human schistosomiasis. *Lancet* 368: 1106–1118.

GUPTA D, CHARLES R, MEHTA VK, GARG SN & KUMAR S. 2002. Chemical examination of the essential oil of *Chenopodium ambrosioides* L. from the Southern Hills of India. *J Essent Oil Res* 14: 93-94.

HAJLAOUI H, MIGHRI H, AOUNI M, GHARSALLAH N & KADRI A. 2016. Chemical composition and in vitro evaluation of antioxidant, antimicrobial, cytotoxicity and anti-acetylcholinesterase properties of Tunisian *Origanum majorana* L. essential oil. *Microb Pathog* 95: 86-94.

HARRAZ FM, HAMMODA HM, GHAZOULY MGE, FARAG MA, EL-ASWAD AF & BASSAM SM. 2015. Chemical composition, antimicrobial and insecticidal activities of the essential oils of *Conyza linifolia* and *Chenopodium ambrosioides*. *Nat Prod Res* 29: 879-882.

HE P, WANG W, SANOGO B, ZENG X, SUN X, LV Z, YUAN D, DUAN L & WU Z. 2017. Molluscicidal activity and mechanism of toxicity of a novel salicylanilide ester derivative against *Biomphalaria* species. *Parasit Vectors* 10: 2-11.

HEGAZY AK & FARRAG HF. 2007. Allelopathic potential of *Chenopodium ambrosioides* on germination and seedling growth of some cultivated and weed plants. *Global J Biotech & Biochem* 2: 1-9.

HILL AJ, TERAOKA H, HEIDEMAN W & PETERSON RE. 2005. Zebrafish as a model vertebrate for investigating chemical toxicity. *Toxicol Sci* 86: 6–19.

ISMAIL MA, KOKO WS, OSMAN EE, DAHAB MM, GARBI MI, ALSADEG AM & KABBASHI AS. 2016. Molluscicidal activity of *Acacia seyal* (Dell) bark methanolic extract against *Biomphalaria pfeifferi* snails. *Int Biol Biomed J* 2: 73-79.

JARDIM CM, JHAM GN, DHINGRA OD & FREIRE MM. 2008. Composition and antifungal activity of the essential oil of the Brazilian *Chenopodium ambrosioides* L. *J Chem Ecol* 34: 1213–1218.

JARAMILLO BE, DUARTE E & DELGADO W. 2012. Bioactividad del aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* colombiano. *Rev Cubana Plant Med* 17: 54-64.

JESUS RS et al. 2018. In vitro antimicrobial and antimycobacterial activity and HPLC–DAD screening of phenolics from *Chenopodium ambrosioides* L. *Braz J Microbiol* 49: 296-302.

JIMÉNEZ-OSORNIO FMVZJ, KUMAMOTO J & WASSER C. 1996. Allelopathic activity of *Chenopodium ambrosioides* L. *Biochem Syst Ecol* 24: 195-205.

KIROS G, ERKO B, GIDAY M & MEKONNEN Y. 2014. Laboratory assessment of molluscicidal and cercariacidal effects of *Glinus lotoides* fruits. *BMC Res Notes* 7: 1-7.

KOBA K, CATHERINE G, RAYNAUD C, CHAUMONT JP, SANDA K & LAURENCE N. 2009. Chemical composition and cytotoxic activity of *Chenopodium ambrosioides* L. essential oil from Togo. *Bangladesh J Sci Ind Res* 44: 435-440.

KUMAR R, MISHRA AK, DUBEY NK & TRIPATHI YB. 2007. Evaluation of *Chenopodium ambrosioides* oil as a potential source of antifungal, antiaflatoxic and antioxidant activity. *Int J Food Microbiol* 115: 159–164.

LAHLOU M & BERRADA R. 2001. Potential of essential oils in schistosomiasis control in Morocco. *Int J Aromather* 11: 87-96.

LEYVA M, MARQUETTI MC, TACORONTE JE, SCULL R, TIOMNO O, MESA A & MONTADA D. 2009. Actividad larvica de aceites esenciales de plantas contra *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). *Rev Biomed* 20: 5-13.

LIMAVERDE PW et al. 2017. Inhibition of the TetK efflux-pump by the essential oil of *Chenopodium ambrosioides* L. and  $\alpha$ -terpinene against *Staphylococcus aureus* IS-58. *Food Chem Toxicol* 109: 957-961.

LOPES TC, GONÇALVES JRS, SILVA-SOUZA N, COUTINHO-MORAES DF, AMARAL FMM & ROSA IG. 2011. Avaliação moluscicida e perfil fitoquímico das folhas de *Caryocar brasiliense* Camb. *Cad Pesq* 18: 23-30.

LUZ TRSA et al. 2020. Seasonal variation in the chemical composition and biological activity of the essential oil of *Mesosphaerum suaveolens* (L.) Kuntze. *Ind Crops Prod* 153: 1-8.

MARTINS MCB, SILVA MC, SILVA HAMF, SILVA LRS, ALBUQUERQUE MCPA, AIRES AL, FALCÃO EPS, PEREIRA EC, MELO AMMA & SILVA NH. 2017. Barbatic acid offers a new possibility for control of *Biomphalaria glabrata* and schistosomiasis. *Molecules* 22: 1-11.

MASSARA CL, MURTA FLG, ENK MJ, ARAÚJO AD, MODENA CM & CARVALHO OS. 2016. Caracterização de materiais educativos impressos sobre esquistossomose, utilizados para educação em saúde em áreas endêmicas no Brasil. *Epidemiol Serv Saude* 25: 575-584.

MCCULLOUGH FS, GAYRAL PH, DUNCAN J & CHRISTIE JD. 1980. Molluscicides in schistosomiasis control. *Bull World Health Organ* 58: 681-689.

MELO AO, SANTOS DB, SILVA LD, ROCHA TL & BEZERRA JCB. 2019. Molluscicidal activity of polyhexamethylene biguanide hydrochloride on the early-life stages and adults of the *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). *Chemosphere* 216: 365-371.

MEYER BN, FERRIGNI NA, PUTNAM JE, JACOBSEN LB, NICHOLS DE & MCLAUGHLIN JL. 1982. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Med* 45: 31—34.

MONZOTE L, MONTALVO AM, ALMANONNI S, SCULL R, MIRANDA M & ABREU J. 2006. Activity of the essential oil from *Chenopodium ambrosioides* grown in Cuba against *Leishmania amazonensis*. *Chemotherapy* 52: 130–136.



- MONZOTE L, GARCÍA M, PASTOR J, GIL L, SCULL R, MAES L, COS P & GILLE L. 2014. Essential oil from *Chenopodium ambrosioides* and main components: activity against *Leishmania*, their mitochondria and other microorganisms. *Exp Parasitol* 136: 20–26.
- MUHAYIMANA A, CHALCHAT JC & GARRY RP. 1998. Chemical composition of essential oils of *Chenopodium ambrosioides* L. from Rwanda. *J Essent Oil Res* 10: 690-692.
- NELWAN ML. 2019. Schistosomiasis: life cycle, diagnosis, and control. *Curr Ther Res* 91: 5–9.
- NIST. 2005. Mass Spectral Library (NIST/EPA/NIH). National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg: Md USA.
- NUNES BS, CARVALHO FD, GUILHERMINO LM & STAPPEN GV. 2006. Use of the genus *Artemia* in ecotoxicity testing. *Environ Pollut* 144: 453-462.
- OLIVEIRA ARMF, JEZLER CN, OLIVEIRA RA, MIELKE MS & COSTA LCB. 2012. Determinação do tempo de hidrodestilação e do horário de colheita no óleo essencial de menta. *Hortic Bras* 30: 155-159.
- OLIVEIRA-FILHO EC & PAUMGARTTEN FJR. 2000. Toxicity of *Euphorbia milii* latex and niclosamide to snails and nontarget aquatic species. *Ecotoxicol Environ Saf* 46: 342-350.
- ONOCHA PA, EKUNDAYO O, ERAMO T & LAAKSO I. 1999. Essential oil constituents of *Chenopodium ambrosioides* L. leaves from Nigeria. *J Essent Oil Res* 11: 220-222.
- OUSSALAH M, CAILLET S & LACROIX M. 2006. Mechanism of action of spanish oregano, chinese cinnamon, and savory essential oils against cell membranes and walls of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes*. *J Food Prot* 69: 1046–1055.
- OWOLABI MS, LAJIDE L, OLADIMEJI MO, SETZERD WN, PALAZZO MC, OLOWU RA & OGUNDAJO A. 2009. Volatile constituents and antibacterial screening of the essential oil of *Chenopodium ambrosioides* L. growing in Nigeria. *Nat Prod Commun* 4: 989-992.
- PAES JPP, RONDELLI VM, COSTA AV, VIANNA UR & QUEIROZ VT. 2015. Caracterização química e efeito do óleo essencial de erva-de-santa-maria sobre o ácaro-rajado de morangueiro. *Rev Bras Frutic* 37: 346-354.
- PEREIRA LPLA et al. 2017. Molluscicidal effect of *Euphorbia umbellata* (Pax) Bruyns látex on *Biomphalaria glabrata*, *Schistosoma mansoni* host snail. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 59: 1-5.
- PEREIRA LPLA et al. 2020. Essential oils as molluscicidal agents against schistosomiasis transmitting snails - a review. *Acta Trop* 209: 1-9.
- PERRY NSL, HOUGHTON PJ, THEOBALD A, JENNER P & PERRY EK. 2000. In-vitro inhibition of human erythrocyte acetylcholinesterase by *Salvia lavandulaefolia* essential oil and constituent terpenes. *J Pharm Pharmacol* 52: 895-902.
- PIERI OS & JURBERG P. 1981. Aspectos etológicos na sobrevivência dos caramujos vetores da xistosomose ao tratamento com moluscicidas. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 76: 47-55.

PINO JA, MARBOT R & REAL IM. 2003. Essential oil of *Chenopodium ambrosioides* L. from Cuba. J Essent Oil Res 15: 213-214.

PRASAD CS, SHUKLA R, KUMAR A & DUBEY NK. 2009. In vitro and in vivo antifungal activity of essential oils of *Cymbopogon martini* and *Chenopodium ambrosioides* and their synergism against dermatophytes. Mycoses 53: 123–129.

RAPADO LN, NAKANO E, OHLWEILER FP, KATO MJ, YAMAGUCHI LF, PEREIRA CAB & KAWANO T. 2011. Molluscicidal and ovicidal activities of plant extracts of the Piperaceae on *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). J Helminthol 85: 66-72.

RAPADO LN et al. 2013. Schistosomiasis control using pipartine against *Biomphalaria glabrata* at different developmental stages. PLoS Negl Trop Dis 7: 1-8.

REY L. 2017. Bases da Parasitologia Médica, 3rd ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

ROCHA-FILHO CAA et al. 2015. Assessment of toxicity of *Moringa oleifera* flower extract to *Biomphalaria glabrata*, *Schistosoma mansoni* and *Artemia salina*. Chemosphere 132: 188–192.

ROUQUAYROL MZ. 1984. Atividade moluscicida de plantas do Nordeste Brasileiro. RECCS 1: 24-31.

SÁ RD, GALVÃO MAM, FERREIRA MRA, SOARES LAL & RANDAU KP. 2014. Chemical composition of the essential oil from leaves of *Chenopodium ambrosioides* L. grown in Recife-PE, Brazil. Rev Bras Farm 95: 855-866.

SÁ RD, SOARES LAL & RANDAU KP. 2015. Óleo essencial de *Chenopodium ambrosioides* L.: estado da arte. Rev Ciênc Farm Básica Apl 36: 267-276.

SAGRERO-NIEVES L & BARTLEY JP. 1995. Volatile constituents from the leaves of *Chenopodium ambrosioides* L. J Essent Oil Res 7: 221-223.

SALAMA MM, TAHER EE & EL-BAHY MM. 2012. Molluscicidal and mosquitocidal activities of the essential oils of *Thymus capitatus* Hoff. Et Link. and *Marrubium vulgare* L. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 54: 281–286.

SALEH MM, ZWAVING JH, MALINGRI THM & BOS R. 1985. The essential oil of *Apium graveolens* var. *secalinum* and its cercaricidal activity. Pharm Weekbl Sci 7: 277-279.

SCHOLTE RGC, CARVALHO OS, MALONE JB, UTZINGER J & VOUNATSOU P. 2012. Spatial distribution of *Biomphalaria* spp., the intermediate host snails of *Schistosoma mansoni*, in Brazil. Geospat Health 6: S95-S101.

SILVA CLPAC, VARGAS TS & BAPTISTA DF. 2013. Molluscicidal activity of *Moringa oleifera* on *Biomphalaria glabrata*: integrated dynamics to the control of the snail host of *Schistosoma mansoni*. Rev Bras Farmacogn 23: 848-850.

SILVA HAMF et al. 2018. Laboratory assessment of divaricatic acid against *Biomphalaria glabrata* and *Schistosoma mansoni* cercariae. Acta Trop 178: 97–102.

SILVA HAMF et al. 2019. Toxicological effects of *Ramalina aspera* (lichen) on *Biomphalaria glabrata* snails and *Schistosoma mansoni* cercariae. *Acta Trop* 196: 172-179.

SINGH HP, BATISH DR, KOHLI RK, MITTAL S & YADAV S. 2008. Chemical composition of essential oil from leaves of *Chenopodium ambrosioides* from Chandigarh, India. *Chem Nat Compd* 44: 378-379.

SINGH KL, SINGH DK & SINGH VK. 2012. Characterization of the molluscicidal activity of *Bauhinia variegata* and *Mimusops elengi* plant extracts against the fasciola vector *Lymnaea acuminata*. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 54: 135-140.

SMITHERS SR & TERRY RJ. 1974. Immunology of schistosomiasis. *Bull World Health Organ* 51: 553-595.

SOARES MH et al. 2017. Chemical composition, antibacterial, schistosomicidal, cytotoxic activities of the essential oil of *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants (Chenopodiaceae). *Chem Biodivers* 14: 1-10.

SOUZA A, SILVA MC, CARDOSO-LOPES EM, CORDEIRO I, SOBRAL MEG, YOUNG MCM & MORENO PRH. 2009. Differential acetyl cholinesterase inhibition by volatile oils from two specimens of *Marlierea racemosa* (Myrtaceae) collected from different areas of the atlantic rain forest. *Nat Prod Commun* 4: 1143-1146.

TAPONDJOU LA, ADLER C, BOUDA H & FONTEM DA. 2002. Efficacy of powder and essential oil from *Chenopodium ambrosioides* leaves as post-harvest grain protectants against six-stored product beetles. *J Stored Prod Res* 38: 395-402.

TRIPATHI SM, SINGH VK, SINGH S & SINGH DK. 2004. Enzyme inhibition by the molluscicidal agent *Punica granatum* Linn. bark and *Canna indica* Linn. root. *Phytother Res* 18: 501-506.

WANG W, QIN Z, ZHU D, WEI Y, LI S & DUAN L. 2016. Synthesis, bioactivity evaluation, and toxicity assessment of novel salicylanilide ester derivatives as cercaricides against *Schistosoma japonicum* and molluscicides against *Oncomelania hupensis*. *Antimicrob Agents Chemother* 60: 323-331.

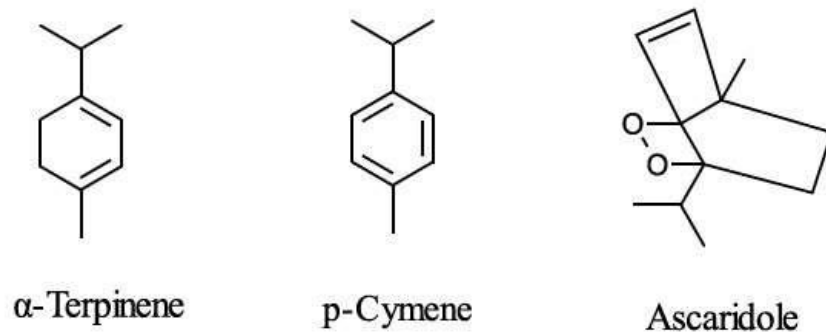
WANG W, MAO Q, YAO J, YANG W, ZHANG Q, LU W, DENG Z & DUAN L. 2018. Discovery of the pyridylphenylureas as novel molluscicides against the invasive snail *Biomphalaria straminea*, intermediate host of *Schistosoma mansoni*. *Parasit Vectors* 11: 1-8.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1965. Memoranda: molluscicide screening and evaluation. *Bull World Health Organ* 33: 567-576.

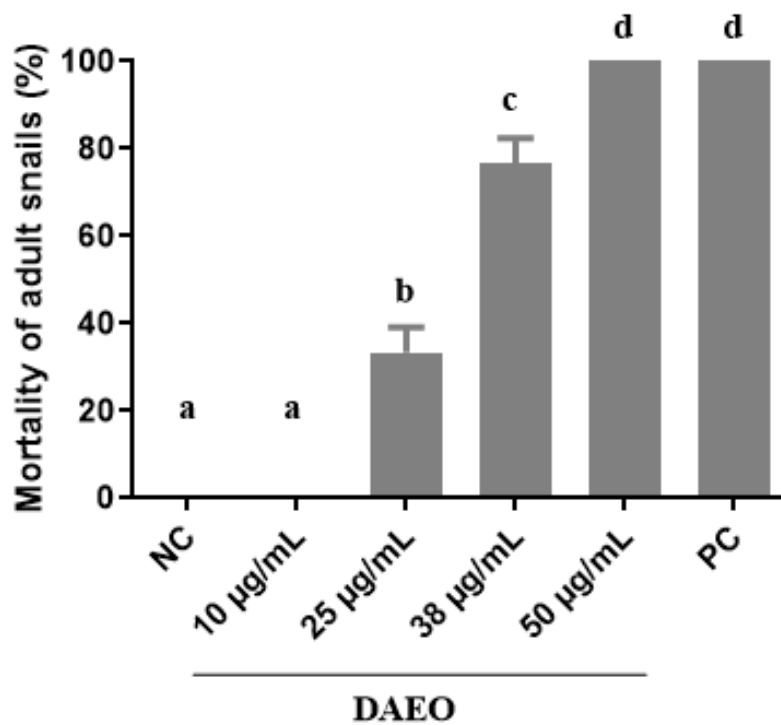
WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1983. Report of the scientific working group on plant molluscicide e guidelines for evaluation of plant molluscicides. Geneva: World Health Organization.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. 2019. Schistosomiasis. Available in: <https://www.who.int/schistosomiasis/disease/en/>.

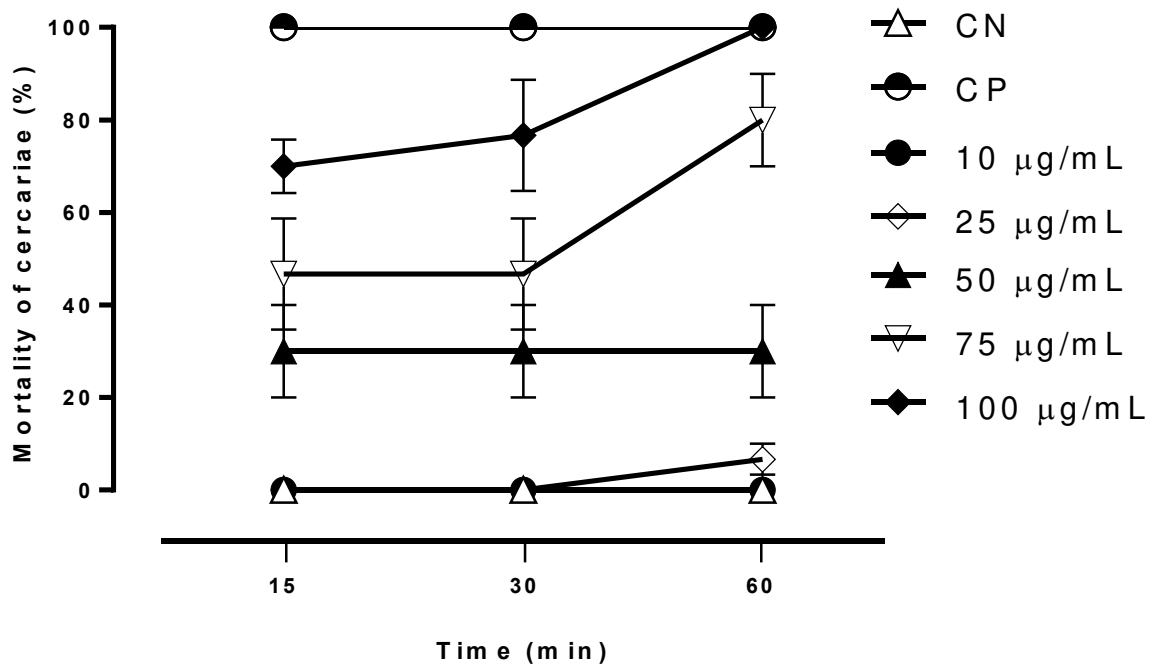
ZHANG LL, ZHANG LF, HU QP, HAO DL & XU JG. 2017. Chemical composition, antibacterial activity of *Cyperus rotundus* rhizomes essential oil against *Staphylococcus aureus* via membrane disruption and apoptosis pathway. Food Control 80: 290-296.

**Figures**

**Figure 1.** Structure of the main compounds identified in the essential oil of aerial parts of *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants (DAEO).



**Figure 2.** Mortality of snails *Biomphalaria glabrata* after 24 hours of exposure to the essential oil of aerial parts of *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants (DAEO) in different concentrations ( $\mu\text{g/mL}$ ). NC (negative control): dechlorinated water and 0.1% DMSO. PC (positive control): copper sulfate at 10  $\mu\text{g/mL}$ . Values were expressed as means  $\pm$  SD of two independent experiments. Different lowercase letters indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) between treatments by ANOVA followed by Tukey test.



**Figure 3.** Mortality of cercariae exposed to the essential oil of aerial parts of *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants (DAEO) in different concentrations in relation to the exposure time. NC (negative control): dechlorinated water and 0.1% DMSO. PC (positive control): copper sulfate at 50 µg/mL. Values were expressed as means  $\pm$  SD of two independent experiments.

## Tables

**Table I.** Chemical constituents identified in the essential oil of aerial parts of *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants (DAEO).

Compounds <sup>a</sup>	RI <sup>b</sup>	Content (%) <sup>c</sup>
Hexanal	800	0.08
(E)-2-hexenal	848	0.04
$\alpha$ -Pinene	933	0.02
Benzaldehyde	958	0.06
Myrcene	990	0.17
$\delta$ -2-Carene	1002	0.09
$\alpha$ -Phellandrene	1006	0.03
$\delta$ -3-Carene	1011	0.17
$\alpha$ -Terpinene	1018	50.69
p-Cymene	1024	13.27
Limonene	1028	1.05
$\gamma$ -Terpinene	1057	1.27
N-octanol	1068	0.01
N-nonanal	1104	0.03
1,3,8-p-Menthatriene	1112	0.03
1-Terpineol	1134	0.04
2-vinyl anisole	1135	0.07
p-Cymen-8-ol	1184	0.08
$\alpha$ -Terpineol	1190	0.05
Ascaridole	1238	10.26
Carvone	1244	0.01
cis-Piperitone epoxide	1254	0.32
trans-Piperitone epoxide	1257	0.73
trans-Ascaridol glycol	1268	0.27
Thymol	1292	3.90
Carvacrol	1301	2.45
Isoascaridole	1305	7.70
4-Hydroxy-cryptone	1316	0.03
cis-3-Hexenyl tiglate	1324	0.14
Hexyl tiglate	1330	0.05
p-Menth-1-en-9-ol acetate	1420	0.05
(E)-Citronellyl tiglate	1666	0.04
Total identified (%)		93.20

<sup>a</sup> Compounds listed in order of elution in column DB-5ms.

<sup>b</sup> Retention indices (RI) determined experimentally against n-alkanes using the column DB-5ms.

<sup>c</sup> Calculated from peak areas in the chromatogram.



**Table II.** Lethal concentrations of the essential oil of aerial parts of *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants (DAEO) on cercariae of *Schistosoma mansoni* in relation to the exposure time.

Exposure time (min)	Lethal concentrations ( $\mu\text{g/mL}$ )	
	LC <sub>50</sub> (95% CI <sup>a</sup> )	LC <sub>90</sub> (95% CI <sup>a</sup> )
15	85.3 (84.6 – 86.1)	110.1 (109.4 – 111.4)
30	84.2 (83.8 – 84.9)	108.9 (107.6 – 109.8)
60	62.4 (61.8 – 62.9)	87.2 (85.9 – 88.7)

<sup>a</sup>95% confidence interval.

**Table III.** Toxicity of the essential oil of aerial parts of *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants (DAEO) against nontarget organisms.

Tested organisms	Exposure time	Lethal concentrations ( $\mu\text{g/mL}$ )	
		LC <sub>50</sub> (95% CI <sup>a</sup> )	LC <sub>90</sub> (95% CI <sup>a</sup> )
<i>Artemia salina</i> larvae	24 h	86.9 (84.7 – 87.6)	-
<i>Danio rerio</i> fish	48 h	18.6 (17.3 – 19.0)	19.7 (19.1 – 20.1)

<sup>a</sup>95% confidence interval.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir do trabalho de revisão de óleos essenciais com toxicidade sobre moluscos transmissores da esquistossomose, disposto no Capítulo I dessa tese, foi possível concluir que:

- Óleos essenciais apresentam potencial moluscicida, podendo ser considerados como uma ferramenta promissora para o controle da esquistossomose;
- Os óleos voláteis mais ativos foram obtidos do fruto de *Citrus aurantium* var. *valencia* Late, partes aéreas de *Origanum compactum* Benth., needles de *Cedrus atlantica* (Endl.) Carriere e partes aéreas de *Chenopodium ambrosioides* L.;
- Partes aéreas foram as estruturas mais utilizadas para a obtenção dos óleos voláteis estudados, entretanto, a maioria dos óleos ativos foi obtida de folhas;
- Amostras voláteis obtidas de uma mesma planta de localidades diferentes não exibiram o mesmo efeito tóxico sobre os moluscos transmissores;
- Estudos complementares que indiquem o mecanismo de toxicidade dos óleos essenciais sobre os caramujos são necessários;
- Os óleos essenciais com atividade moluscicida apresentaram predominância de compostos terpênicos em sua constituição química;
- Alguns constituintes de óleos voláteis demonstraram atividade moluscicida significativa, tendo destaque timol, canfeno e geraniol;
- Poucos óleos avaliados quanto à atividade moluscicida foram submetidos a ensaios de toxicidade frente a organismos não alvo, para a determinação da segurança de sua aplicação nos criadouros naturais dos caramujos transmissores.

No estudo da composição química, dos efeitos moluscicida e cercaricida e da ecotoxicidade do DAOE, relatado no capítulo 2 dessa tese, conclui-se que:

- Monoterpenos hidrocarbonetos constituíram a maior fração do óleo essencial;
- $\alpha$ -Terpineno, p-cimeno e ascaridol foram os compostos principais do óleo estudado;
- O DAOE demonstrou efeitos tóxicos sobre o agente etiológico e caramujos vetores da esquistossomose, podendo ser utilizado para controlar a transmissão da doença;
- A toxicidade ambiental do óleo foi baixa quando comparada à ecotoxicidade do moluscicida sintético niclosamida.

## REFERÊNCIAS

- ABDALA, R. **Caracterização da resposta imune celular de pacientes portadores da esquistossomose mansônica residentes em áreas endêmicas para doença**. 2012. 176 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Centro de Pesquisas René Rachou, Belo Horizonte, 2012.
- ALBUQUERQUE, R. D. D. G.; MAHOMOODALLY, M. F.; LOBINE, D.; SUROOWAN, S.; RENGASAMY, K. R. R. Botanical products in the treatment and control of schistosomiasis: recent studies and distribution of active plant resources according to affected regions. **Biology**, v. 9, n. 223, p. 1-26, 2020.
- ALI, B.; AL-WABEL, N. A.; SHAMS, S.; AHAMAD, A.; KHAN, S. A.; ANWAR, F. Essential oils used in aromatherapy: a systemic review. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 5, n. 8, p. 601-11, 2015.
- ALVES, T. M. A.; SILVA, A. F.; BRANDÃO, M.; GRANDI, T. S. M.; SMÂNIA, E. F. A.; SMÂNIA-JÚNIOR, A.; ZANI, C. L. Biological screening of Brazilian medicinal plants. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 95, n. 3, p. 367-373, 2000.
- AMARAL, R. S. Introdução. In: BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Vigilância e controle de moluscos de importância epidemiológica: diretrizes técnicas: Programa de Vigilância e Controle da Esquistossomose (PCE)**. 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2008.
- AMARAL, R. S.; PIERI, O. S.; THIENGO, S. C.; FERNANDEZ, M. A.; ABÍLIO, F. J. P.; SCHALL, V. T.; DEBERDT, A. J.; YAMADA, H. T.; MARCELINO, J. M. R.; MENEZES, M. J. R.; DANTAS, T. C. M. Vigilância e controle dos moluscos de importância médica. In: BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Vigilância e controle de moluscos de importância epidemiológica: diretrizes técnicas: Programa de Vigilância e Controle da Esquistossomose (PCE)**. 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2008.
- ANDREWS, P.; THYSSEN, J.; LORKE, D. The biology and toxicology of molluscicides, Bayluscide®. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 19, p. 245-95, 1983.
- ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. **Amaranthaceae**. Disponível em: <<http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>>. Acesso em: 22 out. 2019.
- ANWAR, F.; HUSSAIN, A. I.; SHERAZI, S. T. H.; BHANGER, M. I. Changes in composition and antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) fruit at different stages of maturity. **Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants**, v. 15, p. 187-202, 2009.
- ARAÚJO, H. D. A.; SILVA, L. R. S.; SIQUEIRA, W. N.; FONSECA, C. S. M.; SILVA, N. H.; MELO, A. M. M. A.; MARTINS, M. C. B.; LIMA, V. L. M. Toxicity of usnic acid from *Cladonia substellata* (Lichen) to embryos and adults of *Biomphalaria glabrata*. **Acta Tropica**, v. 179, p. 39-43, 2018.

ASSAIDI, A.; DIB, I.; TITS, M.; ANGENOT, L.; BELLAHCEN, S.; BOUANANI, N.; LEGSSYER, A. *Chenopodium ambrosioides* induces an endothelium-dependent relaxation of rat isolated aorta. **Journal of Integrative Medicine**, v. 17, n. 2, p. 115-24, 2019.

AUGUSTO, R. C.; MERAD, N.; ROGNON, A.; GOURBAL, B.; BERTRAND, C.; DJABOU, N.; DUVAL, D. Molluscicidal and parasiticidal activities of *Eryngium triquetrum* essential oil on *Schistosoma mansoni* and its intermediate snail host *Biomphalaria glabrata*, a double impact. **Parasites & Vectors**, v. 13, p. 1-11, 2020.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – a review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446–75, 2008.

BALDOQUI, D. C.; KATO, M. J.; CAVALHEIRO, A. J.; BOLZANI, V. S.; YOUNG, M. C. M.; FURLAN, M. A chromene and prenylated benzoic acid from *Piper aduncum*. **Phytochemistry**, v. 51, p. 899-902, 1999.

BARBOSA, C. S.; BARBOSA, V. S.; MELO, F. L.; MELO, M. S. B.; BEZERRA, L.; CAMPOS, J. V.; RODRIGUES, B. X.; et al. Casos autóctones de esquistossomose mansônica em crianças de Recife, PE. **Revista de Saúde Pública**, v. 47, n. 4, p. 684-90, 2013.

BARBOSA, C. S.; FAVRE, T. C.; AMARAL, R. S.; PIERI, O. S. Epidemiologia e controle da esquistossomose mansoni. In: CARVALHO, O. S.; COELHO, P. M. Z.; LENZI, H. L. *Schistosoma mansoni* e esquistossomose: uma visão multidisciplinar. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2008.

BARBOSA, F. S. **Tópicos em malacologia médica**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 1995.

BARBOSA, F. S.; COSTA, D. P. P.; ARRUDA, F. Competitive interactions between species of freshwater snails. I. Laboratory studies: Ib. Comparative studies of the dispersal and the vagility capabilities of *Biomphalaria glabrata* and *Biomphalaria straminea*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 79, n. 2, p. 163-67, 1984.

BARROS, A. F. B. **Resposta imune humoral e patologia hepática de camundongos desnutridos, infectados com *Schistosoma mansoni***. 2008. 127 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Recife, 2008.

BARTIKOVA, H.; HANUSOVA, V.; SKALOVA, L.; AMBROZ, M.; BOUSOVA, I. Antioxidant, prooxidant and other biological activities of sesquiterpenes. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 14, p. 2478–94, 2014.

BASTOS, O. C.; GUARALDO, A. M. A.; MAGALHÃES, L. A. Suscetibilidade de *Biomphalaria glabrata*, variante albina, oriunda de Belo Horizonte, MG, à infecção por *Schistosoma mansoni*, parasita em condições naturais, de roedores silvestres do vale do rio Paraíba do Sul, SP (Brasil). **Revista de Saúde Pública**, v. 12, n. 2, p. 179-83, 1978.

BECK, L. C. N. H. **Avaliação de abordagens sorológicas para discriminação das formas aguda e crônicas da esquistossomose mansônica humana**. 2007. 103 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Recife, 2007.

BERGER, S. *Schistosoma mansoni*: global status. Los Angeles: Gideon, 2019.

BEZERRA, J. C. B.; SILVA, I. A.; FERREIRA, H. D.; FERRI, P. H.; SANTOS, S. C. Molluscicidal activity against *Biomphalaria glabrata* of Brazilian Cerrado medicinal plants. **Fitoterapia**, v. 73, p. 428-30, 2002.

BEZERRA, J. W. A.; COSTA, A. R.; FREITAS, M. A.; RODRIGUES, F. C.; SOUZA, M. A.; SILVA, A. R. P.; SANTOS, A. T. L.; LINHARES, K. V.; COUTINHO, H. D. M.; SILVA, J. R. L.; MORAIS-BRAGA, M. F. B. Chemical composition, antimicrobial, modulator and antioxidant activity of essential oil of *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin and Clemants. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**, p. 1-31, 2019.

BIBIANO, C. S.; CARVALHO, A. A.; BERTOLUCCI, S. K. V.; TORRES, S. S.; CORRÊA, R. C.; PINTO, J. E. B. P. Organic manure sources play fundamental roles in growth and qualitative production of essential oil from *Dysphania ambrosioides* L. **Industrial Crops and Products**, v. 139, p. 1-7, 2019.

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 588-94, 2009.

BORGES, A. R.; AIRES, J. R. A.; HIGINO, T. M. M.; MEDEIROS, M. G. F.; CITÓ, A. M. G. L.; LOPES, J. A. D.; FIGUEIREDO, R. C. B. Q. Trypanocidal and cytotoxic activities of essential oils from medicinal plants of Northeast of Brazil. **Experimental Parasitology**, v. 132, p. 123–28, 2012.

BRAGA, L. B. *Biomphalaria tenagophila guaibensis* (MOLLUSCA: PLANORBIDAE): **avaliação da suscetibilidade a *Schistosoma mansoni* e do status de subespécie**. 2012. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Centro de Pesquisas René Rachou, Belo Horizonte, 2012.

BRAHIM, M. A. S.; FADLI, M.; HASSANI, L.; BOULAY, B.; MARKOUK, M.; BEKKOUKHE, K.; ABBAD, A.; ALI, M. A.; LARHSINI, M. *Chenopodium ambrosioides* var. *ambrosioides* used in Moroccan traditional medicine can enhance the antimicrobial activity of conventional antibiotics. **Industrial Crops and Products**, v. 71, p. 37–43, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Vigilância e controle de moluscos de importância epidemiológica**: diretrizes técnicas: Programa de Vigilância e Controle da Esquistossomose (PCE)/ Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2008.

\_\_\_\_\_. **Sistema Nacional de Vigilância em Saúde**: relatório de situação: Maranhão / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. 5. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2011.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Vigilância da esquistossomose mansoni**: diretrizes técnicas/ Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. 4. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2014.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. **Guia de Vigilância em Saúde**: volume 3/ Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. 1. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2017.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. **Esquistossomose**: causas, sintomas, tratamento, diagnóstico e prevenção. Disponível em: <<http://saude.gov.br/saude-de-a-z/esquistossomose>>. Acesso em: 21 out. 2019.

CALASANS, T. A. S.; SOUZA, G. T. R.; MELO, C. M.; MADI, R. R.; JERALDO, V. L. S. Socioenvironmental factors associated with *Schistosoma mansoni* infection and intermediate hosts in an urban area of northeastern Brazil. **PLoS ONE** v. 13, e0195519, p. 1-14, 2018.

CAMPOS, Y. R.; CARVALHO, O. S.; GOVEIA, C. O.; ROMANHA, A. J. Genetic variability of the main intermediate host of the *Schistosoma mansoni* in Brazil *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda: Planorbidae) assayed by SSR-PCR. **Acta Tropica**, v. 83, p. 19-27, 2002.

CANTANHEDE, S. P. D. **Esquistossomose mansônica no Maranhão**: relações com variáveis socioeconômicas e ambientais. 2010. 101 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública e Meio Ambiente) - Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro, 2010.

CANTANHEDE, S. P. D.; MARQUES, A. M.; SILVA-SOUZA, N.; VALVERDE, A. L. Atividade moluscicida de plantas: uma alternativa profilática. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 2, p. 282-88, 2010.

CARDIM, L. L. **Caracterização das áreas de risco para a esquistossomose mansônica no Município Lauro de Freitas, Bahia**. 2010. 100 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal nos Trópicos) – Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2010.

CARDIM, L. L.; FERRAUDO, A. S.; PACHECO, S. T. A.; REIS, R. B.; SILVA, M. M. N.; CARNEIRO, D. D. M. T.; BAVIA, M. E. Análises espaciais na identificação das áreas de risco para a esquistossomose mansônica no Município de Lauro de Freitas, Bahia, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 27, n. 5, p. 899-908, 2011.

CARVALHO, A. A.; BERTOLUCCI, S. K. V.; SILVA, G. M.; CUNHA, S. H. B.; ROZA, H. L. H.; AAZZA, S.; PINTO, J. E. B. P. Mesos components (CaCl<sub>2</sub>, MgSO<sub>4</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) induced changes in growth and ascaridole content of *Dysphania ambrosioides* L. in vitro. **Industrial Crops and Products**, v. 122, p. 28-36, 2018.

CARVALHO, O. S.; MENDONÇA, C. L. F.; MARCELINO, J. M. R.; PASSOS, L. K. J.; FERNANDEZ, M. A.; LEAL, R. S.; CALDEIRA, R. L.; SCHOLTE, R. G. C.; CARMO, E. H.; MESQUITA, S. G.; THIENGO, S. C. Geographical distribution of intermediate hosts of *Schistosoma mansoni* in the states of Paraná, Minas Gerais, Bahia, Pernambuco and Rio Grande do Norte, Brazil, 2012-2014. **Revista Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 27, e2017343, p. 1-9, 2018.

CARVALHO, O. S.; NUNES, I. M.; CALDEIRA, R. L. First report of *Biomphalaria glabrata* in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 93, n. 1, p. 39-40, 1998.

CARVALHO, O. S.; SCHOLTE, R. G. C.; AMARAL, R. S. Distribuição dos moluscos hospedeiros intermediários de *Schistosoma mansoni* no Brasil, *Biomphalaria glabrata*, *B. straminea* e *B. tenagophila*. In: BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Vigilância e controle de moluscos de importância epidemiológica**: diretrizes técnicas: Programa de Vigilância e Controle da Esquistossomose (PCE). 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2008.

CASSEL, E.; VARGAS, R. M. F.; MARTINEZ, N.; LORENZO, D.; DELLACASSA, E. Steam distillation modeling for essential oil extraction process. **Industrial Crops and Products**, v. 29, n. 1, p. 171-76, 2009.

CASTRO, A. K. S. **Avaliação clínica-epidemiológica da esquistossomose mansoni em Comercinho, MG (1981-2005)**. 2009. 138 f. Dissertação (Mestrado em Medicina) - Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte, Belo Horizonte, 2009.

CAVALLI, J. F.; TOMI, F.; BERNARDINI, A. F.; CASANOVA, J. Combined analysis of the essential oil of *Chenopodium ambrosioides* by GC, GC-MS and <sup>13</sup>C-NMR spectroscopy: quantitative determination of ascaridole, a heat-sensitive compound. **Phytochemical Analysis**, v. 15, p. 275-79, 2004.

CHEKEM, M. S. G.; LUNGA, P. K.; TAMOKOU, J. D.; KUIATE, J. R.; TANE, P.; VILAREM, G.; CERNY, M. Antifungal properties of *Chenopodium ambrosioides* essential oil against *Candida* species. **Pharmaceuticals**, v. 3, 2900-09, 2010.

CHENG, G.; LI, D.; ZHUANG, D.; WANG, Y. The influence of natural factors on the spatio-temporal distribution of *Oncomelania hupensis*. **Acta Tropica**, v. 164, p. 194-207, 2016.

CLARK, T. E.; APPLETON, C. C. The molluscicidal activity of *Apodytes dimidiata* E. Meyer ex Arn (Icacinaceae), *Gardenia thunbergia* L.f. (Rubiaceae) and *Warburgia salutaris* (Bertol. F.) Chiov. (Cannelaceae), three South African plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 56, p. 15-30, 1997.

COELHO, P. M. Z.; CALDEIRA, R. L. Critical analysis of molluscicide application in schistosomiasis control programs in Brazil. **Infection Diseases Poverty**, v. 5, p. 1-6, 2016.

COIMBRA-JÚNIOR, C. E. A. Suscetibilidade à infecção pelo *Schistosoma mansoni*, de *Biomphalaria glabrata* e *Biomphalaria tenagophila* do Distrito Federal, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 15, n. 5, p. 485-89, 1981.

CORREA-ROYERO, J.; TANGARIFE, V.; DURÁN, C.; STASHENKO, E.; MESA-ARANGO, A. In vitro antifungal activity and cytotoxic effect of essential oils and extracts of medicinal and aromatic plants against *Candida krusei* and *Aspergillus fumigatus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, p. 734-41, 2010.

COSTA, M. V. L.; TAVARES, E. S. Anatomia foliar de *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae) – erva-de-Santa Maria. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 3, p. 63-71, 2006.



COURA-FILHO, P.; ROCHA, R. S.; COSTA, M. F. F. L.; KATZ, N. A municipal level approach to the management of schistosomiasis control in Peri-Peri, MG, Brasil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 34, n. 6, p. 543-48, 1992.

COUTINHO, D. F.; DIAS, C. S.; BARBOSA-FILHO, J. M.; AGRA, M. F.; MARTINS, R. M.; SILVA, T. M. S.; CUNHA, E. V. L.; SILVA, M. S.; CRAVEIRO, A. A. Composition and molluscicidal activity of the essential oil from the stem bark of *Ocotea bracteosa* (Meisn.) Mez. **The Journal of Essential Oil Research**, v. 19, p. 482-84, 2007.

CUTRIM, R. N. M. **Aspectos clínicos-epidemiológicos da esquistossomose mansoni em três localidades da Baixada Ocidental Maranhense**. 1987. 105 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) - Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 1987.

DAI, J. R.; COLES, G. C.; WANG, W.; LIANG, Y. S. Toxicity of a novel suspension concentrate of niclosamide against *Biomphalaria glabrata*. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 104, p. 304-06, 2010.

DAVID, N. F.; CANTANHEDE, S. P. D.; MONROE, N. B.; PEREIRA, L. P. L. A.; SILVA-SOUZA, N.; ABREU-SILVA, A. L.; DE OLIVEIRA, V. M.; TCHAICKA, L. Spatial distribution and seasonality of *Biomphalaria* spp. in São Luís (Maranhão, Brazil). **Parasitology Research**, v. 117, p. 1495–1502, 2018.

DEGENHARDT, R. T.; FARIAS, I. V.; GRASSI, L. T.; FRANCHI JUNIOR, G. C.; NOWILL, A. E.; BITTENCOURT, C. M. S.; WAGNER, T. M. Characterization and evaluation of the cytotoxic potential of the essential oil of *Chenopodium ambrosioides*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, p. 56–61, 2016.

DIAS, C. N.; RODRIGUES, K. A. F.; CARVALHO, F. A. A.; CARNEIRO, S. M. P.; MAIA, J. G. S.; ANDRADE, E. H. A.; MORAES, D. F. C. Molluscicidal and leishmanicidal activity of the leaf essential oil of *Syzygium cumini* (L.) Skeels from Brazil. **Chemistry & Biodiversity**, v. 10, 1133-41, 2013.

DIAS, L. C. S.; MARÇAL-JÚNIOR, O.; GLASSER, C. M. Control of schistosomiasis transmission. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 90, n. 2, p. 285-88, 1995.

EL-KAMALI, H. H.; EL-NOUR, R. O.; KHALID, S. A. Molluscicidal activity of the essential oils of *Cymbopogon nervatus* leaves and *Boswellia papyrifera* resins. **Current Research Journal of Biological Sciences**, v. 2, p. 139-42, 2010.

EVERTON, G. O.; TELES, A. M.; MOUCHREK, A. N.; FILHO, V. E. M. Aplicação do óleo essencial de *Pimenta dioica* Lindl. como moluscicida frente ao caramujo transmissor da esquistossomose. **Revista Processos Químicos**, p. 85–93, 2018.

FAMAKINDE, D. O. Treading the path towards genetic control of snail resistance to schistosome infection. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 3, p. 1-15, 2018.

FANK-DE-CARVALHO, S. M.; MARCHIORETTO, M. S.; BÃO, S. N. Anatomia foliar, morfologia e aspectos ecológicos das espécies da família Amaranthaceae da Reserva Particular do Patrimônio Natural Cara Preta, em Alto Paraíso, GO, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 10, n. 4, p. 77-86, 2010.

FANK-DE-CARVALHO, S. M.; BÁO, S. N.; MARCHIORETTO, M. S. Amaranthaceae as a bioindicator of neotropical savannah diversity. **Open access peer-reviewed**, p. 235-62, 2012.

FARIA, R. X.; ROCHA, L. M.; SOUZA, E. P. B. S. S.; ALMEIDA, F. B.; FERNANDES, C. P.; SANTOS, J. A. A. Molluscicidal activity of *Manilkara subsericea* (Mart.) dubard on *Biomphalaria glabrata*. **Acta Tropica**, v. 178, p. 163-68, 2018.

FARRÉ, M.; BARCELÓ, D. Toxicity testing of wastewater and sewage sludge by biosensors, bioassays and chemical analysis. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 22, n. 5, p. 299-310, 2003.

FENWICK, A.; SAVIOLI, L. Schistosomiasis elimination. **Lancet Infectious Disease**, v. 11, n. 5, p. 346-47, 2011.

FERREIRA, L. A.; LIMA, F. L. C.; ANJOS, M. R. O.; COSTA, J. M. L. Forma tumoral encefálica esquistossomótica: apresentação de um caso tratado cirurgicamente. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 31, n. 1, p. 89-93, 1998.

FERREIRA, M. S. **Estudo do índice de positividade de *Biomphalaria glabrata* para *Schistosoma mansoni* nos bairros de periferia de São Luís – caso do Barreto**. 2008. 53 f. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas-Licenciatura) – Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2008.

FIGUEIREDO, M. A. A. **Notificação, investigação, diagnóstico e tratamento da esquistossomose mansoni no estado da Bahia**. Nota Técnica n° 08/2017 GT-PCE/DIVEP/LACEN/SUVISA/SESAB, 2017.

FRANK, H. O.; VIEIRA, D. F.; QUADROS, I. P. S.; PINHEIRO, P. F.; QUEIROZ, V. T.; PEREIRA JÚNIOR, O. S.; COSTA, A. V. In: XV Encontro Latino Americano de Iniciação Científica, 2011, São José dos Campos, São Paulo. **Anais** (on-line). Disponível em: <[http://www.inicepg.univap.br/cd/INIC\\_2011/anais/arquivos/0081\\_0731\\_02.pdf](http://www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2011/anais/arquivos/0081_0731_02.pdf)>. Acesso em: 25 out. 2019.

FREITAS, J. R.; SANTOS, M. B. L. Current advances on the study of snail-snail interactions, with special emphasis on competition process. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 90, n. 2, p. 261-69, 1995.

GHANDOUR, A. M.; WEBBE, G. The effect of sublethal concentrations of the molluscicide niclosamide on the infectivity of *Schistosoma mansoni* cercariae. **Journal of Helminthology**, v. 49, p. 245-50, 1975.

GIOVANELLI, A.; SILVA, C. L. P. A. C.; MEDEIROS, L.; VACONCELLOS, M. C. The molluscicidal activity of niclosamide (Bayluscide WP70®) on *Melanoides tuberculata* (Thiaridae), a snail associated with habitats of *Biomphalaria glabrata* (Planorbidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 5, p. 743-45, 2002.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, p. 374–81, 2007.

GOHAR, A. A.; MAATOOQ, G. T.; GADARA, S. R.; ABOELMAATY, W. S.; EL-SHAZLY, A. M. Molluscicidal activity of the methanol extract of *Callistemon viminalis* (Sol. ex Gaertner) G. Don ex Loudon fruits, bark and leaves against *Biomphalaria alexandrina* snails. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, v. 13, p. 505-14, 2014.

GOMES, A. C. L.; GALINDO, J. M.; LIMA, N. N.; SILVA, E. V. G. Prevalência e carga parasitária da esquistossomose mansônica antes e depois do tratamento coletivo em Jaboatão dos Guararapes, Pernambuco. **Revista Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 25, n. 2, p. 243-50, 2016.

GOMES, E. C. S.; DOMINGUES, A. L. C.; BARBOSA, C. S. **Esquistossomose: manejo clínico e epidemiológico na atenção básica**. Recife: Fiocruz Pernambuco, 2017.

GOMES, M. R. A.; BAO, S. N. Anatomia, histoquímica e ultra-estrutura de folhas de *Gomphrena virgata* Mart. (Amaranthaceae). In: 62ª Reunião Anual da SBPC, 2010, Natal, Rio Grande do Norte. **Anais** (on-line). Disponível em: <<http://www.sbpcnet.org.br/livro/62ra/resumos/resumos/3323.htm>>. Acesso em: 25 out. 2019.

GOMES, P. R. B.; REIS, J. B.; SILVA, J. C.; OLIVEIRA, R. W. S.; PAULA, M. L.; LOUZEIRO, H. C.; MOUCHEREK FILHO, V. E.; FONTENELE, M. A. Avaliação da toxicidade e atividade moluscicida do óleo essencial *Cinnamomum zeylanicum* Blume contra o caramujo *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). **Revista Colombiana de Ciências Químico-Farmacéuticas**, v. 48, n. 1, p. 112-27, 2019.

GONÇALVES, J. M. **Atividades biológicas e composição química dos óleos essenciais de *Achyrocline satureoides* (Lam) DC. e *Ageratum conyzoides* L. encontradas no semiárido baiano**. 2015. 111 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2015.

GOVINDARAJAN, M.; RAJESWARY, M.; ARIVOLI, S.; TENNYSON, S.; BENELLI, G. Larvicidal and repellent potential of *Zingiber nimmonii* (J. Graham) Dalzell (Zingiberaceae) essential oil: an eco-friendly tool against malaria, dengue, and lymphatic filariasis mosquito vectors? **Parasitology Research**, v. 115, p. 1807-16, 2016.

GRASSI, L. T.; MALHEIROS, A.; MEYRE-SILVA, C.; BUSS, Z. S.; MONGUILHOTT, E. D.; FRODE, T. S.; SILVA, K. A. B. S.; SOUZA, M. M. From popular use to pharmacological validation: a study of the anti-inflammatory, anti-nociceptive and healing effects of *Chenopodium ambrosioides* extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 145, p. 127-38, 2013.

GROZEVA, N.; CVETANOVA, Y. C. Karyological and morphological variations within the genus *Dysphania* (Chenopodiaceae) in Bulgaria. **Acta Botanica Croatica**, v. 72, n. 1, p. 49-69, 2013.

GRZESIUK, V. L. **Estudo químico e avaliação do potencial moluscicida da espécie vegetal *Serjania glabrata* Kunth (Sapindaceae)**. 2008. 113 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2008.

GUIMARÃES, C. T. Controle biológico: *Pomacea haustum* Reeve, 1856 (Mollusca, Pilidae) sobre planorbíneos, em laboratório. **Revista de Saúde Pública**, v. 17, p. 138-47, 1983.

GUIMARÃES, C. T.; SOUZA, C. P.; CONSOLI, R. A. G. B.; AZEVEDO, M. L. L. Controle biológico: *Helobdella triserialis lineata* Blanchard, 1849 (Hirudinea: Glossiphonidae) sobre *Biomphalaria glabrata* Say, 1818 (Mollusca: Planorbidae), em laboratório. **Revista de Saúde Pública**, v. 17, p. 481-92, 1983.

GUIMARÃES, C. T.; SOUZA, C. P.; CONSOLI, R. A. G. B.; SOARES, D. M. Controle biológico: *Helobdella triserialis lineata* (Hirudinea: Glossiphonidae) sobre *Biomphalaria straminea* e *Biomphalaria tenagophila* (Mollusca: Planorbidae), em laboratório. **Revista de Saúde Pública**, v. 18, p. 476-86, 1984.

GUIMARÃES, I. C. S.; TAVARES-NETO, J. Transmissão urbana de esquistossomose em crianças de um bairro de Salvador, Bahia. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, n. 5, p. 451-55, 2006.

GUIMARÃES, M. C. A. **Avaliação do controle e vigilância do hospedeiro intermediário do *Schistosoma mansoni*, no Vale do Ribeira, e observações do seu parasitismo.** 2007. 130 f. Tese (Doutorado em Saúde Pública) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

GUPTA, D.; CHARLES, R.; MEHTA, V. K.; GARG, S. N.; KUMAR, S. Chemical examination of the essential oil of *Chenopodium ambrosioides* L. from the Southern Hills of India. **Journal of Essential Oil Research**, v. 14, p. 93-4, 2002.

HAN, B.; CHEN, J.; YANG, X.; WANG, S.; LI, C.; HAN, F. Molluscicidal activities of medicinal plants from eastern China against *Oncomelania hupensis*, the intermediate host of *Schistosoma japonicum*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 5, p. 712-17, 2010.

HARRAZ, F. M.; HAMMODA, H. M.; GHAZOULY, M. G. E.; FARAG, M. A.; EL-ASWAD, A. F.; BASSAM, S. M. Chemical composition, antimicrobial and insecticidal activities of the essential oils of *Conyza linifolia* and *Chenopodium ambrosioides*. **Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters**, v. 29, n. 9, p. 879-82, 2014.

HE, P.; WANG, W.; SANOGO, B.; ZENG, X.; SUN, X.; LV, Z.; YUAN, D.; DUAN, L.; WU, Z. Molluscicidal activity and mechanism of toxicity of a novel salicylanilide ester derivative against *Biomphalaria* species. **Parasites & Vectors**, v. 10, p. 2-11, 2017.

HEGAZY, A. K.; FARRAG, H. F. Allelopathic potential of *Chenopodium ambrosioides* on germination and seedling growth of some cultivated and weed plants. **Global Journal of Biotechnology and Biochemistry**, v. 2, p. 1-9, 2007.

HOSTETTMANN, K.; KIZU, H.; TOMIMORI, T. Molluscicidal properties of various saponins. **Planta Medica**, v. 44, p. 34-5, 1982.

JAKIEMIU, E. A. R. **Uma contribuição ao estudo do óleo essencial e do extrato de tomilho (*Thymus vulgaris* L.).** 2008. 90 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

JARAMILLO, B. E.; DUARTE, E.; DELGADO, W. Bioactividad del aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* colombiano. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 17, p. 54-64, 2012.

JESUS, R. S.; PIANA, M.; FREITAS, R. B.; BRUM, T. F.; ALVES, C. F. S.; BELKE, B. V.; MOSSMANN, N. J.; CRUZ, R. C.; SANTOS, R. C. V.; DALMOLIN, T. V.; BIANCHINI, B. V.; CAMPOS, M. M. A.; BAUERMAN, L. F. In vitro antimicrobial and antimycobacterial activity and HPLC–DAD screening of phenolics from *Chenopodium ambrosioides* L. **Brazilian Journal of Microbiology**, p. 1-7, 2017.

KATZ, N.; ALMEIDA, K. Esquistossomose, xistosa, barriga d'água. **Ciência & Cultura**, v. 55, n. 1, p. 38-43, 2003.

KLOOS, H.; MCCULLOUGH, F. S. Plant molluscicides. **Planta Medica**, v. 46, p. 195-209, 1982.

KUMAR, P.; SINGH, D. K. Molluscicidal activity of *Ferula asafoetida*, *Syzygium aromaticum* and *Carum carvi* and their active components against the snail *Lymnaea cuminata*. **Chemosphere**, v. 63, 1568–574, 2006.

KUMAR, R.; MISHRA, A. K.; DUBEY, N. K.; TRIPATHI, Y. B. Evaluation of *Chenopodium ambrosioides* oil as a potential source of antifungal, antiaflatoxic and antioxidant activity. **International Journal of Food Microbiology**, v. 115, p. 159–64, 2007.

LAGO, J. H. G.; RAMOS, C. S.; CASANOVA, C. C.; MORANDIM, A. A.; BERGAMO, D. C. B.; CAVALHEIRO, A. J. Benzoic acid derivatives from *Piper* species and their fungitoxic activity against *Cladosporium cladosporioides* and *C. sphaerospermum*. **Journal Natural Product**, v. 67, p. 1783-8, 2004.

LAHLOU, M.; BERRADA, R. Potential of essential oils in schistosomiasis control in Morocco. **The International Journal of Aromatherapy**, v. 11, n. 2, p. 87-95, 2001.

LEITE-JÚNIOR, J. D. C. Avaliação da atividade moluscicida do óleo essencial de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck frente aos caramujos transmissores da esquistossomose. 2018. 73 f. Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2018.

LENZI, H. L.; JUBERG, A. D.; COELHO, P. M. Z.; LENZI, J. A. Migração e desenvolvimento de *Schistosoma mansoni* no hospedeiro definitivo. In: CARVALHO, O. S.; COELHO, P. M. Z.; LENZI, H. L. **Schistosoma mansoni e esquistossomose: uma visão multidisciplinar**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2008.

LEYTON, V.; HENDERSON, T. O.; MASCARA, D.; KAWANO, T. Atividade moluscicida de princípios ativos de folhas de *Lycopersicon esculentum* (Solanales, Solanaceae) em *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda, Planorbidae). **Iheringia**, v. 95, n. 2, p. 213-16, 2005.

LEYVA, M.; MARQUETTI, M. C.; TACORONTE, J. E.; SCULL, R.; TIOMNO, O.; MESA, A.; MONTADA, D. Actividad larvicida de aceites esenciales de plantas contra *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). **Revista Biomédica**, v. 20, p. 5-13, 2009.

LIMA, E. M. S.; SOUSA, A. K.; DA SILVA, L. R. N.; SENA, C. C. L.; SOARES, L. M. M.; MARTINS, M. F. A. L.; SOUSA, I. M. P. S. Cicatrização de feridas com a utilização do extrato de *Chenopodium ambrosioides* (mastruz) e cobertura secundária estéril de gaze em ratos. **ConScientiae Saúde**, v. 10, n. 3, p. 441-48, 2011.

LIMA, L. C. Espécies hospedeiras de *Schistosoma mansoni* no Brasil. In: BARBOSA, F. S. **Tópicos em malacologia médica**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 1995.

LIMAVERDE, P. W.; CAMPINA, F. F.; CUNHA, F. A. B.; CRISPIM, F. D.; FIGUEREDO, F. G.; LIMA, L. F.; OLIVEIRA-TINTINO, C. D. M.; et al. Inhibition of the TetK efflux-pump by the essential oil of *Chenopodium ambrosioides* L. and  $\alpha$ -terpinene against *Staphylococcus aureus* IS-58. **Food and Chemical Toxicology**, v. 109, p. 957-61, 2017.

LIRA, M. G. S.; MIRANDA, G. S.; RODRIGUES, J. G. M.; NOGUEIRA, R. A.; GOMES, G. C. C.; SILVA-SOUZA, N. Ocorrência de *Schistosoma mansoni* no município de São Bento, Baixada Ocidental Maranhense, estado do Maranhão, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 8, n. 4, p. 45-51, 2017.

LOPES, T. C.; GONÇALVES, J. R. S.; SILVA-SOUZA, N.; COUTINHO-MORAES, D. F.; AMARAL, F. M. M.; ROSA, I. G. Avaliação moluscicida e perfil fitoquímico das folhas de *Caryocar brasiliense* Camb. **Revista Cadernos de Pesquisa**, v. 18, n. 3, p. 23-30, 2011.

LOWE, D.; XI, J.; MENG, X.; WU, Z.; QIU, D.; SPEAR, R. Transport of *Schistosoma japonicum* cercariae and the feasibility of niclosamida for cercariae control. **Parasitology International**, v. 54, p. 83–9, 2005.

LOYO, R. M.; BARBOSA, C. S. Bioindicadores para avaliação do risco potencial de transmissão da esquistossomose no açude Apipucos, Pernambuco. **Revista Ambiente & Água**, v. 11, n. 1, p. 156-61, 2016.

MAGALHÃES, L. A.; DIAS, L. C. S. Estudo da suscetibilidade da *Biomphalaria glabrata* de Ourinhos (SP), à infecção pelo *Schistosoma mansoni* de Belo Horizonte (MG), e de São José dos Campos (SP). **Revista de Saúde Pública**, v. 7, n. 3, p. 295-97, 1973.

MANDEFRO, B.; MERETA, S. T.; TARIKU, Y.; AMBELU, A. Molluscicidal effect of *Achyranthes aspera* L. (Amaranthaceae) aqueous extracts on adult snails of *Biomphalaria pfeifferi* and *Lymnaea natalensis*. **Infectious Diseases of Poverty**, v. 6, 2017.

MARMULLA, R.; HARDER, J. Microbial monoterpene transformations - a review. **Frontiers in Microbiology**, v. 5, p. 1–14, 2014.

MARONI, L. C. **Cinética do comprometimento do sistema citocromo p-450 microsossomal hepático na esquistossomose mansônica murina**. 2006. 119 f. Dissertação (Mestrado em Patologia) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2006.

MARQUES, D. P. A. **Monitoramento da inserção do patrimônio genético de *Biomphalaria tenagophila* do Taim (RS), linhagem resistente ao *Schistosoma mansoni*, após a sua introdução em uma área endêmica para esquistossomose no Município de Bananal/SP, com transmissão mantida por *B. tenagophila***. 2012. 119 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Centro de Pesquisas René Rachou, Belo Horizonte, 2012.

MARSTON, A.; HOSTETTMANN, K. Plant molluscicides. **Phytochemistry**, v. 24, n. 4, p. 639-52, 1985.

MARTINS, C.M. **Estudo químico, atividade antioxidante, atividade antimicrobiana e análise do óleo essencial da espécie *Kielmeyera coriacea* Mart. & Zucc (pau-santo) do**

**cerrado**. 2012. 117 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2012.

MARTINS, F. L.; CARVALHO, F. L. O.; COSTA, D. M.; RODRIGUES, W. P.; FRAGA, F. V.; PARIS, L. R. P.; GUIDI JUNIOR, L. R.; et al. Fatores de risco e possíveis causas de esquistossomose. **Revista Saúde em Foco**, n. 11, p. 396-404, 2019.

MARTINS, M. C. B.; SILVA, M. C.; SILVA, H. A. M. F.; SILVA, L. R. S.; ALBUQUERQUE, M. C. P. A.; AIRES, A. L.; FALCÃO, E. P. S.; PEREIRA, E. C.; MELO, A. M. M. A.; SILVA, N. H. Barbatic acid offers a new possibility for control of *Biomphalaria glabrata* and schistosomiasis. **Molecules**, v. 22, p. 1-11, 2017.

MATA, R. C. S.; MENDONÇA, D. I. M. D.; VIEIRA, L.; SANTOS, A. F.; SILVA, L. A.; GASPAR, J. F.; MARTINS, C.; RUEFF, J.; SANT'ANA, A. E. G. Molluscicidal activity of compounds isolated from *Euphorbia conspicua* N. E. Br. **Journal of Brazil Chemical Society**, v. 22, n. 10, p. 1880-87, 2011.

MATOSO, L. F. **Estudo longitudinal dos fatores relacionados à infecção e reinfecção pelo *Schistosoma mansoni* em área endêmica, Minas Gerais**. 2012. 134 f. Tese (Doutorado em Enfermagem) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012.

MCCULLOUGH, F. S. Biological control of the snail intermediate hosts of human *Schistosoma* spp.: a review of its present status and future prospects. **Acta Tropica**, v. 38, p. 5-13, 1981.

MEHRETIE, S.; ADMASSIE, S.; TESSEMA, M.; SOLOMON, T. Electrochemical study of niclosamide at poly (3,4-ethylenedioxythiophene) modified glassy carbon electrode. **Sensors and Actuators B**, v. 168, p. 97-102, 2012.

MELO, A. G. S. **Epidemiologia da esquistossomose e conhecimento da população em área periurbana de Sergipe**. 2011. 107 f. Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente) – Universidade Tiradentes, Aracaju, 2011.

MELO, A. G. S.; MELO IRMÃO, J. J.; JERALDO, V. L. S.; MELO, C. M. Esquistossomose mansônica em famílias de trabalhadores da pesca de área endêmica de Alagoas. **Escola Anna Nery**, v. 23, n. 1, p. 1-10, 2019.

MELO, A. O.; SANTOS, D. B.; SILVA, L. D.; ROCHA, T. L.; BEZERRA, J. C. B. Molluscicidal activity of polyhexamethylene biguanide hydrochloride on the early-life stages and adults of the *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). **Chemosphere**, v. 216, p. 365-71, 2019.

MELO, W. F.; MARACAJÁ, P. B.; ROLIM, F. D.; DE OLIVEIRA, T. L. L.; BRAGA, G. V.; DA SILVA, C. R. L.; DE ALMEIDA, J. C. A importância da gestão hídrica no controle das enteroparasitoses. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental**, v. 13, n. 02, p. 13-18, 2019.

MENDES, R. J. A. **Análise temporal e espacial da esquistossomose mansoni no estado do Maranhão no período de 2007 a 2016**. 2019. 78 f. Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2019.

- MENEZES, F. S.; SILVA, C. S.; PEREIRA, N. A.; MATOS, F. J. A.; BORSATTO, A. S.; KAPLAN, M. A. C. Molluscicidal constituents of *Marsypianthes chamaedrys*. **Phytotherapy Research**, v. 13, p. 433–435, 1999.
- MICHELSON, E. H.; DUBOIS, L. Competitive interactions between two snails hosts of *S. mansoni*. Laboratory studies on *B. glabrata* and *B. straminea*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 21, p. 246-53, 1979.
- MILWARD-DE-ANDRADE, R.; CARVALHO, O. S. Colonização de *Pomacea haustum* (Reeve, 1856) em localidade com esquistossomose mansoni: Baldim, MG (Brasil). (Prosobranchia, Piliidae). **Revista de Saúde Pública**, v. 13, p. 92-107, 1979.
- MIRANDA, G. S.; RODRIGUES, J. G. M.; LIRA, M. G. S.; NOGUEIRA, R. A.; GOMES, G. C. C.; SILVA-SOUZA, N. Monitoramento de positividade para *Schistosoma mansoni* em roedores *Holochilus* sp. naturalmente infectados. **Ciência Animal Brasileira**, v. 16, n. 3, p. 456-63, 2015.
- MIRANDA, G. S.; RODRIGUES, J. G. M.; LIRA, M. G. S.; NOGUEIRA, R. A.; GOMES, G. C. C.; MIRANDA, B. S.; ARAÚJO, A.; SILVA-SOUZA, N. Moluscos límnicos como hospedeiros de trematódeos digenéticos de uma região metropolitana da ilha do Maranhão, Brasil. **Scientia Plena**, v. 12, n. 9, p. 1-11, 2016.
- MOMTAZ, S.; ABDOLLAHI, M. An update on pharmacology of *Satureja* species, from antioxidant, antimicrobial, antidiabetes and anti-hyperlipidemic to reproductive stimulation. **International Journal of Pharmacology**, v. 6, p. 346–53, 2010.
- MONZOTE, L.; GARCÍA, M.; PASTOR, J.; GIL, L.; SCULL, R.; MAES, L.; COS, P.; GILLE, L. Essential oil from *Chenopodium ambrosioides* and main components: activity against *Leishmania*, their mitochondria and other microorganisms. **Experimental Parasitology**, v. 136, p. 20–6, 2014.
- MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, v. 27, p. S4050-63, 2009.
- MOREIRA, C. P. S.; ZANI, C. L.; ALVES, T. M. A. Atividade moluscicida do látex de *Synadenium carinatum* Boiss. (Euphorbiaceae) sobre *Biomphalaria glabrata* e isolamento do constituinte majoritário. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 8, n. 3, p. 16-27, 2010.
- MORGAN, J. A. T.; DE JONG, R. J.; SNYDER, S. D.; MKOJI, G. M.; LOKER, E. S. *Schistosoma mansoni* and *Biomphalaria glabrata*: past history and future trends. **Parasitology**, v. 123, p. 5211-228, 2001.
- MOSYAKIN, S. L.; CLEMANTS, S. E. New nomenclatural combinations in *Dysphania* R.Br. (Chenopodiaceae): taxa occurring in North America. **Ukrains'kyi botanichnyi zhurnal**, v. 59, n. 4, p. 380-85, 2002.
- MUHAYIMANA, A.; CHALCHAT, J. C.; GARRY, R. P. Chemical composition of essential oils of *Chenopodium ambrosioides* L. from Rwanda. **Journal of Essential Oil Research**, v. 10, p. 690-92, 1998.



MUNIZ, C. **Levantamento da malacofauna límnic e aspectos ecológicos de focos de esquistossomose em Ana Dias, Vale do Ribeira – SP.** 2007. 164 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

NEVES, D. P. **Parasitologia Humana.** 13. ed. São Paulo: Atheneu, 2016.

OLIVEIRA, D. S.; NUNES, G. S.; MENDES, R. J.; FRANÇA, C. R. C.; PEREIRA FILHO, A. A.; TAVARES, C. P.; ROSA, I. G. Inquérito malacológico para identificar a célula de expansão da esquistossomose mansônica na Vila Embratel, um bairro de periferia de São Luís do Maranhão. **Cadernos de Pesquisa**, v. 20, p. 16-19, 2013.

OLIVEIRA, L. C. P.; MAUSE, R.; NUNOMURA, S. M. Quantitative HPLC analysis of some marker compounds of hydroalcoholic extracts of *Piper aduncum* L. **Journal of Brazil Chemical Society**, v. 16, n. 6B, 1439-42, 2005.

OLIVEIRA, L. M. **Aspectos funcionais e fenotípicos de linfócitos T CD4<sup>+</sup> de pacientes portadores da forma crônica intestinal da esquistossomose mansoni na ausência ou presença de co-infecções por geo-helminhos.** 2006. 132 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Centro de Pesquisas René Rachou, Belo Horizonte, 2006.

OLIVEIRA, T. D.; AMARAL, O. V.; BRAGA, L. M. V.; FIGUEIREDO, M. W.; FRANCO, A. C.; VENTURIM, T. G.; GASPAR, M. E.; COSTA, D. A.; ROCHA, L. L. V. Ocorrência e análise espacial da esquistossomose na microrregião de Caratinga, Minas Gerais, no período de 2011-2015. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**, v. 22, n. 1, p. 7-13, 2018.

OLIVEIRA, W. J. **Análise e comparação da sensibilidade e especificidade entre diferentes métodos de diagnóstico para *Schistosoma mansoni*: gradiente salino, helmintex®, centrífugo-sedimentação, kato-katz e teste rápido urina (poc-cca).** 2015. 105 f. Dissertação (Mestrado em Parasitologia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015.

OLIVEIRA-FILHO, E. C.; PAUMGARTTEN, F. J. R. Toxicity of *Euphorbia milii* latex and niclosamide to snails and nontarget aquatic species. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 46, p. 342-50, 2000.

OLIVEIRA-FILHO, E. C.; GERALDINO, B. R.; COELHO, D. R.; DE-CARVALHO, R. R.; PAUMGARTTEN, F. J. R. Comparative toxicity of *Euphorbia milii* latex and synthetic molluscicides to *Biomphalaria glabrata* embryos. **Chemosphere**, v. 81, p. 218-27, 2010.

ONOCHA, P. A.; EKUNDAYO, O.; ERAMO, T.; LAAKSO, I. Essential oil constituents of *Chenopodium ambrosioides* L. leaves from Nigeria. **Journal of Essential Oil Research**, v. 11, p. 220-22, 1999.

OWOLABI, M. S.; LAJIDE, L.; OLADIMEJI, M. O.; SETZERD, W. N.; PALAZZO, M. C.; OLOWU, R. A.; OGUNDAJO, A. Volatile constituents and antibacterial screening of the essential oil of *Chenopodium ambrosioides* L. growing in Nigeria. **Natural Product Communications**, v. 4, p. 989-92, 2009.

PAES, J. P. P.; RONDELLI, V. M.; COSTA, A. V.; VIANNA, U. R.; QUEIROZ, V. T. Caracterização química e efeito do óleo essencial de erva-de-santa-maria sobre o ácaro-rajado de morangueiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, p. 346-54, 2015.

PARAENSE, W. L. Autofecundação e fecundação cruzada em *Australorbis glabratus*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 53, n. 2-3-4, p. 277-84, 1955.

\_\_\_\_\_. Fauna planorbídica do Brasil. In: LACAZ, C. S.; BARUZZI, R.; SIQUEIRA, W. (Org.). **Introdução à geografia médica do Brasil**. São Paulo: Edgard Blücher/Editora Universidade de São Paulo, 1972.

\_\_\_\_\_. The Schistosome vectors in the Americas. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, p. 7-16, 2001.

PARKHURST, R. M.; THOMAS, D. W.; SKINNER, W. A. Molluscicidal saponins of *Phytolacca dodecandra*: oleanoglycotoxin-A. **Phytochemistry**, v. 12, p. 1437-42, 1973.

PAZ, R. J. **Biologia e Ecologia de *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) (Mollusca: Pulmonata: Planorbidae), na Fazenda Árvore Alta, Alhandra (Paraíba: Brasil)**. 1997. 133 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 1997.

PEREIRA, L. P. L. A. **Atividade moluscicida em *Biomphalaria glabrata* say: revisão e avaliação do látex de *Euphorbia umbellata* (Pax) Bruyns (Euphorbiaceae)**. 2013. 117 f. Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2013.

PEREIRA, L. P. L. A.; DIAS, C. N.; MIRANDA, M. V.; FIRMO, W. C. A.; ROSA, C. S.; SANTOS, P. F.; BRITO, M. C. A.; ARARUNA, F. O. S.; ARARUNA, F. B.; SILVA-SOUZA, N.; COUTINHO, D. F. Molluscicidal effect of *Euphorbia umbellata* (Pax) Bruyns látex on *Biomphalaria glabrata*, *Schistosoma mansoni* host snail. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 59, p. 1-5, 2017.

PEREIRA, W. S.; RIBEIRO, B. P.; SOUSA, A. I. P.; SERRA, I. C. P. B.; MATTAR, N. S.; FORTES, T. S.; REIS, A. S.; et al. Evaluation of the subchronic toxicity of oral treatment with *Chenopodium ambrosioides* in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, p. 602–05, 2010.

PINO, J. A.; MARBOT, R.; REAL, I. M. Essential oil of *Chenopodium ambrosioides* L. from Cuba. **Journal of Essential Oil Research**, v. 15, p. 213-14, 2003.

PORDEUS, L. C.; AGUIAR, L. R.; QUININO, L. R. M.; BARBOSA, C. S. A ocorrência das formas aguda e crônica da esquistossomose mansônica no Brasil no período de 1997 a 2006: uma revisão de literatura. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 17, n. 3, p. 163-75, 2008.

POVISNKE, L. F.; PRESTES, A. F. R. O. Esquistossomose no Vale do Ribeira/SP: incidência e prevenção – levantamento literário. **Saúde em Foco**, p. 21-9, 2012.

PRASAD, C. S.; SHUKLA, R.; KUMAR, A.; DUBEY, N. K. In vitro and in vivo antifungal activity of essential oils of *Cymbopogon martini* and *Chenopodium ambrosioides* and their synergism against dermatophytes. **Mycoses**, v. 53, p. 123–29, 2009.

QUEIROZ, L. C.; DRUMMOND, S. C.; MATOS, M. L. M.; PAIVA, M. B. S.; BATISTA, T. S.; KANSAON, A. Z. M.; ANTUNES, C. M. F.; LAMBERTUCCI, J. R. Comparative randomised trial of high and conventional doses of praziquantel in the treatment of schistosomiasis mansoni. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 4, p. 445-48, 2010.

RAPADO, L. N. **Efeito moluscicida de extratos de Piperaceae no vetor da esquistossomose *Biomphalaria glabrata***. 2007. 109 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, São Paulo, 2007.

\_\_\_\_\_. **Obtenção e avaliação da atividade de compostos isolados de *Piper* em modelos biológicos para o controle da esquistossomose mansônica**. 2012. 120 f. Tese (Doutorado em Interunidades em Biotecnologia) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

RAPADO, L. N.; PINHEIRO, A. S.; LOPES, P. O. M. V.; FOKOUE, H. H.; SCOTTI, M. T.; MARQUES, J. V.; OHLWEILER, F. P.; BORRELY, S. I.; PEREIRA, C. A. B.; KATO, M. J.; NAKANO, E.; YAMAGUCHI, L. F. Schistosomiasis control using pipartine against *Biomphalaria glabrata* at different developmental stages. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 7, n. 6, p. 1-8, 2013.

REY, L. Estratégias e métodos de controle da esquistossomose. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 3, n. 1, p. 38-55, 1987.

\_\_\_\_\_. **Bases da Parasitologia Médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.

REYES-BECERRIL, M.; ANGULO, C.; SANCHEZ, V.; VÁZQUEZ-MARTÍNEZ, J.; LÓPEZ, M. G. Antioxidant, intestinal immune status and anti-inflammatory potential of *Chenopodium ambrosioides* L. in fish: in vitro and in vivo studies. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 86, p. 420–28, 2019.

RIBEIRO, E. C. G. **Atividade moluscicida de óleos essenciais de plantas aromáticas da região Amazônica Maranhense**. 2016. 91 f. Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2016.

RIBEIRO, P. J.; AGUIAR, L. A. K.; TOLEDO, C. F.; BARROS, S. M. O.; BORGES, D. R. Programa educativo em esquistossomose: modelo de abordagem metodológica. **Revista de Saúde Pública**, v. 38, n. 3, p. 415-21, 2004.

RIBEIRO, R. V. Influência do sumo de *Chenopodium ambrosioides* L. (erva de santa maria) na contração de feridas cutâneas induzidas em dorso de ratos da linhagem wistar. **Revista Eletrônica do UNIVAG**, n. 3, p. 64-74, 2008.

ROCHA-FILHO, C. A.; ALBUQUERQUE, L. P.; SILVA, L. R.; SILVA, P. C.; COELHO, L. C.; NAVARRO, D. M.; et al. Assessment of toxicity of *Moringa oleifera* flower extract to

*Biomphalaria glabrata*, *Schistosoma mansoni* and *Artemia salina*. **Chemosphere**, v. 132, 188-92, 2015.

ROCHA, T. J. M.; SANTOS, M. C. S.; LIMA, M. V. M.; CALHEIROS, C. M. L.; WANDERLEY, F. S. Aspectos epidemiológicos e distribuição dos casos de infecção pelo *Schistosoma mansoni* em municípios do Estado de Alagoas, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 7, n. 2, p. 27-32, 2016.

RODRIGUES, J. G. M.; MIRANDA, G. S.; LIRA, M. G. S.; NOGUEIRA, R. A.; GOMES, G. C. C.; CUTRIM, R. S.; SILVA-SOUZA, N. Larvas de trematódeos de *Biomphalaria* spp. (Gastropoda: Planorbidae) de dois municípios do leste da Amazônia Legal brasileira. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 8, n. 3, p. 51-8, 2017.

RUBERTO, G.; BARATTA, M. T. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. **Food Chemistry**, v. 69, n. 2, p. 167-74, 2000.

SÁ, R. D.; GALVÃO, M. A. M.; FERREIRA, M. R. A.; SOARES, L. A. L.; RANDAU, K. P. Chemical composition of the essential oil from leaves of *Chenopodium ambrosioides* L. grown in Recife-PE, Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 95, p. 855-66, 2014.

SÁ, R. D.; SOARES, L. A. L.; RANDAU, K. P. Óleo essencial de *Chenopodium ambrosioides* L.: estado da arte. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 36, p. 267-76, 2015.

SÁ, R. D.; SANTANA, A. S. C. O.; SILVA, F. C. L.; SOARES, L. A. L.; RANDAU, K. P. Anatomical and histochemical analysis of *Dysphania ambrosioides* supported by light and electron microscopy. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, p. 533-43, 2016.

SAGRERO-NIEVES, L.; BARTLEY, J. P. Volatile constituents from the leaves of *Chenopodium ambrosioides* L. **Journal of Essential Oil Research**, v. 7, p. 221-23, 1995.

SALAMA, M. M.; TAHER, E. E.; EL-BAHY, M. M. Molluscicidal and mosquitocidal activities of the essential oils of *Thymus capitatus* Hoff. Et Link. and *Marrubium vulgare* L. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 54, p. 281-86, 2012.

SALIMENA, J. P.; MONTEIRO, F. P.; SOUZA, P. E.; SOUZA, J. T. Extraction of essential oil from inflorescences of *Dysphania ambrosioides* and its activity against *Botrytis cinerea*. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 9, p. 1006-12, 2015.

SANTOS, A. D.; SANTOS, M. B.; SANTOS, P. G. R.; BARRETO, A. S.; ARAÚJO, K. C. G. M. Análise espacial e características epidemiológicas dos casos de esquistossomose mansônica no município de Simão Dias, nordeste do Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, v. 45, n. 1, p. 99-114, 2016.

SANTOS, C. M. A.; SANTOS, L. S. O.; SANTOS, J. A.; SILVA, E. S.; SANTOS, M. H.; SILVA, D. K.; SANTOS, J. F. S.; et al. Comparativo e perfil dos infectados em esquistossomose no estado de Alagoas entre 2016 e 2017. **Pubvet**, v. 13, n. 8, a386, p. 1-8, 2019.

SCHALL, V. T.; VASCONCELLOS, M. C.; SOUZA, C. P.; BAPTISTA, D. F. The molluscicidal activity of crown of christ (*Euphorbia splendens* var. *hislopii*) latex on snails acting as intermediate hosts of *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma haematobium*. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 58, n. 1, p. 7–10, 1998.

SCHALL, V. T.; VASCONCELLOS, M. C.; ROCHA, R. S.; SOUZA, C.P.; MENDES, N. M. The control of the schistosome-transmitting snail *Biomphalaria glabrata* by the plant molluscicide *Euphorbia splendens* var. *hislopii* (syn *milli* Des. Moul): a longitudinal field study in an endemic area in Brasil. **Acta Tropica**, v. 79, p. 165-170, 2001.

SHEPHERD, K. A.; WILSON, P. G. New combinations in the genus *Dysphania* (Chenopodiaceae). **Nuytsia**, v. 18, p. 267–72, 2008.

SILVA, D. L. F.; BRAGA FILHO, J. A. F.; SOUSA, A. K. S.; FORTES, T.; AMARAL, F. M. M.; SILVA, L. A.; GUERRA, R. N. M.; et al. Potencial anti-inflamatório das folhas de *Chenopodium ambrosioides* L. no modelo de cistite hemorrágica em camundongos. **Revista Ciências da Saúde**, v. 17, n. 1, p. 25-32, 2015.

SILVA, F. F. M.; MOURA, L. F.; BARBOSA, P. T.; FERNANDES, A. B. D.; BERTINI, L. M.; ALVES, L. A. Análise da composição química do óleo essencial de capim santo (*Cymbopogon citratus*) obtido através de extrator por arraste com vapor d'água construído com materias de fácil aquisição e baixo custo. **Holos**, v. 4, p. 144-52, 2014.

SILVA, K. E. R.; SILVA, R. M. F.; COSTA, S. P. M.; ROLIM, L. A.; LIMA, M. C. A.; ROLIM-NETO, P. J. Alternativas terapêuticas no combate à esquistossomose mansônica. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 33, n. 1, p. 9-16, 2012.

SILVA, L. O.; SOUZA, J. P. A.; CRESPIAN, E. R.; ROMERO, R. B.; ROMERO, A. L. Avaliação de fenilpropanóides naturais frente a enzimas HIV-1 protease e HIV-1 integrase: um estudo utilizando ferramentas de quimioinformática. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 35, 2014.

SILVA, P. B.; BARBOSA, C. S.; PIERI, O.; TRAVASSOS, A.; FLORENCIO, L. Aspectos físico-químicos e biológicos relacionados à ocorrência de *Biomphalaria glabrata* em focos litorâneos da esquistossomose em Pernambuco. **Química Nova**, v. 29, n. 5, p. 901-06, 2006.

SILVA, W. **Recurso didático sobre a esquistossomose manoni na perspectiva da paleoparasitologia**. 2018. 49 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Pernambuco, Vitória de Santo Antão, 2018.

SILVA-FILHO, C. R. M.; SOUZA, A. G.; CONCEIÇÃO, M. M.; SILVA, T. G.; SILVA, T. M. S.; RIBEIRO, A. P. L. Avaliação da bioatividade dos extratos de cúrcuma (*Curcuma longa* L., Zingiberaceae) em *Artemia salina* e *Biomphalaria glabrata*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 4, p. 919-23, 2009.

SILVA-FILHO, J. D. **Schistosoma mansoni em escolares e em trabalhadores do canteiro de obras da transposição do rio São Francisco no município de Brejo Santo-CE**. 2017. 98 f. Dissertação (Mestrado em Patologia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2017.

SILVA-SOUZA, N. **Mobilidade e patologia de *Holochilus brasiliensis* (Rodentia: Cricetidae) infectados com *Schistosoma mansoni* (Schistosomatida: Schistosomatidae) em laboratório.** 2001. 45 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2001.

SILVA-SOUZA, N.; LOPES, P. M. Resistência de *Biomphalaria glabrata* à salinidade em laboratório. **Revista Pesquisa em Foco**, v. 10, n. 2, p. 71-4, 2002.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento.** Porto Alegre: Artmed, 2017.

SINGH, A.; SINH, D. K.; MISRA, T. N.; AGARWAL, R. A. Molluscicides of plant origin. **Biological Agriculture and Horticulture**, v. 13, p. 205-52, 1996.

SINGH, H. P.; BATISH, D. R.; KOHLI, R. K.; MITTAL, S.; YADAV, S. Chemical composition of essential oil from leaves of *Chenopodium ambrosioides* from Chandigarh, India. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 44, p. 378-79, 2008.

SISTE, C. E. **Fatores sociais e ambientais associados à ocorrência da esquistossomose no município de Serro, Minas Gerais.** 2016. 111 f. Dissertação (Mestrado em Saúde, Sociedade e Ambiente) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2016.

SOARES, D. A.; SOUZA, S. A.; SILVA, D. J.; SILVA, A. B.; CAVALCANTE, U. M. B.; LIMA, C. M. B. L. Avaliação epidemiológica da esquistossomose no estado de Pernambuco pelo modelo de regressão beta. **Archives of Health Sciences**, v. 26, n. 2, p. 116-20, 2019.

SOARES, M. H.; DIAS, H. J.; VIEIRA, T. M.; SOUZA, M. G. M.; CRUZ, A. F. F.; BADOCCO, F. R.; NICOLELLA, H. D.; CUNHA, W. R.; GROppo, M.; MARTINS, C. H. G.; TAVARES, D. C.; MAGALHÃES, L. G.; CROTTI, A. E. M. Chemical composition, antibacterial, schistosomicidal, cytotoxic activities of the essential oil of *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants (Chenopodiaceae). **Chemistry & Biodiversity**, v. 14, e1700149, p. 1-10, 2017.

SOUZA, C. P. Molluscicide control of snail vectors of schistosomiasis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 90, n. 2, p. 165-68, 1995.

SOUZA, C. P.; LIMA, L. C. **Moluscos de interesse parasitológico do Brasil.** 2. ed. Belo Horizonte: FIOCRUZ/CPqRR, 1997.

SOUZA, F. P. C.; VITORINO, R. R.; COSTA, A. P.; FARIA-JÚNIOR, F. C.; SANTANA, L. A.; GOMES, A. P. Esquistossomose mansônica: aspectos gerais, imunologia, patogênese e história natural. **Revista Brasileira de Clínica Médica de São Paulo**, v. 9, n. 4, 300-07, 2011.

STEFFENS, A. H. **Estudo da composição química dos óleos essenciais obtidos por destilação por arraste a vapor em escala laboratorial e industrial.** 2010. 68 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Tecnologia de Materiais) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

STURROCK, R. F. Current concepts of snail control. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 90, n. 2, p. 241-48, 1995.

SUKHORUKOV, A. P.; ZHANG, M.; KUSHUNINA, M. A new species of *Dysphania* (Chenopodioideae, Chenopodiaceae) from South-West Tibet and East Himalaya. **Phytotaxa**, v. 203, n. 2, p. 138–46, 2015.

TAPONDJOU, L. A.; ADLER, C.; BOUDA, H.; FONTEM, D. A. Efficacy of powder and essential oil from *Chenopodium ambrosioides* leaves as post-harvest grain protectants against six-stored product beetles. **Journal of Stored Products Research**, v. 38, p. 395–402, 2002.

TAVARES, J. F.; SILVA, M. V. B.; QUEIROGA, K. F.; MARTINS, R. M.; SILVA, T. M. S.; CAMARA, C. A.; AGRA, M. F.; BARBOSA-FILHO, J. M.; SILVA, M. S. Composition and molluscicidal properties of essential oils from leaves of *Xylopia langsdorffiana* A. St. Hil. etTul. (Annonaceae). **Journal of Essential Oil Research**, v. 19, p. 282–84, 2007.

TELES, H. M. S.; MARQUES, C. C. A. Estivação de *Biomphalaria tenagophila* (Pulmonata, Planorbidae). **Revista de Saúde Pública**, v. 23, n. 1, p. 76-8, 1989.

TELES, H. M. S. Distribuição geográfica das espécies dos caramujos transmissores de *Schistosoma mansoni* no estado de São Paulo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, n. 5, p. 426-32, 2005.

THIENGO, S. C. Helminthoses de interesse médico-veterinário transmitidas por moluscos no Brasil. In: SANTOS, S. B. et al. **Tópicos em malacologia** – Ecos do XVIII Encontro Brasileiro de Malacologia. Rio de Janeiro: Editora da Sociedade Brasileira de Malacologia, 2007.

THIENGO, S. C.; FERNANDEZ, M. A. Moluscos. In: BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Vigilância e controle de moluscos de importância epidemiológica: diretrizes técnicas: Programa de Vigilância e Controle da Esquistossomose (PCE)**. 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2008.

VALENÇA, P. L. F. “**Esquistossomose mansoni humana: influência da IL-10 no fenótipo celular do granuloma *in vitro***”. 2000. 145 f. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Molecular) – Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2000.

VERLOOVE, F. A new combination in *Oxybasis* (Amaranthaceae). **New Journal of Botany**, v. 3, n. 1, p. 59-60, 2013.

VINAUD, M. C. **Efeito do extrato de *Stryphnodendron*, Mimosaceae, planta do cerrado, sobre formas infectantes de *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907 e células da hemolinfa do caramujo *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818)**. 2005. 76 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2005.

VITORINO, R. R.; SOUZA, F. P. C.; COSTA, A. P.; FARIA-JÚNIOR, F. C.; SANTANA, L. A.; GOMES, A. P. Esquistossomose mansônica: diagnóstico, tratamento, epidemiologia, profilaxia e controle. **Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica**, v. 10, n. 1, p. 39-45, 2012.

WANG, W.; MAO, Q.; YAO, J.; YANG, W.; ZHANG, Q.; LU, W.; DENG, Z.; DUAN, L. Discovery of the pyridylphenylureas as novel molluscicides against the invasive snail *Biomphalaria straminea*, intermediate host of *Schistosoma mansoni*. **Parasites & Vectors**, v. 11, p. 1-8, 2018.

WANG, W.; QIN, Z.; ZHU, D.; WEI, Y.; LI, S.; DUAN, L. Synthesis, bioactivity evaluation, and toxicity assessment of novel salicylanilide ester derivatives as cercaricides against *Schistosoma japonicum* and molluscicides against *Oncomelania hupensis*. **Antimicrobiological Agents Chemotherapy**, v. 60, p. 323–31, 2016.

WILDWOOD, C. **The encyclopedia of aromatherapy**. Healing Arts Press, 1996.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. Memoranda: molluscicide screening and evaluation. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 33, n. 4, p. 567-76, 1965.

\_\_\_\_\_. **Epidemiology and control of schistosomiasis**. Geneva: World Health Organization, 1980.

\_\_\_\_\_. **Report of the scientific working group on plant molluscicide e guidelines for evaluation of plant molluscicides**. Geneva: World Health Organization, 1983.

\_\_\_\_\_. **The control of schistosomiasis: second report of the WHO Expert Committee**. Geneva: World Health Organization, 1993.

\_\_\_\_\_. **Schistosomiasis**. Disponível em: <<http://www.who.int/schistosomiasis/en/>>. Acesso em: 20 out. 2019.

YANG, F.; LONG, E.; WEN, J.; CAO, L.; ZHU, C.; HU, H., et al. Linalool, derived from *Cinnamomum camphora* (L.) Presl leaf extracts, possesses molluscicidal activity against *Oncomelania hupensis* and inhibits infection of *Schistosoma japonicum*. **Parasites & Vectors**, v. 7, p. 1–13, 2014.



*Anexos*



**ANEXO A:** Comprovante de publicação de parte do Referencial Teórico como capítulo de livro da Atena Editora

## CAPÍTULO 12

### ESQUISTOSSOMOSE MANSÔNICA: ASPECTOS GERAIS E O USO DE MOLUSCICIDAS VEGETAIS COMO ALTERNATIVA PARA O CONTROLE

*Data de aceite: 05/02/2020*

*Data de submissão: 28/12/2019*

**Luciana Patrícia Lima Alves Perreira**  
Universidade Federal do Maranhão  
São Luís-MA  
<http://lattes.cnpq.br/0054746902841839>

São Luís-MA  
<http://lattes.cnpq.br/2261911621272178>

**Denise Fernandes Coutinho**  
Universidade Federal do Maranhão

São Luís-MA  
<http://lattes.cnpq.br/7346399893912346>

## ANEXO B: Comprovante de publicação do artigo 1 na Revista Acta Tropica

Acta Tropica 209 (2020) 105489



Contents lists available at ScienceDirect

Acta Tropica

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/actatropica](http://www.elsevier.com/locate/actatropica)**Essential oils as molluscicidal agents against schistosomiasis transmitting snails - a review**

Luciana Patrícia Lima Alves Pereira<sup>a,\*</sup>, Edilene Carvalho Gomes Ribeiro<sup>a</sup>,  
Maria Cristiane Aranha Brito<sup>a,d</sup>, Daniella Patrícia Brandão Silveira<sup>b</sup>,  
Fernanda Oliveira Sousa Araruna<sup>a</sup>, Felipe Bastos Araruna<sup>a</sup>, José Antonio Costa Leite<sup>b</sup>,  
Andressa Almeida Santana Dias<sup>d</sup>, Wellyson da Cunha Araújo Firmo<sup>c</sup>,  
Marilene Oliveira da Rocha Borges<sup>a,b</sup>, Antônio Carlos Romão Borges<sup>a</sup>,  
Denise Fernandes Coutinho<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Renorbio, Universidade Federal do Maranhão, 65065-545 São Luís, Maranhão, Brazil

<sup>b</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal do Maranhão, 65065-545 São Luís, Maranhão, Brazil

<sup>c</sup> Universidade Ceuma, 65075-120 São Luís, Maranhão, Brazil

<sup>d</sup> Faculdade Maurício de Nassau, 65040-840 São Luís, Maranhão, Brazil

## ANEXO C: Normas da Revista Anais da Academia Brasileira de Ciências

### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

- [Aim and editorial policy](#)
- [Preparation of manuscripts](#)

The journal Anais da Academia Brasileira de Ciências from 2012 onwards only considers online submissions. Once you have prepared your manuscript according to the instructions below, please visit the new, improved online submission website at <https://mc04.manuscriptcentral.com/aabc-scielo>. Please read these instructions carefully and follow them strictly. In this way you will help ensure that the review and publication of your paper are as efficient and quick as possible. The editors reserve the right to return manuscripts that are not in accordance with these instructions. Papers must be clearly and concisely written in English.

#### Aim and editorial policy

All submitted manuscripts should contain original research not previously published and not under consideration for publication elsewhere. The primary criterion for acceptance is scientific quality. Papers should avoid excessive use of abbreviations or jargon, and should be intelligible to as wide an audience as possible. Particular attention should be paid to the Abstract, Introduction, and Discussion sections, which should clearly draw attention to the novelty and significance of the data reported. Failure to do this may result in delays in publication or rejection of the paper. Articles accepted for publication become property of the journal.

Texts can be published as a review, a full paper (article) or as a short communication. Issues appear in March, June, September and December.

#### Types of Papers

##### Reviews

Reviews are published by **invitation only** and still have to undergo our peer review process. However, a proposal for a Review may be submitted via e-mail to our editorial staff ([aabc@abc.org.br](mailto:aabc@abc.org.br)). The e-mail should state the topics and authors of the proposed review, as well as the abstract, academy section and the justification why the topic is of particular interest to the field.

The AABC allows authors to deposit preprints of their submission in community preprint servers such as ArXiv.org and bioRxiv.org. However, the authors must update their entries expressly acknowledging that the article has been

accepted/published by AABC.

### **Letters to the Editor**

Letters to the Editor will be subjected to editing and revision and should not contain material that has been submitted or published elsewhere. Letters in reference to an article published by the AABC should not exceed 250 words (excluding references), and must be received within four weeks after online publication of the article. Letters not related to an article published by the AABC should not exceed 500 words (excluding references). A letter can have no more than ten references and one figure or table.

### **Articles**

Whenever possible the articles should be subdivided into the following parts: **1.** Front Page; **2.** Abstract (written on a separate page, 200 words or less, no abbreviations); **3.** Introduction; **4.** Materials and Methods; **5.** Results; **6.** Discussion; **7.** Acknowledgments, if applicable; **8.** Author Contributions (when the paper has more than one author); **9.** References. **10.** Figure legends, if applicable. Articles from some areas such as Mathematical Sciences should follow their usual format. In some cases, it may be advisable to omit part (4) and to merge parts (5) and (6). Whenever applicable, the Materials and Methods section should indicate the Ethics Committee that evaluated the procedures for human studies or the norms followed for the maintenance and experimental treatments of animals.

### **Short communications**

Short communications aim to report a **concise, but important contribution on research**, which has progressed to the stage when it is considered that results should be publicized to other workers in the field. A short communication should also have an Abstract (100 words or less), a short introduction (up to 200 words) and should not exceed 1,500 words. Tables and Figures may be included but the text length should be proportionally reduced. This section of the AABC should contain extremely relevant contributions and competition is very high.

After the first screening, the articles will be evaluated by at least two reviewers, them being from educational and/or national and international research institutions, with proven scientific production. After due corrections and possible suggestions, the paper may be accepted or rejected, considering the reviews received.

We use the integrated Crossref Similarity Check program to detect plagiarism.

There are no APC and submission charges in the AABC.

## Preparation of manuscripts

All parts of the manuscript should be double-spaced throughout. After acceptance, no changes will be made in the manuscript so that proofs require only corrections of typographical errors. The authors should send their manuscript in electronic version only.

### Length of manuscript

While papers may be of any length required for the concise presentation and discussion of the data, succinct and carefully prepared papers are favored both in terms of impact as well as in readability. They must not, however, exceed 50 pages, including all items (figures, tables, references, etc...), unless previously agreed with the Editor-in-Chief.

### Title page

The title page of the manuscript should present the following items: **1.** Title of the article (the title should be up to 150 characters including spaces, and informative to a broad scientific community); do not include abbreviations in the title. **2.** Full name(s) of all author(s); use superscript numbers right after each author name to indicate the affiliation; **3.** Professional address and ORCID of all authors, including Department and Institution name, street name and number, ZIP/Postal code, City, State and Country; **4.** Key words (four to six in alphabetical order separated by commas); **5.** Running title (a short version of the title, up to 50 characters including spaces); **6.** Academy Section to which the content of the work belongs; **7.** Name, address, phone number, e-mail of the correspondent author, including to whom all correspondence and proofs should be sent to (please indicate the corresponding author with an \* after the name). Should any of these requirements not be met, we may unsubmit your paper and ask for corrections.

### Abstract

The abstract must contain no more than 200 words and present the main findings of the article, including a brief introduction, the objectives of the work and a conclusion based on the presented findings. If the authors are submitting an invited/authorized review, the abstract must introduce the main theme of the review and explicit the contribution of the revision to the field. References should not be included in the abstract.

### Manuscript text

All text should be written in double-space using 12-point Times New Roman or equivalent typeface. Please organize, whenever possible, the text into the following parts: **1.** Title Page; **2.** Abstract (written on a separate page, 200 words or

less, no abbreviations); **3.** Introduction; **4.** Materials and Methods; **5.** Results; **6.** Discussion; **7.** Acknowledgments, if applicable; **8.** Author contributions, when there is more than one author, explaining briefly how each author has contributed for the paper **9.** References. **10.** Figure and table legends, if applicable.

Articles from some areas such as Mathematical Sciences should follow their usual format. In some cases it may be advisable to omit part (4) and to merge parts (5) and (6). Whenever applicable, the Materials and Methods section should indicate the Ethics Committee that evaluated the procedures for human studies or the norms followed for the maintenance and experimental treatments of animals. All procedures must be described in detail. Use American English style to write the text. Chemical names should be provided according to IUPAC, and strains of organisms should be specified. Provide names of reagents and/or equipment suppliers. Use units and symbols according to Bureau International des Poids et Mesures (SI) symbols whenever possible.

### **Acknowledgments**

These should be included at the end of the text. Personal acknowledgments should precede those of institutions or agencies. Footnotes should be avoided; when necessary they must be numbered. Acknowledgments to grants and scholarships, and of indebtedness to colleagues as well as mention to the origin of an article (e.g. thesis) should be added to the Acknowledgments section. Include the full name of the funding agency, country, and funded project number (if applicable).

### **Abbreviations**

These should be defined at their first occurrence in the text, except for official, standard abbreviations. Units and their symbols should conform to those approved by the Bureau International des Poids et Mesures (SI).

### **Figure Legends**

This information must be provided at the end of the manuscript, after the abbreviations. All figures must contain a descriptive legend. The legend must contain an introductory sentence that describes the main findings. All panels (if applicable) must be identified in the figure legend by lower case letters (1a, 2a, 2b, 3c, 3d, etc.). When presenting error bars, please inform if a number that follows the  $\pm$  sign is a standard error of mean (SEM) or a standard deviation of mean (SD). Or include in the legend if the presented result is representative of N individual experiments.

## Tables

Each table should have a brief title above it. Table footnotes should be placed below the table. Tables have to be cited in the paper in Roman numerals (Table I, Table II, Tables IV and V, etc.). Tables must be submitted as separate files in editable format, preferably as \*.doc or \*.docx file.

## Figures

Only high-quality figures will be accepted (minimum of 300 dpi). All illustrations will be considered figures including drawings, graphs, maps, photographs, etc. Their tentative placement in the text should be indicated and all figures must be cited with their respective number along the text. Figures should be sent according to the following specifications: 1. Drawings and illustrations should be in format .PS/.EPS or .CDR (PostScript or Corel Draw) and never be inserted in text; 2. Images or figures in grayscale should be in format .TIF and never be inserted in text; 3. Each figure should be saved and sent in a separate file; 4. Figures should, in principle, be submitted at the size they are to appear in the journal, i.e., 8 cm (one column) or 16.2 cm (two columns) wide, with maximal height for each figure and respective legend smaller than or equal to 22 cm.

The legends to the figures should be sent double-spaced on a separate page. Each linear dimension of the smallest characters and symbols should not be less than 2 mm after reduction. Colored figures are accepted just as much as b/w ones, but up to 5 black and white figures are free of charge, while every colored figure will be charged, due communication will be made in the production phase (after the evaluation process), should the author want them colored as well in the printed version. For the purpose of counting black and white figures, tables occupying two thirds of the page or having more than 12 columns or 24 rows will be considered b/w figures; 5. Manuscripts on Mathematics, Physics or Chemistry may be typesetted in TEX, AMS-TEX or LaTeX; 6. Manuscripts without mathematical formulae may be sent in .RTF or doc/docx for Windows.

## References

Authors are responsible for the accuracy of the References. Published articles and those in press may be included. Personal communications (Smith, personal communication) must be authorized in writing by those involved. References to thesis, meeting abstracts (not published in indexed journals) and manuscripts in preparation or submitted, but not yet accepted, should be cited in the text as (Smith et al., unpublished data) and should NOT be included in the list of references.

The references should be cited in the text as, for example, 'Smith 2004', 'Smith & Wesson 2005' or, for three or more



authors, 'Smith et al. 2006'. Two or more papers by the same author(s) in the same year should be distinguished by letters, e.g. 'Smith 2004a', 'Smith 2004b' etc. Letters should also distinguish papers by three or more authors with identical first author and year of publication. References should be listed according to the alphabetical order of the first author, always in the order SURNAME XY in which X and Y are initials. If there are more than ten authors, use et al. after the first author. References must contain the title of the article. Names of the journals should be abbreviated without dots or commas. For the correct abbreviations, refer to lists of the major databases in which the journal is indexed or consult the World List of Scientific Periodicals. The abbreviation to be used for the Anais da Academia Brasileira de Ciências is An Acad Bras Cienc. The following examples are to be considered as guidelines for the References.

## REFERENCES

ALBE-FESSARD D, CONDES-LARA M, SANDERSON P & LEVANTE A. 1984a. Tentative explanation of the special role played by the areas of paleospinothalamic projection in patients with deafferentation pain syndromes. *Adv Pain Res Ther* 6: 167-182.

ALBE-FESSARD D, SANDERSON P, CONDES-LARA M, DELAND-SHEER E, GIUFFRIDA R & CESARO P. 1984b. Utilisation de la depression envahissante de Leão pour l'étude de relations entre structures centrales. *An Acad Bras Cienc* 56: 371-383.

KNOWLES RG & MONCADA S. 1994. Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem J* 298: 249-258.

PINTO ID & SANGUINETTI YT. 1984. Mesozoic Ostracode Genus *Theriosynoecum* Branson, 1936 and validity of related Genera. *An Acad Bras Cienc* 56: 207-215.

*Books and book chapters*  
DAVIES M. 1947. An outline of the development of Science. Thinker's Library, n. 120. London: Watts, 214 p.

PREHN RT. 1964. Role of immunity in biology of cancer. In: NATIONAL CANCER CONFERENCE, 5., Philadelphia. Proceedings ... , Philadelphia: J. B. Lippincott, p. 97-104.

UYTENBOGAARDT W & BURKE EAJ. 1971. Tables for microscopic identification of minerals, 2nd ed., Amsterdam: Elsevier, 430 p.

WOODY RW. 1974. Studies of theoretical circular dichroism of polipeptides: contributions of B-turns. In: BLOUTS ER ET AL. (Eds), Peptides, polypeptides and proteins, New York: J Wiley & Sons, New York, USA, p. 338-350.

## ANEXO D: Comprovante de submissão do artigo 2 na Revista Anais da Academia Brasileira de Ciências

Annals of the Brazilian Academy of Sciences - Manuscript ID AABC-2020-1980

Yahoo/Entrada ★



● Daniel Sant'Anna <onbehalfof@manuscriptcentral.com>

qua., 30 de dez. às 19:08 ★

Para: Ilucianapatticia@yahoo.com.br

Cc: Ilucianapatticia@yahoo.com.br, dlenylis@hotmail.com, tiane91@hotmail.com, nandiveira@yahoo.com.br, araruna.fb@gmail.com e 5 mais...

30-Dec-2020

Dear Dr. Pereira:

Your manuscript entitled "Molluscicidal and cercaricidal activities of the essential oil of *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants: implications for the control of schistosomiasis" has been successfully submitted online and is presently being given full consideration for publication in the Annals of the Brazilian Academy of Sciences.

Your manuscript ID is AABC-2020-1980.

Please mention the above manuscript ID in all future correspondence or when calling the office for questions. If there are any changes in your street address or e-mail address, please log in to ScholarOne Manuscripts at <https://mc04.manuscriptcentral.com/aabc-scielo> and edit your user information as appropriate.

You can also view the status of your manuscript at any time by checking your Author Center after logging in to <https://mc04.manuscriptcentral.com/aabc-scielo>.

Thank you for submitting your manuscript to the Annals of the Brazilian Academy of Sciences.

Sincerely,  
Annals of the Brazilian Academy of Sciences Editorial Office

**ANEXO E: Produção científica durante o período de realização do doutorado****1. Artigos completos publicados em periódicos**

1. **PEREIRA, L.P.L.A.**; RIBEIRO, E.C.G.; BRITO, M.C.A.; SILVEIRA, D.P.B.; ARARUNA, F.O.S.; ARARUNA, F.B.; LEITE, J.A.C.; DIAS, A.A.S.; FIRMO, W.C.A.; BORGES, M.O.R.; BORGES, A.C.R.; COUTINHO, D.F. Essential oils as molluscicidal agents against schistosomiasis transmitting snails – a review. *Acta Tropica*, v. 209, p. 105489, 2020. (A1 Qualis Único Capes).

2. ARARUNA, F.; ARARUNA, F.O.S.; **PEREIRA, L.P.L.A.**; BRITO, M.C.A.; QUELEMES, P.; NOBRE, A.R.A.; OLIVEIRA, T.M.; SILVA, D.; LEITE, J.; COUTINHO D.F.; BORGES, M.O.R.; BORGES, A.C.R. Green syntheses of silver nanoparticles using babassu mesocarp starch (*Orbignya phalerata*) and its antimicrobial application. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, v. 13, p. 100281, 2019. (A3 Qualis Único Capes).

3. DAVID, N.F.; CANTANHEDE, S.P.D.; MONROE, N.B.; **PEREIRA, L.P.L.A.**; SILVA-SOUZA, N.; ABREU-SILVA, A.L.; DE OLIVEIRA, V.M.; TCHAICKA, L. Spatial distribution and seasonality of *Biomphalaria* spp. in São Luís (Maranhão, Brazil). *Parasitology Research*, v. 117, p. 1495-1502, 2018. (A1 Qualis Único Capes).

4. **PEREIRA, L.P.L.A.**; BRITO, M.C.A.; ARARUNA, F.B.; DE ANDRADE, M.S.; MORAES, D.F.C.; BORGES, A.C.R.; DO RÊGO, E.R.B.P.L. Molecular studies with *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762), mosquito transmitting the dengue virus. *Parasitology Research*, v. 116, p. 2057-2063, 2017. (A1 Qualis Único Capes).

5. **PEREIRA, L.P.L.A.**; DIAS, C.N.; MIRANDA, M.V.; FIRMO, W.C.A.; ROSA, C.S.; SANTOS, P.F.; BRITO, M.C.A.; ARARUNA, F.O.S.; ARARUNA, F.B.; SILVA-SOUZA, N.; COUTINHO, D.F. Molluscicidal effect of *Euphorbia umbellata* (Pax) Bruyns latex on *Biomphalaria glabrata*, *Schistosoma mansoni* host snail. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 59, p. 1-5, 2017. (B1 Qualis Único Capes).

6. ROSA, C.S.; VERAS, K.S.; SILVA, P.R.; LOPES NETO, J.J.; CARDOSO, H.L.M.; ALVES, L.P.L.; BRITO, M.C.A.; AMARAL, F.M.M.; MAIA, J.G.S.; MONTEIRO, O.S.; MORAES, D.F.C. Composição química e toxicidade frente *Aedes aegypti* L. e *Artemia salina* Leach do óleo essencial das folhas de *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v. 18, p. 19-26, 2016. (B1 Qualis Único Capes).

7. MIRANDA, M.V.; FIRMO, W.C.A.; **PEREIRA, L.P.L.A.**; DIAS, C.N.; CASTRO, N.G.; OLEA, R.S.G.; MORAES, D.F.C.; SILVEIRA, L.M.S. Controle de qualidade de amostras comerciais de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Aroeira) adquiridas em mercados públicos da cidade de São Luís-MA. Biota Amazônia, v. 6, p. 83-90, 2016. (B4 Qualis Único Capes).

## 2. Capítulos de livro publicados

1. BRITO, M.C.A.; **PEREIRA, L.P.L.A.**; ARARUNA, F.O.S.; ARARUNA, F.B.; SANTOS, J.P.; ARRUDA, M.O.; FIRMO, W.C.A.; DIAS, A.A.S.; NEIVA, F.M.M.A.; BORGES, M.O.R.; BORGES, A.C.R.; COUTINHO, D.F. Bioprospecção como ferramenta para a descoberta de novos insumos farmacológicos. Tópicos nas ciências da saúde. v. II. Pantanal Editora, 2020, p. 67-86.

2. ARARUNA, F.B.; ARARUNA, F.O.S.; **PEREIRA, L.P.L.A.**; BRITO, M.C.A.; QUELEMES, P.V.; ARAÚJO-NOBRE, A.R.; DE OLIVEIRA, T.M.; DA SILVA, D.A.; LEITE, J.R.S.A.; FIRMO, W.C.A.; COUTINHO, D.F.; BORGES, M.O.R.; BORGES, A.C.R. Nanopartículas de prata à base de amido de mesocarpo do babaçu (*Attalea speciosa* Mart. ex Spreng.): características e potencialidades. Tópicos em ciências da saúde. 1. ed. Pantanal Editora, 2020, p. 16-41.

3. **PEREIRA, L.P.L.A.**; BRITO, M.C.A.; ARARUNA, F.O.S.; ARARUNA, F.B.; BORGES, M.O.R.; BORGES, A.C.R.; FIRMO, W.C.A.; COUTINHO, D.F. Esquistossomose mansônica: aspectos gerais e o uso de moluscidas vegetais como alternativa para o controle. Ciências da Saúde: Campo Promissor em Pesquisa 10. 10. ed. Atena Editora, 2020, p. 86-112.

4. **PEREIRA, L.P.L.A.**; ARARUNA, F.B.; ARARUNA, F.O.S.; BRITO, M.C.A.; SILVEIRA, D.P.B.; RIBEIRO, E.C.G.; BORGES, A.C.R.; DE ANDRADE, M.S.; LEAL, E.R.R.P.; COUTINHO D.F. Molecular aspects of species of the genus *Aedes* with

epidemiological importance. Parasitology Research Monographs. 1. ed. Springer International Publishing, 2018, p. 305-321.

### **3. Revisão de artigos**

Revista All Life, 2020.

Revista Invertebrate Reproduction and Development, 2020.

Revista Ecotoxicology and Environmental Safety, 2019.

### **4. Participação em projeto de pesquisa**

EDITAL FAPEMA Nº 31/2016 - UNIVERSAL-01207/17

### **5. Co-orientação de aluna de iniciação científica do Laboratório de Farmacognosia 2 da UFMA**

Co-orientação do trabalho de iniciação científica intitulado “Estudo da composição química e avaliação da atividade moluscicida do óleo essencial das folhas de *Psidium guajava*”, da aluna Joyciane Reis, bolsista PIBIC-UFMA.