

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS- GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA E FISIOLOGIA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES MOLUSCICIDA, CERCARICIDA E ARTEMICIDA DE *Myracrodruon urundeuva* Allemão E *Schinus terebinthifolius* Raddi E SUAS FRAÇÕES ACETATO DE ETILA.

JOSÉ LUÍS FERREIRA SÁ

ORIENTADORA: Prof.^a Dr.^a Maria Tereza Santos Correia- UFPE

CO-ORIENTADORA: Prof.^a. Dr.^a Ana Maria M. de Albuquerque Melo- UFPE

Prof.^a. Dr.^a Márcia Vanusa da Silva- UFPE

RECIFE, 2016

JOSÉ LUÍS FERREIRA SÁ

AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES MOLUSCICIDA, CERCARICIDA E ARTEMICIDA DE *Myracrodruon urundeuva* Allemão E *Schinus terebinthifolius* Raddi E SUAS FRAÇÕES ACETATO DE ETILA.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia da Universidade Federal de Pernambuco, como Requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Bioquímica e Fisiologia.

RECIFE, 2016

Catálogo na fonte

Elaine Barroso

CRB 1728

Sá, José Luís Ferreira

Avaliação das atividades moluscicida, cercaricida e artemicida de *Myracrodruon unguicula* Allemão e *Schinus terebinthifolius* Raddi e suas frações acetato de etila / José Luís Ferreira Sá- Recife: O Autor, 2016.

110 folhas: il., fig., tab.

Orientadora: Maria Tereza dos Santos Correia

Coorientadoras: Ana Maria M. de Albuquerque Melo e Márcia Vanusa da Silva

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Bioquímica e Fisiologia, 2016.

Inclui referências e anexos

1. Química vegetal 2. Esquistossomose 3. *Biomphalaria glabrata* I. Correia, Maria Tereza dos Santos (orientadora) II. Melo, Ana Maria M. de Albuquerque (coorientadora) III. Silva, Márcia Vanusa da (coorientadora) IV. Título

572.2

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2017-262

JOSÉ LUÍS FERREIRA SÁ

AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES MOLUSCICIDA, CERCARICIDA E ARTEMICIDA DE *Myracrodruon urundeuva* Allemão E *Schinus terebinthifolius* Raddi E SUAS FRAÇÕES ACETATO DE ETILA.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia da Universidade Federal de Pernambuco, como Requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Bioquímica e Fisiologia.

Aprovado por:

Profa. Dra. Maria Tereza dos Santos Correia - Presidente

Profa. Dra. Patrícia Maria Guedes Paiva

Prof. Dr. Luiz Alberto Lira Soares

Profa. Dra. Márcia Vanusa da Silva

Data: 23/02/2016

Dedico este trabalho a minha família. Meus pais José Ferreira Sá e Lucinda Soares Cassamá pelo amor incondicional, carinho, apoio moral e educação. Em especial a minha irmã Lucilina pelo carinho, confiança e incentivo.

AGRADECIMENTO

Á Deus primeiramente por tudo que tem feito na minha vida de conceder a paciência, humildade, tolerância e a oportunidade de vir ao Brasil para estudar e conhecer outras realidades. Pela força, coragem e ajuda de enfrentar momentos difíceis para conquista dos meus objetivos.

Á minha família, em especial aos meus pais José e Lucinda, pelo amor incondicional, carinho, educação e apoio moral. Agradecer principalmente a minha irmã Lucilina pelo carinho confiança e respeito e para meu irmão caçula Antônio Alezio Ferreira Sá que encontra- se no Brasil pelo respeito carinho e consideração. Aos outros irmãos pelo carinho, respeito e preocupação: Joana Ferreira Sá, Alicelia Ferreira Sá, Omar Djalo, Josimar A. S. Cassamá. A minha adorada Filha e sobrinhos (as) pelo carinho, Lucilina Carina Ferreira Sá, Nadia Soraia, Youping Catarina, Junior, Chelcia, Renna, e Yonara.

Á minha orientadora Prof.^a Dr.^a Maria Tereza Santos Correia, pelo carinho, paciência, e pela oportunidade. Em especial a minha Prof.^a Dr.^a Ana Maria M. de Albuquerque Melo pelo carinho, paciência e por aprimorar cada vez mais o conhecimento científico sob a sua orientação. Desejo saúde e felicidade junto da sua família e que continua sendo cada vez mais humanistas, humilde e que conceda oportunidade a mais pessoas.

A Prof.^a Dr.^a Márcia Vanusa da Silva pela atenção, carinho e admiração. E ao professor Amâncio pela admiração, amizade e atenção.

Ao departamento de Biofísica e Radiobiologia, ao departamento de Bioquímica e departamento de Farmácia desta UFPE, pelo apoio na execução deste trabalho..

Á comunidade Guineense em Recife pela amizade e momento compartilhado, durante essa caminhada.

Aos amigos pelo incentivo, apoio moral e momentos de diversão: Clariosvaldo, Filomeno, Delcio João, Januário, Jandreica, Julio Rodrigues, em especial Lassana Danfa, Dilena Balde Sanca pelo carinho, tolerância, harmonia e companheirismo. E aos meus queridos afilhados Dereck Guilherme e Enzo Renna. A Tia Célia e Tio Ivo pelo carinho, atenção e humildade.

Ao pessoal do laboratório pelo acolhimento, carinho, companheirismo, atenção e parceria: Luanna, Williams, Hianna, Mariana, Douglas, Maíra e Katarine.

Também agradecer ao pessoal do laboratório de Farmagnosia do departamento de farmácia, e pessoal do laboratório de Parasitologia da LIKA pela atenção e apoio, Prof. Dr. Luiz Alberto, Prof. Dr. André Lima, Prof.^a Dr.^a Monica Camelo, Isabelle, Julia, Rhaiane e Wile.

Aos amigos do curso pela amizade: Aline, Giselle, Rici, José Jairo, Jose Henrique, Dayvid, Bernardo, Flavia Milena, Nataliane e Maria Clara.

A todos que de certa forma contribuíram para a realização deste projeto. Por fim, agradecer imensamente ao CNPq pelo suporte financeiro, durante dois anos da execução do projeto.

RESUMO

A esquistossomose é uma doença endêmica que afeta mais de 200 milhões de pessoas no mundo. Uma das principais estratégias de combate à doença é por meio do combate aos moluscos *B. glabrata*, hospedeiro intermediário, desta enfermidade. Este controle é realizado utilizando o moluscicida sintético, a niclosamida, substância autorizada pela OMS. No entanto, este produto tem apresentado elevado custo e baixa seletividade, provocando danos ao ecossistema aquático. Portanto, a necessidade de moluscicidas eficientes e ecologicamente aceitáveis acompanhou a tendência das pesquisas com plantas, visando extrair substâncias ativas para o desenvolvimento de produtos com capacidade de atuar como moluscicidas. Extratos naturais com atividade moluscicida têm que apresentar baixo índice de toxicidade para o ambiente, pelo fato de serem naturais e, por isso, serem biodegradáveis. *M. urundeuva* e *S. terebinthifolius* são plantas da família Anacardiaceae, conhecidas popularmente como aroeira-do-sertão e aroeira-da-praia, sendo amplamente encontradas na Caatinga. Esse trabalho tem como objetivo avaliar a atividade moluscicida do extrato bruto e fração acetato de etila das folhas de *M. urundeuva* e casca de *S. terebinthifolius*. Os extratos foram obtidos a partir extração a frio. A prospecção fitoquímica foi realizada por meio de cromatografia em camada delgada e CLAE. Em seguida foram realizados os ensaios moluscicidas com embriões e moluscos adultos de *B. glabrata*, expostos por 24 horas a diferentes concentrações do extrato bruto e fração acetato de etila de ambas as espécies. Também foi feito ensaio ecotoxicológico com *Artemia salina* e atividade cercaricida. Como resultados das análises fitoquímica foram encontrados esteroides, saponinas, flavonoides, taninos, açúcares, terpenoides, fenóis, catequinas, ácido elágico e gálico. O extrato bruto (EB) e fração acetato de etila (F. AE) da folha de *M. urundeuva* foram tóxicos para os moluscos adultos de *B. glabrata*, onde as concentrações 100, 150 e 200 µg/mL do EB apresentaram 80; 93,3 e 100% de mortalidade para os moluscos adultos. A concentração 100 µg/mL da FAE apresentou 93,3% de mortalidade para os moluscos adultos. O EB da casca de *S. terebinthifolius* foi letal para os moluscos adultos de *B. glabrata*, causando 100% de mortalidade para os moluscos adultos, nas concentrações de 100, 150 e 200 µg/mL, respectivamente. A FAE também foi tóxico para os moluscos adultos de *B. glabrata*, nas concentrações de 50, 75 e 100 µg/mL apresentando 100% de mortalidade para os moluscos adultos. E a concentração de 25 µg/mL apresentou 60% de mortalidade. O EB e FAE de ambas as espécies, não foram tóxicos para embriões do molusco de *B. glabrata*. O EB da folha e casca de ambas as espécies causaram 76,6 e 32,6% de mortalidade para as cercárias de *S. mansoni* na concentração de 200 µg/mL, respectivamente. O EB e FAE de ambas as espécies, não foram letais para *A. salina*. Portanto, pode-se concluir que o EB e FAE da folha *M. urundeuva* e casca de *S. terebinthifolius* mostraram-se viáveis como moluscicidas de origem vegetal nas concentrações de 150 (EB folha), 100 µg/mL (FAE folha) e 100 (EB casca), 50 µg/mL (FAE casca).

PALAVRAS CHAVE: *Myracrodruon urundeuva*. *Schinus terebinthifolius*. *Biomphalaria glabrata*. *Artemias salina*. Moluscicida.

ABSTRACT

Schistosomiasis is an endemic disease that affects more than 200 million people worldwide. One of the main strategies to combat the disease is through combating molluscs *B. glabrata*, intermediate host of this disease. This control is performed using the synthetic molluscicide the niclosamida, substance authorized by the WHO. However, this product has presented high cost and low selectivity, causing damage to the aquatic ecosystem. Therefore, the need for efficient and ecologically acceptable molluscicides followed the trend of research with plants, aiming to extract active substances for the development of products with capacity to acting as molluscicides. Natural extracts with molluscicidal activity must present low index of toxicity to the environment, by the fact being natural and therefore are biodegradable. *M. urundeuva* and *S. terebinthifolius* are plants of the Anacardiaceae family, popularly known as aroeira-do-sertão and aroeira-da-praia, being widely found in the Caatinga Bioma. This work has as objective to evaluate the molluscicidal activity from the crude extract and ethyl acetate fraction of the leaves and bark of *M. urundeuva* and *S. terebinthifolius*. The extracts were obtained by cold extraction. The phytochemical screening was performed by thin-layer chromatography (TLC) and HPLC. Then were performed molluscicides trials with embryos and adult molluscs *B. glabrata* exposed for 24 hours to several concentrations of crude extract and fractions enriched for both species. It was also made ecotoxicological test with *Artemia salina* and cercaricide activity. As results of phytochemical analyzes were found steroids saponins flavonoids tannins sugars terpenoids phenols catechins ellagic and gallic acid. The crude extract (CE) and ethyl acetate fraction (EAF) of the leaves *M. urundeuva* were toxic to adults mollusc *Biomphalaria glabrata*, where the concentrations 100, 150 and 200 µg/mL of the CE presented 80; 93.3 and 100% mortality for adult molluscs. The 100 µg/mL concentration of the EAF presented 93.3% mortality for adult molluscs. The CE of the bark *S. terebinthifolius* was lethal for adult mollusc *Biomphalaria glabrata*, causing 100% mortality for adult molluscs at the concentrations of 100, 150 and 200 µg/mL, respectively. And EAF was also toxic to adults mollusc *Biomphalaria glabrata*, concentrations of 50, 75 and 100 µg/mL presenting 100% mortality for adult molluscs. And the concentration of 25 µg/mL presented 60% mortality. The CE and EAF of both species Aroeira were not toxic to mollusc embryos of *B. glabrata*. The CE of the leaf and bark of both species caused 76.6 and 32.6% mortality for the cercariae *Schistosoma mansoni* in the concentration of 200 µg/mL respectively. The CE and EAF of both species were not lethal to *A. salina*. Therefore it can be concluded that the CE and EAF of *M. urundeuva* leaf and *S. terebinthifolius* bark shown to be viable as a molluscicide of plant origin at concentrations of 150 (CE leaf), 100 µg/mL (EAF leaf), and 100 (CE bark), 50 µg/mL (EAF bark).

KEY WORDS: *Myracrodruon urundeuva*. *Schinus terebinthifolius*. *Biomphalaria glabrata*. *Artemias salina*. Molluscicide.

LISTA DE FIGURA

REVISÃO DE LITERATURA

Figura 1	Prevalência da esquistossomose no brasil.....	18
Figura 2	Ciclo da Esquistossomose.....	19
Figura 3	Foto do molusco da espécie <i>Biomphalaria glabrata</i> Say, 1818.....	26
Figura 4	Fotos do espécime <i>Myracrodruon urundeuva</i> Allemão (Aroeira- do- sertão).....	30
Figura 5	Fotos do espécime <i>Schinus terebinthifolius</i> Reddi (Aroeira de praia).....	32
Figura 6	Foto do microcrustáceo da espécie <i>Artemia salina</i>	33

LISTA DE FIGURA

ARTIGO

Figure 1	Chromatograms obtained for CE (A) and EAF (B) of <i>S. terebinthifolia</i> and CE (C) and EAF (D) of <i>M. urundeuva</i>	69
Figure 2	Results of adult <i>B. glabrata</i> mollusks exposed to CE (A) and EAF (B) of <i>M. urundeuva</i> leaves for 24 hours.....	69
Figure 3	Results of the adult <i>B. glabrata</i> mollusks exposed to CE (A) and EAF (B) of <i>S. terebinthifolia</i> bark for 24 hours.....	70
Figure 4	Embryotoxicity of <i>B. glabrata</i> exposed to CE (A) and EAF (B) of <i>M. urundeuva</i> leaves for 24 hours.....	70
Figure 5	Embryotoxicity of <i>B. glabrata</i> exposed to CE (A) and EAF (B) from the bark of <i>S. terebinthifolia</i> for 24 hours.....	71

LISTA DAS TABELAS

ARTIGO

Table 1	CCD analyses of CEs and EAFs of <i>M. urundeuva</i> leaves and <i>S. terebinthifolia</i> bark.....	72
Table 2	Total polyphenol content (TPC) of crude extracts and ethyl acetate fractions of <i>M. urundeuva</i> and <i>S. terebinthifolia</i>	72
Table 3	Levels of gallic acid, ellagic acid and catechin in the CE and EAF samples.....	73
Table 4	Mortality results of <i>S. mansoni</i> cercariae exposed to CE of <i>M. urundeuva</i> leaves.....	73
Table 5	Mortality of <i>S. mansoni</i> cercariae exposed to EAF of <i>M. urundeuva</i> leaves.....	74
Table 6	Mortality results of <i>S. mansoni</i> cercariae exposed to CE from bark of <i>S. terebinthifolia</i>	74
Table 7	Mortality results of <i>S. mansoni</i> cercariae exposed to EAF from the bark of <i>S. terebinthifolia</i>	75

LISTA DE ABREVIATURA

µg	Micrograma
µL	Microlitro
µm	Micrômetro
Cm	Centímetro
Mm	Milímetro
ACE	Acetato de etila
CNPq	Conselho Nacional de Pesquisa
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CLAE	Cromatografia Liquida de Alta Eficiência
CL ₅₀	Dose letal que pode causar a morte de 50% de uma dada população de organismos
DMSO	Dimetilsulfóxido
EB	Extrato bruto
FE	Fração Enriquecida
IPA	Instituto Agrônômico de Pernambuco
LIKA	Laboratório de Imunopatologia Keizo-Asami
Mg	Miligrama
mL	Mililitro
Nm	Nanômetro
OMS	Organização Mundial de Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana de Saúde
PARNA	Parque Nacional do Catimbau
TR	Tempo de Retenção
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco

SUMÁRIO

1.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
1.1	Aspectos gerais da esquistossomose.....	15
1.2	Aspecto epidemiológico da esquistossomose.....	16
1.3	Ciclo biológico da esquistossomose.....	19
1.4	Aspectos clínica da esquistossomose.....	20
1.5	Controle da esquistossomose.....	21
1.6	Hospedeiro intermediário.....	24
1.7	Moluscicida.....	26
1.8	Plantas em estudo.....	29
1.8.1	<i>Myracrodruon urundeuva</i> Allemão (Aroeira- do- sertão).....	29
1.8.2	<i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi (Aroeira de praia).....	30
1.9	<i>Artemia salina</i> (microcrustáceo).....	32
2.	REFERÊNCIAS.....	33
3.	OBJETIVOS.....	44
3.1	Geral.....	44
3.2	Específicos.....	44
4.	ARTIGO.....	45
5.	CONCLUSÕES.....	76
6.	ANEXOS.....	77

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Aspectos gerais da esquistossomose

A esquistossomose constitui um problema da saúde pública em vários países tropicais e subtropicais. No mundo mais de 200 milhões de indivíduos estão infectados pela doença e ainda cerca de 800 milhões vivem em áreas de risco consideradas endêmicas. Esta patologia encontra-se distribuída em 78 países entre a Ásia, África, América e Oriente Médio (MELO et al., 2014; RASO et al., 2007; SCHOLTE et al., 2014; STEINMANN, 2008). No Brasil a doença é ocasionada pelo parasito, trematódeo do gênero *Schistosoma*, e os planorbídeos do gênero *Biomphalaria*, *Bulinus* e *Oncomelania* são considerados hospedeiros intermediários para essa enfermidade. (OMAR et al., 2008; CANTANHEDE et al., 2010). A doença é denominada esquistossomose mansônica, conhecida popularmente como barriga-d'água ou doença dos caramujos (REY, 2011).

A esquistossomose é amplamente relacionada com falta de saneamento básico e condição socioeconômica, principalmente em países subdesenvolvidos. Na América, o Brasil é considerado o país mais atingido pela doença (GOMES, et al., 2014; LAMBERTUCCI, 2010; Vigilância Epidemiológica- MS, 2008). Historicamente a esquistossomose no estado de Pernambuco é caracterizada como uma endemia rural. Em 2013, foram mapeados quarenta e seis municípios em região endêmica na Zona da Mata com áreas onde a prevalência da esquistossomose variam de 5 a 70% (BARBOSA, et al., 2015; GOMES, et al., 2012). Por ser uma doença crônica e causar debilitações, trazendo sérios problemas para saúde pública, refletindo na produtividade econômica, no entanto, vários programas de controle a esquistossomose estão sendo implementado em larga escala com intuito de erradicar essa enfermidade (JATSA et al., 2015). No Brasil, a Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS), em parceria com as Secretarias de Vigilância Sanitária dos estados e municípios, trabalham para o controle da esquistossomose e também dos moluscos vetores (CANTANHEDE et al., 2010).

Biomphalaria glabrata, é uma espécie pertencente à família Planorbidae, essa espécie é distribuído no território Brasileiro em cerca de dezessete estados e o Distrito Federal. Podem ser encontrados em água parada e pouco poluída, como lago, lagoa, remanso do rio, riachos, canais de irrigação e de drenagem, e qualquer área natural ou artificialmente alagada. São hermafroditas, mas também reproduzem por fertilização cruzada e alimentam-se de folhas de vegetais. Uma das principais estratégias de combate à doença é por meio de controle dos caramujos, utilizando moluscidas químicos. Estima-se que mais de sete mil produtos foram testados, mas a niclosamida, é a única substância sintética recomendada pela ANVISA e OMS e disponível comercialmente. Entretanto este moluscida produz um impacto ambiental negativo ao ecossistema

aquático. Além de possuir alto custo de aplicação o que dificulta sua chegada em municípios com baixo poder aquisitivo (PARAENSE, 1972; OMAR et al., 2008; REY, 2011).

Por esta razão tem sido estimulada pesquisa, com substâncias de origem vegetal, que são biodegradáveis, baixo custo e com potencial moluscicida. Na literatura, podem ser encontrados relatos de várias plantas e seus princípios ativos estudados quanto ao seu potencial moluscicida (KIROS et al., 2014; MARTINS et al., 2014; SANTOS et al., 2010; LEYTON et al., 2005; BABILI et al., 2006).

A espécie *Myracrodruon urundeuva* Allemão e *Schinus terebinthifolius* Raddi pertencem à família Anacardiaceae, conhecidas popularmente como aroeira-do-sertão e aroeira-da-praia com ampla distribuição no Brasil é bastante encontradas no bioma caatinga. Essas plantas possuem atividades biológicas incluindo atividades analgésico, antibacteriana, anti-inflamatório, antiúlcera, antioxidante, antifúngica e repelente térmitas (BARBIERI et al., 2014; NAPOLEÃO et al., 2011; BENDAOUD et al., 2010; ALBUQUERQUE e OLIVEIRA 2007; SOUZA et al., 2007). No entanto, até o momento atual não há relatos na literatura de suas atividades contra os moluscos vetores da esquistossomose.

1.2. Aspecto Epidemiológico da Esquistossomose

A esquistossomose, classificada como doença negligenciada, é uma doença de veiculação hídrica, amplamente relacionada com a falta do saneamento básico e condição socioambiental. É uma infecção parasitária, considerada endêmica em zonas rurais ou em municípios com baixo poder aquisitivo, principalmente em países em desenvolvimento (PINTO, 2013; SILVA et al., 2012; SILVA, 2011; CANTANHEDE et al., 2010). É causada por helmintos trematódeos do gênero *Schistosoma*, utilizando planorbídeos do gênero *Biomphalaria*, *Bulinus* e *Oncomelaniae*, como hospedeiros intermediários e o homem como um dos hospedeiros definitivo. Os principais agentes etiológicos são: *Schistosoma mansoni*, *Schistosoma haematobium*, *Schistosoma japonicum*, *Schistosoma Intercalatum*, *Schistosoma mekongi*, *Schistosoma malayensis* (CANTANHEDE et al., 2010).

No Brasil a espécie *Schistosoma mansoni* determina a infecção denominada esquistossomose mansônica, conhecida popularmente por xistossomose, xistosa, doença dos caramujos ou ainda, barriga-d'água; sendo esta expressão escolhida por causa da ascite que se desenvolve no indivíduo infectado (NERES et al., 2011; REY, 2011).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima, que mais de 200 milhões de indivíduos no mundo estão infectados pela esquistossomose em 78 países incluindo a Ásia, América, África e

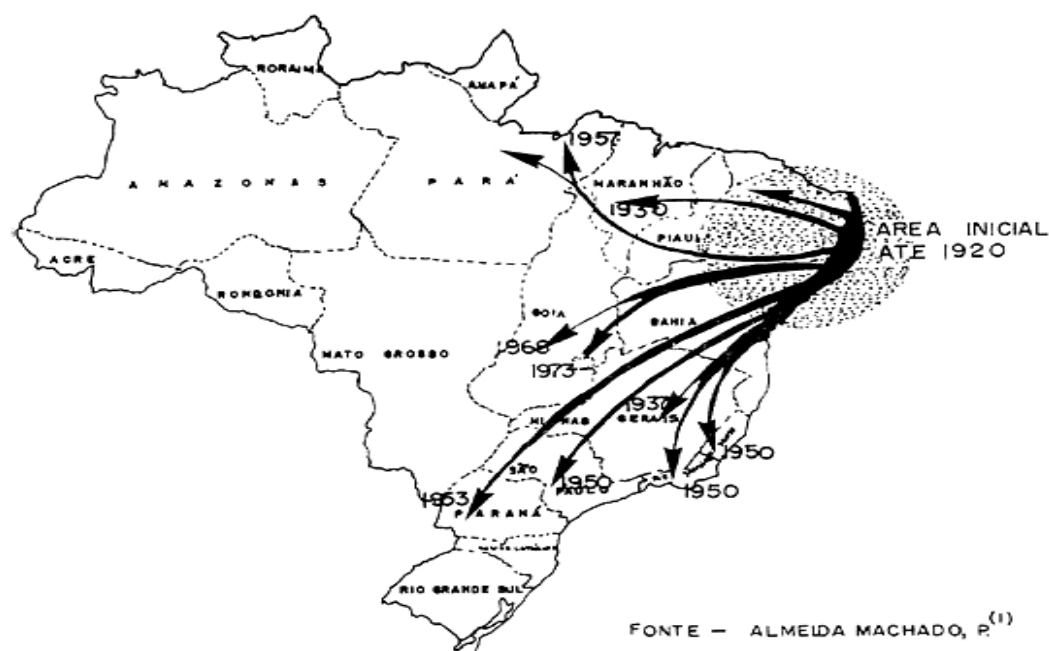
Oriente Médio. Ainda, cerca 800 milhões de pessoas vivem em áreas com risco de contaminação, ou seja, são expostas à infecção (MARTINS-MELO et al., 2014a; ROLLEMBERG et al., 2011). Na América Sul, a doença é distribuída em região do Caribe, Venezuela e Brasil, na África e Mediterrâneos incluem a região do Delta Nilo entre outros países, como Egito e Sudão (MARTINS et al., 2014; SILVA et al., 2011; Secretaria de Vigilância em saúde/MS- Guia de Vigilância Epidemiológica/Caderno 10, 2008).

A África é o continente com maior número de ocorrência no mundo com aproximadamente 97% dos casos (MONÉ *et al.*, 2010). A esquistossomose é uma doença com alto índice de 41.000 indivíduos morrem por ano. O grupo de risco são as crianças com a idade escolar e meninas adolescentes (LINSUKE et al., 2014; OMS, 2011; CHITSULO et al., 2000; POGGENSEE; 1999)

A Organização mundial de saúde classificou a esquistossomose como a terceira doença parasitária de elevada frequência no mundo, e a segunda maior doença tropical, perdendo apenas para a malária (LOPES et al., 2011; RAGHAVAN, 2003; FERREIRA et al., 1998). De acordo com a estatística da OMS (2010), estimou-se que até 2008 nas Américas, cerca de 7,1 milhões de indivíduos estavam infectados pela doença, destes 95% encontra-se no território Brasileiro. No país a esquistossomose mansônica é considerada como importante problema para saúde pública (FAVRE et al., 2015).

Segundo a Secretaria de Vigilância Sanitária/MS (2008) dos 27 estados brasileiros, a transmissão da esquistossomose ocorre em 19 unidades federativas: Alagoas, Bahia, Pernambuco, Rio Grande de Norte, Paraíba, Sergipe, Espírito Santo e Minas Gerais. Os estados do Pará, Maranhão, Piauí, Ceará, Rio de Janeiro, São Paulo, Santa Catarina, Paraná, Rio Grande de Sul, Goiás e Distrito Federal, são consideradas áreas focais com menor número de prevalência (**Figura 1**) (MS, 2012; MARTINS-MELO et al., 2014). As regiões litorâneas são consideradas áreas de maior ocorrência da esquistossomose, abrangem desde a região norte até o Sul, sendo endêmica em vários estados da região Nordeste e Sudeste (ARAUJO, 2004).

FIGURA 1. Prevalência da Esquistossomose no Brasil.



Fonte: www.scielo.br; 1988

A presença de moluscos hospedeiros infectados por *S. mansoni* em locais com maior prevalência e endemismo, como região Nordeste e Norte do estado de Minas Gerais, se deve ao acesso precário do consumo de água em áreas rurais, obtido em poços, cacimbas e pequenos açudes, que são criadouros artificiais dos caramujos (OMS, 2011; SILVA, 2013).

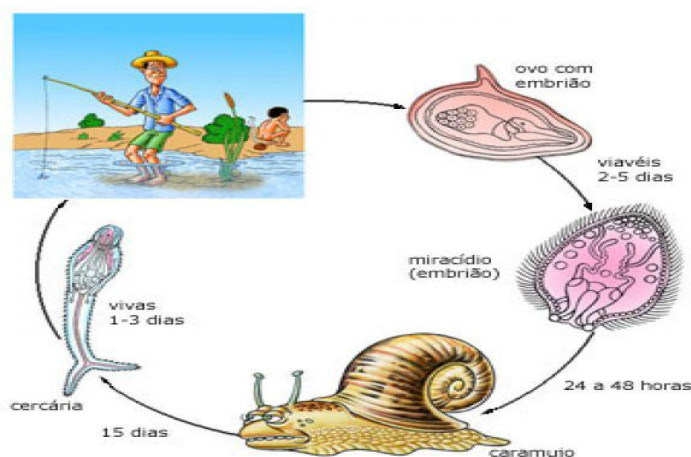
Os estados do Nordeste são marcadamente endêmicos, e o estado Pernambuco destaca-se como estado com maior prevalência. Historicamente a esquistossomose neste estado é caracterizada como uma endemia rural. Dos 186 municípios do estado 102 são considerados endêmicos, predominantemente encontrados na Zona da Mata e Litoral. Os municípios como Una, Sirinhaém, Ipojuca, Jaboatão e Goiana são consideradas municípios com alta prevalência da esquistossomose. Das 142.090 pessoas examinadas em 2010 a prevalência média foi de 7,9% e o número de óbito foi de 190 pessoas durante o período de 2005 a 2010. Ao comparar o estado de Pernambuco, a média nacional e outros estados do Nordeste, Pernambuco apresentou maior taxa de mortalidade nesse mesmo período (MS, 2011). Desde 1992, a propagação da esquistossomose vem sendo registrada nas áreas litorâneas do estado, os casos agudo da doença em pessoas da classe média/alta tem sido detectado (BARBOSA et al., 2015; GONÇALVES et al., 1992). Os criadouros dos moluscos nas áreas litorâneas podem ser encontrados, principalmente ao redor das residências. No período chuvoso os criadouros transbordam causando aumento na infecção humana (BARBOSA et al., 2010, 2011; NETO et al., 2013; PAREDES et al., 2010).

Vários relatos na literatura apontaram que a esquistossomose chegou ao Brasil no período colonial trazidos pelos africanos escravizados, já infectados pelo *S. mansoni*, sendo detectado e descrito pela primeira vez pelo médico Augusto Pirajá da Silva, no estado da Bahia (KATZ, 2003). A expansão e a permanência da doença foram facilitadas pela migração de pessoas infectadas, devido ao desenvolvimento de novas atividades econômicas e a produção industrial, relacionada ao intenso processo de urbanização, precárias condições socioeconômicas, as dificuldades de acesso aos serviços da saúde, as más condições de tratamento da água e esgoto e a falta de educação a saúde, e além da dispersão dos moluscos vetores (MORAES et al., 2014; MASSARA, 2008; ARAUJO, 2004; RIBEIRO, 2004; KATZ, 2000; COIMBRA JUNIOR, 1984, 1994).

1.3 Ciclo biológico da esquistossomose

O ciclo da esquistossomose começa, com a eliminação das fezes, juntamente com ovos do parasito pelo indivíduo infectado, em local com água parada e pouco poluída. O desenvolvimento para sua forma larval depende da temperatura, intensidade da luz e da oxigenação. Na água ocorre a eclosão, liberando os miracidio, que em seguida penetram no molusco vetor, entre 24 a 48 horas. Após 3 a 5 dias transformam-se em cercárias no corpo do molusco. As cercárias são liberadas na água e nadam a procura do seu hospedeiro definitivo (Figura 2) (BARBOSA et al., 2012; CRISTINA et al, 2008; MS, 2005). As espécies *Biomphalaria* (glabrata, straminea, tenagophila) são hospedeiros do *Schistosomam* (INOBAYA et al., 2014; BARBOSA et al., 2012). A compatibilidade dos hospedeiros intermediários a diferentes linhagens do parasito e a sua distribuição geográfica contribui para o aumento dessa enfermidade (HAGAN, GRYSEELS, 1994).

FIGURA 2. Ciclo biológico da Esquistossomose



Fonte: <http://blogdoenem.com.br/enem-2013-esquistossomose/>

1.4 Aspectos Clínicos da esquistossomose

Na maioria das pessoas que habitam em áreas de maior endemismo, a infecção ocorre na infância. Em muitos casos isso passa de forma despercebida sem diagnóstico, devido a ausência de sintomas. A infecção por *S. mansoni* pode ocasionar manifestações clínicas distintas, dependente da idade do paciente, estado nutricional, localização do parasito, intensidade do parasitismo, o tipo de linhagem do parasito e resposta imune à infecção, além da reação do organismo do paciente a presença do ovo de *Schistosoma* (CASTRO, 2009; CARVALHO et al, 2008; KATZ; ALMEIDA, 2003; REY, 1991). Entretanto, a doença pode ser classificada em fase aguda ou crônica, sendo que a fase aguda se divide em duas fases distintas: fase pré-postural e a fase pós-postural. A fase pré-postural inicia-se com a penetração da cercária através da pele do hospedeiro definitivo, isso geralmente acontece nas primeiras semanas de infecção, tendo como quadro clínico, dermatite cercariana acompanhada de coceira e vermelhão (CASTRO, 2009; TORRES, 1976; BAROS, 1989; RASO; NEVES, 1965); ainda pode exibir sintomas, como febre, sudorese, cefaléia, dores musculares, cansaço, inapetência, emagrecimento, tosse e dor abdominal. A fase pós-postural começa com a postura do ovo no sistema porta-hepático, após a mobilização e maturação dos vermes. Os sintomas dessa fase incluem mal-estar, febre alta, náusea, cefaléia, anorexia, calafrios, tosse, sudorese, diarreia, emagrecimento, eosinofilia, leucocitose e hepatoesplenomegalia (CASTRO, 2009).

O início da fase crônica dá-se ao redor do sexto mês, caracterizada pelas quatro formas clínicas: intestinal, hepatointestinal, hepatoesplênica compensada e hepatoesplênica descompensada. O sintoma mais freqüente na forma intestinal é a diarreia, dor abdominal, inapetência e cansaço. A forma hepatointestinal apresenta sintomas semelhantes, as da forma intestinal, porém os sintomas se encontram mais acentuados. Nesta fase o fígado e o baço também apresentam volume aumentado denominado hepatoesplenomegalia. A forma hepatoesplênica confere a característica da doença, ou seja, é considerada a forma mais grave da esquistossomose mansônica (CASTRO, 2009; PORDEUS et al., 2008).

O fígado aumenta, devido a reação inflamatória granulomatosa, ocasionada pela mobilização de ovos do parasito nesse órgão (WARREN, 1972). A manifestação clínica da esquistossomose hepatoesplênica pode ser classificada em compensada e descompensada. A forma compensada exibe as manifestações, como hepatoesplenomegalia e fibrose hepática. Os indivíduos com a forma descompensada podem exibir um ou mais sinais ou sintomas a seguir: hipertensão portal, desenvolvimento de circulação colateral, hematêmese, ascite, varizes do estômago, anemia acentuada, desnutrição e quadro hiperesplenismo.

1.5 Controle da Esquistossomose

As principais estratégias utilizadas, nos programas nacionais e internacionais de controle á esquistossomose são: tratamento de pessoas infectadas pelo uso de quimioterapia em massa, por meio do praziquantel (PZQ); eliminação de moluscos hospedeiro intermediária pelo controle químico; prevenção de contaminação humana, educação e comunicação, saneamento básico e higiene (TLAMÇANI; ER- RAMI, 2014).

Atualmente o método utilizado para eliminação ou redução dos moluscos hospedeiros intermediários tem recebido mais atenção em todo mundo pelos programas de controle á esquistossomose. No entanto, os programas de controle da patologia, ainda continuam a dar mais atenção ao uso de quimioterapia em massa, utilizando praziquantel (PZQ) para reduzir o número de pessoas infectadas em todas as regiões endêmicas (OMS, 2006; GURARIE et al., 2015).

No Brasil, em 1975 foi elaborado o Programa Especial de Controle da Esquistossomose (PECE). Esse programa foi implantado e fez parte da principal estratégia da campanha da Superintendência de Campanha da Saúde Pública (SUCAM), que visava controlar a esquistossomose em todas as regiões endêmicas do país. Para execução do programa foram tomadas as seguintes medidas: realização de inquérito coproscópico e malacológico, feita para definir o perfil epidemiológico da doença.

Para medidas de tratamento dos doentes e controle da doença foi utilizado tratamento quimioterápico em grande parte da população. Para o controle dos moluscos vetores foi usado a niclosamida, moluscicida sintético, recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS). Medidas de saneamento básico e educação em saúde, além da vigilância epidemiológica e tratamento das novas incidências, foram medidas adotadas por este programa. Como resultados foram observados que mais de 12 milhões de tratamentos foram realizadas, constatando-se redução de número de portadores das formas graves e da taxa de mortalidade. Porém, foram encontradas dificuldade no processo seletivo para o tratamento dos doentes e também ocorreram muitos danos ambientais, relacionado à utilização da niclosamida, durante esta campanha da SUCAM. (BARBOSA; GOMES, 2008; ROLLEMBERG et al., 2011).

Em 1980, o PECE passa a fazer parte do programa regular do Ministério da Saúde. Com isso, o programa ganhou outra denominação, chamada de Programa de Controle da Esquistossomose-PCE (BARBOSA; GOMES, 2008). Os princípios do programa foram mantidos bem como a norma geral recomendada foi à realização do inquérito coproscópico em crianças na idade escolar (7 a 14) (AMARAL; PORTO, 1994). Com essa mudança, o PCE direcionou suas ações de controle á quimioterapia em massa, estimulando outros órgãos da saúde pública a participar no diagnóstico e

tratamento dos indivíduos infectados (Fundação Serviço Especial de Saúde Pública-FSESP, Instituto Nacional de Assistência Médica e Previdência Social-INAMPS e Secretária Estadual de Saúde) (CASTRO, 2009). Ambos os programas mostraram quedas na prevalência dessa endemia. No final da década de 90 o PCE começou a mostrar um impacto negativo na prevalência, devido às irregularidades encontradas no plano sistemático de tratamento quimioterápico da população alvo (FAVRE et al., 2001; BARBOSA; GOMES, 2008).

Com essas irregularidades do PCE, foi elaborado em 1996 o Programa de Sistema de Controle da Esquistossomose-SISPCE com propósito de controlar as atividades desenvolvidas pelo PCE. O sistema forneceu informações relacionadas às ações do PCE, em todos os municípios, além da utilização dos bancos de dados que ajuda a avaliar as situações epidemiológicas desses municípios. Sendo assim, o sistema gerou os seguintes dados: número de exames realizados, percentagens de positividade, carga parasitária, número de pessoas em tratamento e os que já estão tratados, quantidades e espécies de moluscos capturados. Esses dados gerados através do sistema foram fundamentais na busca dos indicadores, com o propósito de monitorar a extensão da endemia e fornecer informações que ajudaram no planejamento das ações de controle dessa moléstia (FAVRE et al, 2001; BARBOSA; GOMES, 2008).

Antes da descentralização das ações do controle da esquistossomose, a coordenação estadual do PCE responsabilizava-se da recolha de todos os dados enviados pelos municípios. Porém com a descentralização do programa, entre 1999 e 2000, a responsabilidade passou a ser dos municípios. A capacitação dos municípios passou a ser de responsabilidade das equipes estaduais. Todos os dados recolhidos pelos municípios eram direcionados à Gerência Técnica da Esquistossomose da Secretária de Vigilância Sanitária- MS (MS, 2005; FARIAS et al, 2007; BARBOSA; GOMES, 2008).

Apesar da sua existência por mais de uma década, o SISPCE não conseguiu direcionar as ações do PCE, partindo dos indicadores fornecidos pelo sistema, que era um dos seus principais objetivos. Os estudos realizados por Farias et al, (2007), analisando os dados relacionados ao Estado de Pernambuco, entre 1999- 2003, evidenciaram que havia uma discrepância dos dados do sistema com os do SISPCE para o ano 2001, onde também foi constatado falhas na digitação. Segundo Barbosa e Gomes (2008), os problemas enfrentados pelo PCE ao longo dos anos são as consequências de falta de adaptação ao processo de descentralização da saúde em vários níveis do governo, submetendo as normas da VIII Conferência Nacional de Saúde em 1986. Esse fato foi o marco na história da Reforma Sanitária Brasileira. Em 1991, foi reconhecido com o lançamento da primeira Norma Operacional Básica (NOB), que prescreveu as diretrizes para a criação do Sistema Único de Saúde (SUS). Ainda segundo esses autores, o principal objetivo da descentralização foi

transferir o poder público-administrativo concentrado no governo federal e estadual para os municípios, assegurando às necessidades da população na tomada de decisão do poder público.

O desenvolvimento das atenções básicas, conforme as proposições da Norma Operacional da Assistência à Saúde (NOAS, 2001) e com a presente divulgação de pacto pela saúde, 2001, deu-se a condição de colocar em dias as atividades do controle da esquistossomose nos municípios. Os municípios considerados endêmicos devem incorporar o Programa Pactuado Integral (PPI) como estratégia das ações da saúde a cumprir. Os PSFs com a presente política de atenção básica foram transformados, como estratégia para assegurar às atenções prestadas a população, sendo responsabilizados em desenvolverem as atividades do PCE, no que concerne o diagnóstico e tratamento das pessoas infectadas (MS, 2006; BARBOSA; GOMES, 2008).

Atualmente vários programas de controle as endemias têm recebido financiamento para o combate as doenças negligenciadas. De acordo com programa de enfrentamento - SANAR, que é um programa lançado em no segundo semestre de 2011 pela Secretária Estadual de Saúde do estado de Pernambuco, as doenças negligenciadas são causadas por diferentes agentes, sendo endêmicas em regiões com população mais empobrecida. Ainda possuem indicadores inacreditáveis, com investimento muito precário para pesquisa de medicamentos (Secretaria Estadual de saúde- Programa de Enfretamento das Doenças Negligenciadas do Estado de Pernambuco, 2013; WERNECK et al, 2011).

No Brasil, as doenças consideradas negligenciadas são: dengue, doença de chagas, esquistossomose, malária, tuberculose entre outras (MS, 2010). As estatísticas da OMS citado por MS (2010) e Virmond (2010) estima que mais de um milhão de pessoas estão infectadas com mais de uma das chamadas doenças negligenciada.

Em 2006, foi realizada a primeira oficina de prioridade em doenças negligenciada e o Programa de Pesquisa e Desenvolvimento em doença negligenciada no Brasil, em parceria com MS e Ministério de Ciência e Tecnologia (MS, 2010). Em 2008 foi realizada uma nova oficina, que visou o lançamento do edital temático na área, a Secretária de Vigilância em saúde do MS, também faz parte da parceria do programa, dando a sua contribuição no que concernem as definições das prioridades na área e para avaliação dos resultados das pesquisas financiadas (MS, 2010).

A Secretária Estadual de Saúde do estado de Pernambuco lançou em 2011 um programa específico de enfrentamento às doenças negligenciadas que tinha como objetivo reduzir ou eliminar as essas doenças até 2014. O programa SANAR foi lançado no primeiro semestre de 2011 com a proposta de implementar atividades de controle as doenças em 108 municípios prioritários. Entre todos os estados brasileiros, Pernambuco foi o primeiro estado a estabelecer um programa

específico contra essas doenças. Para Vigilância Epidemiológica foram investidos R\$ 5,6 milhões para fortalecer e capacitar as equipes de atenção básica à saúde, que ajudarão na identificação e manejo clínico adequado, ampliação de diagnóstico e a melhoria do acesso a tratamento e medicamento (Secretaria Estadual de saúde- Programa de Enfretamento das Doenças Negligenciadas do Estado de Pernambuco, 2013).

Dentre as doenças que fizeram parte do programa de enfrentamento estadual destacamos: tracoma, doença de chagas, hanseníase, filariose, esquistossomose, helmintíase e tuberculose. Atualmente esse combate está sendo realizado pela Secretária Estadual de Saúde (SES) em colaboração com os municípios, secretária de saúde e educação, Ministério de Saúde, Organização Pan- americana de saúde (Opas), OMS e entre outras parcerias (Secretaria Estadual de saúde- Programa de Enfretamento das Doenças Negligenciadas do Estado de Pernambuco, 2013).

1.6 Hospedeiros Intermediários

Como foi citada anteriormente a esquistossomose é uma helmintíase humana que utiliza o molusco como hospedeiro intermediário. O gênero *Schistosoma* é considerado gênero causador da doença, utilizando os moluscos do gênero *Biomphalaria*, *Bulinus* e *Oncomelania*, como hospedeiro intermediário. As espécies de *S. mansoni*, *S. haematobium* e *S. japonicum* são considerados os principais causadores da infecção humana (GRYSEELS et al., 2006; RASO et al., 2007; OMS, 2013, 2014; CANTANHED, 2008). Os gêneros *Oncomelania* e *Neutricula* são considerados hospedeiros intermediários para dois tipos de trematódeo, *S. japonicum* e *S. mekongi*, causadores de esquistossomose intestinal na Ásia. O gênero *S. Intercalatum*, possui como hospedeiro intermediário o gênero *Bulinus*, conhecido como causador da esquistossomose intestinal na África (BRASIL, 2008; MUNIZ 2007; SERAPIÃO et al., 2009; NALUGWA et al., 2010).

Na América latina, especialmente no Brasil, com maior endemicidade, o gênero *Biomphalaria* é o vetor da transmissão. Existem 10 espécies e uma subespécie do gênero *Biomphalaria* no território brasileiro, entre os quais somente três espécies são hospedeiros naturais do trematódeo *S. mansoni* são elas: *B. glabrata* (SAY, 1818), *B. tenagophila* (ORBIGNY, 1835), *B. straminea* (DUNKER, 1848) e os restantes são considerados espécies não hospedeiras, *B. amazonia* (PARAENSE, 1966), *B. peregrina* (ORBIGNY, 1835), e como hospedeiros potenciais e *B. intermédia* (PARAENSE & DESLANDES, 1962), *B. kuhniana* (CLESSIN, 1883), *B. schrammi* (CROSSE, 1864), *B. oligoza* (PARAENSE, 1975), *B. occidentalis* (PARAENSE, 1981) e *B. tenagophila guaibensis* (PARAENSE, 1984) (MS, 2007; CORRÊA; PARAENSE, 1971; PARAENSE; CORRÊA, 1973).

Entretanto, na região Nordeste, os moluscos hospedeiros intermediários amplamente encontrados são *B. glabrata* e *B. straminea* (BARBOZA et al., 2012; BARBOSA; GOMES, 2008).

A espécie *B. glabrata* é amplamente encontrada no Nordeste Brasileiro, entre os litorais de Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte e algumas região do Centro e Sul. Estes moluscos são hermafroditas, ou seja, capazes de se autofecundarem, vegetarianos, habitam coleções de água doce, preferencialmente em águas paradas e rasas, pouco poluídas como lagoas, lagos, poças, remansos de rio, riachos, canais de irrigação, plantação de arroz ou, em qualquer local alagado (BARBOSA; GOMES, 2008; ALMEIDA, 2010). Além dessas áreas, também possuem a capacidade de sobreviver em regiões, onde ocorrem secas sazonais, produzindo mecanismos de resistência à dessecação, ou seja, os moluscos permanecem em estado de estivação e ainda podem hospedar formas imaturas de *S. mansoni*. Quando as condições ambientais voltam a ser propícias, os moluscos saem da hibernação e se multiplicam rapidamente repovoando o criadouro, um único espécime é capaz de gerar mais de 10 milhões de descendentes. No Brasil, o *B. glabrata* é considerado o hospedeiro mais eficaz, devido a sua compatibilidade para diferentes linhagens do parasito, contribuindo pelo aumento de infecção do molusco, dando mais sobrevida e liberando mais cercárias (BARBOSA; GOMES, 2008).

O molusco *B. glabrata* adulto chega a medir de 30 a 40 mm, podendo conter de seis a sete giros, exibem prepúcio alongado com numerosos ventrículos e ramificações, vagina igual a uma bolsa (denominada bolsa vaginal) e dilatações nas laterais (BARBOSA; GOMES, 2008). Além disso, os moluscos apresentam uma crista renal, que confere característica taxonômica exclusiva do hospedeiro (PARAENSE; DESLANDES, 1955). Segundo Barbosa e Gomes (2008), a espécie *B. glabrata* também pode se reproduzir por fecundação cruzada, quando encontrados em grupos, geralmente, desovam a noite, principalmente em suportes sólidos. As desovas são cobertas por uma membrana gelatinosa, que recebe o nome de cápsula ovípara. O desenvolvimento embrionário ocorre durante o período de 7 a 9 dias, passando por diferentes fases larvais. (KAWANO, 1992).

Portanto uma das estratégias de combate á esquistossomose ocorre por meio da eliminação do molusco *B. glabrata*. Atualmente são utilizados Moluscidas químicos, que apresentam eficácia na eliminação ou redução das formas adultas e embrionárias dos moluscos, porém com baixa especificidade, danificando a fauna e flora do local de aplicação (CANTANHEDE et al, 2010; MCCULLOUGH et al., 1980). Sendo assim, vários produtos químicos originários de vegetais têm sido estudados no sentido de desenvolver substancias que visam combater os moluscos vetores da esquistossomose sem causar tantos efeitos ao ambiente aquático (CANTANHEDE et al, 2010; NASCIMENTO, 2006; MCCULLOUGH et al., 1980; MARSTON e HOSTETTMAN, 1985; CLARCK et al.,1994).

Figura 3: Foto do molusco da espécie *Biomphalaria glabrata* Say, 1818.



Fonte: www.xenophora.org

1.7 Moluscicidas

Moluscicidas são substâncias usadas para eliminação ou redução de moluscos encontrados em jardins, lavouras, estufas, campos e principalmente para controle e combate dos moluscos vetores de patologias (OMS, 1991; LEYTON et al., 2005; CANTANHEDE et al, 2010).

No controle e combate a esquistossomose vários métodos foram empregados para eliminar ou reduzir os moluscos *B. glabrata*, dentre os quais incluem o uso de moluscicida químicos (carbonato cúprico, niclosamida), agentes biológicos (*Thiara granifera*, *Marisa caruariatetus* e *Helisomaduryi*) e controle ambiental (BARBOSA; GOMES, 2008).

De acordo com a organização mundial de saúde os moluscicidas são classificados em moluscicida sintéticos e naturais (CANTANHEDE et al., 2010; OMS, 1991). Os Moluscicidas sintéticos são substâncias químicas, incluídos no programa de controle dos moluscos vetores para erradicação da esquistossomose, foram testadas em larga escala, estimando-se que mais de sete mil produtos químicos foram testadas, porém nem todos apresentaram eficácia para eliminação ou redução dos moluscos vetores, entretanto, dentre os quais podem ser citados, sulfato de cobre, gramaxone, hidróxido de cálcio, N- tritilmorfolina e a niclosamida (CANTANHEDE et al., 2010; REY, 2001; NEVES, 2005).

Atualmente, a niclosamida é o único moluscicida sintético preconizado pela OMS e comercialmente disponível. A niclosamida apresenta uma toxicidade muito alta, na concentração de 1mg/L, isto é, em oito horas elimina 100% dos moluscos adultos *B. glabrata* e *Bulinus* (CANTANHEDE et al., 2010; SELVA, 2010; NASCIMENTO, 2006; REY, 2001). A niclosamida, no entanto, apresenta desvantagens como baixa seletividade, custo elevado, dificultando sua

chegada em locais distantes, principalmente áreas rurais ou países em desenvolvimento, onde o foco é maior; além de algumas espécies de caramujos terem desenvolvido mecanismo de resistência a essa substância (CANTANHEDE et al., 2010; MCCLLOUGH et al., 1980; MARSTON; HOSTETTMANN, 1985).

No Brasil, o único moluscicida utilizado no programa de controle a essa endemia é o niclosamida, mas devido aos prejuízos ecológicos causados, atualmente o seu uso é recomendado somente em casos de extrema emergência. As desvantagens ou prejuízos causados por moluscicidas sintéticas têm aumentado o interesse e impulsionando estudos direcionados á moluscicidas de origem vegetal, facilmente biodegradáveis, com baixo custo e de fácil obtenção (BARBOSA; GOMES, 2008).

Os primeiros estudos direcionados as substâncias de origem vegetal como moluscicidas aconteceu em 1930, com a planta nativa do deserto do Sudão, denominada *Balaniteae gyptiaca* L, sendo recomendado o plantio dessa planta, nos arredores de um grande foco de transmissão. Os seus frutos ao caírem na água inibiam a densidade populacional dos caramujos (ARCHIBALD, 1933).

As primeiras pesquisas realizadas no Brasil sobre moluscicidas de origem vegetal foi com o extrato do caule de *Serjania spp* (cipó- timbó) e de *sapindus saponaria* L. (Sapindaceae) (saboneteira, sabão), demonstraram atividades frente ao molusco *B. glabrata* (PINTO e ALMEIDA, 1994). Logo, vários pesquisadores começaram a direcionar suas pesquisas em busca de moluscicidas naturais com as plantas regionais e hoje muitos projetos estão sendo desenvolvidos em laboratórios de pesquisas com perspectivas futuras da sua utilização no campo. (MENDES et al., 1999; LEYTON et al., 2005; BABILI et al., 2006).

A atividade moluscicidas da planta nativa da África do Sul, *Apoytes dimidiata*, apresentou a taxa de mortalidade de 50 a 90% em *Bulinus africanus* nas concentrações de 225 e 257 ppm. Os testes utilizados para avaliar a toxicidade aguda e subaguda em mamíferos, consideraram a planta tóxica e considera- se preliminarmente o extrato aquoso dessa planta viável e seguro da sua aplicação em campo (CLARK, 1994 e BRACKENBURY et al., 1997).

A avaliação do extrato aquoso das plantas chinesas, *Rheum palmatum* e *Rheum hupenis*, foram ativas, ou seja, apresentaram atividades moluscicida contra *B. glabrata*, *Oncomelania hupensis* e *Bulinus globosus* (LIU et al., 1997). Foram testadas ações de 66 espécies de plantas contra os adultos da *B. glabrata*, somente seis espécies apresentaram atividades moluscicida: *Achyrochne satureoide* (Lam) D.C., *Actinoseris angustifólia* (Gardin) (Carbr), *Alonia myriadenia*

Baker; *Piptocarpha rotundifolia* Baker; *vanillosmopsis erithropappa* Sch. Bip. e *Verbesina claussoni* Sch. Bip. (MENDES et al., 1999).

Lopes e colaboradores, (2011) testaram atividade do extrato hidroalcolico da folha de *Caryocar brasiliense* quanto ao seu potencial moluscicida, nas concentrações de 0,05; 0,10; 0,15 e 0,17 mg/mL. Observaram uma forte relação linear entre a concentração e a taxa de mortalidade, que alcançou a proporção de 100% na concentração de 0,17 mg/mL. Estes resultados demonstraram a presença de importantes metabólitos secundários nas folhas de *C. brasiliense* e o potencial desta planta para ser empregada como agente moluscicida.

Foram testados seis extratos brutos de Piperaceae em adultos e desovas de *B. glabrata*. Os extratos que apresentaram efeito tóxico em adultos foram *Peperomia trineura* a 100, 80 e 60 ppm e *Piper caldense* a 100, 80 e 50 ppm. Nas desovas os extratos que demonstraram efeito toxico foram *P. trineura* a 100, 80, 60 e 50 ppm, *Peperomia rubricaulis* a 100 e 80 ppm e *Piper caldense* a 100 ppm apenas para os estádios de blástula, gástrula, e trocófora. Este último extrato apresentou efeito tóxico a 80 ppm também para as fases de blástula e gástrula (TAKAHASHI et al., 2010).

Em Pernambuco, alguns trabalhos realizados por Figueiredo (2008) que mostrou a atividade embriotóxica do extrato aquoso de folha da *Indigofera suffruticosa* sobre embriões da *B. glabrata*, nas concentrações de 5 e 10 mg/mL no período de 24 e 48 horas. Sousa (2009), testou o extrato da casca do caule do *Ziziphus joazeiro* e *Anacardium ocidental* sobre embriões da *B. glabrata*, nas concentrações de 100, 200, e 400 ppm, nessas concentrações esses extratos, não apresentaram atividade moluscicida ou resultado estatisticamente significativo quando comparado com o grupo controle, com a exceção do extrato de *Z. Joazeiro* na concentração de 200 ppm, que apresentou maior toxicidade aos embriões da *B. glabrata*.

Sá (2013) realizou experimento com extrato bruto de *Anadenanthera colubrina* (Angico) sobre moluscos adultos e embriões de *B. glabrata* e *A. salina* em diferentes concentrações por 24; os moluscos expostos ao extrato de *A. colubrina*, nas concentrações de 125 e 250 ppm apresentaram frequência de mortalidade de 26,6 e 80%. Os caramujos expostos a concentração de 500 e 1000 ppm apresentaram 100% de mortalidade e, a DL₅₀ estimada para moluscos adultos expostos ao extrato foi de 155,24 ppm. Para atividade embriotóxica, foram observados, que as concentrações de 125, 250 e 500 ppm não apresentaram alterações na viabilidade embrionária. No entanto, as concentrações de 600, 700 e 1000 ppm foram altamente tóxicas aos embriões de *B. glabrata* apresentando 46,7, 50,7 e 100% de inviabilidade, respectivamente. Foram utilizadas as concentrações de 125, 250, 500 e 100 ppm para o bioensaio com *A. salina*, a mesma utilizada no teste com moluscos adultos de *B. glabrata*. A DL₅₀ estimada foi de 212,81 sendo a concentração de 125 ppm a menos tóxica ao meio ambiente.

Além dessas substâncias (sintética ou natural), existe outro tipo de controle, denominada controle biológico, onde os caramujos competidores são introduzidos no mesmo ambiente com moluscos vetores. Os caramujos competidores amplamente estudados são: *Thiara granifera*, *Marisa caruariatetus* e *Helisoma duryi* (BARBOSA; GOMES, 2008). No entanto, este tipo de controle não é mais recomendado desde década de oitenta, devido ao risco de criar um desequilíbrio ecológico.

1.8 Plantas Em Estudo

1.8.1 *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Aroeira-do-sertão)

Pertence à família Anacardiaceae, amplamente distribuída no Brasil, e segundo Lorenzi, (1992), essa espécie pode ser encontrada desde o Ceará até o Paraná e Mato Grosso do Sul, sendo amplamente encontrado na região Nordeste no bioma caatinga (NAPOLEÃO et al., 2011; ALBUQUERQUE e OLIVEIRA 2007; SOUZA et al., 2007). *M. urundeuva*, popularmente conhecida como aroeira-do-sertão é uma espécie de ampla distribuição geográfica podendo ser encontrada no México, Argentina, Bolívia e Paraguai. Nas zonas de transição do Cerrado-Floresta Estacional, Cerrado e Caatinga pode atingir entre 5 a 20 m de altura, enquanto que nas florestas pluviais pode alcançar até 35 metros de altura (AWEB, 2004; PACHECO et al., 2006). Apresenta madeira que possui resistência mecânica de múltiplo uso, sendo assim utilizado na construção civil, como viga, ripa, caibro e taco para assoalho (LORENZI, 1998; PACHECO et al., 2006). Além dessa utilização, *M. urundeuva* também possui propriedades medicinais. Na medicina popular é utilizada em condição ginecológica como medição pós-parto, além de relatos na literatura de sua atividade, no tratamento de hemorragias, infecção respiratórias, urinárias, distúrbio no sistema digestivo, efeito anti-inflamatório e cicatrizante (MATOS, 1999; RODRIGUES, 1999; ALBUQUERQUE et al., 2004). Outros estudos também apontam atividades dessa planta como analgésico, antibacterianas, anti-inflamatório, antiúlcera, antioxidante, antifúngico e repelentes de térmitas (NAPOLEÃO et al., 2011; BEMDAOUD et al., 2010).

As plantas medicinais possuem em sua composição substâncias químicas denominadas de metabolitos secundários, e essas substâncias são compostos chamados de fenólicos, alcaloides e terpenoides (EID et al., 2012).

Diferentes metabolitos secundários produzidos pelos vegetais superiores são responsáveis pela defesa natural da planta que se encontra sob estresses biótico e abiótico. Os compostos envolvidos nestes grupos de metabolitos são compostos nitrogenados como alcalóides, aminas, aminoácidos, glicosídeos cianogênicos, glicosinolatos, inibidores de proteases e lectinas e não nitrogenada (os terpenóides, saponinas, flavonóides, antocianinas, taninos, ácidos fenólicos, ligninas, lignanas e poliacetilenos) (RÊGO JUNIOR et al., 2011).

Segundo a literatura o extrato hidroalcolico das folhas de aroeira possui uma estabilidade e exibe facilidade de degradação devido a presença de galotaninos que são responsáveis por sua classificação como taninos hidrolisáveis (SOUZA, 2012).

Estudos realizados por Souza (2012), com extrato etanólico a 70% da casca e folha de aroeira, onde foram constatados os seguintes metabolitos secundários: o ácido gálico, galato de metila, galato de etila, ácido clorogênico e ácido protocatecuico. E o ácido gálico, galato de metila e etila são encontrados em maiores quantidades. Ainda esse autor realizou estudos com extratos hidroalcoólicos (Álcool etílico a 70%) da folha de *M. urundeuva*, demonstrou que os derivados de ácido fenólico são compostos majoritários nesta planta, principalmente os galotaninos que são polímeros de ácidos gálico com núcleo sacarídico (um núcleo formado por uma glicose ligado a moléculas de ácido gálico).

FIGURA 4 - Foto do espécime *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Aroeira- do- sertão).



Fonte: <http://www.umpedeque.com.br/arvore.php?id=645>

1.8.2 *Schinus terebinthifolius* Raddi (Aroeira de praia)

É uma planta nativa do semiárido brasileiro, conhecida e decantada na Região Nordeste, principalmente no bioma Caatinga. Pertence a família Anacardiaceae é popularmente conhecido como aroeira de praia. A espécie *S. terebinthifolius* é considerada uma planta nativa do Sul e Centro das Américas e também há relatos da sua distribuição em regiões tropicais e subtropicais da África e dos Estados Unidos (DVORKIN-CAMIEL, 2008; GUERRA et al., 2000; DEGASPARI et al., 2005; VIEIRA et al., 2015). Entre as regiões do Brasil, *S. terebinthifolius* encontra-se distribuído, na região Sul, Sudeste, Centro Oeste e Nordeste (ESTEVÃO et al., 2015).

S. terebinthifolius é uma angiosperma que ocorre em florestas pluviais, semidecidual de altitude e restinga, podendo alcançar entre 5 a 10 m de altura. Além desses locais, também pode ser encontrada na beira dos rios, córregos e em várzeas úmidas, e também há relatos que apontam o seu desenvolvimento em locais com solos pobres e secos. A sua madeira pode ser útil para produção de carvão e lenha e além do seu uso ornamental na arborização urbana e paisagismo. A estrutura da sua

casca é espessa, podendo ser utilizada no curtimento de couro e no fortalecimento da rede de pesca (LORENZI, 2008; SANTOS et al., 2012).

S. terebinthifolius também possui uma grande importância na medicina popular. Estudos etnofarmacológicos relatam que essa espécie contém propriedades medicinais como adstringente, e cicatrizante (BIAVATTI et al., 2007; SANTOS et al., 2012). No estado da Paraíba, concretamente no município de João Pessoa, os levantamentos etnobotânico mostram a utilização do *S. terebinthifolius* e de outras plantas medicinais, para o tratamento de afecções bucais da ingestão de sua infusão por pacientes de unidades odontológico do serviço público e privado, devido a sua atividade anti-inflamatória e cicatrizante, levando em consideração a difusão do conhecimento do uso popular de plantas medicinais (SANTOS, 2009; SANTOS et al., 2012).

Além das propriedades medicinais acima citadas, *S. terebinthifolius*, contém atividades antimicrobiana, antiúlcera, antisséptica e no tratamento de estomatites e ainda há outros estudos que apontam a utilização da folha de *S. terebinthifolius* em alguns países, no tratamento de doenças venéreas, inflamação do útero, infecção do trato urinário, feridas de pele, diarreias e úlceras gastrointestinais (FREIRES et al., 2011; MARTINEZ et al., 1996).

Até o momento, não há relatos na literatura sobre atividade tóxica ou moluscicida, tanto de *M. urundeuva* assim como de *S. terebinthifolius* frente aos moluscos de *B. glabrata*.

O processo de crescimento, desenvolvimento e reprodução dos organismos, não dependem diretamente dos metabolitos secundários que são compostos orgânicos encontrados principalmente em plantas, ou seja, a ausência desses metabolitos secundários não ocasiona a morte rápida das plantas, somente ao longo prazo. Porém, os metabolitos secundários possuem um papel relevante nas defesas das plantas frente à herbivoria e entre outras defesas (STAMP, 2003).

Segundo Santana e colaboradores (2012), schinol e ácido masticardienóico são principais metabolitos secundários encontrados em *S. terebinthifolius*. Porém, na literatura, relatos indicam que tanto a casca assim como a folha de *S. terebinthifolius* possui uma grande quantidade de taninos e óleo essencial, onde a presença dos taninos são responsáveis pela classificação de aroeira como uma planta tanífera. Portanto, além de schinol e ácido masticardienóico outros metabolitos também podem ser encontrados em *S. terebinthifolius* como terebinthona, o ácido hidoximasticardienóico, o ácido terebintifólico e o ácido ursólico (AMORIM; SANTOS, 2003). Estudos também mostraram a presença de ácido gálico e elágico e entre outros metabolitos secundários em casca e folha de *S. terebinthifolius* (DEGASPARI et al., 2005; CAVALHER-MACHADO et al., 2008; CARVALHO et al., 2009; EL-MASSAR et al., 2009).

FIGURA 5: Fotos do espécime *Schinus terebinthifolius* Reddi (Aroeira de praia)



Fonte: <http://sites.unicentro.br/wp/manejoflorestal/7976-2/>; bjaodesheng.com

1.9 Ensaio com *Artemia salina* (microcrustáceo)

A Ecotoxicologia estuda os efeitos deletérios dos poluentes ambientais sobre os organismos vivos ou ecossistema, levando em consideração a interação dos poluentes com o meio ambiente (BRETANO, 2006). Na ecotoxicologia o uso de reativos biológicos permite a detecção de substâncias mesmo em concentrações abaixo dos limites de detecção por método de análise química. Os ensaios ecotoxicológicos permitem de um modo geral realizar uma avaliação bastante segura do potencial tóxico das substâncias ou meio contaminado e também permite deduzir de forma indireta o risco para o meio ambiente. Sendo assim, para a preservação da biota aquática, os ensaios ecotoxicológicos, vêm sendo uma ferramenta muito importante para auxiliar nas tomadas de decisões (KNIE LOPES, 2004; BRETANO, 2006).

A busca de um bioensaio simples e rápido para avaliar a toxicidade de novos produtos naturais, despertou interesse na procura de novos testes. Os organismos simples têm sido frequentemente utilizados em bioensaio para o rápido monitoramento das respostas biológicas, onde podem ser avaliados os seguintes parâmetros: vivos e mortos. O teste da letalidade com organismos simples permite avaliar a toxicidade em geral, por isso, é essencial para revelar os compostos bioativos, sejam de produtos naturais e ou de produtos sintéticos. Um dos organismos utilizados para esse tipo de teste é *Artemia salina* (SIQUIRA et al., 1998; CAVALCANTE et al., 1999).

Artemia salina é um microcrustáceo marinho, utilizado para alimentação dos peixes, os seus ovos são de fácil obtenção, podem ser encontrados em lojas de aquaristas. O teste da letalidade com *A. salina* é um teste simples, rápido de baixo custo. Não requer técnicas assépticas, e pode ser realizado no próprio laboratório (SIQUIRA et al., 1998; CAVALCANTE et al., 1999). Esse teste é realizado para revelar os compostos bioativos em vegetais e também é utilizado para revelar

toxicidade de extratos com atividade moluscicida (RUIZ et al., 2005, APUD MAYER et al., 1982; NICK et al., 1995; OLIVEIRA-FILHO; PAUMGARTTEN, 2000; LIMA et al., 2002).

FIGURA 6: Foto do microcrustáceo da espécie *Artemia salina*.



Fonte: www.aquacare.de

2. REFERÊNCIA

ALBUQUERQUE, Ulysses Paulino; DE OLIVEIRA, Rosilane Ferreira. **Is the use-impact on native caatinga species in Brazil reduced by the high species richness of medicinal plants.** Journal of ethnopharmacology, v. 113, n. 1, p. 156-170, 2007.

ALBUQUERQUE, R. J. M.; RODRIGUES, L. V.; VIANA, G. S. B. **Análise clínica e morfológica da conjuntivite alérgica induzida por ovalbumina e tratada com chalcona em cobaias.** Acta Cirúrgica Brasileira, v. 19, n. 1, p. 43-68, 2004.

ALMEIDA, B. R. **Malacologia dos gêneros Lymnaea e Biomphalaria na mesorregião sul espírito-santense, e a avaliação de extratos de Melia azedarach, Azadirachta indica, e Cymbopogon winterianus como agentes moluscicidas.** Alegre, 2010. 171p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) Ciências Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2010.

AMARAL R. S., PORTO M. A. S. **Evolução e Situação Atual do Controle da Esquistossomose no Brasil.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 1994; 27: 73-90.

ARAUJO, K. C. G. M. **Distribuição especial de foco de esquistossomose através de sistemas de informações geográfica- SIG, ilha de Itamaracá, Pernambuco.** Dissertação do Mestrado em Saúde Pública – Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães – CpqAM, da Fundação Oswaldo Cruz, Recife 2004.

ARCHIBALD R. G. **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, 1933.

ASSAD, L. **Doenças Negligenciadas estão nos Países Pobres e em Desenvolvimento**. Ciência e Cultura. Vol.62 no1, São Paulo, 2010.

AULT, S. K. **Pan American Health Organization's Regional Strategic Framework for addressing neglected diseases in neglected populations in Latin America and the Caribbean**. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 102, p. 99-107, 2007.

AWEB. **Myracrodruon urundeuva Fr. All**. Disponível em: <http://www.alicesoftware.com/webs/trees/aweb/td001/td_00045.htm>. Acesso em: 26 ago. 2004.

BARBIERI, D. S., TONIAL, F., LOPEZ, P. V., MAIA, B. H. S., SANTOS, G. D., RIBAS, M. O., ... & VICENTE, V. A. **Antiadherent activity of Schinus terebinthifolius and Croton urucurana extracts on in vitro biofilm formation of Candida albicans and Streptococcus mutans**. *Archives of oral biology*, 59(9), 887-896, 2014.

BARBOSA, C. S. et al. **Current epidemiological status of schistosomiasis in the state of Pernambuco, Brazil**. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz v. 105, n. 4, p. 549–554 , 2010.

BARBOSA, C. S. et al. **Epidemiologia Da Esquistossomose No Litoral De Pernambuco**. Revista de Patologia Tropical v. 43, n. 4 , 15 jan. 2015. Disponível em: <<http://www.revistas.ufg.br/index.php/iptsp/article/view/33607>>. Acesso em: 22 set. 2015.

BARBOSA, C. S. et al. **The endemisation of schistosomiasis in Porto de Galinhas, Pernambuco, Brazil, 10 years after the first epidemic outbreak**. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz v. 106, n. 7, p. 878–883 , 2011.

BARBOSA, C. S.; GOMES, E. C. S. **Manual prático para controle e diagnostico da esquistossomose**. Editora Universitária, UFPE. Recife, 2008.

BARBOSA, C. S. et al. **Casos autoctones de esquistossomose mansônica em crianças de Recife, PE**. Revista de Saúde Pública v. 47, n. 4, p. 684–690, ago. 2013.

BARBOZA, D. M., ZHANG, C., SANTOS, N. C., SILVA, M. M. B. L., ROLLEMBERG, C. V. V., DE AMORIM, F. J. R., & DE JESUS, A. R. **Biomphalaria species distribution and its effect on human Schistosoma mansoni infection in an irrigated area used for rice cultivation in northeast Brazil**. *Geospatial health*, 6(3), 103-109, 2012.

BENDAOU, H. et al. **Chemical Composition and Anticancer and Antioxidant Activities of Schinus Molle L. and Schinus Terebinthifolius Raddi Berries Essential Oils**. Journal of Food Science v. 75, n. 6, p. C466–C472 , Agosto. 2010.

BLAVATTI, M. W., MARENSI, V., LEITE, S. N., REIS, A. **Ethnopharmacognostic survey on botanical compendia for potential cosmeceutic species from Atlantic Forest.** *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 17(4): 640-653, 2007.

JATSA, B. H. et al. **In Vitro Evaluation of *Sida pilosa* Retz (Malvaceae) Aqueous Extract and Derived Fractions on *Schistosoma mansoni*.** *Pharmacology & Pharmacy* v. 06, n. 08, p. 380–390 , 2015.

BRAZILIAN MINISTRY OF HEALTH, 2012. **Plano integrado de ações estratégicas de eliminação da hanseníase, filariose, esquistossomose e oncocercose como problema de saúde pública, tracoma como causa de cegueira e controle das geohelmintíases: plano de ação 2011–2015.** Brazilian Ministry of Health, Brasília. Available from: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/plano_integrado_acoes_estrategicas_2011_2015.pdf> (accessed January 20, 201).

BRACKENBURY, T. D.; APPLETON, C.C.; THURMAN, G. **Mammal toxicily assessment o f the plant molluscicide. *Apodyles dimidiara* (Icacinaceae) in South Africa.** *Acta Tropica*, 65: 155-162 1997.

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.

NERES, R. C. B. et al. **Caracterização epidemiológica dos casos de esquistossomose no município de Feira de Santana, Bahia–2003-2006.** *Revista Baiana de Saúde Pública* v. 35, p. 28 , 2011.

BRENTANO, D. M. **Desenvolvimento e aplicação do teste de toxicidade crónica com *Daphnia magna*: avaliação de efluentes tratados de um aterro sanitário.** [s. l. : s. n.], 2006.

CANTANHEDE, S. P. D. et al. **Atividade moluscicida de plantas: uma alternativa profilática.** *Revista Brasileira de Farmacognosia* v. 20, p. 282–6 , 2010.

CASTRO, A. K. S. **Avaliação clínica-epidemiológica da esquistossomose mansoni em Comercinho, MG (1981-2005).** Dissertação do Curso de Pós – Graduação em Medicina/Biomedicina. Belo Horizonte, fevereiro de 2009.

CHITSULO, L. et al. **The global status of schistosomiasis and its control.** *Acta tropica* v. 77, n. 1, p. 41–51 , 2000.

- CLARK, T. E. **Plant molluscicides for snail control in the South African context. Pietermaritzburg.** PhD Thesis, University of Natal. South África, 1994.
- COIMBRA JR., C. E. A.; SANTOS, R. V.; SMANIO-NETO, L. **Potencial endêmico da esquistossomose para o Estado de Rondônia, Brasil.** Revista de Saúde pública, n. 18, p. 510-5, 1984.
- LOPES, T. C. et al. **Avaliação Moluscicida e Perfil Fitoquímico das Folhas de Caryocar Brasiliense Camb.** Cadernos de Pesquisa v. 18, n. 3 , 2011. Disponível em: <<http://www.periodicoseletronicos.ufma.br/index.php/cadernosdepesquisa/article/view/641>>. Acesso em: 16 set. 2015.
- DEGASPARI, C. H., WASZCZYNSKYJ, N., PARDO, M. R. M. **Atividade antimicrobiana de Schinus terebentifolius Raddi.** Cienc Agrotec; 29 (3): 617–22, 2005.
- DOMINGUES, A. L. C.; DOMINGUES, L. A. W. **Esquistossomose mansonica.** Editora Universitária da UFPE, Capítulo 5: 91-109; 1994.
- DVORKIN-CAMIEL, L., & WHELAN, J. S. **Tropical american plants in the treatment of infectious diseases.** Journal of dietary supplements, 5(4), 349-372, 2008.
- ESTEVAO, L. R. M., MEDEIROS, J. P. D., SIMÕES, R. S., ARANTES, R. M. E., RACHID, M. A., SILVA, R. M. G. D., ... & EVÊNCIO-NETO, J. **Mast cell concentration and skin wound contraction in rats treated with Brazilian pepper essential oil (Schinus terebinthifolius Raddi).** Acta Cirurgica Brasileira, 30(4), 289-295, 2015.
- EL BABILI, F.; FABRE, N.; MOULIS, C., & FOURASTE, I. **Molluscicidal activity against Bulinus truncatus of Croton campestris.** Fitoterapia, 77(5), 384-387, 2006.
- FAVRE, T. C., PEREIRA, A. P. B., BECK, L. C., GALVÃO, A. F., & PIERI, O. S. **School-based and community-based actions for scaling-up diagnosis and treatment of schistosomiasis toward its elimination in an endemic area of Brazil.** Acta tropica, 2015.
- FAVRE, T. C., PIERI, O. S., BARBOSA, C. S., BECK, L. **Avaliação das Ações de Controle da Esquistossomose Implementadas entre 1977 E 1996 na Área Endêmica de Pernambuco, Brasil.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical; 36 (6) 569-576, 2001.
- FARIAS, L. M. M., RESENDE, A. P. C., SABROZA, P. C. SOUZA-SANTOS, R. **Análise Preliminar da Esquistossomose no período de 1999 a 2003.** Caderno de Saúde pública; 23 (1): 235-239, 2007.

- FERREIRA L. A., LIMA F. L., ANJOS M. R., COSTA J. M. L. **Forma tumoral encefálica esquistossomótica: apresentação de um caso tratado cirurgicamente.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 31: 89-93, 1998.
- GOMES, E. C. S. et al. **Risk analysis for occurrences of schistosomiasis in the coastal area of Porto de Galinhas, Pernambuco, Brazil.** BMC infectious diseases v. 14, n. 1, p. 101 , 2014.
- GOMES, E. C. S. et al. **Schistosomiasis transmission and environmental change: a spatio-temporal analysis in Porto de Galinhas, Pernambuco-Brazil.** International Journal of Health Geography v. 11, p. 51 , 2012.
- GONÇALVES JF, COUTINHO A, SANTANA W, BARBOSA CS. **Esquistossomose aguda de caráter episódico na Ilha de Itamaracá, PE.** Caderno da Saúde Pública 7: 424-425, 1992.
- GRYSEELS, B., POLMAN, K., CLERINX, J., KESTENS, L. **Human schistosomiasis.** Lancet 368, 1106–1118, 2006.
- GURARIE, D., YOON, N., LI, E., NDEFFO-MBAH, M., DURHAM, D., PHILLIPS, A. E.,... & KING, C. H. **Modelling control of Schistosoma haematobium infection: predictions of the long-term impact of mass drug administration in Africa.** Parasites & vectors, v. 8, n. 1, p. 1-14, 2015.
- KATZ, Naftale; PEIXOTO, Sérgio Viana. **Critical analysis of the estimated number of schistosomiasis mansoni carriers in Brazil.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical v. 33, n. 3, p. 303–308 , 2000.
- KATZ, N.; ALMEIDA, K. **Esquistossomose, xistosa, barriga d'água.** Revista Ciência e Cultura, v. 55, n. 1, p. 38-43, 2003.
- KAWANO, T. **The principal stages of the embryonic development of *Biomphalaria glabrata* (Mollusca, Planorbidae): Pratical guide.** Malacologia, 34: 33-40, 1992.
- KIROS, G. et al. **Laboratory assessment of molluscicidal and cercariacidal effects of *Glinus lotoides* fruits.** BMC research notes v. 7, n. 1, p. 220 , 2014.
- KNIE, J.L.W.; LOPES, E. W. B. **Testes ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações.** 20. ed. Florianópolis: Gráfica Coan, 2004. 289 p.
- LAMBERTUCCI, J. R. **Acute schistosomiasis mansoni: revisited and reconsidered.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz v. 105, n. 4, p. 422–435 , 2010.

- LEITE, E. J. **State-of-knowledge on Myracrodruon urundeuva Fr. Allemão (Anacardiaceae) for genetic conservation in Brazil.** Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics, v. 5, n. 3, p. 193-206, 2002.
- LEYTON, V., HENDERSON T. O., MASCARA, D. **Atividade moluscicida de princípios ativos de folhas de *Lycopersicon esculentum* (Solanales, Solanaceae) em *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda, Planorbidae).** Iheringia Ser Zool 95: 213-216; 2005.
- LINSUKE, S. et al. **High Prevalence of Schistosoma mansoni in Six Health Areas of – Kasansa Health Zone, Democratic Republic of the Congo: Short Report.** PLoS Neglected Tropical Diseases v. 8, n. 12, p. e 3387 , 18 dezembro. 2014.
- LIU, S.Y.; SPORER, F.; WINK, M.; JOURDANE, J.; HENNING, R.; LI, Y.L.: Ruppcl. **A Anthraquinones in *Rhectrn palmatum* and *Rumex deníatus* (Poivygonaceae). And phorbol esters in *Jatroplta curcas* (Euphorbiaceae) «with molluscicidal activity against the schistosome veclor snail *Oncomelania. Biomphalaria* and *Bulinus*.** Tropical Medicine /nl Health 2: 179-188. 1997.
- LOPES, T. C., GONÇALVES, J. D. R. S., SOUZA, N. S., MORAES, D. F. C., DO AMARAL, F. M. M., & ROSA, I. G. **avaliação moluscicida e perfil fitoquímico das folhas de caryocar brasiliense camb.** Cadernos de Pesquisa, 18(3), 2011.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil.** Vol. 1, 5ª edição. Nova Odessa, Instituto Plantarum, 2008.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil.** 2.ed. Nova Odessa: Plantarum, v. 1. 352p, 1998.
- MARSTON, A., HOSTETTMANN, K. Review article number 6: **Plants moluscicidas.** Phytochemistry 24: 639-652, 1985.
- MARTINS-MELO, F. R. et al. **Trends in schistosomiasis-related mortality in Brazil, 2000–2011.** International Journal for Parasitology v. 44, n. 14, p. 1055–1062 , dez. 2014.
- MARTINS, M. C. B. et al. **Usnic Acid Potassium Salt: An Alternative for the Control of *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818).** PLoS ONE v. 9, n. 11, p. e111102 , 6 nov. 2014.
- MARTINEZ, M. J., GONZALEZ, A. N., BADELL, B. J. **Actividad antimicrobiana del *Schinus terebenthifolius* Raddi (copal).** Revista Cubana de Plantas Medicinai.1(3):37-9, 1996.
- MATOS, F. J. A. **Plantas de medicina popular do Nordeste: propriedades atribuídas e confirmadas.** Fortaleza: Edições UFC, 80p, 1999.

MCCLLOUGH, F. S., GAYRAL, P., DUNCAN, J., CHRISTIE, J. D., 1980. **Molluscicides in schistosomiasis control**. *B World Health Organ* 58: 681-689, 1980.

MENDES, N. M.; QUEIROZ, R ; GRANDI, T. S. M.; ANJOS, A. M. G.;

OLIVEIRA, A. B.; ZANI, C. L. **Screening of Asteraceae" (Compositae) plant extracts for molluscicidal activity**. *Memoria do Instituto Oswaldo Cruz* 94:411-412. 1999.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Doenças Negligenciadas: Estratégia do Ministério da Saúde**. Departamento de Ciências e Tecnologia, Secretaria de Ciência, tecnologia e Insumos Estratégicos. *Revista da Saúde Pública*; 44 (1): 200-2, 2010.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Vigilância e Controle de Moluscos de Importância Epidemiológica**. Diretrizes técnicas: Programa de Vigilância e Controle de Esquistossomose (PCE). Secretária de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica – 2. Ed. – Brasília, Ministério da Saúde 2008.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. - (Ministério da Saúde). **Pacto pela Saúde**. Portaria Nº 399, de fevereiro de 2006.

MISTÉRIO DA SAÚDE. **Relatório de Atividades do Projeto de Vigilância e Monitoramento de Endemia do convênio entre ENSP/FIOCRUZ e SVS/MS**. Brasília: Secretária se Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde, 2005.

MONÉ, H. et al. **Human Schistosomiasis in the Economic Community of West African States**. *Advances in Parasitology*. [S.l.]: Elsevier, 2010. 71 v. p. 33–91. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0065308X10710010>>. Acesso em: 16 set. 2015. 978-0-12-381512-5.

MORAES, C. N. et al. **Correlação de Criadouros de Biomphalaria Sp., Hospedeiro do Schistosoma Mansoni, em Área de Baixa Infraestrutura Sanitária no Distrito de Mosqueiro, Belém, Pará**. *Hygeia* v. 10, n. 18, p. 216–233 , 2014.

MUNIZ, C. **Levantamento da malacofauna límnic e aspectos ecológicos de focos de esquistossomose em Ana Dias, Vale do Ribeira-SP**. Universidade de SP, Faculdade de Saúde Pública, 2007.

NALUGWA, A.; JØRGENSEN, A.; NYAKAANA, S.; KRISTENSEN, T. K. **Molecular phylogeny of *Bulinus* (Gastropoda: Planorbidae) reveals the presence of three species complexes in the Albertine Rift freshwater bodies**. *International Journal of Genetics and Molecular Biology*, 2(7), p. 130-139, 2010.

NASCIMENTO, C. A. A., ARÉVALO, E., AFONSO-NETO, I. S., BESSA, E. C. A., & SOARES, G. L. G. **Efeito do extrato aquoso de folhas de *Allamanda cathartica* L.(Apocynaceae) sobre *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821)(Mollusca, Bradybaenidae) em condições de laboratório.** Revista Brasileira de Zoociência, 8(1), 77-82. 2006.

NETO, O. B. L. et al. **Análise espacial dos casos humanos de esquistossomose em uma comunidade horticultora da Zona da Mata de Pernambuco, Brasil.** Revista Brasileira de Epidemiologia v. 15, n. 4, p. 771–80 , 2012.

NETO, L. et al. **Biological and environmental factors associated with risk of schistosomiasis mansoni transmission in Porto de Galinhas, Pernambuco State, Brazil.** Cadernos de Saúde Pública v. 29, n. 2, p. 357–367 , 2013.

NORMA OPERACIONAL DA ASSISTÊNCIA À SAÚDE/SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE (NOAS/SUS). Portaria Nº 95 de 26 de janeiro de 2001.

ORGANIZAÇÃO MONDIALE DE LA SANTÉ (OMS). **Lutte contre les helminthiases chez les enfants d'âge scolaire.** Guia à l'intention des Responsáveis des programas de De Lutte Deuxième, 2011.

OMS - Organização Mundial da Saúde. **Weekly epidemiological record** nº 9, 2011;86: 73-80 2011.

PACHECO, M. V., MATOS, V. P., FERREIRA, R. L. C., FELICIANO, A. L. P., & PINTO, K. M. S. **Efeito de temperaturas e substratos na germinação de sementes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All.(Anacardiaceae).** Revista Árvore, 30(3), 359-367, 2006.

PAREDES, H. et al. **Spatial pattern, water use and risk levels associated with the transmission of schistosomiasis on the north coast of Pernambuco, Brazil.** Cadernos de Saúde Pública v. 26, n. 5, p. 1013–1023 , 2010.

PARAENSE, W. L. **Autofecundação e fecundação cruzada em *Australorbis glabratus*.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 53: 277-284 1972.

PARAENSE, W. L.; DESLANDES, N. **Observations on the morfology of *Australorbis glabratus*.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 53, n. 1, p. 52-77, 1955.

Pernambuco. Secretaria Estadual de Saúde. Secretaria Executiva de Vigilância em Saúde. **Programa de Enfretamento das Doenças Negligenciadas no Estado de Pernambuco SANAR – 2011 / 2014 / Secretaria Estadual de Saúde.** Secretaria Executiva de Vigilância em Saúde – Recife : Secretaria Estadual de Saúde, 2013.

- PINTO, H. A.; MATI, V. L. T.; MELO, A. L. **The Pampulha reservoir remains a potential urban focus of schistosomiasis mansoni in Brazil: changes in the occurrence patterns of Biomphalaria species and a new record of the parasite.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical v. 46, n. 4, p. 478–483 , 8 ago. 2013.
- PINTO, C., ALMEIDA, A. F.. **Um novo método para a profilaxia da esquistossomose mansoni.** Memória do Instituto Oswaldo Cruz 40: 291-311 1994.
- POSSAS, C. **Epidemiologia e Sociedade heterogeneidade Estrutural e Saúde no Brasil.** São Paulo, Hucitec, 1986.
- RAGHAVAN, N. **Comparative gene analysis of Biomphalaria glabrata hemocytes pre-and post-exposure to miracidia of Shistosoma mansoni.** Molecular and Biochemical Parasitology 126: 181-191, 2003.
- RASO, G., VOUNATSOU, P., MCMANUS, D.P., N'GORAN, E.K., UTZINGER, J. **A Bayesian approach to estimate the age-specific prevalence of Schistosoma mansoni and implications for schistosomiasis control.** International Journal for Parasitology v. 37, n. 13, p. 1491–1500 , nov. 2007.
- REY, L. **Parasitologia: parasitos e doenças parasitárias do homem nas Américas e na África.** Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S. A., 2011.
- RODRIGUES, L. V. **Análise morfológica e morfométrica da colite induzida por ácido acético, em ratos, e tratada com extratos vegetais (Myracrodruon urundeuva Fr. All.).** 50f. Tese (Doutorado em Técnica Operatória e Cirurgia Experimental) – Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 1999.
- ROLLEMBERG, C. V. V. et al. **Aspectos epidemiológicos e distribuição geográfica da esquistossomose e geo-helminthos, no Estado de Sergipe, de acordo com os dados do Programa de Controle da Esquistossomose.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical v. 44, p. 91–96 , 2011.
- SÀ, J. L. F. **Avaliação da Atividade Moluscicida de Extrato Bruto da Casca da Anadenanthera colubrina (Angico) sobre Biomphalaria glabrata.** Monografia de conclusão do curso de Biomedicina- UFPE, Recife, Maio/2013.
- SANTOS, M. L. V. D. S., MAGALHÃES, O. M. C. O., & MOTTA, C. M. D. S. C. **Potencial antifúngico de fungos endofíticos isolados de folíolos de aroeira-da-praia (schinus terebinthifolius raddi).** [s. l.: s. n.], 2012.

- SANTOS, A. F., CAVADA, B. S., DA ROCHA, B. A. M., DO NASCIMENTO, K. S., & SANT'ANA, A. E. G. **Toxicity of some glucose/mannose-binding lectins to *Biomphalaria glabrata* and *Artemia salina***. *Bioresource technology*, 101(2), 794-798, 2010.
- SANTOS, E. B., DANTAS, G. S., SANTOS, H. B., DINIZ, M. F. F. M., SAMPAIO, F. C. **Estudo etnobotânico de plantas medicinais para problemas bucais no município de João Pessoa, Brasil**. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 19(1B): 321-324. 2009.
- SANTOS, O. C.; COELHO, P. M. Z.; LENZI, H. L. **Schistosoma mansoni & Esquistossomose: uma visão multidisciplinar**. SciELO-Editora FIOCRUZ, 2008.
- SCHOLTE, R. G. C. et al. **Predictive risk mapping of schistosomiasis in Brazil using Bayesian geostatistical models**. *Acta Tropica* v. 132, p. 57–63, Abril. 2014.
- SELVA, T. M. G. **Estudos Eletroquímicos da Lausona (2-hidroxi-1, 4-Naftoquinona) e derivados da 1, 4-Naftoquinona com atividade moluscicida** (Doctoral dissertation, Dissertação de Mestrado-Universidade Federal Rural de Pernambuco), 2010.
- SERAPIÃO, M. S.; SERAPIÃO, C.; KISS, A.; APPEL, H. **Diagnóstico intraoperatório de esquistossomose mansônica cerebelar pseudotumoral**. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial* 45(1), p. 69-73, 2009.
- STEINMANN, P. **Epidemiology and diagnosis of“ Schistosoma japonicum”, other helminth infections and multiparasitism in Yunnan province, People’s Republic of China**. University_of_Basel, 2008. Disponível em: <<http://edoc.unibas.ch/736/>>. Acesso em: 22 set. 2015.
- SILVA, K. E. R. et al. **Alternativas terapêuticas no combate à esquistossomose mansônica**. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada* v. 33, n. 1, p. 9–16 , 2012.
- SILVA, P. C. V.; DOMINGUES, A. L. C. **Aspectos epidemiológicos da esquistossomose hepatoesplênica no Estado de Pernambuco, Brasil**. *Epidemiologia e Serviços de Saúde* v. 20, n. 3, p. 327–336 , set. 2011.
- SILVA, C. L. P. A. C. et al. **Ação moluscicida de Moringa oleifera LAM sobre o molusco *Biomphalaria glabrata* (SAY, 1818) hospedeiro intermediário do *Schistosoma mansoni* (SAMBON, 1907) e efeitos ecotoxicológicos em organismos aquáticos não alvo**. [s. l.: s. n.], 2013.
- SOUZA, S. M. C. et al. **Antiinflammatory and antiulcer properties of tannins from *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) in rodents**. *Phytotherapy Research*, v. 21, n. 3, p. 220-225, 2007.

TAKAHASHI, F. Y., EDUARDO, J. M., KAWANO, T., KATO, M. J., & OHLWEILLER, F. P. **Efeitos de Extratos de Piperaceae em Biomphalaria Glabrata (Mollusca: Planorbidae).** Revista Saúde-UnG, 4(1 Esp), 66, 2010.

TLAMÇANI, Z, & ER-RAMI, M. **Schistosomiasis control: moroccan experience compared to other endemic countries.** Asian Pacific Journal of Tropical Disease, v. 4, n. 4, p. 329-332, 2014.

VIEIRA, M. N., COSTA, F. N., LEITÃO, G. G., GARRARD, I., HEWITSON, P., IGNATOVA, S., ... & JERZ, G. **Schinus terebinthifolius scale-up countercurrent chromatography (Part I): High performance countercurrent chromatography fractionation of triterpene acids with off-line detection using atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry.** Journal of Chromatography A, 1389, 39-48, 2015.

VIRMOND, M. C. L. **Pesquisa em Doenças Negligenciadas: Um Desafio Presente.** Salusvita. Vol.29 no3, Editorial negle 2010.

WAGNER, Hildebert; BLADT, Sabine. **Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas.** Springer Science & Business Media, 1996.

WERNECK, G. L., HASSELMANN, M. H., & GOUVÊA, T. G. **Panorama dos estudos sobre nutrição e doenças negligenciadas no Brasil.** Ciência da Saúde Coletiva, v. 16, n. 1, p. 39-62, 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, **Schistosomiasis.** Fact sheet 115. World Health Organization, Geneva, 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Sustaining the drive to overcome the global impact of neglected tropical diseases.** Second WHO report on neglected tropical diseases. World Health Organization, Geneva 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Schistosomiasis.** Fact sheet 115. World Health Organization, Geneva, 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Preventive chemotherapy in human helminthiasis: coordinated use of anthelmintic drugs in control interventions: a manual for health professionals and programme managers.** Geneva: World Health Organization; 2006.

www.portal.saude.pe.gov.br/programas-e-acoas/controle-de-doencas/projeto-sanar-doencas-negligenciadas

www.abc.org.br/rubrique.php3?id_rubrique=92

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

- Investigar a atividade moluscicida de extratos brutos e frações enriquecidas. *Myracrodruon urundeuva* Allemão e *Schinus terebinthifolius*

3.2. Específicos

- Determinar qualitativamente e quantitativamente, o perfil cromatográfico de *M. urundeuva* e *S. terebinthifolius* por meio de CCD e HPLC.
- Avaliar atividade moluscicida do extrato bruto e enriquecido da *M. urundeuva* e *S. terebinthifolius* sobre embriões e moluscos adultos de *B. glabrata*;
- Avaliar a toxicidade ambiental dos extratos bruto e enriquecido por meio do bioensaio com *Artemia salina*;

4. ARTIGOS

Artigo: Molluscicidal and Cercaricidal Action of the Crude Extract and Ethyl Acetate Fraction of *Myracrodruon urundeuva* Allemão and *Schinus terebinthifolia* Raddi.



Artigo a ser submetido ao periódico *International Journal for Parasitology*- (IJP) no formato *Original Research Article* (FI: 4.242; QUALIS CB II: A2).

Molluscicidal and Cercaricidal Action of the Crude Extract and Ethyl Acetate Fraction of *Myracrodruon urundeuva* Allemao and *Schinus terebinthifolia* Raddi

José L.F. Sá ^{a,b}, Hianna A.M.F. Silva ^{a,b}, Williams N. Siqueira ^{b*}, Isabelle C.F. Bezerra ^c, Júlia A.L. Souza ^c, Magda R.A. Ferreira ^c, Patrícia M.G. Paiva ^a, André L. Aires ^{d,e}, Mônica C.P.A. Albuquerque ^{d,e}, Luíz A.L. Soares ^c, Márcia V. Silva ^a, Ana M.M.A. Melo ^b, Maria T.S. Correia ^a

^a Biosciences Center, Biochemistry Department, Federal University of Pernambuco (UFPE), Pernambuco, Brazil;

^b Biosciences Center, Biophysics and Radiobiology Department, UFPE, Pernambuco, Brazil

^c Pharmacognosy Laboratory, Department of Pharmaceutical Sciences, UFPE, Pernambuco, Brazil

^d Laboratory of Immunopathology Keizo Asami (LIKA), UFPE, Pernambuco, Brazil

^e Department of Tropical Medicine, UFPE, Pernambuco, Brazil

*Author for Correspondence

Laboratório de Glicoproteína, Departamento de Bioquímica, Centro de Biociência, Universidade Federal de Pernambuco. Avenida Professor Moraes Rego, s/n, B. Cidade Universitária, CEP 50670-420, Recife-Pernambuco, Brazil. +55 (81) 2126-8541, +55 (81) 2126-8540 (extension), e-mail: mtscorreia@gmail.com.

Abstract

Schistosomiasis affects more than 239 million people worldwide, having as its main intermediate host the mollusk *Biomphalaria glabrata*. For the control of vector mollusks, the World Health Organization recommends the use of synthetic niclosamide molluscicides. However, this substance causes toxicity to non-target organisms, in addition to being expensive. Therefore, studies have been directed to the search for new compounds of natural products with molluscicidal potential, which would have lower cost and environmental impact. Species of the Anacardiaceae family have presented promising results in the fight against the snail schistosomiasis vector, however many studies still need to be performed. In this context, one can find the species *Myracrodruon urundeuva* and *Schinus terebinthifolia*, popularly known as aroeira-do-sertão and aroeira-da-praia, respectively, and widely found in the Caatinga biome. Considering these aspects, the objective of this work was to evaluate the molluscicidal activity of the crude extracts and ethyl acetate fractions of the leaves of *M. urundeuva* and the bark of *S. terebinthifolia*. The crude extracts (CE) were obtained in the following proportion: 10% drug: solvent (w/v) using 70% acetone: water (v/v). Subsequently, the CE was diluted in water and partitioned with ethyl acetate to obtain the ethyl acetate fraction (EAF). Molluscicidal assays were performed with embryos and adults of *B. glabrata*, exposed for 24 hours at different concentrations of CE (50-200 µg/mL) and EAF (25-100 µg/mL) from both species. The test with *Artemia salina* and the cercaricidal activity used the same concentrations mentioned above. Molluscicidal activity of CE was obtained from 25 and 100 µg/mL, while for EAF, it was from 50 and 100 µg/mL. The extracts were non-toxic to cercariae, embryos and *A. salina*. Extracts from the leaves of *M. urundeuva* and bark of *S. terebinthifolia* were found to be viable as molluscicides of plant origin at concentrations of 150 and 100 µg/mL, respectively.

Keywords: *Artemia salina*; *Biomphalaria glabrata*; Cercaricidal; Molluscicide; *Myracrodruon urundeuva*; *Schinus terebinthifolia*.

1. Introduction

Schistosomiasis is a parasitic disease that affects more than 239 million people in the world, while approximately 779 million live in areas of risk, distributed in 78 countries between Asia, Africa, America and the Middle East (Lima et al., 2014; Utzinger et al., 2009). In Latin America, Brazil is considered the country most affected by this disease, where about 30 million people live in places at risk of contamination and approximately 8 million are infected with parasitosis (Gomes et al., 2014; Lambertucci, 2010). In the state of Pernambuco, 46 municipalities along the coast (*Zona da Mata*) were mapped where the prevalence of schistosomiasis varied from 5 to 70% (Barbosa et al., 2015; Gomes et al., 2012). For the control of schistosomiasis in Brazil, a program of control of schistosomiasis through PECE (Special Control Program for Schistosomiasis) was launched in 1975 by the Superintendence of Public Health Campaigns (SUCAM) -Ministry of Health (MS). This program directed its activities towards the treatment of infected person in large scale, control of mollusks vectors of schistosomiasis in smaller scale and basic sanitation of sporadic (Sarvel et al., 2011). One of the strategies to combat the disease is through the control of snails, using chemical molluscicides. It is estimated that more than 7,000 products have been tested, with niclosamide being the only synthetic substance recommended by ANVISA and WHO which is available commercially. However, this molluscicide does not have a sustainable effect, due to its negative environmental impact on aquatic ecosystems and the resistance of some mollusks, in addition to the high cost involved in its application (Rapado et al., 2013; Rey, 2011; Paraense, 2001). For these reasons, research has been stimulated with substances of natural origin.

The species *Myracrodruon urundeuva* Allemão and *Schinus terebinthifolia* Raddi belong to the Anacardiaceae family and are popularly known as *aroeira-do-sertão* and *aroeira-da-praia*, respectively. They are widely distributed in Brazil, being found in the Caatinga biome. These species have biological activities already described in the literature, among them analgesic, antibacterial, anti-inflammatory, anti-ulcer, anti-oxidant, antifungal and termite repellent (Barbieri

et al., 2014; Napoleão et al., 2011; Bendaoud et al., 2010; Alboquerque and Oliveira 2007; Souza et al., 2007). However, to date there are no reports in the literature of its activities against schistosomiasis vectors and cercariae of *Schistosoma mansoni*.

Considering the aspects mentioned above, the objective of this work was to investigate the molluscicidal and cercaricidal action of the crude extract (CE) and ethyl acetate fraction (EAF) of the leaves of *Myracrodruon urundeuva* Allemão and the bark of *Schinus terebinthifolia* Raddi on *Biomphalaria glabrata* mollusks and *Schistosoma mansoni* cercariae.

2. Materials and methods

2.1. Material collection

Leaves of *Myracrodruon urundeuva* were collected in the Catimbau National Park in the Agreste region of the state of Pernambuco and bark of *Schinus terebinthifolia* was collected in Recife-PE, in the Boa Viagem neighborhood (Apac, 2013). The collected material was dried in a convection oven (40-45 °C) for three days. The material was collected and processed according to the usual taxonomic techniques (Mori et al., 1989) and deposited in the Herbarium of the Agronomic Institute of Pernambuco under the record numbers *Myracrodruon urundeuva* 84.059 and *Schinus terebinthifolia* 86.681.

2.2. Preparation of crude extracts and fractions

The plant materials constituted by *Schinus terebinthifolia* bark and *Myracrodruon urundeuva* leaves were extracted by turbo extraction using the proportion drug: solvent (10%, w/v) and acetone: water (70%, v/v) as extraction liquid for 20 minutes (4 cycles of 30 seconds and intervals of 4 minutes). Then, the solution was filtered and concentrated in a rotary evaporator (RV10 Basic, IKA®) under reduced pressure, frozen and lyophilized (L101, Liotop®). The resulting CEs of both species (*Myracrodruon urundeuva* and *Schinus terebinthifolia*) were solubilized in distilled water at a

proportion 10% (w/v) and then the solution obtained was partitioned 6 times with ethyl acetate (Bueno et al., 2012). The resulting fractions were pooled, concentrated in a rotary evaporator and then frozen and lyophilized, resulting in the aqueous and ethyl acetate fractions (EAF). The extracts were kept in desiccators until use in the bioassays.

To evaluate toxicity, preliminary tests were performed, where only CE and EAF had an effect on *B. glabrata* snails.

2.3. Phytochemical evaluation of *Myracrodruon urundeuva* and *Schinus terebinthifolia*

For Thin Layer Chromatography analysis, silica gel 60 F₂₅₄ (Merck®) aluminum plates with a size of 20 x 20 cm and 0.2 mm thickness were used. The mobile and revealing phases used to identify the main classes of metabolites (tannins, flavonoids, sugars, saponins, steroids and terpenoids) were established by Wagner and Bladt (1996).

2.4. Determination of total phenols content

Stock solutions of the CE and EAF of both species were prepared resulting in aqueous solutions with a 2 mg/mL concentration. Subsequently, 200 µL of stock solutions were transferred to 25 mL volumetric flasks, containing 10 mL of distilled water and 1 mL of Folin-Ciocalteu reagent. The volume was adjusted with 10.75% (w/v) anhydrous sodium carbonate solution. Fifteen minutes after the addition of the carbonate solution, the samples were read in a spectrophotometer (AJX-1900; Micronal®) at a wavelength of 760 nm, using distilled water as the compensation liquid (Brasil, 2010; Alves et al., 2015). The analyses were performed in triplicate and the results were expressed as g% of pyrogallol, as means, standard deviations and relative standard deviations.

2.5. Qualitative and quantitative analysis by HPLC

For the analysis by High Performance Liquid Chromatography (HPLC), stock solutions of the crude extracts and fractions were prepared of *Myracrodruon urundeuva* and *Schinus terebinthifolia* and

standards of gallic acid (Vetec[®], 98% purity), ellagic acid (Sigma[®], >95% purity) and catechin (Sigma[®], 98% purity). The solutions were prepared in ultrapure water (Purelab Classic UV, Elga[®]) and filtered through 0.45 µm PVDF membranes.

The analyses were performed in a liquid chromatography (Ultimate 3000, Thermo Fisher Scientific[®]) coupled to a photodiode array detector (DAD; Thermo Fisher Scientific[®]), equipped with a binary pump with degasser and automatic sampler equipped with a 20 µL loop. Chromeleon 6.0 software (Dionex, Thermo Fisher Scientific[®]) was used for data analysis and processing. The stationary phase was composed of a Dionex[®] C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 µm) equipped with a pre-column (C₁₈, 4 mm × 3.9 µm, Phenomenex[®]). The mobile phase was composed of water (A) and methanol (B), both acidified with trifluoroacetic acid (0.05%). The elution was performed in a gradient mode: 0–10 min, 12.5–25% B; 10–17 min, 25–40% B; 17–25 min, 40–70% B; 35–37 min, 75% B; 37–38 min, 75–10% B. The flow rate was 0.8 mL/min and the injection volume was 20 µL. Detection was performed at 254, 270 and 280 nm, determined according to the maxima observed in the peak spectra of the standards and samples.

The compounds were identified in the samples by comparing the retention times (*t_R*) of the standards and the corresponding peaks present in the CEs and EAFs. The levels of gallic acid, ellagic acid and/or catechin were calculated from the following equation:

$$\frac{C_s \times SA}{A_s \times M} \times DF \times 100$$

Where *C_s* = concentration of the standard in g/mL (purity of the standard); *A_s* = area of the standard; *SA* = sample area; *M* = sample mass; *DF* = dilution factor.

2.6. Bioassays

2.6.1. Molluscicidal activity in adult mollusks of *B. glabrata*

Young adult, pigmented mollusks of the species *B. glabrata*, with a shell diameter between 10 and 14 mm, were obtained from the molluscary of the Department of Biophysics and Radiobiology of the Biosciences Center of the Federal University of Pernambuco. Specimens were separated into

groups of 5 individuals and packed in containers containing 60 mL of aqueous solution of CE and EAF from the leaves of *M. urundeuva* and bark of *S. terebinthifolia*. For the crude extracts, concentrations of 50, 100, 150, 200 µg/mL were used, while 25, 50, 75 and 100 µg/mL were used for the fraction (EAF). The solutions were obtained with the aid of DMSO (0.5%). For the negative control, a group was exposed to filtered water and 0.5% DMSO, while for the positive control, a solution of niclosamide at 1 µg/mL (Bayluscide, Bayer) was used. The exposure time was 24 hours and the criteria for evaluation of mollusk mortality were the following: immobility, hemolymph release, retraction of the snail into the shell and absence of heart beats. All experiments were performed in triplicate (WHO, 1965).

2.6.2. Embryotoxicity

Pigmented embryos of *B. glabrata* were obtained from the molluscary of the Department of Biophysics and Radiobiology of the Biosciences Center of the Federal University of Pernambuco. The collected embryos were analyzed for viability (KAWANO et al., 1992), separated into groups and exposed to *M. urundeuva* and *S. terebinthifolia* CEs (50, 100, 150 and 200 µg/mL) and EAFs (25, 50, 75 and 100 µg/mL). For the negative control, a solution of 0.5% DMSO was used, while for the positive control, niclosamide was used at a concentration of 1 µg/mL. Each group consisted of approximately 100 embryos and after 24 hours of exposure the following parameters were analyzed: frequency of viability (hatching) and inviability (dead and malformed). The experiments were performed in triplicate.

2.6.3. Cercaricidal activity

For the cercaricidal assay, approximately 100 cercariae suspended in distilled water were placed in a glass container and exposed to 2 mL of CE (50, 100 and 200 µg/mL) and EAF solutions (50, 75 and 100 µg/mL) of *M. urundeuva* and *S. terebinthifolia*. The negative control was DMSO (0.5%) and distilled water. The positive control was composed of niclosamide (Bayluscide, Bayer) at a

concentration of 1 µg/mL. Observational time intervals were 15, 30, 60 and 120 minutes after exposure to the CE and EAF of *M. urundeuva* and *S. terebinthifolia*. The viability analysis of cercariae was carried out using a stereoscopic microscope (Wild M3B, Heerbrugg, Switzerland). The evaluation parameters were the following: complete elimination of cercariae (+++); elimination of more than 50% of cercariae (++); elimination of less than 50% of cercariae (+) and absence of lethality (-). The bioassay was performed in triplicate (Santos, 2007).

2.6.4. Test with *Artemia salina*

The eggs of *Artemia salina* were placed in a container with sea water for 48 hours, with aeration and a temperature of 25 °C. After hatching, 10 larvae of *A. salina* were collected and placed in 5 mL test-tubes with CE at concentrations of 50, 100, 150 and 200 µg/mL and EAF at concentrations of 25, 50, 75 and 100 µg/mL. The negative control was done with a solution of 0.5% DMSO and filtered water. The positive control was performed with niclosamide. Larval survival was evaluated after 24 hour of exposure (Meyer, 1982). The assays were performed in quadruplicate.

2.7. Statistical analysis

The results were analyzed using analysis of variance (ANOVA) and the Newman-keuls statistical test ($p < 0.05$) using GraphPad Prism 5.0 software. The calculation of lethal concentrations was performed by the probit method through the StatPlus v.5 program.

3. Results

3.1. Phytochemical profile of the CE and EAF of *M. urundeuva* leaves and *S. terebinthifolia* bark

Table 1 shows the classes that showed positive results for the crude extracts and ethyl acetate fractions of *M. urundeuva* and *S. terebinthifolia*. The results were evidenced from the comparison

of the retention factor and staining of the bands of the samples that corresponded to the evaluated standards. The presence of hydrolysable and condensed tannins, flavonoids, saponins, sugars and steroids was confirmed.

Table 2 shows the results obtained for the determination of total phenols in the extracts and fractions.

The presence of gallic acid (peak 1) and catechin (peak 2) in the crude extract and ethyl acetate fraction of *S. terebinthifolia* (Figure 1A and 1B) were evidenced in the analyses by HPLC-DAD, at retention times of 7.5 and 15.1 min, respectively. For the crude extract and ethyl acetate fraction of *M. urundeuva*, gallic acid (peak 1) at the retention time of 7.5 min and ellagic acid (peak 2) at 27.5 min (Figure 1C and 1D) were confirmed.

The analyses also allowed quantification of these metabolites in the samples under study. Table 3 shows the results of the quantification of gallic acid, ellagic acid and catechin levels.

3.2. Molluscicidal activity on adults of *B. glabrata*

In the biological activity test, a linear relationship was observed between the concentration of the CE and EAF of *M. urundeuva* leaves and the mortality rate of adult *B. glabrata* mollusks. Strong molluscicidal activity of the CE was observed at a concentration of 200 µg/mL, which caused 100% mortality of snails. High molluscicidal activity of the EAF was also detected at a concentration of 100 µg/mL, which caused 93.3% lethality of the mollusks.

Exposure (Figure 2A) of adult *B. glabrata* mollusks to concentrations of 100, 150 and 200 µg/mL of the CE of *M. urundeuva* leaves presented statistically significant differences (^{####}P < 0.0001) when compared to the negative control groups. The values of LC₁₀, LC₅₀ and LC₉₀ determined 8 days after exposure were 32.47, 85.99 and 139.51 µg/mL, respectively (Figure 2A).

The EAF, at concentrations of 75 and 100 µg/mL, also presented a statistically significant difference (^{##}P < 0.01; ^{####}P < 0.0001) when compared to the negative control groups. The values

of LC₁₀, LC₅₀ and LC₉₀ determined 8 days after exposure were 45.25, 75.56 and 105.85 µg/mL, respectively (Figure 2B).

Figure 3A shows the CE results of *S. terebinthifolia* bark against adult *B. glabrata* mollusks after 24 hours of exposure. All concentrations (50, 100, 150 and 200 µg/mL) of the CE showed statistically significant differences ([#]***P< 0.0001) when compared to the negative control groups. Concentrations of 100, 150 and 200 µg/mL caused 100% mortality in adult *B. glabrata* mollusks, similar to the positive control group (niclosamide-NCL).

The EAF was toxic to the adult mollusks of *B. glabrata* following exposure to concentrations of 25, 50, 75 and 100 µg/mL. Statistical analysis confirmed this lethal power, since the exposed groups presented statistically significant differences ([#]***P< 0.0001) when compared to the negative control groups (Figure 3 B); that is, concentrations of 50, 75 and 100 µg/mL caused 100% mortality in adult *B. glabrata* mollusks, the same as in the positive control group (niclosamide-NCL). After 24 hours of exposure, the LC₁₀, LC₅₀ and LC₉₀ estimated for EAF were 3.36, 33.20 and 63.03 µg/mL. This result confirms the molluscicidal potential of this extract against adult mollusks of *B. glabrata*.

3.3. Embryotoxicity

The embryotoxicity of the CE and EAF of the leaves of *M. urundeuva* and bark of *S. terebinthifolia* can be observed in Figures 4 (A and B) and 5 (A and B), respectively.

The CEs of bark of *S. terebinthifolia* and leaves of *M. urundeuva* and their EAFs did not cause significant changes to *B. glabrata* mollusk embryos, that is, the different concentrations used were not lethal to the embryonic form of the mollusk. The data did not present statistically significant differences when compared to the negative control groups. The estimated LC₁₀, LC₅₀ and LC₉₀ for the CE and EAF of *S. terebinthifolia* were 65.74, 169.13, 272.51 µg/mL and for the CE and EAF of *M. urundeuva* were 64.01, 164.77 and 265.52 µg/mL, demonstrating the low activity of the extract against *B. glabrata* embryos.

3.4. Cercaricidal activity

The results of the test of cercaricidal activity of CE and EAF of the leaves of *M. urundeuva* and bark of *S. terebinthifolia* are shown in Tables 4 and 5, respectively.

The concentration of 200 µg/mL CE of *M. urundeuva* leaves caused 76.6% lethality to *S. mansoni* cercariae after 2 hours of exposure, presenting a statistically significant difference (^{#/***}P< 0.0001) when compared to the negative control groups (Table 4). After 2 hours, it was possible to observe aggregate formation and atypical movement of cercariae exposed to CE at this same concentration. The LC₁₀, LC₅₀ and LC₉₀ for CE were 127.17, 175.20 and 223.23 µg/mL.

The EAF of *M. urundeuva* leaves also showed cercaricidal activity below 50% at concentrations of 75 and 100 µg/mL while the concentration of 50 µg/mL was not lethal to *S. mansoni* cercariae after 2 hours of exposure (Table 5). The LC₁₀, LC₅₀ and LC₉₀ for EAF of *M. urundeuva* leaves were 78.89, 103.32 and 127 µg/mL.

Tables 6 and 7 show the mortality results of *S. mansoni* cercariae exposed to the CE of *S. terebinthifolia* bark and its EAF. Concentrations of 100 and 200 µg/mL of CE presented the highest percentages of cercaricide among the concentrations used. These concentrations did not cause high mortality, however, important alterations were observed in the cercariae, such as reduction of motility and adherence of the cercariae to the bottom of the vessel used for observation. These changes reduce or even prevent the activities of these cercariae. After exposure of the *S. mansoni* cercariae for 2 hours to the CE, the estimated LC₁₀, LC₅₀ and LC₉₀ were 32.99, 195.66 and 358.33 µg/mL.

Table 6 presents the mortality results of *S. mansoni* cercariae exposed to the EAF of *S. terebinthifolia* bark at different concentrations (50, 75 and 100 µg/mL). Concentrations of 75 and 100 µg/mL presented cercaricidal activity below 50%, while the 50 µg/mL concentration was shown not to be lethal to the cercariae. The estimated LC₁₀, LC₅₀ and LC₉₀ after 2 hours of exposure were 61.47, 83.88 and 106.28 µg/mL. Although it does not cause 100% lethality of cercariae, it is

possible to observe phenomena similar to those found in exposure to CE, that is, a decrease in motility and aggregation of cercariae, mainly at the concentration of 100 µg/mL.

3.5. Test with *Artemia salina*

It was observed that the CEs of the bark of *S. terebinthifolia* and leaves of *M. urundeuva* and their EAFs did not cause significant alterations to *A. salina*, that is, the different concentrations used were not lethal to *A. salina*. However, the concentrations of 200 µg/mL of CE and 100 µg/mL of EAF of *S. terebinthifolia* presented a statistically significant difference in comparison to the negative control groups, causing 7.5 and 12.5% mortality in *A. salina* after 24 hours of exposure. The LC₁₀, LC₅₀ and LC₉₀ for CE from *M. urundeuva* were 199.47, 321.84 and 444.21 µg/mL. The EAF of the extract was less toxic to *A. salina* than the CE. For CE and EAF the LC₁₀, LC₅₀ and LC₉₀ of *S. terebinthifolia* were 243.78, 412.84, 581.91 µg/mL and 88.23, 151.71, 215.20 µg/mL. Therefore, these results of the LCs reinforce the high selectivity of the CE and the EAF of *S. terebinthifolia* and *M. urundeuva* against *A. salina*.

4. Discussion

To control and combat schistosomiasis, mass chemotherapy using praziquantel remains the most effective method to treat this disease. However, control of vector mollusks has received worldwide attention in recent years by national and international control programs (Crompton, 2006; Gurarie et al, 2015). The CE and EAF of the bark of *S. terebinthifolia* and leaves of *M. urundeuva* were tested in this study to investigate their molluscicidal and cercaricidal activity and environmental toxicity using *A. salina*.

In the phytochemical evaluation, the results of TLC indicated the presence of several metabolites, including saponins, tannins, steroids, flavonoids, terpenoids and sugars. It was possible to evidence the presence of hydrolysable tannins, gallic acid and ellagic acid in the *M. urundeuva* samples, since

the CE and EAF samples presented bands of the same coloration and the same Rf (Retention factor) of the standards analyzed; and of gallic acid and catechin in the samples of CE and EAF of *S. terebinthifolia*, since they presented bands of similar color and same value of Rf. Among the metabolites found, saponins and tannins are notable for their proven molluscicidal activity (Medina et al., 2009; Marston and Hostettman, 1993). Therefore, the application of the bioassays is justified to evaluate the molluscicidal and cercaricidal activity of the CE and EAF of the species.

In addition, such results were verified in the analysis performed by HPLC-DAD, in which it was possible to establish a typical profile for *S. terebinthifolia* bark and *M. urundeuva* leaves, as the compounds evidenced in the qualitative analysis were identified and quantified by TLC.

This is the first time that extracts obtained from the bark of *S. terebinthifolia* and leaves of *M. urundeuva* have been submitted to molluscicidal activity and toxicity tests. The results obtained from the molluscicide assays showed that *S. terebinthifolia* CE at concentrations of 100, 150 and 200 µg/mL caused 100% lethality of adult mollusks and that 50, 75 and 100 µg/mL concentrations of EAF resulted in mollusk death (Figure 3A and B). While *M. urundeuva* leaves showed a linear relationship between the concentration of CE and EAF and the mortality rate of adult *B. glabrata* mollusks, a strong molluscicidal activity of CE was observed at a concentration of 200 µg/mL, causing 100% mortality of snails. A high molluscicidal activity of EAF was also detected at a concentration of 100 µg/mL, causing 93.3% lethality of mollusks (Figure 2A and B).

According to the World Health Organization, molluscicidal plants should only be considered active when they produce 90% lethality to mollusks at a concentration of 100 µg/mL (Martins et al., 2014; WHO, 1993). However, the CE and EAF of *S. terebinthifolia* caused more than 90% mortality in adult *B. glabrata* mollusks at the same concentration (100 µg/mL) recommended by the WHO, and at concentrations of 50 and 75 µg/mL of EAF, it also caused more than 90% mortality in adult mollusks. As for *M. urundeuva* leaves, the data from the WHO corroborate the concentration (100 µg/mL) found in this study for the EAF of *M. urundeuva* leaves (Fig. 2 B). On the other hand, Oliveira and Paumgarten (2000) suggests the use of different extracts and concentrations to

decrease the population of these mollusks in the environment, as well as longer exposures. Therefore, it is important to note that concentrations of 150 and 200 µg/mL of CE of *S. terebinthifolia* and *M. urundeuva* also caused more than 90% mortality in adult *B. glabrata* mollusks, but the ecotoxicological test results with *A. salina* showed that these concentrations had low toxicity to the aquatic environment.

A hydroethanolic extract of *Schinopsis brasiliensis* stem bark and its fractions (hexane, chloroform, ethyl acetate and hydromethanol) were tested against adult *B. glabrata* mollusks, where the chloroform fraction rich in triterpenes and steroids and the ethyl acetate fraction containing flavonones, saponins and tannins were more active and caused more than 90% mortality rate, having a calculated LC₅₀ of 31 and 39 µg/mL, respectively (Santos et al., 2014). These results corroborate the data found in our work for the bark of *S. terebinthifolia*. The methanolic extract of the bark and leaf of *Piper tuberculatum* did not show a high molluscicidal activity against the adult mollusks of *B. glabrata*, where it presented LC₅₀ of 200.00 (bark) and 310.27 (leaf) µg / mL (Rapado et al. ., 2013). Differently from the data found in the extracts of the bark of *S. terebinthifolius* and leaf of *M. urundeuva*, after eight days of observation.

Currently, niclosamide is the only synthetic molluscicide advocated by the World Health Organization (WHO) and commercially available. Niclosamide has very high toxicity, at a concentration of 1 mg/L it has been found after eight hours to eliminate 100% of adult mollusks of *B. glabrata* and *Bulinus sp* (Rey, 2001). In addition, due to the ecological damage it causes, its use is currently recommended only in cases of extreme emergency (Barbosa and Gomes, 2008). Therefore, studies with extracts of plant origin on their molluscicidal potential have received special attention in recent years as they are cheaper and less environmentally aggressive (Clark and Appleton, 1997).

The World Health Organization (WHO) specifies standards for testing with various molluscicides and recommends research into plants and plant products with molluscicidal properties that can be used without affecting the balance of nature. Therefore, in the present study, the bark of *S.*

terebinthifolia (CE and EAF) and leaves of *M. urundeuva* (EAF) caused more than 90% mortality in adult *B. glabrata* mollusks, at a concentration of 100 µg/mL as recommended by WHO. The results obtained in the *A. salina* assay indicated low toxicity of the extracts tested, since almost all had LC₅₀ higher than 103 µg/mL. The toxicity with *A. salina* shows good correlation with antitumor and insecticide activities (Karchesy et al., 2016; Meyer et al., 1982; McLaughlin et al., 1998) for substances with LC₅₀ greater than 103 µg/mL.

The ecotoxicological assay is a suitable tool that provides detailed information for the execution of aquatic protection policies (Gurgel et al., 2016; Scherman et al., 2003). Tests with *A. salina* are quite useful when we want to investigate preliminary cytotoxicity of plant extracts in studies, mainly plants of great importance for folk medicine, in addition to the detection of fungal toxins and heavy metals (Harwing; Scott, 1971; McLaughlin, 1991; Barahona; Sanchez-Fortun, 1999).

The CE and EAF extracts from the bark of *S. terebinthifolia* and leaves of *M. urundeuva* did not affect the survival of the embryos of *B. glabrata* significantly, that is, they were not toxic to embryos (Figures 4 and 5). It is suggested that this plant extract was inactive against embryos due to the molecular weight of its compounds. This same fact was shown in the study carried out by Rawi et al. (2011) with an extract of *Agave filifera* that has as secondary metabolites, flavonoids and steroids.

The concentration of 200 µg/mL of CE from bark of *S. terebinthifolia* and leaves of *M. urundeuva* caused 32.6 and 76.6% lethality to *S. mansoni* cercariae after 2 hours of exposure, presenting statistically significant differences ([#]***P< 0.0001) when compared to the negative control groups (Tables 4 and 6). Although the extracts did not present high lethality to cercariae, the extracts caused modifications in the motility and aggregation of the cercariae. These phenomena may interfere with the infectivity of the cercariae. These data were reported by Kiros and collaborators (2014), when they used sub-lethal concentrations (3.7, 11.6 and 18.7 µg/mL) of the aqueous extract of *Glinus lotoides* fruit before infecting mice.

Experiments carried out with ethanolic extract and ethyl acetate fraction of *Jatropha elliptica* on *S. mansoni* cercariae showed $\cong 90\%$ mortality at concentrations of 90, 95 and 100 $\mu\text{g/mL}$ (ethanolic extract), and 1, 10 and 100 $\mu\text{g/mL}$ (ethyl acetate fraction) after 2 hours (SANTOS et al., 2014). These results differ with the data found in the extracts of the bark of *S. terebinthifolius* and leaf of *M. urundeuva*, after 2 hours of observation.

5. Conclusion

The results obtained from the exposure of the test organisms allow one to conclude that the CEs and EAFs of *S. terebinthifolia* and *M. urundeuva* presented molluscicidal activity against adult *B. glabrata* mollusks while showing no toxicity to the environment according to the artemicidal assay. However, the extracts tested were inactive against *B. glabrata* embryos and caused low lethality in cercariae, but caused alterations in their motility and aggregation, which may interfere with their viability. Therefore, the CEs and EAFs of the bark of *S. terebinthifolia* and leaves of *M. urundeuva* were viable as molluscicides of plant origin at the concentrations of 100 and 50, 150 and 100 $\mu\text{g/mL}$, respectively.

Acknowledgments and financial support

The authors are grateful to the Brazilian development agencies, the National Research Council (CNPq, 308386/2015-9), the Pernambuco State Science Foundation (FACEPE, APQ-0493-4.03/14) and the Personnel Development Coordination of Higher Education (CAPES).

References

Albuquerque, U.P., Oliveira, R.F., 2007. Is the use-impact on native caatinga species in Brazil reduced by the high species richness of medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.* 113(1), 156-170. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2007.05.025>.

- Barahona, M.V., Sanchez-Fortun, S., 1999. Toxicity of carbamates to the brine shrimp *Artemia salina* and the effect of atropine, BW284c51, iso-OMPA and 2-PAM on carbaryl toxicity. *Environ. Pollut.* 104(3), 469-476. [http://doi.org/10.1016/S0269-7491\(98\)00152-3](http://doi.org/10.1016/S0269-7491(98)00152-3).
- Barbieri, D.S., Tonial, F., Lopez, P.V., Maia, B.H.S., Santos, G.D., Ribas, M.O., Vicente, V.A., 2014. Antiadherent activity of *Schinus terebinthifolius* and *Croton urucurana* extracts on in vitro biofilm formation of *Candida albicans* and *Streptococcus mutans*. *Arch. Oral Biol.* 59(9), 887-896. <http://dx.doi.org/10.1016/j.archoralbio.2014.05.006>.
- Barbosa, C.S., Barbosa, V.S., Melo, F.L., Melo, M.S.B., Bezerra, L., Campos, J.V., Rodrigues, B.X., Nascimento, W.C., Gomes, E.S., Leal-Neto, O., Domingues, A.L., 2013. Casos autóctones de esquistossomose mansônica em crianças de Recife, PE. *Rev. Saude Publica* 47(4), 684–690. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-8910.2013047004664>.
- Barbosa, C.S., Santos, R.S., Gomes, E.S., Araujo, K., Albuquerque, J., Melo, F., Barbosa, V., 2015. Epidemiologia da Esquistossomose no Litoral de Pernambuco. *Rev. Patol. Trop.* 43(4), 436-445. <https://doi.org/10.5216/rpt.v43i4.33607>.
- Bendaoud, H., Romdhane, M., Souchard, J.P., Cazaux, S., Bouajila, J., 2010. Chemical composition and anticancer and antioxidant activities of *Schinus molle* L. and *Schinus terebinthifolius* Raddi berries essential oils. *J. Food Sci.* 75(6), 466-472. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01711.x>.
- Bezerra, J.C.B., Silva, I.A., Ferreira, H.D., Ferri, P.H., Santos, S.C. 2002. Molluscicidal activity against *Biomphalaria glabrata* of Brazilian Cerrado medicinal plants. *Fitoterapia.* 73(5), 428-430. [http://doi.org/10.1016/S0367-326X\(02\)00121-1](http://doi.org/10.1016/S0367-326X(02)00121-1)
- Bueno, F.G., Machareth, M.A., Panizzon, G.P., Lopes, G.C., Mello, J.C., Leite-Mello, E.V., 2012. Development of a uv/vis spectrophotometric method for analysis of total polyphenols from *Caesalpinia peltophoroides* Benth. *Quím. Nova.* 35(4), 822-826. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422012000400031>.

- Chen, Y., Wang, G., Wang, H., Cheng, C., Zang, G., Guo, X., Liu, R.H., 2014. Phytochemical profiles and antioxidant activities in six species of ramie leaves. PLoS One 9(9), 108140. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0108140>.
- Chitsulo, L., Engels, D., Montresor, A., Savioli, L. 2000. The global status of schistosomiasis and its control. Acta Trop. 77(1), 41-51. [http://doi.org/10.1016/S0001-706X\(00\)00122-4](http://doi.org/10.1016/S0001-706X(00)00122-4).
- Clark, T.E., Appleton, C.C., 1997. The molluscicidal activity of *Apodytes dimidiata* E. Meyer ex Arn (Icacaceae), *Gardenia thunbergia* L. f. (Rubiaceae) and *Warburgia salutaris* (Bertol. F.) Chiov. (Canellaceae), three South African plants. J. Ethnopharmacol. 56(1), 15-30. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(96\)01496-1](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(96)01496-1).
- Crompton, D.W.T., 2006. Preventive chemotherapy in human helminthiasis: coordinated use of anthelmintic drugs in control interventions: a manual for health professionals and programme managers. World Health Organization.
- Dimech, G.S., Soares, L.A.L., Ferreira, M.A., Oliveira, A.G.V., Carvalho, M.D.C., Ximenes, E.A., 2013. Phytochemical and antibacterial investigations of the extracts and fractions from the stem bark of *Hymenaea stigonocarpa* Mart. Ex Hayne and effect on ultrastructure of *Staphylococcus aureus* induced by hydroalcoholic extract. Scientific World J. 2013. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/862763>.
- Dvorkin-Camiel, L., Whelan, J.S., 2008. Tropical American plants in the treatment of infectious diseases. J. Diet. Suppl. 5(4), 349-372. <http://dx.doi.org/10.1080/19390210802519648>.
- Gomes, E.C.S., Leal-Neto, O.B., Oliveira, F.J.M., Campos, J.V., Souza-Santos, R., Barbosa, C.S., 2014. Risk analysis for occurrences of schistosomiasis in the coastal area of Porto de Galinhas, Pernambuco, Brazil. BMC Infect. Dis. 14(1), 101. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2334-14-101>.
- Gomes, E.C.S., Leal-Neto, O.B., Oliveira, F.J.M., Campos, J.V., Souza-Santos, R., Barbosa, C.S., 2012. Schistosomiasis transmission and environmental change: a spatio-temporal analysis

- in Porto de Galinhas, Pernambuco-Brazil. *Int. J. Health Geogr.* 11(1), 51.
<http://dx.doi.org/10.1186/1476-072X-11-51>.
- Gurarie, D., Yoon, N., Li, E., Ndeffo-Mbah, M., Durham, D., Phillips, A.E., King, C.H., 2015. Modelling control of *Schistosoma haematobium* infection: predictions of the long-term impact of mass drug administration in Africa. *Parasit. Vectors.* 8(1), 529.
<http://dx.doi.org/10.1186/s13071-015-1144-3>.
- Gurgel, P.M., Navoni, J.A., Morais, F.D., Amaral, V.S., 2016. Ecotoxicological water assessment of an estuarine river from the Brazilian Northeast, potentially affected by industrial wastewater discharge. *Sci. Total Environ.* 572, 324-332.
<http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.08.002>.
- Harwing, J., Scott, P., 1971. Brine shrimp (*Artemia nauplii* L.) larvae as a screening system for fungal toxins. *River Res. Appl.* 21(6), 1011-1016.
- Karchesy, Y. M., Kelsey, R. G., Constantine, G., Karchesy, J. J., 2016. Biological screening of selected Pacific Northwest forest plants using the brine shrimp (*Artemia salina*) toxicity bioassay. *Springerplus.* 5(1), 1-9. <http://dx.doi.org/10.1186/s40064-016-2145-1>.
- Katz, N., Peixoto, S.V., 2000. Critical analysis of the estimated number of *Schistosomiasis mansoni* carriers in Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 33(3), 303-308.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0037-86822000000300009>.
- Kawano, C.T., Okazaki, K., Ré, L., 1992. Embryonic development of *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) (Mollusca, Gastropoda, Planorbidae): a practical guide to the main stages. *Malacologia.* 34(1-2), 25-32. http://dx.doi.org/10429_35400003052520.0020.
- 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), 220.
<http://dx.doi.org/10.1186/1756-0500-7-220>.
- Lambertucci, J.R., 2010. Acute *Schistosomiasis mansoni*: revisited and reconsidered. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz,* 105(4), 422-435. <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02762010000400012>.

- Lima, A.A., Ximenes, E.C.P.A., Silva, R.A.R., Barbosa, V.X., Silva, G.A.J., Peixoto, C.A., Azevedo, A.M.C.P., 2014. Ultrastructural analysis of β -lapachone-induced surface membrane damage in male adult *Schistosoma mansoni* BH strain worms. *Exp. Parasitol.* 142, 83-90. <http://doi.org/10.1016/j.exppara.2014.04.010>.
- Linsuke, S., Nundu, S., Mupoyi, S., Mukele, R., Mukunda, F., Kabongo, M.M., Polman, K. 2014. High Prevalence of *Schistosoma mansoni* in Six Health Areas of – Kasansa Health Zone, Democratic Republic of the Congo: Short Report. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 8(12), 3387. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0003387>.
- Marston A, Hostettmann K., 1993. Search for antifungal, molluscicidal and larvicidal compounds from African medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.* 38(2-3), 209-214.
- Martins, M.C., Silva, M.C., Silva, L.R., Lima, V.L., Pereira, E.C., Falcao, E.P., Silva, N.H., 2014. Usnic acid potassium salt: an alternative for the control of *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). *PLoS ONE*, 9(11), 111102. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111102>.
- Martins-Melo, F.R., Pinheiro, M.C.C., Ramos, A.N., Alencar, C.H., de Moraes Bezerra, F.S., Heukelbach, J., 2014. Trends in schistosomiasis-related mortality in Brazil, 2000–2011. *Int. J. Parasitol.* 44(14), 1055-1062. <http://doi.org/10.1016/j.ijpara.2014.07.009>.
- Martinez, M.J., Gonzalez, A.N., Badell, B.J., 1996. Actividad antimicrobiana del *Schinus terebenthifolius* Raddi (copal). *Rev. Cubana Plant. Med.* 1(3), 37-39.
- Mclaughlin, J.L., Rogers, L.L., Anderson, J.E., 1998. The use of biological assays to evaluate botanicals. *Drug. Inf. J.* 32(2), 513-524.
- Mclaughlin, J.M., 1991. Crown gall tumours on potato discs and brine shrimp lethality: two simple bioassays for higher plant screening. *Methods biochem.: assays for bioactivity.* 6, 1-32.
- Medina, J.M., Peixoto, J.L., Silva, A.A., Haraguchi, S.K., Falavigna, D.L., Zamuner, M.L., Vidotti, G.J., 2009. Evaluation of the molluscicidal and *Schistosoma mansoni* cercariae activity of

- Croton floribundus* extracts and kaurenoic acid. Rev. Bras. Farmacogn. 19(1B), 207-211.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2009000200005>.
- Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, J.E., Jacobsen, L.B., Nichols, D.E., McLaughlin, J.L., 1982.
 Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. Planta Med. 45(5), 31-34. <http://dx.doi.org/10.1055/s-2007-971236>.
- Mori, S.A., Silva, L.A.M., Coradin, L., 1989. Manual de Manejo do Herbário Fanerogâmico. 2^o ed., CEPLAC, Ilhéus, pp.104.
- Napoleão, T.H., Gomes, F.S., Lima, T.A., Santos, N.D., Sá, R.A., Albuquerque, A.C., Paiva, P.M., 2011. Termiticidal activity of lectins from *Myracrodruon urundeuva* against *Nasutitermes corniger* and its mechanisms. Int. Biodeterior. Biodegradation. 65(1), 52-59.
<http://doi.org/10.1016/j.ibiod.2010.05.015>.
- Oliveira-Filho, E.C., Paumgarten, F.J.R., 2000. Toxicity of *Euphorbia milii* latex and niclosamide to snails and nontarget aquatic species. Ecotoxicol. Environ. Saf. 46(3), 342-350.
<https://doi.org/10.1006/eesa.2000.1924>.
- Organização Mundial De La Santé (OMS), 2011. Lutte contre les helminthiases chez les enfants d'âge scolaire. guide à l'intention des responsables des programmes de de lutte deuxième. Localização: BR599.1; 616.995.1-053.5(036)=133.1, O68l, , AG. 10001019222.
- OMS - Organização Mundial da Saúde., 2011. Weekly epidemiological record. 9(86), 73-80.
- Paraense, W.L., 2001. The schistosome vectors in the Americas. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 96, 7-16. <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02762001000900002>.
- Pharmacopoeia, B. 2010. Anvisa. 5 ed., Brasília.
- Pieri, O., Favre, T.C., 2008. Os moluscos transmissores. In: Barbosa, C.S., Favre, T.C., Quinino, L.R.M., Gomes, E.C.S., Leal Neto, O.B., Domingues, A.L.C., et al. Manual prático para o controle e diagnóstico da esquistossomose. Editora Universitária UFPE, Recife, pp. 33-45.
- Rapado, L.N., Sa, P.A., Lopes, P.O.D.M.V., Fokoue, H.H., Scotti, M.T., Marques, J.V., Nakano, E., 2013. Schistosomiasis control using pipartine against *Biomphalaria glabrata* at different

- developmental stages. PLoS Negl. Trop. Dis. 7(6), 2251. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0002251>.
- Rawi, S.M., Al-Hazmi, M., Seif Al Nassr, F., 2011. Comparative study of the molluscicidal activity of some plants extracts on the snail vector *Schistosoma mansoni*, *Biomphalaria alexandrina*. Int. J. Zool. Res. 7(2), 169–189. <http://doi.org/10.3923/ijzr.2011.169.189>.
- Rey, L., 2011. Parasitologia: parasitos e doenças parasitárias do homem nas Américas e na África. Editora Guanabara Koogan S.A., Rio de Janeiro.
- Sa, L.C.L.B., Carvalho, E.F.N.B., Cunha-Filho, M.S.S., Ferreira, C.P., Xavier, H.S., 2007. Atividade moluscicida do extratos e de aucubina de *Vitex gardneriana* Schauer (Verbenaceae) em embriões da *Biomphalaria glabrata*. Lat. Am. J. Pharm. 26(3), 339.
- Santos, C.C., Araújo, S.S., Santos, A.L., Almeida, E.C., Dias, A.S., Damascena, N.P., Lima, A.C., 2014. Evaluation of the toxicity and molluscicidal and larvicidal activities of *Schinopsis brasiliensis* stem bark extract and its fractions. Rev. Bras. Farmacogn. 24(3), 298-303. <http://doi.org/10.1016/j.bjp.2014.07.006>.
- Santos, G.H.F., Silva, E.B., Amorim, E.L.C., 2011. Interaction of gamma radiation on the functionality of the molluscicidal extract of *Anacardium occidentale* Linn, 1-12.
- Santos, A.F., Azevedo, D.P., Santos, M.R.D.C., Mendonça, D.I.D., Sant'ana, A.E.G., 2007. The lethality of *Euphorbia conspicua* to adults of *Biomphalaria glabrata*, cercaria of *Schistosoma mansoni* and larvae of *Artemia salina*. Bioresour. Technol. 98(1), 135-139. <http://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.11.020>.
- Sarvel, A.K., Oliveira, Á.A., Silva, A.R., Lima, A.C., Katz, N., 2011. Evaluation of a 25-year-program for the control of schistosomiasis mansoni in an endemic area in Brazil. PLoS Negl. Trop. Dis. 5(3), 990. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0000990>.
- Scherman, P.A., Muller, W.J., Palmer, C.G., 2003. Links between ecotoxicology, biomonitoring and water chemistry in the integration of water quality into environmental flow assessments. River Res. Appl. 19(5-6), 483–493. <http://doi.org/10.1002/rra.751>

- Souza, S.M.C., Aquino, L.C.M., AC Jr, M., Bandeira, M.A.M., Nobre, M.E.P., Viana, G.S.B., 2007. Antiinflammatory and antiulcer properties of tannins from *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) in rodents. *Phytother. Res.* 21(3), 220-225. <http://doi.org/10.1002/ptr.2011>.
- Utzinger, J., Raso, G., Brooker, S., Savigny, D., Tanner, M., Ørnbjerg, N., N'goran, E.K. 2009. Schistosomiasis and neglected tropical diseases: towards integrated and sustainable control and a word of caution. *Parasitology.* 136(13), 1859-1874. <https://doi.org/10.1017/S0031182009991600>.
- Vieira, M.N., Neves, C.F., Leitão, G.G., Garrard, I., Hewitson, P., Ignatova, S., Jerz, G., 2015. *Schinus terebinthifolia* scale-up countercurrent chromatography (Part I): High performance countercurrent chromatography fractionation of triterpene acids with off-line detection using atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* 1389, 39-48. <http://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.02.005>.
- Wagner, H., Bladt, S., 1996. Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas. 2° Ed., Springer-Verlag, Berlin and Heidelberg, pp. 384. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-00574-9>.
- World health organization, 2014. Schistosomiasis. Fact sheet 115. World Health Organization, Geneva, Available at: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs115/en/>>. Accessed on: 20 April- 2014).
- World health organization - WHO, 1965. Expert Committee on Bilharziasis. Geneva, Technical Report Series. 299, 1–56.
- World Health Organization, 1993. The control of schistosomiasis. WHO Technical Report Series 830 Geneva.

Figures

Figure 1. Chromatograms obtained for CE (A) and EAF (B) of *S. terebinthifolia* and CE (C) and EAF (D) of *M. urundeuva*.

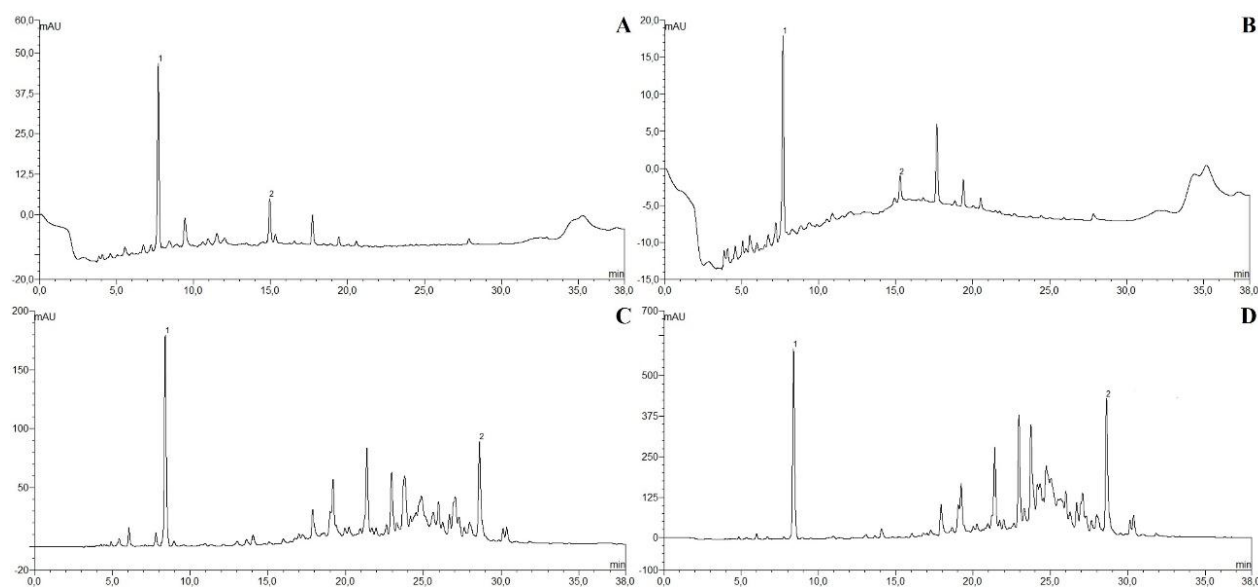
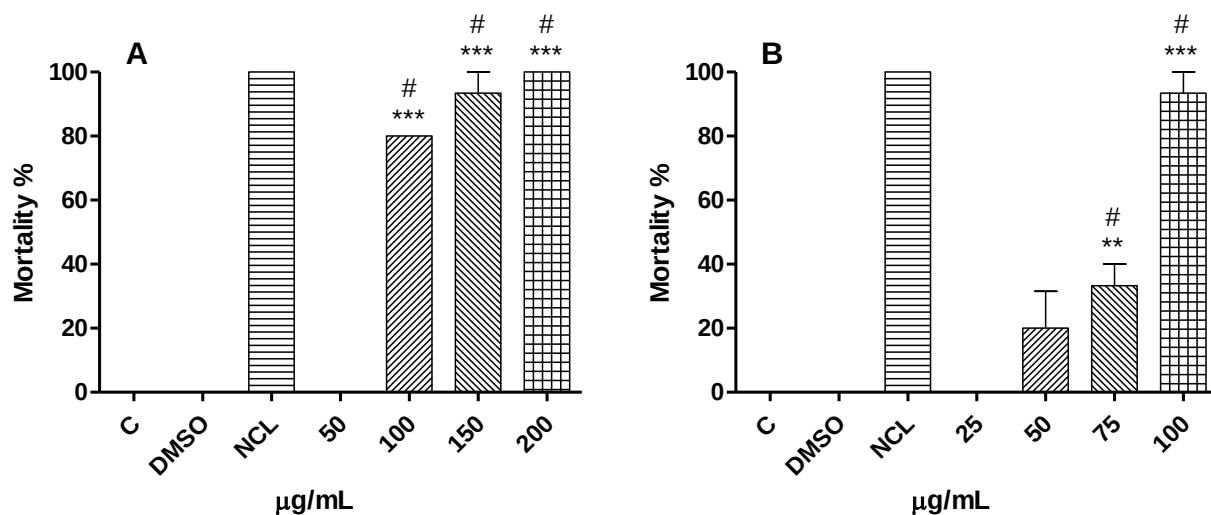
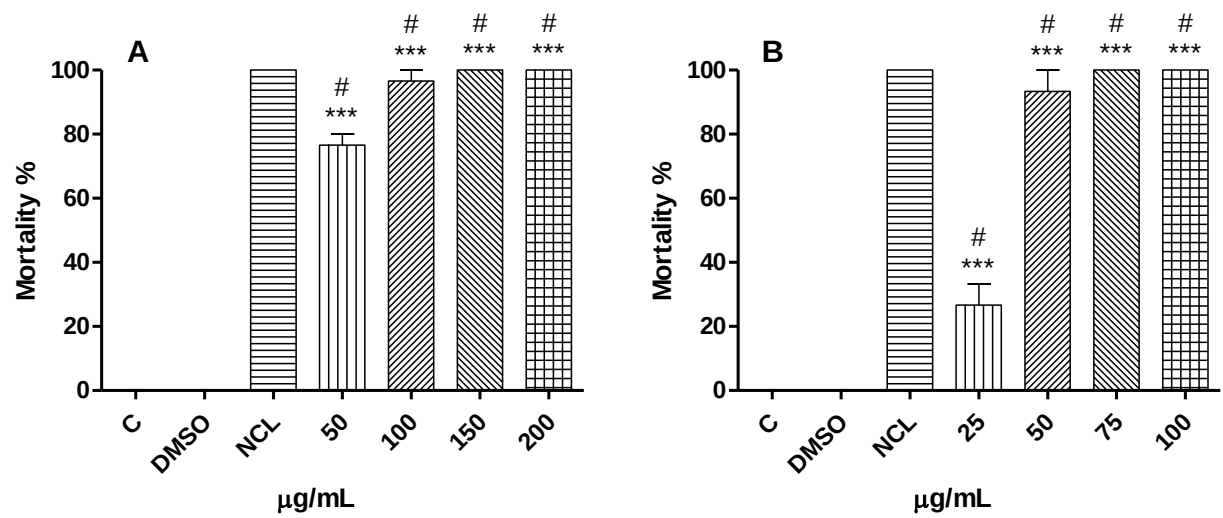


Figure 2. Results of adult *B. glabrata* mollusks exposed to CE (A) and EAF (B) of *M. urundeuva* leaves for 24 hours.



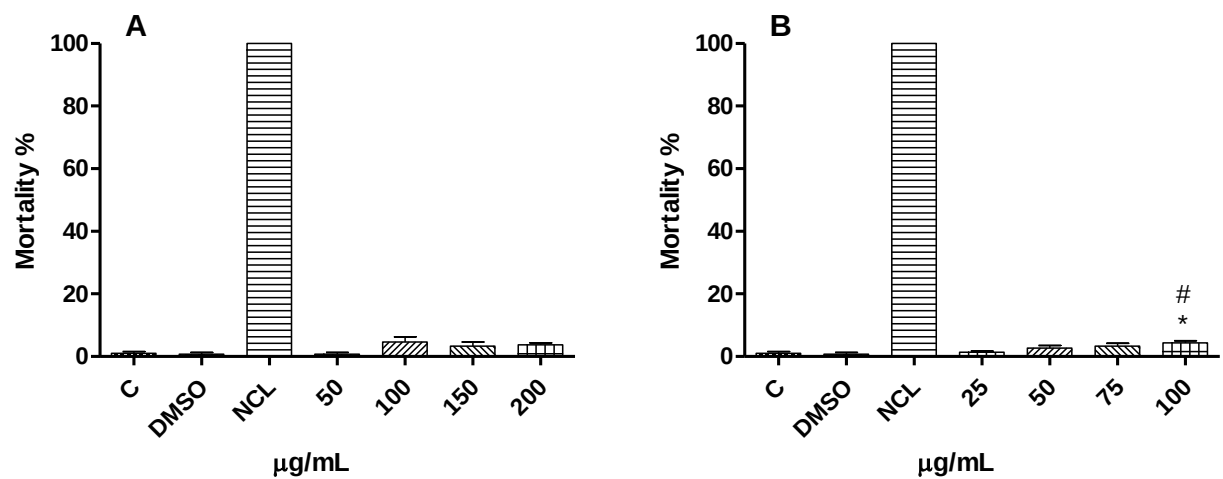
Dimethyl sulfoxide (0.5% DMSO); negative control (C-); niclosamide 1 $\mu\text{g/mL}$ (NCL); (ANOVA and Newman-keuls; #/*** $P < 0.0001$; #/*** $P < 0.01$; #/*** $P < 0.0001$), showing significant differences between the bars and the negative control groups.

Figure 3. Results of the adult *B. glabrata* mollusks exposed to CE (A) and EAF (B) of *S. terebinthifolia* bark for 24 hours.



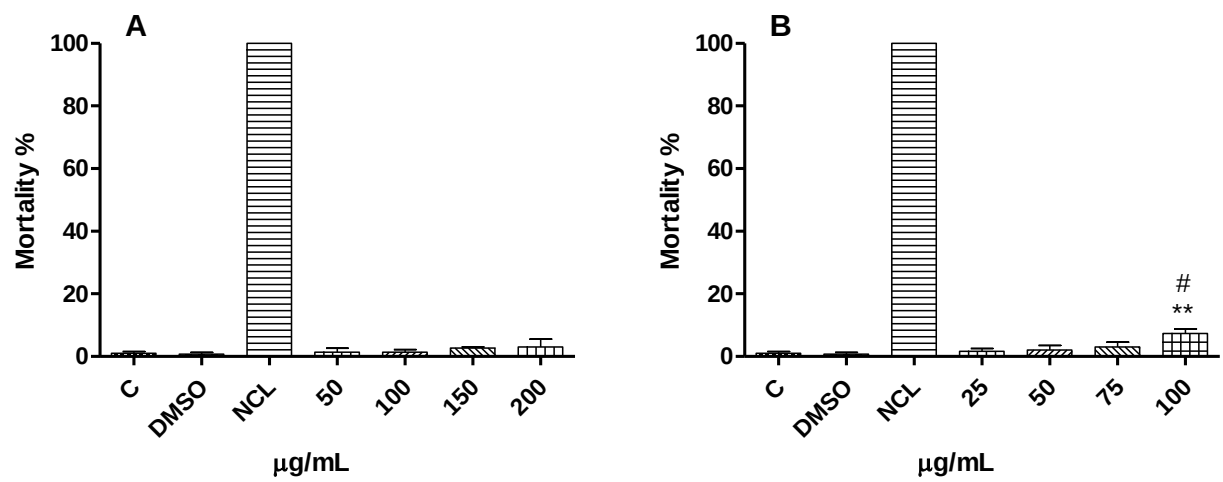
Dimethyl sulfoxide (0.5% DMSO); negative control (C-); niclosamide 1 µg/mL (NCL); (ANOVA and Newman-keuls; #/***P< 0.0001; #/****P< 0.0001), indicating a significant difference between the bars and the negative control groups.

Figure 4. Embryotoxicity of *B. glabrata* exposed to CE (A) and EAF (B) of *M. urundeuva* leaves for 24 hours.



Dimethyl sulfoxide (0.5% DMSO); negative control (C-); Niclosamide 1 µg/mL (NCL); (ANOVA and Newman-keuls #/*P< 0.05), showing the significant difference between the bars and the negative control groups.

Figure 5. Embryotoxicity of *B. glabrata* exposed to CE **(A)** and EAF **(B)** from the bark of *S. terebinthifolia* for 24 hours.



DMSO (negative control with 0.5% dimethyl sulfoxide); negative control with water (C-); positive control with niclosamide 1 µg/mL (NCL); (ANOVA and Newman-keuls ^{#/**} P< 0.01), pointing out a significant difference between the bars and the negative control groups.

Tables

Table 1. CCD analyses of CEs and EAFs of *M. urundeuva* leaves and *S. terebinthifolia* bark.

Classes (metabolites)	CE-BSt	EAF-BSt	CE-LMu	EAF-LMu
Steroids/Terpenes (β-sitosterol)	+	+	+	+
Saponins (escin)	+	+	+	+
Flavonoids (quercetin)	+	+	+	+
Hydrolysable tannins (gallic/ellagic acid)	++	++	++	++
Condensed tannins (catechin)	+	+	+	+
Sugars	+	+	+	+

CE-BSt: crude extract of the bark of *S. terebinthifolia*; EAF-BSt: ethyl acetate fraction of the bark of *S. terebinthifolia*;
CE-LMu: crude extract of the leaves of *M. urundeuva*; EAF-LMu: ethyl acetate fraction of the leaves of *M. urundeuva*.

Table 2. Total polyphenol content (TPC) of crude extracts and ethyl acetate fractions of *M. urundeuva* and *S. terebinthifolia*.

Sample	TPC (g%)
CE-BSt	32.20 $\pm$ 0.96 (3.67)
EAF-BSt	36.13 $\pm$ 0.49 (0.78)
CE-LMu	28.95 $\pm$ 0.31 (1.08)
EAF-LMu	35.78 $\pm$ 0.80 (2.23)

CE-BSt: crude extract of the bark of *S. terebinthifolia*; EAF-BSt: ethyl acetate fraction of the bark of *S. terebinthifolia*;
CE-LMu: crude extract of the leaves of *M. urundeuva*; EAF-LMu: ethyl acetate fraction of the leaves of *M. urundeuva*.
The results were expressed in grams percent of pyrogallol as means $\pm$ standard deviations (relative standard deviations).

Table 3. Levels of gallic acid, ellagic acid and catechin in the CE and EAF samples.

Sample	Gallic acid (g%)	Ellagic acid (g%)	Catechin (g%)
CE-BSt	0.000467 (0.16%)	---	0.000215 (0.22%)
EAF-BSt	0.000218 (2.88%)	---	0.000340 (0.35%)
CE-LMu	0.002106 (0.09%)	0.000916 (0.56%)	---
EAF-LMu	0.002012 (0.28%)	0.003951(8.71%)	---

CE-BSt: crude extract of the bark of *S. terebinthifolia*; EAF-BSt: ethyl acetate fraction of the bark of *S. terebinthifolia*; CE-LMu: crude extract of the leaves of *M. urundeuva*; EAF-LMu: ethyl acetate fraction of the leaves of *M. urundeuva*. The results were expressed in grams percent as means (relative standard deviations).

Table 4. Mortality results of *S. mansoni* cercariae exposed to CE of *M. urundeuva* leaves.

Concentration (µg/mL)	15 min	30 min	60 min	120 min
C1	-	-	-	-
C2	-	-	-	-
50	-	-	-	-
100	-	-	-	-
200	-	-	-	++
NCL	+++	+++	+++	+++

C1; C2 = negative control (distilled water 1; DMSO 2) NCL = niclosamide; (-) = absence of lethality; (+) = elimination of less than 50% of cercariae (++) = elimination of more than 50% of cercariae; (+++) = complete elimination of cercariae.

Table 5. Mortality of *S. mansoni* cercariae exposed to EAF of *M. urundeuva* leaves.

Concentration (µg/mL)	15 min	30 min	60 min	120 min
C1	-	-	-	-
C2	-	-	-	-
50	-	-	-	-
75	-	-	-	+
100	-	-	-	+
NCL	+++	+++	+++	+++

C1; C2 = negative control (distilled water 1; DMSO 2) NCL = niclosamide; (-) = absence of lethality; (+) = elimination of less than 50% of cercariae (++) = elimination of more than 50% of cercariae; (+++) = complete elimination of cercariae.

Table 6. Mortality results of *S. mansoni* cercariae exposed to CE from bark of *S. terebinthifolia*.

Concentration (µg/mL)	15 min	30 min	60 min	120 min
C1	-	-	-	-
C2	-	-	-	-
50	-	-	-	-
75	-	-	-	+
100	-	-	-	+
NCL	+++	+++	+++	+++

C1; C2 = negative control (distilled water 1; DMSO 2) NCL = niclosamide; (-) = absence of lethality; (+) = elimination of less than 50% of cercariae (++) = elimination of more than 50% of cercariae; (+++) = complete elimination of cercariae.

Table 7. Mortality results of *S. mansoni* cercariae exposed to EAF from the bark of *S. terebinthifolia*.

Concentration (µg/mL)	15 min	30 min	60 min	120 min
C1	-	-	-	-
C2	-	-	-	-
50	-	-	-	+
100	-	-	-	+
200	-	-	-	+
NCL	+++	+++	+++	+++

C1; C2 = negative control (distilled water 1; DMSO 2) NCL = niclosamide; (-) = absence of lethality; (+) = elimination of less than 50% of cercariae (++) = elimination of more than 50% of cercariae; (+++) = complete elimination of cercariae.

5. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos da exposição dos organismos teste permite concluir que:

- O extrato bruto da folha de *M. urundeuva*, apresentou atividade moluscicida a partir da concentração de 150 µg/mL e a fração enriquecida do extrato de *M. urundeuva* apresentou 93,3% de mortalidade para moluscos adultos de *B. glabrata*, na concentração de 100 µg/mL.
- O extrato bruto da casca de *S. terebinthifolius* apresentou 100% de mortalidade para moluscos adultos de *B. glabrata*, na concentração de 100, 150 e 200 µg/mL e sua fração enriquecida também apresentou 100% de mortalidade, nas concentrações de 50, 75 e 100 µg/mL.
- O extrato bruto e fração enriquecida de ambas as espécies (*M. urundeuva* e *S. terebinthifolius*) foram inativos contra embriões de *B. glabrata*.
- Os extratos brutos de *M. urundeuva* e *S. terebinthifolius* causaram 76,6 e 32,6% das cercarias, na concentração de 200 µg/mL.
- As concentrações de 150 e 100 µg/mL do extrato bruto e fração da folha de *M. urundeuva* e as concentrações de 50 e 100 µg/mL do extrato bruto e fração da casca de *S. terebinthifolius* foram menos tóxicas para o meio ambiente, ou seja, são concentrações mais adequadas de utilizar como moluscicidas, quando expostos por 24 horas.
- Os testes fitoquímicos (CCD e CLAE) do extrato bruto e fração da folha e casca de *M. urundeuva* e *S. terebinthifolius* revelaram a presença de saponinas, taninos, esteroides, flavonoides, trepenóides, fenóis, açúcares, ácido gálico, ácido elágico e catequinas.

6. ANEXOS

ANEXO 01

Normas de submissão da IJP

Guide for Authors



INTERNATIONAL JOURNAL FOR PARASITOLOGY

Sponsored by the [Australian Society for Parasitology](#)

AUTHOR INFORMATION PACK

TABLE OF CONTENTS

•	Description	p.1
•	Audience	p.1
•	Impact Factor	p.1
•	Abstracting and Indexing	p.2
•	Editorial Board	p.2
•	Guide for Authors	p.3



DESCRIPTION

The *International Journal for Parasitology* publishes the results of original research in all aspects of basic and applied **parasitology**, including all the fields covered by its Specialist [Editors](#), and ranging from parasites and **host-parasite relationships** of intrinsic biological interest to those of **social** and **economic importance** in human and veterinary **medicine** and **agriculture**. Original research includes the development of novel and innovative concepts and ideas, as well as experimental and observational science that raises new hypotheses. Because of its breadth of discipline coverage, the aims and significance of all contributions should be made clear to readers who are not expert in the particular subject of papers. In applied parasitology, it will tend to favour contributions of broader significance to the subject rather than narrow, highly specialised applications. The principal form of publication is the full length paper which contains substantial results from a major program of research. The Journal also provides a medium for the publication of shorter, but complete, papers reporting highly significant original findings, as Succinctus articles. It also publishes Thematic Issues incorporating papers on a topical theme and commissions papers with emphasis on shorter, focussed Reviews of topical issues and strategically important subjects. The Journal encourages critical comment and debate on matters of current controversy in parasitology via "Current Opinions".

Benefits to authors

We also provide many author benefits, such as free PDFs, a liberal copyright policy, special discounts on Elsevier publications and much more. Please click [here](#) for more information on our [author services](#).

Please see our [Guide for Authors](#) for information on article submission. If you require any further information or help, please visit our [Support Center](#)

AUDIENCE

Parasitologists, Zoologists, Entomologists, schools of tropical medicine.

IMPACT FACTOR

2015: 4.242 © Thomson Reuters Journal Citation Reports 2016

ABSTRACTING AND INDEXING

BIOSIS

Elsevier BIOBASE

Cambridge Scientific Abstracts

Chemical Abstracts

Current Contents

MEDLINE®

EMBASE

FO: VM

Helminthological Abstracts

PASCAL/CNRS

Protozoological Abstracts

Tropical Diseases Bulletin

Veterinary Bulletin

Scopus

EDITORIAL BOARD

Editor-in-Chief:

B.M. Cooke, Department of Microbiology, Monash University, 3800, Victoria, Australia

Deputy Editors:

A. Loukas, Center for Biodiscovery and Molecular Development of Therapeutics, Australian Institute of Tropical Health and Medicine, James Cook University, McGregor Rd, Smithfield, Cairns, Qld 4878, Queensland, Australia

J. Slapeta, Laboratory of Veterinary Parasitology, Sydney School of Veterinary Science, Faculty of Science, McMaster Building B14, University of Sydney, 2006, New South Wales, Australia

Editorial Assistant:

M. Meuleman, Department of Microbiology, Monash University, 3800, Victoria, Australia

Fax: +61 3 5256 1396

Specialist Editors:

R. Adlard, Queensland Museum, South Brisbane, Queensland, Australia

J.G. Beeson, Burnet Institute, Melbourne, Victoria, Australia

D.D. Bowman, Cornell University, Ithaca, New York, USA

J. Boyle, University of Pittsburgh, Pittsburgh, Pennsylvania, USA

P.J. Brindley, George Washington University Medical Center, Washington, District of Columbia, USA

C. Cantacessi, University of Cambridge, Cambridge, England, UK

B. Crabb, Burnet Institute, Melbourne, Victoria, Australia

T. De Koning-Ward, Deakin University, Warn Ponds, Victoria, Australia

D. Doolan, James Cook University, Cairns, Queensland, Australia

A.M. Dunn, University of Leeds, Leeds, UK

C. Engwerda, QIMR Berghofer Medical Research Institute, Herston, Australia

D. Fidock, Columbia University, New York, New York, USA

R.B. Gasser, University of Melbourne, Werribee, Victoria, Australia

J. Gilleard, University of Calgary, Calgary, Alberta, Canada

J. Keiser, Swiss Tropical and Public Health Institute, Basel, Switzerland

A. Lew-Tabor, University of Queensland, St Lucia, Queensland, Australia

M. Lightowers, University of Melbourne, Werribee, Victoria, Australia

D.T.J. Littlewood, Natural History Museum, London, UK

D.J. Marcogliese, Environment Canada, Montreal, Quebec, Canada

A. Maule, Queen's University Belfast, Belfast, UK

M. McConville, University of Melbourne, Parkville, Australia

J. Mulvenna, QIMR Berghofer Medical Research Institute, Brisbane, Queensland, Australia

A.J. Nisbet, Moredun Research Institute, Midlothian, Scotland, UK

T.N. Petney, Karlsruhe Institute of Technology (KIT), Karlsruhe, Germany

R. Poulin, University of Otago, Dunedin, New Zealand

N.C. Smith, James Cook University, Smithfield, Cairns, Queensland, Australia

B. Striepen, University of Georgia, Athens, Georgia, USA

J.G. Valenzuela, National Institutes of Health (NIH), Rockville, Maryland, USA

S.K. Wikel, Quinnipiac University, Hamden, Connecticut, USA

GUIDE FOR AUTHORS

INTRODUCTION

The International Journal for Parasitology publishes the results of innovative basic and applied findings in all aspects of parasitology. Areas include but are not restricted to human and veterinary medicine, agriculture, ecology and studies on the microbiota in the context of host-parasite relationships.

Innovative research includes the development of novel concepts and ideas, as well as experimental and observational science that raises new hypotheses. Contributions of broader context are favoured over highly specialised ones.

The Journal publishes two forms of research paper: Full-length and Succinctus. Both must contain substantial results from a major program of research. It also publishes Special Issues incorporating papers on select topical themes. The Journal commissions Reviews and Current Opinions on topical, strategic, or controversial matters in parasitology.

Because of the breadth of disciplines covered, the aims and significance of all contributions should be made clear to readers who are not expert in the particular field of study.

Types of paper

There are two types of papers, structured as follows:

Original Research Papers

Title page. Contains the title, authors' names, addresses, name and contact details of the corresponding author.

Abstract. The second page contains an Abstract of not more than 300 words in a single paragraph. At the foot of this page a list of up to 8 Index Keywords should be provided.

Text. (see sections above) In addition to major headings two forms of subheadings are used: (a) the numbered italicised side subheading referring to several paragraphs; (b) the italicised paragraph subheading at the beginning of a single paragraph used only in Materials and methods.

'Succinctus'

The journal offers an avenue for publishing succinct papers that describe significant research findings of broad interest. Articles are limited to 3,000 words, not divided into sections, and contain not more than three display items (figures or tables). The manuscript should be marked '*Succinctus*' on the top left-hand corner of the title page. The first page should show title, author and address details. A short Abstract of not more than 100 words in the same style as for full papers plus up to six Keywords should follow. The body of the paper should be written with a minimum number of paragraphs and unstructured (i.e. no headings). Text describing the methods should be included in the manuscript body and/or figure legends; the methodology should be succinct but contain sufficient information

and/or suitable references to allow readers to replicate the work. Not more than 25 references should be cited. Other instructions are the same as those for original research papers.

Contact details for submission

General enquiries prior to submission should be directed to the Editorial Office: editor@IJP.org.au

Submission checklist

You can use this list to carry out a final check of your submission before you send it to the journal for review. Please check the relevant section in this Guide for Authors for more details.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address

All necessary files have been uploaded:

Manuscript:

- Include keywords
- All figures (include relevant captions)
- All tables (including titles, description, footnotes)
- Ensure all figure and table citations in the text match the files provided
- Indicate clearly if color should be used for any figures in print
Graphical Abstracts / Highlights files (where applicable)
Supplemental files (where applicable)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell checked' and 'grammar checked'
- All references mentioned in the Reference List are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet)
- Relevant declarations of interest have been made
- Journal policies detailed in this guide have been reviewed
- Referee suggestions and contact details provided, based on journal requirements

For further information, visit our [Support Center](#).

BEFORE YOU BEGIN

Ethics in publishing

Please see our information pages on [Ethics in publishing](#) and [Ethical guidelines for journal publication](#).

Policy and ethics

Care of experimental animals. It is the responsibility of authors to ensure that their practices conform with their national animal ethics guidelines. Submitted papers must contain precise details on the care and use of animals and of experimental procedures, especially interventions such as surgery and tissue sampling, and methods of euthanasia. Referees are asked to indicate whether there is any reason to consider that experimental animals were not well treated or care not taken to avoid distress, and papers may ultimately be rejected on such grounds.

Declaration of interest

All authors are requested to disclose any actual or potential conflict of interest including any financial, personal or other relationships with other people or organizations within three years of beginning the submitted work that could inappropriately influence, or be perceived to influence, their work. [More information](#).

Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' section of our ethics policy for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is

approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service [CrossCheck](#).

Changes to authorship

Authors are expected to consider carefully the list and order of authors **before** submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should be made only **before** the manuscript has been accepted and only if approved by the journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the following from the **corresponding author**: (a) the reason for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed.

Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors **after** the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

Article transfer service

This journal is part of our Article Transfer Service. This means that if the Editor feels your article is more suitable in one of our other participating journals, then you may be asked to consider transferring the article to one of those. If you agree, your article will be transferred automatically on your behalf with no need to reformat. Please note that your article will be reviewed again by the new journal. [More information](#).

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (see [more information](#) on this). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. [Permission](#) of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations. If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has [preprinted forms](#) for use by authors in these cases.

For open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete an 'Exclusive License Agreement' ([more information](#)). Permitted third party reuse of open access articles is determined by the author's choice of [user license](#).

Author rights

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. [More information](#).

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated.

Funding body agreements and policies

Elsevier has established a number of agreements with funding bodies which allow authors to comply with their funder's open access policies. Some funding bodies will reimburse the author for the Open Access Publication Fee. Details of [existing agreements](#) are available online.

Open access

This journal offers authors a choice in publishing their research:

Open access

- Articles are freely available to both subscribers and the wider public with permitted reuse.

- An open access publication fee is payable by authors or on their behalf, e.g. by their research funder or institution.

Subscription

- Articles are made available to subscribers as well as developing countries and patient groups through our [universal access programs](#).
- No open access publication fee payable by authors.

Regardless of how you choose to publish your article, the journal will apply the same peer review criteria and acceptance standards.

For open access articles, permitted third party (re)use is defined by the following [Creative Commons user licenses](#):

Creative Commons Attribution (CC BY)

Lets others distribute and copy the article, create extracts, abstracts, and other revised versions, adaptations or derivative works of or from an article (such as a translation), include in a collective work (such as an anthology), text or data mine the article, even for commercial purposes, as long as they credit the author(s), do not represent the author as endorsing their adaptation of the article, and do not modify the article in such a way as to damage the author's honor or reputation.

Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs (CC BY-NC-ND)

For non-commercial purposes, lets others distribute and copy the article, and to include in a collective work (such as an anthology), as long as they credit the author(s) and provided they do not alter or modify the article.

The open access publication fee for this journal is **USD 2200**, excluding taxes. Learn more about Elsevier's pricing policy: <http://www.elsevier.com/openaccesspricing>.

Green open access

Authors can share their research in a variety of different ways and Elsevier has a number of green open access options available. We recommend authors see our [green open access page](#) for further information. Authors can also self-archive their manuscripts immediately and enable public access from their institution's repository after an embargo period. This is the version that has been accepted for publication and which typically includes author-incorporated changes suggested during submission, peer review and in editor-author communications. Embargo period: For subscription articles, an appropriate amount of time is needed for journals to deliver value to subscribing customers before an article becomes freely available to the public. This is the embargo period and it begins from the date the article is formally published online in its final and fully citable form. [Find out more](#).

This journal has an embargo period of 12 months.

Language (usage and editing services)

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the [English Language Editing service](#) available from Elsevier's WebShop.

Submission

Submission to this journal proceeds totally online and you will be guided stepwise through the creation and uploading of your files. The system automatically converts source files to a single PDF file of the article, which is used in the peer-review process. Please note that even though manuscript source files are converted to PDF files at submission for the review process, these source files are needed for further processing after acceptance. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, takes place by e-mail removing the need for a paper trail. Submitted manuscripts are first reviewed by a specialist editor to assess significance and general suitability for the journal. Approximately half of all submissions progress to peer review.

The final pdf should be no larger than 5 MB.

If file size cannot be reduced to less than 10 MB, the author should contact the IJP Editorial Office for instructions (editor@IJP.org.au).

Required Information:

Name, affiliation, email, telephone and fax numbers and mail address information for one corresponding author.

This must be the same person nominated as corresponding author on the manuscript title page and this person must submit the manuscript on-line.

The corresponding author, through the web access, is responsible for actions with respect to each paper. E-mail prompts will be delivered only to the corresponding author. Articles can also be tracked by the corresponding author via the online system.

Name and affiliations of all other authors.

Cover letter is mandatory for all submissions and should address the novelty, significance of the work.

Note: Current Opinions and Invited Reviews are by invitation only).

Order of files

Manuscript should contain (in order) Title, Authors and addresses, Corresponding Author and address, Abstract, Keywords. In numbered sections: 1. Introduction; 2. Materials and methods; 3. Results; 4. Discussion; then Acknowledgements; References; Legends to Figures. Tables with their legends (in separate or combined files, numbered, in order). Figures (in separate files); preferred formats: JPEG, EPS or PDF. Supplementary and multimedia files.

Format

The preferred format for the text is Microsoft Word. **The title page, abstract and text should be formatted with line numbers.** The manuscript should be formatted to A4 size paper, in English, double spaced and with 2 cm margins.

Further journal requirements

During submission you will also have to:

Confirm that all authors have read the manuscript and accept responsibility for its contents.
Agree to an ' Ethics in Publishing' document.

Referees

Please submit the names and institutional e-mail addresses of several potential referees. For more details, visit our [Support site](#). Note that the editor retains the sole right to decide whether or not the suggested reviewers are used.

Additional information

Statistical Analysis

Authors should seek advice on data analysis prior to submission. A commentary (Morrison, D.A., 2002. How to improve statistical analysis in parasitology research publications. *Int. J. Parasitol.* 32, 1065-1070) may also be consulted. Papers may be sent to referees with particular expertise in statistics and modelling.

PREPARATION

Use of word processing software

It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the [Guide to Publishing with Elsevier](#)). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

Article structure

Subdivision - numbered sections

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections (only in sections 2 and 3) should be numbered 2.1 (then 2.1.1, 2.1.2, ...), 2.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described.

A Theory section should extend, not repeat, the background to the article already dealt with in the Introduction and lay the foundation for further work. In contrast, a Calculation section represents a practical development from a theoretical basis.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate, however it is not a standard format for this journal; reasons for using the combined format must be provided in the submission cover letter. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Appendices

This journal does not publish appendices. Information should be included within the manuscript text or provided as supplementary material. If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent section, Eq. (B.1) and so on.

Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.

- **Author names and affiliations.** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.

- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. **Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**

- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Graphical abstract

Authors should supply a thumbnail image for all types of manuscripts. Articles accepted for publication will be featured via a copy of the article abstract together with a thumbnail image to direct people to the manuscript. An image that serves to illustrate the theme of the paper is desired. It can be a figure from the paper or a related image that typifies the content of the paper. Authors must supply the thumbnail image separately as an electronic file. The maximum final dimensions of the thumbnail

image will be 5 cm x 5 cm. Please consider readability after reduction, especially if using one of the figures from the article itself.

Highlights

Highlights are mandatory for this journal. They consist of a short collection of bullet points that convey the core findings of the article and should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point). You can view [example Highlights](#) on our information site.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using UK spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, "and", "of"). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Abbreviations

Avoid the use of abbreviations, but if necessary, authors should use the list ([click here to see list](#)) as a guide to those terms that need not be given in full, or define each abbreviation on first use.

Acknowledgements

Authors should provide confirmation of consent from persons acknowledged in manuscripts eg. personal communications. This can be provided in a covering letter or by e-mail to the editorial office.

Formatting of funding sources

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, please include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Units

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other units are mentioned, please give their equivalent in SI.

Math formulae

Please submit math equations as editable text and not as images. Present simple formulae in line with normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y. In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

Footnotes

Footnotes should only be used in tables.

Table footnotes

Indicate each footnote in a table with a superscript lowercase letter.

Artwork

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.

- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.
- Submit each illustration as a separate file.

A detailed [guide on electronic artwork](#) is available.

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Illustrations of all kinds should be listed together under 'Legend to Figures' numbered consecutively and their positions indicated in the text. Figures should be high quality, of an adequate size to ensure clarity, and letters and numbers should be at least 4 mm in height. Magnification should be indicated by inclusion of a scale bar in the figure and its value should be indicated on the figure or in the legend. Each figure should be obvious from its file name. If images have been altered, describe the nature of changes made and software used. This information should be included in the 'Materials and methods' section of the manuscript.

In general, figures will be printed and appear on electronic versions of papers in black and white. Where appropriate, colour figures can be provided on the electronic version, but black and white in the printed version. In this instance, authors are required to submit both colour and high quality black and white versions of figures. Authors should note that the figure legend will be the same in both versions. While there is no charge for colour in electronic versions, there generally is a fee for printed colour figures. Please contact the Editorial Office for the current policy.

Illustration services

[Elsevier's WebShop](#) offers Illustration Services to authors preparing to submit a manuscript but concerned about the quality of the images accompanying their article. Elsevier's expert illustrators can produce scientific, technical and medical-style images, as well as a full range of charts, tables and graphs. Image 'polishing' is also available, where our illustrators take your image(s) and improve them to a professional standard. Please visit the website to find out more.

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells.

References

Correct references are the responsibility of the author. Please ensure that all references cited in the text are included in the reference list.

References in the text start with the name of the author(s), followed by the publication date in brackets, e.g. 'Combes (2001) has shown the importance of ...', or '... has been described (Combes, 2001; Kumar et al., 2004) ...', using date order. More than one paper from the same author in the same year must be identified by the letters a, b, c, etc., placed after the year of publication. In the text, when referring to a work by two authors, use (Sangster and Dobson, 2002) or for more than two authors, the name of the first author should be given followed by et al. There is an output style available for EndNote. Please refer to the EndNote website or contact the Editorial Office for a copy of this style file.

The references in the reference list should be in alphabetical order. References to journal articles should contain names and initials of all author(s), year of publication, article title, abbreviation of the name of the journal, volume number and page numbers.

Unpublished data, personal communications and papers 'in preparation' or 'submitted', abstracts (whether published or not) and theses should not be listed in the references (but may be incorporated at the appropriate place in the text); work "in press" may be listed only if it has been accepted for

publication. Personal communications must be accompanied by a letter or e-mail from the named person(s) giving permission to quote such information. References to books should also include the title (of series and volume), initials and names of the editor(s) and publisher and place of publication.

Examples:

Combes, C., 2001. Parasitism. The ecology and evolution of intimate interactions. University of Chicago Press, Chicago and London.

Kumar, N., Cha, G., Pineda, F., Maciel, J., Haddad, D., Bhattacharyya, M.K., Nagayasu, E., 2004. Molecular complexity of sexual development and gene regulation in *Plasmodium falciparum*. Int. J. Parasitol. 34, 1451-1458.

Pettersson, E.U., Ljunggren, E.L., Morrison, D.A., Mattsson, J.G., in press. Functional analysis and localisation of a delta-class glutathione S-transferase from *Sarcoptes scabiei*. Int. J. Parasitol.

Sangster, N.C., Dobson, R.J., 2002. Anthelmintic resistance. In: Lee, D.L. (Ed.), The biology of nematodes. Taylor and Francis, London and New York, pp. 531-567.

Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references to published articles can be included in the reference list. Other web references such as software programs, databases and individual web pages, should have the reference details included at the appropriate place within the text.

Data references

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

[dataset] Oguro, M., Imahiro, S., Saito, S., Nakashizuka, T., 2015. Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions. Mendeley Data, v1. <http://dx.doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference management software

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support [Citation Style Language styles](#), such as [Mendeley](#) and [Zotero](#), as well as [EndNote](#). Using the word processor plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide.

Users of Mendeley Desktop can easily install the reference style for this journal by clicking the following link:

<http://open.mendeley.com/use-citation-style/international-journal-for-parasitology>

When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plug-ins for Microsoft Word or LibreOffice.

Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to the NLM catalogue:
<http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lji.html>.

Video

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the files in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including [ScienceDirect](#). Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our [video instruction pages](#). Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

Supplementary data

For non-integrated supplementary files, a footnote should be typed on the title page of the manuscript:

' Note: Supplementary data associated with this article' . A copy of supplementary material should be submitted at the same time as the manuscript. Preferred formats are Microsoft Office for text or graphics and avi for movie files. Maximum size of files is 10 MB. If files cannot be reduced to 10MB, authors should contact the IJP Editorial Office (editor@IJP.org.au)

Data linking

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that give them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the [database linking page](#).

For [supported data repositories](#) a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

Open data

This journal supports Open data, enabling authors to submit any raw (unprocessed) research data with their article for open access publication under the CC BY license. [More information](#).

Transparency

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, this gives you the opportunity to indicate why. If you submit [this form](#) with your manuscript as a supplementary file, the statement will appear next to your published article on ScienceDirect.

AudioSlides

The journal encourages authors to create an AudioSlides presentation with their published article. AudioSlides are brief, webinar-style presentations that are shown next to the online article on ScienceDirect. This gives authors the opportunity to summarize their research in their own words and to help readers understand what the paper is about. [More information and examples are available](#). Authors of this journal will automatically receive an invitation e-mail to create an AudioSlides presentation after acceptance of their paper.

Google Maps and KML files

KML (Keyhole Markup Language) files (optional): You can enrich your online articles by providing KML or KMZ files which will be visualized using Google maps. The KML or KMZ files can be uploaded in our online submission system. KML is an XML schema for expressing geographic annotation and visualization within Internet-based Earth browsers. Elsevier will generate Google Maps from the submitted KML files and include these in the article when published online. Submitted KML files will also be available for downloading from your online article on ScienceDirect. [More information](#).

Interactive plots

This journal enables you to show an Interactive Plot with your article by simply submitting a data file. [Full instructions](#).

Virtual Microscope

The journal encourages authors to supplement in-article microscopic images with corresponding high resolution versions for use with the Virtual Microscope viewer. The Virtual Microscope is a web based viewer that enables users to view microscopic images at the highest level of detail and provides features such as zoom and pan. This feature for the first time gives authors the opportunity to share true high resolution microscopic images with their readers. [More information and examples](#). Authors of this journal will receive an invitation e-mail to create microscope images for use with the Virtual Microscope when their manuscript is first reviewed. If you opt to use the feature, please contact virtualmicroscope@elsevier.com for instructions on how to prepare and upload the required high resolution images.

AFTER ACCEPTANCE

Online proof correction

Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors.

If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

Offprints

The corresponding author will, at no cost, receive a customized [Share Link](#) providing 50 days free access to the final published version of the article on [ScienceDirect](#). The Share Link can be used for sharing the article via any communication channel, including email and social media. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's [Webshop](#). Corresponding authors who have published their article open access do not receive a Share Link as their final published version of the article is available open access on ScienceDirect and can be shared through the article DOI link.

Additional information

Submission of sequence data to databases

Novel nucleotide or protein sequence data must be deposited in the GenBank™, EMBL or DDBJ databases and an accession number obtained before the paper can be accepted for publication. Submission to any one of the collaborating databanks is sufficient to ensure entry in all. The accession number should be included as a footnote on the title page of the manuscript: 'Note: Nucleotide sequence data reported in this paper are available in the GenBank™, EMBL and DDBJ databases under the accession number(s)'. If requested the database will withhold release of data until publication. The usual method for submitting sequence data is by the World Wide Web to either GenBank (via BankIt: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BankIt/>), EMBL (via WebIn: <http://www.ebi.ac.uk/subs/allsubs.html>) or to DDBJ (via SAKURA: <http://sakura.ddbj.nig.ac.jp/>). Special types of submissions, such as

genomes, bulk submissions, segmented sets, and population/phylogenetic/mutation studies, can be more easily prepared with the Sequin programme (available from the above Web sites). Authors are encouraged by the databases to update their entries as the need arises.

GenBank/DNA sequence linking. In order for automatic links to be made between papers and GenBank, authors should type the accession number in bold, underlined text. Letters in the accession number should always be capitalised. (See the example). When published they will appear in normal type.

Example: ' GenBank accession nos. **AI631510**, **AI631511**, **AI632198**, and **BF223228**), a B-cell tumor from a chronic lymphatic leukemia (GenBank accession no. **BE675048**), and a T-cell lymphoma (GenBank accession no. **AA361117**)' .

Additionally, any multiple alignments of nucleotide or protein data must be submitted to a recognised database and must also receive a unique accession number. The accession number can appear in the text in the relevant section of the Results, as: ' Alignment files are available by anonymous FTP from FTP.EBI.AC.UK in directory/pub/databases/embl/align or via the EMBLALIGN database via SRS at <http://srs.ebi.ac.uk>; under accession(s)' . The usual method for submitting alignments is by the World Wide Web to the European Bioinformatics Institute (via Webin-Align: <http://www.ebi.ac.uk>). Microarray data, in MIAME-compliant format, should be submitted to ArrayExpress (<http://www.ebi.ac.uk/arrayexpress/>) or GEO (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>). Accession identifiers relating to the data should be provided in the manuscript text.

Policy on bioinformatics papers. In silico analysis: The following guidelines apply to papers that exclusively use in silico analysis or rely heavily on this approach for analysis and conclusions. Such papers should address a significant biological issue or issues. Bioinformatic data should be supported by novel or published biological data. Work would typically use information from a number of databases and even from a number of parasite or host species and use a number of analytical methods. Types of ' metaanalysis' are encouraged either across a wide range of parasites or, say, at a number of points in a metabolic or signalling pathway or an immune cascade. In silico analysis may be especially suitable for review articles.

Guidelines for the reporting of protein identifications using mass spectrometry: The following information should be provided for protein or peptide identifications using mass spectrometry:

1. The program, and version number, used to create peak lists and the parameters used in the creation of the list.
2. The program, and version number, of the program used for database searching. Parameters used for searching should be specified, including, but not limited to, precursor-ion mass tolerance, fragment-ion mass tolerance, modifications allowed for, missed cleavages and enzymes used in protein cleavage.
3. The name and version number of the sequence database used in searches. If a custom-made database is used then complete information on the origin of the sequences and database size should be disclosed. Given the dependence of scoring on database size, the use of a small database, or one excluding contaminants, should be justified.
4. A short description of the methods used to interpret the significance of search results, including any statistical analysis, confidence thresholds and other values specific to judging the certainty of the identification.
5. For large-scale experiments a false-positive determination should be reported. This may be the result of randomized database searches or other approaches.
6. Each protein identification should include the accession number, score generated by the search algorithm used, sequence coverage and the number of unique peptide sequences assigned in the protein identification.

7. Single peptide identifications should include an annotated MS/MS spectrum showing fragment assignments together with the peptide sequence, precursor mass, charge and error.

8. Identifications arising from peptide mass fingerprinting should include an annotated mass spectrum. The number of matched peaks, the number of unmatched peaks and the sequence coverage should also be reported along with all parameters and thresholds used to analyse the data. This includes mass accuracy, resolution, calibration methods, contaminant exclusions along with the scoring scheme used and measure of the false-positive rate.

Taxonomic publications. Taxonomic papers are considered only if they are of broad interest, going beyond purely morphological descriptions which are best suited to specialist journals. Examples of contributions of broader interest include description of new taxa which do not fit within accepted classifications, analyses which are of phylogenetic or biogeographic significance employing a range of analysis techniques or which include information on host-parasite relationships or deleterious effects on the host. Presentations which include description of new species should conform to a prescribed pattern as follows: where the new species name is written for the first time, ' n.sp' should succeed it. The name should be followed by: (1) a description, in telegraphic style, i.e. without articles and verbs, of the specific characters; accompanied by illustrations depicting the main differentiating characters; (2) a diagnosis, emphasising the characters of the new species or genus; (3) the details of type material, (host, location in host, geographic locality, collector, place of deposition and registration). Synopses (a brief summary of a small taxonomic group of parasites) and checklists (a list of parasites from particular hosts in particular localities) are acceptable, provided species named are critically evaluated, identifications are sound and the results are of broad scientific interest. Authors should comply with the International Code of Zoological Nomenclature.

Ecological Papers. Specimens upon which new host or locality records are based must be deposited in a museum or recognised collection to be available for further study and registration numbers must be cited.

AUTH OR INQU IRIES

Visit the [Elsevier Support Center](#) to find the answers you need. Here you will find everything from

Frequently Asked Questions to
ways to get in touch.

You can also [check the status of your submitted article](#) or find out [when your accepted article will be published](#).

© Copyright 2014 Elsevier |
<http://www.elsevier.com>

ANEXO 2

Cromatogramas (CLAE e CCD)

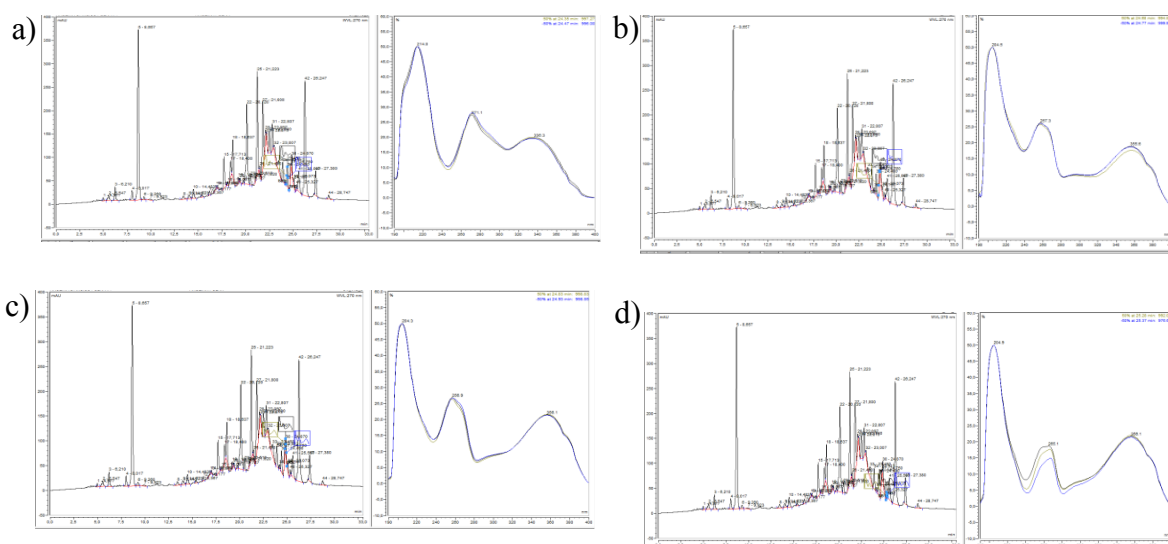


Fig. 1. Cromatógrafo do extrato bruto da folha de *M. urundeuva*, mostra indícios da presença dos flavonoides. a) pico 36; b) pico 37; c) pico 38; d) pico 40.

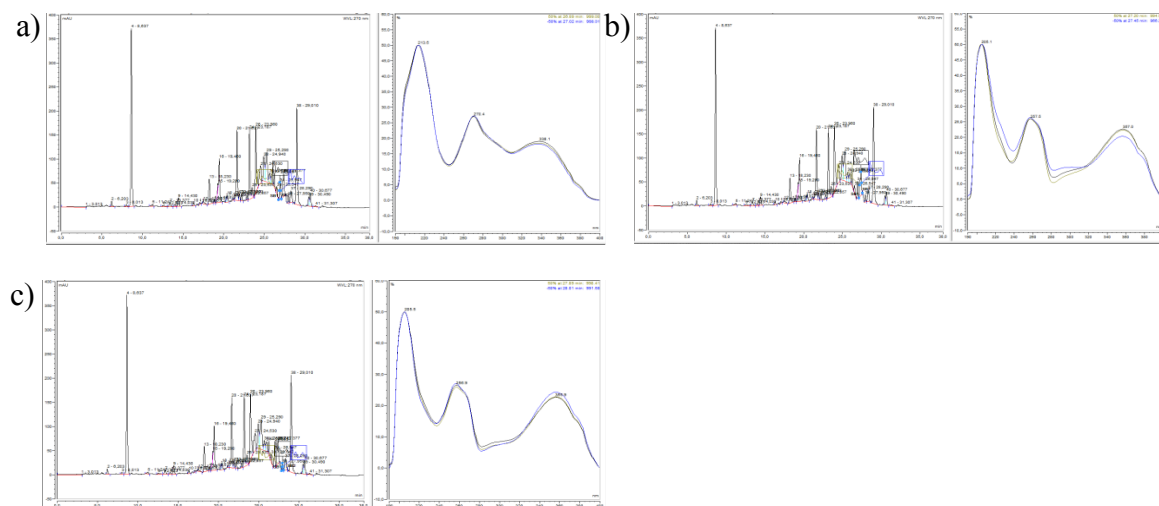
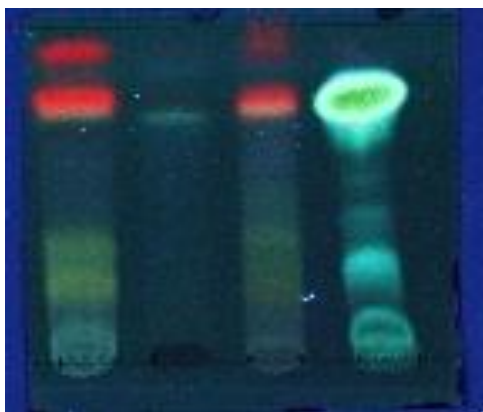
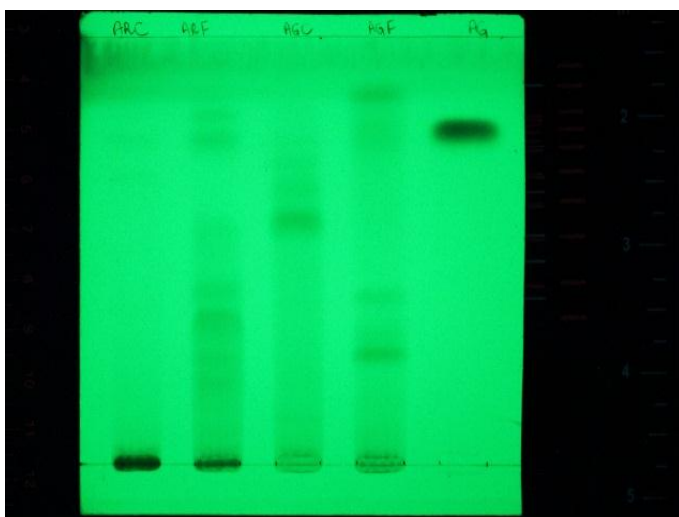


Fig. 2. Cromatógrafo da fração enriquecida da folha de *M. urundeuva*, mostra os indícios da presença dos flavonoides. b) pico 34; c) pico 35; d) pico 36.



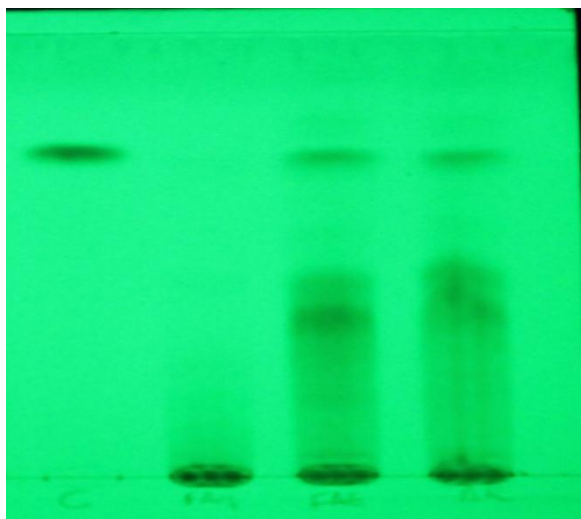
Placa 1: Flavonoide (+)

A1: extrato bruto da folha *M. urundeuva*; A2: extrato bruto da casca de *S. terebinthifolius*; A4: quercetina (Padrão).



Placa 2: Taninos hidrolisáveis (+)

A1: extrato bruto da casca de *S. terebinthifolius*; A2: extrato bruto da folha *M. urundeuva*; A5: ácido gálico (Padrão).



Placa 3: taninos condensados (+)

C: catequinas (Padrão); FAQ.; FAC.; AR (Fração aquosa, Acetato de etila e Extrato bruto da folha de *M. urundeuva*).

ANEXO 3

Resumos enviados para eventos científicos

Toxicity of crude extract of *Myracrodruon urundeuva* on the mollusc *Biomphalaria glabrata* and *Artemia salina*

Sá, J. L. F.^{1,2}; Silva, H. A. M. F^{1,2}; Siqueira, W. N². Araújo, D. R. C.¹; Silva L. R. S.²; Amancio, F. F.² Silva, M. V.¹; Melo, A. M. M. A.²; Correia, M. T. S¹.

1 Departamento de Bioquímica, UFPE, Recife, Brazil.

2 Departamento de Biofísica e Radiobiologia, UFPE, Recife, Brazil.

INTRODUCTION: Schistosomiasis is a parasitic disease that occurs in 54 countries, reaching about two hundred million people worldwide. It is endemic in Brazil, and its main intermediate host is the mollusc *Biomphalaria glabrata*. One of the main strategies to combat the disease is by controlling molluscs, using synthetic molluscicides. However the concern with the environmental impact have encouraged the study of molluscicides of vegetable origin. *Myracrodruon urundeuva*, popularly known as aroeira-do-sertão, typical species found in Caatinga, has proven as an insecticide and antimicrobial action. **OBJECTIVE:** Evaluate the molluscicidal and toxic action of crude extract of *M. urundeuva* on the molluscs *B. glabrata* and nauplii of *Artemia salina*. **MATERIALS AND METHODS:** 70 animals, divided into seven groups of 10 molluscs each were separated: negative control (water), DMSO control, positive control (niclosamide) and four groups exposed to crude extract of *M. urundeuva* at concentrations of 10, 100, 200, 1,000 ppm for 24 hours. For the artemicide test, six groups were formed with 10 specimens submitted to the crude extract of *M. urundeuva*, at the above mentioned concentrations. **RESULTS AND DISCUSSION:** The leaf extract of *M. urundeuva* showed a mortality of adult molluscs of 40% and 100% for concentrations of 200 and 1000 ppm, respectively. The LC₅₀ was 230 ppm. For the toxicity test with *Artemia salina* was observed a frequency of letality of 37.5% (100ppm), 47.5% (200ppm) and 60% (1000 ppm). The calculated LC₅₀ was 351 ppm, proving low environmental toxicity. **CONCLUSION:** *M. urundeuva* showed slightly toxic effect on *B. glabrata* molluscs and low toxicity on *A. salina*, evidencing a low toxic effect to the environment. New tests of the molluscicidal action of this species will be performed, as well as the analysis of the chemical composition of plant extract. These tests indicated that *M. urundeuva* presents itself as a potential agent biomolluscicide.

KEYWORDS: Aroeira-do-sertão, *Artemia salina*, *Biomphalaria glabrata*, molluscicidal activity.

Acknowledgment: CNPq

AÇÃO DO EXTRATO BRUTO DE *Schinus terebinthifolius* SOBRE MOLUSCULO *Biomphalaria glabrata* E *Artemia salina*

Sá, J. L. F.^{1,2}; Silva, H. A. M. F.^{1,2}; Bezerra, I. C. F.³; Souza, J. A. L.³; Moraes, J. V. T.²; Siqueira, W. N.; Amancio, F. F.²; Paiva, P. M. G.¹; Silva, M. V.¹; Soares, L. A. L.; Melo, A. M. M. A.²; Correia, M. T. S.¹

1 Departamento de Bioquímica, UFPE, Recife, Brazil.

2 Departamento de Biofísica e Radiobiologia, UFPE, Recife, Brazil.

3 Departamento de farmácia, UFPE, Recife, Brazil.

A esquistossomose é uma doença infecciosa causada por *Schistosoma mansoni*, que ocorre em 54 países, atingindo cerca de duzentos milhões de indivíduos no mundo. É endêmica no Brasil, tendo como principal hospedeiro intermediário o molusco *Biomphalaria glabrata*. Um dos principais métodos de combate a doença é por meio de controle dos caramujos utilizando moluscicida sintético, porém a preocupação com o impacto ambiental, e o alto custo têm incentivado o estudo de moluscidas de origem vegetal. *Schinus terebinthifolius*, espécie da família Anacardiaceae, conhecida popularmente como aroeira de praia, largamente encontrada no bioma caatinga e município de Recife-Pernambuco, tem se mostrado promissora por apresentar metabólitos secundários com propriedades moluscicida. Portanto, este trabalho tem como objetivo estudar ação tóxica do extrato aquoso da casca de *Schinus terebinthifolius* sobre moluscos *B. Glabrata* e *A. Salina*. Foram separados 90 animais, distribuídos em sete grupos com 5 moluscos cada: controle negativo (água filtrada), controle DMSO, controle positivo (niclosamida) e quatro grupos expostos ao extrato bruto de *S. terebinthifolius*, nas concentrações de 100, 200, 500, 1000 ppm por 24 horas. Para o teste artemicida foram formados seis grupos com 10 espécimes submetidos ao extrato bruto de *S. terebinthifolius*, nas concentrações acima citada. Os resultados demonstraram que o extrato bruto de *S. terebinthifolius* na concentração de 100 ppm, apresentou 73,3% mortalidade e nas concentrações de 200, 500 e 1000 ppm, foi observado 100% de mortalidade dos caramujos. No teste artemicida, foi observado baixa mortalidade para as concentrações de 100 ppm (2,4%), 200 ppm (7,5%), 500 ppm (47,5%). A concentração de 1000 ppm causou a morte de 82,5% das artemias expostas ao extrato. Concluímos, que a espécie *S. terebinthifolius* apresentou efeito moluscicida para caramujos *B. Glabrata* a partir da concentração de 200 ppm sendo pouco tóxico para o ambiente nesta mesma concentração.

Palavras-chaves: Aroeira de praia; *Artemia salina*; *Biomphalaria*; moluscicida

Agradecimento: CNPq