



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências

THAYANE LUIZA PEREIRA SANTOS

**AVALIAÇÃO DA SUSCETIBILIDADE DE *Biomphalaria glabrata* E
CERCÁRIAS DE *Schistosoma mansoni* FRENTE AO ÓLEO RESINA DE
Copaifera multijuga Hayne**

Recife
2024

THAYANE LUIZA PEREIRA SANTOS

**AVALIAÇÃO DA SUSCETIBILIDADE DE *Biomphalaria glabrata* E
CERCÁRIAS DE *Schistosoma mansoni* FRENTE AO ÓLEO RESINA DE
Copaifera multijuga Hayne**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Biomedicina da Universidade Federal de Pernambuco, como pré-requisito à obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Mônica Camelo Pessoa de Azevedo Albuquerque.

Coorientador: Dr. Hallysson Douglas Andrade de Araújo.

Recife
2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Santos, Thayane Luiza Pereira .

Avaliação da suscetibilidade de *Biomphalaria glabrata* e cercárias de *Schistosoma mansoni* frente ao óleo resina de *Copaifera multijuga* Hayne /
Thayane Luiza Pereira Santos. - Recife, 2024.

57 : il., tab.

Orientador(a): Mônica Camelo Pessoa de Azevedo Albuquerque

Cooorientador(a): Hallysson Douglas Andrade de Araújo

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de
Pernambuco, Centro de Biociências, Biomedicina, 2024.

Inclui referências.

1. Esquistossomose. 2. *Biomphalaria*. 3. Embriões. 4. Moluscicida. 5.
Copaifera. I. Albuquerque, Mônica Camelo Pessoa de Azevedo . (Orientação). II.
Araújo, Hallysson Douglas Andrade de . (Coorientação). IV. Título.

610 CDD (22.ed.)

THAYANE LUIZA PEREIRA SANTOS

**AVALIAÇÃO DA SUSCETIBILIDADE DE *Biomphalaria glabrata* E
CERCÁRIAS DE *Schistosoma mansoni* FRENTE AO ÓLEO RESINA DE
Copaifera multijuga Hayne**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Biomedicina da Universidade Federal de Pernambuco, como pré-requisito à obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Aprovada em: 02 /10 /2024

BANCA EXAMINADORA

Coorientador: Dr. Hallysson Douglas Andrade de Araújo
Universidade Federal de Pernambuco/ Centro Acadêmico de Vitória – CAV

MSc. Thierry Wesley de Albuquerque Aguiar
Universidade Federal de Pernambuco/ Departamento de Bioquímica

MSc. Thaís Emmanuely Melo dos Santos
Universidade Federal de Pernambuco/ Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami – iLIKA

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me guiar e me manter firme durante esse processo, para que assim fosse possível finalizar mais uma etapa da minha vida.

Ao meu pai Luiz e as minhas irmãs, Suzana e Juliana, por toda orientação, apoio, empenho e cuidado que me oferecem todos esses anos, também aos meus sobrinhos, José e Luiz. São pessoas de grande importância para mim e essenciais na minha caminhada.

Aos meus amigos e aos colegas que fiz durante a trajetória da graduação, pessoas com quem dividi a rotina acadêmica e que a fizeram se tornar mais leve e divertida, e que também compartilharam muito conhecimento comigo.

A minha orientadora Prof^ª. Dr^ª. Mônica Camelo Pessôa de Azevedo Albuquerque e ao meu coorientador Dr. Hallysson Douglas Andrade de Araújo, pelos conhecimentos passados a mim, pelo incentivo, pelo auxílio em todo o processo de desenvolvimento desse projeto e pela oportunidade de fazer parte dele.

Gostaria de agradecer a todas as pessoas que contribuíram e que me ajudaram de alguma maneira durante a realização desse projeto e também aquelas que me auxiliaram durante o curso. Muito aprendizado foi adquirido durante a graduação.

Por fim, agradeço a Universidade Federal de Pernambuco, a graduação de Biomedicina e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo fornecimento da bolsa que me auxiliou durante esse período.

SANTOS, Thayane Luiza Pereira. **Avaliação da suscetibilidade de *Biomphalaria glabrata* e cercárias de *Schistosoma mansoni* frente ao óleo resina de *Copaifera multijuga* Hayne**. 2024. 57 páginas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2024.

RESUMO

Os hospedeiros intermediários do *Schistosoma mansoni*, única espécie de *Schistosoma* encontrada na América do Sul, são caramujos que pertencem ao gênero *Biomphalaria* e que apresentam grande importância na transmissão da esquistossomose. Esses animais contribuem para manter a prevalência da doença nos locais endêmicos, devido ao seu alto potencial reprodutivo e grande capacidade adaptativa. Dessa maneira, o controle populacional desses moluscos constitui uma estratégia eficaz para o combate à doença, principalmente quando associado a medidas de saneamento e tratamento da população parasitada. O uso de moluscidas é o meio utilizado para realizar esse controle, sendo atualmente a niclosamida o único composto recomendado para essa finalidade. No entanto, características como falta de seletividade, pois também afeta organismos não-alvos, custo elevado e o desenvolvimento de resistência por parte dos caramujos, fez com que a pesquisa por novos moluscidas de origem vegetal fossem intensificados, visto a variedade de atividades biológicas que os produtos naturais podem apresentar. O gênero *Copaifera* possui 72 espécies distribuídas nas regiões tropicais da América Latina e África do Sul. As árvores podem atingir uma altura de 25 a 40 metros e produzem um óleo resina formado de sesquiterpenos e diterpenos. Algumas propriedades encontradas em espécies do gênero *Copaifera* se destacam, como anti-inflamatórias, antibacterianas, antifúngicas, atividade antileishmanial e antimalárica, porém nenhuma atividade moluscida foi apresentada na literatura até o momento. Diante disso, esse estudo avaliou a toxicidade do óleo resina de *Copaifera multijuga* Hayne (ORCM) sobre adultos e embriões de *Biomphalaria glabrata*, cercárias de *Schistosoma mansoni* e *Artemia salina*. Estes foram expostos durante 24 h ao ORCM solubilizado em Tween 80 em diferentes concentrações, sendo de 400 a 4.000 µg/mL para os embriões, de 200 a 4.000 µg/mL para adultos e de 200 a 1.000 µg/mL para *Artemia salina*, já as cercárias de *S. mansoni* foram expostas por 2 h em concentrações de 100 a 1.000 µg/mL. Após sete dias, embriões em blástula apresentaram 85% de inviabilidade na concentração de 600 µg/mL com resultados semelhantes em gástrula com 800 µg/mL. O percentual de inviabilidade vista em trocófora na concentração de 2.000 µg/mL foi de 90%, enquanto em véliger foi necessária uma concentração de 3.000 µg/mL para inviabilizar 54% dos embriões. Os caramujos adultos nas concentrações 800, 1.000, 2.000, 3.000 e 4.000 apresentaram mortalidade de 40, 56, 86, 96 e 100% respectivamente. Na concentração de 500 µg/mL intensa alteração de motilidade das cercárias foi observado no primeiro intervalo (15 min), enquanto com 800 µg/mL todas estavam mortas. O ORCM demonstrou ser uma molécula eficaz no controle populacional da *B. glabrata* em diferentes estágios de vida do molusco, porém apresentou ecotoxicidade e o seu potencial uso deve ser focado e restrito.

Palavras-chave: Esquistossomose. *Biomphalaria*. Embriões. Moluscida. *Copaifera*.

SANTOS, Thayane Luiza Pereira. **Avaliação da suscetibilidade de *Biomphalaria glabrata* e cercárias de *Schistosoma mansoni* frente ao óleo resina de *Copaifera multijuga* Hayne**. 2024. 57 páginas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2024.

ABSTRACT

The intermediate hosts of *Schistosoma mansoni*, the only species of *Schistosoma* found in South America, are snails that belong to the genus *Biomphalaria* and which are of great importance in the transmission of schistosomiasis. These animals contribute to maintaining the prevalence of the disease in endemic areas, due to their high potential reproductive capacity and great adaptive capacity. Therefore, population control of these molluscs constitutes an effective strategy for combating the disease, especially when associated with sanitation measures and treatment of patients. The use of molluscicides is the means used to carry out this control, with niclosamide currently being the only compound recommended for this purpose. However, characteristics such as lack of selectivity, as it also affects non-target organisms, high cost and the development of resistance on the part of snails, have caused the search for new molluscicides that are of plant origin to intensify, given the variety of activities biological characteristics that natural products can present. The genus *Copaifera* has 72 species distributed in the tropical regions of Latin America and South Africa. The trees can reach a height of 25 to 40 meters and produce an oleoresin made up of sesquiterpenes and diterpenes. Some properties found in species of the genus *Copaifera* stand out, such as anti-inflammatory, antibacterial, antifungal, antileishmanial and antimalarial activity, however no molluscicidal activity has been presented in the literature to date. Therefore, this study evaluated the toxicity of *Copaifera multijuga* Hayne resin oil (ORCM) on adults and embryos of *Biomphalaria glabrata*, Cercariae of *Schistosoma mansoni* and *Artemia salina*. These were exposed for 24 hours to ORCM solubilized in Tween 80 at different concentrations, ranging from 400 to 4.000 µg/mL for embryos, 200 to 4.000 µg/mL for adults and 200 to 1.000 µg/mL for *Artemia salina*, the *S. mansoni* cercariae were exposed for 2 h at concentrations of 100 to 1.000 µg/mL. After seven days, blastula embryos showed 85% nonviability at a concentration of 600 µg/mL with similar results in gastrula at 800 µg/mL. The percentage of nonviability seen in trochophora at a concentration of 2.000 µg/mL was 90%, while in veliger a concentration of 3.000 µg/mL was necessary to render 54% of the embryos unviable. Adult snails at concentrations 800, 1.000, 2.000, 3.000 and 4.000 showed mortalities of 40, 56, 86, 96 and 100%, respectively. At a concentration of 500 µg/mL, an intense change in the motility of the cercariae was observed in the first interval (15 minutes), while at 800 µg/mL all were dead. The ORCM demonstrated to be an effective molecule in the population control of *B. glabrata* in its different stages of the mollusk's life, however it presented ecotoxicity and its potential use should be focused and restricted.

Key words: Schistosomiasis. *Biomphalaria*. Embryos. Molluscicide. *Copaifera*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Distribuição da esquistossomose segundo percentual de positividade em inquéritos coproscópicos – Brasil, 2012.....	15
Figura 2 - Distribuição da esquistossomose segundo a média do percentual de positividade por município. Brasil, 2009-2020.....	16
Figura 3 - Distribuição da taxa de internação por esquistossomose mansoni, segundo ano e número de internações e município de residência, Brasil, 2010-2022.....	16
Figura 4 - Distribuição da taxa de mortalidade por esquistossomose mansoni, segundo ano e número de óbitos e município de residência, Brasil, 2010-2022.....	17
Figura 5 - Vermes adultos de <i>Schistosoma mansoni</i>	18
Figura 6 - Ovo de <i>Schistosoma mansoni</i>	18
Figura 7 - Cercária de <i>Schistosoma mansoni</i>	19
Figura 8 - Estrutura química da Oxamniquina.....	22
Figura 9 - Estrutura química incluindo numeração de átomos de praziquantel.	23
Figura 10 - Probabilidade da distribuição espacial dos caramujos hospedeiros intermediários de <i>S. mansoni</i> no Brasil; (A) <i>B. glabrata</i> ; (B) <i>B. straminea</i> ; (C) <i>B. tenagophila</i> e (D) <i>Biomphalaria spp.</i>	24
Figura 11 - Conchas das principais espécies hospedeiras de <i>S. mansoni</i> no Brasil. A – <i>Biomphalaria glabrata</i> , B - <i>Biomphalaria tenagophila</i> e C – <i>Biomphalaria straminea</i>	25
Figura 12 - Embriões de <i>Biomphalaria glabrata</i> em diferentes estádios embrionários. (A) Blástula, (B) Gástrula, (C) Trocófora, (D) Véliger.....	27
Figura 13 - Árvore da copaíba (<i>Copaifera langsdorffii</i>).....	32
Figura 14 - Diferentes estádios embrionários de <i>B. glabrata</i> . (A) blástula, (B) gástrula, (C) trocóforo e (D) véliger.....	38
Figura 15 - Toxicidade do ORCM para caramujos adultos de <i>B. glabrata</i> após 24h de exposição.....	42
Figura 16 - Mortalidade do bioindicador ambiental <i>A. salina</i> após exposição ao ORCM.....	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Mortalidade de diferentes estádios embrionários de <i>Biomphalaria glabrata</i> após exposição ao ORCM.....	40
Tabela 2 – Mortalidade de cercárias expostas ao ORCM em relação ao tempo de exposição.....	43

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATCC	American Type Culture Collection
ATP	Adenosina trifosfato
CH ₂ Cl ₂	Diclorometano
C4	Complemento C4
DP	Desvio Padrão
IL- 6	Interleucina 6
IL- 8	Interleucina 8
IL- 10	Interleucina 10
IOC	Instituto Oswaldo Cruz
LYZ	Lisozima
OMS	Organização Mundial da Saúde
ORCM	Óleo resina de <i>Copaifera multijuga Hayne</i>
PVC	Policloreto de Vinila
SISPCE	Sistema de Informação do Programa de Vigilância e Controle da Esquistossomose
SNC	Sistema Nervoso Central
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral alfa
WASH	Water, Sanitation and Hygiene
WHO	World Health Organization

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1 ASPECTOS GERAIS DA ESQUISTOSSOMOSE	14
2.1.1 Aspectos epidemiológicos da esquistossomose	14
2.1.2 Biologia do <i>Schistosoma mansoni</i>	17
2.1.3 Esquistossomose mansoni: Sintomas e quadro clínico	20
2.1.4 Tratamento da esquistossomose mansoni	21
2.2 HOSPEDEIROS INTERMEDIÁRIOS DO <i>SCHISTOSOMA MANSONI</i>	22
2.3 CONTROLE DOS HOSPEDEIROS INTERMEDIÁRIOS DO <i>SCHISTOSOMA MANSONI</i>	27
2.3.1 Moluscidas Sintéticos	28
2.3.2 Moluscidas Naturais	30
2.4 <i>COPAIFERA MULTIJUGA HAYNE</i>	32
3 OBJETIVOS	36
3.1 OBJETIVO GERAL	36
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	36
4 METODOLOGIA	37
4.1 DROGAS E PROTOCOLO PARA DETERMINAÇÃO DE TOXICIDADE ÓLEO RESINA DA <i>COPAIFERA MULTIJUGA HAYNE</i> (ORCM)	37
4.2 MANUTENÇÃO E OBTENÇÃO DE CARAMUJOS <i>BIOMPHALARIA GLABRATA</i> E DA CEPA DE <i>SCHISTOSOMA MANSONI</i>	37
4.3 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO ORCM SOBRE EMBRIÕES DE <i>BIOMPHALARIA GLABRATA</i>	37
4.4 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO ORCM SOBRE CARAMUJOS ADULTOS DE <i>BIOMPHALARIA GLABRATA</i>	38
4.5 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO ORCM SOBRE CERCÁRIAS DE <i>SCHISTOSOMA MANSONI</i>	38
4.6 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AMBIENTAL DO ORCM SOBRE <i>ARTEMIA SALINA</i>	39
4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA	39
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
5.1 TOXICIDADE DO ORCM SOBRE EMBRIÕES DE <i>BIOMPHALARIA GLABRATA</i>	40
5.2 TOXICIDADE DO ORCM SOBRE CARAMUJOS ADULTOS DE <i>BIOMPHALARIA</i>	

<i>GLABRATA</i>	41
5.3 TOXICIDADE DO ORCM SOBRE CERCÁRIAS DE <i>SCHISTOSOMA MANSONI</i>	42
5.4 TOXICIDADE AMBIENTAL DO ORCM SOBRE <i>ARTEMIA SALINA</i>	44
6 CONCLUSÃO	46
REFERÊNCIAS	47

1 INTRODUÇÃO

A esquistossomose é considerada uma das doenças parasitárias crônicas e debilitantes cujo impacto socioeconômico é superado apenas pela malária (Ponzo *et al.*, 2024). Estima-se que mais de 200 milhões de indivíduos estejam infectados com alguma espécie de *Schistosoma* e que aproximadamente 800 milhões de pessoas estejam expostas ao risco de contrair essa infecção. Esta helmintose é responsável por cerca de 280.000 mortes anuais no continente africano. Está presente em 78 países e territórios da África, Ásia, América do Sul e Central. *Schistosoma mansoni* é a espécie mais prevalente dentre as seis espécies que infectam o ser humano (*S. mansoni*, *S. haematobium*, *S. intercalatum*, *S. mekongi*, *S. malayensis* e *S. japonicum*) é endêmica na África e América do Sul. Nesta, é a única espécie encontrada, uma vez que somente espécies suscetíveis do gênero *Biomphalaria*, hospedeiro intermediário do parasito, estão presentes (Nelwan, 2019).

Os hospedeiros intermediários do *S. mansoni* são moluscos pertencentes à Família *Planorbidae* e Gênero *Biomphalaria*, os quais são representados no mundo por 36 espécies. No Brasil, o gênero *Biomphalaria* compreende onze espécies, porém as três espécies envolvidas na transmissão da doença são: *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818), *Biomphalaria straminea* (Dunker, 1848) e *Biomphalaria tenagophila* (d'Orbigny, 1835). Essas espécies mostram uma considerável resistência e sobrevivência em ambientes muito poluídos, fatores que preservam os riscos de transmissão ambiental da doença (BRASIL, 2005, 2007).

Para o controle da esquistossomose uma das medidas recomendadas pela OMS, além da implantação de medidas de saneamento e tratamento dos doentes, é o emprego de moluscidas para reduzir o número de hospedeiros intermediários, em locais onde a doença é endêmica (WHO, 2020). O controle do caramujo é difícil devido ao seu alto potencial reprodutivo e uma capacidade adaptativa extraordinária às condições ambientais, por isso ele se torna um dos elos mais resistentes na cadeia de transmissão da doença (Guimarães *et al.*, 2021).

Nesse contexto, a busca de novas drogas contra os moluscos hospedeiros intermediários do *S. mansoni* constitui uma das estratégias mais eficazes no combate à esquistossomose (Barreto *et al.*, 2007). As principais características requeridas em

moluscidas incluem alta efetividade, eliminar o caramujo em todas as fases do seu ciclo de vida, baixo custo, não interferir nas populações vegetais e animais do ambiente e ser estável (BRASIL, 2008).

Atualmente o único moluscida recomendado pela OMS é a niclosamida, composto sintético comercialmente conhecido como Bayluscide. Todavia, ele não apresenta seletividade, podendo ser tóxico para a fauna e flora, além do que há caramujos resistentes. Esses fatores justificam a procura por novos compostos moluscidas (Rey, 2008). Os produtos naturais são uma fonte de princípios ativos com diversas atividades biológicas. A ação moluscida de espécies vegetais tem sido frequentemente estudada, alguns autores obtiveram resultados promissores como, Araújo *et al.* (2018a), Silva *et al.* (2019), Cruz, Ribeiro e Vasconcelos (2022), França *et al.* (2022).

O gênero *Copaifera* possui 72 espécies distribuídas nas regiões tropicais da América Latina e África do Sul. *Copaifera multijuga* Hayne é uma espécie cuja árvore pode alcançar até 36 metros de altura. Ocorre no Brasil desde o Tapajós médio (Pará) até o oeste da Amazônia (Amazonas, Acre e Rondônia), no sul de Roraima e norte de Mato Grosso, bem como Bolívia e Peru. É conhecida popularmente como “mari-mari”, “copaíba” ou “copaíba roxa”. Produz óleo resina, formado por sesquiterpenos e diterpenos, viscosidade variável e fluida, com cheiro forte e odor de cumarinas, sabor azedo e amargo (Silva *et al.*, 2017). Nenhuma atividade moluscida foi encontrada na literatura até o momento entre as espécies de *Copaifera*, mas outras propriedades se destacam como anti-inflamatórias (Veiga; Pinto, 2002), antibacterianas e antifúngicas (Santos *et al.*, 2008a), além de atividade antileishmanial (Santos *et al.*, 2008b) e antimalárica (Souza *et al.*, 2017). Portanto, o uso de produtos naturais com atividade moluscida pode representar uma alternativa mais acessível e econômica e que evita impactos ambientais.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 ASPECTOS GERAIS DA ESQUISTOSSOMOSE

2.1.1 Aspectos epidemiológicos da esquistossomose

A esquistossomose é uma doença tropical negligenciada causada por platelmintos do gênero *Schistosoma*. É encontrada em 78 países, principalmente em regiões tropicais e subtropicais da África, Ásia e Américas Central e do Sul. Seis espécies são responsáveis pela esquistossomose humana, são elas: *S. japonicum*, *S. haematobium*, *S. mansoni*, *S. intercalatum*, *S. mekongi* e *S. malayensis*, sendo as três primeiras responsáveis pela maior taxa de prevalência desta parasitose (Fernández-Soto *et al.*, 2020).

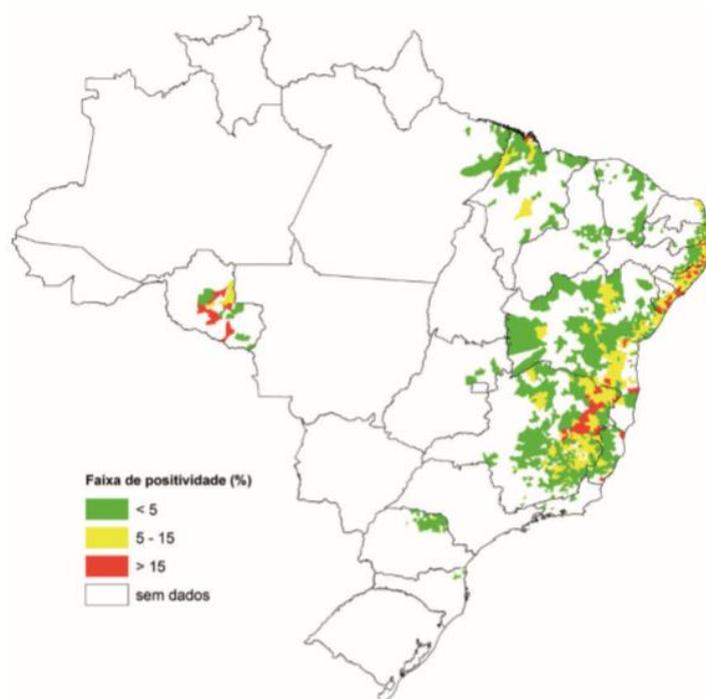
Estima-se que 240 milhões de pessoas são afetadas no mundo e que mais de 700 milhões vivem em áreas endêmicas, segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS). Na África Subsaariana, aproximadamente 280.000 mortes por ano foram relacionadas ao desenvolvimento da doença e complicações provenientes da infecção por *Schistosoma*. Um estudo publicado em 2019, que buscou avaliar a prevalência da esquistossomose na Uganda, encontrou uma prevalência de 25,6% no país, sendo a faixa etária de crianças com 2 a 6 anos com o maior risco encontrado. A presença de aspectos como o auto relato do comportamento de defecar a céu aberto, assim como a proximidade domiciliar ou comunitária com corpos hídricos, foram fatores que estavam associados ao aumento da prevalência de infecção nesses indivíduos. Os dados encontrados sugeriram um aumento para cerca de 10 milhões de indivíduos infectados com *S. mansoni* no país (Exum *et al.*, 2019).

Nas Américas, a esquistossomose está presente no Brasil, Venezuela, Suriname e Ilhas do Caribe, sendo mais endêmica no Brasil, está presente em 19 estados com uma prevalência estimada de 6 milhões de indivíduos infectados e 25 milhões em risco de infecção (Gazzinelli *et al.*, 2017). A região Nordeste apresenta alta predominância, abrangendo os estados de Pernambuco, Alagoas, Rio Grande do Norte, Paraíba, Bahia e Sergipe, se estendendo também pelo Espírito Santo e Minas Gerais. Nos estados do Ceará, Piauí e Maranhão (Nordeste), Pará (Norte), Goiás e

Distrito Federal (Centro-Oeste), Espírito Santo, São Paulo e Rio de Janeiro (Sudeste), Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Sul) as transmissões são mais focais (BRASIL, 2014).

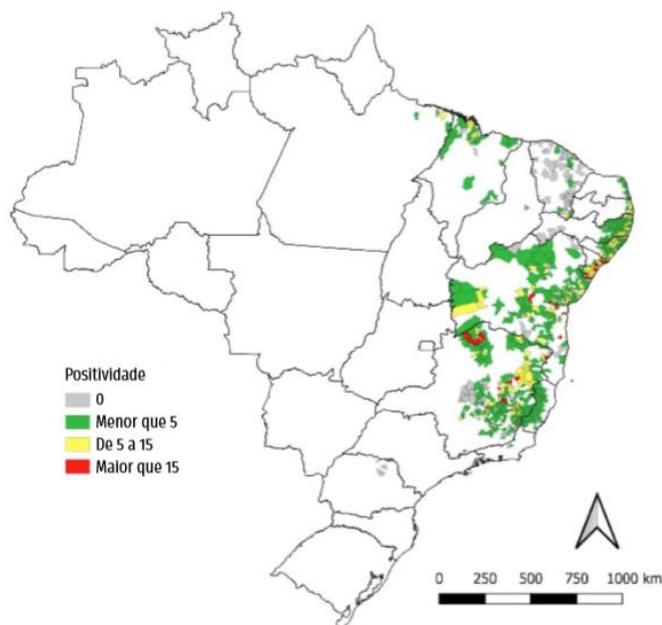
Segundo dados do Sistema de Informação do Programa de Vigilância e Controle da Esquistossomose (SISPCE), no ano de 2012, de 589.906 indivíduos examinados, 26.667 portavam o *S. mansoni*, apresentando um percentual de positividade de 4,5% (BRASIL, 2014). No ano de 2019, de 412.072 indivíduos examinados, houve 13.273 casos da doença, tendo um percentual de positividade de 3,22% (BRASIL, 2021). Apesar de ter ocorrido uma certa diminuição da porcentagem de positividade no período entre os anos de 2012 a 2019, os estados litorâneos das regiões Nordeste e Sudeste continuam a apresentar uma predominância significativa de casos de esquistossomose (Figuras 1 e 2).

Figura 1 - Distribuição da esquistossomose segundo percentual de positividade em inquéritos coproscópicos – Brasil, 2012.



Fonte: Vigilância da Esquistossomose Mansonii: Diretrizes Técnicas - BRASIL, 2014.

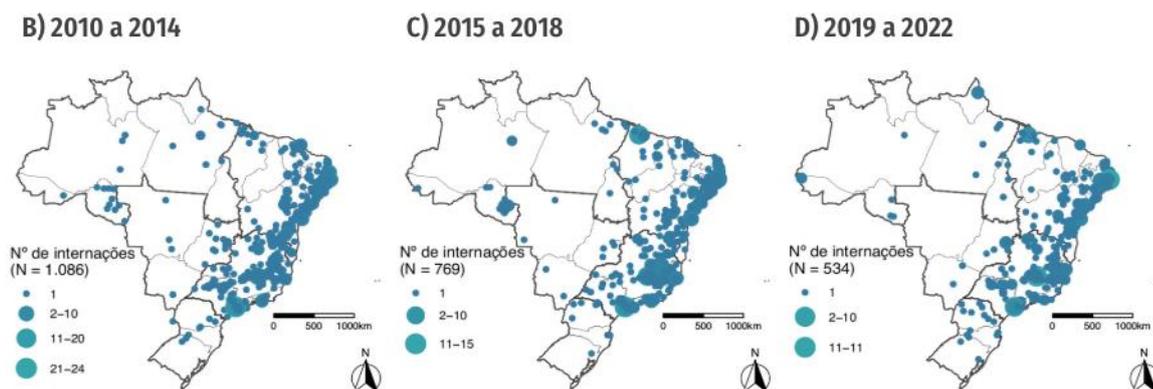
Figura 2 - Distribuição da esquistossomose segundo a média do percentual de positividade por município. Brasil, 2009-2020.



Fonte: Boletim Epidemiológico - BRASIL, 2021.

Entre os anos de 2010 e 2022, foram registrados um total de 2.389 internações por esquistossomose, principalmente nas regiões Nordeste e Sudeste, onde os maiores números foram nos estados de Pernambuco que apresentou 267 internações (2010 a 2014) e 124 internações (2019 a 2022), Minas Gerais que apresentou 188 internações (2010 a 2014) e 110 internações (2019 a 2022) e Sergipe que apresentou 38 internações (2010 a 2014) e 30 internações (2019 a 2022) (Figura 3) (BRASIL, 2022).

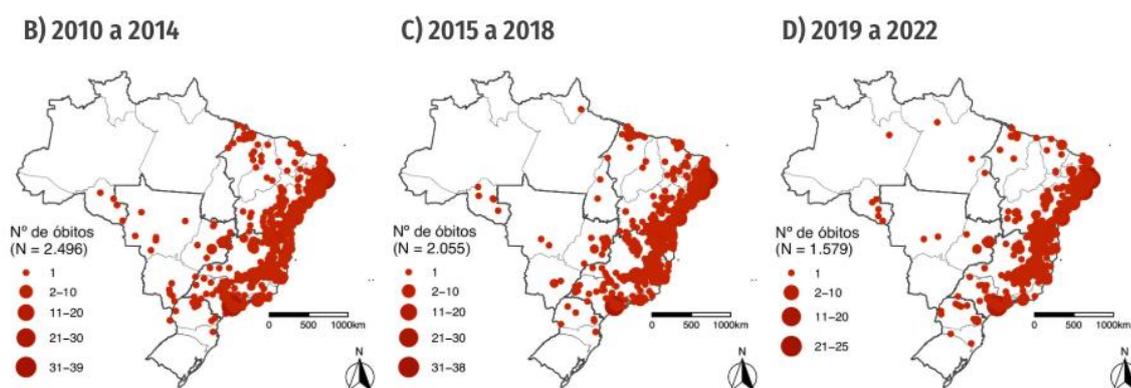
Figura 3 - Distribuição da taxa de internação por esquistossomose mansoni, segundo ano e número de internações e município de residência, Brasil, 2010-2022.



Fonte: Boletim epidemiológico - BRASIL, 2022.

Nesse mesmo período, foram registrados 6.130 óbitos por esquistossomose, também mais concentrados nas regiões Nordeste e Sudeste, com Pernambuco tendo 809 óbitos (2010 a 2014) e 495 óbitos (2019 a 2022), Alagoas com 241 óbitos (2010 a 2014) e 165 óbitos (2019 a 2022), Minas Gerais com 344 óbitos (2010 a 2014) e 269 óbitos (2019 a 2022) e Espírito Santo com 65 óbitos (2010 a 2014) e 29 óbitos (2019 a 2022) (Figura 4) (BRASIL, 2022).

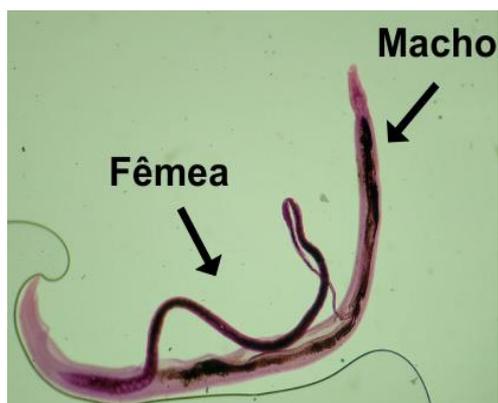
Figura 4 - Distribuição da taxa de mortalidade por esquistossomose mansoni, segundo ano e número de óbitos e município de residência, Brasil, 2010-2022.



Fonte: Boletim epidemiológico - BRASIL, 2022.

2.1.2 Biologia do *Schistosoma mansoni*

O *S. mansoni* possui um ciclo biológico do tipo heteroxênico, ou seja, necessita de dois hospedeiros para completar seu ciclo, um hospedeiro intermediário e um hospedeiro definitivo, onde ocorrem as reproduções assexuada e sexuada, respectivamente. Seu hábitat são os vasos sanguíneos do ser humano, mais especificamente as veias mesentéricas superiores e inferiores, plexo hemorroidário e porção intra-hepática da veia porta. Outra característica desse parasita é apresentar sexos separados e dimorfismo sexual. Morfologicamente a fêmea é mais fina, cilíndrica com extremidades afiladas, medindo cerca de 15 mm de comprimento e o macho é mais achatado, medindo entre 6,5 e 12 mm de comprimento (Figura 5). O macho é capaz de realizar um enrolamento ventral de suas bordas corporais, formando o canal ginecóforo, local em que a fêmea se encontra quando estão acasalados e onde ocorre a fecundação (BRASIL, 2014).

Figura 5 - Vermes adultos de *Schistosoma mansoni*.

Fonte: Autora, 2023.

Após a fecundação, a fêmea faz a postura dos ovos em vasos sanguíneos da mucosa intestinal, ela põe em torno de 400 ovos por dia (Figura 6). Ao atravessarem e chegarem à luz intestinal, os ovos podem ser evacuados junto com as fezes, esse tempo de migração costuma durar cerca de seis dias e possibilita o desenvolvimento da fase larvária, denominada por miracídio. A sua superfície é revestida por células epiteliais ciliadas, o que permite a sua movimentação no meio aquático. Ao chegar no ambiente exterior e entrar em contato com a água, fatores como temperatura e luz intensa fazem o miracídio eclodir e se movimentar. Estudos sugerem que os caramujos suscetíveis liberam substâncias que agem provocando uma quimiotaxise, auxiliando a diminuir a distância entre ambos, aumentar a probabilidade do encontro e assim a penetração do miracídio no caramujo (Melo; Coelho, 2005; Rey, 2008).

Figura 6 - Ovo de *Schistosoma mansoni*.

Fonte: Autora, 2023.

A combinação de movimentos contráteis e rotatórios, bem com a ação enzimática, possibilitam a penetração do miracídio nos tecidos do caramujo, seguido da perda de algumas estruturas e formação do esporocisto, uma estrutura sacular que contém as células germinativas, que por meio do processo de poliembrionia, irá gerar o esporocisto filho. O esporocisto filho ou também denominado esporocisto secundário ou esporocisto de segunda geração apresentará três áreas estruturais, sendo uma que poderá dar origem a uma nova geração de esporocisto, outra onde ocorrerá a formação das cercárias, e a terceira por onde as cercárias serão liberadas. As cercárias correspondem a fase evolutiva capaz de infectar o ser humano, possuindo divisão em corpo cercariano e cauda bifurcada, sendo assim também capazes de se movimentar (Figura 7). Novamente estímulos externos como luminosidade e temperatura são essenciais, eles irão acarretar a liberação das cercárias, que se movem pelo ambiente aquático até encontrar o novo hospedeiro (Melo; Coelho, 2005).

Ao conseguir alcançar a pele humana, principalmente nas regiões dos membros inferiores, por meio de ação lítica e mecânica, as cercárias penetram na pele perdendo a cauda e resultando assim no esquistossômulo. Essa é fase que irá migrar pelo organismo, passando pelo sistema vascular sanguíneo, coração e pulmões, até chegar no sistema porta intra-hepático, onde irá se desenvolver a verme adulto, amadurecer, acasalar e realizar a postura dos ovos, assegurando então a continuidade de seu ciclo (Melo; Coelho, 2005).

Figura 7 - Cercária de *Schistosoma mansoni*.



Fonte: Autora, 2023.

2.1.3 Esquistossomose mansoni: Sintomas e quadro clínico

A esquistossomose é uma doença veiculada pela água visto que as fases infectantes, quando presentes nos ambientes aquáticos, serão capazes de alcançar seus respectivos hospedeiros, caramujos e homem, nos quais irão habitar. Essa doença apresenta algumas manifestações e quadros clínicos que podem ser desenvolvidos após a infecção. A primeira manifestação clínica que pode ser observada provém da penetração de cercárias na pele. Quando há morte de algumas dessas larvas no tecido, através da ativação da resposta imune inata ocorre o surgimento de uma hipersensibilidade, se manifestando como uma reação pruriginosa maculopapular chamada de dermatite cercariana (Mcmanus *et al.*, 2018).

A esquistossomose aguda pode ocorrer devido a hipersensibilização sistêmica causada por antígenos liberados pelo esquistossômulo durante sua migração pelo organismo ou pela deposição de ovos. A síndrome de Katayama é um quadro que pode ser observado, sendo um conjunto de sintomas, o indivíduo vai apresentar febre, dor de cabeça, diarreia com sangue, eosinofilia e infiltrado pulmonar que pode ser visto pela radiografia do tórax, entre outros (Mcmanus *et al.*, 2020).

Os indivíduos que vivem em áreas endêmicas com risco de exposição constante relacionada a espécie *S. mansoni*, podem não apresentar esse quadro, uma possível explicação seria o processo de produção precoce de IL-10, devido a uma provável exposição repetida ao parasita. Sendo uma importante citocina anti inflamatória, a IL-10 será produzida por células T CD4 + na pele, resultando em uma resposta imune regulatória negativa, podendo diminuir o processo inflamatório (Sanin *et al.*, 2015).

O estágio de infecção ativo estabelecido se dá pela presença de vermes adultos maduros, postura e excreção dos ovos. A resposta imunológica agora vai ser direcionada aos ovos, que podem ficar retidos em alguns órgãos e por secretam glicoproteínas antigênicas solúveis, vão induzir a formação de granulomas, mediado por linfócitos T CD4+ e outras células inflamatórias. Essas glicoproteínas são responsáveis por auxiliar a passagem dos ovos pelo vaso sanguíneo para alcançar o lúmen intestinal. O objetivo do processo inflamatório é destruir os ovos, porém o dano

tecidual também pode ser ocasionado, gerando assim um processo fibrótico no órgão (Mcmanus *et al.*, 2018)

Em casos crônicos, pode-se observar acometimento intestinal, onde os ovos retidos provocam a inflamação granulomatosa, causando polipose, ulceração e hiperplasia, o paciente pode apresentar diarreia alternando com prisão de ventre, sangue nas fezes, cólicas, dor hipogástrica, entre outros. Na forma hepatoesplênica, a inflamação granulomatosa pode ocasionar hepatoesplenomegalia, frequente em crianças quando há uma infecção intensa, além de fibrose periportal com deposição de colágeno na região, que pode causar obstrução do fluxo sanguíneo, levando a hipertensão portal, nesse caso mais comum em faixas etárias maiores. A ascite, acúmulo de líquido na cavidade abdominal, também é uma complicação comum de se encontrar. Ademais, os ovos desse verme podem se depositar em locais menos habituais como no Sistema Nervoso Central (SNC), pulmão e coração levando a outras manifestações nesses órgãos (Mcmanus *et al.*, 2018; Mcmanus *et al.*, 2020).

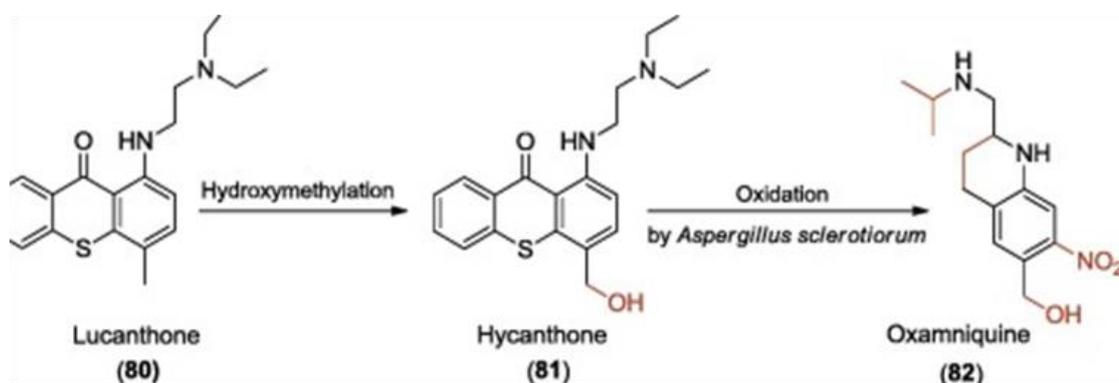
2.1.4 Tratamento da esquistossomose mansoni

Em 1918, teve início a introdução de alguns medicamentos para tratar a esquistossomose, sendo eles o tártaro emético (tartarato de potássio e antimônio), seguido depois de sais de antimônio, esse apresentava eficácia contra as espécies *S. mansoni*, *S. haematobium* e *S. japonicum*, porém foi deixado de ser utilizado por causar efeitos colaterais, como trombocitopenia e outras displasias sanguíneas. Posteriormente, surgiram novos compostos de administração oral, como a lucantona e seu metabólito ativo, a hicantona, que apresentaram efeitos colaterais graves relacionados ao SNC, sistema cardiovascular e danos hepáticos. O niridazol foi outra alternativa, mas que também se observou pouca tolerância dos pacientes, devido a apresentação de efeitos colaterais de toxicidade renal, convulsões e alucinações (Silva *et al.*, 2017).

A Oxamniquina foi um outro medicamento, apresentando atividade apenas contra o *S. mansoni* teve seu uso restringido a locais onde a espécie é encontrada. O processo de hidroximetilação da lucantona, gera a hicantona que ao ser oxidada pelo fungo *Aspergillus sclerotiorum*, dará origem à oxamniquina (Figura 8). Desenvolvido

pela Pfizer, esse medicamento possui alguns pontos semelhantes ao praziquantel como a administração oral, boa eficácia e baixo custo, porém é relatado que possui mais atividade contra vermes adultos machos do que fêmeas. Seu mecanismo de ação se baseia na alquilação do DNA, de proteínas e outras macromoléculas nucleofílicas, resultando na interrupção das funções metabólicas celulares e, então, morte do parasita (Silva *et al.*, 2017). Apesar de poucos efeitos colaterais terem sido observados com o seu uso, alguns pacientes relataram tontura, desconforto estomacal e dores de cabeça. O tratamento com oxamniquina para pessoas com epilepsia não é recomendado. A oxamniquina já foi amplamente utilizada no Brasil, mas com o surgimento do praziquantel e o seu uso sendo utilizado em larga escala, a oxamniquina também foi entrando em desuso (Silva *et al.*, 2017; Rugel, *et al.*, 2020).

Figura 8 - Estrutura química da Oxamniquina.



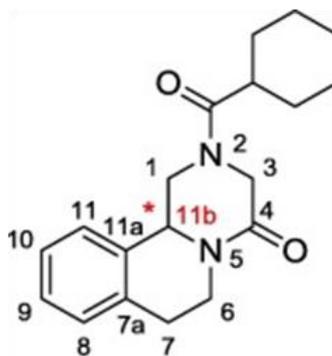
Fonte: Silva *et al.*, 2017.

O praziquantel é o atual medicamento de escolha para tratamento da esquistossomose, sendo eficaz contra todas as espécies de *Schistosoma*, atuando contra vermes adultos, mas tendo baixa atividade contra fases imaturas do parasita (Colley *et al.*, 2014). O seu mecanismo de ação ainda não é totalmente conhecido, mas estudos sugerem que o fármaco provoca alteração na permeabilidade da membrana do parasita, levando a um influxo de cálcio, causando grande contração seguido de paralisia muscular, o que leva ao seu desprendimento do tecido. Outra ação do medicamento seria de gerar vacuolizações no tecido tegumentar do parasita e esses processos acabam levando a morte desses vermes (Siqueira *et al.*, 2017).

As dosagens geralmente usadas de praziquantel são entre 40 a 60 mg/Kg e a eficácia de ação do medicamento pode ser observada por exames parasitológicos de

fezes. O índice de cura é de aproximadamente 80% para os adultos e de 70% para as crianças. Os efeitos colaterais mais comuns são gosto metálico na boca, náuseas, vômitos, desconforto abdominal, diarreia, cefaleia e tontura, porém costumam ser leves e transitórios (BRASIL, 2014; Silva *et al.*, 2017).

Figura 9 - Estrutura química incluindo numeração de átomos de praziquantel.



Fonte: Silva *et al.*, 2017.

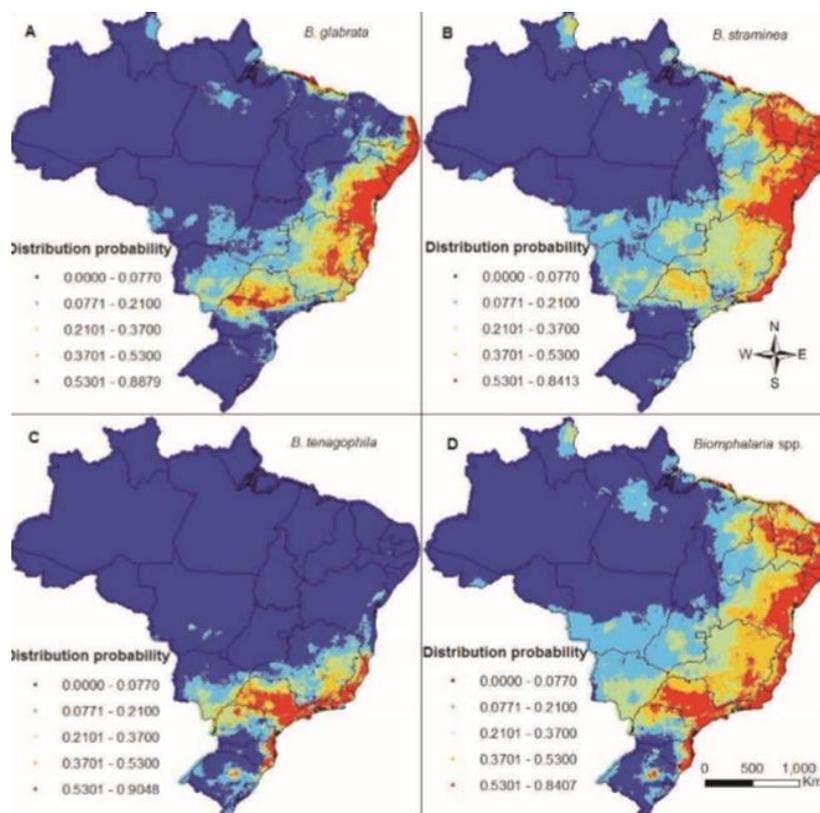
2.2 HOSPEDEIROS INTERMEDIÁRIOS DO *SCHISTOSOMA MANSONI*

Os hospedeiros intermediários do *Schistosoma mansoni* são moluscos pertencentes a família Planorbidae e gênero *Biomphalaria*. No Brasil há descrição de onze espécies e uma subespécie de *Biomphalaria*, são elas, *B. glabrata*, *B. straminea*, *B. tenagophila* e *B. tenagophila guaibensis* (subespécie), *B. peregrina*, *B. amazonica*, *B. cousini*, *B. schrammi*, *B. kuhniana*, *B. intermediai*, *B. oligoza* e *B. occidentalis*. Apenas as três primeiras são consideradas hospedeiros intermediários naturais do *S. mansoni* e as espécies *B. peregrina*, *B. amazonica* e *B. cousini* são consideradas hospedeiros potenciais por terem sido infectadas com o parasita de forma experimental (BRASIL, 2014).

Scholte *et al.* (2012), determinaram a distribuição do gênero *Biomphalaria* no Brasil, elaborando mapas de risco preditivo. Observou-se que a extensão das regiões Nordeste, Sudeste e Sul apresentaram alta probabilidade de ocorrência de caramujos desse gênero. A espécie *B. glabrata* se apresentou com ampla distribuição, principalmente no Nordeste, Sudeste e parte norte da região Sul, já a *B. straminea* se concentrou na região Nordeste e a *B. tenagophila*, nas regiões Sudeste e Sul. Esses autores demonstraram que seus resultados coincidiam com os achados da literatura.

Um ponto que observaram também foi que a temperatura e a precipitação são fatores climáticos que regem essa distribuição (Figura 10).

Figura 10 - Probabilidade da distribuição espacial dos caramujos hospedeiros intermediários de *S. mansoni* no Brasil; (A) *B. glabrata*; (B) *B. straminea*; (C) *B. tenagophila* e (D) *Biomphalaria* spp.



Fonte: Scholte *et al.*, 2012.

No período de janeiro de 2010 a outubro de 2022, foram detectados caramujos infectados por *S. mansoni* em 78 localidades dos estados brasileiros. De 2010 a 2014, em 44 localidades distribuídas entre Alagoas, Espírito Santo, Maranhão, Pará e Sergipe. De 2015 a 2018, em 28 locais distribuídos entre Alagoas, Bahia, Maranhão, Minas Gerais, Piauí e Sergipe. De 2019 a 2022, em 6 locais distribuídos entre Bahia, Ceará e Piauí. A espécie mais detectada nas localidades pesquisadas foi a *B. glabrata*, sendo em Alagoas (99,5%), Maranhão (100%), Minas Gerais (100%), Pará (100%) e Sergipe (99,5%). A *B. tenagophila* foi identificada apenas nas localidades pesquisadas do estado do Espírito Santo (100%), já a *B. straminea* foi identificada nos estados da Bahia (62,7%) e Piauí (100%) (BRASIL, 2022).

Os caramujos pertencentes ao gênero *Biomphalaria*, apresentam concha, geralmente planispiral, com diâmetro que varia entre 7 a 40mm e uma estrutura chamada músculo columelar, responsável por prender o corpo do animal à concha. Os indivíduos adultos de *B. glabrata* possuem concha medindo de 20 a 40mm de diâmetro e com cerca de 6 a 7 giros, enquanto na *B. tenagophila* o diâmetro varia de 15 a 35mm, mas com cerca de 7 a 8 giros, um ponto que difere essa espécie da anterior é a ausência da crista renal na região do manto ou da linha renal pigmentada, essas estruturas estão presentes nos indivíduos jovens de *B. glabrata*. Nos adultos de *B. straminea*, a concha varia de 10 a 16mm de diâmetro e apresenta cerca de 5 giros (Paranaense, 2008). As diferenças entre as conchas são apresentadas na imagem abaixo (Figura 11).

A espécie *B. glabrata* é um importante hospedeiro intermediário, sendo bastante ligado a transmissão do *S. mansoni* no território brasileiro, tendo em vista sua ampla distribuição pelos estados endêmicos, presença em diferentes coleções hídricas e alta suscetibilidade ao parasita (Carvalho *et al.*, 2018).

Figura 11 - Conchas das principais espécies hospedeiras de *S. mansoni* no Brasil. A – *Biomphalaria glabrata*, B - *Biomphalaria tenagophila* e C - *Biomphalaria straminea*.



Fonte: Adaptado de BRASIL, 2008.

Os indivíduos do gênero *Biomphalaria* costumam habitar coleções hídricas de água doce, como córregos, lagoas e pântanos, ou também coleções artificiais, como valas de irrigação, de drenagem e pequenos açudes. Possuem um tecido ricamente vascularizado e são capazes de realizar respiração atmosférica, pois apresentam cavidade pulmonar, mas também são aptos para realizar respiração aquática, que ocorre através de uma pseudobrânquia. Outra característica é a presença da rádula, situada no saco bucal, capaz de raspar o substrato e assim extrair os alimentos, que normalmente provém de matéria orgânica e sais minerais presentes no ambiente. Esses moluscos são hermafroditas, podendo realizar fecundação cruzada ou autofecundação, sendo a primeira, a escolha predominante para realizar a

reprodução, quando se encontram em condições ambientais favoráveis (BRASIL, 2008).

Quando em situações de seca, esses moluscos se utilizam de alguns mecanismos para sobreviver. Na ausência de água, são capazes de se retrair para o interior de sua concha, buscando diminuir os efeitos diretos da dessecação, mas o processo os leva a se utilizar das reservas alimentares, além de lidar com um suprimento limitado de oxigênio e a acumulação de excretas potencialmente tóxicas, por isso, a capacidade de conservar recursos e eliminar os produtos tóxicos provenientes do metabolismo, implica na sua resistência (BRASIL, 2008).

A espécie *B. straminea* é descrita como a que possui melhor adaptação à condição de dessecação (Bezerra *et al.*, 2018). A *B. glabrata*, em áreas sujeitas à secas, apresenta um comportamento de realizar uma emigração espontânea da água, mesmo em condições ainda favoráveis, bem como entrar num estado de dormência, chamado de diapausa, onde ocorre um retardo do desenvolvimento, e sofrer modificações morfológicas, como o espessamento da concha e formação de lamelas próximas à abertura. Tais alterações podem sinalizar uma antecipação a estação seca, assim conseguem encontrar locais mais protegidos para aguardar a volta de condições favoráveis (BRASIL, 2008; Pieri; Favre, 2008). A presença dessas características biológicas auxilia na preservação e expansão dos indivíduos do gênero *Biomphalaria* em ambientes sujeitos às perturbações ambientais (Tuan, 2009).

Ao atingir a maturidade sexual, os caramujos iniciam a postura dos ovos, que medem 100 μm de diâmetro e são envoltos por uma substância gelatinosa transparente, esse conjunto é denominado desova. Após a oviposição, esses ovos passam por algumas clivagens sucessivas até originar o primeiro estágio embrionário, chamado de blástula, que ocorre entre 0 e 15 horas da primeira clivagem (Figura 12A). No período de 24 a 39 horas, cessam as clivagens e se inicia uma fase de crescimento, diferenciação e pouca movimentação celular, sendo esse o estágio de gástrula (Figura 12B). A gastrulação ocorre por invaginação e ao final desse período tem-se o aparecimento da boca (Kawano; Nakano; Watanabe, 2008).

O terceiro estágio embrionário é o de trocófora, que ocorre entre as 40^a e 80^a horas após a primeira clivagem, nele se inicia a movimentação, que tende a ir aumentando, além de ocorrer a separação do corpo em região pré-trocal e região pós-

trocól (Figura 12C). Na primeira região, encontra-se a futura região cefálica, já na segunda, encontra-se a boca e na região oposta encontra-se a glândula da concha (Kawano; Nakano; Watanabe, 2008).

O estágio de véliger ocorre entre as 80^a e 120^a horas após a primeira clivagem, nessa fase há um desenvolvimento maior da concha e do pé, formação dos olhos, aumento do tamanho dos tentáculos, inicia-se o enrolamento da concha cobrindo o corpo, à medida que vai se desenvolvendo (Figura 12D). O estágio de hippo stage ocorre por volta de 144 horas, e nesta fase é possível observar o aparecimento dos tentáculos bem desenvolvidos, dos olhos, do enrolamento, além do corpo estar quase totalmente coberto pela concha (Kawano; Nakano; Watanabe, 2008).

Entre o sexto e nono dia depois da primeira clivagem, o jovem caramujo eclode da cápsula (Kawano; Nakano; Watanabe, 2008; Kawano; Okazaki; Re, 1992; Kawano *et al.*, 2004). Com cerca de 60 dias, os caramujos podem alcançar a maturidade sexual e começar a desovar, onde um só indivíduo pode produzir aproximadamente 10 milhões de descendentes em menos de 3 meses (Coelho; Caldeira, 2016). As três espécies de *Biomphalaria* (*B. glabrata*, *B. tenagophila* e *B. straminea*) não apresentam diferenças no seu desenvolvimento embrionário (Kawano; Nakano; Watanabe, 2008).

Figura 12 - Embriões de *Biomphalaria glabrata* em diferentes estádios embrionários. (A) Blástula, (B) Gástrula, (C) Trocófora, (D) Véliger.



Fonte: Araújo *et al.*, 2018a.

2.3 CONTROLE DOS HOSPEDEIROS INTERMEDIÁRIOS DO *SCHISTOSOMA MANSONI*

Segundo a OMS, algumas intervenções que podem ser utilizadas para combater e diminuir a transmissão da esquistossomose são o uso de quimioterapia preventiva em regiões altamente endêmicas, podendo ser direcionada a grupos de risco, e ainda a implementação do WASH (Water, sanitation and hygiene), que visa o

acesso à água potável, saneamento e gestão de excrementos adequados e educação de higiene individual. Uma terceira medida também empregada é o controle populacional dos caramujos, que se caracterizam como hospedeiros intermediários, considerando o seu papel no ciclo biológico do *Schistosoma mansoni*, sendo ligados à formação e liberação das cercárias, que são a fase infectante para o ser humano (WHO, 2020).

No Brasil, as áreas endêmicas da esquistossomose estão associadas à presença de moluscos *Biomphalaria*, sobretudo da espécie *B. glabrata* por ser amplamente distribuída. O controle desses animais pode ser utilizado como uma alternativa, associada a quimioterapia, visando reduzir a reinfecção, diminuir a prevalência e transmissão da esquistossomose. O uso de moluscidas é uma alternativa eficaz no controle de *Biomphalaria* em áreas com alta prevalência e altas taxas de infecções ou até locais identificados, que normalmente não estão associados com transmissão ou com a doença, a fim de conter a sua propagação (WHO, 2017). Quanto à origem, os moluscidas podem ser sintéticos ou derivados de espécies vegetais.

2.3.1 Moluscidas sintéticos

A niclosamida, conhecida comercialmente como Bayluscide, é um moluscida sintético, pertencente ao grupo salicilanilida, que tem uso recomendado pela OMS e é aprovado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), no Brasil. Apresenta alta atividade contra caramujos e seus ovos, bem como contra cercárias de *Schistosoma*, ao se utilizar baixas concentrações, porém apresenta elevado custo e necessidade de repetidas aplicações nos locais. Além disso, outro ponto observado é seu potencial tóxico para espécies aquáticas não-alvo, como peixes e anfíbios e os impactos ambientais que podem ser gerados (WHO, 2017; BRASIL, 2008).

O mecanismo de ação da niclosamida aparenta afetar a respiração e o metabolismo dos carboidratos, interferindo nos processos de oxidação. Esse mecanismo parece estar ligado ao comprometimento da função mitocondrial ao desacoplar a fosforilação oxidativa, o que acarretaria a redução da produção de ATP na forma aeróbica, afetando os organismos que sofrem exposição à niclosamida (BRASIL, 2008; Ionescu; Mitrovic; Wilkie, 2022).

Outros compostos sintéticos também apresentaram relatos de atividade contra a espécie de caramujo *B. glabrata*. Esses produtos pertencem a várias classes, como os compostos nitroaromáticos, 3-hidroxi-arilpropanonitrilas, derivados de quinolina, entre outros. No grupo das chalconas, há relatos que mudanças em sua estrutura podem interferir na atividade moluscicida, uma vez que um equilíbrio hidrofílico-lipofílico adequado pode auxiliar na melhoria da atividade. Por outro lado, a epoxidação das chalconas resultou na perda da atividade moluscicida. Alguns derivados de pirano mostraram atividade moderada contra massas de ovos de *B. glabrata*. O lapachol e seus derivados também exibem boa atividade contra caramujos adultos e ovos, como o sal de potássio do isolapachol, porém alguns compostos apresentaram alta toxicidade contra peixes, crustáceos planctônicos e *Artemia salina* (Zheng *et al.*, 2021).

O acúmulo de niclosamida na água e no ambiente pode afetar ecossistemas e a saúde animal. Concentrações de niclosamida foram encontradas nos músculos de dez peixes comerciais, na região do Lago Dongting, na China (Wu *et al.*, 2024). Um estudo com indivíduos jovens de esturjão do lago (*Acipenser fulvescens*), uma espécie de peixe de água doce, realizou sua exposição, por até 9 h, à diferentes concentrações de niclosamida. Foi observado que os peixes sofreram morte de maneira dependente da dose e do tempo. Aqueles que permaneceram vivos apresentaram diminuição de ATP e glicose cerebral, bem como de glicogênio hepático, além da elevação imediata e sustentada de lactato cerebral. Esses peixes apresentaram recuperação dos parâmetros analisados após 24h da exposição (Ionescu; Mitrovic; Wilkie, 2022).

Wu *et al.* (2024), observaram que a exposição de alevinos de carpa preta (*Mylopharyngodon piceus*) à niclosamida, por um período de 28 dias, levou a um aumento notável na expressão dos genes TNF- α , IL-8 e IL-6, assim como atividades aumentadas de complemento C4 e lisozima (LYZ), o que pode indicar alterações nas respostas inflamatórias e imunossupressoras, e induzir assim o estresse fisiológico. Essas alterações podem ser resultantes de uma disfunção metabólica, inflamação e ativação imune inata. Os autores também observaram outras modificações imunológicas. Demais pesquisas mostraram que a exposição à niclosamida pode levar ao comprometimento do desenvolvimento embrionário e a perturbações endócrinas e metabólicas no peixe-zebra (Zhu *et al.*, 2020; Chen *et al.*, 2024). Considerando as implicações que podem ser geradas pelo uso de moluscicidas

sintéticos em relação ao ambiente e organismos não-alvo, assim como o custo da sua utilização para áreas que possuem demanda, o estudo de moluscidas naturais se apresenta como uma alternativa que pode ser mais econômica, com eficácia semelhante e menor toxicidade ambiental.

2.3.2 Moluscidas Naturais

Os produtos naturais são uma fonte de princípios ativos que podem apresentar diversas atividades biológicas. Em 1930, com o plantio da espécie *Balanites aegyptiaca* L. (*Balanitaceae*), árvore típica do deserto africano, foi possível observar que seus frutos reduziam a densidade de caracóis no local da plantação. Esse fato intensificou o interesse pelo desenvolvimento de moluscidas de origem natural, que possam ser usados no controle da esquistossomose (Pereira *et al.*, 2020). A atividade tóxica contra os hospedeiros intermediários do *Schistosoma*, que alguns produtos naturais apresentam, pode estar ligada à presença de metabólitos secundários como taninos, saponinas, terpenoides, esteroides, flavonoides, alcaloides e cumarinas (Catanhede *et al.*, 2010; Zheng *et al.*, 2021). Essas atividades biológicas podem estar ligadas a ação de um componente isolado ou a uma ação sinérgica de um conjunto de diferentes moléculas (Rangel *et al.*, 2023).

Alguns estudos relataram a atividade moluscida em extratos e frações de espécies vegetais. Faria *et al.* (2018), avaliaram o extrato bruto de folhas de *Manilkara subsericea* e sua fração acetato de etila, que tiveram descrição na literatura da presença de componentes como triterpenos, esteroides, saponinas, polifenóis, alcaloides, carotenoides e ácidos graxos. Os testes foram realizados com caramujos adultos (*B. glabrata*) com exposição de 24, 48, 72 e 96 h. Na concentração de 250 µg/mL, houve mortalidade de 53% e 97% para o extrato bruto e para a fração acetato de etila, respectivamente, após a exposição de 96 h.

Os autores ainda isolaram alguns constituintes que se mostraram estar em maior quantidade na fração acetato de etila e também testaram para atividade moluscida. O ácido ursólico na concentração de 100 µg/mL causou mortalidade de cerca de 60%, a miricetina e a quercetina induziram mortalidade de 100% após 96 h, na mesma concentração. Também foi observado que os flavonoides, miricetina e quercetina, estavam presentes em outros extratos de folhas que apresentaram

atividade contra *B. glabrata*, como das espécies *Eugenia malaccensis* L. e *Annona muricata* (Faria *et al.*, 2022).

O extrato salino de *Bauhinia monandra* Kurz e sua fração apresentaram em sua composição açúcares, saponinas (apenas no extrato salino), flavonoides e derivados cinâmicos. Foram utilizados estádios embrionários de *B. glabrata* e indivíduos adultos, com exposição de 24 h, e se observou que as duas preparações obtiveram embriotoxicidade diretamente proporcional às concentrações utilizadas, onde os estádios iniciais de blástula e gástrula apresentaram maior suscetibilidade. Nos caramujos adultos, o extrato salino apresentou mortalidade de 16,6% na concentração de 4,0 mg/mL e a fração um percentual de 83,3% na concentração de 1,0 mg/mL e 100% na concentração de 2,0 mg/mL. Os autores relataram que quando avaliado por 7 dias, os indivíduos adultos expostos ao extrato salino apresentaram mortalidade crescente. Além disso, a avaliação da atividade contra cercárias de *S. mansoni*, mostrou que houve redução da movimentação quando expostas ao extrato salino e à fração, que também apresentou mortalidade total, na concentração de 2,0 mg/mL após 90 min. Segundo os autores, resultados de redução de movimento também foram observados na exposição ao extrato aquoso de *Glinus lotoides*, já o de mortalidade foi observado na exposição ao óleo essencial da folha de *Croton rudolphianus* (Aguiar *et al.*, 2022).

Os óleos essenciais também vêm sendo estudados, sua composição pode variar, mas estudos que realizaram análise química desses produtos mostraram que seus constituintes majoritários pertencem às classes dos monoterpenos, sesquiterpenos, fenilpropanoides, ésteres e cetonas, e classes indefinidas. A presença de hidrocarbonetos monoterpenos e de monoterpenos oxigenados em alto teor na composição, foi observado nos óleos essenciais que apresentaram maior toxicidade (Pereira *et al.*, 2020).

Um estudo com o óleo essencial de *Dysphania ambrosioides* (L.) observou componentes monoterpenos como os mais predominantes, onde observaram monoterpenos hidrocarbonetos (66,87%) e monoterpenos oxigenados (25,46%). Os constituintes majoritários foram α -terpineno (50,69%), p-cimeno (13,27%) e ascaridol (10,26%). Esse óleo essencial demonstrou atividade contra caramujos adultos de *B. glabrata* a partir da concentração 25 μ g/mL, induzindo 100% de mortalidade na

concentração de 50 µg/mL, após 24h de exposição. Na avaliação da atividade cercaricida, apresentou efeitos letais na concentração de 25 µg/mL, após 60 min de exposição, enquanto nas concentrações de 50 a 100 µg/mL a mortalidade das cercárias ocorreu em 15 min (Pereira *et al.*, 2022).

Segundo Machado *et al.* (2023), a caracterização química do óleo essencial de folhas da espécie *Myrciaria floribunda*, revelou 11,33% de frações monoterpênicas e 80,49% de frações sesquiterpênicas, sendo alguns constituintes identificados como mais abundantes, o nerolidol, o β-selineno, o 1,8-cineol e o zonareno, resultados semelhantes, segundo os autores, a outros estudos que pesquisaram essa espécie. A nanoemulsão desse óleo essencial apresentou 100% de mortalidade, após 24 h de exposição, para embriões de *B. glabrata* com 72 horas de vida (80 µg/mL), caramujos juvenis (40 µg/mL) e caramujos adultos (80 µg/mL). Em cercárias de *S. mansoni*, na concentração de 60 µg/mL, após 3 h, houve 100% de mortalidade.

2.4 COPAIFERA MULTIJUGA HAYNE

O gênero *Copaifera* pertence à família *Fabaceae*, também conhecida como *Leguminosae*, existe descrição de 72 espécies distribuídas pela África do Sul e América latina. No Brasil são encontradas em torno de 16 espécies, sendo as mais abundantes na América latina a *C. officinalis* L. (Norte do Amazonas, Roraima, Colômbia e Venezuela), *C. guianensis* (Guianas), *C. reticulata* Ducke, *C. multijuga* Hayne (Amazônia), *C. confertiflora* (Piauí), *C. langsdorffii* (Brasil, Argentina e Paraguai), *C. cariacea* (Bahia) e *C. cearensis* Huber ex Ducke (Ceará). As árvores podem atingir uma altura de 25 a 40 metros (Figura 13), possuem casca aromática, folhagem densa, flores pequenas, frutos secos do tipo vagem e crescimento lento. Conhecidas popularmente como “copaíba”, “copaibeira”, “pau-de-óleo”, “marimari”, “palo-de-bálsamo”, a origem do nome surgiu do tupi “*cupa-yba*” que significa “árvore de depósito”, fazendo referência ao óleo que possui em seu interior (Pieri; Mussi; Moreira, 2009; Lima *et al.*, 2021).

Figura 13 - Árvore da copaíba (*Copaifera langsdorffii*)



Fonte: Pieri; Mussi; Moreira, 2009.

Essas plantas produzem um óleo resina que pode ser obtido através da perfuração do tronco da árvore. A técnica consiste na perfuração do tronco em dois furos, o primeiro a 1 metro acima da base da planta e o segundo de 1 a 1,5 metros acima do primeiro, ao inserir um cano de PVC de 3/4 de polegada nos orifícios, o óleo escoar, e então é reservado. Após a extração, o orifício é vedado para proteção da árvore contra fungos e cupins (Pieri; Mussi; Moreira, 2009). Características sazonais e climáticas do ambiente, tipo e composição do solo, índice pluviométrico, a predação de insetos e infecção por patógenos são fatores que podem causar diferenças na composição do óleo resina (Trindade; Silva; Setzer, 2018). Além disso, a concentração e o tipo de constituintes desse óleo resina também pode variar dependendo da espécie da qual foi coletado, sendo geralmente composto de terpenóides (Carneiro *et al.*, 2020). Esse produto possui uma parte resinosa não volátil formada por ácidos diterpênicos e outra parte de um óleo essencial, composto de sesquiterpenos, podendo ser dividido em sesquiterpenos oxigenados e hidrocarbonetos sesquiterpênicos (Pieri; Mussi; Moreira, 2009).

Segundo Cascon e Gilbert (2000), o estudo da composição química de amostras de óleo resina de três espécies do gênero *Copaifera*, mostrou que o da espécie *C. multijuga* Hayne era representado 80% por hidrocarbonetos sesquiterpênicos, tendo predominância do β -cariofileno, α -copaeno, α -humuleno, α -

bergamoteno e δ -cadineno. Dos ácidos diterpênicos, os principais foram o ácido copálico, enantio-agático e 3-acetoxico-copálico. O β -cariofileno e α -bergamoteno também foram identificados em amostras das espécies *C. guianensis* e *C. duckei*. Outro estudo também encontrou resultados semelhantes relacionados a espécie *C. multijuga* Hayne, com os sesquiterpenos β -cariofileno (45,65%), α -humuleno (15,47%) e α -copaeno (14,05%), além da identificação de ácidos diterpênicos (Carneiro *et al.*, 2020).

Alguns integrantes do gênero *Copaifera* vêm sendo estudados quanto ao potencial de seus produtos, principalmente o óleo resina extraído de seu tronco. Pesquisas observaram a presença de ação cicatrizante (Masson, 2011; Albuquerque *et al.*, 2017), antileishmanial (Santos *et al.*, 2008; Albuquerque *et al.*, 2017), antiinflamatória (Junior *et al.*, 2007; Leandro *et al.*, 2012; Becker *et al.*, 2020), antibacteriana (Pieri *et al.*, 2012; Masson *et al.*, 2013; Bardají *et al.*, 2016), antifúngica (Deus; Alves; Arruda., 2011; Menezes Filho; Castro, 2020) e antimalárica (Souza *et al.*, 2017).

A *Copaifera multijuga* Hayne ocorre no território brasileiro desde o Tapajós médio (Pará) até o oeste da Amazônia (Amazonas, Acre e Rondônia), no sul de Roraima e norte de Mato Grosso, sendo umas das espécies que são utilizadas nos estudos, apresenta certas atividades biológicas. Um estudo que buscou avaliar a atividade antiinflamatória de três espécies (*Copaifera multijuga* Hayne, *Copaifera cearensis* Huber ex Ducke e *Copaifera reticulata* Ducke) relatou que o óleo resina de *C. multijuga* Hayne foi capaz de inibir a produção de óxido nítrico na menor concentração utilizada (5 $\mu\text{g/mL}$), enquanto as outras foram eficazes nas concentrações de 50 $\mu\text{g/mL}$ e 500 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. No modelo de pleurisia induzida, a *C. multijuga* Hayne inibiu em 45% o acúmulo total de leucócitos e 73% o acúmulo de neutrófilos com o tratamento oral de 100 mg/kg (Junior *et al.*, 2007).

Como antimicrobiano, o óleo resina de *C. multijuga* Hayne mostrou um potencial de inibição do crescimento bacteriano que variou de acordo com a diluição, onde as concentrações de 100% a 1,56% foram as que apresentaram inibição do crescimento dos microrganismos avaliados (*Escherichia coli* ATCC-25922, *Staphylococcus aureus* ATCC-25923 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC-9027), sendo as concentrações inibitórias mínimas de 1,56, 3,12 e 12,5% para *E. coli*, *S.*

aureus e *P. aeruginosa*, respectivamente (Mendonça; Onofre, 2009). Brasil *et al.* (2022), analisaram uma emulsão do óleo resina de copaíba com o intuito de utilizá-la como um biomodificador dentinário que é administrado em cavidades que serão restauradas. A análise ocorreu em diferentes períodos, no tempo zero, em 6 meses e em 12 meses. Os autores observaram que a emulsão do óleo resina, no tempo zero, apresentou atividade bacteriostática frente ao *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus paracasei* até a concentração de 13,33 µL/mL e atividade bactericida a partir da concentração de 15 µL/mL. Nos outros períodos também se observou atividade bactericida e bacteriostática da emulsão em algumas das concentrações testadas, dependendo do ambiente em que foi feito seu armazenamento.

Menezes Filho e Castro (2020) observaram atividade antifúngica do óleo resina de *C. multijuga* Hayne contra *Sclerotinia sclerotiorum* nas concentrações de 12,5, 25, 50 e 100 µL/mL⁻¹ com porcentagens de inibição iguais a 26,77%, 49,18%, 58,71% e 60,03%, respectivamente. Uma leve atividade de inibição de crescimento foi observada para *Colletotrichum gloeosporioides* apenas nas maiores concentrações e 25, 50 e 100 µL/mL⁻¹ com porcentagens iguais a 19,88%, 33,67% e 38,21%, respectivamente, sendo essa espécie menos sensível ao óleo resina. Além disso, apresentou atividade fungistática para leveduras do gênero *Candida*, *Candida guilliermondii* (IOC-2889), *Candida tropicalis* (IOC-3610) e *Candida parapsilosis* (IOC-2882), e halos de inibição próximos ao nitrato de miconazol, um fungicida comercial, para 5 espécies de fungos filamentosos, *Aspergillus flavus* (IOC-3974), *Aspergillus niger* (IOC-200), *Aspergillus tamarii* (IOC-186), *Aspergillus tamarii* (IOC-187) e *Aspergillus terreus* (IOC-217), sendo a primeira espécie relatada como a mais suscetível à inibição pelo óleo resina (Deus; Alves; Arruda., 2011).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a toxicidade do óleo resina de *Copaifera multijuga* Hayne (ORCM) sobre os estádios embrionários e moluscos adultos de *Biomphalaria glabrata*, cercárias de *Schistosoma mansoni* e ecotoxicidade com *Artemia salina*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a toxicidade do ORCM sobre os embriões de *Biomphalaria glabrata* em diferentes estádios evolutivos (blástula, gástrula, trocófora e véliger);
- Avaliar a toxicidade do ORCM sobre caramujos adultos da *Biomphalaria glabrata*;
- Avaliar a toxicidade do ORCM sobre cercárias de *Schistosoma mansoni*;
- Avaliar a toxicidade ambiental do ORCM sobre *Artemia salina*.

4 METODOLOGIA

4.1 DROGAS E PROTOCOLO PARA DETERMINAÇÃO DE TOXICIDADE ÓLEO RESINA DA *COPAIFERA MULTIJUGA HAYNE* (ORCM)

O óleo resina de *C. multijuga Hayne* (ORCM) foi cedido em colaboração com o Laboratório de Bioprospecção e Biologia Experimental da Universidade Federal do Oeste do Pará. Inicialmente, para a realização dos bioensaios sobre caramujos *B. glabrata* (embriões e adultos), as concentrações de ORCM foram determinadas a partir dos estudos de toxicidade ambiental com *Artemia salina* através de protocolos estabelecidos em nosso laboratório e com base nos estudos de Martins *et al.* (2017), Araújo *et al.* (2018a,b) *et al.* (2018a). A niclosamida foi obtida da Bayluscide, Bayer®. Todos os reagentes de grau analítico foram obtidos da Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, EUA).

4.2 MANUTENÇÃO E OBTENÇÃO DE CARAMUJOS *BIOMPHALARIA GLABRATA* E DA CEPA BH DE *SCHISTOSOMA MANSONI*

As sucessivas gerações de colônias de caramujos *B. glabrata* e do parasita *S. mansoni* (BH – Minas Gerais) são mantidas no moluscário da disciplina de parasitologia e no biotério (com camundongos) do Instituto Keizo Asami (iLIKA) ambos da UFPE. Os moluscos são mantidos em tanques plásticos com aproximadamente 12L de água filtrada e desclorada, temperatura de cerca de 25°C ± 3°C e são alimentados diariamente com alface orgânica fresca *Lactuca sativa L.*

4.3 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO ORCM SOBRE EMBRIÕES DE *BIOMPHALARIA GLABRATA*

Embriões (n=100) em estádios de blástula (0^a a 15^a h após a primeira clivagem mitótica), gástrula (24^a a 39^a h), trocófora (43^a a 66^a h) e véliger (96^a a 120^a h) (Figura 11), foram expostos durante 24 h ao ORCM em diferentes concentrações (400 a 4.000 µg/mL) em placas Petri com solução final de 10 mL. O experimento foi realizado em triplicata. Foram realizados três grupos controles, os dois primeiros sendo negativos, foram com apenas água filtrada declorada e Tween 80 (3%) com água filtrada declorada e o terceiro grupo controle, sendo positivo, com niclosamida a 1 µg/mL.

Após a exposição os embriões foram lavados e mantidos em água filtrada decolorada por 7 dias ou até a eclosão de todos os caramujos do grupo controle para serem avaliados quanto a sua viabilidade (vivos) e inviabilidade (malformações e/ou mortos), todo procedimento experimental foi realizado de acordo com Araújo *et al.* (2018b). Os estádios embrionários utilizados nesse experimento são representados na figura abaixo (Figura 14),

Figura 14 - Diferentes estádios embrionários de *B. glabrata*.
(A) blástula, (B) gástrula, (C) trocófora e (D) veliger.



Fonte: Autora, 2023.

4.4 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO ORCM SOBRE CARAMUJOS ADULTOS DE *BIOMPHALARIA GLABRATA*

Caramujos adultos (n=10) medindo entre 10-14 mm de diâmetro de concha, foram expostos ao ORCM durante 24h em diferentes concentrações (200 a 4.000 µg/mL) com volume final de 60 mL, para cada solução (WHO, 1965). O experimento foi realizado em triplicata. Os grupos controles negativos foram realizados nas mesmas condições que os experimentos feitos com embriões, sendo o primeiro apenas com água filtrada decolorada e o segundo com Tween 80 (3%) e água filtrada decolorada. A niclosamida foi utilizada para o controle positivo (1 µg/mL).

4.5 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO ORCM SOBRE CERCÁRIAS DE *SCHISTOSOMA MANSONI*

A atividade sobre cercárias de *S. mansoni* foi realizada de acordo com o método descrito por Araújo *et al.* (2018b). Caramujos *B. glabrata* adultos infectados com *S. mansoni* (cepa BH, Brasil), foram colocados em Becker contendo 100 mL de água

destilada e expostos à luz artificial (60 W; 2 h) para eliminação das cercárias. Uma suspensão de aproximadamente 100 cercárias foi mantida em vidro relógio e expostas ao ORCM em diferentes concentrações (100 a 1.000 µg/mL). Para os controles negativo (1 e 2) e positivo, utilizou-se água filtrada dechlorada, tween 80 (3%) em água filtrada dechlorada e niclosamida (1 µg/mL), respectivamente. O ensaio foi realizado em triplicata e a letalidade das cercárias foi observada com o auxílio de um estereomicroscópio (Lumen, Modelo 5289), nos intervalos de 15, 30, 60, 90 e 120 minutos e avaliadas quanto aos seguintes parâmetros de escores de motilidade: 3: movimentos natatórios intermitentes (tail-first). 2: Redução do movimento com ritmo lento. 1: Contorções e movimentos em apenas uma extremidade. 0: Ausência completa de movimento/morte.

4.6 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AMBIENTAL DO ORCM SOBRE *ARTEMIA SALINA*

Para o ensaio de toxicidade ambiental, ovos encistados de *A. salina* (50 mg) foram colocados em recipientes com água do mar (pH 8), sob luz artificial e aeração constante em temperatura de 25 °C por 48h, tempo para eclosão. Em seguida, larvas de *A. salina* foram separadas em grupos (n=10) e submetidas a diferentes concentrações do ORCM (200 a 1.000 µg/mL) incubadas em água do mar, por 24h na mesma temperatura. Controles negativos foram realizados em água do mar e Tween 80 a 3%. Os testes foram realizados em quadruplicatas e a avaliação da mortalidade e sobrevivência das larvas foram realizadas através de um microscópio estereoscópico (Araújo *et al.*, 2018b).

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram expressos como média ± desvio padrão (DP). A análise de variância (ANOVA) foi usada para comparação entre os grupos. Quando a ANOVA revelou uma diferença significativa, o pós-teste de Tukey foi usado para identificar a diferença entre os grupos. As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$. GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, US).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 TOXICIDADE DO ORCM SOBRE EMBRIÕES DE *BIOMPHALARIA GLABRATA*

O ORCM causou mortalidade em todos os estádios de desenvolvimento dos embriões de *B. glabrata* nas concentrações avaliadas. O ORCM apresentou efeito embriotóxico, na menor concentração utilizada, nos estádios de blástula, gástrula e trocófora, inviabilizando 61, 51 e 39 % dos embriões, respectivamente. Enquanto no estádio de véliger esse efeito foi iniciado na concentração de 1.000 µg/mL, inviabilizando 6,66% dos embriões. Os estádios embrionários mostraram 100% de inviabilidades nas concentrações 1.000, 1.000, 2.000 e 4.000 µg/mL respectivamente (Tabela 1). Os estádios embrionários iniciais (blástula e gástrula) foram os mais suscetíveis ao ORCM comparado aos demais estádios trocóforo e véliger. Resultados semelhantes foram observados com ensaios de embriotoxicidade expostos ao ácido úsnico extraído do líquen *Cladonia substellata* (Araújo *et al.*, 2018a), da amida piplartina isolada de *Piper tuberculatum* (Rapado *et al.*, 2013), da fração de CH₂Cl₂ do extrato de *Liagora farinosa* (algas) (Miyasato *et al.*, 2012) e do óleo essencial de *Croton Rudolphianus* (Ribeiro *et al.*, 2021). Os autores sugerem uma maior sensibilidade para ambos os estádios devido à intensa atividade de proliferação celular no início do desenvolvimento embrionário, em suas primeiras horas de intensas clivagens mitóticas. No entanto, os testes de toxicidade sobre embriões de *Physa acuta* (molusco) (Li *et al.*, 2014), *Rana nigromaculata* (rã), (Li *et al.*, 2009) e *Carassius auratus* (peixe) (Wang *et al.*, 2010) para o brometo 1- octil-3-metilimidazólio [C8mim] Br, e sobre os embriões de *B. glabrata* expostos ao usnato de potássio (Araújo *et al.*, 2018b) e ao extrato etéreo de *Ramalina aspera* (Silva *et al.*, 2019) derivados de líquens, os embriões nos estádios evolutivos iniciais foram menos susceptíveis aos agentes moluscidas.

Tabela 1 - Mortalidade de diferentes estádios embrionários de *Biomphalaria glabrata* após exposição ao ORCM.

estádios embrionários inviáveis (%)				
Grupo experimental (µg/mL)	Blástula	Gástrula	Trocófora	Véliger
CN 1	1,3 ± 1,0	2,3 ± 1,0	1,3 ± 1,0	1,7 ± 1,0

CN 2	0,7 ± 1,2	1,7 ± 1,5	1,0 ± 0,57	2,3 ± 2,3
CP	100	100	100	100
ORCM				
400	61,66 ± 3,27 ^c	51,33 ± 6,11 ^c	39,45 ± 5,01 ^c	(-)
600	85,67 ± 11,02 ^c	75,67 ± 9,45 ^c	45,33 ± 4,72 ^c	(-)
800	91,33 ± 5,09 ^c	81,33 ± 3,05 ^c	61,33 ± 7,61 ^c	(-)
1.000	100 ^c	100 ^c	66,66 ± 4,11 ^c	6,66 ± 6,42
2.000	(-)	(-)	90,57 ± 9,11 ^c	19,33 ± 16,62 ^b
2.500	(-)	(-)	100 ^c	32,67 ± 19,14 ^c
3.000	(-)	(-)	(-)	54,33 ± 9,81 ^c
4.000	(-)	(-)	(-)	100 ^c

Os valores foram expressos como média ± desvio padrão. CN 1= controle negativo 1 (Água filtrada declorada); CN 2 = controle negativo 2 (Tween 80 (3%) e água filtrada declorada); CP = controle positivo (Niclosamida: 1 µg/mL) e diferentes concentrações do ORCM (µg/mL). Resultados significativos foram comparados com o CN 2 e níveis de significância expresso por a P < 0,05, b P < 0,01 e c P < 0,001.

Fonte: Autora, 2023.

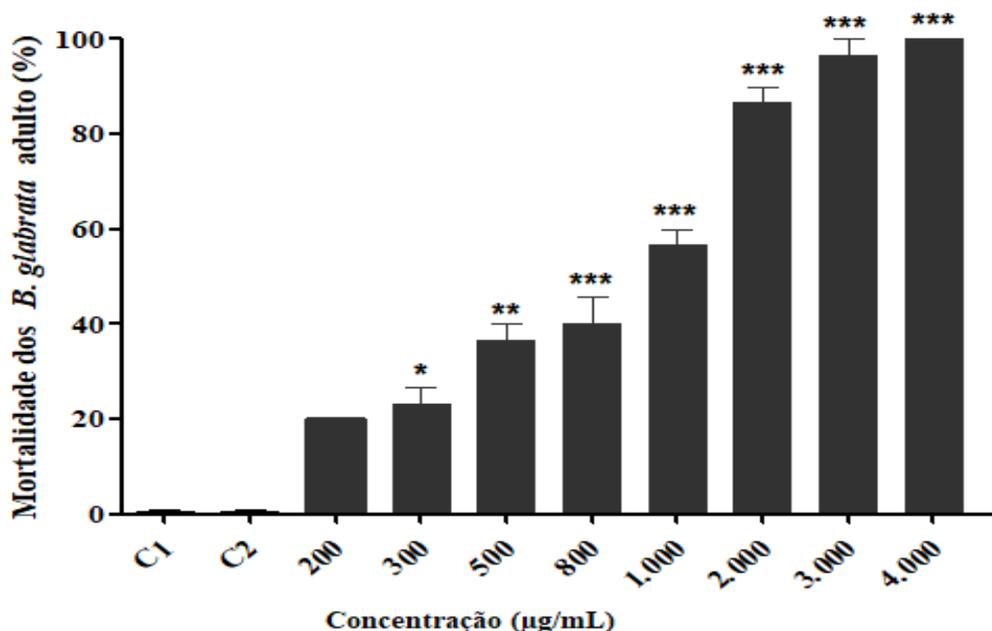
5.2 TOXICIDADE DO ORCM SOBRE CARAMUJOS ADULTOS DE *BIOMPHALARIA GLABRATA*

O ORCM provou ser ativo contra moluscos adultos de *B. glabrata*, e foi observado que as concentrações 800 e 1.000 µg/mL causaram 40 e 56,66% de mortalidade, respectivamente, enquanto as duas últimas concentrações (3.000 e 4.000 µg/mL) apresentaram 96,66 e 100% de mortalidade em 24 h de exposição (Figura 15). A Organização Mundial da Saúde (1983) publicou especificações metodológicas que classificam as substâncias moluscidas naturais em inativas quando não há mortalidade ou ocorre em somente 30%, parcialmente ativos quando causam mortalidade de 40-60% e ativos quando 70-100% são mortos após 24 h de exposição. Autores que pesquisaram óleos essenciais também observaram atividade contra caramujos adultos de *B. glabrata*, como o óleo essencial de *Citrus limon* (Gomes *et al.*, 2019), o óleo essencial de *Eryngium triquetrum* (Augusto *et al.*, 2020) e a nanoemulsão do óleo essencial de *Xylopiya ochrantha Mart.* (Araújo *et al.*, 2019).

A ausência de resposta ao estímulo tátil e liberação de hemolinfa, bem como o comportamento de retração para dentro da concha em alguns caramujos, foram

observados após 24 h da exposição ao ORCM, resultados vistos também por Pereira *et al.* (2022) com a pesquisa com o óleo essencial de *Dysphania ambrosioides*. Faria *et al.* (2018) observaram com o extrato bruto e a fração acetato de etila de *Manilkara subsericea*, que a liberação de hemolinfa, em alguns exemplares de moluscos, ocorreu de maneira dependente da concentração. Os autores de ambos os estudos sugerem que a liberação de hemolinfa pode ocorrer devido a um mecanismo que provocaria a ruptura de membranas celulares nos caramujos. Muitos derivados naturais já foram certificados quanto a sua atividade moluscicida e potencial uso no controle populacional da *B. glabrata* adultos. Por exemplo, a fração aquosa da esponja marinha *Axinella viridis* (Miyasato *et al.*, 2012), o ácido úsnico (Araújo *et al.*, 2018a) e o óleo essencial de *Croton Rudolphianus* (Ribeiro *et al.*, 2021).

Figura 15 - Toxicidade do ORCM para caramujos adultos de *B. glabrata* após 24 horas de exposição.



Os valores foram expressos em porcentagem. CN 1= controle negativo 1 (Água filtrada de clorada); CN 2 = controle negativo 2 (Tween 80 (3%) e água filtrada de clorada); CP = controle positivo (Niclosamida: 1,0 µg/mL) e diferentes concentrações do ORCM (µg/mL). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ e *** $p < 0.001$.

Fonte: Autora, 2023.

5.3 TOXICIDADE DO ORCM SOBRE CERCÁRIAS DE *SCHISTOSOMA MANSONI*

A triagem de substâncias com potencial moluscicida e que apresentam efeito

tóxico sobre a fase larval infectante do agente etiológico da esquistossomose, é muito relevante, pois a eficácia do controle da doença é aumentada se também atuar sobre as cercárias de *S. mansoni* (Lima *et al.*, 2002; El-Beshbishi *et al.*, 2015; Martins *et al.*, 2017; Silva *et al.*, 2018; Ribeiro *et al.*, 2021). A avaliação da toxicidade do ORCM sobre cercárias de *S. mansoni* é observado na Tabela 2. Foi observado que a atividade cercaricida do ORCM foi dependente da concentração, ou seja, aumentando a letalidade sobre as cercárias de acordo com o aumento da concentração.

A exposição das cercárias ao ORCM apresentou 100% de mortalidade após 60 min, nas concentrações de 200 e 300 µg/ml, após esse mesmo tempo as cercárias expostas a concentração de 100 µg/ml apresentaram intensa alteração de contorção e movimento. O estudo do óleo essencial de *Dysphania ambrosioides* também fez uma avaliação da atividade cercaricida e observou que além de apresentar letalidade, o óleo essencial também interferiu no comportamento motor dessa forma larval, incluindo rotação lenta e vibração, bem como contorções. Essas modificações de motilidade podem interferir na capacidade infecciosa das cercárias (Pereira *et al.*, 2022). O extrato aquoso dos frutos da espécie *Glinus lotoides* foi outro produto natural que demonstrou alteração de motilidade em cercárias de *S. mansoni*, influenciando o seu potencial infeccioso em camundongos, onde na concentração mais baixa (3,7 mg/L), a carga parasitária diminuiu 35,3%, enquanto na concentração mais alta (18,7 mg/L) foi reduzida em 91,2%. Segundo os autores, esse resultado pode ter ocorrido devido à atenuação da mobilidade cercariana, possivelmente incapacitando-as de penetrar na pele (Kiros *et al.*, 2014).

Tabela 2 - Mortalidade de cercárias expostas ao ORCM em relação ao tempo de exposição.

Concentração (mg/mL)	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
CN 1	3	3	3	3	3
CN 2	3	3	3	3	3
CP	0	0	0	0	0
ORCM					

100	2	2	1	0	0
200	1	1	0	0	0
300	1	1	0	0	0
500	1	0	0	0	0
800	0	0	0	0	0
1.000	0	0	0	0	0

CN 1= controle negativo 1 (Água filtrada declorada); CN 2 = controle negativo 2 (Tween 80 (3%) e água filtrada declorada); NP = controle positivo (CP) (Niclosamida: 1,0 µg/mL). Pontuação de motilidade: 3: Movimentos natatórios intermitentes (*tail-first*). 2: Redução do movimento com ritmo lento. 1: Contorções e movimentos em apenas uma extremidade. 0: Ausência completa de movimento/morte.

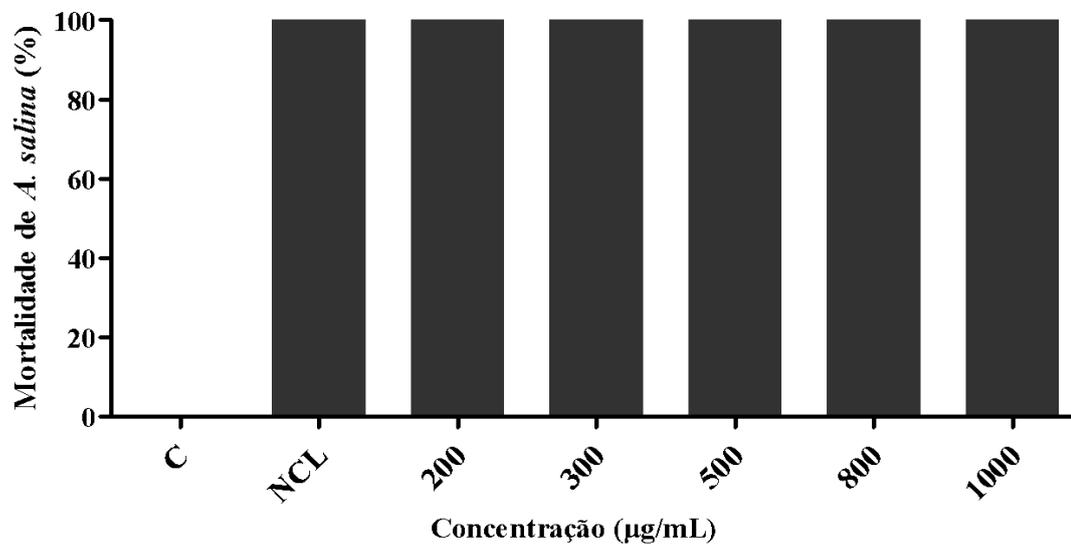
Fonte: Autora, 2023.

5.4 TOXICIDADE AMBIENTAL DO ORCM SOBRE *ARTEMIA SALINA*

O ORCM demonstrou ser um moluscicida eficaz, seu desenvolvimento como possível método de controle da esquistossomose através do controle populacional dos moluscos *B. glabrata* deve avaliar a extensão dos possíveis efeitos colaterais ambientais. Como base neste cenário, se faz necessário a avaliação ecotoxicologia com bioindicador de referência (Lechuga *et al.*, 2016). Um importante componente de monitoramento é a espécie *A. salina*, cuja sobrevivência após o contato com o agente testado é frequentemente utilizada como medida de efeitos tóxicos ambientais (Oliveira *et al.*, 2011; Gambardella *et al.*, 2015; Araújo *et al.*, 2018a). Na Figura 16 é observado o resultado do ensaio com *A. salina* após a exposição ao ORCM. As concentrações avaliadas apresentaram ecotoxicidade significativa sobre as *A. salinas*. Assim, o potencial uso do ORCM deverá ocorrer de forma controlada e restrita. Embora considerando as possíveis negativas ambientais com a aplicação do ORCM, o uso de agentes moluscicidas, no controle da esquistossomose, é considerado entre os métodos químicos um dos mais eficazes, visto que com o planejamento correto, a

sua administração pode auxiliar no controle da transmissão do *Schistosoma*, assim como na redução de reinfecções, principalmente quando associado a outras medidas (King; Sutherland; Bertsch, 2015; Sokolow *et al.*, 2016).

Figura 16 - Mortalidade do bioindicador ambiental *A. salina* após exposição ao ORCM.



Controle: Tween 80 (3%) com água do mar (C2). (NCL) Controle positivo (niclosamida: 1,0 µg/mL). Concentrações do ORCM.

Fonte: Autora, 2023.

6 CONCLUSÃO

Os dados deste trabalho demonstraram os efeitos tóxicos do óleo resina de *Copaifera multijuga* Hayne nos diferentes estágios de vida do *Biomphalaria glabrata* e sobre cercárias de *Schistosoma mansoni*, sendo então considerado candidato eficaz na busca de novos agentes moluscidas. Entretanto, outros estudos mais detalhados sobre seus possíveis efeitos ambientais são necessários.

REFERÊNCIAS

- Aguiar, T.W.D.A. *et al.* Effect of *Bauhinia monandra* Kurz Leaf Preparations on Embryonic Stages and Adult Snails of *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818), *Schistosoma mansoni* Cercariae and Toxicity in *Artemia salina*. **Molecules**, v. 27, n. 15, p. 4993, 2022.
- Albuquerque, K.C.O.D. *et al.* Brazilian Amazon traditional medicine and the treatment of difficult to heal leishmaniasis wounds with *Copaifera*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2017, n. 1, p. 8350320, 2017.
- Araújo, F.D.P. *et al.* Nanoemulsion containing essential oil from *Xylopia ochrantha* Mart. produces molluscicidal effects against different species of *Biomphalaria* (*Schistosoma* hosts). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 114, p. e180489, 2019.
- Araújo, H.D.A. *et al.* Toxicity of usnic acid from *Cladonia substellata* (Lichen) to embryos and adults of *Biomphalaria glabrata*. **Acta Tropica**, 179: 39-43, 2018a.
- Araújo, H.D.A. *et al.* Potassium usnate toxicity against embryonic stages of the snail *Biomphalaria glabrata* and *Schistosoma mansoni* cercariae. **Acta Tropica**, 188: 132-137, 2018b.
- Augusto, R.C. *et al.* Molluscicidal and parasiticidal activities of *Eryngium triquetrum* essential oil on *Schistosoma mansoni* and its intermediate snail host *Biomphalaria glabrata*, a double impact. **Parasites & Vectors**, v. 13, p. 1-11, 2020.
- Bardijí, D.K.R. *et al.* *Copaifera reticulata* oleoresin: Chemical characterization and antibacterial properties against oral pathogens. **Anaerobe**, v. 40, p. 18-27, 2016.
- Barreto, L.C.L.S. *et al.* Atividade moluscicida de extratos e de aucubina de *Vitex gardneriana* Schauer (*Verbenaceae*) em embriões da *Biomphalaria glabrata*. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n. 3, p. 339–343, 2007.
- Becker, G. *et al.* Copaiba oleoresin has topical antinociceptive activity in a UVB radiation-induced skin-burn model in mice. **Journal of ethnopharmacology**, v. 250, p. 112476, 2020.

Bezerra, F.S.D.M. *et al.* Identification of *Biomphalaria sp.* and other freshwater snails in the large-scale water transposition project in the Northeast of Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 60, p. e41, 2018.

Brasil, G.R.L. *et al.* Avaliação da atividade antibacteriana de um biomodificador dentinário à base de óleo de *Copaifera multijuga Hayne*. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 9, p. e36711931909-e36711931909, 2022.

BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde. Vigilância da Esquistossomose Mansoni: diretrizes técnicas, 4 ed. Ministério da Saúde, Brasília, 2014.

BRASIL. Centro de Vigilância Epidemiológica. Vigilância epidemiológica e controle da esquistossomose: normas e instruções, São Paulo, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de Vigilância Epidemiológica, 6. ed. Brasília-DF, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico. Brasília, 2021.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico. Brasília, v. 53, n. 43, p. 16–34, 2022.

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

Cantanhede, S.P.D. *et al.* Atividade moluscicida de plantas: uma alternativa profilática. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, p. 282-288, 2010.

Carneiro, L.J. *et al.* *Copaifera multijuga*, *Copaifera pubiflora* and *Copaifera trapezifolia* oleoresins: chemical characterization and in vitro cytotoxic potential against tumoral cell lines. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 31, n. 8, p. 1679-1689, 2020.

Carvalho, O.D.S. *et al.* Distribuição geográfica dos hospedeiros intermediários do *Schistosoma mansoni* nos estados do Paraná, Minas Gerais, Bahia, Pernambuco e Rio Grande do Norte, 2012-2014. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 27, p. e2017343, 2018.

Cascon, V.; Gilbert, B. Characterization of the chemical composition of oleoresins of *Copaifera guianensis* Desf., *Copaifera duckei* Dwyer and *Copaifera multijuga* Hayne. **Phytochemistry**, v. 55, n. 7, p. 773-778, 2000.

Colley, D.G. *et al.* Human schistosomiasis. **The Lancet**, v. 383, n. 9936, p. 2253–2264, jun. 2014.

Coelho, P.M.Z.; Caldeira, R.L. Critical analysis of molluscicide application in schistosomiasis control programs in Brazil. **Infectious Diseases of Poverty**, 5: 1-6, 2016.

Cruz, J. P.; Ribeiro, F.; Vasconcelos, V. de O. . Molluscicidal activity of extracts of plants from the Cerrado against *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). **Research, Society and Development**, v. 11, n. 8, p. e20611830656, 2022.

Chen, X. *et al.* Effects of environmentally relevant concentrations of niclosamide on lipid metabolism and steroid hormone synthesis in adult female zebrafish. **Science of The Total Environment**, v. 910, p. 168737, 2024.

Deus, R.J.A.D.; Alves, C.N.; Arruda, M.S.P. Avaliação do efeito antifúngico do óleo resina e do óleo essencial de copaíba (*Copaifera multijuga* Hayne). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, p. 01-07, 2011.

El-Beshbishi, S.N. *et al.* Spotlight on the in vitro effect of artemisinin–naphthoquine phosphate on *Schistosoma mansoni* and its snail host *Biomphalaria alexandrina*. **Acta Tropica**, 141, 37–45, 2015.

Exum, N.G. *et al.* The prevalence of schistosomiasis in Uganda: A nationally representative population estimate to inform control programs and water and sanitation interventions. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 8, ago. 2019.

Faria, R. X. *et al.* Molluscicidal activity of *Manilkara subsericea* (Mart.) dubard on *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). **Acta tropica**, v. 178, p. 163-168, 2018.

Fernández-Soto, P. *et al.* Molecular Markers for Detecting *Schistosoma* Species by Loop-Mediated Isothermal Amplification. **Disease markers**, 2020. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7396120/#B1>>. Acesso em: 19 abr. 2024.

França, W. W. M. *et al.* Toxic, cytotoxic and genotoxic effect of plumbagin in the developmental stages of *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818-intermediate host) and cercaricidal activity against the infectious agent of schistosomiasis mansoni. **Pest Management Science**, v. 78, n. 12, p. 5172-5183, 2022.

Gambardella, C. *et al.* Effect of silver nanoparticles on marine organisms belonging to different trophic levels. **Marine Environmental Research**, 111: 41-49, 2015.

Gazzinelli, A., *et al.* *Schistosoma mansoni* reinfection: Analysis of risk factors by classification and regression tree (CART) modeling. **PloS one**, v. 12, n. 8, p. e0182197, 2017.

Gomes, P. R. B. *et al.* Larvicidal activity, molluscicide and toxicity of the essential oil of *Citrus limon* peels against, respectively, *Aedes aegypti*, *Biomphalaria glabrata* and *Artemia salina*. **Eclética Química**, v. 44, n. 4, p. 85-95, 2019.

Guimarães, A. P. *et al.* Identificação dos locais de risco para transmissão de *Schistosoma mansoni* no município de Lagoa da Prata-MG. **Revista Conexão Ciência**, v. 16, p. 63-77, 2021.

Ionescu, R. A.; Mitrovic, D.; Wilkie, M. P. Disturbances to energy metabolism in juvenile lake sturgeon (*Acipenser fulvescens*) following exposure to niclosamide. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 229, p. 112969, 2022.

Junior, V. V. *et al.* Chemical composition and anti-inflammatory activity of copaiba oils from *Copaifera cearensis* Huber ex Ducke, *Copaifera reticulata* Ducke and *Copaifera multijuga* Hayne – A comparative study. **Journal of ethnopharmacology**, v. 112, n. 2, p. 248-254, 2007.

Kawano, T. *et al.* Observation of some key stages of the embryonic development of *Biomphalaria straminea* (Dunker, 1848) (Mollusca, Planorbidae). **Invertebrate reproduction and development**, v. 4259, p. 37–41, 2004.

Kawano, T.; Okazaki, K.; Ré, L. Embryonic development of *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) (Mollusca, Gastropoda, Planorbidae): a practical guide to the main stages. **Malacologia**. v. 34, p. 25-32, 1992.

Kawano, T.; Nakano, E.; Watanabe, L. C. Estudo do desenvolvimento embrionário de *Biomphalaria glabrata* (Mollusca, Planorbidae) e suas aplicações. In: Carvalho, O. S.; Coelho, P. M. Z.; Lenzi, H. L. **Schistosoma mansoni e esquistossomose: uma visão multidisciplinar**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2008. p. 347-391. Disponível em: <<https://books.scielo.org/id/37vww>>. Acesso em: 26 abr. 2024.

King, C.H.; Sutherland, L.J.; Bertsch, D. Systematic review and meta-analysis of the impact of chemical-based mollusciciding for control of *Schistosoma mansoni* and *S. haematobium* transmission. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 12, 2015.

Kiros, G.; *et al.* Laboratory assessment of molluscicidal and cercariacidal effects of *Glinus lotoides* fruits. **BMC Research Notes**, v. 7, p. 1-7, 2014.

Leandro, L. M. *et al.* Chemistry and biological activities of terpenoids from copaiba (*Copaifera spp.*) oleoresins. **Molecules**, v. 17, n. 4, p. 3866-3889, 2012.

Lechuga, M. *et al.* toxicity of anionic and non-ionic surfactants to aquatic organisms. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 125: 1-8, 2016.

Li, X. Y. *et al.* The embryonic and postembryonic developmental toxicity of imidazolium-based ionic liquids on *Physa acuta*. **Environmental Toxicology**, 29, 697-704, 2014.

Li, X. Y. *et al.* Toxic effects of 1-methyl-3-octylimidazolium bromide on the early embryonic development of the frog *Rana nigromaculata*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 72: 552-556, 2009.

Lima, C. A. S. *et al.* Atualizações sobre as propriedades medicinais do óleo de Copaíba (*Copaifera spp.*): uma Revisão Bibliográfica. **Uniciencias**, v. 25, n. 2, p. 100-106, 2021.

Lima, N. M. *et al.* Toxicity of lapachol and isolapachol and their potassium salts against *Biomphalaria glabrata*, *Schistosoma mansoni* cercariae, *Artemia salina* and *Tilapia nilotica*. **Acta Tropica**, 83: 43-47, 2002.

Luna, J. D. S. *et al.* A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, n. 2,

p. 199–206, 2005.

Machado, F. P. *et al.* Molluscicidal and Cercaricidal Effects of *Myrciaria floribunda* Essential Oil Nanoemulsion. **Molecules**, v. 28, n. 16, p. 5944, 2023.

Martins, M. C. B. *et al.* Barbatic acid offers a new possibility for control of *Biomphalaria glabrata* and schistosomiasis. **Molecules**, 22: 1-11, 2017.

Masson, Daniela dos Santos. ATIVIDADES CICATRIZANTE E ANTIMICROBIANA DO óleo resina DE COPAÍBA (*COPAIFERA LANGSDORFFII*) EM ÚLCERAS CUTÂNEAS. 2011. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2011.

Masson, D. S. *et al.* Antimicrobial activity of copaíba (*Copaifera langsdorffii*) oleoresin on bacteria of clinical significance in cutaneous wounds. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, p. 664-669, 2013.

Melo, A. L.; Coelho, P. M. Z. *Schistosoma mansoni* e a doença. In: NEVES, D. F. **Parasitologia humana**. 11 edição. São Paulo: Atheneu, 2005. p. 193-212.

Mello-Silva, C. C. *et al.* Reproductive activity alterations on the *Biomphalaria glabrata* exposed to *Euphorbia splendens* var. *hislopilii* latex. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102, n. 6, p. 671–674, 2007.

Mendonça, D. E.; Onofre, S. B. Atividade antimicrobiana do óleo resina produzido pela copaiba-*Copaifera multijuga* Hayne (*Leguminosae*). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, p. 577-581, 2009.

Menezes Filho, A. C. P.; Castro, C. F. S. Avaliação físico-química e atividade antifúngica do óleo essencial de *Myrocarpus fastigiatus* e óleo resina de *Copaifera multijuga*. **Revista Arquivos Científicos (IMMES)**, v. 3, n. 1, p. 117-123, 2020.

Miyasato, P.A. *et al.* Molluscicidal activity of some marine substances against the snail *Biomphalaria glabrata* (Mollusca, Planorbidae). **Parasitology research**, 110, 1873–1879, 2012.

Mcmanus, D. P. *et al.* Schistosomiasis-from immunopathology to vaccines. **Seminars in immunopathology**, v. 42, n. 3, p. 355–371, 2020.

Mcmanus, D. P. *et al.* Schistosomiasis. **Nature reviews. Disease primers**. Agosto, 2018. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41572-018-0013-8>>. Acesso em: 19 abr. 2024.

Nelwan, Martin L. Schistosomiasis: life cycle, diagnosis, and control. **Current Therapeutic Research**, v. 91, p. 5-9, 2019.

Oliveira, M. S. C. *et al.* Antioxidant, larvicidal and antiacetylcholinesterase activities of cashew nut shell liquid constituents. **Acta Tropica**, 117: 165-170, 2011.

Paranaense, W. L. Histórico do gênero *Biomphalaria*, morfologia e sistemática morfológica. In: Carvalho, O. S.; Coelho, P. M. Z.; Lenzi, H. L. **Schistosoma mansoni e esquistossomose: uma visão multidisciplinar**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2008. p. 284-308. Disponível em: <<https://books.scielo.org/id/37vww>>. Acesso em: 26 abr. 2024.

Pereira, L.P.L.A. *et al.* Essential oils as molluscicidal agents against schistosomiasis transmitting snails-a review. **Acta tropica**, v. 209, p. 105489, 2020.

Pereira, L.P.L.A. *et al.* Molluscicidal and cercaricidal activities of the essential oil of *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants: Implications for the control of schistosomiasis. **Acta Tropica**, v. 230, p. 106393, 2022.

Pieri, F. A.; Mussi, M. C.; Moreira, M. A. S. Óleo de copaíba (*Copaifera sp.*): histórico, extração, aplicações industriais e propriedades medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, p. 465-472, 2009.

Pieri, F. A. *et al.* Antimicrobial profile screening of two oils of *Copaifera* genus. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, p. 241-244, 2012.

Pieri, O. S.; Favre, T. C. Diapausa em *Biomphalaria glabrata*. In: Carvalho, O. S.; Coelho, P. M. Z.; Lenzi, H. L. **Schistosoma mansoni e esquistossomose: uma visão multidisciplinar**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2008. p. 419-433. Disponível em: <<https://books.scielo.org/id/37vww>>. Acesso em: 26 abr. 2024.

Ponzo, E. *et al.* Insights into the epidemiology, pathogenesis, and differential diagnosis of schistosomiasis. **European Journal of Microbiology and Immunology**, v. 14, n. 2, p. 86-96, 2024.

Rangel, L. S. *et al.* Bioactivity of substances isolated from natural products on mollusks *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) (*Planorbidae*): a review. **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, p. e266526, 2023.

Rapado, L.N. *et al.* Schistosomiasis control using pipartine against *Biomphalaria glabrata* at different developmental stages. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 7, n. 6, 2013.

Rey, Luís. **Parasitologia**. Guanabara Koogan, 4^a ed., Rio de Janeiro, 2008.

Ribeiro, I.A.T.A. *et al.* Toxic effect of *Croton rudolphianus* leaf essential oil against *Biomphalaria glabrata*, *Schistosoma mansoni* cercariae and *Artemia salina*. **Acta Tropica**, v. 223, 2021.

Rugel, A. R. *et al.* Why does oxamniquine kill *Schistosoma mansoni* and not *S. haematobium* and *S. japonicum*?. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 13, p. 8-15, 2020.

Sanin, D.E. *et al.* Helminth Infection and Commensal Microbiota Drive Early IL-10 Production in the Skin by CD4⁺ T Cells That Are Functionally Suppressive. **PLoS pathogens**, v. 11, n. 5, 2015.

Santos, Adriana Oliveira dos. INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DO ÓLEO DE COPAÍBA OBTIDO DE DIFERENTES ESPÉCIES DE *COPAIFERA SPP.* 2008. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2008a.

Santos, A. O. *et al.* Effect of Brazilian copaiba oils on *Leishmania amazonensis*. **Journal of ethnopharmacology**, v. 120, n. 2, 204-208, 2008b.

Silva, H.A.M.F. *et al.* Toxicological effects of *Ramalina aspera* (lichen) on *Biomphalaria glabrata* snails and *Schistosoma mansoni* cercariae. **Acta Tropica**, v. 196, p. 172-179, 2019.

- Silva, H.A.M.F. *et al.* Laboratory assessment of divaricatic acid against *Biomphalaria glabrata* and *Schistosoma mansoni* cercariae. **Acta Tropica**, v. 178, p. 97-102, 2018a.
- Silva, H.A.M.F. *et al.* Data set of the toxic effects of divaricatic acid deposite on *Biomphalaria glabrata* and *Schistosoma mansoni* cercariae. **Data in Brief**, v. 19, p. 1393-1397, 2018b.
- Silva, M. T. *et al.* Viscosity of the oil-resins and chemical composition of the essential oils from oils-resins of *Copaifera multijuga* Hayne growing in the national forest Saracá-Taquera Brazil. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 20, n. 5, p. 1226-1234, 2017.
- Silva, V. B. R. *et al.* Medicinal chemistry of antischistosomal drugs: Praziquantel and oxamniquine. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 25, n. 13, 3259–3277, 2017.
- Siqueira, L. D. P. *et al.* Schistosomiasis: Drugs used and treatment strategies. **Acta tropica**, v. 176, 179–187, 2017.
- Souza, G. A. *et al.* *In vitro* and *in vivo* antimalarial potential of oleoresin obtained from *Copaifera reticulata* Ducke (*Fabaceae*) in the Brazilian Amazon rainforest. **Phytomedicine**. 2017 15;24:111-118., 2017.
- Sokolow, S.H. *et al.* Global assessment of schistosomiasis control over the past century shows targeting the snail intermediate host works best. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 10, n. 7, 2016.
- Scholte, R. G. *et al.* Spatial distribution of *Biomphalaria* spp., the intermediate host snails of *Schistosoma mansoni*, in Brazil. **Geospatial Health**, v.6, n. 3, p. S95-S101, 2012.
- Trindade, R.; Silva, J. K.D.; Setzer, W. N. *Copaifera* of the Neotropics: A Review of the Phytochemistry and Pharmacology. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 5, p. 1511, 2018.
- Tuan, R. Distribuição e diversidade de espécies do gênero *Biomphalaria* em microrregiões localizadas no Médio Paranapanema, São Paulo, SP, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 9, n. 1, p. 279–283, 2009.

Vasconcellos, M. C. de; Amorim, A. de. Activity of *Euphorbia splendens* var. *hislopii* N.E.B. (*Euphorbiaceae*) Latex against *Lymnaea columella* (Say, 1817) (*Pulmonata: Lymnaeidae*), Intermediate Host of *Fasciola hepatica*, Linnaeus, 1758 (*Trematoda: Fasciolidae*). 2: Limited Field-testing. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 7, p. 981–985, 2003.

Veiga Junior, V. F.; Pinto, A. C. o gênero *Copaifera* L. **Química nova**, v. 25, p. 273-286, 2002.

Wang, S. H. *et al.* Embryonic and developmental toxicity of the ionic liquid 1-methyl-3-octylimidazolium bromide on goldfish. **Environmental Toxicology**, 25: 243-250, 2010.

Wu, H. *et al.* Investigating Immunotoxicity in Black Carp (*Mylopharyngodon piceus*) Fingerlings Exposed to Niclosamide. **Life**, v. 14, n. 5, p. 544, 2024.

WHO. Ending the neglect to attain the Sustainable Development Goals: a road map for neglected tropical diseases 2021–2030. Geneva: World Health Organization; 2020. Disponível em: <<https://www.who.int/publications/i/item/9789240010352>> . Acesso em: 28 abr. 2024.

WHO. Field use of molluscicides in schistosomiasis control programmes: an operational manual for programme managers. Geneva: World Health Organization, 2017. Disponível em: <<https://www.who.int/publications/i/item/9789241511995>>. Acesso em 29 abr. 2024.

WHO. Research Priorities for helminth infections: Technical report of the TDR disease reference group on Helminth Infections. World Health Organization, Geneva, p. 79. p. 174, 2012.

WHO. World Health Organization, Report of the Scientific working Group on Plant Molluscicide & Guidelines for evaluation of plant molluscicides. Geneva : TDR/SC 4-SWE 4, 83.3. 1983.

WHO. World Health Organization. Molluscicide screening and evaluation. Bull World Health Organ. v. 33, p. 567-581, 1965.

Zheng, L. *et al.* Molluscicides against the snail-intermediate host of *Schistosoma*: a review. **Parasitology research**, p. 1-39, 2021.

Zhu, B. *et al.* High-throughput transcriptome sequencing reveals the developmental toxicity mechanisms of niclosamide in zebrafish embryo. **Chemosphere**, v. 244, p. 125468, 2020.