

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DOS RIZOMAS DE *Zingiber officinale* FOI EM CARAMUJOS DE *Biomphalaria glabrata*

Data de aceite: 01/08/2023

Adalberto Alves Pereira Filho

<http://lattes.cnpq.br/9165045834831122>

Renato Juvino de Aragão Mendes

<http://lattes.cnpq.br/2806187114977586>

Halana Tereza Marques de Jesus Ambrósio

<http://lattes.cnpq.br/8636499525099814>

Mariana Teixeira Aguiar

<https://lattes.cnpq.br/9364311803634247>

Círcia Rosane Costa França Nino

<http://lattes.cnpq.br/3921538541269907>

Aline de Jesus Lustosa Nogueira

<http://lattes.cnpq.br/0885237092315016>

Alexandre Nava Fabri

<http://lattes.cnpq.br/4741014436030935>

Ivone Garros Rosa

<http://lattes.cnpq.br/9599905005153701>

RESUMO: A esquistossomose mansônica, popularmente conhecida como barriga d'água, é uma doença com grande repercussão na Saúde Pública e no Meio Ambiente. Atualmente, o combate ao hospedeiro intermediário (caramujos do

gênero *Biomphalaria*) tem sido realizado com o uso de substâncias sintéticas e tóxicas, tipo a substância comercial Bayluscide. A procura de produtos originados de plantas (seja óleos ou extratos) com atividade moluscicida vem ganhando cada vez mais espaço no cenário das pesquisas. No presente trabalho, objetivou avaliar o potencial moluscicida do óleo essencial de *Zingiber officinale* frente ao hospedeiro intermediário da esquistossomose. O óleo essencial dos rizomas de *Zingiber officinale* foi extraído por hidrodestilação durante 4 horas em um sistema de Clevenger. Os caramujos utilizados no teste foram da espécie *Biomphalaria glabrata* oriundos de coletas realizadas mensalmente em bairros de periferia de São Luís – MA, aplicando-se a técnica manual com auxílio de pinças e conchas metálicas apropriadas. Em seguida estes caramujos foram transportados para o Núcleo de Imunologia Básica e Aplicada – UFMA, onde foram mantidos em aquários e vidro contendo água desclorada e alimentados com alface. A avaliação da atividade moluscicida deste óleo foi realizado de acordo com as técnicas preconizadas pela WHO (1965), que a rigor recomenda a utilização de três

grupos de dez caramujos para cada concentração (sendo avaliadas quatro concentrações: 100, 75, 50 e 25 ppm) do agente moluscicida a ser testado. Para o grupo controle utilizou-se água desclorada e uma solução com o tensoativo Tween 80. O óleo essencial deste vegetal, na concentração de 100 ppm apresentou efeito moluscicida de 100% com retração da massa cefalopodal e liberação de hemolinfa. Obteve-se também 100% de mortalidade aos caramujos presentes nas concentrações de 75, 50 e 25 ppm, apresentando apenas retração da massa cefalopodal, não havendo liberação de hemolinfa. Infere-se, portanto, que o óleo essencial dos rizomas de *Z. officinale* apresenta atividade moluscicida e que serão necessários a realização de testes toxicológicos para verificação da reação de outros organismos uma vez que os compostos tidos como moluscicidas não devem afetar a fauna, tipo peixes, evitando assim, problemas na utilização desses compostos em áreas onde a pesca torna-se uma importante fonte de renda e alimentação para a população.

PALAVRAS-CHAVE: Esquistossomose, *Biomphalaria glabrata*, *Zingiber officinale*.

ABSTRACT: Schistosomiasis mansoni, popularly known as “water belly,” is a disease with significant repercussions on public health and the environment. Currently, the control of the intermediate host (snails of the genus *Biomphalaria*) has been carried out using synthetic and toxic substances, such as the commercial substance Bayluscide. The search for products derived from plants (whether oils or extracts) with molluscicidal activity has been gaining more and more attention in research. In this study, the objective was to evaluate the molluscicidal potential of the essential oil of *Zingiber officinale* against the intermediate host of schistosomiasis. The essential oil from the rhizomes of *Zingiber officinale* was extracted by hydrodistillation for 4 hours using a Clevenger system. The snails used in the test were of the species *Biomphalaria glabrata*, collected monthly from the outskirts of São Luís - MA. The manual technique was applied, using appropriate tweezers and metal shells. Subsequently, these snails were transported to the Basic and Applied Immunology Core - UFMA, where they were kept in aquariums and glass containers with dechlorinated water and fed with lettuce. The evaluation of the molluscicidal activity of this oil was carried out according to the techniques recommended by WHO (1965), which strictly recommends the use of three groups of ten snails for each concentration (evaluating four concentrations: 100, 75, 50, and 25 ppm) of the molluscicidal agent to be tested. The control group used dechlorinated water and a solution with the surfactant Tween 80. The essential oil of this plant, at a concentration of 100 ppm, showed a 100% molluscicidal effect with retraction of the cephalopedal mass and release of hemolymph. Similarly, 100% mortality was observed in snails at concentrations of 75, 50, and 25 ppm, presenting only retraction of the cephalopedal mass without the release of hemolymph. It is inferred, therefore, that the essential oil of *Z. officinale* rhizomes presents molluscicidal activity, and toxicological tests will be necessary to verify the reaction of other organisms, as molluscicidal compounds should not affect the fauna, such as fish, thus avoiding problems in the use of these compounds in areas where fishing becomes an important source of income and food for the population.

KEYWORDS: Schistosomiasis, *Biomphalaria glabrata*, *Zingiber officinale*.

INTRODUÇÃO

A esquistossomose é uma doença crônica causada pelo trematódeo do gênero *Schistosoma* com grande prejuízo na Saúde Pública, tanto pela severidade das complicações clínicas quanto pela sua prevalência, constituindo assim uma importante fonte de morbidade e mortalidade principalmente nos países em desenvolvimento (RASO *et al.*, 2007; RIBEIRO *et al.*, 2009).

Estima-se que mais de 207 milhões de pessoas estejam infectadas em todo mundo e 700 milhões de pessoas, distribuídas em 74 países endêmicos, possam estar em risco de contrair esta enfermidade (WHO, 2010).

A quase totalidade dos autores que estudam o assunto acredita que a esquistossomose tenha sido introduzida no Brasil através do tráfico de escravos, originários da costa da Guiné, Angola e antigo Congo, na África Ocidental e de Moçambique (RAMOS, 2007).

No Brasil o número de infectados é estimado entre 2,5 a 6 milhões de pessoas, para *Schistosoma mansoni*, que é a única espécie transmitida no País, causando a doença que se denomina esquistossomose mansoni, popularmente conhecida como barriga-d'água (ENK, 2008).

Um inquérito de positividade para o agente etiológico da esquistossomose mansônica realizado em 15 estados da Federação Brasileira nos anos de 2005 a 2009, revelou que os Estados de Pernambuco, Alagoas e Sergipe, apresentaram os maiores índices, obtendo respectivamente 50,6 %, 53,7 % e 60,5 % de casos positivos para *S. mansoni* (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

No Maranhão, a esquistossomose vem sendo observada desde 1920 e constitui um relevante problema de saúde pública, apresentando focos em diversas regiões, principalmente na Baixada Ocidental Maranhense, área endêmica e que se caracteriza por apresentar campos alagados, ambiente extremamente favorável à reprodução e manutenção de caramujos transmissores (ALVIM, 1980 *apud* MARQUES, 2009).

Leite (2009), realizando um levantamento de casos de esquistossomose no povoado de São Roque, Município de Palmeirândia (região da Baixada Maranhense) obteve uma média de 21,25 casos nos anos de 2005 a 2008. No mesmo período no povoado de São Roque, Município de Palmeirândia, também situado na região da Baixada Maranhense, Barros (2009), realizou um levantamento da ocorrência desta parasitose e obteve uma média de 250,5 casos, média esta 11,65 vezes maior que a apresentada pelo povoado de São Roque.

Nos anos de 2007 a 2009, no Município de São Vicente de Férrer, situado na mesma região dos municípios anteriormente citados, dos 36 casos dessa endemia ocorridos nesse período 41,7% dos casos, ocorreram pela segunda vez (COSTA, 2009).

A transmissão desta parasitose se dá pela eliminação dos ovos do *S. mansoni* das fezes do hospedeiro definitivo infectado (homem), que na água eclodem liberando uma larva ciliada denominada miracídio, a qual infecta o caramujo do gênero *Biomphalaria* (hospedeiro intermediário), e que após 4 a 6 semanas o invertebrado libera nas águas naturais cercárias. O contato humano com águas infectadas pelas cercárias é a maneira pela qual o indivíduo adquire a esquistossomose. (NEVES, 2011).

No Brasil, existem dez espécies e uma subespécie do gênero *Biomphalaria*: *B. glabrata*, *B. tenagophila*, *B. straminea*, *B. peregrina*, *B. schrammi*, *B. kuhniiana*, *B. intermedia*, *B. amazonica*, *B. oligoza*, *B. occidentalis* and *B. tenagophila guaibensis*. Destas, apenas as três primeiras espécies eliminam cercárias. Na cadeia epidemiológica desta parasitose a espécie *B. glabrata* é de grande importância, devido à sua ampla distribuição geográfica, alta índices de infecção e eficácia na transmissão da esquistossomose (GUIMARÃES, 2009).

Na cidade de São Luis - MA, vários trabalhos foram realizados nos bairros de periferia com a finalidade de investigar a presença do caramujo hospedeiro intermediário da esquistossomose, e utilizá-los como sonda indicadora de novos casos para essa parasitose e verificou-se que a realidade é extremamente preocupante.

Ramos (2007) demonstrou que a Vila Embratel é um bairro de periferia dessa capital com sérios problemas sanitários e que alberga hospedeiros intermediários para a esquistossomose totalizando no período de 2006 a 2007 uma média de 46,6% de caramujos positivos para *S. mansoni*.

Essa realidade, porém não se restringiu somente a esse bairro de periferia da capital Maranhense. Ferreira (2008), realizando um levantamento malacológico no Bairro do Barreto no período de 2006 a 2007, obteve uma média de 746 caramujos, sendo desta média 21,61 % estavam positivos por *S. mansoni*.

No bairro do Jambeiro durante coletas realizadas mensalmente no período de Junho de 2008 a Abril 2009 foram obtidos 1.297 caramujos (CARMO *et al.*, 2009). O Sá-Viana, bairro vizinho ao do Jambeiro, durante os anos de 2010 e 2011 verificou-se uma quantidade de 3230 caramujos da espécie *B. glabrata*, apresentando uma taxa média de 0,75 % de positividade com *S. mansoni* (FRANÇA, 2011).

O problema é equacionado pela presença do caramujo, bairros de periferia com déficit de saúde, pessoas sem informação sobre a doença e a presença de população oriunda de regiões endêmicas. Sabendo-se que a esquistossomose abriga dois hospedeiros, pensou-se como forma de interromper o ciclo desta parasitose a eliminação do caramujo (hospedeiro intermediário).

Vários trabalhos vêm sendo realizados buscando compostos vegetais que tenham atividade tóxica contra estes moluscos do gênero *Biomphalaria*. Em todo o mundo pesquisas com esse propósito tem crescido, objetivando o controle do caramujo hospedeiro desta endemia que assola os quase 74 países do nosso planeta. (LOPES, 2006).

Tais pesquisas têm se tornado importante, tendo em vista que a niclosamida é atualmente o único moluscicida recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) para programas de controle de caramujos (WHO, 2006). A utilização em larga escala da niclosamida, no entanto, é oneroso e não pode ser concedida pela maioria dos países em desenvolvimento onde a doença é endêmica. Além disso, as efetivas concentrações tidas como moluscicidas deste produto sintético, provocam concomitantemente a mortalidade de peixes, tornando-se um problema quando a pesca se torna uma importante fonte de renda e alimentação para a população (OLIVEIRA-FILHO *et al.*, 2010).

No Brasil, os primeiros estudos sobre moluscicidas de origem vegetal demonstraram a atividade de extratos aquosos de caules de *Serjania* sp. (cipó-timbó) e de frutos de *Sapindus saponaria* L. (Sapindaceae) (saboneteira, sabão) em *B. glabrata* (LEYTON, 2005).

Plantas medicinais, tóxicas e ornamentais vêm sendo testadas no nosso país, com a finalidade de verificar uma possível ação moluscicida, obtendo-se resultados promissores (LOBATO, 2007).

Neste trabalho elegeu-se os rizomas de *Zingiber officinale*, popularmente conhecida como gengibre, que é uma planta herbácea e perene, nativa da Ásia, onde é cultivada em países como a Austrália, Brasil, China, Japão, México, África Ocidental, e parte dos Estados Unidos (UKEH *et al.*, 2009).

O gengibre é um constituinte comum da dieta em todo o mundo, sendo utilizado na culinária como condimento ou até mesmo na medicina alternativa como um carminativo, um sudorífico, antiespasmódico e contra cólicas intestinais (PENNA *et al.*, 2003).

Percebe-se que as indagações científicas no que se refere ao uso das plantas no prélio das enfermidades estão se ampliando, e o que antes era usado apenas para combater a doença já instalada no indivíduo, hoje se busca a aplicação destas na prevenção de enfermidades, utilizando-as, por exemplo, contra vetores, sejam eles artrópodes ou moluscos (PEREIRA-FILHO, 2011).

Algumas espécies de moluscos do gênero *Biomphalaria* podem atuar como hospedeiros intermediários da esquistossomose, constituindo assim veículos de grande importância para a propagação desta parasitose que assola vários países, principalmente aqueles países em desenvolvimento.

Um dos mais eficientes métodos de controle da doença constitui na aplicação de moluscicidas para eliminar ou para reduzir a população desses moluscos. A Niclosamida é um tipo de moluscicida sintético muito utilizado na eliminação do caramujo, entretanto, acarreta uma série de prejuízos e desvantagens, tais como: a toxicidade ao homem, aos animais aquáticos ou às plantas, além do alto preço do produto e custo operacional devida à necessidade de repetidas aplicações até mesmo em pequenas áreas. Tais aspectos desvantajosos fazem necessárias pesquisas que envolvam a busca de compostos vegetais que tenham atividade tóxica contra os moluscos desse gênero e possa ser de baixo custo operacional.

Na tentativa de barrar a expansão da esquistossomose de forma sustentável, econômica e ecológica, a procura de produtos originados de plantas (seja óleos ou extratos) com atividade moluscicida vem ganhando cada vez mais espaço no cenário das pesquisas, já que vários trabalhos vêm apontando a possibilidade de obtenção de produtos com alto teor moluscicida, extraídos de vegetais sejam estes nacionais, ou regionais. Tendo o caramujo do gênero *Biomphalaria* como um importante elemento na cadeia da esquistossomose, se faz necessária a busca de alternativas como o uso de extratos vegetais para o combate desse caramujo.

OBJETIVOS

Estudar o efeito moluscicida de vegetais frente ao hospedeiro intermediário da esquistossomose, analisando o comportamento dos caramujos quanto à sua mobilidade, alimentação e estado da massa cefalopodal quando em contato com as soluções do óleo essencial rizomas de *Zingiber officinale* além de verificar a interferência do óleo essencial dos rizomas de *Zingiber officinale* na eliminação de massas de ovos pelo *Biomphalaria sp.*

MATERIAIS E MÉTODOS

Material vegetal

Obtenção dos rizomas (Zingiber Officinale)

Os rizomas de *Zingiber officinale* foram obtidos em feira livre no mercado municipal do Centro de São Luís – MA. Uma amostra foi retirada para preparação de exsiccata, enviada para o Herbário Ático Seabra – Universidade Federal do Maranhão, para a confirmação da espécie e registrada sob o número de registro 1678.

Obtenção do óleo essencial dos rizomas de Zingiber officinale

O óleo essencial dos rizomas foi extraído por hidrodestilação durante 4 horas em um sistema de Clevenger de vidro acoplado a um balão de fundo redondo com capacidade de 6000 mL, mantido uma manta aquecedora a temperatura de 100 °C. Para a extração foram utilizados 420g da amostra de rizomas com 4200 mL de água destilada (proporção de 1:10), onde o óleo foi seco por meio da percolação com Na₂SO₄, sendo depois armazenado em tubos de ensaio com tampas envoltos em papel alumínio sob refrigeração, com a finalidade de impedir perdas dos constituintes voláteis.

Obtenção, Manutenção, Análise, e Identificação de caramujos

Coleta e manutenção dos caramujos em laboratório

A coleta dos caramujos *Biomphalaria glabrata* foi realizada mensalmente nos bairros de periferia de São Luís – MA selecionados, aplicando-se a técnica manual com auxílio

de pinças e conchas metálicas apropriadas (Figura 1). Em seguida, os caramujos foram acondicionados em recipiente de vidro contendo água do criadouro natural e transportados para o Núcleo de Imunologia Básica e Aplicada – UFMA. Os animais foram alimentados com alface (*Lactuca sativa* L.) e mantidos em aquários de vidro, com água desclorada (Figura 2). A limpeza destes aquários e a troca da água foram realizadas a cada três dias.



Figura 1: Técnica de coleta de *Biomphalaria glabrata* em criadouro natural.

Fonte: FRANÇA, 2011.



Figura 2: Manutenção de *Biomphalaria glabrata* em aquário após coleta.

Fonte: PEREIRA – FILHO, 2011.

Teste de positividade para Schistosoma mansoni

Os caramujos coletados foram analisados semanalmente, durante um mês para observar a positividade para *S. mansoni*. Nesta análise os moluscos foram colocados em frascos pequenos de vidro, com cerca de 5 mL de água desclorada e expostos à luz de duas lâmpadas de 60 W, durante 1 hora (SMITH & TERRY, 1974) (Figura 3). Em seguida, foram examinados com o auxílio de lupa estereoscópica ZEISS, verificando sua possível infecção, representada pela eliminação cercárias na água. Somente os caramujos negativos para *S. mansoni* foram utilizados para avaliação da atividade moluscicida do vegetal proposto.



Figura 3: Teste para avaliação da infecção por *Schistosoma mansoni* nos planorbídeos.

Fonte: PEREIRA – FILHO, 2011

Identificação dos caramujos

Para a identificação dos caramujos foram utilizadas técnicas descritas pelo Ministério da Saúde, 2008. Parte dos caramujos negativos para *S. mansoni* foram transferidos para um coador de plástico, onde foram mergulhados em água previamente aquecida a 70°C, durante um período de 30 segundos. Após esse período o coador contendo os moluscos foi mergulhado em água à temperatura ambiente, resfriando os moluscos.

Pinçou-se o pé do molusco transversalmente, puxando-o com uma suave tração, de forma que a parte mole se desprendesse da concha, para então ser imediatamente colocada no fixador Railliet-Henry. Após 24 horas, este fixador foi renovado com a finalidade de uma boa preservação do material.

Do frasco que continha os caramujos com o fixador, retirou-se um exemplar que foi colocado numa placa de Petri que continha um pouco da solução fixadora. Com o

caramujo virado com o lado esquerdo (onde se localizam as aberturas genitais masculina e feminina) para cima, manteve-se uma das pinças na região cefalopodal, para firmar o animal, enquanto a outra separava aos poucos a junção entre o manto e o músculo columelar, sempre pelo lado esquerdo, até a altura do estômago, onde esse músculo termina. O mesmo procedimento foi realizado com o lado direito do animal. Feito isso, cuidadosamente despregou-se a parte anterior do manto, que se encontra presa ao colo, tendo assim todo o manto destacado para a identificação da espécie.

Avaliação da Atividade Moluscicida

A atividade moluscicida foi avaliada de acordo com o procedimento preconizado pela WHO (1965), metodologia esta utilizada também nos trabalhos por Lopes (2006) e Rapado *et al.*, (2011). Os caramujos utilizados nos testes oriundos de coletas realizadas no Sá-Viana e na Vila Embratel, São Luís - MA, foram selecionados após quarentena. Os negativos para *Schistosoma mansoni*, após dissecação foram identificados como sendo da espécie *Biomphalaria glabrata* apresentando 10-18 mm de diâmetro da concha. Três grupos de 10 caramujos foram colocados em potes de vidros contendo 500 ml de solução obtida da diluição do óleo essencial de *Zingiber officinale* nas concentrações de 100 ppm, 75, 50 e 25 ppm, com água desclorada e 03 (três) gotas do tensoativo (Tween 80). Para o grupo controle, utilizou-se 10 caramujos imersos em água desclorada contendo 03 (três) gotas desse tensoativo, procedendo-se a análise igual àquela realizada nos grupos testes. Os caramujos foram expostos na solução por 24 horas a temperatura ambiente. Após esse tempo, foram removidos e lavados duas vezes com água desclorada, alimentados com alface e observados a cada 24 horas, durante quatro dias para avaliar a mortalidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os caramujos utilizados na avaliação da atividade moluscicida foram caramujos do gênero *Biomphalaria* que após dissecação foram identificados como sendo da espécie *B. glabrata*.

Seguindo a metodologia da Organização Mundial da Saúde (1965) a atividade moluscicida do óleo essencial dos rizomas de *Zingiber officinale* foi avaliada na concentração de 100 ppm, observando a cada 24 horas, durante quatro dias para analisar a mortalidade destes. Essa metodologia pondera que o extrato em três níveis: inativo, se levar de 0 a 30% de mortalidade, parcialmente ativo se levar de 40 a 60% de mortalidade e ativo se levar de 70 a 100% de mortalidade aos caramujos, em um período de 24 horas.

Na concentração de 100 ppm, observou-se 100% de mortalidade para *B. glabrata* com 24 horas. Resultado semelhante a este foi encontrado por Melo, 2010 ao utilizar o óleo essencial do epicarpo de *Citrus limon* contra *Biomphalaria sp.* Lobato (2007) avaliando atividade moluscicida do extrato das folhas *Syzygium jambolanum* na mesma concentração

contra o caramujo da mesma espécie obteve taxa de mortalidade de 100% durante 48 horas. Lopes (2006) ao usar a mesma concentração do extrato hidroalcolico de *Caryocar brasiliense* obteve a mortalidade aproximada (90%) após 48 horas de contato com essa solução também na concentração de 100 ppm.

Para as concentrações de 75, 50 e 25 ppm, obteve-se também 100% de mortalidade, depois de 24h. Embora nessas concentrações, observou-se retração da massa cefalopodal e esses caramujos não liberaram hemolinfa. Devido a mortalidade dos caramujos em curto prazo, estes não verificaram a eliminação de massas de ovos.

McCullough *et al.* (1980), descreve que o envenenamento por moluscicida pode provocar no caramujo dois mecanismos que explicam sua morte: ou ele retrai sua massa cefalopodal para dentro da concha, liberando a hemolinfa, ou então se estende inchado anormalmente o cefalópode para fora. Esses fenômenos ocorrem devido à presença do moluscicida na água que provoca uma ruptura do equilíbrio osmótico do molusco. Os caramujos quando foram submetidos a essa concentração do óleo essencial de *Zingiber officinale* retraíram sua massa cefalopodal para dentro da concha, liberando a hemolinfa

Os moluscos *B. glabrata* são animais considerados prolíferos, hermafroditas podendo autofecundar-se, ou apresentar reprodução cruzada. Atingem a maturidade sexual com 30 dias de idade, tendo assim a capacidade de oviposição. Os ovos são contidos em massas gelatinosas, que podem ter mais de 100 ovos, as desovas são depositadas em qualquer estrutura sólida submersa e as posturas são realizadas quase que diariamente (NEVES, 2011). Na concentração de 100 ppm, houve a inibição total na oviposição dos moluscos da espécie *B. glabrata*, com ausência de massas de ovos em todos os dias durante a análise. Esse resultado deve-se atribuir ao fato de que os caramujos morreram logo nas primeiras 24 horas em contato com a solução. No grupo controle houve liberação de massas de ovos em todos os dias analisados.

CONCLUSÃO

Baseado na WHO/1965, que especifica normas para testes com diversos moluscicidas, pode-se concluir que o óleo essencial dos rizomas de *Zingiber officinale* apresenta efeito moluscicida, já que apresentou 100% de mortalidade dos caramujos na concentração de 100 ppm, como também para as outras concentrações testadas.

REFERENCIAS

- ALVIM, M. C. A esquistossomose mansônica no Maranhão. Belém: Híléia Médica, 2 (2): 151-157, 1980.
- BARROS, J. F. B. A problemática da esquistossomose no município de Bacurituba – Maranhão e seus impactos na rede municipal de saúde. 2009. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Maranhão, Bacurituba. 2009.

CARMO, M. S., FRANÇA, C. R. C., SOUSA, I. H., FONTES, FONTES, L. H. R., TEIXEIRA, A. F., PEREIRA-FILHO, A. A., SILVA-SOUZA, N., ROSA, I. G. Constatação da presença de caramujos vetores da esquistossomose em um bairro de periferia de São Luís do Maranhão. Anais do XXI Congresso Brasileiro de Parasitologia e II Encontro de Parasitologia do Mercosul. 2009.

COSTA, C. M. M. Perfil epidemiológico da esquistossomose mansônica em São Vicente Férrer – MA. 2009. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Maranhão, São Bento. 2009.

ENK, M. J., LIMA, A. C. L., DRUMMOND, S. C., SCHALL, V.T., COELHO, P. M. Z. The effect of the number of stool samples on the observed prevalence and the infection intensity with *Schistosoma mansoni* among a population in an area of low transmission. *Acta Tropica*, v.108, p. 222–228, 2008.

FERREIRA, S. M. Estudo do índice de positividade de *Biomphalaria glabrata* para *Schistosoma mansoni* nos bairros de periferia de São Luís – MA, Caso do Barreto. 2008. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual do Maranhão, São Luís. 2008.

FRANÇA, C. R. C. Presença de Caramujos e Aspectos Ambientais que Favorecem o Desenvolvimento da Esquistossomose no Sá-Viana, Bairro de Periferia de São Luís, Maranhão-Brasil. 2011. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2011.

GERKEN, S. E. Efeitos da eliminação e da densidade populacional sobre o crescimento, a sobrevivência e fecundidade de *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). Dissertação de Mestrado. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 1977.

GUIMARÃES, R.J.P.S., FREITAS,C.C., DUTRA, L.V., FELGUEIRAS, C.A., MOURA, A. C. M., AMARAL, R. S., DRUMMOND, S. C., SCHOLTE, R. G. C. Spatial distribution of *Biomphalaria* mollusks at São Francisco River Basin, Minas Gerais, Brazil, using geostatistical procedures. *Acta Tropica*, v.109, p. 181-186, 2009.

LEITE, J. M. S. C. Prevalência da esquistossomose no povoado de São Roque/ Palmeirândia- MA de 2005 a 2008. 2009. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Maranhão, São Bento. 2009.

LEYTON, V., HENDERSON, T. O., MASCARA, D., KAWANO, T. Atividade moluscicida de princípios ativos de folhas de *Lycopersicon esculentu* (Solanales, Solanaceae) em *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda, Planorbidae). *Série Zoológica*, v. 95, p. 213-216, 2005.

LOBATO, L. F. F. Análise fitoquímica do extrato hidroalcolólico do caule, folhas e frutos de *Syzygium jambolanum* e atividade moluscicida em *Biomphalaria glabrata*. 2007. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2007.

LOPES, T. C. Atividade do extrato hidroalcolólico das folhas de *Caryocar brasiliense* camb. contra *biomphalaria glabrata*: uma alternativa auxiliar no combate à esquistossomose. 2006. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biologia) – Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2006.

MCCULLOUGH, F. S.; GAYRAL, P.; DUNCAN, J. & CHRISTIE, J. D. 1980. Molluscicides in schistosomiasis control. **Bulletin of the World Health Organization**, v.58, n.5, p.681-689, 1980.

- MARQUES, A. M. Avaliação da atividade moluscicida antifúngica do extrato hidroalcoólico das folhas de *Azadirachta indica*. 2009. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biologia) – Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2009.
- MELO, A. V. Avaliação do efeito moluscicida do óleo essencial de *Citrus limon* Linneo frente ao hospedeiro intermediário da esquistossomose (*Biomphalaria* sp.). 2010. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Imunologia) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2010.
- MATOS, F. J. A. Introdução à fitoquímica experimental. 2 ed. Fortaleza: UFC, 1997.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Vigilância e Controle de Moluscos de Importância Epidemiológica – Diretrizes Técnicas: Programas de Vigilância e Controle da Esquistossomose (PCE), Brasília, 2008.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Situação Epidemiológica da Esquistossomose no Brasil, Brasília, 2010.
- NEVES, D. P. Parasitologia Humana. São Paulo. Editora Atheneu, 2011.
- OLIVEIRA-FILHO, E. C., GERALDINO, B. R., COELHO, D. R., DE-CARVALHO, R. R., Comparative toxicity of *Euphorbia milii* latex and synthetic molluscicides to *Biomphalaria glabrata* embryos. *Chemosphere*, v.81, p. 218-227, 2010.
- PEREIRA-FILHO, A. A. Avaliação do Potencial Moluscicida dos Extratos Hidroalcoólico do Caule, Folhas, e Frutos de *Jatropha gossypifolia* em *Biomphalaria glabrata*. 2011. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2011.
- PENNA, S. C., MEDEIROS, M. V., AIMBRE, F. S. C., FARIA-NETO, H. C. C., SERTÍE, J. A. A., LOPES-MARTINS, R. A. B. Anti-inflammatory effect of the hydralcoholic extract of *Zingiber officinale* rhizomes on rat paw and skin edema. *Phytomedicine*, v.10, p. 381-385, 2003.
- RAMOS, M. C. Ocorrência e positividade de *Biomphalaria glabrata* por *Schistosoma mansoni* no Bairro da Vila Embratel e sua relação com o meio ambiente. 2007. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2007.
- RAPADO, L. N., NAKANO, F. P., OHWEILER, F. P., KATO, M. J., YAMAGUCHI, L. F., PEREIRA, C. A. B., KAWANO, T. Molluscicidal and ovicidal activities of plant extracts of the Piperaceae on *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). *Journal of Helminthology*, v. 85, p. 66–72, 2011.
- RASO, G., VOUNATSOU, P., MCMANUS, D. P., N'GORAN, E.K., UTZINGER, J. A Bayesian approach to estimate the age-specific prevalence of *Schistosoma mansoni* and implications for schistosomiasis control. *International Journal for Parasitology*, v.37, p. 1491-1500, 2007.
- RIBEIRO, K. A. L., CARVALHO, C. M., MOLINA, M. T., LIMA, E. P., LÓPEZ-MONTERO, E., REYS, J. R. M., OLIVEIRA, M. B. F., PINTO, V., SANTANA, E. A. G., GOULART, M. O. F. Activities of naphthoquinones against *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae), vector of dengue and *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818), intermediate host of *Schistosoma mansoni*. *Acta Tropica*, v.111, p. 44–50, 2009.
- SMITH, S. R. & TERRY, R. J. Immunology of schistosomiasis. *Boletim da Organização Mundial de Saúde*. 51. 1974, 553-595.

UKEH, D. A., BIRKETT, M. A., PICKETT, J. A., BOWMAN, A. S., LUNTZ, A. J. M. Repellent activity of alligator pepper, *Aframomum melegueta*, and ginger, *Zingiber officinale*, against the maize weevil, *Sitophilus zeamais*. *Phytochemistry*, v. 70, p.751-758, 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. Memoranda: molluscicide screening and evaluation. *Bulletin of the World Health Organization*, n. 33, p. 567-576, 1965.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2006. Pesticides and their application for the control of vectors and pets of public health importance. WHO/CDS/NTD/WHOPES/GCDPP/2006.1.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Fact sheet on schistosomiasis. World Health Organization, 2010.