



Gastrópodes dulciaquícolas e helmintos associados, em coleções hídricas de Santo André, São Paulo, Brasil

Freshwater gastropods and helminthes associated, in water collections from Santo Andre, São Paulo, Brazil

Juliana Manas Eduardo¹
Fernanda Yoshika Takahashi¹
Márcia Moreira Holcman³
Carmem Beatriz Tape Lagos da Costa²
Fernanda Pires Ohlweiler^{1,4}

Resumo

Registrou-se a malacofauna e a helmintofauna associada nas coleções hídricas do município de Santo André, em especial da Represa Billings, contribuindo para a identificação de focos de parasitoses no município, em especial da esquistossomose. As coletas foram realizadas em coleções hídricas do tipo piscinão, lago, córrego e represa, no período de abril a maio de 2009. Os moluscos dulciaquícolas foram identificados e submetidos a exame parasitológico para a verificação da presença de larvas de trematódeos. Foram identificadas oito espécies e um gênero de moluscos: *Biomphalaria tenagophila*, *Drepanotrema depressissimum*, *Lymnaea columella*, *Lymnaea viatrix*, *Melanoides tuberculatus*, *Omalonyx matheroni*, *Physa acuta*, *Physa marmorata*, e *Pomacea* sp. É ampliada a distribuição geográfica de *L. viatrix* no Estado de São Paulo. Foram encontrados espécimes de *B. tenagophila* infectados por larvas de trematódeos identificadas como *Cercaria caratinguensis*, *Cercaria granulifera* e *echinocercaria* I, e de *L. columella* infectados por *Ornatae cercaria*. A presença de *B. tenagophila*, *L. columella*, *L. viatrix* e *M. tuberculatus*, em coleções hídricas de Santo André, deve ser visto com certa cautela, já que são espécies hospedeiras intermediárias de trematódeos que parasitam o homem e animais. Santo André é um município de risco potencial para parasitoses por apresentar registro de moluscos hospedeiros intermediários de helmintos.

Palavras-chave: gastrópodes dulciaquícolas, helmintos, Represa Billings, São Paulo.

Abstract

We registered the malacological and helminthological fauna in water collections in the county of Santo Andre, especially the Billings Reservoir, auxiliary in the identification of outbreaks of parasitic diseases in the county, special of schistosomiasis. The snails were collected in water collections like artificial pool, lake, stream and reservoir in the period from April to May 2009. The freshwater mollusks were identified and submitted to a parasitological exam to verify the presence of trematodes larvae. Eight species and one genus of mollusks were found: *Biomphalaria tenagophila*, *Drepanotrema depressissimum*, *Lymnaea columella*, *Lymnaea viatrix*, *Melanoides tuberculatus*, *Omalonyx matheroni*, *Physa acuta*, *Physa marmorata* e *Pomacea* sp. The geographic distribution of *L. viatrix* is expanded in the state of Sao Paulo, which until now was only known in the states of Minas Gerais, Rio de Janeiro and Rio Grande do Sul. Specimens of *B. tenagophila* were also found infected by larvae of trematodes, identified as *Cercaria caratinguensis*, *Cercaria granulifera* and *echinocercaria* I and of *L. columella* infected by *Ornatae cercaria*. The presence of *B. tenagophila*, *L. columella*, *L. viatrix* and *M. tuberculatus* in water collections in the county of Santo André should be viewed with some caution, because they are intermediate hosts of trematode that affect animal and human population. Santo Andre is considered a potential risk for parasitic diseases for presenting records of intermediate helminthes host mollusks.

Key words: freshwater gastropods, helminthes, Billings Reservoir, São Paulo.

¹ Laboratório de Malacologia da Divisão de Programas Especiais. Superintendência de Controle de Endemias.

² Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras. Centro Universitário Fundação Santo André.

³ Divisão de Controle de Vetores. Superintendência de Controle de Endemias.

⁴ Autor para correspondência (*Author for correspondence*): fernandap@sucen.sp.gov.br

Auxílio Financeiro: FAPESP – Proc. N° 2008/57792-8

Introdução

Os gastrópodes presentes em ambientes de água doce incluem espécies de importância médica. Dentre estes, estão algumas espécies das famílias Lymnaeidae, Planorbidae e Thiaridae, hospedeiras intermediárias de larvas de helmintos que parasitam o homem e animais (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008). A família que mais se destaca é a Planorbidae por incluir espécies do gênero *Biomphalaria* Preston, 1910, responsáveis pela transmissão da esquistossomose na América do Sul, África, Ásia e Antilhas (REY, 2008). No Brasil, existem onze espécies e uma subespécie de bionfalária (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008; TEODORO, 2009). *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) e *Biomphalaria tenagophila* (Orbigny, 1835) apresentam importante papel na transmissão da esquistossomose mansônica no estado de São Paulo (TELES, 2005) e, *Biomphalaria straminea* (Dunker, 1848), responsável pela transmissão da doença nordeste brasileiro (PARAENSE e CORRÊA, 1989), por ter ampla distribuição e facilidade em se adaptar às variações ambientais, pode vir a ocupar um papel na propagação da doença no estado.

A área do estado de São Paulo, que abrange a Região Metropolitana de São Paulo (RMSP) tem transmissão da doença por responsabilidade da *B. tenagophila* (TELES, 2005). De 2007 a 2010, a RMSP, teve 2.306 notificações de esquistossomose, sendo que destas, 36 foram classificadas como autóctones. Santo André, um dos 39 municípios que compõem a RMSP, neste mesmo período, foi responsável por cerca de 4% das notificações e por 2,7% dos casos autóctones (SINAN, 2011). Santo André apresenta um crescimento urbano rápido, favorecendo a degradação ambiental, que foi agravada pelo crescente número de assentamentos informais na região. Esses assentamentos constituem ambientes de risco à saúde, com baixo nível de serviços, especialmente com relação ao tratamento da rede de esgoto e coleta de lixo (PREFEITURA DE SANTO ANDRÉ, 2010; RALLA, 2010). Atualmente, 60% do território de Santo André localizam-se em áreas destinadas à proteção de mananciais, áreas verdes e parques naturais (PREFEITURA DE SANTO ANDRÉ, 2010; RALLA, 2010). Destes, 55% estão localizados dentro da área de proteção de mananciais da Represa Billings (SEMASA, 2010). A explosão demográfica gerada a partir da crescente ocupação irregular e de-

sordenada da população nas margens das áreas dos mananciais afetou a qualidade das águas da represa. Mais de 700 mil pessoas vivem no entorno da Represa Billings, gerando problemas ambientais devido ao lançamento de esgotos domésticos, desmatamento de áreas verdes e falta de saneamento. O crescimento populacional e o intenso fluxo migratório associado ao hábito humano de frequentar coleções hídricas, as quais podem conter moluscos infestados por larvas de helmintos, fazem da Represa Billings uma importante fonte de estudo (CAPOBIANCO e WHATELY, 2002; SABESP, 2009). Assim, o município de Santo André, por apresentar uma grande área de recursos hídricos, incluindo parte da Represa Billings, torna-se importante para o estudo da malacofauna e suas implicações para a saúde pública e ambiental.

O presente trabalho teve como objetivo conhecer a malacofauna e a helmintofauna associada, em coleções hídricas de Santo André, contribuindo para a identificação de áreas propícias à instalação parasitoses no município, em especial da esquistossomose.

Material e Métodos

Área de estudo

Santo André (23°39'59.6"S;46°31'56.0"W) é um dos 39 municípios da Região Metropolitana de São Paulo. Localizado a 18 km do município de São Paulo, possui uma área de 175 km² e 676.407 habitantes (IBGE, 2011). Foi realizada vistoria no município para a identificação de coleções hídricas que apresentassem condições favoráveis à manutenção de criadouros de moluscos, como a presença de vegetação nas margens e pouca correnteza, além de serem utilizadas pela população seja para lazer, acesso ou atividades econômicas. Foram selecionadas e pesquisadas, quanto à presença de moluscos, vinte e quatro coleções hídricas; cinco em córregos, oito em lagos, um em piscinão e 10 na Represa Billings. Foi feita a caracterização das coleções hídricas a partir de observações de campo, contribuindo para o conhecimento dos habitats dos moluscos. O substrato das coleções hídricas foi identificado como arenoso, lodoso e terra. Considerou-se, substrato arenoso aquele constituído por areia; sem coesão, substrato lodoso aquele formado por mistura de argila e água ou matéria orgânica em decomposição; material de consistência mole e, substrato de terra aquele constituído de argila, matéria orgânica, areia e sais mine-



rais (SANEPAR, 1997). A composição florística foi identificada com o auxílio do Guia de Campo para Plantas Aquáticas e Palustres do Estado de São Paulo de Amaral, et al. (2008) e do livro Plantas Aquáticas do Pantanal de Pott e Pott (2000). Na caracterização do tipo de ambiente, nós consideramos como ambiente impactado, o ambiente que sofre visivelmente a ação do homem e, como ambiente pouco impactado, o ambiente que, embora possa ter sofrido a ação do homem, parece ter recuperado parte de suas características naturais.

Coletas

As coletas de moluscos foram realizadas no período de abril a maio de 2009, duas vezes por semana. A coleta foi manual, com auxílio de pinças e coletores. Os coletores consistem em uma concha metálica perfurada acoplada a um cabo de madeira, utilizada no Programa de Vigilância e Controle da Esquistossomose (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008). No caso dos coletores, a técnica consistiu de conchadas em movimentos verticais, batendo o coletor sobre a água, vegetação e substrato, e na raspagem do fundo da coleção hídrica (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008). A vegetação aquática teve suas folhas e raízes vistoriadas quanto à presença de moluscos. Os pontos de coleta não foram delimitados devido às irregularidades das áreas. Para a padronização das amostras foram utilizados, para cada ponto de coleta, esforços amostrais de três coletores durante o período de uma hora.

Manutenção dos moluscos no laboratório

Os moluscos coletados foram levados ao laboratório de malacologia da SUCEN, sendo os vivos mantidos por 24 horas em recipientes de polietileno (27,5 cm x 12 cm x 13,5 cm) contendo água decolorada e alimentados com alface fresca. Após este período os moluscos, que permaneceram vivos, foram submetidos a exame parasitológico e identificados em nível de espécie ou gênero.

Identificação dos moluscos

Os moluscos foram separados em morfoespécies e identificados, levando-se em consideração aspectos morfológicos da concha e partes moles, em especial dos sistemas reprodutor e renal. A identificação dos moluscos foi baseada em Thillier (1981), Para-

ense (1975, 1976, 1983 e 1986), Paraense e Pointier (2003) e Simone (2006).

Exame parasitológico

Os moluscos foram lavados em água decolorada e colocados individualmente em poços de placas de cultura de célula, com cerca de 3ml de água decolorada e expostos à luz artificial (60w), durante 60 minutos para a eliminação de larvas de helmintos (cercárias). Decorrido o tempo de exposição, a água dos poços foi examinada no microscópio estereoscópico, para a verificação da presença de cercárias. No caso dos exemplares de *Biomphalaria*, quando negativos ao exame de luz artificial, foi adotado o método de esmagamento. Para isso, os moluscos foram colocados entre duas lâminas de vidro, esmagados e examinados sob o microscópio estereoscópico para a observação de possíveis formas larvais em seus órgãos. As larvas de helmintos foram observadas in vivo, identificadas de acordo com Naruto (1984) e Schell (1970) e fotografadas no microscópio de luz.

Foram calculadas as frequências relativas de moluscos no município e do número de indivíduos por espécie encontrados segundo as variáveis; solo, coleção hídrica, vegetação e ambiente. A frequência relativa é determinada em porcentagem e consiste na razão entre a frequência absoluta (número de vezes em que um evento ocorre na população) pelo número total de indivíduos da população.

Resultados

Registraram-se moluscos em 18 das 24 localidades pesquisadas do município de Santo André (Tabela 1). Foram coletados 3.797 espécimes de moluscos, os quais foram identificados como *Biomphalaria tenagophila* (Orbigny, 1835) e *Drepanotrema depressissimum* (Moricandi, 1839), da família Planorbidae; *Lymnaea columella* Say, 1817 e *Lymnaea viatrix* Orbigny, 1835, da família Lymnaeidae; *Melanooides tuberculatus* (Muller, 1774), da família Thiariidae; *Physa acuta* (Draparnaud, 1805) e *Physa marmorata* Guilding, 1828, da família Physidae e *Pomacea Perry*, 1820, da família Ampullariidae. Também foram registrados moluscos terrestres do gênero *Omalonyx matheroni* (PONTIEZ e MICHAUD, 1835), pertencentes à família Succineidae, que apresentam hábitos anfíbios.

B. tenagophila, *L. columella*, *P. acuta* e *P. mar-*

Tabela 1 - Moluscos e trematódeos encontrados em coleções hídricas, nas localidades pesquisadas do município de Santo Andre, São Paulo.

Localidade	Coleções Hídricas	Moluscos	Trematódeos (molusco)
1	Piscinão	Lv, Po, Pa, Lc	
2	Lago 1	Lc, Pm, Pa	
3	Lago 2	Lc, Pm, Om*	
4	Lago 3	Lc	<i>Ornatae cercaria</i> (Lc)
5	Córrego Araçatuba	<i>Pm, Pa, Lv</i>	
6	Córrego	Sem moluscos	
7	Córrego Itapuã	Sem moluscos	
8	Córrego Cassaquera	Sem moluscos	
9	Lago	Pm	
10	Lago	Sem moluscos	
11	Lago 1	Bt, Lc, Pm	
12	Lago 2	Dd, Pm	
13	Represa	Sem moluscos	
14	Represa	Om*, Po, Lc, Pa, Bt	<i>Cercaria granulifera</i> (Bt)
15	Represa	Bt, Lc, Mt, Pa, Pm	
16	Represa	Pa, Po, Bt	Echinocercária I (Bt)
17	Represa	Bt, Po	
18	Represa	Lc, Po, Pa, Pm, Bt	<i>Cercaria caratinguensis</i> (Bt)
19	Córrego	Sem moluscos	
20	Represa	Bt	
21	Represa	Om*, Mt, Pa, Pm, Bt	Echinocercária I (Bt)
22	Represa	Dd, Mt, Pa, Pm, Bt	Echinocercária I (Bt)
23	Represa	Pm, Lc, Pa, Bt	<i>Cercaria granulifera</i> (Bt)
24	Represa	Po, Bt	

1. Av. Engenheiro Olavo Alaysio de Lima. Distrito Utinga. (23° 37' 57.2"S; 46° 32' 12.4"W), 2. Rua José Bonifácio, Parque Central. Distrito Vila Assunção. (23° 40' 16.4"S; 46° 31' 45.9"W), 3. Rua José Bonifácio, Parque Central. Distrito Vila Assunção. (23° 40' 16.4"S; 46° 31' 45.9"W), 4. Rua José Bonifácio, Parque Central. Distrito Vila Assunção. (23° 40' 16.4"S; 46° 31' 45.9"W), 5. Rua Santarém, nº 130. Distrito Jardim Bom Pastor. (23°40'36.2"S; 46°32'55.2"W), 6. Marginal Córrego Taióca. Distrito Jardim Jamaica, 7. Rua Espírito Santo. Distrito Cidade São Jorge. (23° 40' 57.6"S; 46° 29' 4.6"W), 8. Av. Prefeito Luiz Ignácio Anhaina Melo. Distrito Parque Gerassi. (23° 40' 47.7"S; 46° 29' 44.9"W), 9. Rua Soldado Dorival de Brito. Distrito Cidade São Jorge. (23° 40' 52.7"S; 46° 28' 57.9"W), 10. Parque Guaraciaba. Distrito Vila Guaraciaba, 11. Parque do Pedroso. Distrito Represa. (23° 44' 27.1"S; 46° 29' 28.1"W), 12. Parque do Pedroso. Distrito Represa. (23° 44' 27.1"S; 46° 29' 28.1"W), 13. Rua Rio Amapari. Parque Pedroso. Distrito Represa, 14. Rua Crejuá. Waisberg I. Distrito Recreio da Borda do Campo. 15. Rua Sanhaço, nº99. Distrito Recreio da Borba do Campo. 16. Rua Chauá, Waisberg II. Distrito Recreio da Borda do Campo. (23° 43' 44.1"S; 46° 29' 8.6"W), 17. Estrada Pedroso. Distrito Jardim Riviera, 18. Av. Mico-Leão-Dourado. Waisberg II. Distrito Recreio da Borda do Campo. (23° 43' 50.9"S; 46° 28' 54.1"W), 19. Av. Tubarão. Distrito Jardim Clube de Campo. (23° 46' 20.4"S; 46° 28' 20.3"W), 20. Rua Rio Verde. Distrito Jardim Riviera. (23° 44' 47.5"S; 46° 29' 39.5"W), 21. Rua Silveria Eduarda de Lima nº7. Fazenda Bromberg. Parque Represa Billings. 22. Rua Felipe dos Santos. Parque Represa Billings. (23° 45' 20.3"S; 46° 27' 49.0"W), 23. Rua Trevo. Distrito Acampamento Anchieta. (23° 45' 30.8"S; 46° 28' 27.4"W), 24. Chácara dos Moreira nº9. Estrada Mogi das Cruzes. Distrito Parque das Garças. (23° 48' 0.6"S; 46° 26' 14.9"W). * molusco terrestre com hábitos anfíbios. Bt; Biomphalaria tenagophila, Dd; Drepanotrema depressissimum, Lc; Lymnaea columella, Lv; Lymnaea viatrix, Mt; Melanoides tuberculatus, Om; Omalonyx matheroni, Pa; Physa acuta, Pm; Physa marmorata, Po; Pomacea sp.

marmorata ocorreram em um maior número de localidades no município de Santo André (Figura 1), sendo que a primeira foi a predominante no município (Figura 2).

A maior riqueza de espécies está no lago e na represa, onde *P. marmorata* e *B. tenagophila* foram frequentes. *L. columella* e *Pomacea sp.* foram fre-

quentes em córrego e piscinão, respectivamente (Tabela 2).

Maior diversidade de espécies foi encontrada em coleções hídricas com substratos lodosos e de terra, onde *B. tenagophila* foi frequente. Em coleções hídricas com substrato arenoso observou-se maior frequência de *L. columella* (Tabela 2).

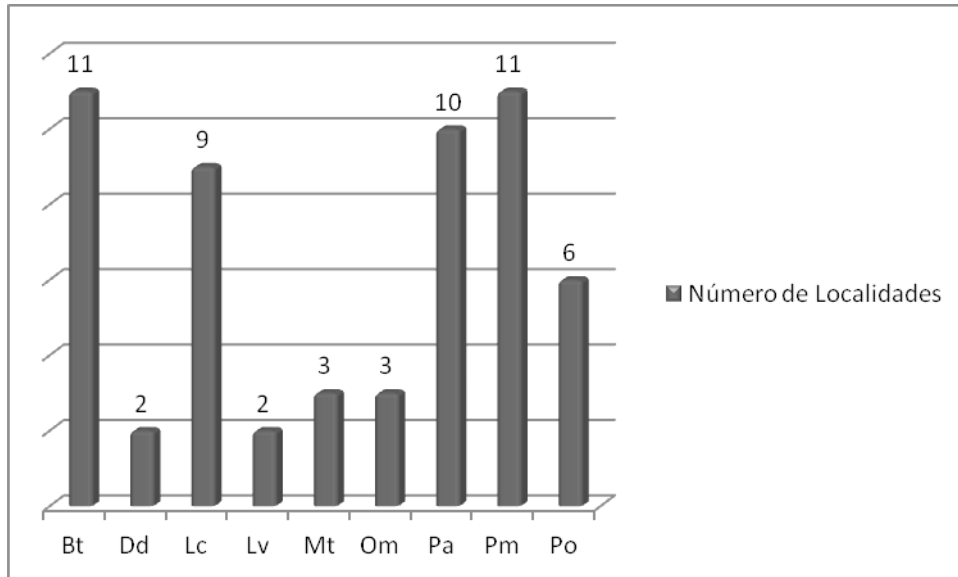


Figura 1: Número de localidades com registro de moluscos no município de Santo André, São Paulo. Bt; *Biomphalaria tenagophila*, Dd; *Drepanotrema depressissimum*, Lc; *Lymnaea columella*, Lv; *Lymnaea viatrix*, Mt; *Melanoides tuberculatus*, Om; *Omalonyx matheroni*, Pa; *Physa acuta*, Pm; *Physa marmorata* e Po; *Pomacea sp.*

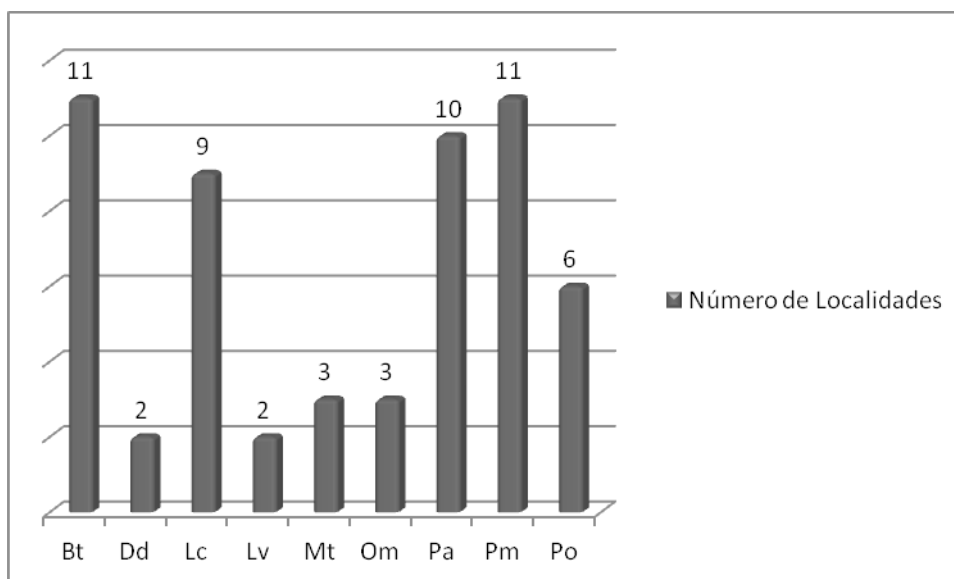


Figura 2: Frequência de moluscos no município de Santo André, São Paulo. Bt; *Biomphalaria tenagophila*, Dd; *Drepanotrema depressissimum*, Lc; *Lymnaea columella*, Lv; *Lymnaea viatrix*, Mt; *Melanoides tuberculatus*, Om; *Omalonyx matheroni*, Pa; *Physa acuta*, Pm; *Physa marmorata* e Po; *Pomacea sp.*

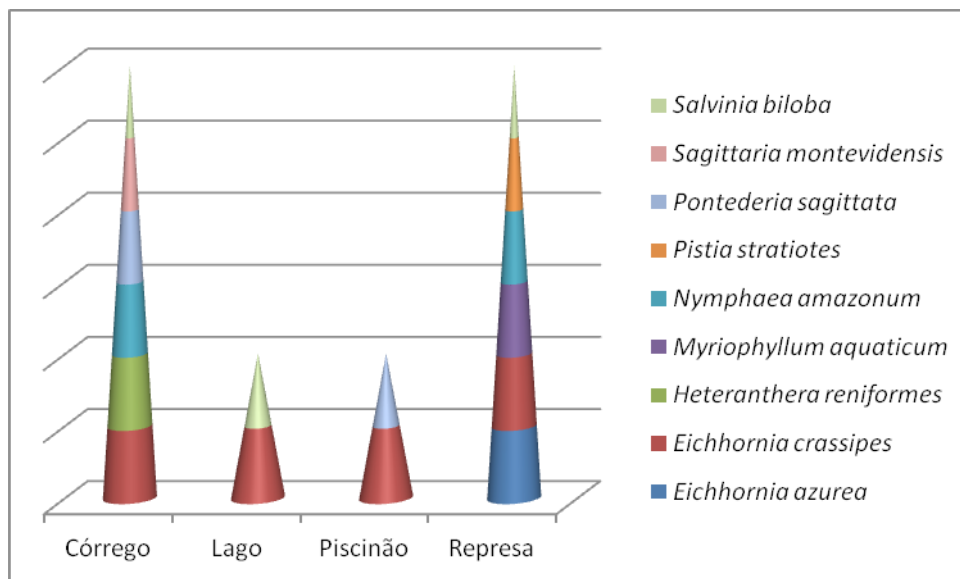
Tabela 2: Frequência de moluscos em diferentes coleções hídricas e substratos, no município de Santo André, São Paulo.

Coleções hídricas	Frequência de Moluscos (%)									
	Bt	Dd	Lc	Lv	Mt	Om	Pa	Pm	Po	
Córrego	0	0	58,07	4,91	0	0	22,63	14,39	0	
Lago	21,3	1,26	9,03	0	0,18	0,18	9,93	58,12	0	
Piscinão	0	0	1,1	2,8	0	0	6,6	0	89,5	
Represa	85,1	0,5	0,6	0	0,32	0,78	8,4	2,13	2,2	
Substrato										
Areia	24,68	0	43,96	0	0	0,11	5,72	25,53	0	
Lodoso	56,37	0,51	1,02	2,63	0,07	0	12,52	11,50	15,40	
Terra	79,50	0,81	0,27	0	0,54	1,28	12,74	4,52	0,34	

Bt; *Biomphalaria tenagophila*, Dd; *Drepanotrema depressissimum*, Lc; *Lymnaea columella*, Lv; *Lymnaea viatrix*, Mt; *Melanoides tuberculatus*, Om; *Omalonyx matheroni*, Pa; *Physa acuta*, Pm; *Physa marmorata*, Po; *Pomacea* sp.

A vegetação encontrada nas coleções hídricas foi diversificada, constituindo-se de macrófitas como ervas aquáticas das famílias Haloragaceae (*Myriophyllum aquaticum* (Vell.) Verdc.), Nymphaeaceae (*Nymphaea amazonum* Mart. & Zucc.) e Pontederiaceae (*Eichhornia azurea* (Swartz) Kunth, 1843 e *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms); ervas flutuantes da família Araceae (*Pistia stratiotes* L.); ervas palustres das famílias Alis-

mataceae (*Heteranthera reniformes* Ruiz & Pav. e *Sagittaria montevidensis* Cham. & Schldl.) e Pontederiaceae (*Pontederia sagittata* C. Presl.), pteridófitas aquáticas da família Salviniaceae (*Salvinia biloba* Raddi). A maior variedade de vegetação aquática foi observada nos córregos e na represa, sendo que *E. crassipes* e *S. biloba* estiveram presentes em praticamente todos os tipos de coleções hídricas (Figura 3).


Figura 3: Vegetação aquática encontrada nos diferentes tipos de coleções hídricas do município de Santo André, São Paulo.

Coleções hídricas com substratos lodosos e de terra apresentaram maior diversidade de ve-

getação aquática, do que em relação ao substrato arenoso (Figura 4).

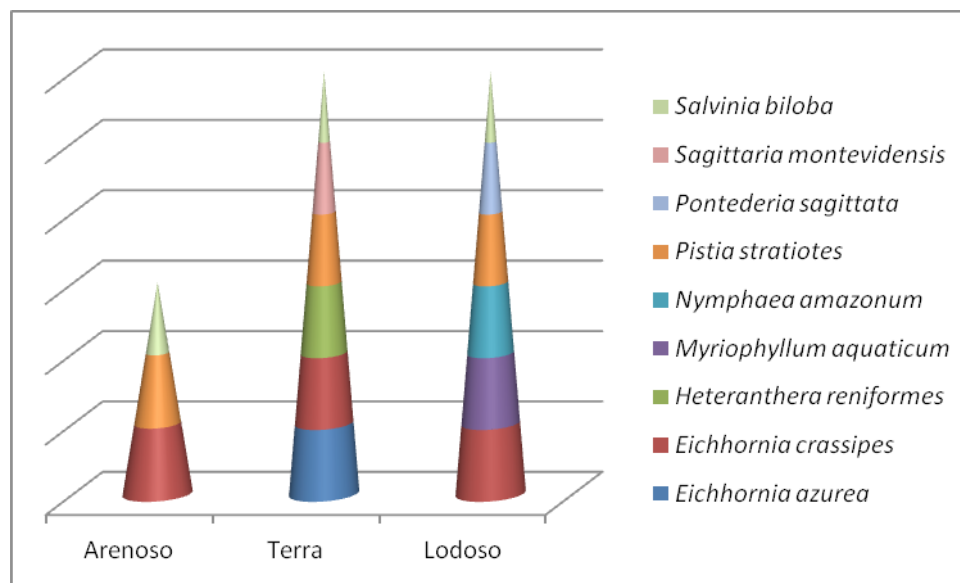


Figura 4: Vegetação aquática encontrada nos diferentes tipos de substratos de coleções hídricas do município de Santo André, São Paulo.

Coleções hídricas contendo *E. azurea*, *E. crassipes*, *M. aquaticum*, *P. sagittata* e *S. biloba* tiveram as maiores frequências de *B. tenagophila*. Em coleções hídricas contendo *H. reniformis*, *N. amazonum* e *S.*

montevidensis encontrou-se *P. acuta* com maior frequência, enquanto que naquelas contendo *P. stratiotes* observou-se maior frequência de *P. acuta* e *Pomacea sp.* (Tabela 3).

Tabela 3: Frequência de moluscos na vegetação aquática presente em coleções hídricas do município de Santo André, São Paulo.

Vegetação aquática	Frequência (%)								
	Bt	Dd	Lc	Lv	Mt	Om	Pa	Pm	Po
<i>Eichhornia azurea</i>	72,43	0	0	0	3,85	10,26	5,13	8,33	0
<i>Eichhornia crassipes</i>	41,18	0	0,47	4,23	0,82	1,9	19,53	12,82	19,06
<i>Heteranthera reniformes</i>	0	0	0	11,7	0	0	53,96	34,34	0
<i>Myriophyllum aquaticum</i>	97,8	0	0	0	0	0	0	0	2,2
<i>Nymphaea amazonum</i>	14,2	0	0	10	0	0	46,13	29,35	0,32
<i>Pistia stratiotes</i>	0	0	0,45	8,1	0	0	34,75	20,4	36,32
<i>Pontederia sagittata</i>	81,6	0	0,35	0	0,42	1,34	13,19	1,06	2,04
<i>Sagittaria montevidensis</i>	0	0	0	11,7	0	0	53,96	34,34	0
<i>Salvinia biloba</i>	84,61	0,5	0,63	0	0,38	0,79	8,61	2,3	2,2

Bt; *Biomphalaria tenagophila*, Dd; *Drepanotrema depressissimum*, Lc; *Lymnaea columella*, Lv; *Lymnaea viatrix*, Mt; *Melanoides tuberculatus*, Om; *Omalonyx matheroni*, Pa; *Physa acuta*, Pm; *Physa marmorata* e Po; *Pomacea sp.*

23,44% dos moluscos coletados foram encontrados em coleções hídricas de ambientes impactados, enquanto que 76,55% deles foram coletados em coleções hídricas de ambientes pouco impactados. Coleções hídricas de ambientes pou-

co impactados possuem representantes de todas as espécies coletadas no município, enquanto que naquelas de ambientes impactados observou-se a ausência de *B. tenagophila*, *D. depressissimum* e *M. tuberculatus* (Tabela 4).

Tabela 4: Frequência de moluscos em ambientes pouco impactados e ambientes impactados do município de Santo André, São Paulo.

Molusco	Ambiente	
	Pouco Impactado	Ambiente Impactado
Bt	75,4	0
Dd	0,65	0
Lc	0,59	46,85
Lv	1,07	0,6
Mt	0,31	0
Om	0,65	0,11
Pa	12,04	7,32
Pm	7,8	26,91
Po	1,48	18,24

Bt; *Biomphalaria tenagophila*, Dd; *Drepanotrema depressissimum*, Lc; *Lymnaea columella*, Lv; *Lymnaea viatrix*, Mt; *Melanoides tuberculatus*, Om; *Omalonyx matheroni*, Pa; *Physa acuta*, Pm; *Physa marmorata* e Po; *Pomacea* sp.

Dos 3.797 exemplares coletados, apenas 2.954 foram examinados quanto à presença de larvas de helmintos, por encontrarem-se vivos. Das 18 localidades com registro de moluscos, sete apresentaram moluscos positivos para larvas de trematódeos. *B. tenagophila* mostrou-se positiva em seis localidades e *L. columella* em uma localidade (Tabela 1).

As larvas de trematódeos encontradas parasitando *B. tenagophila* foram identificadas como *Cercaria granulifera* (Lutz, 1924) (Echinostomatidae), equinocercária I (Echinostomatidae) e *Cercaria caratinguensis* (Ruiz, 1953) (Strigeidae). *L. columella* apresentou-se infectada por *Ornatae cercaria* (Tabela 1 e Figura 5).

tomatidae), equinocercária I (Echinostomatidae) e *Cercaria caratinguensis* (Ruiz, 1953) (Strigeidae). *L. columella* apresentou-se infectada por *Ornatae cercaria* (Tabela 1 e Figura 5).

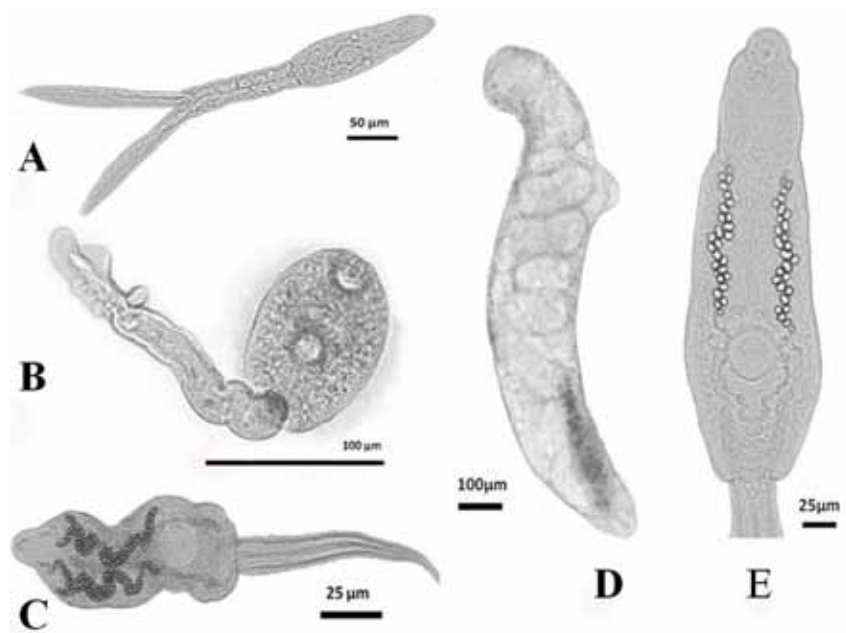


Figura 5: Larvas de trematódeos. A: *Cercaria caratinguensis*, B: *Ornatae cercaria*, C: *Cercaria granulifera*, D: rédia de equinocercária I, E: corpo de equinocercária I. (Fotografias tiradas em microscópio de luz).



Discussão

A partir das pesquisas malacológicas realizadas no município de Santo André, foi possível registrar moluscos pertencentes a cinco famílias dulciaquícolas (Ampullariidae, Lymnaeidae, Physidae, Planorbidae e Thiariidae) e uma família terrestre (Succineidae) de hábitos anfíbios.

L. viatrix é registrada pela primeira vez para o município de Santo André, no estado de São Paulo. A distribuição da espécie é conhecida para os estados de Minas Gerais (CARVALHO, et al., 2005; LUTZ 1921), Rio de Janeiro (LUTZ, 1921), Rio Grande do Sul e São Paulo (CARVALHO, et al., 2005; OHLWEILER, et al., 2010). Sendo que para São Paulo, o registro de *L. viatrix* é bastante amplo, não sendo mencionadas localidades específicas. Acredita-se que a distribuição de *L. viatrix* no estado de São Paulo esteja subestimada em vista da falta de pesquisas malacológicas. Apenas seis das 24 localidades pesquisadas não tiveram registro de moluscos. As localidades seis, sete e oito, que não apresentaram moluscos, foram classificadas como ambientes impactados. Nestes locais observou-se deposição de lixo, saída de esgoto e ausência de vegetação, que quando presente constava apenas de poucas gramíneas. As condições insalubres dos corpos d'água e a falta de vegetação aquática contribuem para a ausência de moluscos nestes pontos. A vegetação aquática é importante na manutenção dos criadouros de moluscos por servirem como fontes de alimento e criarem microhabitats que oferecem base para a oviposição dos moluscos e proteção contra predadores (ABÍLIO, et al., 2006; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008; MORETTI, et al., 2003).

As outras localidades, que também não tiveram registro de moluscos, 10, 13 e 19, foram consideradas como ambientes pouco impactados. Nestas localidades a vegetação foi composta de *E. crassipes*, *P. stratiotes* e *S. biloba*, que segundo Pott e Pott (2000) e Amaral, et al. (2008) são vegetações que, quando em excesso, podem causar o sombreamento do corpo d'água. E, ao cobrirem grandes extensões do corpo d'água, impedem a penetração da luz, causando a diminuição do oxigênio dissolvido na água e conseqüentemente o desequilíbrio entre a flora e fauna. Não se observou excesso das

mesmas nestes corpos d'água, de forma que pudessem causar impacto nos ecossistemas aquáticos. Sabe-se também que, *E. crassipes*, *P. stratiotes* e *S. biloba* servem de alimento para os moluscos, além de serem consideradas plantas despoluidoras de água (POTT e POTT, 2000). No nosso caso, não foi possível inferir os motivos da ausência de moluscos nestes pontos, já que o encontro ou não dos mesmos depende também de outras variáveis, como as relacionadas a fatores físico-químico da água. As demais localidades revelaram a presença de moluscos. Algumas dessas localidades (um, 14, 15, 18, 21, 22 e 23) foram consideradas ambientes estáveis, propícios para a manutenção de criadouros, uma vez que apresentaram maior diversidade de espécies. Segundo Abílio, et al. (2006) e Rosemberg e Resh (1993), a diversidade de espécies em um ambiente está relacionada com a boa qualidade do mesmo. Quanto maior a diversidade de espécies, maior a estabilidade do ambiente. E, ambientes com baixa riqueza de espécies, como foi o caso das localidades 4, 9, 12, 20 e 24, é indicativo de ambientes perturbados, ou seja, pouco estáveis (ABÍLIO, et al., 2006 e ROSEMBERG e RESH, 1993). *B. tenagophila* está dentre as espécies registradas em um maior número de localidades, assim como se trata da espécie mais abundante em Santo André, demonstrando maior sucesso nos ambientes estudados.

As coleções hídricas do tipo lago e represa, que tiveram maior diversidade de moluscos, são ambientes de águas paradas, corroborando o fato de que os moluscos dulciaquícolos dão preferência para águas de cursos lentos e estagnados (AZEVEDO, 1957; BARBOSA, 2005). As águas estagnadas formam ambientes mais propícios à formação e manutenção de criadouros de moluscos, enquanto que as águas de maior correnteza, como em córregos, favorecem o carreamento dos moluscos. Apesar dos criadouros de moluscos serem bastante diversificados, coleções hídricas dos tipos lago e represa, estão dentre os habitat naturais preferenciais dos moluscos.

Os dados referentes à frequência de moluscos nos quatro tipos de coleções hídricas mostram a prevalência de *L. columella* em águas com um pouco de correnteza, como os córregos, enquanto que *B. tenagophila*, *P. marmorata* e *Pomacea sp.* incidiram com maior frequência em coleções com águas



de cursos lentos, como represa, lago e piscinão.

As maiores riquezas de moluscos observadas em coleções hídricas com substratos lodosos e de terra são justificadas pelo fato de que estes substratos apresentam maior quantidade de nutrientes e retém a água da chuva ou resultantes de cheias, criando condições favoráveis para a manutenção de criadouros de moluscos (AZEVEDO, 1957). A baixa diversidade de moluscos no substrato arenoso provavelmente está relacionada ao excesso de aeração no solo, o que acarreta o escoamento rápido da água, levando junto os nutrientes, dificultando a manutenção dos seres vivos (AZEVEDO, 1957).

Com relação à vegetação encontrada nas coleções hídricas, constatou-se grande diversidade de macrófitas, que segundo Trivinho-Strixino e Strixino (1991), apresentam estrutura morfológica que favorece a abundância e riqueza da fauna associada. As macrófitas apresentam importante papel nos ecossistemas aquáticos, principalmente em ambientes lênticos, pois servem como sítios de repouso e contribuem na produção de nutrientes e formação de detritos (PETRUCIO e ESTEVES, 2000).

A vegetação em coleções hídricas com substratos lodosos e de terra foi mais diversificada, fato constatado também com relação à malacofauna. Como referido anteriormente, estes substratos são ricos em nutrientes, tornando-se propícios para a manutenção da vida aquática. O substrato arenoso mostrou-se mais pobre com relação à variedade de vegetação, assim como de moluscos, corroborando com a ideia de Azevedo (1957), de que neste tipo de solo, os seres vivos vivem com maior dificuldade.

Constatou-se maior riqueza de moluscos em coleções hídricas contendo *E. azurea*, *E. crassipes*, *P. stratiotes*, *P. sagittata* e *S. biloba*. A afinidade de moluscos dulciaquícolas por macrófitas, em especial *E. azurea* e *E. crassipes* foi também reportada por Abílio, et al. (2006).

Os moluscos, em sua maioria, foram encontrados tanto em ambientes impactados como em ambientes pouco impactados. O fato de *B. tenagophila*, *D. depressissimum* e *M. tuberculatus*, terem sido registradas somente em ambientes pouco impactados do município de Santo André, não significa que não possam ter condições de adaptarem-se em ambientes impactados. Os moluscos, geralmente, são bastante resistentes a ambientes impactados,

suportando bem as adversidades ambientais, como os impactos gerados por descargas de esgotos, depósito de lixo e atividades agrícolas e industriais (PARAENSE, 1981; THIENGO, et al., 1998; MARQUES e BARBOSA, 2001; KLEIMAN, et al., 2004 e VIDIGAL, et al., 2005).

Dos moluscos coletados, apenas *B. tenagophila* e *L. columella* apresentaram-se suscetíveis a larvas de trematódeos. Com base em Naruto (1984), Ruiz (1952 e 1953) e Schell (1970) quatro foram as formas larvais encontradas infectando estas espécies; duas Echinostomatidae (*C. granulifera* e equinocercária I), uma Strigeidae (*C. caratinguensis*) e uma Macroderoididae e Haplometridae (*O. cercaria*).

C. granulifera foi assim identificada por apresentar colar cefálico, grânulos refringentes nos canais coletores, dois grânulos refringentes na região anterior; localizados junto à ventosa oral e à faringe e desenvolvimento em rédia (NARUTO, 1984). De acordo com Naruto (1984), *C. granulifera* é a forma larvária de *Paryphostomum segregatum* Dietz, 1909, que tem como hospedeiros intermediários, além da *B. tenagophila*, também registrada por nós, *B. glabrata*, *B. schrammi* e *B. straminea*. São citados como hospedeiros secundários anfíbios e peixes e como hospedeiros definitivos, aves, répteis e mamíferos (NARUTO, 1984; SCHELL, 1970). *C. granulifera* difere da forma equinocercária I pela maior quantidade de grânulos refringentes nos canais coletores e presença de dois grânulos refringentes na região anterior. A equinocercária I é bastante semelhante a *Cercaria macrogranulosa* descrita por Ruiz (1952) e a *Cercaria echinostoma* 2 descrita por Veitenheimer-Mendes (1982), diferindo destas por apresentar maior número de grânulos refringentes nos canais coletores. Na equinocercária I, também, não se observou as células dispostas lateralmente ao longo do corpo, mencionadas por Ruiz (1952) e Veitenheimer-Mendes (1982).

C. caratinguensis foi identificada de acordo com Ruiz (1953) e Naruto (1984) por apresentar dois ocelos desprovidos de pigmentação localizados lateralmente acima do acetábulo, cauda curta e larga e furcas longas e achatadas. Tem origem a partir de esporocistos e possui como hospedeiros intermediários, além da *B. tenagophila*, também encontrada por nós, *B. glabrata* (RUIZ, 1953; NARUTO, 1984 e DE MORAES, et al., 2009) e pássaros e mamíferos como hospedeiros definitivos (SCHELL, 1970 e



FRANDSEN e CHRISTENSEN, 1984).

O. cercaria foi assim identificada, de acordo com Schell (1970), por apresentar estilete na ventosa oral e aleta caudal, características diagnósticas nas formas larvárias do grupo ornata. Cercárias deste tipo desenvolvem-se a partir de esporocisto, possuem como hospedeiros definitivos peixes e anfíbios (SCHELL, 1970) e como hospedeiros intermediários moluscos dos gêneros *Biomphalaria*, *Lymnaea* e *Melanoïdes* (BOAVENTURA, et al., 2002; FRANDSEN e CHRISTENSEN, 1984).

Conclusão

A partir deste estudo foi possível inferir que coleções hídricas de águas de cursos lentos ou estagnados, com substratos lodosos e de terra, de ambientes pouco impactados e com a presença de macrófitas constituíram ambientes favoráveis para a manutenção dos criadouros de moluscos no município de Santo André.

O encontro de *B. tenagophila* em coleções hídricas de Santo André é preocupante, uma vez que se trata do caramujo hospedeiro intermediário do *Schistosoma mansoni*, contribuindo para a transmissão da esquistossomose no município. A presença de *L. columella*, *L. viatrix* e *M. tuberculatus*, em coleções hídricas de Santo André, também deve ser visto com certa cautela, já que são espécies hospedeiras intermediárias de trematódeos que parasitam o homem e animais.

Muitos ainda são os estudos que se fazem necessários para que possamos identificar com exatidão os estágios larvais dos trematódeos, bem como associá-los às suas formas adultas, o que é de suma importância para o esclarecimento da relação hospedeiro/parasita e para a identificação de quadros epidemiológicos.

Santo André é considerado um município de risco potencial para parasitoses, por apresentar registro de moluscos hospedeiros intermediários de helmintos.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP-Proc. N° 2008/57792-8 e N° 2009/06282-2) pelo apoio financeiro. E, à Dra. Janine Oliveira Arruda da Pontifi-

cia Universidade Católica- RS pela identificação de *Omalonyx matheroni*.

Referências Bibliográficas

ABÍLIO, F.J.P.; FONSECA-GESSNER, A.A.; LEITE, R.L.; RUFFO, T.L.M. Gastrópodes e outros invertebrados do sedimento associados à macrófita *Eichhornia crassipes* de um açude hipertrófico do semi-árido paraibano. *Revista de Biologia e Ciência da Terra*, v.1, p.165-178, 2006.

AMARAL, M.C.E.; BITTRICH V.; FARIA, A.D.; ANDERSON, L.O.; AONA, L.Y.S. *Guia de Campo para Plantas Aquáticas e Palustres do Estado de São Paulo*. São Paulo, Holos Editora, 2008. 452 p.

AZEVEDO, J.F.; MEDEIROS, L.C.; FARO, M.M.C. *Estudos, ensaios e documentos. XXXI. Os moluscos de água doce do Ultramar Português. II-Moluscos do sul do Save (Moçambique)*. Lisboa, Ministério do Ultramar, Junta de Investigações do Ultramar, 1957. 116 p.

BARBOSA, F.S. *Tópicos em Malacologia Médica*. Rio de Janeiro, Editora Fiocruz, 2005. 314 p.

BOAVENTURA, M.F.; FERNANDEZ, M.A.; THIENGO, S.C.; SILVA, R.E.; MELO, A.L. *Formas larvais de Trematoda provenientes de gastrópodes límnicos da microrregião Rio de Janeiro, sudeste do Brasil*. *Lundiana*, v.3, p.49-49, 2002.

CARVALHO, O.S.; PASSOS, L.K.J.; MENDONÇA, C.L.F.G.; CARDOSO, P.C.M.; CALDEIRA, R.L. *Moluscos de importância médica no Brasil*. Belo Horizonte, FIOCRUZ/Centro de Pesquisas René Rachou, 2005. 52 p.

CAPOBIANCO, J.P.R.; WHATELY, M. *Ameaças e perspectivas para o maior reservatório de água da região metropolitana de São Paulo. Relatório do Diagnóstico Socioambiental Participativo da Bacia Hidrográfica da Billings no Período 1989-99*. Instituto Socioambiental, São Paulo. Disponível em: <http://www.socioambiental.org>, 2002.

FRANDSEN, F.; CHRISTENSEN, N. *An Introductory guide to the identification of cercariae from African freshwater snails with special reference to cerca-*



riae of trematode species of medical and veterinary importance. *Acta Tropica*, v.41, p. 181-203, 1984.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 10 jan. 2011.

KLEIMAN, F.; PIETROKOVSKY, S.; PARAENSE, W.L.; WISNIVESKY-COLLI, C. Southernmost finding of *Lymnaea viatrix* Orbigny, 1835 (Pulmonata: Lymnaeidae), intermediate host of *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) (Trematoda: Digenea), in urban and rural áreas of Patagonia, Argentina. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.99, n.1, p. 23-24, 2004.

LUTZ, A. Sobre a ocorrência de *Fasciola hepatica* no Estado do Rio de Janeiro. *Boletim do Instituto Oswaldo Cruz*, v.1, p. 9-12, 1921.

MARGURRAN, A.E. *Ecological Diversity and Its Measurement*. New Jersey, Princeton University Press, 1988. 179 p.

MARQUES, M.M.; BARBOSA, F. Biological quality of waters from an impacted tropical watershed (middle Rio Doce basin, southeast Brazil), using benthic macroinvertebrate communities as an indicator. *Hydrobiologia*, v.457, p. 69-76, 2001.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. DEPARTAMENTO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA. *Vigilância e Controle de Moluscos de Importância Epidemiológica: Diretrizes Técnicas: Programa de Vigilância e Controle da Esquistossomose (PCE)*. Brasília-DF, Editora do Ministério da Saúde, 2008. 177 p.

MORENO, C.E. *Métodos para medir la biodiversidad*. M&T – Manuales Y Tesis SEA, Zaragoza. Espanha, v.1, 2001. 84 p.

MORETTI, M.S.; GOULART, M.D.C.; CALLISTO, M. Avaliação rápida da macrofauna associada a *Eichhornia azurea* (Swartz) Kunth, 1843 e *Pontederia lanceolata* Nutt., 1818 (Pontederiaceae) na Baía do Coqueiro, Pantanal de Poconé (MT/Brasil). *Revista Brasileira de Zoociências*, v.5, p. 7-21, 2003.

NARUTO, T. Guia para Identificação de Cercarias.

Apostila. Laboratório de Malacologia da Superintendência e Controle de Endemias – SUCEN. São Paulo, 1984. 61 p.

OHLWEILER, F.P.; TAKAHASHI, F.Y.; GUIMARÃES, M.C.A.; GOMES, S. R.; KAWANO, T. *Manual de gastrópodes límnicos e terrestres do estado de São Paulo associado às helmintoses*. Porto Alegre-RS, Redes Editora, 2010. 224 p.

PARAENSE, W.L. Estado atual da sistemática dos planorbídeos brasileiros. *Arquivos do Museu Nacional do Rio de Janeiro*, v.55, p. 105-128, 1975.

PARAENSE, W.L. *Lymnaea viatrix*: a study of topotypic specimens (Mollusca: Lymnaeidae). *Revista Brasileira de Biologia*, v.36, n.2, p. 419-428, 1976.

PARAENSE, W.L. *Gastropoda*. In: Hurlbert, G.R. & Santos, N.D. (Ed). *Aquatic Biota of Tropical South America. Anarthropoda*. Califórnia, San Diego State University, 1981. p. 200-207.

PARAENSE, W.L. *Lymnaea columella* in northern Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.78, n.4, p. 477-482, 1983.

PARAENSE, W.L. *Physa marmorata* Guilding, 1828 (Pulmonata: Physidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.81, n.4, p. 459-469, 1986.

PARAENSE, W.L.; CORRÊA, L. A potencial vector of *Schistosoma mansoni* in Uruguay. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.84, p. 281-88, 1989.

PARAENSE, W.L.; POINTIER, J.P. *Physa acuta* Draparnaud, 1805 (Gastropoda: Physidae): a study of topotypic specimens. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.98, n.4, p.513-517, 2003.

PETRUCIO, M.M.; ESTEVES, F.A. Uptake of nitrogen and phosphorus in the water by *Eichhornia crassipes* and *Salvinia auriculata*. *Revista Brasileira de Biologia*, v.60, p. 229-236, 2000.

POTT, V.J.; POTT, A. *Plantas aquáticas do Pantanal*. Brasília-DF, Embrapa. Centro de Pesquisa Agropecuária do Pantanal (Corumbá, MS), 2000. 404 p.

PREFEITURA DE SANTO ANDRÉ. História da ci-



dade. São Paulo. Disponível em: <<http://www.santo-andre.sp.gov.br>>. Acesso em: 22 jan. 2010.

RALLA, T.C. Análise preliminar dos impactos do rodovial na Represa Billings: Estudo do caso do bairro Parque Maiami e Jardim Riviera, no município de Santo André, SP. 2009. Disponível em: <http://www.geo.ufv.br/simposio/simposio/trabalhos/trabalhos_completos/eixo10/009.pdf>. Acesso em: 25 jan. 2010.

REY, L. Parasitologia: Parasitos e doenças Parasitárias do Homem nos Trópicos Ocidentais. Rio de Janeiro, 4ª edição, Guanabara Koogan, 2008. 883 p.

ROSEMBERG, D.M.; RESH, V.H. Freshwater bio-monitoring and benthic macroinvertebrates. London: Chapman & Hall, 1993. 488 p.

RUIZ, J.M. Contribuição ao estudo das formas larvárias de trematóides brasileiros. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v.24, n.1, p. 45-62, 1952.

RUIZ, J.M. Contribuição ao estudo das formas larvárias de trematóides brasileiros. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v.25, n.2, p. 77-89, 1953.

SABESP-COMPANHIA DE SANEAMENTO BÁSICO DO ESTADO DE SÃO PAULO. Represa Billings. Disponível em: <<http://www.sabesp.com.br>>. Acesso em: 13 abr. 2009.

SANEPAR-COMPANHIA DE SANEAMENTO DO PARANÁ. Manual de Obras de Saneamento. Módulo 4 – Movimento de Terra. 3ª edição. Disponível em: <http://www.sanepar.com.br/categoria/informeticnicos/mos-manualdeobrasdesaneamento>. 1997.

SCHELL, S.C. How to Know the Trematode. Dubuque, WMC Brown Co. Publishers, 1970. 355 p.

SEMASA-SECRETARIA MUNICIPAL DE SANEAMENTO AMBIENTAL DE SANTO ANDRÉ. PROJETO GEPAN. Gerenciamento Participativo de Áreas de Mananciais. Disponível em: <http://www.semasa.sp.gov.br>. Acesso em: 25 mai. 2010.

SIMONE, L.R.L. Land and freshwater molluscs of Brazil. São Paulo, EGB, Fapesp, 2006. 390 p.

SINAN-SISTEMA NACIONAL DE AGRAVOS DE NOTIFICAÇÃO. Centro de Vigilância Epidemiológica (CVE). Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo. Disponível em: <http://www.saude.gov.br/sinanweb/index.php>. Acesso em: 15 jun. 2011.

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

TEODORO, T.M. Investigação da ocorrência de *Biomphalaria cousini* no Brasil e sua suscetibilidade ao *Schistosoma mansoni*. Dissertação de Mestrado em Ciências da Saúde do Centro de Pesquisas René Rachou, Belo Horizonte: Fundação Oswaldo Cruz, Ministério da Saúde, 95 p., 2009.

THIENGO, S.C.; FERNANDEZ, M.A.; BOAVENTURA, M.F.; STORTTI, M.A. A survey of gastropods in the microrregião serrana do Rio de Janeiro, Brazil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v.93, p. 233-234, 1998.

TILLIER, S. South American and Juan Fernandez succineid slugs (Pulmonata). Journal of Molluscan Studies, v. 47, p. 125-146, 1981.

TRIVINHO-STRIXINO S, STRIXINO G. Estrutura da comunidade de insetos aquáticos associados a *Pontederia lanceolata* Nuttall. Revista Brasileira de Biologia, v.53, p. 103-11, 1991.

VEITENHEIMER-MENDES, I.L. Cercárias em moluscos planorbídeos de Camaquã, Rio Grande do Sul, Brasil. Revista Brasileira de Biologia, v.42, n.3, p. 545-551, 1982.

VIDIGAL, T.H.D.A.; MARQUES, M.M.G.S.M.; LIMA, H.P.; BARBOSA, F.A.R. Gastrópodes e bivalves límnicos do trecho médio da bacia do Rio Doce, Minas Gerais, Brasil. Lundiana, v.6, supplement, p. 67-76, 2005.