

Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz
Centro de Pesquisas René Rachou
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

Avaliação e retificação da identificação específica de moluscos do gênero *Biomphalaria* PRESTON, 1910 do acervo da Coleção de Malacologia Médica (Fiocruz-CMM)

por

Cryslaine Aguiar Silva

Belo Horizonte

Fevereiro/2012

DISSERTAÇÃO	MDIP-CPqRR	C. A. SILVA	2012
-------------	------------	-------------	------

Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz
Centro de Pesquisas René Rachou
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

Avaliação e retificação da identificação específica de
moluscos do gênero *Biomphalaria* PRESTON, 1910 do
acervo da Coleção de Malacologia Médica
(Fiocruz-CMM)

por

Cryslaine Aguiar Silva

Dissertação apresentada com vistas à obtenção do
Título de Mestre em Ciências na área de concentração
de Doenças Infecciosas e Parasitárias.

Orientação: Dra. Roberta Lima Caldeira
Coorientação: Dr. Omar dos Santos Carvalho
Dra. Cristiane Lafetá Furtado de Mendonça

Belo Horizonte
Fevereiro/2012

Catálogo-na-fonte
Rede de Bibliotecas da FIOCRUZ
Biblioteca do CPqRR
Segemar Oliveira Magalhães CRB/6 1975

S586a
2012

Silva, Crysleine Aguiar.

Avaliação e retificação da identificação específica de moluscos do gênero *Biomphalaria* PRESTON, 1910 do acervo da Coleção de Malacologia Médica (Fiocruz-CMM) / Crysleine Aguiar Silva. – Belo Horizonte, 2012.

xvi, 88 f.: il.; 210 x 297mm.

Bibliografia: f.: 97 - 104

Dissertação (Mestrado) – Dissertação para obtenção do título de Mestre em Ciências pelo Programa de Pós - Graduação em Ciências da Saúde do Centro de Pesquisas René Rachou. Área de concentração: Doenças Infecciosas e Parasitárias.

1. Esquistossomose/prevenção & controle 2. *Biomphalaria*/crescimento & desenvolvimento 3. Classificação/métodos I. Título. II. Caldeira, Roberta Lima (Orientação). III. Carvalho, Omar dos Santos (Coorientação) IV. Mendonça, Cristiane Lafetá Furtado de (Coorientação)

CDD – 22. ed. – 616.963

Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz
Centro de Pesquisas René Rachou
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

Avaliação e retificação da identificação específica de moluscos do
gênero *Biomphalaria* PRESTON, 1910 do acervo da Coleção de
Malacologia Médica (Fiocruz-CMM)

por

Cryslaine Aguiar Silva

Foi avaliada pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Dra. Roberta Lima caldeira (Presidente)

Prof. Dra. Manuela da Silva

Prof. Dra. Rita de Cássia Moreira de Souza

Suplente: Prof. José Dilermando Andrade Filho

Dissertação defendida e aprovada em: 13/02/2012

*“Só conservamos aquilo que amamos,
só amamos aquilo que entendemos
e só entendemos aquilo que nos é ensinado...”*

Baba Dioum

V

SUPORTE FINANCEIRO

Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (convênio FAPEMIG – CPqRR
nº 5.172/2011)

Centro de Pesquisas René Rachou/FIOCRUZ

AGRADECIMENTO AO SUPORTE FINANCEIRO

Agradeço ao Centro de Pesquisas René Rachou (CPqRR) e a FIOCRUZ pela concessão de uma bolsa de estudos durante o curso, pela infra-estrutura, suporte técnico e material disponibilizado. E à Instituição financiadora FAPEMIG pela concessão de uma bolsa de Iniciação Científica.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, por ter me dado forças em todas as dificuldades.

Ao André, meu grande amor, por ter enfrentado todas as dificuldades ao meu lado, sempre com um sorriso incentivador. Obrigada pelo apoio incondicional, companheirismo, carinho e amor!

Aos meus pais que muito batalharam para que eu pudesse chegar até aqui. Obrigada por todo amor, apoio e incentivo. Um agradecimento especial ao meu pai por sempre ter me mostrado a importância dos estudos e a minha mãe por ser um exemplo de mulher, sempre guerreira e batalhadora. Você é minha heroína!

Ao meu irmão, presente de Deus, por todos os momentos que passamos juntos, amizade, carinho e apoio!

À minha orientadora, Dra. Roberta Lima Caldeira, por ser um exemplo de dedicação e envolvimento com o trabalho, pelos ensinamentos, confiança e amizade.

À minha co-orientadora, Dra. Cristiane Lafetá, pelas valiosas sugestões, apoio, incentivo e amizade.

Ao Dr. Omar dos Santos Carvalho pelas sugestões, apoio, confiança e oportunidades que me foram oferecidas.

Ao estudante de iniciação científica Pedro, pelo auxílio e paciência durante a realização dos experimentos.

Aos meus sogros pelo carinho, confiança e amizade.

À minha afilhada de coração, Lili, por todo carinho e momentos de alegria.

Aos meus queridos amigos de Campo Belo, por todos os momentos felizes que já passamos juntos. Em especial a Pâmela e Ricardo pelos conselhos, carinho e amizade.

A toda equipe do Laboratório de Helminologia e Malacologia Médica especialmente Camilla, Silvia, Sandrinha, Tati, Karen e Gisele, pelo prazer e alegria da convivência.

À Camilla, pela amizade e agradável companhia.

À Pós-Graduação do Centro de Pesquisa René Rachou, pela disponibilidade deste curso.

À Biblioteca do Centro de Pesquisa René Rachou em prover acesso à informação técnico-científica em saúde e catalogação e normalização desta dissertação.

Ao Centro de Pesquisa René Rachou e a Fapemig pelo apoio financeiro.

A todos que não foram citados, mas que de alguma forma colaboraram para a realização deste projeto.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	X
LISTA DE TABELAS	XI
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	XII
RESUMO	XIV
ABSTRACT	XVI
1 INTRODUÇÃO	17
1.1 Coleções Biológicas.....	18
1.1.1 A Coleção de Malacologia Médica (Fiocruz-CMM).....	21
1.2 O gênero <i>Biomphalaria</i>	25
1.2.1 Importância epidemiológica de moluscos do gênero <i>Biomphalaria</i>	26
1.2.2 Taxonomia dos moluscos do gênero <i>Biomphalaria</i>	30
2 JUSTIFICATIVA	33
3 OBJETIVOS	35
3.1 Objetivo geral.....	36
3.2 Objetivos específicos.....	36
4 METODOLOGIA	37
4.1 Seleção dos moluscos.....	38
4.2 Caracterização Taxonômica.....	39
4.2.1 Identificação Morfológica.....	39
4.2.2 Identificação Molecular.....	41
4.3 Atualização do Banco de dados.....	43
5 RESULTADOS	45
5.1 Moluscos Seleccionados.....	46
5.1.1 Grupo I.....	49
5.1.1.1 Subgrupo IA.....	49
5.1.1.2 Subgrupo IB.....	51
5.1.2 Grupo II.....	52
5.1.2.1 Subgrupo IIA.....	53
5.1.2.2 No subgrupo IIB.....	54
5.2 Análises Taxonômicas.....	55
5.2.1 <i>B. straminea</i> - <i>B. aff. straminea</i>	55
5.2.2 <i>B. tenagophila</i> (Brasil) - <i>B. tenagophila</i> (Argentina).....	56
5.2.3 <i>B. peregrina</i> - <i>B. oligoza</i>	57
5.3 Atualização do Banco de dados.....	58
6 DISCUSSÃO	59
7 CONCLUSÕES	67
8 ANEXOS	69
8.1 Anexo 1: Institucionalização	70
8.2 Anexo 2: Portaria da Presidência 327/2010.....	79
8.3 Anexo 3: Portaria da Presidência 555/2009.....	81
8.4 Anexo 4: Portaria da Presidência 526/2011.....	83
8.5 Anexo 5: Resolução 21.....	93
8.6 Anexo 6: Portaria da Presidência 162/2003.....	94
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Esquema de sacrifício e fixação dos moluscos do gênero <i>Biomphalaria</i> (Carvalho <i>et al.</i> , 2008c, modificado).....	23
Figura 2: Fluxograma da Coleção de Malacologia Médica (Fiocruz-CMM)	24
Figura 3: Coleção de Malacologia Médica (Fiocruz-CMM)	25
Figura 4: Representação esquemática da concha, rádula e órgãos genitais.	30
Figura 5: Diagrama esquemático dos perfis de PCR-RFLP das espécies brasileiras do gênero <i>Biomphalaria</i> obtidos pela digestão da região ITS do rDNA com a enzima <i>DdeI</i>	32
Figura 6: Conchas, órgãos excretores e reprodutores utilizados na identificação morfológica.	41
Figura 7: A) Região espaçadora interna transcrita (ITS) do DNAr; B) Desenho esquemático da PCR-RFLP.....	43
Figura 8: Gráfico demonstrando a situação do acervo Fiocruz-CMM antes da realização deste trabalho, por pontos de coleta.....	46
Figura 9: Gráfico demonstrando a situação do acervo da Fiocruz-CMM após a realização deste trabalho, por pontos de coleta.....	47
Figura 10: Gel de poliacrilamida 6% mostrando os perfis de PCR-RFLP obtidos pela digestão da região ITS do rDNA de moluscos <i>Biomphalaria</i> com <i>Dde I</i>	56
Figura 11: Gel de poliacrilamida 6% mostrando os perfis de PCR-RFLP obtidos pela digestão da região ITS do rDNA de moluscos <i>Biomphalaria</i> com <i>AluI</i>	57
Figura 12: Gel de poliacrilamida 6% mostrando os perfis de PCR-RFLP obtidos pela digestão da região COI do DNA mitocondrial com <i>Alu I</i>	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Moluscos do gênero <i>Biomphalaria</i> , distribuição geográfica, <i>status</i> de suscetibilidade à infecção pelo <i>Schistosoma mansoni</i> e diâmetro máximo da concha	28
Tabela 2: Comparação do número de pontos de coleta (%) com moluscos do gênero <i>Biomphalaria</i> identificados antes e após a realização deste trabalho.....	48
Tabela 3: Resultado geral obtido na análise dos pontos de coleta da Fiocruz-CMM	49
Tabela 4: Resultados obtidos na análise dos pontos de coleta do grupo I, Fiocruz-CMM	49
Tabela 5: Resultados obtidos na análise dos pontos de coleta sem identificação anterior pertencentes ao subgrupo IA.	50
Tabela 6: Resultados obtidos na análise dos pontos de coleta previamente identificados, pertencentes ao subgrupo IA.	50
Tabela 7: Relação dos equívocos encontrados entre espécies no subgrupo IA.....	51
Tabela 8: Resultados obtidos na análise dos pontos de coleta sem identificação anterior, pertencentes ao subgrupo IB.....	51
Tabela 9: Resultados obtidos na análise dos pontos de coleta previamente identificados, pertencentes ao subgrupo IB.....	52
Tabela 10: Relação dos equívocos encontrados entre espécies no subgrupo IB	52
Tabela 11: Resultados obtidos na análise dos pontos de coleta do grupo II, Fiocruz-CMM..	53
Tabela 12: Resultados obtidos na análise dos pontos de coleta sem identificação anterior, pertencentes ao subgrupo IIA.	53
Tabela 13: Resultados obtidos na análise dos pontos de coleta previamente identificados, pertencentes ao subgrupo IIA.	54
Tabela 14: Relação dos equívocos encontrados entre espécies no subgrupo IIA	54
Tabela 15: Resultados obtidos na análise dos pontos de coleta pertencentes ao subgrupo IIB.	55

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

- CDB** - Convenção sobre a Diversidade Biológica
- CGEN** - Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
- Conabio** - Comissão Nacional de Biodiversidade
- COP** - Conferência das Partes
- CPqRR** - Centro de Pesquisa René Rachou
- CRB** - Centro de Recurso Biológico
- CRIA** - Centro de Referência em Informação Ambiental
- CT** - Câmara Técnica Permanente
- DNA** - Deoxyribonucleic acid; ácido desoxirribonucléico
- dNTP** - Deoxynucleotide triphosphate; deoxinucleotídeo trifosfato
- EDTA** - Ethylenediaminetetracetic acid; ácido etilendiaminotetracético
- Embrapa** - Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias
- Fiocruz** - Fundação Oswaldo Cruz
- Fiocruz-COLFLEB** - Coleção de Flebotomíneos
- Fiocruz-COLVEC** - Coleção de Vetores da Doença de Chagas
- Fiocruz-CMM** - Coleção de Malacologia Médica
- GTI** - Iniciativa Global de Taxonomia
- Ibama** - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
- ITS** - Internal transcribed spacer; espaçadores transcritos internos
- ITS1** - Internal transcribed spacer 1; espaçadores transcritos internos 1
- ITS2** - Internal transcribed spacer 2; espaçadores transcritos internos 2
- LHMM** - Laboratório de Helminologia e Malacologia Médica
- MCT** - Ministério da Ciência e Tecnologia
- MEC** - Ministério da Educação
- MMA** - Ministério do Meio Ambiente
- MS** - Ministério da Saúde
- OCDE** - Organização para a Cooperação e o Desenvolvimento Econômico
- SBB** - Sociedade Brasileira de Botânica
- SBM** - Sociedade Brasileira de Microbiologia
- SBZ** - Sociedade Brasileira de Zoologia
- SICol** - Sistema de Informação de Coleções de Interesse Biotecnológico
- pb** - Pares de bases
- PCE** - Programa de Controle da Esquistossomose

PCR- Polymerase chain reaction; reação em cadeia da polimerase

POP - Procedimento Operacional Padrão

rDNA - Ribosomal deoxyribonucleic acid; ácido desoxirribonucléico ribossomal

RFLP- Restriction fragments length polymorphisms; polimorfismos de tamanho de fragmentos de restrição

Taq - DNA polimerase termostável derivada da bactéria *Thermus aquaticus*

RESUMO

As coleções biológicas constituem importante fonte de informações, propiciando conhecimento e desenvolvimento científico. A Coleção de Malacologia Médica (Fiocruz-CMM) do Centro de Pesquisas René Rachou, localizada no Laboratório de Helminologia e Malacologia Médica (LHMM) conta atualmente com cerca de onze mil exemplares de moluscos de importância médica e veterinária, principalmente os do gênero *Biomphalaria*. Desde a década de 1990, o LHMM recebe moluscos de diversas regiões do Brasil e do exterior e utiliza caracteres morfológicos e/ou moleculares na identificação das espécies. Parte do acervo não foi identificada por técnicas moleculares e em 332 pontos de coleta os exemplares encontravam-se sem identificação. Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar e retificar a identificação dos moluscos do gênero *Biomphalaria* presentes na Fiocruz-CMM. Para isso o acervo foi separado em dois grupos: grupo I: exemplares inseridos entre 1993 e 2002, com 620 pontos de coleta e 5.137 exemplares; grupo II: inseridos entre 2003 e 2009, com 464 pontos de coleta e 1.924 exemplares. A identificação específica dos exemplares do acervo foi realizada pela morfologia e/ou pela PCR-RFLP. Os resultados foram agrupados em seis categorias: 1) dados corretos; 2) equívocos (classificados como outra espécie); 3) adequações (espécie em sinonímia); 4) inconclusivos (mesma espécie com perfis moleculares diferentes), 5) material degradado e 6) exemplares identificados pela primeira vez (depositados sem identificação). No grupo I, 41,8% dos pontos de coleta os exemplares estavam com dados taxonômicos corretos; em 2,1% tinham equívocos; em 0,8% houve adequação; em 25,5% a identificação foi inconclusiva; em 1,9% estavam degradados impossibilitando a identificação e em 27,9% foram identificados pela primeira vez. No grupo II, 70,7% dos pontos de coleta os exemplares estavam com dados taxonômicos corretos; em 5,6% tinham equívocos; em 10,1% a identificação foi inconclusiva; em 5,4% os exemplares estavam degradados impossibilitando a identificação e em 8,2% foram identificados pela primeira vez. Os equívocos ocorreram entre: *B. peregrina* e *B. tenagophila* (35,8%), *B. tenagophila* e *B. glabrata* (20,5%), *B. tenagophila* e *B. occidentalis* (7,7%), *B. peregrina* e *B. intermedia* (5,2%), *B. intermedia* e *B. straminea* (5,2%), *B. amazonica* e *B. cousini* (5,1%), *B. straminea* e *B. occidentalis* (2,6%), *B. straminea* e *B. oligoza* (2,6%), *B. prona* e *B. kuhiana* (2,6%), *B. tenagophila* e *B. t. guaibensis* (2,6%), *B. straminea* e *B. glabrata* (2,6%), *B. tenagophila* e *B. straminea* (2,6%), *B. peregrina* e *B. schrammi* (2,6%), e *B. peregrina* e *B. straminea* (2,6%). A adequação foi em virtude de *B. obstructa* e *B. temascalensis* serem sinonímias de *B. havanensis*. Na categoria inconclusiva ficaram *B. aff. straminea*, *B. tenagophila* oriundas da Argentina e *B. peregrina*. Estes dados demonstram a importância da utilização de mais de uma técnica na identificação específica e da boa preservação dos

exemplares do acervo. Estes dados foram utilizados para atualizar os livros de registro de recebimento de moluscos, livro de tombo e a base de dados do CRIA. Estudos taxonômicos serão realizados com as espécies da categoria inconclusivos.

ABSTRACT

The biological collections are an important source of information providing knowledge and scientific development. The Medical Malacology Collection (Fiocruz-CMM) of René Rachou Research Center located at the Laboratory of Medical Helminthology and Malacology (LHMM) has currently about eleven thousand specimens of molluscs of medical and veterinary importance, especially the genus *Biomphalaria*. Since 1990s, the LHMM receives molluscs from various regions of Brazil and abroad and utilizes morphological and/or molecular method for species' identification. Part of the collection has not been identified by molecular techniques and 332 collection points were unidentified. Thus, the objective of this present study was to assess and rectify the identification of the mollusks of genus *Biomphalaria* of the Fiocruz-CMM. For this the collection was separated into two groups: group I: specimens inserted between 1993 and 2002 with 620 collection points and 5.137 specimens; group II: inserted between 2003 and 2009, with 464 collection points and 1.924 specimens. The specific identification of specimens from the collection was performed by morphology and/or PCR-RFLP. The results were grouped into six categories: 1) correct data, 2) errors (classified as other species), 3) adjustments (species in synonymy), 4) inconclusive (same species with different molecular profiles) 5) degraded material and 6) sample identified for the first time (deposited without identification). In group I, 41.8% of collection points were with correct taxonomic data, 2.1% had errors; 0.8% was adjustment; 25.5% the identification was inconclusive, 1.9% were degraded that was impossible to identify and 27.9% were first time identified. In group II, 70.7% of collection points the specimens were with correct taxonomic data; 5.6% had errors; 10.1% was inconclusive, 5.4% of specimens were degraded making it impossible to identify and 8.2% of specimens were first time identified. The errors occurred between: *B. peregrina* and *B. tenagophila* (35.8%), *B. tenagophila* and *B. glabrata* (20.5%), *B. tenagophila* and *B. occidentalis* (7.7%), *B. peregrina* and *B. intermedia* (5.2%), *B. intermedia* and *B. straminea* (5.2%), *B. amazonica* and *B. cousini* (5.1%), *B. straminea* and *B. occidentalis* (2.6%), *B. straminea* and *B. oligoza* (2.6%), *B. prona* and *B. kuhniiana* (2.6%), *B. tenagophila* and *B. t. guaibensis* (2.6%), *B. straminea* and *B. glabrata* (2.6%), *B. tenagophila* and *B. straminea* (2.6%), *B. peregrina* and *B. schrammi* (2.6%), and *B. peregrina* and *B. straminea* (2.6%). The adjustment was from *B. obstructa* and *B. temascalensis* are synonymy of *B. havanensis*. The inconclusive category was *B. aff. straminea*, *B. tenagophila* from Argentina and *B. peregrina*. These data demonstrate the importance of using more than one technique in taxonomic confirmation and the good preservation of specimens' collection. These data were utilized to update the books receive mollusks and data of CRIA. The studies will continue in specimens of the inconclusive category.

1.1 Coleções Biológicas

As palavras coleção e colecionar originam-se do latim *colligere*, “reunir, juntar”, sendo formadas por duas palavras, *com*: “com, junto” mais *legere*: “recolher, colher”, referindo-se ao ato de escolher entre objetos para formar um conjunto com características comuns (Origem da Palavra, 2006).

As coleções biológicas constituem-se no armazenamento ordenado de exemplares mortos ou partes destes, devidamente preservados para estudos posteriores (Martins, 1994), consistindo em fontes de informações que propiciam conhecimento, pesquisa, desenvolvimento científico e inovação tecnológica. Os dados sobre distribuição geográfica, espacial e temporal relatam a história natural das áreas trabalhadas, constituindo importante registro do local de origem das espécies coletadas (Vale, 2009). As informações biológicas associadas aos dados climáticos, meteorológicos e edáficos são essenciais para compreender a vida no planeta e projetar cenários futuros, entendendo padrões de mudanças da biodiversidade e de seus impactos na sociedade. Os acervos subsidiam estudos, auxiliam na formação de recursos humanos, resgatam a biodiversidade e estabelecem conexões entre diversas áreas do conhecimento, possibilitando o direcionamento de ações e a tomada de decisões (Vale, 2009). Além disso, as coleções biológicas também desempenham papel relevante na área de saúde pública, agropecuária e outros setores econômicos, prevenindo instalação e expansão de pragas agrícolas, doenças humanas e animais, possibilitando maior eficácia nas ações de combate a epidemias (Egler & Santos, 2006). No entanto, para que as informações das coleções sejam úteis, deve-se promover o acesso aos dados solucionando problemas relacionados à qualidade da informação taxonômica e garantindo a visibilidade dos acervos. Além disso, recomenda-se que os espécimes recebam tratamento interdisciplinar apoiados por novas tecnologias como biologia molecular e informática para biodiversidade (Egler & Santos, 2006).

Nas últimas duas décadas, várias atividades de organização, consolidação e institucionalização de coleções biológicas ocorreram pelo mundo. Esse movimento teve início no Rio de Janeiro, em 1992, na Conferência das Nações Unidas sobre Meio Ambiente, ECO-92 ou Rio-92, quando foi assinada a Convenção sobre a Diversidade Biológica (CDB) objetivando a conservação da biodiversidade, o uso sustentável de seus componentes e o direito soberano do País de origem sobre seus recursos biológicos. A partir de então a taxonomia passou a receber atenção política nunca antes observada (Samper, 2004) sendo instituída a Iniciativa Global de Taxonomia (GTI, sigla em inglês) para fortalecer a pesquisa científica e a troca de informações nesta área. Em 1996 na Conferência das Partes (COP), órgão decisório da CDB, o termo “impedimento taxonômico” relacionou as lacunas

taxonômicas, tais como a falta de taxonomistas, curadores treinados, deficiências no gerenciamento e conservação da biodiversidade. Reconheceu ainda, que as coleções biológicas não dispunham de recursos e infraestruturas necessárias aos estudos dos espécimes ou para a sua expansão. E em 1998, a Declaração de Darwin elaborada por especialistas em taxonomia e sistemática, obteve repercussão mundial ao sublinhar a importância das coleções biológicas para a taxonomia e a necessidade de mobilizar as informações contidas nestes acervos para a pesquisa e a política (Samper, 2004).

Assim, devido principalmente à crise mundial da biodiversidade e à inserção do Brasil nas políticas internacionais de meio ambiente, foi observado um significativo incremento nas ações relacionadas às coleções biológicas brasileiras por parte de áreas específicas do governo (Marinoni & Peixoto, 2010). Em 1994 foi instituída a Comissão Nacional de Biodiversidade (Conabio) no Ministério do Meio Ambiente (MMA), responsável pela Política Nacional da Biodiversidade e por implementar os compromissos assumidos pelo Brasil junto à CDB. Houve um modesto crescimento da participação do governo em disponibilizar recursos para modernizar e adequar a infraestrutura e informatizar dados contidos nos acervos de algumas coleções biológicas. Somente a partir de 2005-2006, com a elaboração do documento “Diretrizes e Estratégias para a Modernização de Coleções Biológicas Brasileiras e a Consolidação de Sistemas Integrados de Informação sobre Biodiversidade” (Egler & Santos, 2006) pelo Ministério da Ciência e Tecnologia (MCT), traçando um plano com ações de curtíssimo (até 5 anos) e curto (até 10 anos) prazos, as ações e investimentos tornaram-se notáveis (Marinoni & Peixoto, 2010). Em 2008 o MMA publica uma deliberação da Conabio apoiando a consolidação das Coleções Biológicas e a formação de taxonomistas e curadores capacitados, através da criação da Câmara Técnica Permanente (CT), composta pelos Ministérios do Meio Ambiente (MMA), da Ciência e Tecnologia (MCT), da Educação (MEC); as Sociedades Brasileira de Zoologia (SBZ), Botânica do Brasil (SBB), Brasileira de Microbiologia (SBM) e, ainda, Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (Ibama), Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias (Embrapa) e Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz).

A Fiocruz iniciou a consolidação e institucionalização das suas coleções biológicas criando, em 2006, o “Forum Permanente de Coleções Biológicas da Fiocruz” que contou com representantes de todas as unidades da Fiocruz, que possuíam coleções, com o objetivo de discutir e formular propostas políticas institucionais para o desenvolvimento das Coleções Biológicas da Fundação. Em 2007 foi concluído o “Documento Institucional para o Desenvolvimento de Política de Coleções Biológicas na Fiocruz”, propondo a definição de estratégias de apoio às Coleções Biológicas da Fundação. Foi elaborado um questionário de

fundamental importância para identificar, avaliar e obter um diagnóstico da real situação das coleções biológicas da Fiocruz. A partir deste questionário foram definidos os critérios mínimos que deveriam ser observados para a institucionalização das coleções: realização de atividades de preservação, depósito, identificação, capacitação de recursos humanos, possuir curadoria, realizar o registro de procedimentos, arquivamento dos documentos além de possuir recursos humanos e infra-estrutura adequada (anexo1). Em 2008, no primeiro “Encontro de Curadores de Coleções Biológicas da Fiocruz” debateu-se sobre legislação aplicada às atividades de coleções biológicas, a uniformização dos procedimentos de gerenciamento e a garantia da qualidade dos acervos, além de propor o “Manual de Organização de Coleções Biológicas da Fiocruz”, aprovado através da portaria 327/2010 (anexo 2). Em 2009, através da portaria 555/2009, foi oficializada a Câmara Técnica das Coleções Biológicas da Fiocruz (anexo 3), com o objetivo de discutir e formular propostas norteadoras das políticas institucionais relacionadas ao desenvolvimento das coleções biológicas da Fiocruz. Em 2011 foi formalizado o reconhecimento institucional das Coleções Biológicas da Fiocruz pela portaria 526/2011(anexo 4). Ainda em 2011, ocorreram o “Encontro das Coleções Biológicas da Fiocruz: Desafios e Perspectivas” e o “I Encontro Mineiro de Coleções Biológicas”. O primeiro, com foco principal no sistema de qualidade voltado para coleções, macroprojetos que contemplassem coleções biológicas e Centros de Recursos Biológicos (CRB), implantação do Sistema de Informação de Coleções de Interesse Biotecnológico (SICol) e utilização da rede *SpeciesLink* em todas as coleções, objetivando a disponibilização das informações a toda comunidade científica interessada, sejam pesquisadores, professores, técnicos ou estudantes. O segundo, com o objetivo principal de “conhecer, divulgar e fortalecer as coleções biológicas de Minas Gerais”.

Quatro coleções biológicas da Fiocruz estão localizadas no Centro de Pesquisa René Rachou (CPqRR): Coleção de Flebotomíneos (Fiocruz-COLFLEB), Coleção de Vetores da Doença de Chagas (Fiocruz-COLVEC), Coleção de Malacologia Médica (Fiocruz-CMM) e Coleção de Culicídeos. As três primeiras possuem reconhecimento institucional, enquanto a última está sendo adequada segundo o “Manual de Organização de Coleções Biológicas da Fiocruz” para posterior reconhecimento.

O acervo da Fiocruz-COLFLEB teve início em 1953 e atualmente possui cerca de 90.000 exemplares distribuídos em 320 espécies. Os exemplares são provenientes da Argentina, Belize, Bolívia, Brasil, Colômbia, Costa Rica, Cuba, Equador, Estados Unidos, Guiana Francesa, México, Panamá, Peru, República Dominicana e Venezuela, originados de coletas, doações e permutas. Parte desta coleção consiste na “Coleção Padrão” com 670 tipos entre holótipos, alótipos, parátipos, plesiótipos, cótipos, topótipo, homeótipo, sítipo e

neótipos armazenados em bandejas, em um armário de aço; os demais exemplares são acondicionados em caixas de madeira e organizados em prateleiras. Constam ainda nove espécies de flebotomíneos fósseis provenientes da República Dominicana e 55 espécies do Velho Mundo, tornando esta coleção uma das mais importantes do mundo e certamente a mais completa em número de espécies (<http://www.splink.org.br>). A Fiocruz-COLVEC teve início em 1996, a partir da doação da coleção particular do Dr. Hélio Espínola, iniciada em 1973, e atualmente é depositária de aproximadamente 4.400 exemplares de 57 espécies de triatomíneos. Os exemplares são provenientes da Argentina, Brasil, Bolívia, Colômbia, Equador, México, Peru, Estados Unidos, Uruguai e Venezuela e, ainda, cerca de 100 exemplares de outros Heteroptera do Brasil, além de partes de cerca de quinhentos triatomíneos (asas, patas e cabeças). Os exemplares são originados de doações de outras instituições ou de coleções biológicas particulares e, ainda, do serviço de referência em triatomíneos, sendo também utilizados em estudos de taxonomia e sistemática (<http://www.splink.org.br>). A coleção de culicídeos consta de um acervo biológico de 38.257 espécimes de alados, representados por 390 espécies e 19 gêneros das subfamílias Anophelinae e Culicinae, provenientes das Regiões Neotropical, Neártica, Etiópica e Paleártica. Constam ainda genitálias masculinas, larvas montadas em lâminas e uma quantidade considerável de alados não montados acondicionados em caixas de papelão (algumas com 100 anos de idade), constituindo um acervo biológico vasto e precioso. O acervo desta coleção teve início a cerca de 100 anos, no Rio de Janeiro, e estava inativo desde 1990 retornando as atividades em 2010. A Fiocruz-CMM é descrita logo abaixo.

1.1.1 A Coleção de Malacologia Médica (Fiocruz-CMM)

A Fiocruz-CMM está localizada no Laboratório de Helminologia e Malacologia Médica (LHMM), do CPqRR, Fiocruz/MG. Esta coleção está de acordo com as Instruções Normativas do Ibama (IN) nº 154, de março de 2007, que fixa normas sobre a realização das atividades de coleta, transporte, recebimento e intercâmbio de material biológico. Também se enquadra aos termos do “Manual de Organização de Coleções Biológicas da Fiocruz”, com o objetivo de integrar e coordenar as atividades desenvolvidas pelas coleções institucionais. De acordo com a Resolução n.º 21 do MMA, de agosto de 2006 (anexo 5), a Fiocruz-CMM fica dispensada de obter autorização junto ao Conselho de Gestão do Patrimônio Genético (CGEN), o qual afirma que as seguintes atividades não se enquadram ao conceito de acesso ao patrimônio genético: elucidar a história evolutiva de uma espécie ou grupo taxonômico, estudar a diversidade genética de populações, realizar pesquisas epidemiológicas e identificar agentes etiológicos de doenças.

A Fiocruz-CMM possui aproximadamente onze mil exemplares de moluscos provenientes da Alemanha, França, Argentina, Bolívia, Brasil, Chile, Colômbia, Costa Rica, Cuba, Equador, México, Paraguai, República Dominicana, Uruguai e Venezuela. O acervo é composto por representantes do gênero *Physa* Draparnaud, 1801; *Drepanotrema* Fischer & Crosse, 1880; *Helisoma* Swainson, 1840; *Melanoides* Olivier, 1804; *Lymnaea* Lamarck, 1799 e *Biomphalaria* Preston, 1910. Nestes dois últimos gêneros encontram-se, respectivamente, os hospedeiros intermediários, no Brasil, dos trematódeos *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) e *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907, agentes etiológicos da fasciolose hepática e da esquistossomose mansoni. Esta coleção está diretamente relacionada com as atividades de pesquisa e Serviço de Referência em Esquistossomose do LHMM sendo constituída, em sua maioria, por moluscos do gênero *Biomphalaria*.

O acervo desta coleção teve início em 1993, quando o LHMM começou a receber moluscos provenientes de várias localidades para identificação morfológica específica e exames de infecção por trematódeos. Concomitantemente, grande avanço nas técnicas de biologia molecular foi observado durante a década de 1990, sendo o estudo dos hospedeiros intermediários do *S. mansoni* alavancado com a vinda do biólogo molecular Dr. Andrew J. G. Simpson para o CPqRR, que colaborou com um projeto pioneiro no estudo do gênero *Biomphalaria*. De fato a equipe do LHMM foi a primeira a utilizar a PCR no estudo destes moluscos (Carvalho *et al.*, 2008 a), desenvolvendo e padronizando ferramentas moleculares, o que resultou na publicação de diversos trabalhos científicos (Vidigal *et al.*, 1994; Vidigal *et al.*, 1996; Vidigal *et al.*, 1998a; Vidigal *et al.*, 1998b; Vidigal *et al.*, 2000a; Vidigal *et al.*, 2000b; Vidigal *et al.*, 2001; Vidigal *et al.*, 2002 e Vidigal *et al.*, 2004; Caldeira *et al.*, 1998; Caldeira *et al.*, 2000; Caldeira *et al.*, 2004 e Caldeira *et al.*, 2001; Spatz *et al.*, 1998; Spatz *et al.*, 1999 e Spatz *et al.*, 2000).

Em 2003, o LHMM foi reconhecido como Referência Nacional em Esquistossomose, desenvolvendo atividades de exame e identificação de moluscos do gênero *Biomphalaria* (portaria 162/2003, em 23/07/2003, anexo 5). A partir deste ano o LHMM passa a receber moluscos do gênero *Biomphalaria* oriundos de diferentes serviços de saúde do Brasil, sendo os dados da distribuição, identificação e infecção dos moluscos utilizados pela Gerência do Programa de Controle da Esquistossomose (PCE) da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde (MS) para subsidiar programas de controle desta doença. Desde então, as técnicas de biologia molecular passaram a ser utilizadas na rotina de trabalho do LHMM sempre que a identificação morfológica fosse inconclusiva.

Assim, os moluscos do gênero *Biomphalaria* que chegam ao LHMM são encaminhados ao moluscário “Lobato Paraense” para exame de infecção por trematódeos, conforme descrito

por Souza e Lima (1997). Posteriormente, cinco exemplares de cada ponto de coleta retornam ao LHMM onde são fixados (Paraense, 1976, com adaptações) e separados em três partes: concha (fixado a seco em algodão), corpo (em frascos com fixador Raillet-Henry) e fragmento da região cefalopodal, *backup* genético (em tubos de polietileno e criopreservado a temperatura de 70°C negativos) (figura 1). Estas três partes recebem a mesma codificação numérica e passam a pertencer ao acervo da Coleção, tendo seus códigos registrados no Livro de Registro de Recebimento de Moluscos e no programa Excel (livro de tombo). Nestes documentos são inseridas as seguintes informações: código do molusco, data do recebimento do molusco, dados do ponto de coleta (cidade, estado, país, criadouro, data da coleta, coordenadas geográficas), resultado do exame para infecção por trematódeo, dados taxonômicos (ordem, família, gênero, espécie, subespécie), responsável pela identificação morfológica e molecular, número da gaveta onde serão acondicionados e número de protocolo de recebimento. Dois exemplares por ponto de coleta são utilizados na identificação morfológica e os demais exemplares do ponto têm a identificação inserida, recebendo o mesmo nome específico dos exemplares identificados. Quando a identificação morfológica é inconclusiva, técnicas moleculares são utilizadas para auxiliar na identificação.

Em caso de moluscos pertencentes a outro gênero, estes são encaminhados diretamente ao LHMM e, quando de interesse do mesmo, inseridos no acervo da Fiocruz-CMM (figura 2).

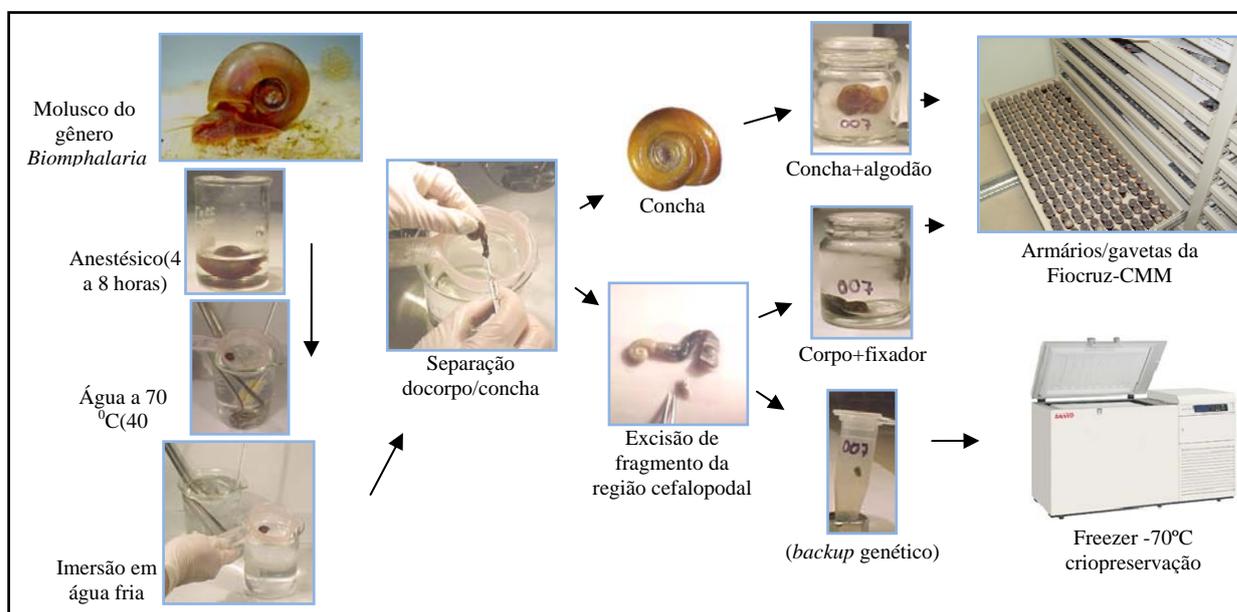


Figura 1: Esquema de sacrifício e fixação dos moluscos do gênero *Biomphalaria* (Carvalho *et al.*, 2008c, modificado)

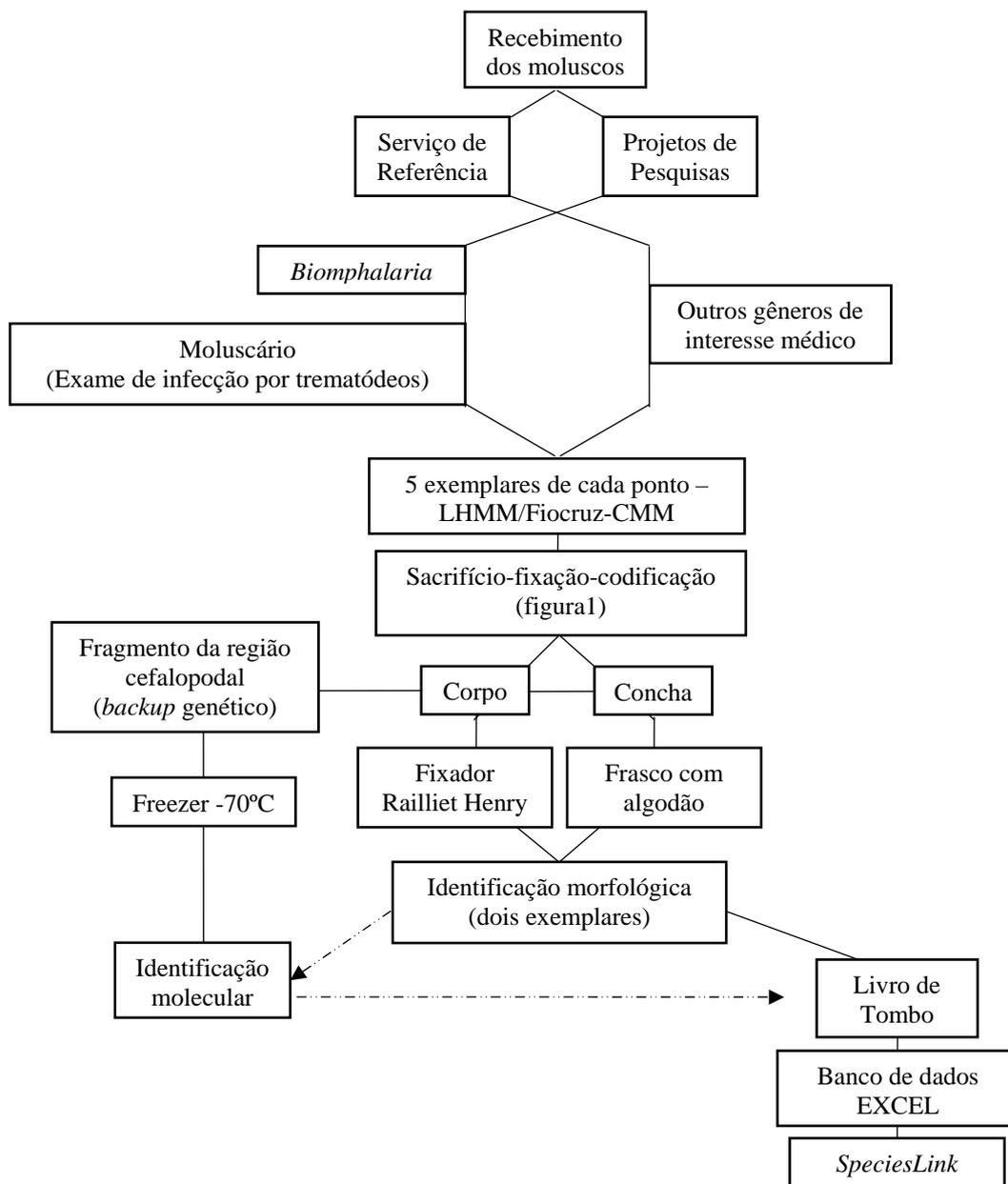


Figura 2: Fluxograma da Coleção de Malacologia Médica (Fiocruz-CMM)

A partir de 2008 a coleção passou a contar com um bolsista de apoio técnico que reorganizou o acervo e iniciou a manutenção periódica dos exemplares, atualização do livro de tombo, digitação dos dados do acervo no programa *SpeciesBase* com a disponibilização na rede *specieslink* (<http://splink.cria.org.br>) gerenciada pelo Centro de Referência em Informação Ambiental (CRIA).

Atualmente, a Fiocruz-CMM possui cerca de 11.000 exemplares, entre estes estão os exemplares tipo da espécie *Biomphalaria edisoni* Estrada *et al.*, 2005. Os moluscos encontram-se em uma sala própria e são mantidos em armários deslizantes providos de gavetas

especialmente desenhadas para receber os dois vidros de cada exemplar (corpo e concha) (figura 3).

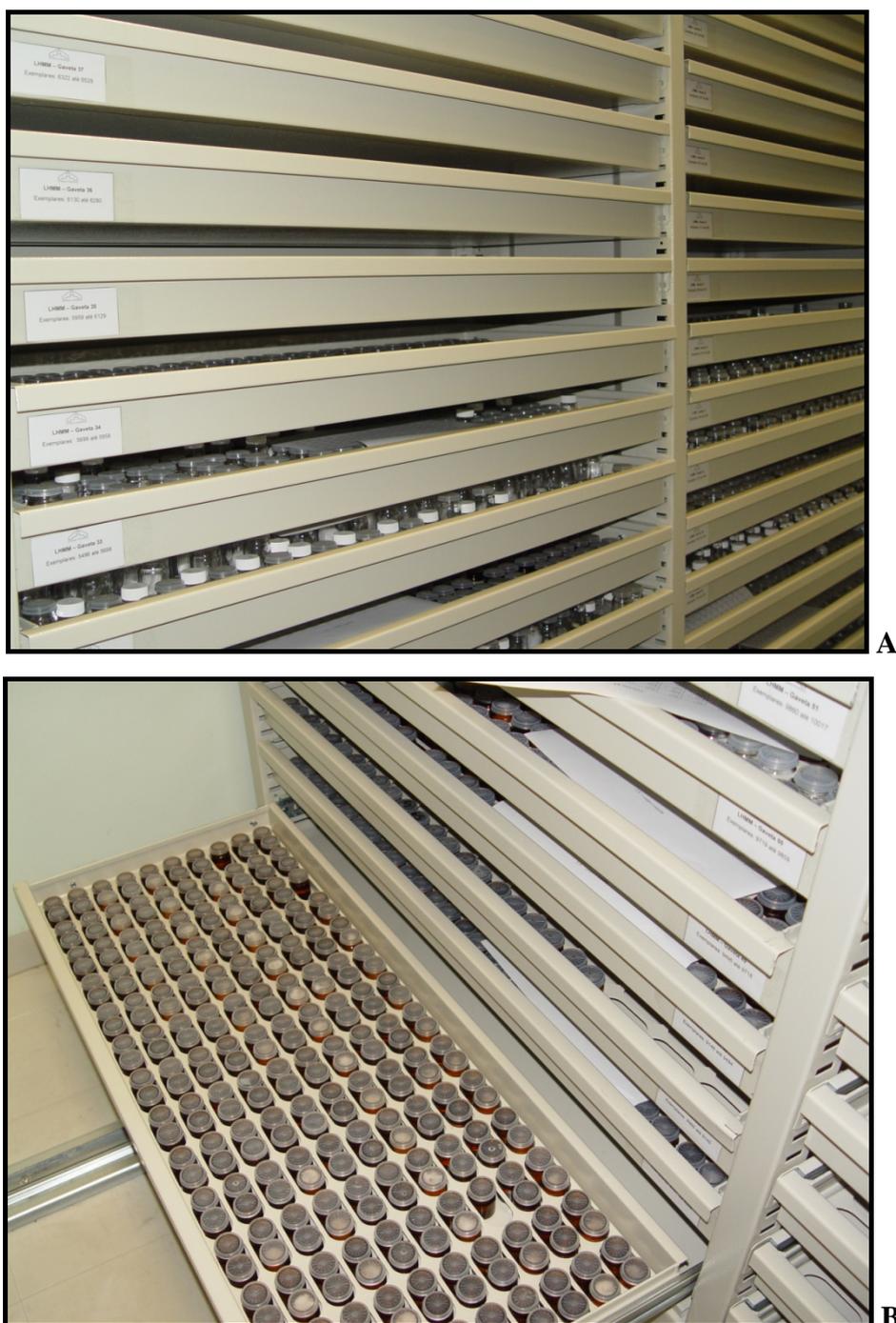


Figura 3: Coleção de Malacologia Médica (Fiocruz-CMM). A- armários; B- gaveta aberta

1.2 O gênero *Biomphalaria*

As espécies do gênero *Biomphalaria* encontram-se no filo Mollusca, classe Gastropoda, subclasse Pulmonata, ordem Basommatophora e família Planorbidae. Apresentam concha discoidal em espiral plana (planispiral), com os lados aproximadamente paralelos, orifícios genitais localizados do lado esquerdo do corpo e um par de tentáculos finos e longos.

O termo *Biomphalaria* vem do latim *bis*: duas vezes e do grego *omphalos*: umbigo, em referência ao aprofundamento do giro central dos dois lados da concha. Os giros das conchas são esculpidos com estrias de crescimento e a abertura varia de acordo com a espécie. Possuem hemolinfa vermelha devido à presença de hemoglobina (Paraense, 1975a).

Este gênero possui importância epidemiológica por conter hospedeiros intermediários do *S. mansoni* agente etiológico da esquistossomose mansoni. Essa doença é considerada endêmica em vasta extensão do território nacional e um grave problema de saúde pública por acometer milhões de pessoas e causar formas graves, podendo levar ao óbito. A presença dos hospedeiros intermediários constitui condição necessária e indispensável para que se desenvolva o ciclo do parasita e o estudo destes hospedeiros é importante para que se possa interpretar corretamente o papel que possuem na transmissão da doença e orientar medidas de controle adequadas a cada localidade (Brasil, Ministério da Saúde, 2008).

Estes moluscos são hermafroditas. Em condições naturais se reproduzem preferencialmente por fecundação cruzada aumentando a variabilidade genética, entretanto quando criados isoladamente são capazes de reproduzir por autofecundação. Desta forma, um único exemplar é capaz de originar nova colônia (efeito fundador) tornando-se o elo entre as populações precedentes e subseqüentes e, concentrando neste único exemplar todas as características genéticas que formarão a estrutura genotípica da nova população (Paraense, 1955 e Paraense *et al.*, 1955). Podem colonizar grande variedade de coleções de água doce, podendo ser encontrados em água parada ou de correnteza inferior a 30 cm/s, lagos naturais ou artificiais, margens de lagoas, brejos, poços, valas e pântanos com a temperatura média entre 20°C e 25°C e pH entre 6 a 8.

1.2.1 Importância epidemiológica de moluscos do gênero *Biomphalaria*

A tabela 1 lista 27 espécies e uma subespécie de moluscos do gênero *Biomphalaria* distribuídas na América do Sul, Caribe, América Central, sul dos Estados Unidos da América e África, sendo que algumas delas podem estar em sinonímia (Jarne *et al.*, 2011; Mandahl-Barth, 1957; Malek, 1985; Brown, 1994 e Paraense, 2004).

Entre as espécies encontradas na América do sul somente *B. glabrata* (Say, 1818), *B. straminea* (Dunker, 1848), *B. tenagophila* (Orbigny, 1835) e *B. prona* (Martens, 1873) foram encontradas naturalmente infectadas pelo *S. mansoni*, enquanto, *B. amazonica* Paraense, 1966a, *B. peregrina* (Orbigny, 1835), *B. havanensis* (Pfeiffer, 1839), *B. helophila* (Orbigny, 1835), *B. sericea* (Dunker, 1848) e *B. cousini* Paraense, 1966a são consideradas hospedeiras em potencial (Corrêa & Paraense, 1971; Paraense & Corrêa, 1973 Richards, 1963; Michelson, 1976; Yong *et al.*, 2001 e Teodoro *et al.*, 2010).

B. glabrata é o mais importante hospedeiro intermediário de *S. mansoni* nas Américas tanto pelo grau de compatibilidade parasito-hospedeiro, que facilita a infecção e eliminação de um número elevado de cercarias (Souza *et al.*, 1995), quanto pela sua extensa distribuição geográfica (Paraense, 2008). *Biomphalaria straminea* possui ampla distribuição no território brasileiro (Carvalho *et al.*, 2008b) e adaptação a diversos tipos de climas (Paraense, 1972). Estudos com esta espécie revelaram taxas de infecção natural inferiores a 1% (Barbosa & Coelho, 1956) e taxas de infecção experimental de até 4% (Barbosa & Figueiredo, 1970), no entanto, Paraense & Corrêa (1963) encontraram taxas de infecção humana superiores a 50% em localidades onde havia apenas esta espécie, demonstrando que apesar de apresentarem baixas taxas de infecção no campo e experimentalmente, *B. straminea* é capaz de manter elevadas taxas de infecção humana (Souza *et al.*, 1995). No Brasil, *B. tenagophila* é encontrada em larga faixa costeira desde o sul da Bahia até o Rio Grande do Sul (Carvalho *et al.*, 2008b), possuindo importância epidemiológica na transmissão de *S. mansoni* nos estados da região Sul e Sudeste, sendo responsável pela maioria dos casos autóctones de esquistossomose nos estados de São Paulo e Santa Catarina, além de focos isolados em Minas Gerais e Rio de Janeiro (Paraense, 1986). *Biomphalaria prona* foi encontrada naturalmente infectada com *S. mansoni*, uma única vez, na Venezuela, onde é amplamente distribuída, mas devido ao seu baixo grau de suscetibilidade parece não desempenhar papel importante na transmissão da doença (de Noya *et al.*, 1999).

O conhecimento da distribuição das espécies hospedeiras é importante na delimitação das regiões com risco de introdução ou expansão da esquistossomose, além de contribuir com os serviços de saúde no aperfeiçoamento ou estruturação das atividades de controle e vigilância da esquistossomose, direcionando ações e economizando recursos (Carvalho *et al.*, 2008b). A extensa distribuição dos hospedeiros intermediários de *S. mansoni* no Brasil confere à esquistossomose caráter expansivo mesmo em áreas consideradas endêmicas (Carvalho *et al.*, 1988; Carvalho *et al.*, 1998).

Tabela 1: Moluscos do gênero *Biomphalaria*, distribuição geográfica, *status* de suscetibilidade à infecção pelo *Schistosoma mansoni* e diâmetro máximo da concha

Espécie	Complexos de espécies	Distribuição geográfica	Suscetibilidade ao <i>S. mansoni</i>	Diâmetro máximo da concha
<i>B. schrammi</i> (Crosse, 1864)		Guiana Francesa, Guadalupe e Brasil	NS	7 mm
<i>B. peregrina</i> (Orbigny, 1835)		Equador, Bolívia, Chile, Brasil, Paraguai, Peru, Uruguai, Argentina e Colômbia	SE	16 mm
<i>B. oligoza</i> Paraense, 1974		Bolívia, Brasil e Argentina	NS	11 mm
<i>B. orbignyi</i> Paraense, 1975b		Argentina e Uruguai	NS	16 mm
<i>B. helophila</i> (Orbigny, 1835)		Peru, Cuba, Costa Rica, Guatemala, Belize, Haiti, México, Saint Thomas, Costa Rica, El Salvador, República Dominicana, Porto Rico, Barbados e Nicarágua	SE	7 mm
<i>B. havanensis</i> (Pfeiffer, 1839)		Haiti, Porto Rico, Venezuela, Estados Unidos, México, Guatemala, El Salvador, Belize, Cuba	SE	10 mm
<i>B. pallida</i> (Adams, 1846)		Jamaica, Cuba	SI	10 mm
<i>B. andecola</i> (Orbigny, 1835)	<i>B. andecola</i>	Bolívia, Peru e Chile	SI	22 mm
<i>B. prona</i> (Martens, 1873)	<i>B. andecola</i>	Venezuela	SUSC	11 mm
<i>B. subprona</i> (Martens, 1899)	<i>B. andecola</i>	México e Guatemala	SI	5 mm
<i>B. edisoni</i> Estrada et al., 2005	<i>B. andecola</i>	Colômbia	SI	11 mm
<i>B. nicaraguana</i> (Morelet, 1851)	<i>B. andecola</i>	Nicarágua	SI	10 mm
<i>B. tenagophila</i> (Orbigny, 1835)	<i>B. tenagophila</i>	Argentina, Paraguai, Uruguai, Brasil, Peru, Bolívia e República Democrática do Congo	SUSC	35 mm
<i>B. occidentalis</i> Paraense, 1981	<i>B. tenagophila</i>	Brasil, Paraguai e Argentina	NS	35 mm
<i>B. tenagophila guaibensis</i> Paraense, 1984	<i>B. tenagophila</i>	Brasil, Uruguai e Argentina	NS	21 mm
<i>B. cousini</i> Paraense, 1966a		Equador, Brasil	SE	8 mm

<i>B. amazonica</i> Paraense, 1966a		Brasil, Bolívia e Colômbia	SE	9 mm
<i>B. straminea</i> (Dunker, 1848)	<i>B. straminea</i>	Venezuela, Suriname, Guiana Francesa, Guiana, Peru, Brasil, Paraguai, Argentina, Dominica, Granada, Guadalupe, Martinica, República Dominicana, Trinidad, Uruguai, Costa Rica, China	SUSC	15 mm
<i>B. kuhniiana</i> (Clessin, 1883)	<i>B. straminea</i>	Suriname, Brasil, Venezuela, Panamá e Colômbia	NS	10 mm
<i>B. intermedia</i> Paraense & Deslandes, 1962	<i>B. straminea</i>	Brasil e Argentina	NS	12 mm
<i>B. glabrata</i> (Say, 1818)		Antígua, Brasil, Curaçau, Dominica, Egito, Guadalupe, Guiana Francesa, Haiti, Ilhas Saint Kitts, Martinica, Montserrat, Nigéria, Porto Rico, República Dominicana, Saint Martin, Santa Lúcia, São Cristóvão, Suriname, Venezuela, Vieques	SUSC	40 mm
<i>B. alexandrina</i> (Ehrenberg, 1831)	<i>B. alexandrina</i>	Egito, Sudão, Uganda, Etiópia, Quênia, Tanzânia, Zaire, Zâmbia	SUSC	15 mm
<i>B. sudanica</i> (Martens, 1870)	<i>B. alexandrina</i>	Sudão, Uganda, Etiópia, Quênia, Tanzânia, Zaire, Zâmbia	SUSC	17 mm
<i>B. camerunensis</i> (Boettger, 1941)		Mongongo, Camarões, Gana, Nigéria, República Centro-Africana, Zaire	SUSC	20 mm
<i>B. pfeifferi</i> (Krauss, 1848)		África do Sul (localidade-tipo); Argélia, Angola, Botsuana, Camarões, Chade, Congo, Daomé (atual Benin), Etiópia, Gabão, Gâmbia, Gana, Guiné, Libéria, Líbia, Madagascar, Malawi, Moçambique, Nigéria, Quênia, República Centro-Africana, Rodésia, Senegal, Serra Leoa, Somália, Suazilândia, Sudão, Tanzânia, Transvaal, Uganda, Zaire, Zâmbia, Chade, Ruanda	SUSC	17 mm
<i>B. angulosa</i> Mandahl-Barth, 1957		Tanzânia, Malawi, Zâmbia	SI	18 mm
<i>B. sericea</i> (Dunker, 1848)		Equador	SE	16 mm
<i>B. trigyra</i> (Philippi, 1869)		Peru e Equador	NS	14 mm
<i>B. equatoria</i> (Cousin, 1887)		Equador	SI	18 mm

As espécies estão listadas conforme relacionamento filogenético das mesmas (DeJong *et al.*, 2001; Teodoro *et al.*, 2009; Jarne *et al.*, 2011), exceto as últimas quatro espécies para as quais este relacionamento é desconhecido. As espécies brasileiras estão em destaque.

Legenda: SUSC - Susceptível; SE - Susceptível experimentalmente; NS - Não susceptível; SI - Sem informação.

1.2.2 Taxonomia dos moluscos do gênero *Biomphalaria*

A identificação morfológica dos moluscos deste gênero baseia-se nos trabalhos de Paraense (1966a, 1966b, 1975a, 1981, 1984, 1988, 1990 e 1996), Deslandes (1951), Paraense e Deslandes (1957, 1958a, 1958b) e Estrada *et al.* (2005) nos quais são feitas referências ao método de dissecação e exame das características morfológicas utilizadas para a identificação, tais como: comparação morfológica dos caracteres da concha, rádula, sistema excretor e aparelho reprodutor feminino-masculino (figura 4).

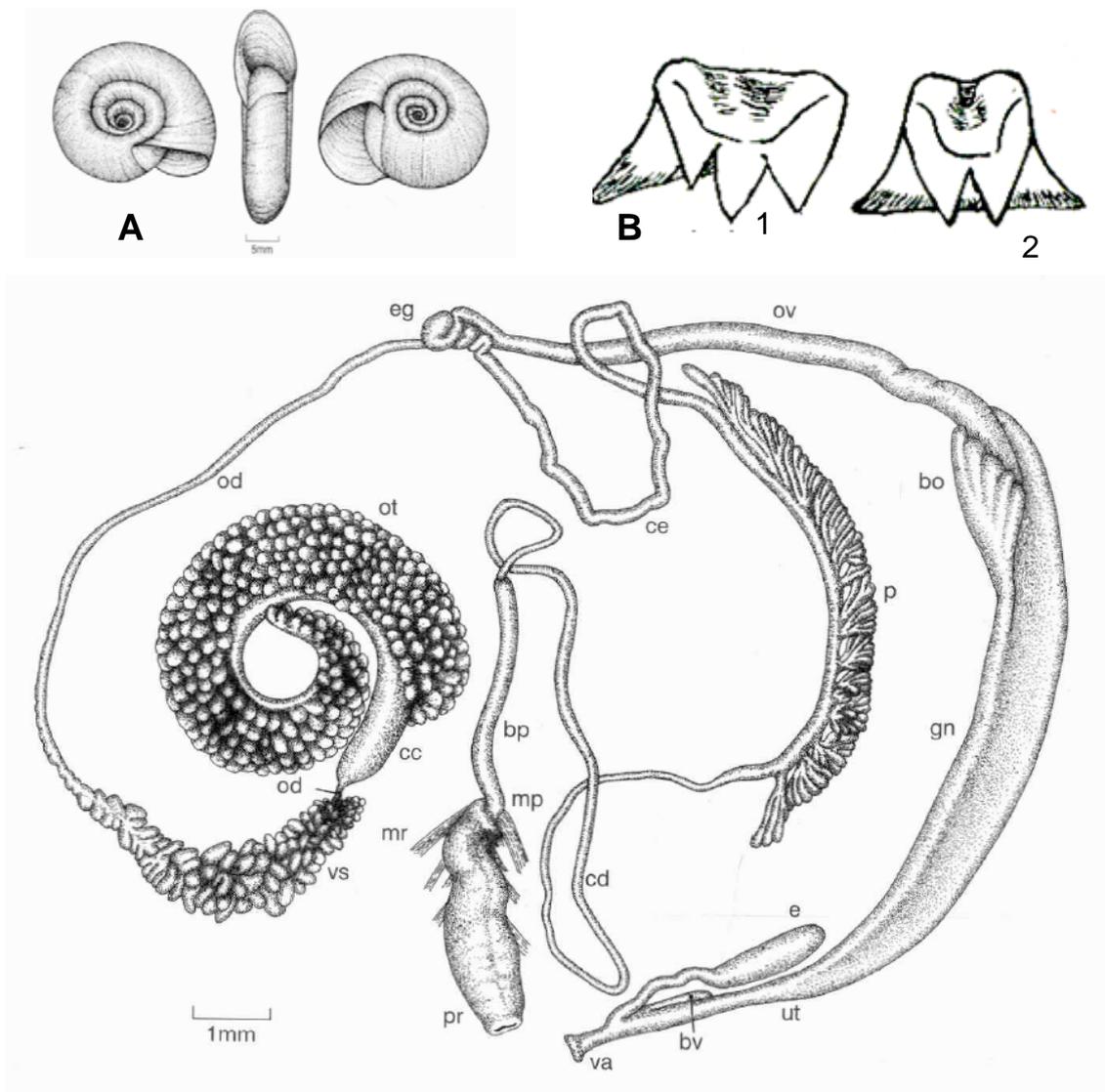


Figura C Representação esquemática da concha, rádula e órgãos genitais.

A) Concha de *Biomphalaria sp.*, B) rádula: dentes laterais tricúspides (1), dente central bicúspide (2), e C) esquema do sistema genital de *Biomphalaria glabrata*: ot-ovoteste, cc-canal coletor do ovoteste, od-ovispermiduto, vs-vesícula seminal, eg-encruzilhada genital ou *Carrefour*, ce-canal espermático, p-próstata, cd-canal deferente, bp-bainha do pênis, mr-músculo retrator do prepúcio, mp-músculo protrator do prepúcio, pr-prepúcio, ov-oviduto, bo-bolsa do oviduto, gn-glândula nidamental, ut-útero, e-espermoteca, bv-bolsa vaginal, va-vagina (Paraense, 1986, adaptada).

Entre os aspectos relacionados à caracterização morfológica específica dos planorbídeos um dos mais importantes é a habilidade do investigador em dissecar os moluscos e caracterizar as espécies em função das diferenças morfológicas (Paraense, 1975a; 1981; 1984 e 1988). Entretanto, a identificação às vezes é dificultada pela variação observada nesses caracteres e nos órgãos dotados de tecido muscular, devido ao seu estado de distensão no momento da fixação (Paraense, 1975a) e, ainda, pelo pequeno tamanho de alguns exemplares, dificultando a dissecação. Associado a este fato, colônias reconstruídas por autofecundação a partir de um único indivíduo podem originar populações com características próprias e pequena variação individual. Paraense (1966b) ressalta que, em virtude de algumas espécies ocuparem ambientes diversificados, apresentam uma grande variação morfológica intraespecífica. Em relação às conchas, sabe-se que essas sofrem a ação do ambiente, estando também sujeitas a variações, principalmente na coloração (Paraense, 1961a).

As dificuldades relacionadas à identificação específica com base na morfologia incentivaram a utilização de métodos moleculares como ferramenta auxiliar. De fato, devido às semelhanças morfológicas entre *B. straminea*, *B. kuhniiana* e *B. intermedia* Paraense (1988) propôs o agrupamento destas espécies no complexo *B. straminea*. Além disso, *B. intermedia*, do latim “*intermedius*” apresenta alguns caracteres anatômicos comuns a *B. peregrina* e *B. straminea* (Paraense & Deslades 1962). Posteriormente, Caldeira *et al.* (1998) estabeleceram perfis moleculares para estas quatro espécies, no intuito de facilitar a identificação das mesmas. Spatz *et al.* (1999) agruparam as espécies *B. tenagophila*, *B. t. guaibensis* e *B. occidentalis* no complexo *B. tenagophila* por serem indistinguíveis pelos caracteres da concha, pela maioria dos órgãos genitais e por apresentarem perfis moleculares bastante semelhantes entre si. Outras duas espécies muito semelhantes são *B. peregrina* e *B. oligoza*, nas quais a principal característica distintiva é a presença de pequeno número de divertículos prostáticos em *B. oligoza* em relação a *B. peregrina* (Paraense, 1974; 1975a). Além disso, Spatz *et al.* (2000) estudando morfológica e molecularmente essas duas espécies e *B. orbigny* encontraram perfis moleculares muito semelhantes entre as duas primeiras, utilizando seis enzimas de restrição. Há ainda muita semelhança entre *B. orbigny* e *B. havanensis* (Yong *et al.*, 1995 e Yong & Perera, 1989). Paraense (1966b) relata que *B. havanensis* e *B. peregrina* são separados apenas por diferenças da rádula. *Biomphalaria cousini* e *B. amazonica* também apresentam muita semelhança morfológica, sendo, por este motivo, descritas no mesmo artigo por Paraense (1966a) e sendo a principal diferença morfológica o formato da bolsa vaginal.

A identificação molecular não menospreza ou substitui os dados morfológicos, mas auxilia a morfologia quando esta não é suficiente para a identificação das espécies.

Problemas, antes considerados insolúveis pela metodologia tradicional, passaram a ser abordados (Hillis, 1987) e estudos incorporando os dois tipos de análise geram uma sistemática mais sólida (Monis, 1999) proporcionando um avanço marcante na taxonomia. Paraense (2003) enfatiza que tanto a taxonomia morfológica quanto a molecular, desde que corretamente aplicadas, atingem satisfatoriamente o mesmo objetivo.

Atualmente, para realizar a separação das espécies do gênero *Biomphalaria* pode ser utilizada a técnica do seqüenciamento nucleotídico ou a PCR-RFLP (reação em cadeia da polimerase associada ao polimorfismo de tamanho de fragmento de restrição) que fornece resultados bastante satisfatórios, com ampla aplicabilidade e fácil execução (Caldeira *et al.* 2000).

Para a identificação molecular do gênero *Biomphalaria* é amplificada toda a região espaçadora transcrita interna (ITS) do rDNA. Os iniciadores anelam-se nas regiões conservadas da porção final da subunidade 18S e na inicial da 28S gerando um fragmento de aproximadamente 1200 pb, seguido de digestão com uma enzima de restrição. Essa técnica foi utilizada para separar espécies brasileiras hospedeiras intermediárias do *S. mansoni* (Vidigal *et al.*, 1998a; Vidigal *et al.*, 1998b e Vidigal *et al.*, 2000a), espécies semelhantes como *B. straminea*, *B. intermedia* e *B. kuhniana* (Caldeira *et al.*, 1998) e *B. tenagophila*, *B. t. guaibensis* e *B. occidentalis* (Spatz *et al.*, 1998; Spatz *et al.*, 1999) e outras espécies Sul-americanas (Caldeira *et al.*, 2000; Spatz *et al.*, 2000; Vidigal *et al.*, 2001). Vidigal *et al.* (2000a) estabeleceram um diagrama com perfis espécie-específicos das espécies e subespécie do gênero *Biomphalaria*, até aquele momento, existentes no Brasil (figura 5).

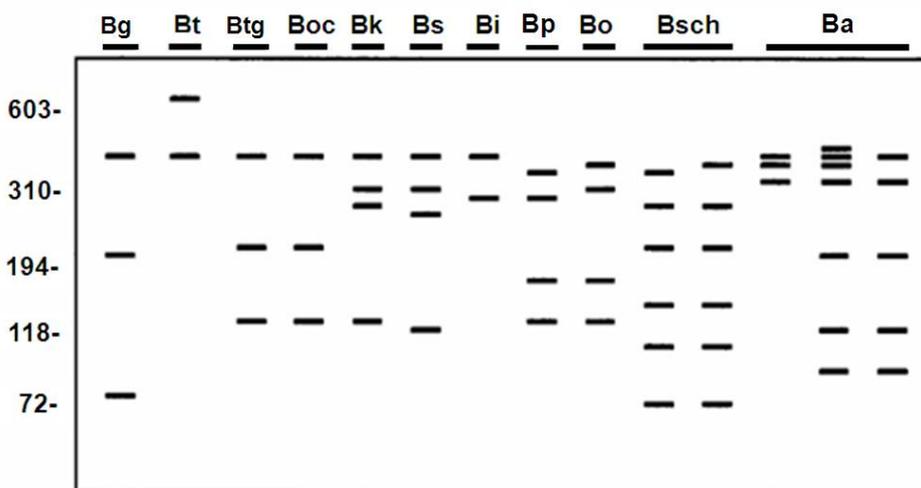


Figura 5: Diagrama esquemático dos perfis de PCR-RFLP das espécies brasileiras do gênero *Biomphalaria* obtidos pela digestão da região ITS do rDNA com a enzima *DdeI*.

Legenda: Bg: *Biomphalaria glabrata*; Btt: *B. t. tenagophila*; Btg: *B. t. guaibensis*; Boc: *B. occidentalis*; Bk: *B. kuhniana*; Bs: *B. straminea*; Bi: *B. intermédia*; Bp: *B. peregina*; Bo: *B. oligoza*; Bschr: *B. schrammi*; Ba: *B. amazonica* (Vidigal *et al.*, 2000a).

Desde 1993 o LHMM recebe moluscos de diversas regiões do Brasil e de outros países para a realização de exame de infecção por *S. mansoni* e identificação específica utilizando caracteres morfológicos da concha, rádula, órgãos excretores e reprodutores (feminino e masculino). Em 2003 o LHMM tornou-se Referência Nacional em Esquistossomose passando a utilizar técnicas de biologia molecular como ferramenta auxiliar na identificação dos moluscos sempre que a identificação clássica era inconclusiva. Entretanto, pelo fato deste acervo ser cronologicamente anterior a utilização de técnicas moleculares no LHMM/Fiocruz CMM, uma parcela significativa dos exemplares não receberam, quando necessário, a confirmação molecular. Também, uma parte da coleção encontrava-se sem identificação específica.

Por se tratar de uma coleção ligada ao serviço de referência, seus dados são utilizados pelo Programa de Controle da Esquistossomose (PCE), do MS, para obter informações sobre a distribuição dos moluscos hospedeiros do *S. mansoni* e assim tomar medidas preventivas cabíveis na região onde foram encontrados. Além disso, a correta identificação dos moluscos é de grande importância nos trabalhos realizados no LHMM sendo este acervo utilizado constantemente em pesquisa. E, ainda, estas informações devem ser disponibilizadas a comunidade científica interessada, sejam pesquisadores, professores, técnicos ou estudantes.

Assim, essa dissertação propõe realizar a avaliação e retificação da identificação dos moluscos do gênero *Biomphalaria* que compõe o acervo da Coleção de Malacologia Médica (Fiocruz-CMM), localizada no Laboratório de Helmintologia e Malacologia Médica (LHMM), do Centro de Pesquisas René Rachou, tendo em vista a atualização dos Livros de Registro de Recebimento de Moluscos, Livro de Tombo e dos dados disponibilizados no CRIA.

3.1 Objetivo geral

Realizar avaliação e retificação taxonômica dos moluscos do gênero *Biomphalaria* que compõe o acervo da Coleção de Malacologia Médica (Fiocruz-CMM), localizada no Laboratório de Helminologia e Malacologia Médica (LHMM), do Centro de Pesquisas René Rachou.

3.2 Objetivos específicos

- Realizar a identificação específica (morfológica e molecular) dos moluscos sem identificação;
- Confirmar e/ou retificar a identificação específica dos moluscos que foram identificados apenas pelos caracteres morfológicos, através da técnica molecular;
- Atualizar os “Livros de Registro de Recebimento de Moluscos”, os livros de tombo e os dados informatizados a partir das informações geradas neste trabalho;
- Disponibilizar dados atualizados referentes à Coleção de Malacologia Médica para a comunidade acadêmica brasileira através da rede *specieslink* (<http://slink.cria.org.br>).

4.1 Seleção dos moluscos

Foram utilizados moluscos do gênero *Biomphalaria* do acervo da Coleção de Malacologia Médica (Fiocruz-CMM) do CPqRR.

Através de consultas realizadas nos “Livro de Registro de Recebimento de Moluscos” e Livro de Tombo foi realizado levantamento de todos os pontos de coleta, registrados de 1993 até o final de 2009, ano anterior ao início deste trabalho. Os moluscos foram separados por pontos de coleta e pelo menos um exemplar por ponto foi utilizado na confirmação específica. Foi utilizado mais de um exemplar por ponto de coleta nos seguintes casos: quando não havia o *backup* genético e a análise morfológica do primeiro exemplar foi inconclusiva, e/ou quando o número de exemplares por ponto era superior a cinco. Nos dois casos foi respeitada a proporção de no máximo dois exemplares dissecados para cada cinco exemplares presentes no ponto de coleta.

Foram utilizados na confirmação morfológica, preferencialmente, exemplares dissecados. Apenas quando não havia exemplares dissecados no ponto de coleta foi realizada a dissecação para a análise. A identificação molecular foi realizada no mesmo exemplar utilizado para identificação morfológica.

Os pontos de coleta foram separados nos seguintes grupos:

Grupo I: constituído por moluscos inseridos no acervo no período de 1993-2002. Este grupo foi separado em dois subgrupos:

- Subgrupo IA - com material criopreservado. Foi selecionado no mínimo um exemplar por ponto de coleta para ser revisado/identificado pela morfologia clássica e, posteriormente, pela técnica de PCR-RFLP.
- Subgrupo IB - sem material criopreservado. Foi selecionado no mínimo um exemplar por ponto de coleta para ser revisado/identificado por especialistas em morfologia do gênero *Biomphalaria*.

Grupo II: constituído por moluscos inseridos no acervo no período de 2003-2009. Este grupo foi separado em dois subgrupos:

- Subgrupo IIA- com material criopreservado, mas sem a identificação molecular. Entre os exemplares previamente identificados pela morfologia, foi selecionado no mínimo um exemplar por ponto de coleta para ser revisado/identificado pela técnica de PCR-RFLP. Nos pontos sem identificação morfológica realizaram-se análises morfológicas e moleculares.

- Subgrupo IIB - sem material criopreservado. Foi selecionado no mínimo um exemplar por ponto de coleta para ser revisado/identificado por especialistas em morfologia do gênero *Biomphalaria*.

4.2 Caracterização taxonômica

4.2.1 Identificação morfológica

Corpo e concha dos exemplares encontravam-se fixados e armazenados na Fiocruz-CMM. Com auxílio de pinças de ponta reta, tesouras e estiletes, os moluscos foram dissecados para a determinação específica (Deslandes, 1951). Exemplares que já haviam sido identificados pela morfologia encontravam-se dissecados e tiveram os caracteres morfológicos observados.

A identificação dos planorbídeos do gênero *Biomphalaria* baseou-se na morfologia comparativa entre as conchas, anatomia dos órgãos do aparelho reprodutor (feminino e masculino) e órgãos excretores, sendo observados os aspectos morfológicos da parede vaginal (presença/ausência de bolsa vaginal, presença/ausência de enrugamento), relação de tamanho entre bainha do pênis e prepúcio e, ainda, relação entre o diâmetro da bainha do pênis e o canal deferente, conforme descrito por Paraense (1966 a, 1975a, 1975b, 1981, 1984, 1988, 1990 e 1996), Paraense e Deslandes (1958 a, e 1958 b) e Estrada *et al.* (2006) (figuras 4 e 6). Após a identificação morfológica, todos os exemplares utilizados foram devolvidos à coleção, sem danos para estudos morfológicos posteriores.

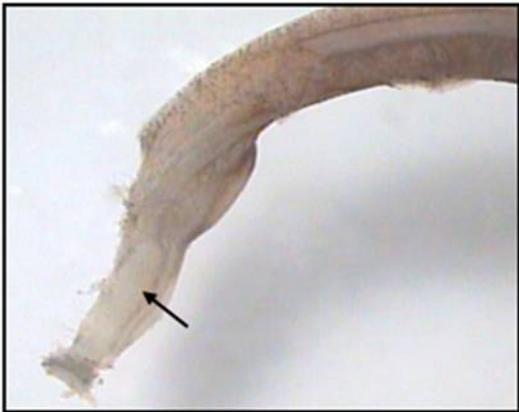




D



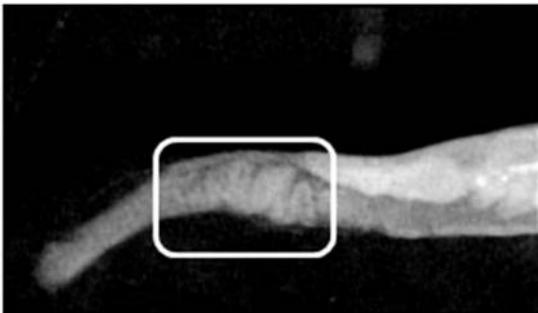
E



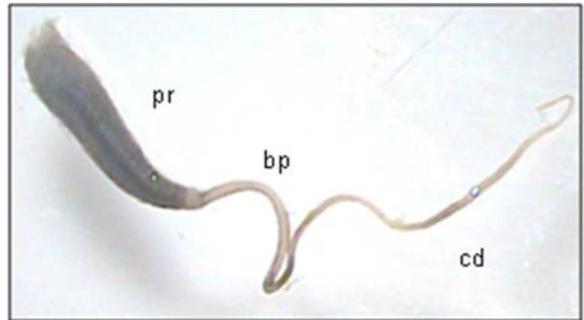
F



G



H



I

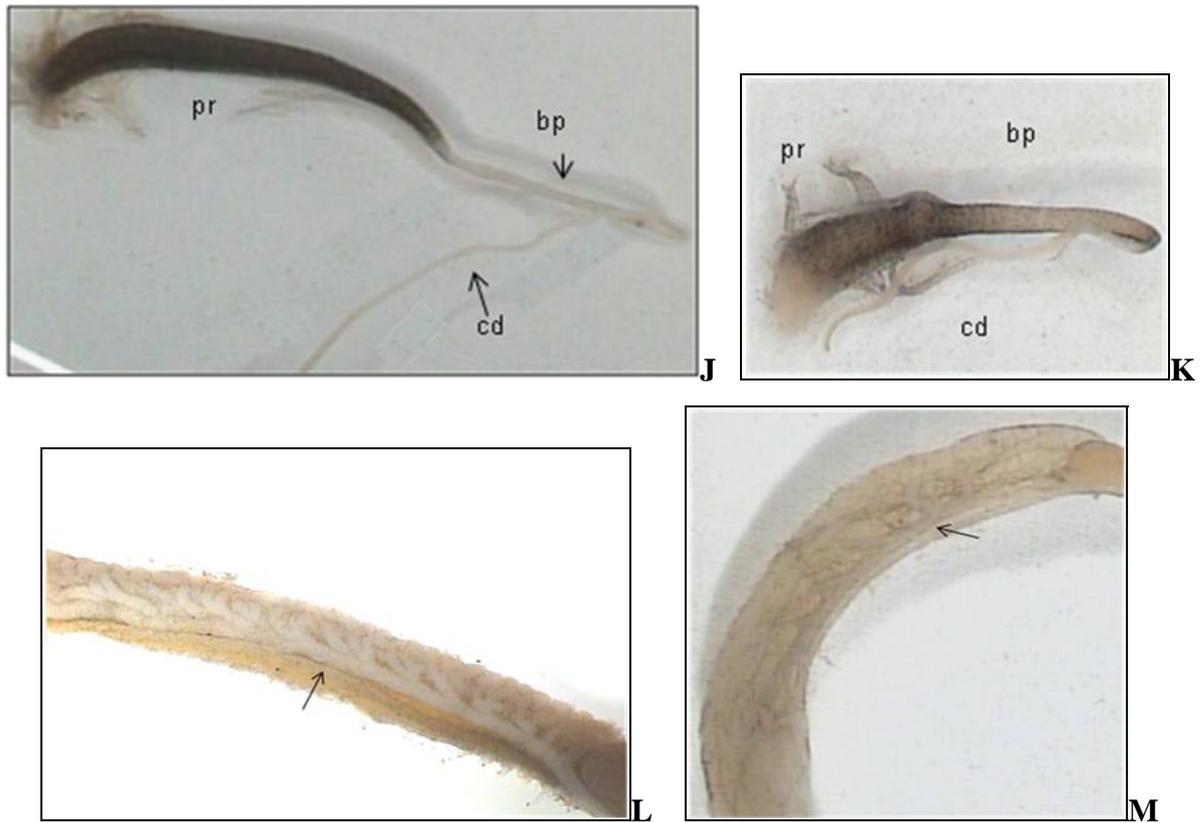


Figura 6: Conchas, órgãos excretores e reprodutores utilizados na identificação morfológica. Conchas sem carena (A), com carena (B) e com crescimento rápido dos giros externos (C). Sistema excretor- manto sem (D) e com (E) crista renal pigmentada. Sistema reprodutor- parede vaginal com (F) e sem bolsa (G) e enrugada (H); complexo peniano com bainha do pênis com o mesmo comprimento que o prepúcio e o mesmo diâmetro da porção média do canal deferente (I), prepúcio duas vezes maior que a bainha do pênis (J) e bainha do pênis com o diâmetro bem maior que a porção média do canal deferente (K); próstata com 13 divertículos (L) e com quatro divertículos (M)

4.2.1 Identificação molecular

Nas amostras selecionadas para a identificação molecular, o backup genético foi dividido em duas partes. Uma parte foi mantida criopreservada e da outra foi extraído DNA total, utilizando o kit Wizard® da Promega.

Inicialmente adicionou-se 200µl de solução de lise nuclear juntamente com 1µl de proteinase K (50µg/ml) no tubo de polietileno contendo o *backup* genético e este foi incubado a 37°C *overnight*. Posteriormente, foram adicionados 80µl de solução de precipitação protéica e a suspensão foi agitada vigorosamente no vortex por 20 segundos e centrifugada a 13.000 RPM por 3 minutos. O sobrenadante foi transferido para outro tubo etiquetado contendo 200µl de isopropanol, homogeneizado suavemente durante 20 minutos e centrifugado a 13.000 RPM por 6 minutos e, em seguida, o sobrenadante foi desprezado. Adicionou-se 500µl de etanol

100% gelado com 10µl de solução de acetato de sódio 30M pH 5,2 e solução final foi incubada a -70°C por 2 horas. Posteriormente, o tubo foi centrifugado por 10 minutos a 13.000 RPM e o sobrenadante cuidadosamente desprezado por inversão. Adicionou-se mais 500µl de etanol 70% gelado e novamente centrifugou-se por 10 minutos sendo o sobrenadante novamente desprezado. O “pellet” formado no fundo do tubo foi reidratado com 15µl de solução de reidratação (10mM Tris 1mM EDTA) por 30 minutos a 37°C. Os tubos foram mantidos a -20°C até o momento de serem usados.

Uma parcela dos moluscos utilizada nesta dissertação já tinha o DNA total extraído e armazenados à -20° C no LHMM.

O DNA foi submetido à amplificação pela reação em cadeia da polimerase (PCR), direcionada para a região espaçadora transcrita interna do gene RNA ribossomal (ITS-rRNA), utilizando os iniciadores ETTS2 (5'-TAACAAGGTTTCCGTAGGTGAA-3') e ETTS1 (5'-TGCTTAAGTTCAGCGGGT-3') (Kane & Rollinson, 1994), homólogos às extremidades conservadas das subunidades 18S e 28S do gene do rRNA (figura 7).

As condições da PCR foram: volume total de 10 µl, sendo 1-10ng de DNA alvo, tampão (1,5 mM MgCl₂, 50 mM KCl, 10mM Tris-HCl, pH 8,5), 200 µM de cada dNTP, 0,5 U de *Taq*-DNA polimerase (DNA polimerase termoestável da bactéria *Thermus aquaticus*) e 5,0 pmoles de cada iniciador. Cada tubo com a reação preparada foi coberto com uma gota de óleo mineral para evitar evaporação e submetida a ciclos de amplificação, sendo a desnaturação inicial realizada por 3 minutos a 95°C, seguida de 32 ciclos: anelamento a 54°C por 1 minuto, extensão a 72°C por 2 minutos e desnaturação a 95°C por 45 segundos; e uma extensão final a 72°C por 5 minutos. Todos os experimentos tinham um controle negativo, sem adição de DNA. Três microlitros do produto da amplificação foram submetidos à eletroforese em gel de poliacrilamida 6% e corados pela prata (Santos *et al.*, 1993) para observação do perfil dos produtos de PCR (figura 7). Em todos os géis, adicionou-se em uma canaleta o padrão de peso molecular PhiX 174 digerido com *Hae*III.

Os produtos da PCR (7 µl) foram diluídos em 23µl de água milli-Q, e divididos em alíquotas de 10µl. Em seguida 0,3 µl da enzima *Dde*I foram utilizadas para digerir cada uma das alíquotas, juntamente com 1,0 µl do respectivo tampão, em um volume final de 11,3µl em cada tubo, mantidos 3,5 horas a 37°C, seguidos de 20 minutos a 80°C para desnaturação da enzima. Três µl do produto clivado foi submetido à eletroforese em gel de poliacrilamida a 6% e coloração pela prata (Santos *et al.*, 1993). O tamanho das bandas foi determinado por

comparação com um padrão de peso molecular (Phi X 174 - *Hae*III). Os resultados foram registrados com câmera Cyber-shot 5.0 (Sony).

Os perfis de bandas obtidos após a digestão com a enzima *Dde* I foram comparados com perfis de *Biomphalaria* obtidos por Vidigal *et al.* (2000a) ; Caldeira *et al.* (2000), Vidigal *et al.* (2001) e Teodoro *et al.* (2010). A enzima *Alu* I foi utilizada para separar *B. occidentalis* de *B. t. guaibensis* conforme Spatz *et al.* (1999), devido a semelhança dos perfis obtidos com a enzima *Dde* I.

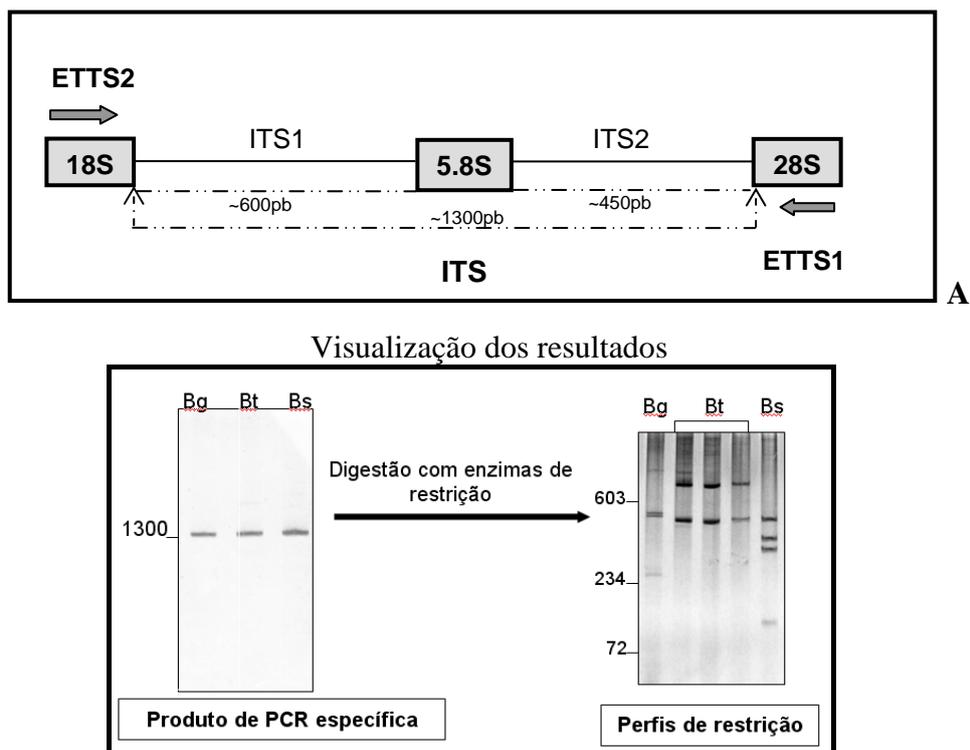


Figura 7: A) Região espaçadora interna transcrita (ITS) do DNAr; B) Desenho esquemático da PCR-RFLP.

Legenda: iniciadores ETTS1 e ETTS2 (Kane & Rollinson, 1994); 18S, 5.8S e 28S subunidades do gene rDNA; ITS1 e ITS2 regiões espaçadoras internas. Bg: *Biomphalaria glabrata*, Bt: *Biomphalaria tenagophila* e Bs: *Biomphalaria straminea*.

4.3 Atualização do Banco de dados

Os resultados foram agrupados em seis categorias: 1-dados corretos; 2- equívocos (classificados como outra espécie); 3- adequações (espécie em sinonímia); 4- inconclusivos (perfil molecular diferente do esperado), 5- material degradado e 6- exemplares identificados pela primeira vez (espécies depositadas que estavam sem identificação).

Após as identificações e confirmações morfológico-moleculares os dados foram registrados no Livro de Registro de Recebimento de Moluscos e no Livro de Tombo. Nos equívocos e adequações a nova informação substituiu a anterior nos livros acima mencionados.

Os registros anteriores não foram eliminados, mantendo o histórico do acervo. As informações foram padronizadas, o que facilitará o acesso e armazenamento de novos dados no programa Excel. O material degradado (concha e/ou corpo) foi mantido na coleção para estudos futuros.

Para o acesso aos dados do acervo, os registros taxonômicos e demais informações referentes aos moluscos da coleção Fiocruz-CMM foram atualizados no *site* do CRIA através do programa *SpeciesBase*, disponíveis na rede *SpeciesLink*. Estes dados encontram-se disponíveis para consulta na rede mundial de computadores (World Wide Web) no endereço <http://splink.cria.org.br>.

5.1 Moluscos Seleccionados

De 1993 até 2009 foram catalogados na Fiocruz-CMM 1.195 pontos de coleta com moluscos do gênero *Biomphalaria*, constituídos por 7.778 exemplares. No início deste trabalho havia 16 espécies e uma subespécie registradas no acervo, sendo 14 pontos de coleta com *B. amazonica*, oito com *B. cousini*, dois com *B. edisoni*, 288 com *B. glabrata*, seis com *B. havanensis*, 24 com *B. intermedia*, 21 com *B. kuhniiana*, quatro com *B. obstructa*, 25 com *B. occidentalis*, quatro com *B. oligoza*, 125 com *B. peregrina*, seis com *B. prona*, 14 com *B. schrammi*, 182 com *B. straminea*, um com *B. temascalensis*, 120 com *B. tenagophila*, 18 com *B. t. guaibensis* e 332 pontos de coleta estavam sem identificação específica (tabela 2). A figura 8 mostra a situação do acervo Fiocruz-CMM antes da realização deste trabalho.

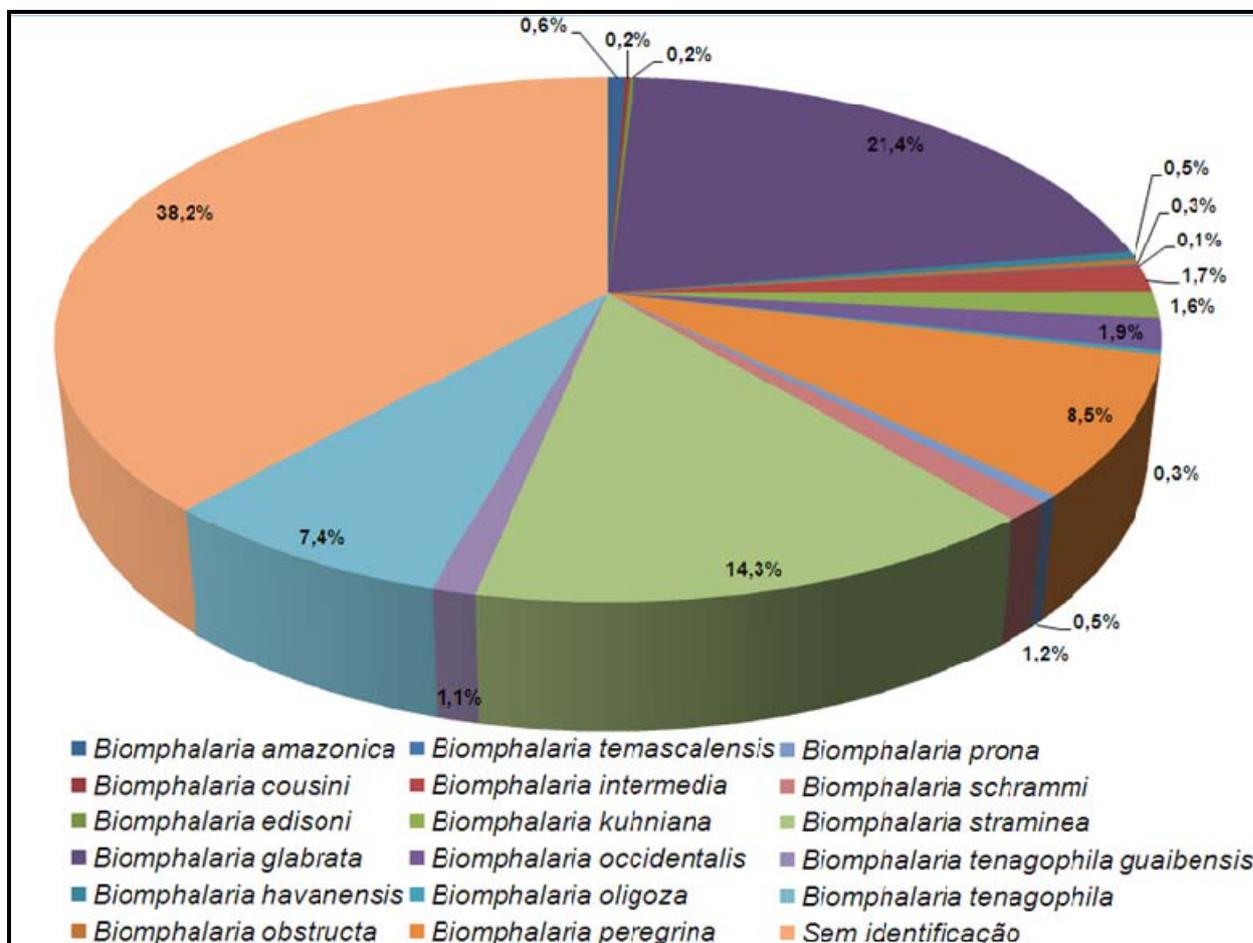


Figura 8: Gráfico demonstrando a situação do acervo Fiocruz-CMM antes da realização deste trabalho, por pontos de coleta

Após a realização deste trabalho (figura 9) o acervo Fiocruz-CMM ficou composto por 15 espécies e uma subespécie, sendo 12 pontos de coleta com *B. amazonica*, oito com *B. cousini*, dois com *B. edisoni*, 343 com *B. glabrata*, 20 com *B. havanensis*, 43 com *B. intermedia*, 21 com *B. kuhniiana*, 32 com *B. occidentalis*, 11 com *B. oligoza*, um com *B.*

orbigny, seis com *B. prona*, 20 com *B. schrammi*, 252 com *B. straminea*, 133 com *B. tenagophila* e 27 com *B. t. guaibensis*. Em 227 pontos de coleta a identificação dos exemplares foi inconclusiva, sendo 217 pontos de coleta com *B. peregrina*, quatro com *B. aff. straminea* e seis com *B. tenagophila* oriundas da Argentina. Em 37 pontos de coleta os exemplares estavam degradados (concha e/ou corpo e/ou *backup* genético) impossibilitando a identificação/confirmação. Estes exemplares foram mantidos na coleção para estudos posteriores. A tabela 2 mostra a comparação do número de pontos de coleta por espécie, identificados antes e após a realização deste trabalho.

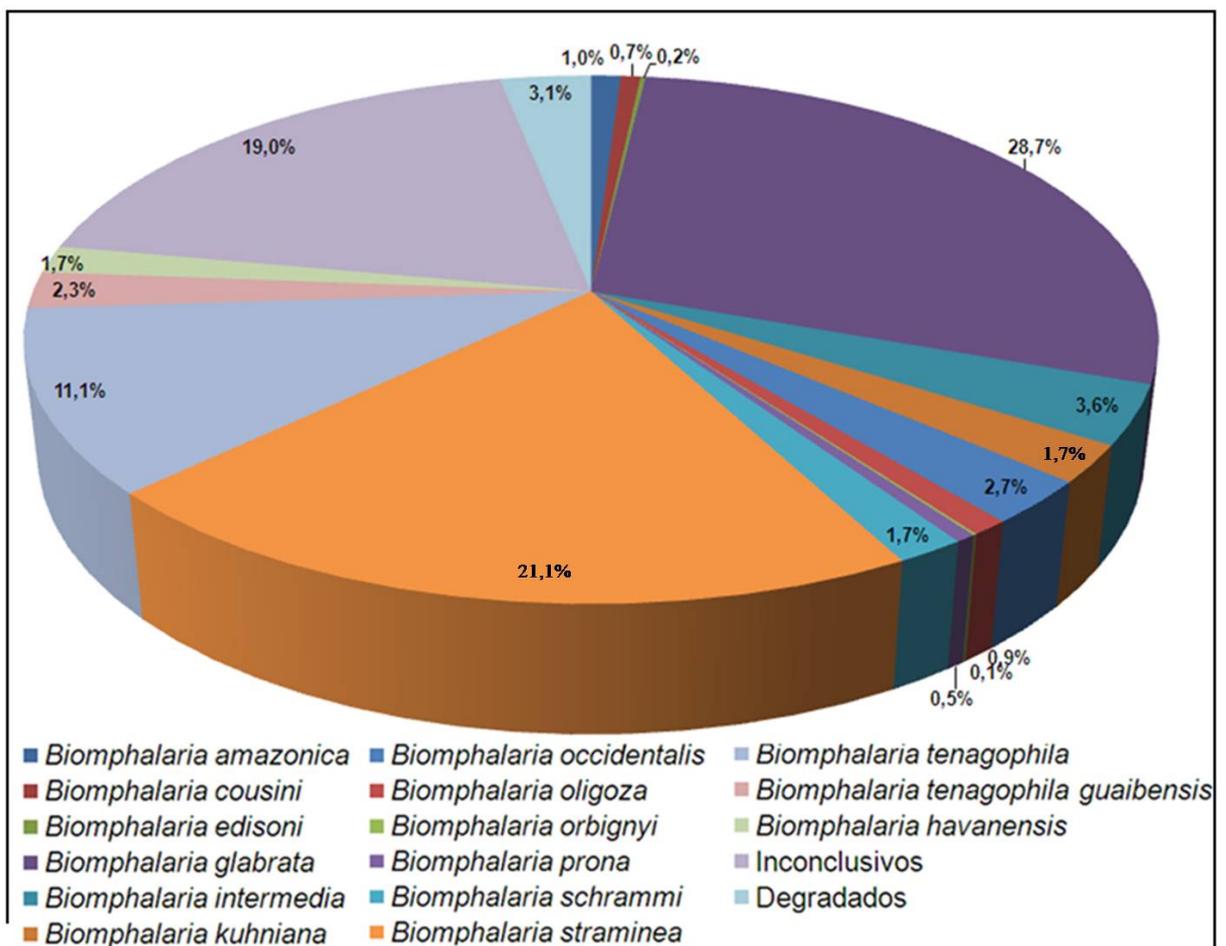


Figura 9: Gráfico demonstrando a situação do acervo da Fiocruz-CMM após a realização deste trabalho, por pontos de coleta.

Tabela 2: Comparação do número de pontos de coleta (%) com moluscos do gênero *Biomphalaria* identificados antes e após a realização deste trabalho

Espécie	Nº pontos de coleta identificados no início deste trabalho/%	Nº pontos de coleta identificados no término deste trabalho/%
<i>B. amazonica</i>	14 (1,2)	12 (1)
<i>B. cousini</i>	8 (0,7)	8 (0,7)
<i>B. edisoni</i>	2 (1,2)	2 (1,2)
<i>B. glabrata</i>	289 (24,2)	343 (28,7)
<i>B. havanensis</i>	6 (0,5)	20 (1,7)
<i>B. intermedia</i>	24 (2)	43 (3,5)
<i>B. kuhniiana</i>	21 (1,7)	21 (1,7)
<i>B. obstructa</i>	4 (0,3)	-
<i>B. occidentalis</i>	25 (2,1)	32 (2,7)
<i>B. oligoza</i>	4 (0,3)	11 (0,9)
<i>B. orbigny</i>	-	1 (0,1)
<i>B. peregrina</i>	125 (10,3)	217 (18,1)
<i>B. prona</i>	6 (0,5)	6 (0,5)
<i>B. schrammi</i>	14 (1,1)	20 (1,7)
<i>B. aff. straminea</i>	-	4 (0,3)
<i>B. straminea</i>	182 (15,2)	252 (21,1)
<i>B. tenagophila</i> (Argentina)	-	6 (0,5)
<i>B. tenagophila</i>	120 (10)	133 (11,1)
<i>B. temascalensis</i>	1 (0,1)	-
<i>B. t. guaibensis</i>	18 (1,5)	27 (2,2)
Sem identificação	332 (27,8)	37 (3,1)
Totais	1195 (100)	1195 (100)

Para a avaliação e retificação da identificação específica do acervo Fiocruz-CMM, foram analisados através dos caracteres morfológicos e/ou PCR-RFLP 1.465 indivíduos pertencentes a 1.084 (90.1%) pontos de coleta. Não foram avaliadas as identificações dos exemplares oriundos de 111 pontos de coleta, pertencentes ao subgrupo IIA, pois já existia a confirmação molecular dos mesmos.

Os resultados obtidos nas seis categorias foram: 1- dados corretos (54,1% dos pontos de coleta); 2- equívocos (3,6%); 3- adequações (0,5%); 4- inconclusivos (18,9%) e 5- degradados (3,4%), 6- identificados pela primeira vez (19,5%), como mostrado na tabela 3.

Tabela 3: Resultado geral obtido na análise dos pontos de coleta da Fiocruz-CMM

Categorias	Número de pontos de coleta	Porcentagem (%)
1- Dados corretos	587	54,1
2- Equívocos	39	3,6
3- Adequações	5	0,5
4- Inconclusivos	205	18,9
5- Degradados	37	3,4
6- Identificados pela primeira vez	211	19,5
Totais	1.084	100

A seguir o detalhamento dos resultados em cada grupo.

5-1.1 - Grupo I

Este grupo, subdividido em dois, foi constituído por 620 pontos de coleta, sendo analisados 874 exemplares. Entre eles, 259 (41,8%) pontos de coleta possuíam exemplares com dados taxonômicos corretos; em 13 (2,1%) houve equívoco na identificação dos exemplares; em cinco (0,8%) houve adequação na identificação dos exemplares; em 158 (25,5%) a identificação dos exemplares foi inconclusiva; em 12 (1,9%) os exemplares estavam degradados impossibilitando a identificação e em 173 (27,9%) os exemplares foram identificados pela primeira vez (tabela 4).

Tabela 4: Resultados obtidos na análise dos pontos de coleta do grupo I, Fiocruz-CMM

Categorias	Número de pontos de coleta	Porcentagem (%)
1- Dados corretos	259	41,8
2- Equívocos	13	2,1
3- Adequações	5	0,8
4- Inconclusivos	158	25,5
5- Degradados	12	1,9
6- Identificados pela primeira vez	173	27,9
Totais	620	100

5.1.1.1- Subgrupo IA

Neste subgrupo (com material criopreservado), constituído por 449 pontos de coleta, foi realizada a análise morfológica e molecular em pelo menos um exemplar por ponto de coleta, totalizando 651 exemplares analisados.

Em exemplares de 187 pontos de coleta não existia nenhuma identificação (tabela 5). Através dos exames morfológicos e PCR-RFLP foi possível a identificação dos exemplares de 93 pontos, sendo um ponto de coleta com *B. amazonica*, 26 com *B. glabrata*, nove com *B. havanensis*, um com *B. intermedia*, cinco com *B. occidentalis*, cinco com *B. oligoza*, um com

B. orbigny, seis com *B. schrammi*, 27 com *B. straminea*, 15 com *B. tenagophila* e três com *B. t. guaibensis*. A identificação foi inconclusiva em exemplares de 80 pontos com *B. peregrina/B. oligoza*, seis com *B. tenagophila* oriundas da Argentina e quatro pontos com *B. aff. straminea*. Não foi possível a identificação específica em exemplares de quatro pontos devido à degradação do material.

Tabela 5: Resultados obtidos na análise dos pontos de coleta sem identificação anterior pertencentes ao subgrupo IA.

Categorias	Número de pontos de coleta	Porcentagem (%)
1- Dados corretos	-	-
2- Equívocos	-	-
3- Adequações	-	-
4- Inconclusivos	90	48,2
5- Degradados	04	2,1
6- Identificados pela primeira vez	93	49,8
Totais	187	100,1

Os exemplares dos 262 pontos de coleta restantes, do subgrupo IA (tabela 6), estavam previamente identificados pela morfologia. Foram confirmados pela PCR-RFLP e estavam com a identificação correta, exemplares oriundos de 192 pontos de coleta. Em exemplares de 11 pontos de coleta foram encontrados equívocos em relação à identificação anterior (tabela 7). Sofreram adequações específicas, exemplares oriundos de quatro pontos com *B. obstructa* e um ponto com *B. temascalensis*, passando a denominar-se *B. havanensis*. A identificação foi inconclusiva em exemplares de 47 pontos com *B. peregrina/B. oligoza*. Não foi possível a confirmação específica de exemplares de um ponto de coleta devido a degradação do material.

Tabela 6: Resultados obtidos na análise dos pontos de coleta previamente identificados, pertencentes ao subgrupo IA.

Categorias	Número de pontos de coleta	Porcentagem (%)
1-Dados corretos	198	75,6
2- Equívocos	11	4,2
3- Adequações	05	1,9
4- Inconclusivos	47	17,9
5- Degradados	01	0,4
6- Identificados pela primeira vez	-	-
Totais	262	100

Tabela 7: Relação dos equívocos encontrados entre espécies no subgrupo IA

Identificação prévia pela morfologia	Identificação atual pela morfologia	Identificação atual pela PCR-RFLP	Número de pontos de coleta com equívoco
<i>B. peregrina</i>	<i>B. intermedia</i>	<i>B. intermedia</i>	1
<i>B. intermedia</i>	<i>B. intermedia</i>	<i>B. straminea</i>	1
<i>B. tenagophila</i>	<i>B. occidentalis</i> ?	<i>B. occidentalis</i>	2
<i>B. peregrina</i>	?	<i>B. tenagophila</i>	1
<i>B. tenagophila</i>	?	<i>B. peregrina</i>	1
<i>B. amazonica</i>	?	<i>B. cousini</i>	1
<i>B. straminea</i>	<i>B. occidentalis</i>	<i>B. occidentalis</i>	1
<i>B. straminea</i>	<i>B. oligoza</i>	<i>B. oligoza</i>	1
<i>B. prona</i>	<i>B. kuhiana</i>	<i>B. kuhiana</i>	1
<i>B. tenagophila</i>	<i>B. t. guuibensis</i>	<i>B. t. guuibensis</i>	1
Total de pontos de coleta com equívoco			11

5.1.1.2 - Subgrupo IB

Neste subgrupo com 171 pontos de coleta, sem material criopreservado, foi realizada a análise morfológica em pelo menos um exemplar por ponto de coleta, totalizando 223 exemplares analisados.

Estavam sem quaisquer identificações exemplares de 91 pontos de coleta (tabela 8). Utilizando os caracteres morfológicos foi realizada a identificação de exemplares de 80 pontos de coleta, sendo oito com *B. glabrata*, 18 com *B. intermedia*, um com *B. occidentalis*, um com *B. oligoza*, 39 com *B. straminea*, 10 com *B. tenagophila* e três com *B. t. guuibensis*. A identificação foi inconclusiva em exemplares de seis pontos com *B. peregrina/B. oligoza*. Os exemplares dos cinco pontos restantes estavam degradados impossibilitando a identificação.

Tabela 8: Resultados obtidos na análise dos pontos de coleta sem identificação anterior, pertencentes ao subgrupo IB.

Categorias	Número de pontos de coleta	Porcentagem (%)
1- Dados corretos	-	-
2- Equívocos	-	-
3- Adequações	-	-
4- Inconclusivos	06	6,6
5- Degradados	05	5,5
6- Identificados pela primeira vez	80	87,9
Totais	91	100

Os exemplares dos outros 80 pontos de coleta, do subgrupo IB, possuíam identificação prévia (tabela 9). Estavam com a identificação correta indivíduos de 61 pontos de coleta. Foram encontrados equívocos em relação à identificação anterior, exemplares de dois pontos de coleta (tabela 10). Neste subgrupo não houve adequação de espécie. Em exemplares de 15 pontos com *B. peregrina*/*B. oligoza* a identificação foi inconclusiva. Não foi possível realizar a confirmação nos exemplares dos dois pontos restantes, pois estavam degradados.

Tabela 9: Resultados obtidos na análise dos pontos de coleta previamente identificados, pertencentes ao subgrupo IB.

Categorias	Número de pontos de coleta	Porcentagem (%)
1- Dados corretos	61	76,3
2- Equívocos	02	2,5
3- Adequações	-	
4- Inconclusivos	15	18,7
5- Degradados	02	2,5
6- Identificados pela primeira vez	-	
Totais	80	100

Tabela 10: Relação dos equívocos encontrados entre espécies no subgrupo IB

Identificação prévia pela morfologia	Identificação atual pela morfologia	Número de pontos de coleta com equívoco
<i>B. tenagophila</i>	<i>B. peregrina</i>	1
<i>B. intermedia</i>	<i>B. peregrina</i>	1
Total de pontos de coleta com equívoco		2

5.1.2 Grupo II

Este grupo, subdividido em dois, foi constituído por 464 pontos de coleta, sendo analisados 592 exemplares. Entre eles, 328 (70,7%) pontos de coleta possuíam exemplares com dados taxonômicos corretos; em 26 (5,6%) houve equívoco na identificação dos exemplares; nesse grupo não houve adequação na identificação dos exemplares; em 47 (10,1%) a identificação dos exemplares foi inconclusiva, em 25 (5,4%) os exemplares estavam degradados impossibilitando a identificação e em 38 (8,2%) os exemplares foram identificados pela primeira vez. O resumo destes dados é mostrado na tabela 11.

Tabela 11: Resultados obtidos na análise dos pontos de coleta do grupo II, Fiocruz-CMM

Categorias	Número de pontos de coleta	Porcentagem (%)
1- Dados corretos	328	70,7
2- Equívocos	26	5,6
3- Adequações	-	-
4- Inconclusivos	47	10,1
5- Degradados	25	5,4
6- Identificados pela primeira vez	38	8,2
Totais	464	100

5.1.2.1 Subgrupo IIA

Neste subgrupo (com material criopreservado), constituído por 455 pontos de coleta, foi realizada a análise molecular em pelo menos um exemplar por ponto de coleta, totalizando 578 exemplares analisados.

Exemplares de 48 pontos de coleta estavam sem qualquer identificação (tabela 12). Através dos exames morfológicos e PCR-RFLP foi realizada a identificação de exemplares de 36 pontos, sendo um ponto de coleta com *B. amazonica*, 13 com *B. glabrata*, um com *B. intermedia*, um com *B. schrammi*, oito com *B. straminea*, nove com *B. tenagophila* e três com *B. t. guaibensis*. Em exemplares de dois pontos com *B. peregrina/B. oligoza* a identificação foi inconclusiva. Não foi possível a identificação específica de exemplares de 10 pontos devido à degradação do material.

Tabela 12: Resultados obtidos na análise dos pontos de coleta sem identificação anterior, pertencentes ao subgrupo IIA.

Categorias	Número de pontos de coleta	Porcentagem (%)
1- Dados corretos	-	-
2- Equívocos	-	-
3- Adequações	-	-
4- Inconclusivos	02	4,2
5- Degradados	10	20,8
6- Identificados pela primeira vez	36	75
Totais	48	100

Os exemplares dos 407 pontos de coleta restantes, do grupo IIA, estavam previamente identificados pela morfologia (tabela 13). Foram confirmados pela PCR-RFLP e estavam com a identificação correta, exemplares de 326 pontos de coleta. Em exemplares de 26 pontos de coleta foram apontados equívocos em relação à identificação anterior (tabela 14). Em exemplares de 45 pontos com *B. peregrina/B. oligoza* a identificação foi inconclusiva. Não foi

possível a confirmação específica de exemplares de dez pontos de coleta devido a degradação do material.

Tabela 13: Resultados obtidos na análise dos pontos de coleta previamente identificados, pertencentes ao subgrupo IIA.

Categorias	Número de pontos de coleta	Porcentagem (%)
1- Dados corretos	326	80,1
2- Equívocos	26	6,4
3- Adequações	-	
4- Inconclusivos	45	11
5- Degradados	10	2,5
6- Identificados pela primeira vez	-	
Totais	407	100

Tabela 14: Relação dos equívocos encontrados entre espécies no subgrupo IIA

Identificação prévia pela morfologia	Identificação atual pela morfologia	Identificação atual PCR-RFLP	Número de pontos de coleta com equívoco
<i>B. tenagophila</i>	<i>B. peregrina</i> (8)	<i>B. peregrina</i> (8)	8
<i>B. tenagophila</i>	<i>B. glabrata</i> (7); ? (1)	<i>B. glabrata</i> (8)	8
<i>B. peregrina</i>	<i>B. tenagophila</i> (3)	<i>B. tenagophila</i> (3)	3
<i>B. straminea</i>	<i>B. glabrata</i>	<i>B. glabrata</i>	1
<i>B. straminea</i>	<i>B. intermedia</i>	<i>B. intermedia</i>	1
<i>B. peregrina</i>	?	<i>B. straminea</i>	1
<i>B. tenagophila</i>	<i>B. straminea</i>	<i>B. straminea</i>	1
<i>B. occidentalis</i>	<i>B. tenagophila</i>	<i>B. tenagophila</i>	1
<i>B. schrammi</i>	?	<i>B. peregrina</i>	1
<i>B. amazonica</i>	?	<i>B. cousini</i>	1
Total de pontos de coleta com equívoco			26

5.1.2.2 No subgrupo IIB

Neste subgrupo (sem material criopreservado), composto de nove pontos de coleta, foi realizada a análise morfológica em pelo menos um exemplar por ponto de coleta, totalizando 14 exemplares analisados (tabela 15).

Em seis pontos de coleta os exemplares estavam sem identificação. Pela análise morfológica foi possível identificar um ponto de *B. glabrata* e um ponto de *B. tenagophila*. Os exemplares dos quatro outros pontos estavam degradados e não foi possível realizar a identificação.

Entre os três pontos de coleta identificados previamente, foi possível a confirmação morfológica em exemplares de dois pontos, e em um ponto de coleta os exemplares estavam degradados e não foi possível realizar a identificação.

Tabela 15: Resultados obtidos na análise dos pontos de coleta pertencentes ao subgrupo IIB.

Categorias	Número de pontos de coleta	Porcentagem (%)
1- Dados corretos	2	22,2
2- Equívocos	-	-
3- Adequações	-	-
4- Inconclusivos	-	-
5- Degradados	5	55,6
6- Identificados pela primeira vez	2	22,2
Totais	9	100

5.2 Análises Taxonômicas

Estavam corretas as identificações dos indivíduos oriundos de 53,9% dos pontos de coleta analisados. Os exemplares que apresentaram equívocos em sua identificação corresponderam a 3,8% dos pontos de coleta.

Em quatro pontos de coleta com *B. obstructa* e um com *B. temascalensis* foi feita adequação em decorrência destas espécies serem consideradas sinonímia júnior de *B. havanensis*, sinonímia sênior. De fato, a morfologia de *B. obstructa* e *B. temascalensis* coincidiu com a de *B. havanensis*.

Entre os 332 pontos de coleta que estavam sem identificação 211 (63,4%) receberam identificação específica, 98 (24,5%) foram para a categoria dos inconclusivos e em 23 (7,2%) pontos de coleta os exemplares estavam degradados impossibilitando a identificação.

Quanto aos exemplares da categoria inconclusivos, houve três grupos que se destacaram e estão detalhados a seguir. Posteriormente serão realizados estudos morfológicos, moleculares e de cruzamentos para esclarecer as dúvidas encontradas nestes exemplares.

5.2.1 *B. straminea* - *B.aff. straminea*

Quatro pontos de coleta oriundos da província de Corrientes (Argentina) e Espinillar (Uruguai) apresentaram caracteres morfológicos semelhantes a *B. straminea*, sendo observado acentuado enrugamento na parede vaginal. No entanto, o perfil de restrição com a enzima *Dde* I (figura 10, canaletas 3 e 4) com duas bandas (470 e 310 bp) eram semelhantes ao perfil de *B. intermedia* (figura 10, canaleta 2) e diferente dos exemplares de *B. straminea* provenientes do Brasil (figura 10, canaleta 1) que possui quatro bandas (470, 310, 280 e 120 bp).

5.2.2 *B. tenagophila* (Brasil) - *B. tenagophila* (Argentina)

Outra peculiaridade encontrada neste trabalho foi observada ao comparar os perfis obtidos pela PCR-RFLP de exemplares identificados morfológicamente como *B. tenagophila*, oriundos das províncias de Chaco e Corrientes (Argentina) com exemplares de *B. tenagophila*, do Brasil, *B. t. guaibensis* e *B. occidentalis*. O perfil com a enzima *Dde* I dos exemplares de *B. tenagophila* da Argentina (figura 10, canaletas 6 e 7) apresentou três bandas (aproximadamente 470, 200 e 118pb) semelhante ao perfil dos exemplares de *B. t. guaibensis* e *B. occidentalis* (figura 10, canaletas 8 e 9, respectivamente) e diferente do perfil dos exemplares brasileiros de *B. tenagophila* (figura 10, canaleta 5) que apresentou duas bandas (aproximadamente 800 e 470 bp). Ao utilizar a enzima de restrição *Alu* I, que é utilizada na separação da espécie *B. occidentalis* e a subespécie *B. t. guaibensis*, foi possível observar maior semelhança entre os perfis obtidos de *B. tenagophila* da Argentina (figura 10, canaletas 11 e 12) com *B. t. guaibensis* (figura 10, canaleta 13) que ao perfil da *B. tenagophila* brasileira (figura 10, canaleta 10). Não foi observada nenhuma diferença na morfologia das populações de *B. tenagophila* provenientes do Brasil e da Argentina.

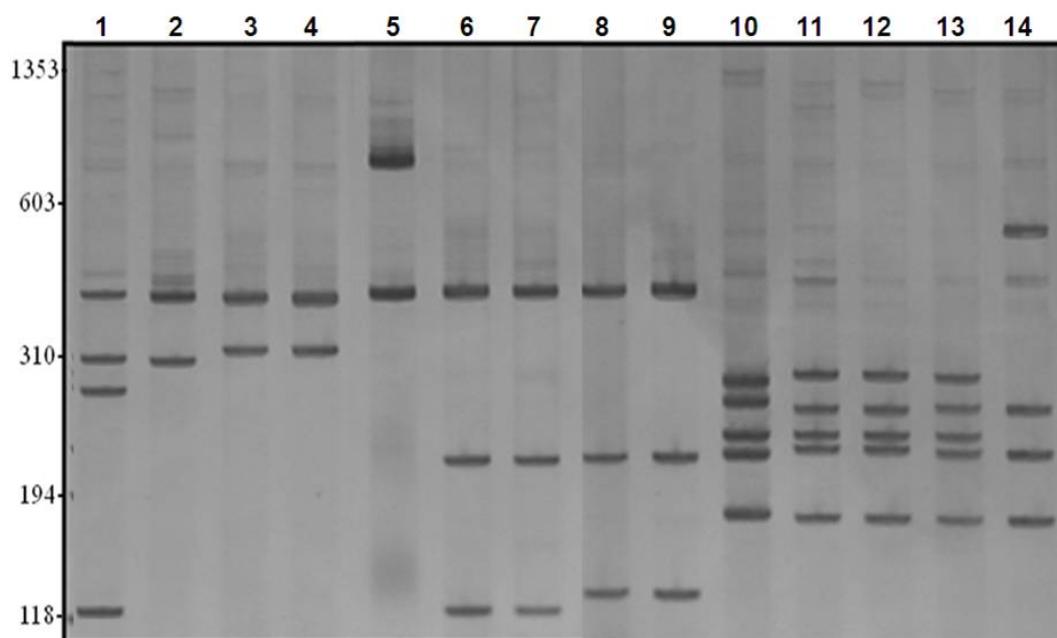


Figura 10: Gel de poliacrilamida 6% mostrando os perfis de PCR-RFLP obtidos pela digestão da região ITS do rDNA de moluscos *Biomphalaria* com *Dde* I: Canaleta 1: *B. straminea* BRA; 2: *B. intermedia*; 3: *B. straminea* ARG; 4: *B. straminea* (URU); 5: *B. tenagophila* BRA; 6-7: *B. tenagophila* ARG; 8: *B. t. guaibensis*; 9: *B. occidentalis*. Enzima *Alu* I: canaleta 10: *B. tenagophila* BRA; 11-12: *B. tenagophila* ARG; 13: *B. t. guaibensis*; 14: *B. occidentalis*. Valores a esquerda correspondem ao peso molecular.

5.2.3 *B. peregrina* - *B. oligoza*

Comparando *B. peregrina* com *B. oligoza* observa-se que os caracteres morfológicos de ambas as espécies são semelhantes, à exceção do número de divertículos prostáticos. Em *B. peregrina* tem de oito a 22 divertículos prostáticos e em *B. oligoza* de zero a sete (figura 6, L e M, respectivamente). Em virtude da dificuldade de distinção entre *B. peregrina* e *B. oligoza*, utilizando a PCR-RFLP, os exemplares denominados *B. peregrina* foram denominados, nesta dissertação como *B. peregrina/B. oligoza*. Esse fato ocorreu em 195 pontos de coleta (1034 exemplares).

Como pode ser visto na figura 5, diagrama esquemático dos perfis de PCR-RFLP das espécies brasileiras do gênero *Biomphalaria* as canaletas 8 e 9, *B. peregrina* e *B. oligoza*, respectivamente, apresentam o perfil muito semelhante. Ao comparar os perfis de PCR-RFLP, com enzima de restrição *Dde* I, de exemplares destas duas espécies do acervo da Fiocruz-CMM observou-se que não era possível separá-las (dados não mostrados). As enzimas *Hpa* II e *Mva* I também utilizadas na tentativa de separá-las não produziram resultados satisfatórios.

Os perfis de PCR-RFLP com enzima de restrição *Alu* I mostram que indivíduos identificados morfológicamente como *B. peregrina* apresentavam ora perfil desta espécie ora o perfil de *B. oligoza*. Na figura 11 são mostrados estes resultados. O exemplar utilizado como controle para *B. oligoza* (figura 11, canaleta 3) foi previamente identificado por estudos moleculares em Vidigal *et al.*, (2000b) e Spatz *et al.*, (2000), e o controle de *B. peregrina* (figura 11, canaleta 4) está depositado no GenBank com o número de acesso AF198676. As canaletas 1 e 2 apresentam o perfil de *B. oligoza*, entretanto os caracteres morfológicos são de *B. peregrina*. As canaletas 5 e 6 apresentam caracteres morfológicos de *B. peregrina* e perfil intermediário entre estas espécies.

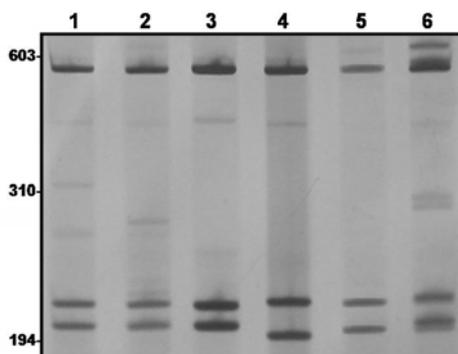


Figura 11: Gel de poliacrilamida 6% mostrando os perfis de PCR-RFLP obtidos pela digestão da região ITS do rDNA de moluscos *Biomphalaria* com *Alu*I: Canaleta 3: controle de *B. oligoza*; canaleta 4: controle de *B. peregrina*; 1-2: morfologia de *B. peregrina* e perfil de *B. oligoza*; 5-6: morfologia de *B. peregrina* e perfil intermediário entre estas espécies. Valores a esquerda correspondem ao peso molecular.

Em decorrência foi experimentado a amplificação da região Citocromo Oxidase subunidade I (COI) do DNA mitocondrial e restringir com algumas enzimas (*Cla* I, *Rsa*I e *Alu* I) para tentar a separação taxonômica. As enzimas *Cla* I e *Rsa*I não encontraram sítios de restrição nestas espécies (dados não mostrados). Por outro lado, a enzima *Alu* I gerou perfis distintos para os controles da espécie *B. peregrina* (figura 12, canaletas 1 e 2), com bandas de aproximadamente 860, 400 e 280 pb, e de *B. oligoza* (figura 12, canaletas 3, 4 e 5), com bandas de aproximadamente 280, 250 e 130pb. As canaletas 6 a 11 foram identificadas morfológicamente como *B. peregrina*, mostraram o mesmo perfil de *B. oligoza*.

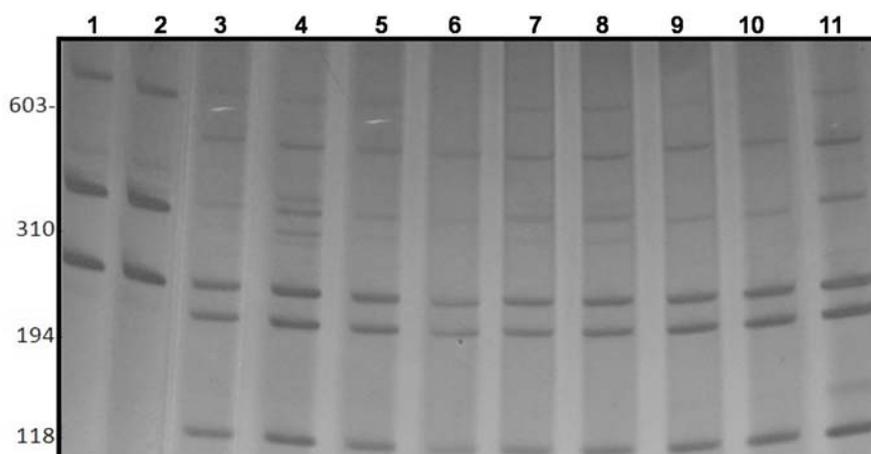


Figura 12: Gel de poliacrilamida 6% mostrando os perfis de PCR-RFLP obtidos pela digestão da região COI do DNA mitocondrial com *Alu* I: Canaleta 1- controle de *B. peregrina*; 2: morfologia e perfil de *B. peregrina*; 3: controle de *B. oligoza*; 4-5: morfologia e perfil de *B. oligoza*; 6-11: morfologia de *B. peregrina* e perfil de *B. oligoza*. Valores à esquerda correspondem ao peso molecular.

5.3 Atualização do Banco de dados

Os exemplares confirmados, retificados, adequados ou identificados neste trabalho tiveram os seus dados atualizados nos Livros de Registro de Recebimento de Moluscos e Livro de Tombo. Os exemplares da categoria inconclusiva receberam temporariamente a denominação de *B. aff. straminea*, *B. tenagophila* (localidade Argentina) e *B. peregrina/B. oligoza* até realização de novos estudos.

Todos os registros taxonômicos e demais dados citados foram atualizados no CRIA através do programa *Species Base*. Estes dados estão disponíveis para consulta na rede mundial de computadores (World Wide Web) pelo endereço <http://splink.cria.org.br>.

A Coleção de Malacologia Médica do Laboratório de helmintologia e Malacologia (Fiocruz-CMM) é uma coleção estratégica uma vez que o seu acervo é constituído de grupos taxonômicos de importância médico/veterinária, os gêneros *Biomphalaria* e *Lymnaea*. Este acervo subsidia pesquisas, auxiliam na formação de recursos humanos, e seu banco de dados é utilizado pelo PCE no planejamento de programas para o controle da esquistossomose.

Diante da mobilização mundial de consolidação, institucionalização e organização de coleções que vem ocorrendo nos últimos 20 anos, Godfray & Knapp (2004) e Egler & Santos (2006) defendem a realização de estudos que visem à qualificação taxonômica dos acervos com redução do número de exemplares não identificados e aumento da confiabilidade das identificações através da incorporação de técnicas avançadas de taxonomia e sistemática. Assim, esta dissertação tem como objetivo o conhecimento do estado da arte da Fiocruz-CMM, uma vez que esta é uma das 26 coleções biológicas institucionais reconhecidas pela Fiocruz, na portaria 526/2011 (portaria 4). Esta coleção tem a peculiaridade de ser pioneira, entre as coleções zoológicas da Fiocruz, a possuir *backup* genético. Por outro lado a identificação específica dos exemplares não havia sido revista desde o início da coleção.

Inicialmente foi conferida a situação do acervo Fiocruz-CMM. Constatou-se que existiam 7.778 exemplares depositados, pertencentes a 16 espécies e uma subespécie do gênero *Biomphalaria*, oriundos de 1.195 pontos de coleta de diferentes regiões geográficas. Exemplares de 332 (27,8%) pontos de coleta estavam sem identificação específica. Para facilitar o estudo os exemplares do acervo foram divididos em dois grupos.

O grupo I, com moluscos depositados na Fiocruz-CMM de 1993 até 2002. Neste período, os moluscos eram utilizados principalmente em pesquisa e, identificados por estudantes de pós graduação com experiência em taxonomia morfológica do gênero *Biomphalaria*. Algumas dessas pesquisas foram em colaboração com pesquisadores de diferentes países da América Latina (Argentina, Venezuela, Colômbia e Cuba), ocasião na qual a coleção foi agraciada com exemplares destes países. Associado a isto, a colaboração do renomado malacólogo, Dr. Lobato Paraense (Instituto Oswaldo Cruz-Fiocruz/RJ) contribuiu diversas vezes na formação de pessoal e no esclarecimento de dúvidas taxonômicas. Isto está refletido nos resultados dessa dissertação, uma vez que a taxa de equívocos foi de 2,1%, inferior ao do grupo II, e a taxa de exemplares colocados na categoria inconclusivos foi de 25,5%, onde se encontram as espécies de outros países, cuja morfologia é desconhecida ou pouco estudada.

No grupo II foram alocados moluscos depositados entre os anos de 2003-2009. Em 2003 o LHMM foi reconhecido como Referência Nacional em Esquistossomose executando

as atividades de exame e identificação de moluscos do gênero *Biomphalaria*, dessa forma o laboratório passou a receber exemplares de diferentes regiões, aumentando a quantidade e o nível de dificuldade das identificações. Concomitantemente, vários técnicos trabalharam no LHMM, sendo que somente a partir do concurso público da Fiocruz de 2006 foi obtida vaga para tecnólogo, possibilitando a formação e capacitação de recursos humanos. Dois outros fatos marcaram este período no LHMM. Primeiro, a reforma do LHMM, entre março/2007 até maio/2008, reduzindo consideravelmente as atividades de referência, pois o local provisório não comportava a demanda das atividades. Segundo, a convocação do LHMM pelo MS, em 2006, para investigação de um novo agravo no Brasil, a meningoencefalite eosinofílica, em um acúmulo de funções dos técnicos e pesquisadores. Esses motivos podem justificar parte dos equívocos (5,6%) encontrados nas identificações dos exemplares do grupo II, bem como a taxa de material degradado (5,4%). No entanto, a taxa de dados corretos (70,7%) foi superior ao do grupo I (41,8%), fato que, sem dúvida, pode ser atribuído a utilização das ferramentas moleculares na identificação dos moluscos.

No entanto, é importante lembrar que a correta identificação dos moluscos do gênero *Biomphalaria*, utilizando caracteres morfológicos, algumas vezes apresenta dificuldades, tais como: tamanho dos moluscos, similaridade entre os caracteres morfológicos, falta de profissionais capacitados, processo de fixação inadequado, etc (Paraense, 1988 e Paraense *et al.*, 1992). Desta forma, a utilização da identificação molecular, que não sugere o desprezo pelos dados morfológicos, tem sido utilizada como uma ferramenta auxiliar em determinadas situações, nas quais os caracteres morfológicos não são evidentes (Spatz *et al.*, 1999; Vidigal *et al.*, 2000a; Caldeira *et al.*, 2000 e Carvalho *et al.*, 2004).

Estudos que incorporam os dois tipos de análise podem gerar dados que permitem uma melhor interpretação e compreensão da diversidade biológica dos organismos em estudo. Entretanto, é importante reconhecer que cada método tem suas vantagens e desvantagens (Moritz e Hillis, 1996). De fato, Paraense (2003) enfatiza que tanto a taxonomia morfológica quanto a molecular, desde que corretamente aplicadas, atinge satisfatoriamente o mesmo objetivo. Assim, a utilização, quando possível, de ambas as ferramentas neste trabalho foi uma estratégia importante para a melhoria das identificações específicas. Esta avaliação e retificação resultaram na revisão de exemplares oriundos de 1.084 pontos de coletas, constituindo em 90,1% do total de pontos de coleta da Fiocruz-CMM. Destes, 54,1% pontos de coletas possuíam exemplares identificados corretamente, 3,6% apresentaram equívocos e tiveram a identificação de seus exemplares retificada, 0,5% possuíam exemplares em

sinonímia e foram adequados; 18,9% possuíam exemplares com identificação inconclusiva, 3,4% possuíam exemplares degradados e 19,5% receberam a primeira identificação (tabela 3).

Os equívocos ocorreram entre: *B. peregrina* e *B. tenagophila* (35,8%), provavelmente em decorrência da semelhança dos caracteres dos órgãos reprodutores, sendo as principais diferenças: 1) os primeiros divertículos prostáticos de *B. peregrina* recobrir a espermateca e 2) a proporção da bainha do pênis em relação ao prepúcio ser maior nesta espécie que em *B. tenagophila*. *Biomphalaria tenagophila* e *B. glabrata* (20,5%), que são frequentemente confundidas quando *B. glabrata* é jovem, uma vez que a maioria dos caracteres conclusivos é idêntica nesta fase e não se evidencia a presença de crista pigmentada no tubo renal, caracter crucial na diferenciação das duas. *Biomphalaria tenagophila* e *B. occidentalis* (7,7%), espécies semelhantes morfologicamente e por isso, agrupadas no complexo denominado *B. tenagophila* (Spatz *et al.*, 1999); estas espécies são separadas apenas pela presença da bolsa vaginal em *B. tenagophila*, ausente em *B. occidentalis* (Paraense, 1981). *Biomphalaria peregrina* e *B. intermedia* (5,2%), provavelmente devido aos caracteres que originaram o nome da espécie *B. intermedia* (latim: *intermedius*) em referência às espécies *B. straminea* e *B. peregrina*; sendo que *B. intermedia* apresenta parede vaginal lisa ou expandida em bolsa semelhante à de *B. peregrina* (Paraense, 1975a). *Biomphalaria intermedia* e *B. straminea* (5,2%), espécies morfologicamente semelhantes, agrupadas no complexo denominado *B. straminea* (Paraense, 1988). *Biomphalaria amazonica* e *B. cousini* (5,1%), devido a grande semelhança morfológica destas duas espécies, sendo a principal característica distintiva a presença de uma bolsa arredondada e bem desenvolvida em *B. amazonica* e digitiforme e pequena em *B. cousini* (Paraense 1966 a). Em *B. straminea* e *B. occidentalis* (2,6%), *B. straminea* e *B. oligoza* (2,6%), *B. prona* e *B. kuhniiana* (2,6%), provavelmente devido ao reduzido tamanho dos exemplares o que dificulta a distinção das espécies. *Biomphalaria tenagophila* e *B. t. guaibensis* (2,6%), espécies semelhantes morfologicamente, agrupadas no complexo *B. tenagophila* (Spatz *et al.*, 1999). *B. straminea* e *B. glabrata* (2,6%), *B. tenagophila* e *B. straminea* (2,6%), e *B. peregrina* e *B. schrammi* (2,6%), e *B. peregrina* e *B. straminea* (2,6%), provavelmente, devido ao tamanho reduzido dos exemplares ou processo de fixação inadequado.

Na categoria adequação foram colocadas as espécies *B. temascalensis* e *B. obstructa*, sinonímias junior, que tiveram sua classificação adequada para *B. havanensis*, sinonímia sênior. Yong *et al.*, (2001), através de estudos genéticos e análises nos caracteres das conchas e dos órgãos genitais, concluíram que estas três espécies eram, na verdade, uma única espécie. Jarne *et al.* (2011) fizeram a mesma afirmação baseados em estudos filogenéticos realizados

por DeJong (2001), que utilizaram seqüências nucleotídicas combinadas das regiões 16S do DNAm; ITS1 e ITS2 do rDNA.

Na categoria inconclusiva ficaram três grupos: a) *B. aff. straminea*, b) *B. tenagophila* oriundas da Argentina e c) *B. peregrina*. Paraense & Correa (1989) classificaram uma população proveniente de Espinillar (Uruguai) como *B. aff. straminea* em virtude da similaridade com *B. straminea*. Entretanto, afirmaram existir certo grau de divergência morfológica e genética entre a *B. aff. straminea* e *B. straminea* típica. Demonstraram ainda que 23% dos exemplares da população do Uruguai infectaram-se com a cepa SJ₂ de *S. mansoni*, enquanto a *B. straminea* típica apresentava taxa de infecção experimental menor que 4% (Barbosa e Figueiredo, 1970). Vidigal *et al.*, (1998a) estudando populações de *B. straminea* oriundas de San Miguel (Argentina) e das províncias de Chaco e Corrientes (Argentina) obtiveram perfis moleculares com duas bandas (470 e 310 bp). Enquanto as populações brasileiras estudadas apresentaram o perfil de quatro bandas (470, 310, 280 e 120 bp). Nesta dissertação, moluscos provenientes de Corrientes (Argentina) e Espinillar (Uruguai) apresentaram o mesmo perfil observado por Vidigal *et al.*, (1998a), isto é, duas bandas (470 e 310 bp) e morfologia similar a *B. straminea* típica. Estudos morfológicos e moleculares serão realizados com exemplares de *B. aff. straminea* para estabelecer as relações filogenética dessa população com a *B. straminea* típica, uma vez que esta espécie apresenta importância epidemiológica, no Nordeste do Brasil, como hospedeira do *S. mansoni*.

Exemplares identificados morfológicamente como *B. tenagophila*, provenientes da Argentina, apresentaram perfil com três bandas, igual ao reportado por Vidigal *et al.*(1998a) e Vidigal *et al.*(1998b) ao estudar populações de *B. tenagophila* das províncias de Chaco e Corrientes (Argentina), também morfológicamente identificadas como *B. tenagophila*. Entretanto, o perfil estabelecido para esta espécie, e até o momento utilizado pelo LHMM, possui duas bandas (Vidigal *et al.*, 2000 a). Spatz *et al.* (1998 e 1999), ao elaborarem dendograma utilizando exemplares brasileiros e argentinos de *B. tenagophila*, *B. occidentalis* e *B. t. guaibensis*, observaram maior similaridade entre exemplares de *B. tenagophila* argentinos com *B. occidentalis* e *B. t. guaibensis*, do que com exemplares de *B. tenagophila* brasileiros. Estes dados são apoiados por Vidigal *et al.* (2004) que observaram ainda que exemplares de *B. tenagophila* brasileiros e paraguaios estavam fortemente relacionados, o que não ocorreu entre estas populações com exemplares da Argentina. Considerando que Paraense (1961b) não observou diferenças morfológicas entre as populações provenientes de Corrientes (Argentina) e brasileiras, e ainda realizou cruzamentos entre estas duas populações, confirmando os critérios de coespecificidade; que a província de Corrientes é a localidade tipo

de *B. tenagophila* (Paraense & Deslandes, 1955 e 1975a); e que a espécie *B. tenagophila* é uma importante hospedeira intermediária do *S. mansoni* no Brasil, sugere-se que outros estudos sejam realizados para esclarecer a relação entre estas populações.

Os resultados moleculares encontrados para a espécie identificada morfologicamente como *B. peregrina* demonstraram variação nos perfis obtidos pela PCR-RFLP, tanto quando amplificou-se a região ITS do rDNA quanto à COI do DNAm. De fato, estes moluscos apresentaram tanto o perfil de *B. peregrina* quanto o de *B. oligoza*. Vidigal *et al.* (2000a) observaram similaridade entre estas espécies, mas afirmaram que é possível separá-las utilizando a PCR-RFLP com as enzimas *AluI* e *HpaII*. Spatz *et al.*, (2000) utilizaram com sucesso a enzima *MvaII* para separação destas duas espécies. Entretanto, nesta dissertação não foi possível esta diferenciação molecular para as espécies morfologicamente identificadas como *B. peregrina*, uma vez que a clivagem com a enzima *AluI* gerou três perfis, sendo um igual ao controle de *B. peregrina*, outro igual ao controle de *B. oligoza* e um terceiro com bandas em posições intermediárias aos outros dois perfis, como mostrado na figura 11. As enzimas *HpaII* e *MvaII* demonstraram diversos perfis para as duas espécies, impossibilitando uma análise dos mesmos. A separação morfológica de exemplares de *B. peregrina* e *B. oligoza* é realizada, principalmente, através da diferença entre o número de divertículos prostático que varia de zero a seis, raramente sete, em *B. oligoza* (Paraense 1974, 1975a) e 8 a 22 em *B. peregrina* (Paraense 1966 b, 1975a) (figura 6, L e M). De fato, *B. oligoza* recebeu este nome devido ao pequeno número de divertículos prostáticos (do grego *oligozos*: que tem poucos ramos). Entretanto os exemplares, analisados nesta dissertação, com perfil de bandas de *B. oligoza* apresentavam de 10 a 18 divertículos. Vidigal *et al.* (2000b) observaram que o posicionamento filogenético entre estas duas espécies é incerto uma vez que exemplares de *B. oligoza*, de diferentes regiões, sempre se agrupam, mas diferentes populações de *B. peregrina* eventualmente não se agrupam, agrupando-se com exemplares de *B. oligoza*. Levanta-se o questionamento se os divertículos são caracteres relevantes para separação destas espécies e dos exemplares aqui citados serem extremos da espécie *B. oligoza* ou que haja uma sobreposição de caracteres morfológicos entre *B. peregrina* e *B. oligoza*. Sugerem-se estudos mais detalhados entre estas espécies para esclarecer esta questão.

Outro fato a ser considerado é a degradação de exemplares do acervo, em alguns pontos de coleta, impossibilitando sua identificação. Isto pode ter ocorrido porque somente a partir de 2008 foram alocados recursos humanos para a manutenção da coleção. A constatação de exemplares degradados no acervo da Fiocruz-CMM demonstra a importância da manutenção periódica, com a realização da troca de algodão, quando houver a presença de

fungos e reposição do fixador Raillet-Henry, líquido volátil responsável por fixar e conservar o corpo dos moluscos. Assim, neste trabalho, foram observados exemplares com corpo e/ou concha degradados, impossibilitando a identificação dos mesmos, através das técnicas utilizadas neste trabalho. No entanto, estes exemplares foram mantidos na coleção para futuros estudos, uma vez que o LHMM detém técnica molecular capaz de realizar identificações moleculares a partir de conchas de exemplares de *Biomphalaria* depositados no acervo da Fiocruz-CMM por cerca de 10 anos (Caldeira *et al.* 2004) ou novas técnicas poderão surgir possibilitando a identificação dos mesmos. Eventualmente, o material criopreservado também encontrava-se degradado, impossibilitando a amplificação da região ITS do rDNA e, conseqüentemente, realização da PCR-RFLP. Acredita-se que os mesmos já tenham chegado ao LHMM em estado de decomposição e por isso, impróprio para estudos moleculares. Infelizmente, os componentes de acervos biológicos, uma vez deteriorados, são de difícil recuperação, dessa forma as instituições detentoras de coleções devem ser estimuladas a fornecer suporte às coleções que estão sob sua guarda. A contratação de corpo técnico qualificado, designado para realizar a manutenção adequada e digitalização do acervo e dar suporte às questões de informática, evita a perda do material depositado e da informação associada. Egler & Santos (2006) afirmam ainda que, coleções bem estruturadas têm mais oportunidades de realizar permuta de exemplares e de promover o crescimento do acervo, bem como maior acesso a recursos nas agências de fomento.

De fato, a Fiocruz-CMM foi uma das convidadas para participar da rede *Brazilian Barcode of Life*, ou BrBol, financiada pelo CNPq. Essa rede é uma associação entre diversas instituições nacionais de ensino e pesquisa com a missão de catalogar a biodiversidade brasileira, a partir dos dados morfológicos e da seqüência nucleotídica de parte do gene citocromo subunidade I (COI) do DNA mitocondrial. A rede foi organizada em dez frentes de trabalho, dentre as quais se destaca a de “Parasitas e Vetores”, a cargo da Fiocruz. O principal critério para participação desta rede foi que os exemplares estivessem depositados em coleções reconhecidas e com curadores especialistas no táxon. Os dados gerados serão disponibilizados em banco de dados de acesso gratuito para o mundo todo.

A disseminação de dados dos acervos na Internet é amplamente defendida (Egler & Santos, (2006) e Marinoni & Peixoto (2010). Egler & Santos (2006) afirmam que dados resultantes de pesquisas financiadas com recursos públicos são bens públicos e que informações sobre espécies e espécimes biológicos são bens públicos globais, críticos para a compreensão da biodiversidade em seu sentido mais amplo. Marinoni & Peixoto (2010) defendem que estas informações são imprescindíveis para, por exemplo, o estabelecimento de

áreas com biota pouco conhecida, de áreas prioritárias para pesquisa e conservação, de grupos taxonômicos pouco estudados, dentre outras funções. Os dados do acervo da Fiocruz-CMM, que já eram utilizados pela PCE, passaram a ser acessível a toda comunidade interessada devido à parceria com o CRIA que, desde 2002, vem desenvolvendo estratégias para a disseminação de informações biológicas na rede mundial de computadores (Egler & Santos, 2006). O CRIA desenvolveu o projeto *SpeciesLink*, um sistema de informação criado para realizar a recuperação de dados de acervos de coleções biológicas e possibilitar a capacidade de gerenciamento dos dados publicados através de uma série de ferramentas para visualização das informações, como mapas e gráficos (Egler & Santos). Atualmente, 18 coleções da Fiocruz possuem os dados do seu acervo disponíveis (<http://www.splink.org.br/>) através deste sistema.

Os resultados apresentados neste trabalho confirmam a importância da utilização de mais de uma técnica na confirmação taxonômica de seu acervo e da necessidade de se garantir uma boa preservação dos exemplares. É relevante ressaltar, que a consolidação desta coleção, juntamente com a possibilidade de realização deste trabalho, só foi possível após financiamento junto a Fapemig e a Fiocruz, confirmando a necessidade de incentivos para o fortalecimento as coleções.

7 CONCLUSÕES

- O acervo da Coleção de Malacologia Médica (Fiocruz-CMM) é composto por 7.778 representantes das espécies: *Biomphalaria amazonica*; *B. cousini*, *B. edisoni*, *B. glabrata*, *B. intermedia*, *B. kuhniana*, *B. occidentalis*, *B. oligoza*, *B. orbignyi*, *B. peregrina*, *B. prona*, *B. schrammi*, *B. straminea*, *B. tenagophila* e *B. havanensis* e subespécie *B. t. guaibensis*.
- Em 54,1% dos pontos de coleta as identificações dos exemplares estavam corretas.
- Foram retificadas as nomenclaturas dos exemplares de 3,6% dos pontos de coleta, referente a equívocos na identificação.
- Os exemplares de moluscos previamente identificados como *B. temascalensis* e *B. obstructa* foram adequados para *B. havanensis*, em 0,5% dos pontos de coleta.
- Em 18,9% dos pontos de coleta as identificações dos exemplares foram inconclusivas
- Em 3,4% dos pontos de coleta os exemplares estavam degradados impossibilitando a identificação.
- Em 19,5% dos pontos de coleta os exemplares foram identificados pela primeira vez.
- A utilização da morfologia e de técnicas moleculares, na identificação específica do grupo *Biomphalaria*, resultou em uma taxonomia mais confiável, enfatizando a importância de ambas as técnicas na identificação deste grupo.

8.1 Anexo 1: Institucionalização

Prezado Diretor (a)

Em outubro de 2007 foi criado o Fórum Permanente de Coleções Biológicas da Fiocruz, vinculado à Vice-Presidência de Serviço de Referência e Ambiente (VPSRA). O Fórum é composto por representantes de cada unidade Técnico-científica que possui coleção biológica, considerando as indicações dos Diretores das Unidades. Ao grupo formado ficou a responsabilidade de discutir e preparar um documento que fosse norteador das políticas institucionais relacionadas ao desenvolvimento das Coleções Biológicas da Fiocruz (“Documento institucional para o desenvolvimento de política de coleções biológicas na Fundação Oswaldo Cruz”). A partir destas discussões decidiu-se realizar o levantamento da situação atual das Coleções Biológicas da Fiocruz, através de visitas e aplicação de um questionário detalhado que permite o diagnóstico de cada uma destas coleções. Assim, entramos em contato com os Senhores Diretores das Unidades da Fiocruz, solicitando a indicação das Coleções Biológicas existentes em suas Unidades e seus respectivos curadores, para que estes fossem contatados e então uma visita fosse agendada. As visitas foram realizadas e o questionário foi aplicado em cada coleção, visando diagnosticar a situação real de cada coleção visitada.

O Fórum definiu critérios mínimos para a institucionalização de uma coleção biológica na Fiocruz, sendo estes:

- Se a coleção está em atividade;
- Se possui curadoria;
- Se realiza registro de procedimentos e guarda de documentação.
- Se possui RH e infra-estrutura mínima.

Os critérios acima considerados e a análise cuidadosa de todos os questionários aplicados pelos membros do Fórum, permitiu identificar as coleções que reúnem as condições necessárias para que sejam institucionalizadas, assim como aquelas que, no momento, não apresentam tais condições (o grupo indica fortemente que estas coleções sejam apoiadas pela Unidade para então serem inseridas no processo de institucionalização),

embora todas as coleções visitadas revelem um grande valor científico.

A relação das coleções de sua Unidade, assim como a situação quanto à institucionalização das mesmas, está colocada abaixo.

O fórum está organizando um curso de capacitação de curadores e todos os que estejam vinculados às coleções ora institucionalizadas serão convidados a participarem desta capacitação.

A próxima etapa se refere à Informatização das coleções, adequando a qualidade e quantidade de informações agregadas ao acervo. Pretendemos interligar todas as coleções biológicas da Fiocruz de forma virtual. Desta forma, a Fiocruz apresentará dentro de sua estrutura diversas coleções organizadas da seguinte forma:

A. Coleções Microbiológicas

I. Coleções de Bactérias

II. Coleções de Fungos

III. Coleções de Protozoários

IV. Coleções de Vírus

B. Coleções Zoológicas

I. Coleções Entomológicas

II. Coleções Malacológicas

III. Coleções Helmintológicas

C. Coleções Histopatológicas

Esta estrutura foi utilizada para organizar todas as coleções avaliadas e abaixo encontra-se a estrutura para sua Unidade.

Direção do Instituto Oswaldo Cruz

A. Coleções Microbiológicas

I. Coleções de Bactérias

1. Coleção de Culturas do Gênero *Bacillus* e Gêneros Correlatos – CCGB;
2. Coleção de Culturas de Bactérias – sugere-se uma mudança do nome, considerando a estrutura proposta para a Unidade e o acervo em questão. Como sugestão: Coleção de Culturas de Enterobactérias;
3. Coleção de Bactérias da Mata Atlântica (esta coleção não apresenta todos os critérios utilizados para o reconhecimento institucional. No entanto, hoje ela compõe o projeto FINEP/FAPERJ sobre a biodiversidade da Mata Atlântica. Considerando os objetivos deste projeto, esta Coleção foi considerada como relevante para compor o CRB Fiocruz, no Domínio Meio Ambiente. Portanto, o grupo sugere fortemente que esta Coleção seja apoiada pela Unidade, visto que esta já contará com o apoio financeiro da FINEP pelo projeto CRB Fiocruz).

II. Coleções de Fungos

1. Coleção de Culturas de Fungos do Instituto Oswaldo Cruz – CCF/IOC;
2. Coleção Micológica do Departamento de Biologia – sugere-se uma mudança do nome. O grupo não apresentou nenhuma sugestão.

III. Coleções de Protozoários

1. Coleção de *Trypanosoma* de Mamíferos – CTM/IOC - sugere-se uma mudança do nome. Como sugestão: Coleção de *Trypanosoma* de Animais Silvestres ou outro nome que englobe outras classes de animais que podem estar representadas pela coleção;
2. Coleção de Leishmania do Instituto Oswaldo Cruz, CLIOC;
3. Coleção de Protozoários Ambientais (o grupo sugere fortemente que a Unidade apóie a estruturação desta coleção. No entanto, por não preencher os critérios definidos acima, esta não está sendo reconhecida institucionalmente no momento);
4. Coleção de Tripanosomatídeos do IOC – CT-IOC (embora aparentemente esta coleção preencha todos os critérios considerados na avaliação, a

falta de interlocução com a curadoria e a pouca atividade da coleção, impede que esta coleção seja reconhecida institucionalmente neste momento. O grupo sugere que a Unidade tome providências com relação ao credenciamento desta coleção já realizado pela Unidade).

B. Coleções Zoológicas

I. Coleções Entomológicas

1. Coleção Entomológica do Instituto Oswaldo Cruz, CEIOC;
2. Coleção de Triatomíneos;
3. Coleção de Simulídeos do Laboratório de Simulídeos e Oncocercose do IOC – LSO;
4. Coleção de Culicídeos do Laboratório de Transmissores de Hematozoários;
5. Coleção de Artrópodes Vetores Ápteros de Importância na Saúde de Comunidades;
6. Coleção de Ceratopogonidae do Instituto Oswaldo Cruz;
7. Coleção de Culicidae do Laboratório de Díptera;

(As coleções acima listadas – de 2 a 6 – constituem parte do acervo da Coleção Entomológica do IOC. Estas podem ser reconhecidas e possuir curadoria própria, mas devem estar formalmente vinculadas à Coleção Entomológica e, desta forma, utilizar o mesmo banco de dados, formulários, etc. Os recursos devem ser divididos seguindo os critérios estabelecidos pela Unidade. O Curador da Coleção de Culicidae do Laboratório de Díptera informou que deseja transferir formalmente esta coleção para a Coleção Entomológica; o grupo sugere que a Unidade providencie esta transferência).

II. Coleções Malacológicas

1. Coleção Malacológica do Instituto Oswaldo Cruz - CMIOC.

III. Coleções Helmintológicas

1. Coleção Helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz - CHIOC.

C. Coleções Histopatológicas

1. Coleção de Febre Amarela – sugere-se a mudança do nome para melhor definir o acervo (esta coleção não preenche os critérios utilizados na avaliação. No entanto, o fato desta ser a única coleção histopatológica da Fiocruz justifica seu reconhecimento institucional. O grupo sugere que esta coleção assuma o compromisso de disseminar a experiência na estruturação de uma coleção desta natureza).

Outras Coleções Biológicas Avaliadas

1. Coleção de Células de Mamíferos Humanos e não Humanos (embora esta coleção também seja a única atuando na área específica de cultura de células dentro da Unidade, esta não preenche os critérios para o seu reconhecimento institucional. O ponto crítico para esta coleção, no momento, é a falta de metodologias aplicadas para a autenticação e certificação do material, o que impede o exercício das atividades de coleção. Além disso, o acervo, embora relevante, é bastante reduzido. O grupo reconhece a importância de uma coleção desta natureza dentro da Unidade e indica que esta deve receber apoio da Unidade para um futuro reconhecimento);
2. Coleção de Cirripédios Lacombe (esta coleção deve ser apoiada pelo IOC em suas necessidades imediatas de vidraria e álcool. Posteriormente deve ser analisada a manutenção da referida coleção no IOC, ou sua cessão à Coleção de Carcinologia do Museu Nacional. O grupo destaca que esta coleção não se relaciona com a missão da instituição e não tem nenhuma inserção dentro de atividades de saúde pública).

Direção Instituto René Rachou

A. Coleções Microbiológicas

I. Coleções de Protozoários

1. Coleção de Tripanosomas “Zigman Brener” (esta coleção não preenche os critérios estabelecidos para o reconhecimento institucional. O grupo destaca a importância do acervo e indica fortemente que a Unidade deve apoiar a manutenção e estruturação desta coleção para um futuro reconhecimento).

B. Coleções Zoológicas

I. Coleções Entomológicas

1. Coleção de Flebotomíneos do Instituto René Rachou;
2. Coleção de Culicídeos do Centro de Pesquisa René Rachou (esta coleção não preenche os critérios estabelecidos para o reconhecimento institucional. O grupo sugere fortemente que a direção da Unidade discuta a possibilidade de transferência desta coleção para a Coleção Entomológica do IOC, visando otimizar recursos financeiros e recursos humanos. Caso exista interesse da Unidade em realizar qualquer tipo de trabalho com esta coleção, esta pode ser requisita à Coleção para qual for transferida ou ser transferida quando os trabalhos forem concluídos);
3. Insetário do Laboratório de Referência de Triatomíneos e Epidemiologia da Doença de Chagas - sugere-se mudança do nome para um outro que esteja relacionado à atividade de Coleção.

II. Coleções Malacológicas

1. Coleção de Malacológica do Centro de Pesquisas René Rachou.

Direção Aggeu Magalhães

A. Coleções Microbiológicas

I. Coleções de Bactérias

1. Coleção de Culturas de *Yersinia* spp.;
2. Coleção de Micobactérias de Pernambuco e do Nordeste do Brasil (esta coleção não preenche os critérios estabelecidos para o reconhecimento institucional. O grupo destaca a importância do acervo e indica que a Unidade deve apoiar a manutenção e estruturação desta coleção para um futuro reconhecimento);
3. Coleção de Bactérias NB2 do CpqAM.

II. Coleções de Protozoários

1. Coleção de *Leishmania* do Estado de Pernambuco, Nordeste Brasileiro (esta coleção não preenche os critérios estabelecidos para o reconhecimento institucional. O ponto crítico para esta coleção, no momento, é a falta de metodologias aplicadas para a autenticação e certificação do material, o que impede o exercício das atividades de coleção).

III. Coleções de Vírus

1. Banco de Vírus do LAVITE do CpqAM.

B. Coleções Zoológicas

I. Coleções Helmintológicas

1. Coleção do Laboratório de Esquistossomose do CpqAM.

Direção Instituto Gonçalo Moniz

A. Coleções Microbiológicas

I. Coleções de Protozoários

1. Coleção de Protozoários do CPqGM.

II. Coleções de Vírus

1. Coleção de Flavivírus do CPqGM (o representante da Unidade declarou que esta coleção, embora tenha preenchido o questionário de avaliação, não pode atuar como uma Coleção formal).

B. Coleções Zoológicas

I. Coleções Entomológicas

1. Coleção Entomológica Dr Italo Sherlock (o representante da Unidade declarou que a direção da Unidade tem interesse em transferi-lá para a Coleção Entomológica do IOC. O grupo sugere que a direção do IGM entre em contato com a curadoria da coleção do IOC para formalizar a transferência).

Direção Instituto Leônidas e Maria Deane

A. Coleções Microbiológicas

1. Coleção Biológica do Instituto Leonidas e Maria Deane – sugere-se, seguindo a estrutura que o grupo construiu para as Coleções Biológicas da Fiocruz, que esta coleção seja separada em coleção de bactérias e coleção de fungos. Portanto, a mudança do nome é essencial.

Direção Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

A. Coleções Microbiológicas

1. Coleção de Microorganismos de Referência do INCQS - sugere-se, seguindo a estrutura que o grupo construiu para as Coleções Biológicas da Fiocruz, que esta coleção seja separada em coleção de bactérias e coleção de fungos. Portanto, a mudança do nome é essencial. É importante que o nome reflita o escopo da Coleção; portanto, sugerimos que o nome indique o acervo (fungos e bactérias) que compõe a coleção e caracterize o tipo de serviço de referência prestado.

Direção Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas

A. Coleções Microbiológicas

I. Coleções de Fungos

1. Coleção de Fungos Patogênicos.

II. Coleções de Protozoários

1. Coleção de Tripanosomas do IPEC (esta coleção não preenche os critérios estabelecidos para o reconhecimento institucional. O ponto crítico para esta coleção, no momento, é que esta não atua como coleção de serviços, apenas preserva material coletado pelo próprio grupo, não recebendo depósitos e não fornecendo material).

8.2 Anexo 2: Portaria da Presidência 327/2010



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

Número
327/2010-PR

Folha 1 De 2

Entrada em Vigor

Portaria da Presidência

O Presidente da Fundação Oswaldo Cruz, no Uso de suas atribuições e da competência que lhe foi delegada pela Portaria do MS/nº 938, de 22.07.99,

RESOLVE:

1.0 - PROPÓSITO

Definição dos critérios para o reconhecimento institucional das coleções biológicas da Fiocruz e aprovar o Manual de Organização de Coleções Biológicas da Fiocruz.

2.0 - OBJETIVO

Definir os critérios para o reconhecimento institucional das coleções biológicas da Fiocruz.

3.0 - REQUISITOS

As coleções biológicas, para serem reconhecidas institucionalmente, devem estar em consonância com as disposições contidas no Manual de Organização de Coleções Biológicas da Fiocruz, elaborado pela Câmara Técnica de Coleções Biológicas (CTCol) da Fiocruz e disponível na página eletrônica da Vice-Presidência de Pesquisa e Laboratórios de Referência (VPPLR).

4.0 - PROCEDIMENTOS

A solicitação de reconhecimento institucional de uma coleção biológica deverá ser encaminhada pela direção da Unidade à CTCol.

A CTCol examinará a proposta, verificará a pertinência, relevância e a consonância com o Manual de Organização de Coleções Biológicas da Fiocruz e emitirá parecer para assessorar a decisão quanto ao reconhecimento ou não pela Vice-Presidência de Pesquisa e Laboratórios de Referência.

Cancela

Altera

Distribuição

Data

Geral

22/07/2010

* CONFERE COM O ORIGINAL.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

Número 327/2010-PR

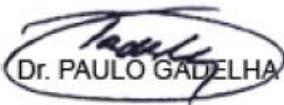
Folha 2 De 2

Entrada em Vigor

Portaria da Presidência

3.0 - VIGÊNCIA

A presente portaria entrará em vigor em 22.07.2010 e revoga as disposições da portaria 452/2008-PR que instituiu o Fórum de Coleções Biológicas da Fiocruz.


Dr. PAULO GADELHA

Cancela

Altera

Distribuição

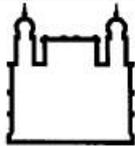
Data

Geral

22/07/2010

* CONFERE COM O ORIGINAL.

8.3 Anexo 3: Portaria da Presidência 555/2009

 <p>Ministério da Saúde FIOCRUZ Fundação Oswaldo Cruz</p>	Número 555/2009-PR	
	Folha 01	De 02
	Entrada em vigor	

Portaria da Presidência

O Presidente da Fundação Oswaldo Cruz, no uso de suas atribuições,

RESOLVE:

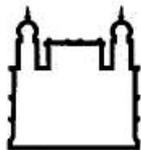
1.0 - PROPÓSITO
Oficializar a Câmara Técnica das Coleções Biológicas da Fiocruz, vinculada à Vice-Presidência de Pesquisa e Laboratórios de Referência.

2.0 - OBJETIVO
Discutir e formular propostas norteadoras das políticas institucionais relacionadas ao desenvolvimento das Coleções Biológicas da Fiocruz.

3.0 - COMISSÃO
A Câmara Técnica, composta por representantes das Unidades Técnico-científicas da Fiocruz que possuam coleção biológica, da GESTEC e da VPAAPS, indicados pelos respectivos diretores e coordenado pela Vice-Presidente de Pesquisa e Laboratórios de Referência, tem a seguinte composição:

Vice-Presidente de Pesquisa e Laboratórios de Referência - Coordenadora
Alzira Maria Paiva de Almeida (IAM)
Arion Túlio Aranda (IOC)
Cláudia Nunes Duarte dos Santos (ICC)
Daniel Bartha (GESTEC)
Delir Corrêa Gomes (IOC)
Elizabeth Rangel (IOC)
Elisa Cupolillo (IOC)
Ivano Raffaele Victorio de Filippis Capasso (INCQS)
Manuela da Silva (VPPLR)

Cancela	Altera	Distribuição Geral	Data 09.11.09
---------	--------	-----------------------	------------------



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

Número

555/2009-PR

Folha

02

De

02

Entrada em vigor

Portaria da Presidência

Marcia Chame dos Santos (ENSP)
Márcia dos Santos Lazera (IPEC)
Omar dos Santos Carvalho (IRR)
Ormezinda Celeste Cristo Fernandes (ILMD)
Rita de Cássia Elias Benedetti (Bio-Manguinhos)
Valcler Rangel Fernandes (VPAAPS)

4.0 - VIGÊNCIA

Esta Portaria tem vigência a partir de 09/11/2009.


Dr. Paulo Gadelha

Cancela

Altera

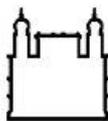
Distribuição

Data

Geral

09.11.09

8.4 Anexo 4: Portaria da Presidência 526/2011



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

Número	526/2011-PR
--------	-------------

Folha	1	De	10
-------	---	----	----

Entrada em Vigor

Portaria da Presidência

O Presidente da Fundação Oswaldo Cruz, no Uso de suas atribuições e da competência que lhe foi delegada pela Portaria do MS/nº 938, de 22.07.99,

RESOLVE:

1.0 - PROPÓSITO

Formalizar o reconhecimento institucional das Coleções Biológicas da Fundação Oswaldo Cruz, em função do estabelecido no Manual de Organização de Coleções Biológicas da Fiocruz aprovado pela Portaria 327/2010-PR.

2.0 - OBJETIVO

COLEÇÕES BIOLÓGICAS

2.1 - Coleções Microbiológicas

Coleção de Micro-organismos de Referência em Vigilância Sanitária (Fiocruz - CMRVS)

Curador geral: Ivano Raffaele Victorio de Filippis Capasso

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde - INCQS

Av. Brasil, 4365 - Manguinhos

21040-900 - Rio de Janeiro/ RJ

E-mail: cmrvs@fiocruz.br

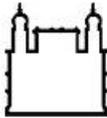
Acervo Archaea

Curador: Maysa Beatriz Mandetta Clementino

Tel: (21) 3865-5236

Cancela	Altera	Distribuição	Data
		Geral	29/08/2011

* CONFERE COM O ORIGINAL.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

Número		526/2011-PR	
Folha	2	De	10
Entrada em Vigor			

Portaria da Presidência

Acervo Bactéria

Curador: Ivano Raffaele Victório de Filippis Capasso

Tel: (21) 3865-5236

Acervo Fungos

Curador: Marília Martins Nishikawa

Tel: (21) 3865-5244

2.1.1 - Coleções Bacteriológicas

Coleção de Bactérias da Amazônia (Fiocruz - CBAM)

Curadora: Luciete Almeida Silva

Instituto Leônidas e Maria Deane - ILMD

Rua Terezina, 476 - Adrianópolis

69057-070 - Manaus/AM

Tel: (92) 3621-2304

E-mail: cbam@fiocruz.br

Coleção de Bactérias da Mata Atlântica (Fiocruz - CBMA)

Curadora: Ana Carolina Paulo Vicente

Instituto Oswaldo Cruz - IOC

Pavilhão Leônidas Deane

Av. Brasil, 4365 - Manguinhos

21040-900 - Rio de Janeiro/ RJ

Tel: (21) 3865 8168

E-mail: cbma@fiocruz.br

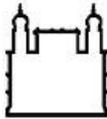
Coleção de Culturas do Gênero de Bacillus e Gêneros Correlatos (Fiocruz - CCGB)

Curador: Leon Rabinovitch

Instituto Oswaldo Cruz - IOC

Cancela	Altera	Distribuição	Data
		Geral	29/08/2011

* CONFERE COM O ORIGINAL.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

Número

526/2011-PR

Folha

3

De

10

Entrada em Vigor

Portaria da Presidência

Pavilhão Rocha Lima - sala 308
Av. Brasil, 4365 - Manguinhos
21040-900 - Rio de Janeiro/ RJ
Tel: (21) 2562-1640/1639/1637
E-mail: ccgb@fiocruz.br

Coleção de Culturas Bactérias de Interesse em Saúde (Fiocruz - CCBS)
Curadora geral: Marise Dutra Asensi
Instituto Oswaldo Cruz - IOC
Pavilhão Rocha Lima - 3º andar
Av. Brasil, 4365 - Manguinhos
21040-900 - Rio de Janeiro/ RJ

Coleção de Culturas Bactérias de Origem Hospitalar (Fiocruz - CCBH)
Curadora: Marise Dutra Asensi
Tel: (21) 2562-1626
E-mail: ccbh@fiocruz.br

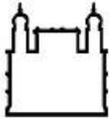
Coleção de Campylobacter (Fiocruz - CCAMP)
Curadora: Ana Luzia Lauria Filgueiras
Tel: (21) 2562-1632
E-mail: ccamp@fiocruz.br

Coleção de Enterobactérias (Fiocruz - CENT)
Curadora: Dália dos Prazeres Rodrigues
Tel: (21) 2562-1649/1651/1625
E-mail: cent@fiocruz.br

Coleção de Listeria (Fiocruz - CLIST)
Curador: Ernesto Hofer
Tel: (21) 2562-1618/1612

Cancela	Altera	Distribuição	Data
		Geral	29/08/2011

* CONFERE COM O ORIGINAL.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

Número		526/2011-PR	
Folha	4	De	10
Entrada em Vigor			

Portaria da Presidência

E-mail: clist@fiocruz.br

Coleção de Leptospira (Fiocruz - CLEP)

Curadora: Ilana Teruszkin Balassiano

Instituto Oswaldo Cruz - IOC

Pavilhão Rocha Lima - 3º andar

Av. Brasil, 4365 - Manguinhos

21045-900 - Rio de Janeiro/ RJ

Tel: (21) 2562-1643

E-mail: clep@fiocruz.br

Coleção de Yersinia pestis (Fiocruz - CYP)

Curadora: Alzira Maria Paiva de Almeida

Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães - CPqAM

Campus da UFPE - Cidade Universitária

50.670-420 - Recife/ PE

Tel: (81) 2101 2676/2647

E-mail: cyp@fiocruz.br

2.1.2 - Coleções Micológicas

Coleção de Culturas de Fungos Filamentosos (Fiocruz - CCFF)

Curadora: Maria Inez de Moura Sarquis

Instituto Oswaldo Cruz - IOC

Pavilhão Rocha Lima - sala 525

Av. Brasil, 4365 - Manguinhos

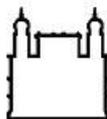
21040-900 - Rio de Janeiro/ RJ

Tel: (21) 2598-4423

E-mail: ccff@fiocruz.br

Cancela	Altera	Distribuição	Data
		Geral	29/08/2011

* CONFERE COM O ORIGINAL.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

Número		526/2011-PR	
Folha	5	De	10
Entrada em Vigor			

Portaria da Presidência

Coleção de Fungos da Amazônia (Fiocruz - CFAM)

Curadora: Ormezinda Celeste Cristo Fernandes

Instituto Leônidas e Maria Deane - ILMD

Rua Terezina, 476 - Adrianópolis

69057-070 - Manaus/AM

Tel: (92) 3621-2304

E-mail: cfam@fiocruz.br

Coleção de Fungos Patogênicos (Fiocruz - CFP)

Curadora: Márcia dos Santos Lazéra

Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas - IPEC

Av. Brasil, 4365 - Manguinhos

21040-900 - Rio de Janeiro/ RJ

Tel: (21) 3865-9652

E-mail: cfp@fiocruz.br

Coleção Micológica de Trichocomaceae (Fiocruz - CMT)

Curador: Mario Jorge de Araujo Gatti

Instituto Oswaldo Cruz - IOC

Pavilhão Lauro Travassos - sala 7

Av. Brasil, 4365 - Manguinhos

21040-900 - Rio de Janeiro/ RJ

Tel: (21) 2562-1542/1535

E-mail: cmt@fiocruz.br

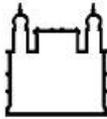
2.1.3 - Coleções de Protozoários

Coleção de Leishmania (Fiocruz - CLIOC)

Curadora: Elisa Cupolillo

Cancela	Altera	Distribuição	Data
		Geral	29/08/2011

* CONFERE COM O ORIGINAL.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

Número
526/2011-PR

Folha 6 De 10

Entrada em Vigor

Portaria da Presidência

Instituto Oswaldo Cruz - IOC
Pavilhão Leônidas Deane - sala 502 A
Av. Brasil, 4365 - Manguinhos
21040-900 - Rio de Janeiro/ RJ
Tet: (21) 3865 8195
E-mail: clioc@fiocruz.br

Coleção de Protozoários (Fiocruz - COLPROT)
Curadora: Claudia M. d'Avila-Levy
Instituto Oswaldo Cruz - IOC
Pavilhão Leônidas Deane - sala 209
Av. Brasil 4365- Manguinhos
21040-900 - Rio de Janeiro - RJ
Tet: (21) 3865-8232
E-mail: colprot@fiocruz.br

Coleção de Trypanosoma de Mamíferos Silvestres, Domésticos e Vetores (Fiocruz - COLTRYP)
Curadora: Ana Maria Jansen
Instituto Oswaldo Cruz - IOC
Pavilhão Rocha Lima - sala 518
Av. Brasil, 4365- Manguinhos
21040-900 - Rio de Janeiro/ RJ
Tet: (21) 2562-1416
E-mail: coltryp@fiocruz.br

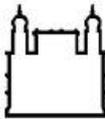
2.2 - Coleções Zoológicas

2.2.1 - Coleções Entomológicas

Coleção de Artrópodes Vetores Ápteros de Importância em Saúde das Comunidades (Fiocruz -

Cancela	Altera	Distribuição	Data
		Geral	29/08/2011

* CONFERE COM O ORIGINAL.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

Número
526/2011-PR

Folha 7 De 10

Entrada em Vigor

Portaria da Presidência

CAVAISC)

Curadora: Marinete Amorim
Instituto Oswaldo Cruz - IOC
Pavilhão Mourisco - salas 203/214
Av. Brasil 4365- Manguinhos
21040-900 - Rio de Janeiro/ RJ
Tel: (21) 2562-1340/1448
E-mail: cavaisc@fiocruz.br

Coleção de Ceratopogonidae (Fiocruz - CCER)

Curadora: Maria Luiza Felipe Bauer
Instituto Oswaldo Cruz - IOC
Pavilhão Carlos Chagas - sala 410
Av. Brasil, 4365- Manguinhos
21040-900 - Rio de Janeiro/ RJ
Tel: (21) 2562-1425/1449
E-mail: ccer@fiocruz.br

Coleção de Culicídeos (Fiocruz - CCULI)

Curadora: Teresa Fernandes Silva do Nascimento
Instituto Oswaldo Cruz - IOC
Pavilhão Carlos Chagas - sala 411
Avenida Brasil 4365 - Manguinhos
21040-900 - Rio de Janeiro - RJ
Tel: (21) 2562-1427/1451
E-mail: cculi@fiocruz.br

Coleção Entomológica do Instituto Oswaldo Cruz (Fiocruz - CEIOC)

Curadora: Jane Margaret Costa
Instituto Oswaldo Cruz - IOC
Pavilhão Mourisco - sala 202

Cancela

Altera

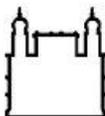
Distribuição

Data

Geral

29/08/2011

* CONFERE COM O ORIGINAL.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

Número

526/2011-PR

Folha

8

De

10

Entrada em Vigor

Portaria da Presidência

Av. Brasil 4365 - Manguinhos
21045-900 - Rio de Janeiro/ RJ
Tel: (21) 2573-7276
E-mail: ceioc@fiocruz.br

Coleção de Flebotomíneos (Fiocruz - COLFLEB)
Curador: José Dilermando Andrade Filho
Centro de Pesquisas René Rachou - CPqRR
Av. Augusto de Lima, 1715 - Barro Preto
30190-002 - Belo Horizonte/ MG
Tel: (31) 3349-7756
E-mail: colfleb@fiocruz.br

Coleção de Simulídeos do Instituto Oswaldo Cruz (Fiocruz - CSIOC)
Curadora: Marilza Maia Herzog
Instituto Oswaldo Cruz - IOC
Pavilhão Rocha Lima - sala 514
Av. Brasil, 4365 - Manguinhos
21040-900 - Rio de Janeiro/ RJ
Tel: (21) 2562-1630/1628
E-mail: csioc@fiocruz.br

Coleção de Triatomíneos do Instituto Oswaldo Cruz (Fiocruz - CTIOC)
Curador: José Jurberg
Instituto Oswaldo Cruz - IOC
Pavilhão Rocha Lima - sala 509
Av. Brasil, 4365- Manguinhos
21040-900 - Rio de Janeiro/ RJ
Tel: (21) 2560-7317
E-mail: ctioc@fiocruz.br

Cancela

Altera

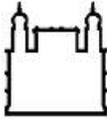
Distribuição

Data

Geral

29/08/2011

* CONFERE COM O ORIGINAL.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

Número
526/2011-PR

Folha 9 De 10

Entrada em Vigor

Portaria da Presidência

Coleção de Vetores da Doença de Chagas (Fiocruz - COLVEC)

Curadora: Lileia Gonçalves Diotaiuti

Centro de Pesquisas René Rachou - CPqRR

Av. Augusto de Lima, 1715 - Barro Preto

30190-002 - Belo Horizonte/ MG

Tel: (31) 3349-7762

E-mail: colvec@fiocruz.br

2.2.2 - Coleção Helminológica

Coleção Helminológica do Instituto Oswaldo Cruz (Fiocruz - CHIOC)

Curador: Marcelo Knoff

Instituto Oswaldo Cruz - IOC

Pavilhão Cardoso Fontes

Av. Brasil 4365 - Manguinhos

21040-900 - Rio de Janeiro/ RJ

Tel: (21) 2562-1458/1462

E-mail: chioc@fiocruz.br

2.2.3 - Coleções Malacológicas

Coleção de Malacologia Médica (Fiocruz - CMM)

Curadora: Cristiane Lafeté Furtado de Mendonça

Centro de Pesquisas René Rachou - CPqRR

Av. Augusto de Lima, 1715 - Barro Preto

30190-002 - Belo Horizonte/ MG

Tel: (31) 3349-7746

E-mail: cmm@fiocruz.br

Cancela	Altera	Distribuição	Data
		Geral	29/08/2011

* CONFERE COM O ORIGINAL.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

Número		526/2011-PR	
Folha	10	De	10
Entrada em Vigor			

Portaria da Presidência

Coleção de Moluscos do Instituto Oswaldo Cruz (Fiocruz - CMIOC)

Curadora: Silvana Carvalho Thiengo

Instituto Oswaldo Cruz - IOC

Pavilhão Adolfo Lutz

Av. Brasil 4365 - Manguinhos

21040-900 - Rio de Janeiro/ RJ

Tet: (21) 2562-1305

E-mail: cmioc@fiocruz.br

2.3 - Coleção Histopatológica

Coleção de Febre Amarela (Fiocruz - CFA)

Curador: Marcelo Pelajo Machado

Instituto Oswaldo Cruz - IOC

Pavilhão Gomes de Faria

Av. Brasil 4365 - Manguinhos

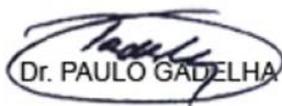
21040-900 - Rio de Janeiro/ RJ

Tet: (21) 2562-1244

E-mail: cfa@fiocruz.br

3.0 - VIGÊNCIA

A presente Portaria tem vigência a partir da data de sua publicação.


Dr. PAULO GADELHA

Cancela	Altera	Distribuição	Data
		Geral	29/08/2011

* CONFERE COM O ORIGINAL.

8.5 Anexo 5: Resolução n.º 21, Ministério do Meio Ambiente



MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO

RESOLUÇÃO Nº 21, DE 31 DE AGOSTO DE 2006

O CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO, tendo em vista as competências que lhe foram conferidas pela Medida Provisória nº 2.186-16, de 23 de agosto de 2001, e pelo Decreto nº 3.945, de 28 de setembro de 2001, e o disposto no art. 13, inciso I, do seu Regimento Interno;

Considerando que diversos tipos de pesquisas e atividades científicas poderiam enquadrar-se sob o conceito de acesso ao patrimônio genético para fins de pesquisa científica simplesmente pelo fato de utilizarem ferramentas metodológicas moleculares para a sua execução de modo circunstancial e não propriamente porque seus objetivos ou perspectivas estejam relacionados com o acesso ao patrimônio genético;

Considerando que a finalidade dessas pesquisas e atividades, assim como seus resultados e aplicações, não interferem no principal objetivo da Medida Provisória nº 2.186-16, de 2001, que é a garantia da repartição justa e equitativa dos benefícios resultantes da exploração econômica de produto ou processo desenvolvido a partir de amostras de componentes do patrimônio genético, resolve:

Art. 1º As seguintes pesquisas e atividades científicas não se enquadram sob o conceito de acesso ao patrimônio genético para as finalidades da Medida Provisória nº 2.186-16, de 23 de agosto de 2001:

I - as pesquisas que visem avaliar ou elucidar a história evolutiva de uma espécie ou de grupo taxonômico, as relações dos seres vivos entre si ou com o meio ambiente, ou a diversidade genética de populações; (redação alterada pela Resolução n. 28, de 6 de novembro de 2007)

II - os testes de filiação, técnicas de sexagem e análises de cariótipo ou de ADN que visem à identificação de uma espécie ou espécime; (redação alterada pela Resolução n. 28, de 6 de novembro de 2007)

III - as pesquisas epidemiológicas ou aquelas que visem a identificação de agentes etiológicos de doenças, assim como a medição da concentração de substâncias conhecidas cujas quantidades, no organismo, indiquem doença ou estado fisiológico;

IV - as pesquisas que visem a formação de coleções de ADN, tecidos, germoplasma, sangue ou soro.

§ 1º As pesquisas e atividades científicas mencionadas neste artigo estão dispensadas da obtenção de autorização de acesso a componente do patrimônio genético.

§ 2º O critério estabelecido nesta Resolução tem a finalidade exclusiva de orientar o enquadramento destas atividades sob a Medida Provisória nº 2.186-16, de 2001, sem prejuízo do atendimento das exigências estabelecidas em outros instrumentos legais, bem como em tratados internacionais dos quais o Brasil seja Parte.

§ 3º As autorizações de acesso que se refiram às pesquisas e atividades científicas mencionadas no caput deste artigo e seus incisos, concedidas em data anterior à publicação da Resolução nº 21, de 31 de agosto de 2006, perdem sua validade no que diz respeito a essas pesquisas e atividades. (parágrafo incluído pela Resolução n. 28, de 6 de novembro de 2007)

§ 4º Quando se tratar de autorização especial, consideram-se excluídas do portfólio correspondente às pesquisas e atividades científicas mencionadas no caput deste artigo e seus incisos, continuando a autorização válida para as demais pesquisas e atividades integrantes do portfólio. (parágrafo incluído pela Resolução n. 28, de 6 de novembro de 2007)

Art. 2º Esta Resolução entra em vigor na data de sua publicação.

8.6 Anexo 6: Portaria da Presidência 162/2003

 <p>Ministério da Saúde FIOCRUZ Fundação Oswaldo Cruz</p>	Número 162/2003-PR	
	Folha 01	De 07
	Entrada em vigor	

Portaria da Presidência

O Presidente da Fundação Oswaldo Cruz, no uso de suas atribuições,

RESOLVE:

1.0 - PROPÓSITO
Regulamentar os Serviços de Referência de Diagnóstico Laboratorial da Fiocruz e a execução de atividades para a área de Vigilância Epidemiológica, na condição de Referência Nacional e Regional, em função do estabelecido na Portaria nº410/02 - Funasa e no Convênio nº08/2003 - Funasa.

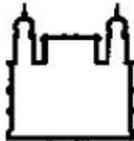
2.0- Referência Nacional

2.1 - Carbúnculo
Laboratório de Fisiologia Bacteriana do Departamento de Bacteriologia do Instituto Oswaldo Cruz.
Dr. Leon Rabinovitch
Pavilhão Rocha Lima - 3ºandar - Tel.: 2598-4277/4278/4283 r/308
e-mail: leon@ioc.fiocruz.br

2.2 - Doença de Chagas
Laboratório de Triatominae do Departamento de Entomologia do Instituto Oswaldo Cruz.
Dr. José Jurberg
Pavilhão Carlos Chagas - 4º / 5ºandar - Tel.: 25984320/4321r/112 e 2560-7317
e-mail: jjurberg@ioc.fiocruz.br

2.3 - Enteroinfecções Bacterianas
Laboratório de Enterobactérias do Departamento de Bacteriologia do Instituto Oswaldo Cruz.
Dr. Ernesto Hofer
Pavilhão Rocha Lima - 3ºandar - Tel.: 25984277/4278/4283 r/318
e-mail: ehofer@ioc.fiocruz.br

Cancela	Altera	Distribuição Geral	Data 23.07.03
---------	--------	-----------------------	------------------



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

Número		162/2003-PR	
Folha	02	De	07
Entrada em vigor			

Portaria da Presidência

Laboratório de Enterobactérias do Departamento de Bacteriologia do Instituto Oswaldo Cruz.

Dra. Dália dos Prazeres Rodrigues
Pavilhão Rocha Lima – 3º andar – Tel.: 25984277/4278/4283 r/316
e-mail: dalia@ioc.fiocruz.br

2.4 – Esquistossomose

Laboratório de Helmintoses Intestinais do Centro de Pesquisas René Rachou - Belo Horizonte – MG.

Dr. Omar Carvalho
Tel.: (31) 32953566
e-mail: omar@cpqrr.fiocruz.br

2.5 – Filariose

Serviço Clínico e Laboratorial em Filariose Linfática do Departamento de Parasitologia do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães - Recife – PE

Dr. Abraham Rocha
Tel.: (81) 3301-2575
e-mail: rocha@cpqam.fiocruz.br

Laboratório de Culicídeos Vetores em Filariose e Dengue do Departamento de Entomologia do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães - Recife - PE

Dr. André Furtado
Tel: (81) 33012550
e-mail: afurtado@cpqam.fiocruz.br

Laboratório de Simulídeos e Oncocercose do Departamento de Entomologia do Instituto Oswaldo Cruz.

Dra. Marilza Maia Herzog
Pavilhão Carlos Chagas – 5º andar – Tel.: 25984320/4321/4322 r/106
e-mail: mherzog@ioc.fiocruz.br



Cancela	Altera	Distribuição	Data
		Geral	23.07.03



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

Número

162/2003-PR

Folha

07

De

07

Entrada em vigor

Portaria da Presidência

Laboratório de Peste do Departamento de Microbiologia do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães - Recife-PE.

Dra. Alzira Almeida

Tel.: (81)33012568

e-mail: aalmeida@cpqam.fiocruz.br

3.6 - Rotaviroses

Laboratório de Virologia Comparada do Departamento de Virologia do Instituto Oswaldo Cruz

Dr. José Paulo Gagliardi Leite

Pavilhão Cardoso Fontes - 1º andar - Tel.: 25984417

e-mail: jpgleite@ioc.fiocruz.br

4.0 - VIGÊNCIA

A presente Portaria tem vigência a partir de 23.07.03.


Dr. Paulo Marchiori Buss

Cancela

Altera

Distribuição

Geral

Data

23.07.03

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Barbosa FS & Coelho MV. Alguns aspectos epidemiológicos relacionados com a transmissão da esquistossomose em Pernambuco, Brasil. Publ Av Inst Aggeu Magalhães. 1956; 5: 31-47.

Cross-breeding of *Australorbis glabratus* and *Biomphalaria boissyi*. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1956; 50: 296-7.

Barbosa FS & Figueiredo T. Susceptibility of the snail intermediate hosts of schistosomiasis from Northeastern Brasil to the infection with *Schistosoma mansoni*. Rev Inst Med Tropical de São Paulo. 1970; 12(3): 198-206.

Brasil. Ministério da Saúde; Brasil. Vigilância e controle de moluscos de importância epidemiológica: diretrizes técnicas: Programa de Vigilância e Controle da Esquistossomose (PCE). 2ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2008. 177p.

Brown DS. Freshwater snails of Africa and their medical importance. Taylor e Francis, London (1994).

Caldeira RL, Vidigal T, Paulinelli ST, Simpson AJG, Carvalho OS. Molecular identification of similar species of the genus *Biomphalaria* (Mollusca: Planorbidae) determined by a polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1998; 93: 219-25.

Caldeira RL, Vidigal T, Matinella L, Simpson AJG, Carvalho OS. Identification of planorbids from Venezuela by polymerase chain reaction amplification and restriction fragment length polymorphism of internal transcriber spacer of the RNA ribosomal gene. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2000; 95(2):171-7.

Caldeira RL, Vidigal THDA, Simpson AJG, Carvalho OS. Genetic variability in Brazilian populations of *Biomphalaria straminea* complex detected by simple sequence repeat anchored polymerase chain reaction amplification. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2001; 96: 293-302.

Caldeira RL, Jannotti-Passos LK, Lira PM, Carvalho OS. Diagnostic of *Biomphalaria* Snails and *Schistosoma mansoni*: DNA Obtained from Traces of Shell Organic Materials. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2004; 99(5): 499-502.

Carvalho OS, Rocha RS, Massara CL, Katz N. Primeiros casos autóctones de esquistossomose mansoni em região noroeste do Estado de Minas Gerais (Brasil). Rev Inst Med Tropical de São Paulo. 1988; 22 (3): 237-239.

Carvalho OS, Massara CL, Guerra HL, Campos YR, Caldeira RL, Chavez A, Katz N. Re-evaluation of Schistosomiasis in Minas Gerais, Brazil – III: Noroeste de Minas Meso-region. Rev Inst Med Trop São Paulo. 1998; 40: 277-279.

Carvalho OS, Jannotti-Passos LK, Caldeira RL. Importância epidemiológica e biologia molecular aplicada ao estudo dos moluscos do gênero *Biomphalaria*. In Carvalho OS, Coelho PMZ, Lenzi HL, editores. *Schistosoma mansoni* e esquistossomose: uma visão multidisciplinar. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2008a. P. 311-45.

Carvalho OS, Amaral RS, Dutra LV, Scholte RGC, Guerra MAM. Distribuição espacial de *Biomphalaria glabrata*, *B. straminea* e *B. tenagophila*, hospedeiros intermediários de *S. mansoni* no Brasil. In: Carvalho OS, Coelho PMZ, Lenzi HL, editores. *Schistosoma mansoni* e esquistossomose: uma visão multidisciplinar. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2008b. P. 393-418.

Carvalho OS, Jannotti-Passos LK, Mendonça CLF, Cardoso PCMC, Caldeira RL. Moluscos Brasileiros de Importância Médica. Fiocruz/CPqRR, Belo Horizonte. 2008 c; 56p.

Carvalho OS, Cardoso PCM, Lira PM, Rumi A, Roche A, Berne E, *et al.*. The use of the polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism technique associated with the classical morphology for characterization of *Lymnaea columella*, *L. viatrix*, and *L. diaphana* (Mollusca: Lymnaeidae). Mem Inst Oswaldo Cruz. 2004; 99(5): 503-7.

Corrêa LR, Paraense WL. Susceptibility of *Biomphalaria amazonica* to infection with two strains of *Schistosoma mansoni*. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 1971 Nov-Dec; 13(6): 387-90.

DeJong RJ, Morgan JAT, Paraense WL, Pointier JP, Amarista M, Ayeh-Kumi PFK, *et al.* Evolutionary relationships and biogeography of *Biomphalaria* (Gastropoda: Planorbidae) with implications regarding its role as host of the human bloodfluke, *Schistosoma mansoni*. Molecular Biology and Evolution. 2001;18(12):2225-39.

De Noya BA, Balzan C, Arteaga C, Cesari I, Noya O. The last fifteen years of schistosomiasis in Venezuela: features and evolution. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1999; 94:139–146.

Deslandes N. Técnica de dissecação e exame de planorbídeos. Rev Serv Espec Saúde Públ. 1951; 4:371-382.

Egler I & Santos MM. (Coord.). Diretrizes e estratégias para a modernização de coleções biológicas brasileiras e a consolidação de sistemas integrados de informação sobre biodiversidade. MCT/CGEE. Brasília. 2006.

Estrada VE, Velásquez LE, Caldeira RL, Bejarano EE, Rojas W, Carvalho OS. Phylogenetics of South American *Biomphalaria* and description of a new species (Gastropoda: Planorbidae). J Molluscan Stud. 2005; 72: 221-28.

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo. Centro de Referência em Informação Ambiental. Species Link. São Paulo: FAPESP, [s.d.]. Disponível em <http://www.splink.org.br>. Acesso em: 05 jan. 2012.

Godfray HCJ & Knapp S. Taxonomy for the twenty first century. Introduction. Phil Tran R Soc Lond. 2004; 359: 559-69.

Hillis DM. Molecular versus morphological approaches to Systematics. Ann Rev Ecol Syst. 1987; 18: 23-42.

Jarne P, Pointier JP, David P. Biosystematics of *Biomphalaria* spp. with an Emphasis on *Biomphalaria glabrata*. 1-32p. In Toledo R, Fried B. *Biomphalaria* Snails and Larval Trematodes. Springer 2011. 141p.

Kane RA & Rollinson D. Repetitive sequences in the ribosomal DNA internal transcribed spacer of *Schistosoma haematobium*, *Schistosoma intercalatum* and *Schistosoma mattheei*. *Mol Biochem Parasitol*. 1994; 63(1): 153-6.

Malek EA. *Snail hosts of schistosomiasis and other snail transmitted diseases in tropical America: A manual*. Scientific Publication no. 478, Pan American Health Organization, WHO, Washington D.C., USA. 1985; 325p.

Mandahl-Barth G. Intermediate hosts of *Schistosoma*. African *Biomphalaria* and *Bulinus*: I. *Bull World Health Organ*. 1957; 16: 1103-63

Marinoni L, Peixoto AL. As coleções biológicas como fonte dinâmica e permanente de conhecimento sobre a biodiversidade. *Ciênc cult*. 2010; 62(3): 54-57.

Martins UR. A coleção taxonômica. 19-44. In Papavero N., organizador. *Fundamentos Práticos de Taxonomia Zoological*. 2ed. São Paulo. Fapesp; 1994. 285p.

Michelson EA. A potential intermediate host of *Schistosoma mansoni* from Haiti. *J Parasitol*. 1976; 6: 648- 649.

Monis PT. The importance of systematics in parasitological research. *Int J Parasitol*. 1999; 29: 381-88.

Moritz C & Hillis DM. Molecular systematics: Context and controversies. In: Hillis DM, Moritz C, Mable BK. *Molecular Systematics*. 2nd ed. Massachusetts: Sinauer Associates Sunderland; 1996. P. 1-16.

Noya BA, Balzan C, Arteaga C, Cesari I, Noya O. The Last Fifteen Years of Schistosomiasis in Venezuela: Features and Evolution. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1999; 94(2): 139-46.

Origem da Palavra. Consutório Etimológico. [s.l.]: [s.n.], 2006. Disponível em: <http://origemdapalavra.com.br/pergunta/pergunta-2550/>. Acesso em: DD jan. 2012

Paraense WL. Self and cross-fertilization in *Australorbis glabratus*. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1955; 53: 285-91.

Paraense WL. Shell versus anatomy in planorbid systematic. I: “*Australorbis glabratus*”. *Rev Bras Biol*. 1961a; 21:163-170.

Paraense WL. The nomenclature of Brazilian planorbids. II. “*Australorbis tenagophilus*” (Orbigny 1835). *Rev Bras Biol*. 1961b; 21: 343-49.

Paraense WL. "*Biomphalaria amazonica*" and "*B. cousini*", two new species of neotropical planorbid molluscs. *Rev Bras Biol*. 1966a Aug.; 26(2): 115-26.

- Paraense WL. The synonymy and distribution of “*Biomphalaria peregrina*” in the tropical region. *Rev Brasil Biol.* 1966b; 26(3): 269-96.
- Paraense WL. Fauna planorbídica do Brasil. In: Lacaz CS, Baruzzi RG, Siqueira Jr W. *Introdução à geografia médica do Brasil.* Universidade de São Paulo: Edgard Blucher; 1972. P. 213-239.
- Paraense WL. *Biomphalaria oligoza* N. N. for *Tropicorbis philippianus* (Dunker) Sensu Lucena. *Rev Brasil Biol.* 1974; 34(3): 379-86.
- Paraense WL. Estado atual da sistemática dos planorbídeos brasileiros. *Arquivo Do Museu Nacional Do Rio de Janeiro.* 1975a; 55: 105-28.
- Paraense WL. *Biomphalaria orbigny* sp. n. from Argentina (Gastropoda: Basommatophora: Planorbidae). *Rev Bras Biol.* 1975b; 35(2): 211-22.
- Paraense WL. The sites of cross and self-fertilization in planorbid snails. *Rev Bras Biol.* 1976; 36: 535-39.
- Paraense WL. *Biomphalaria occidentalis* sp. n. from South America (Mollusca Basommathophora Pulmonata). *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1981 Abr-Jun; 76 (2): 199-211.
- Paraense WL. *Biomphalaria tenagophila guaibensis* ssp. N. from southern Brazil and Uruguay (Pulmonata: Planorbidae). I. Morphology. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1984 Out-Dez; 79 (4): 465-69.
- Paraense WL. Distribuição dos caramujos no Brasil. *An Acad Mineira Med.* 1986; 14: 117-28.
- Paraense WL. *Biomphalaria kuhni*ana (Clessin, 1883), Planorbid Mollusc from South America. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1988 Jan-Mar; 83 (1): 1-12.
- Paraense WL. *Biomphalaria obstructa* (Morelet, 1849): A study of topotypic specimens (Mollusca: Pulmonata: Planorbidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1990 Oct-Dec; 85 (4): 391-99.
- Paraense WL. Neotropical Planorbid snails with apertural lamellae. I *Biomphalaria helophila* (Orbigny, 1835). *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1996; 91: 177-86.
- Paraense WL. Taxonomia morfológica e taxonomia molecular. *An Res do XII EBRAM,* Rio de Janeiro, Brasil. 2003; 52p.
- Paraense WL. Planorbidae, Lymnaeidae and Physidae of Ecuador (Mollusca: Basommatophora). *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2004; 99: 357-362.
- Paraense WL. Histórico do Gênero *Biomphalaria*, Morfologia e Sistemática Morfológica. In: Carvalho OS, Coelho PMZ, Lenzi HL, editores. *Schistosoma mansoni* e esquistossomose: uma visão multidisciplinar. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2008. P. 285-308.

- Paraense WL, Corrêa LR. Variation in susceptibility of populations of *Australorbis glabratus* to a strain of *Schistosoma mansoni*. Rev Inst Med Trop São Paulo. 1963; 5: 15-22.
- Paraense WL, Corrêa LR . Susceptibility of *Biomphalaria peregrina* from Brazil and Ecuador to two strains of *Schistosoma mansoni*. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 1973; 15(3): 127-30.
- Paraense WL, Corrêa LR. A potential vector of *Schistosoma mansoni* in Uruguay. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1989; 84(3): 281-8.
- Paraense WL, Deslandes N. Reproductive isolation between *Australorbis glabratus* and *A. nigricans*. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1955; 53: 325-327.
- Paraense WL, Deslandes N. A description of *Taphius andecolus*. Rev Bras Biol. 1957; 16: 149-58.
- Paraense WL, Deslandes N. Observations on *Taphius havanensis* (Pulmonata: Planorbidae). Rev Bras Biol. 1958a; 18: 87-91.
- Paraense WL, Deslandes N. Observations on *Taphius pronus* (Martens, 1873) (Pulmonata: Planorbidae). Rev Bras Biol. 1958b; 18: 367-73.
- Paraense WL, Deslandes N. *Australorbis intermedius* sp. n. from Brazil. Rev Bras Biol. 1962; 22: 343-50.
- Paraense WL, Pereira O, Pinto DB. Um aspecto da ecologia do *Australorbis glabratus* que favorece a reinfestação dos criadouros. Rev Serv Esp Saúde Públ. 1955; 7: 573-581.
- Paraense WL, Pointier JP, Delay B, Pernot AF, Incani RN, Balzan C, Chrosciechowski P. *Biomphalaria prona* (Gastropoda: Planorbidae): morphological and biochemical study. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1992; 87(2): 171-79.
- Richards CS. Infectivity of *Schistosoma mansoni* for Puerto Rico mollusks, including a new potential intermediate host. Am J Trop Med Hyg. 1963; 12: 26-33.
- Souza CP e Lima LC. Moluscos de interesse parasitológico do Brasil. 2ed. Belo Horizonte: Fiocruz/CPqRR. 1997 (Série de esquistosomose n.º1)
- Souza CP, Jannotti-Passos LK, Freitas JR. Degree of host-parasite compatibility between *Schistosoma mansoni* and their intermediate molluscan hosts in Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1995; 90: 5 -10.
- Samper C. Taxonomy and environmental policy. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2004; 359: 721-28
- Santos FR, Pena SDJ, Epplen TJ. Genetic populational study of an Y-linked tetranucleotide repet DNA polymorphism. Hum Genet. 1993; 90: 655-656.

Spatz L, Vidigal THDA, Caldeira RL, Neto ED, Cappa SMG, Carvalho OS. Molecular Study of Similar *Biomphalaria* Species. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1998; 93: Suppl. I: 169-170.

Spatz L, Vidigal T, Caldeira RL, Neto ED, Cappa SMG, Carvalho OS. Study of *Biomphalaria tenagophila tenagophila*, *B. t. guaibensis* and *B. occidentalis* by polymerase chain reaction amplification and restriction enzyme digestion of the ribosomal RNA intergenic spacer regions. J Moll Stud. 1999; 65, 143-49.

Spatz L, Vidigal THDA, Silva MCA, Cappa SMG, Carvalho OS. Characterization of *Biomphalaria orbigny*, *Biomphalaria peregrina* and *Biomphalaria oligoza* by Polymerase Chain Reaction and Restriction Enzyme Digestion of the Internal Transcribed Spacer Region of the RNA Ribosomal Gene. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2000 Nov./Dec.; 95(6): 807-814.

Teodoro TM, Janotti-Passos LK, Carvalho OS, Caldeira RL. Occurrence of *Biomphalaria cousini* (Mollusca: Gastropoda) in Brazil and its susceptibility to *Schistosoma mansoni* (Platyhelminths: Trematoda). Mol Phylogenet Evol. 2010; 57: 144-151.

Vale. Reserva Natural. Coleções. [acesso em 2010]. Belo Horizonte, 2009. Disponível em: http://www.vale.com/reserva_natural_vale/pesquisa_colectoes.asp.

Vidigal THDA, Dias Neto E, Carvalho OS, Simpson AJG. *Biomphalaria glabrata*: extensive genetic variation in Brazilian isolates revealed by random amplified polymorphic DNA analysis. Exp Parasitol. 1994; 79: 187-194.

Vidigal THDA, Neto ED, Simpson AJG, Carvalho OS. A low stringency polymerase chain reaction approach to identification of *Biomphalaria glabrata* and *Biomphalaria tenagophila* intermediate snail hosts of *Schistosoma mansoni* in Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1996; 91: 739-744.

Vidigal THDA, Neto ED, Spatz L, Nunes DN, Pires ER, Simpson AJG, Carvalho OS. Genetic Variability and Identification of the Intermediate Snail Hosts of *Schistosoma mansoni*. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1998a; 93: 103-10.

Vidigal THDA, Spatz L, Nunes DN, Simpson AJG, Carvalho OS and Neto ED. *Biomphalaria spp*: Identification of the Intermediate Snail Hosts of *Schistosoma mansoni* by Polymerase Chain Reaction Amplification and Restriction Enzyme Digestion of the Ribosomal RNA Gene Intergenic Spacer. Exp Parasitol. (1998b); 89, 180-87.

Vidigal THDA, Caldeira RL, Simpson AJG, Carvalho OS. Further studies on the molecular systematics of *Biomphalaria* snails from Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2000 a; 95(1): 57-66.

Vidigal THDA, Kissinger JC, Caldeira RL, Pires ECR, Monteiro E, Simpson AJG and Carvalho OS. Phylogenetic relationships among Brazilian *Biomphalaria* species (Mollusca: Planorbidae) based upon analysis of ribosomal ITS2 sequences. Parasitology. 2000b; 121: 611-20.

Vidigal THDA, Caldeira RL, Simpson AJG, Carvalho OS. Identification of *Biomphalaria havanensis* and *Biomphalaria obstructa* Populations from Cuba Using Polymerase Chain Reaction and Restriction Fragment Length Polymorphism of the Ribosomal RNA Intergenic Spacer. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2001 July; 96(5): 661-665, 2001.

Vidigal THDA, Motressor LC, Simpson AJG, Carvalho OS. Polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism of cytochrome oxidase I used for differentiation Brazilian *Biomphalaria* species intermediate host of *Schistosoma mansoni*. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2002; 97: 47-52.

Vidigal THDA, Spatz L, Kissinger JC, Redondo RAF, Pires ECR, Simpson AJG, Carvalho OS. Analysis of the First and Second Internal Transcribed Spacer Sequences of the Ribosomal DNA in *Biomphalaria tenagophila* Complex (Mollusca: Planorbidae). Mem Inst Oswaldo Cruz. 2004 March; 99(2): 153-158.

Yong M, Perera G. First record of *Biomphalaria orbigny* in Cuba. Walkerana. 1989; 3:211-15.

Yong M, Perera G, Gutierrez A. *Biomphalaria havanensis* y *Biomphalaria orbigny* (Mollusca: Planorbidae). Rev Cubana Med Trop. 1995; 4: 7209-210.

Yong M, Gutiérrez A, Perera G, Durand P, Pointier JP. The *Biomphalaria havanensis* Complex (Gastropoda: Planorbidae) in Cuba: a morphological and genetic study. J Moll Stud. 2001; 67:103-11.