

MARCAÇÃO DE CARAMUJOS *BIOMPHALARIA GLABRATA* POR RADIONUCLÍDEOS PARA TRABALHOS EM CAMPO

MIGUEL ARCHANJO MUNIZ LEAL*
EDUARDO PENNA FRANCA**

*Os autores marcam caramujos *Biomphalaria glabrata* com ^{75}Se , ^{59}Fe , ^{89}Sr e ^{90}Sr e através das curvas de captação, decaimento e distribuição dos radionuclídeos na concha/partes moles do caramujo, concluem que o radioestrôncio pode ser utilizado em experiências em campo sobre dispersão e dinâmica de população de caramujos.*

A correta utilização de moluscicidas, assim como a avaliação de tal operação, estão na dependência de um conhecimento seguro sobre a biologia e a dinâmica de população dos caramujos, que marcados com certos radionuclídeos podem ser localizados e distinguidos em uma dada população.

O presente trabalho objetiva, através dos três parâmetros abaixo citados, selecionar o radionuclídeo mais indicado para marcar caramujos *Biomphalaria glabrata* e possivelmente por extensão *B. straminea* e *B. tenagophila*: 1 – índices de captação; 2 – distribuição dos radionuclídeos na concha/partes moles; 3 – meias-vidas efetivas.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram empregados caramujos *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818), provenientes do rio Beberibe, Recife-PE e trabalhados a partir da quinta geração em cativeiro, e os radionuclídeos ^{59}Fe , ^{75}Se , ^{89}Sr e ^{90}Sr .

Caramujos com diâmetros entre 10–12 mm foram colocados nos aquários de marcação com temperatura de $26,5 \pm 1^\circ\text{C}$, pH inicial em 6,5, aeração artificial e alimentação diária com alface. As soluções radioativas eram preparadas com água desionizada.

* Departamento de Biofísica e Radiobiologia do CCB da UFPE, por convênio trabalhando no Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães – FIOCRUZ. Caixa Postal 6034 – 50 000 Recife, PE, Brasil.

** Laboratório de Radioisótopos do Instituto de Biofísica da UFRJ – Rio de Janeiro, RJ, Brasil. Trabalho realizado no Laboratório de Radioisótopos do Instituto de Biofísica da UFRJ com auxílios financeiros concedidos pela Comissão de Energia Nuclear (CNEN), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico (BNDE) através dos contratos FUNTEC-74, 143 e 241, Departamento de Biofísica e Radiobiologia do CCB da UFPE e Faculdade de Ciências Médicas da UP.

Antes de serem colocados os caramujos nos aquários, era retirada uma alíquota de 1 ml que serviria como padrão arbitrário, correspondente à concentração inicial do radionuclídeo no aquário. Periodicamente e com frequência variável os caramujos eram retirados dos aquários, lavados com água corrente e contados, assim como uma alíquota de 1 ml. Somente foram considerados os caramujos sobreviventes. Periodicamente o volume dos aquários era completado.

Os caramujos marcados foram sacrificados em água a 60°C, por cerca de trinta segundos, e as partes moles extraídas das conchas para verificar a distribuição dos radionuclídeos.

Para determinação das meias-vidas efetivas, os caramujos marcados com ^{59}Fe , ^{75}Se , ^{89}Sr foram mantidos em aquários com água comum de torneira, desclorada. A água era trocada a cada 48 horas e, periodicamente e com frequência variável, os caramujos eram retirados, lavados e contados no sistema radiométrico adequado.

Os caramujos marcados com ^{90}Sr foram colocados individualmente em recipientes de cintilação líquida contendo água comum de torneira, desclorada. Aí permaneciam por 3–4 dias, sendo então transferidos para novos recipientes. A troca prosseguiu até o 29º dia, quando os caramujos sobreviventes foram mineralizados. Trinta dias após, quando o equilíbrio secular entre o ^{90}Sr e ^{90}Y foi estabelecido, toda a série de recipientes, desde o tempo zero até a mineralização, foram contados no sistema LS-250. Os recipientes dos caramujos que morreram ao longo da experiência foram desprezados.

Para radiometria da radiação gama (^{59}Fe , ^{75}Se) e dos raios X de frenagem das partículas beta (^{89}Sr) foram contados em cintilometria sólida de poço, modelo 972 da Nuclear Chicago, associado a um espectrômetro gama com dois canais, Ultrascaler II, e monocal Escanomatic Tracerlab da N C modelo SC535AM. Foi utilizado também sistema de cintilação líquida Beckman LS-250 que contava a radiação Cerenkov produzida pelo ^{90}Y em equilíbrio secular com o ^{90}Sr . Visando a assegurar uma resposta uniforme foi utilizado um padrão de ^{137}Cs ($t_{1/2} = 30$ a e gama de 0,662 MeV), fazendo-se pequenos ajustes na alta tensão quando as medidas apresentavam variação superior a um desvio padrão. No caso da cintilação líquida os resultados foram corrigidos através da curva de "quenching".

RESULTADOS

Os resultados são apresentados sob a forma de relações das contagens por minuto médias $\overline{\text{cpm}}$ e as contagens por minuto médias no tempo zero, $(\overline{\text{cpm}})_0$. A retenção por cento mede a percentagem da atividade total inicial que foi retida pelos caramujos após cada intervalo de tempo de incorporação, normalizada para igual volume de água por caramujo.

$$R (\%) = \frac{\overline{\text{cpm}} \times 100}{\text{Padrão} \times \text{Volume da solução disponível por caramujo}}$$

Para tratamento dos dados foi utilizada a calculadora programável Hewlett Packard 9815A que calculou e traçou a Fig. 1 assim como os desvios, interceptos, inclinações e meias-vidas apresentados.

DISCUSSÃO

A Figura 1 e a Tabela II mostram que a retenção de radioestrôncio é quatro vezes maior que a de ^{59}Fe e seis e meia vezes maior que a de ^{75}Se , estando o primeiro resultado de acordo com os obtidos por Johnson, Angel & Erickson (1962), e que as perdas são maiores para o ^{59}Fe , provavelmente devido à floculação e excreção nas fezes, o que não foi verificado experimentalmente. Por outro lado, verificou-se que as perdas dos radionuclídeos durante as lavagens são negligenciáveis. Verifica-se ainda que os desvios pa-

drões são consideráveis, apesar de os caramujos escolhidos terem diâmetros bem definidos e próximos e idades quase iguais, sugerindo que suas atividades fisiológicas são bem individualizadas, principalmente em relação ao estrôncio. Quanto à distribuição dos radionuclídeos na concha/partes moles, mostrada na Figura 2, verifica-se que: a) para o ^{59}Fe existe um aumento percentual nas partes moles quando comparados caramujos com um e 28 dias de lavagem, aumento este provavelmente ocasionado pela rápida liberação de ^{59}Fe da concha e não por aumento absoluto nas partes moles; b) as transferências concha/partes moles ou concha-água-partes moles para o ^{59}Fe são difíceis de ser aceitas, a

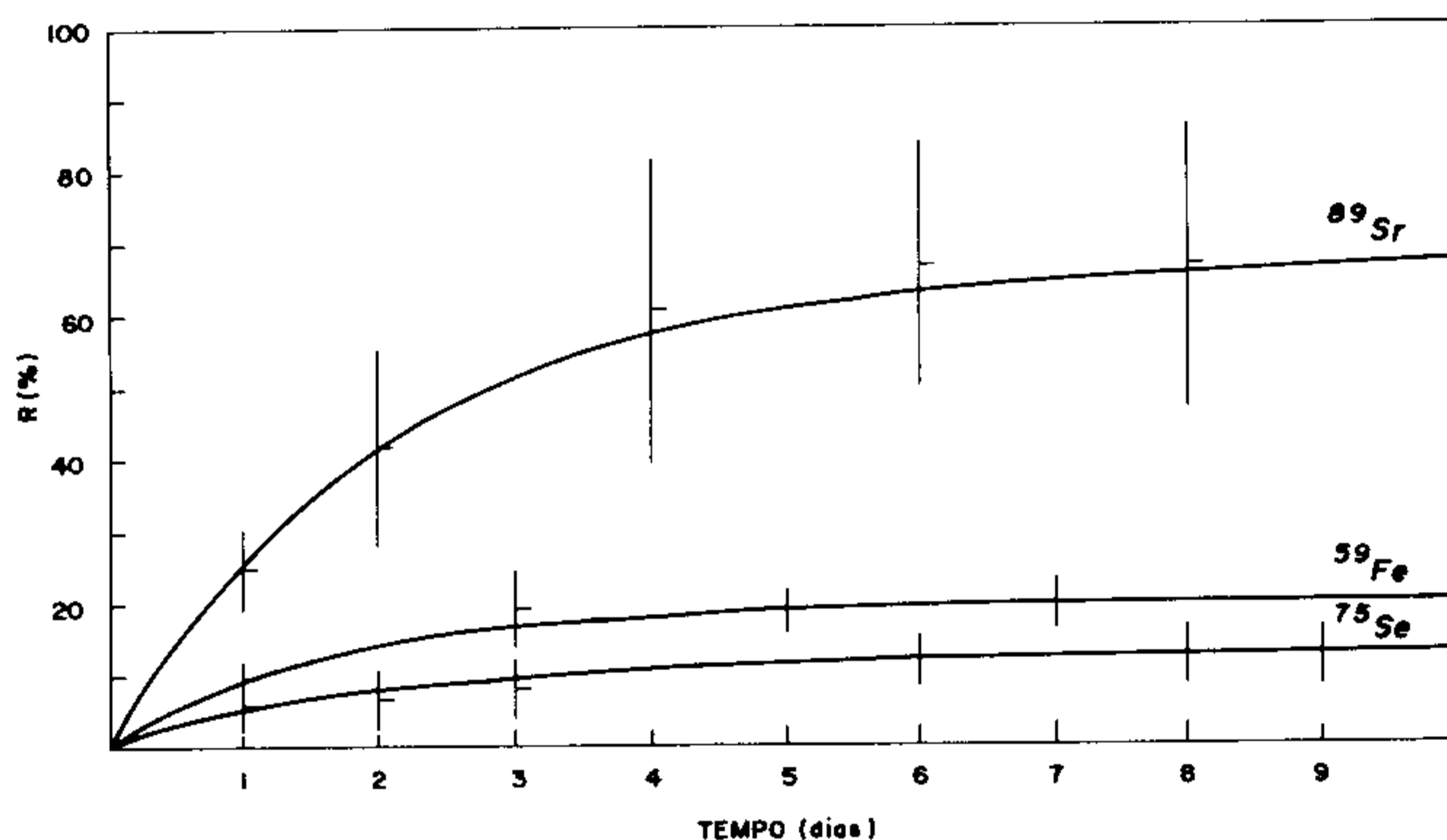


Fig. 1 - Fração média da concentração inicial de radionuclídeo, retida por caramujo em experiências de marcação com ^{59}Fe , ^{75}Se e ^{89}Sr .

^{89}Sr a = 33,5, b = 0,493; ^{59}Fe a = 9,6, b = 0,664; ^{75}Se a = 5,92, b = 0,686.

a = intercepto

b = inclinação da curva

TABELA I

Condições de marcação de *Biomphalaria glabrata* com radionuclídeos

Variável	Radionuclídeo	^{59}Fe	^{75}Se	^{89}Sr
Forma química		FeCl_3	Na_2SeO_4	SrCl_2
Volume total de água no aquário (ml)		750	1 000	2 000
Atividade total (μCi)		15	15	800
Concentração ($\mu\text{Ci/ml}$)		0,02	0,015	0,4
Número de caramujos por aquário		15	20	40
Volume de água por caramujo (ml)		50	50	50
Atividade disponível por caramujo (μCi)		1,00	0,75	20

Obs.: Foram utilizados ao longo do trabalho três nuclídeos de Sr, os de massa atômica 85, 89 e 90, todos sob a forma química de cloreto de estrôncio II.

TABELA II

Comparação da atividade incorporada no conjunto de caramujos e remanescente na água do aquário

Radionuclídeo	Tempo (d)	% AIC	% ARS	Total
⁵⁹ Fe	1	9,67± 1,80	52,40±0,59	62,07± 1,89
	3	26,19± 7,06	36,07±0,46	62,26± 7,07
	5	31,98± 4,91	28,68±0,41	59,97± 4,92
	7	32,29± 6,52	24,34±0,38	56,63± 6,54
⁷⁵ Se	1	5,81± 3,69	97,10±0,73	102,91± 3,76
	2	6,47± 3,95	95,45±0,72	101,92± 4,01
	3	8,03± 3,81	89,77±0,68	97,80± 3,87
	6	11,21± 3,51	88,77±0,71	99,98± 3,58
	8	11,72± 3,80	84,35±0,67	96,49± 3,85
	9	11,82± 3,82	78,07±0,65	89,89± 3,93
⁸⁹ Sr	1	24,59± 5,36	73,12±0,28	97,71± 5,36
	2	41,52±13,53	46,62±0,21	88,14±13,53
	4	60,20±20,86	32,77±0,17	92,97±20,86
	6	66,13±16,65	13,51±0,10	79,64±16,65
	8	65,89±19,69	9,67±0,08	75,56±19,69

% AIC – Percentagem da atividade inicial incorporada no conjunto de caramujos.

% ARS – Percentagem da atividade inicial remanescente em solução no aquário.

Resultados expressos: $\bar{X} \pm T$

primeira pelos trabalhos de Heneine, Gazzinelli & Tafuri (1969) e Coelho et al (1973) e a segunda pelo efeito diluição (± 250 ml de água por caramujo durante a lavagem) e renovação da água, resultado este que está de acordo com o observado nas curvas de remoção, uma rápida atribuída à concha e outra lenta atribuída às partes moles, conforme Figura 3; c) o radioestrôncio é incorporado na concha e a distribuição concha/partes moles não se altera apreciavelmente com o tempo.

Com relação às curvas de decaimento mostradas nas Figuras 3, 4, 5 e 6 e Tabela III, observa-se que: a) através da meia-vida biológica do ⁸⁹Sr (266 d) e do ⁹⁰Sr (231 d) e tomando-se uma meia-vida média de 248 d pode-se calcular a meia-vida efetiva do ⁸⁵Sr como sendo 51 dias; b) os resultados de meia-vida efetiva obtidos de 4,9 d para o ⁷⁵Se, 51 d para o ⁸⁵Sr e as duas componentes com 2,9 e 26,5 dias para o ⁵⁹Fe não estão de acordo com os trabalhos de Knight et al (1968) e Johnson, Angel & Erickson (1962). O primeiro refere-se à meia-vida física do ⁷⁵Se e conclui que “experiências relativamente longas podem ser conduzidas com caramujos *B. glabrata* marcados, em estudos de dispersão e dinâmica de população”. Tal afirmativa não procede, pois como ficou demonstrado, sendo a meia-vida efetiva muito curta e considerando-se que o caramujo ainda pode ser detectado em campo após quatro meias-vidas, teríamos um prazo de 20 dias apenas. Com atividade inicial maior e sistema de detecção mais sofisticado pode-se chegar a seis meias-vidas, o que em campo é de difícil execução. Johnson, Angel & Erickson (1962) apresentam os valores de meia-vida de desaparecimento (efetiva) do caramujo de 168 d para o ⁸⁵Sr,

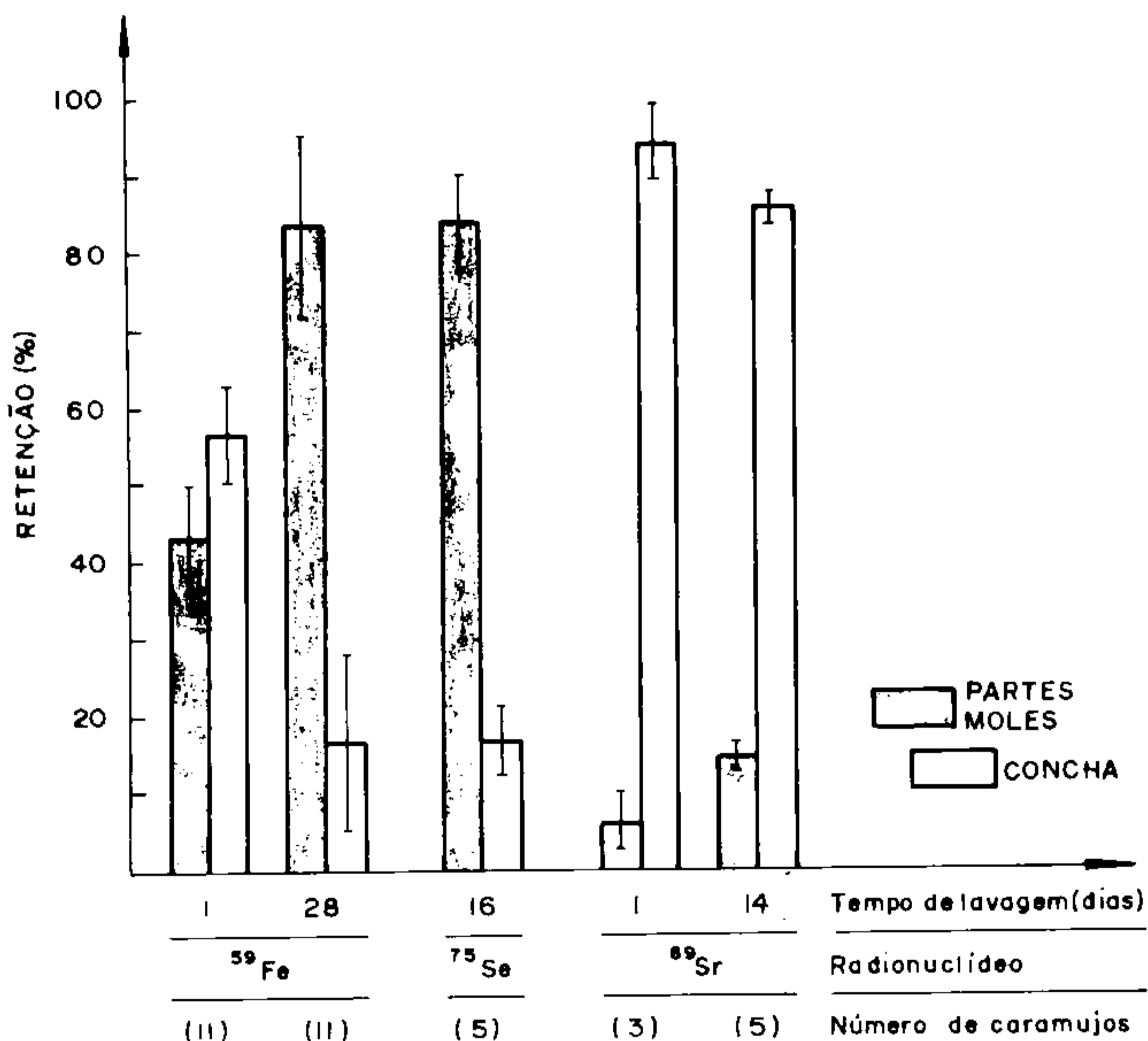


Fig. 2 - Distribuição dos radionuclídeos ^{59}Fe , ^{75}Se e ^{89}Sr incorporados entre concha e partes moles.

valor este que não pode ser verdadeiro, pois a meia-vida efetiva não pode ser maior que a física e para o ^{85}Sr esta última vale 64 d. Os resultados referentes ao ^{59}Fe concordam com os dos autores acima citados apenas quanto à presença de duas componentes (provavelmente uma corresponde à concha e outra às partes moles), divergindo quanto aos valores de meia-vida efetiva (longa 220d e rápida 58d) pelo mesmo motivo citado no parágrafo anterior. Além disso o autor não procedeu à subtração exponencial da curva composta. Considerando-se que as atividades utilizadas na marcação são pequenas e que existe um fator diluição, não deve haver preocupação quanto à contaminação do meio ambiente.

A maior captação assim como a meia-vida efetiva são fatores econômicos importantes. O ^{85}Sr deve ser usado em experiências para localização do caramujo, fora do alcance visual mesmo na presença de absorvedores, p.e., localização de caramujos enterrados na lama resseca. Nas situações de coleta por amostragem e identificação devem ser utilizados os outros radionuclídeos - o ^{89}Sr e o ^{90}Sr . Este último apresenta vantagens como baixo custo e meia-vida física longa (10 220 d), o que facilita a estocagem e aumenta a meia-vida efetiva para cerca de 225 dias, possibilitando o acompanhamento de um dado caramujo por um período não inferior a 30 meses.

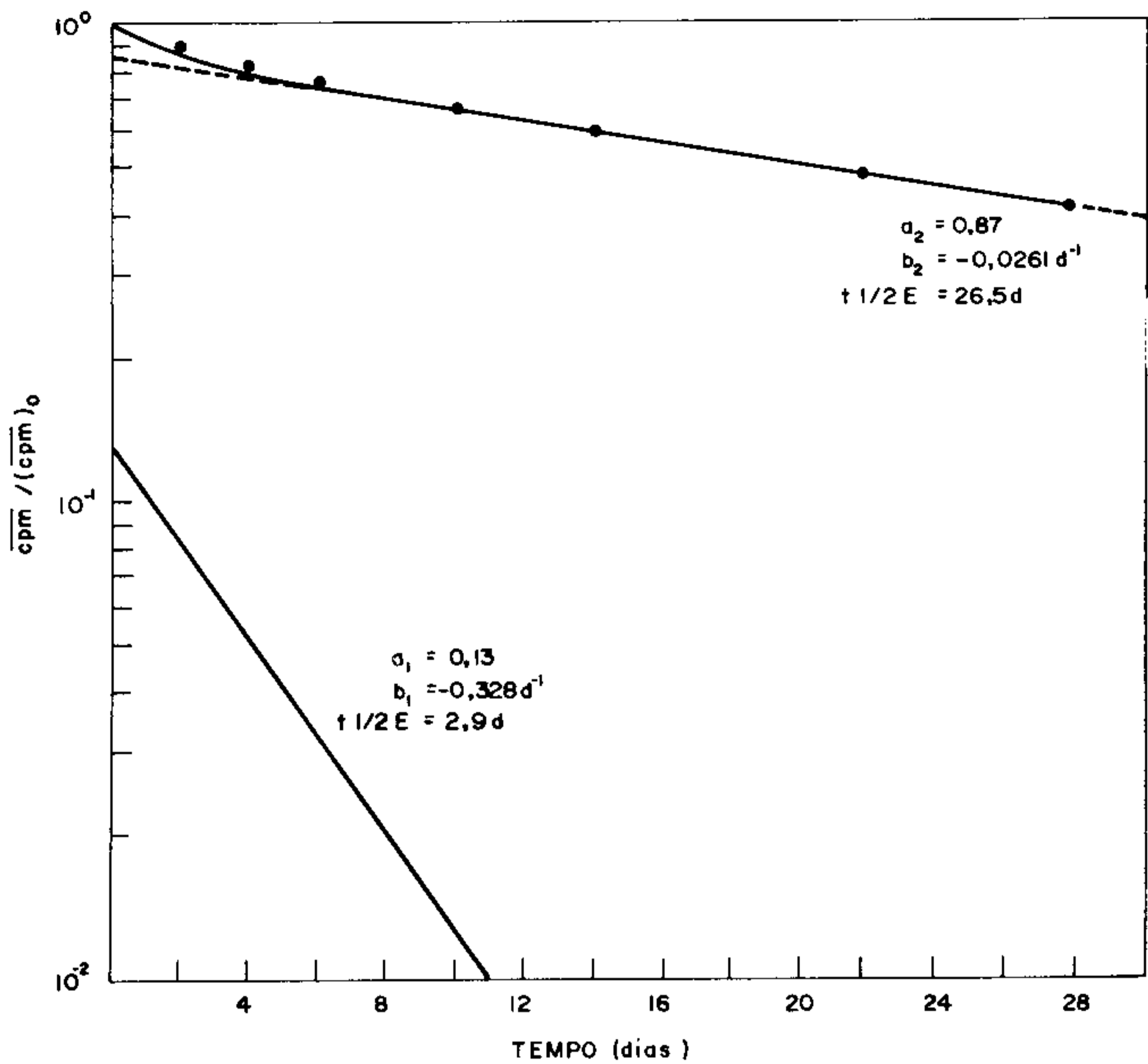


Fig. 3 - Remoção de ^{59}Fe de caramujos marcados.

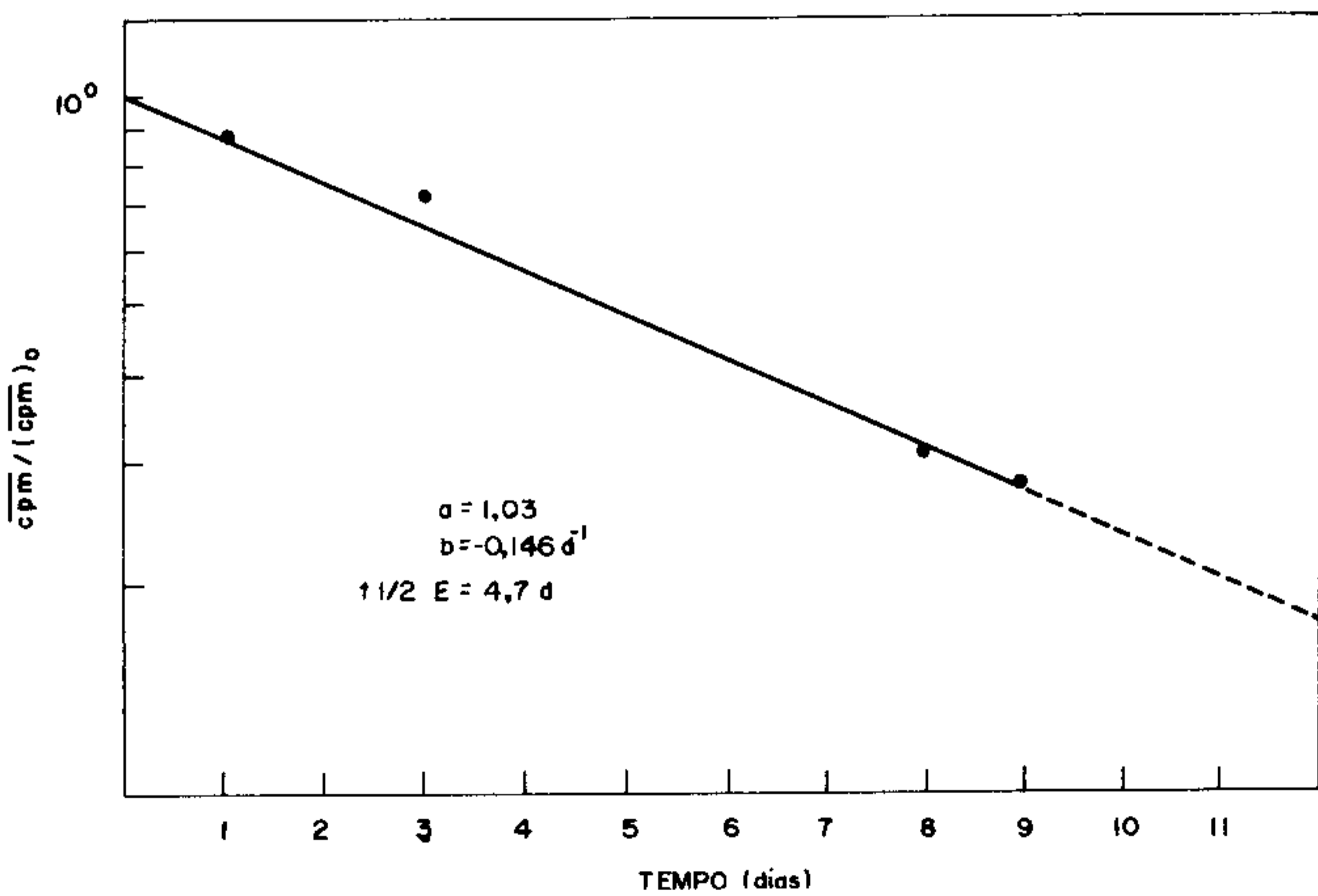


Fig. 4 - Remoção de ^{75}Se de caramujos marcados.

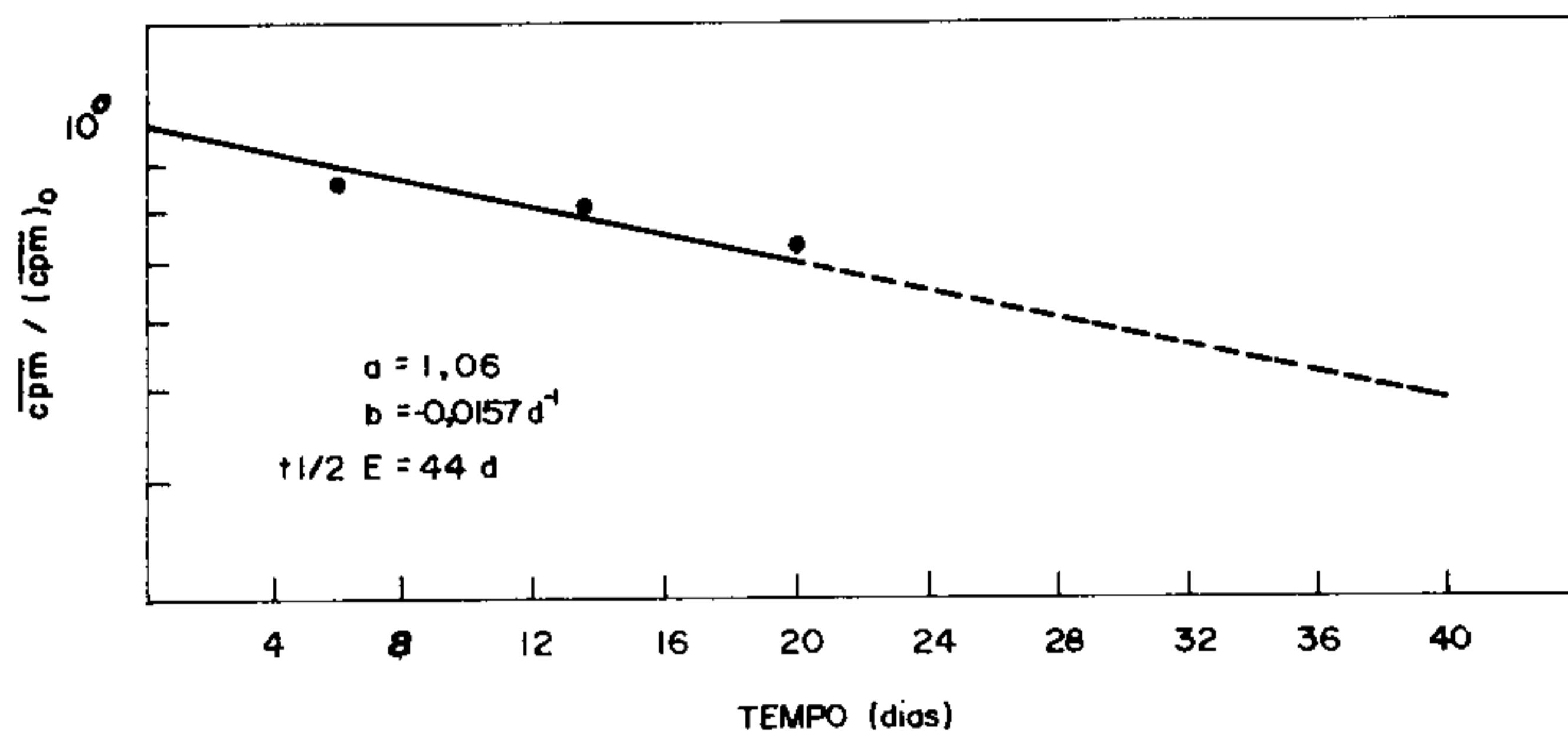


Fig. 5 - Remoção de ^{89}Sr de caramujos marcados.

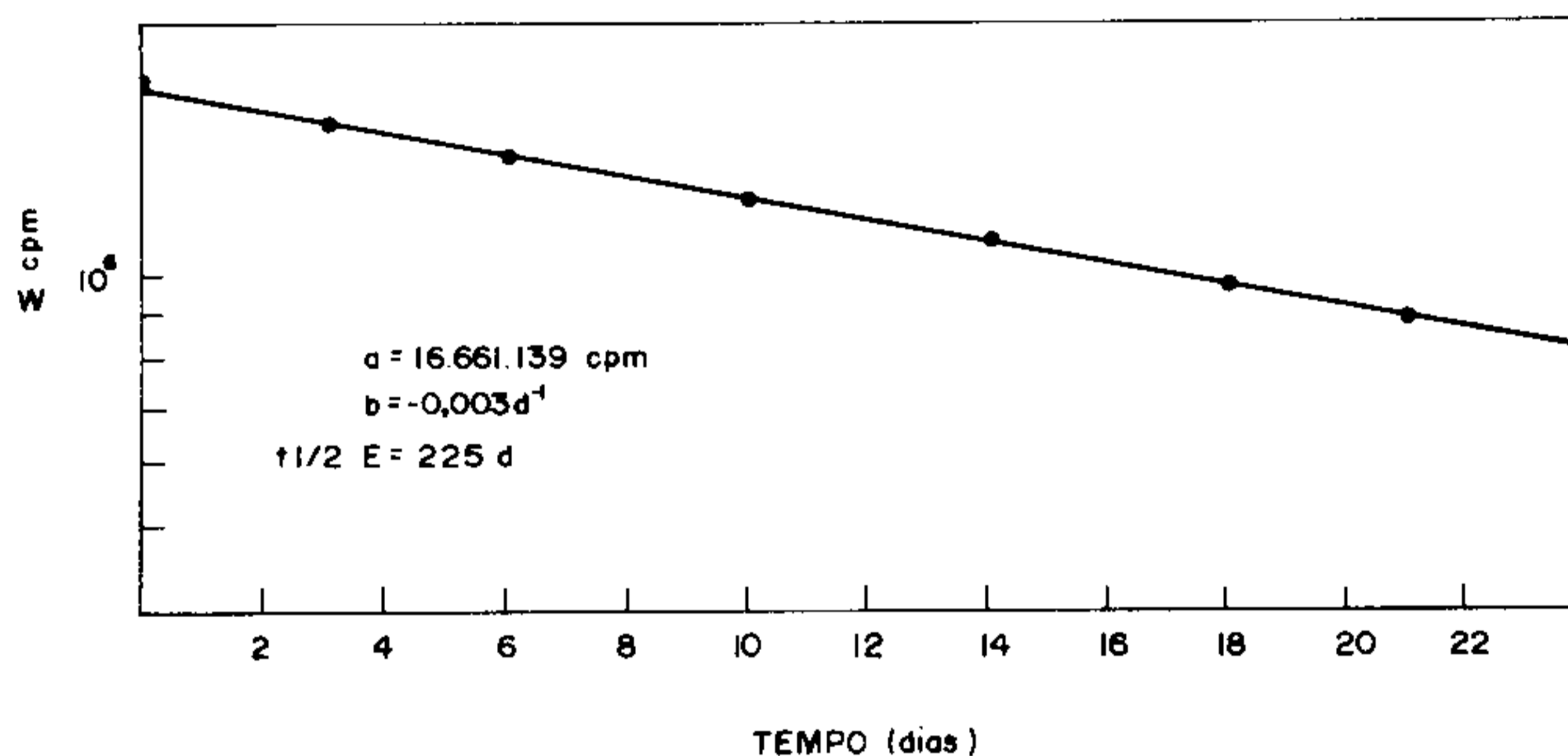


Fig. 6 - Remoção de ^{90}Sr de caramujos marcados.

TABELA III

Comparação das meias-vidas dos quatro radionuclídeos nos caramujos

Radionuclídeo	Meia-vida (dias)		
	Física	Efetiva	Biológica
^{59}Fe	45,6	2,9	3,1
^{75}Se	45,6	26,5	63,2
^{89}Sr	120,4	4,9	5,1
^{89}Sr	52,7	44	266
^{90}Sr	10 220	225	231

SUMMARY

The authors mark snails *Biomphalaria glabrata* with ^{75}Se , ^{59}Fe , ^{89}Sr and ^{90}Sr and through curves of uptake and decay and distribution of the radionuclides in the shell/soft parts conclude that radiostrontium can be used in field experiments on dispersion and dynamics of snail populations.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- COELHO, P.M.Z.; GAZZINELLI, G.; PELLEGRINO, J. & PEREIRA, L.H., 1973. Padronização do método de incorporação de ^{59}Fe , em *Biomphalaria glabrata*, para estudos de densidade populacional. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*. 15 :417-420.
- GAZZINELLI, G.; RAMALHO-PINTO, F.J.; PELLEGRINO, J. & GILBERT, B., 1970. Uptake of ^{59}Fe as a tool for study of the crowding effect in *Biomphalaria glabrata*. *Am. J. Trop. Med. & Hyg.* 19 :1034-1037.
- HENEINE, I.F.; GAZZINELLI, G. & TAFURI, W.L., 1969. Iron metabolism in the snail *Biomphalaria glabrata*: storage and transfer. *Comp. Biochem. Physiol.* 28 : 391-399.
- JOHNSON, C.R.; ANGEL, C.R. & ERICKSON, D.G., 1962. The uptake, distribution and excretion of four radionuclides in *Australorbis glabratus* (Planorbidae). *Am. J. Trop. Med. & Hyg.* 11 : 855-860.
- KNIGHT, W.B.; LIARD, F.; RITCHIE, L.S.; PELLEGRINO, J. & CHIRIBOGA, J., 1968. Labeling of *Biomphalaria glabrata* and cercariae of *Schistosoma mansoni* with radioselenium. *Exper. Parasitol.* 22 :309-315.