



## Padronização do Ensaio Cometa em *Artemia sp*

*Bárbara Santos da Silva Oliveira, Jorge Luiz Cerqueira dos Santos, Victor Hugo Rocha dos Santos, Manildo Marcião de Oliveira, Marcos Murata*

Com a intensificação do descarte de efluentes domésticos e industriais não tratados no meio ambiente há uma grande urgência na preservação dos ecossistemas e consequentemente da saúde humana, visto que dependemos de um ambiente saudável para a manutenção da vida. O Ensaio Cometa (EC) é um biomarcador muito utilizado para avaliação de danos no DNA, uma vez que apresenta alta sensibilidade na detecção de lesões no material genético, mesmo em organismos expostos a baixas concentrações de toxinas. Diante disso, o ensaio é empregado vastamente para o biomonitoramento de diversos ecossistemas, destacando o aquático. O presente projeto teve como objetivo realizar a padronização do Ensaio Cometa em células de *Artêmia sp*, a fim de otimizar a aplicação do teste para o monitoramento ambiental. Os cistos desidratados de artêmia, bioindicador utilizado, foram obtidos através da fornecedora Maramar Pet (Arraial do Cabo, RJ). Para a eclosão dos mesmos foram utilizados em média 2,5 g de cisto que estiveram imersos em solução salina sintética (2 NaHCO<sub>3</sub> g.L<sup>-1</sup> e 8 NaCl g.L<sup>-1</sup>) em constante iluminação e oxigenação faltando em média 24h para o início do ensaio cometa. O tempo é considerado um fator importante, pois o teste é efetuado com células de indivíduos jovens, os nauplius. Após eclodirem, as artêmiãs foram separadas em amostras contendo PBS, caracterizando o controle negativo, enquanto as demais amostras foram submetidas a substâncias químicas com potencial genotóxico comprovado, caracterizando o controle positivo. Posteriormente, as amostras dispostas nos microtubos foram misturadas em agarose de baixo ponto de fusão (LMP), obedecendo a razão: 75% de agarose e 25% amostra, fechando um volume total de 100 microlitros que foi despejado sobre uma lâmina previamente revestida por agarose de ponto de fusão normal 1,5% (NMP) e depois coberta por lamínula (24x50). As lâminas foram levadas para refrigeração até que a agarose estivesse gelificada. A partir de então, seguiu-se com o ensaio cometa realizado em condições alcalinas (pH >13), seguindo o protocolo segundo Sukumaran (2013) com algumas modificações. Os resultados obtidos demonstraram que a *Artêmia sp* possui grande sensibilidade quando em contato com agentes potencialmente genotóxicos. Por meio de microscópio óptico em aumento de 400x foi possível analisar e fotografar os nucleóides, onde foram capturadas 100 imagens de cometas em cada lâmina, contabilizando 300 cometas por amostra. Apesar de apresentar bons resultados, ainda se faz necessário mais testes para a obtenção de maior confiabilidade no ensaio para o monitoramento ecotoxicológico nesse bioindicador.

*Instituto Federal Fluminense*

