

MEDIDAS PRÁTICAS PARA DESCONTAMINAÇÃO DE BROMETO DE ETÍDIO EM LABORATÓRIO DE BIOLOGIA MOLECULAR.

RODRIGO JOSÉ FRAUSTO

CESUMAR - CENTRO UNIVERSITÁRIO DE MARINGÁ, MARINGÁ - PR

ADRIANA FIORINI

CESUMAR - CENTRO UNIVERSITÁRIO DE MARINGÁ

GIOVANNA CAPUTO DOS ANJOS ALMEIDA

CESUMAR - CENTRO UNIVERSITÁRIO DE MARINGÁ

FABIO ROGÉRIO ROSADO

CESUMAR - CENTRO UNIVERSITÁRIO DE MARINGÁ

O Brometo de Etídio (BrEt) é um composto sólido de cor vermelha representado quimicamente pela fórmula $C_{21}H_{20}BrN_3$. É um corante fluorescente, utilizado rotineiramente em laboratórios de Biologia Molecular como agente intercalante de ácidos nucleicos, permitindo a visualização de fragmentos de DNA/RNA através da eletroforese em gel. Seu efeito intercalante pode lhe conferir um caráter mutagênico, por esse motivo, o BrEt é considerado de grande periculosidade, sendo também moderadamente tóxico, incompatível com oxidantes fortes e liberador de gases tóxicos e vapores quando queimado. Dessa forma, sua manipulação, armazenamento e descarte exigem cuidados especiais, porém em corretas condições de uso e armazenamento, o composto permanece estável. Devido à sua periculosidade, a utilização constante desse corante deve ser monitorada. Dessa forma, o objetivo desse trabalho é levantar dados sobre os principais protocolos já estabelecidos de descontaminação e desativação do BrEt, que podem ser utilizados em laboratórios que fazem uso desse composto. Consta na literatura que soluções aquosas contendo menos de 10 micrograma por mililitro (10 ppm) de brometo de etídio poderão ser liberadas na pia e concentrações maiores que 10 micrograma por mililitro deverão ser inativadas por agentes químicos, filtração ou no caso de grandes quantidades do composto, devem ser incineradas. A concentração de BrEt utilizada para a visualização de fragmentos de DNA em géis de agarose em laboratórios de biologia molecular é em torno de 0,1 micrograma por mililitro de gel ou tampão. Apesar dessa baixa concentração, medidas de segurança devem ser bem estabelecidas, para o controle da contaminação ambiental ou do ambiente de trabalho. Altas concentrações de EtBr em géis de eletroforese, isto é, quando a cor do gel é rosa ou vermelho forte não deverão ser descartados em lixo comum. Os programas de Meio Ambiente, Saúde e Segurança (EHS) recomendam que menos que 0,1% EtBr podem ser colocados em lixo comum e maior ou igual que 0,1% devem ser colocados em caixa de biossegurança para incineração. Laboratórios que utilizam grandes quantidades de EtBr devem escolher um método para inativação desse composto. Para isso, encontram-se na literatura alguns métodos de inativação química do EtBr, sendo que os mais recomendados são: Método Armour (Lunn, G. and E. Sansone, Analytical Biochemistry, vol. 162, pp. 453-458, 1987): a uma solução de 34 mg de brometo de etídio em 100 mL de água, são adicionados 300 mL de alvejante caseiro. A mistura deve ser agitada à temperatura ambiente por quatro horas e colocada em repouso por 2-3 dias; ajustar o pH a 6-8 com hidróxido de sódio e descartar na pia. Método de Lunn e Sansone: para cada 100 mL da solução do brometo de etídio, adicionar ácido hipofosforoso 5%; adicionar 12 mL de $NaNO_2$ (nitrito de sódio) 0,5 mol/L; agitar e deixar em repouso por 20 horas; ajustar o pH a 6-8 com hidróxido de sódio e descartar na pia. Mesmo sendo estes protocolos aplicados para a inativação de soluções com uma concentração acima de 0,5 mg/ml de EtBr, o uso contínuo desse composto em laboratórios de biologia molecular deve seguir um padrão de segurança, com a utilização de equipamentos de proteção individual e coletiva para evitar o contato direto e a contaminação de áreas de trabalho. Sendo assim, estes protocolos devem ser divulgados e aplicados como uma forma prática de controle da contaminação por este agente deletério à saúde.

Palavras-chave: brometo de etídio; descontaminação; protocolos

rodrigojfrausto@wnet.com.br