COMO DESCARTAR RESÍDUOS DE BROMETO DE ETÍDIO?

Os resíduos de brometo de etídio (BE) devem ser submetidos a tratamento e disposição final específicos, conforme estabelecido na Resolução CONAMA Nº 358/05 para compostos tóxicos. Por serem resíduos tóxicos, não deverão ser descartados no lixo comum ou na pia. A segregação de resíduos líquidos e sólidos de BE deve ser feita em recipientes separados, assegurando-se da devida identificação com o rótulo de "resíduo perigoso", acrescido do pictograma de produto tóxico (Fig. 2).

Figura 2: Pictograma para Produto Químico Tóxico

As etiquetas dos recipientes devem indicar a data, os seus componentes contidos (inclusive água), a concentração aproximada, perfazendo um total de 100% para todos os componentes e o pH. Os recipientes serão lacrados, exceto os que ainda estiverem em preenchimento.

Preste sempre muita atenção na concentração de brometo de etídio com a qual está trabalhando, pois é com base nela que você vai adotar o procedimento adequado de descontaminação e descarte!

1 - Resíduos Sólidos

1.1 – Géis de Eletroforese

De acordo com a Resolução 358/05 do CONAMA, os géis e outros resíduos sólidos provenientes do tratamento de soluções de BE devem ser coletados e descartados como rejeito químico orgânico halogenado (*grupo C na classificação utilizada para o descarte de resíduos químicos no CCS*).

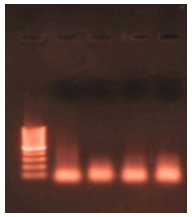


Fig. 3: Gel corado com BE
Imagem cedida por Ricardo Oliveira

2 - Resíduos Líquidos

Aplicam-se os tratamentos descritos a seguir, de acordo com a concentração da solução.

Todos os procedimentos deverão ser realizados em capela com sistema de exaustão e em local próximo à geração do resíduo.

2.1 – Descontaminação por adsorção em carvão ativo de solução de BE em concentração inferior ou igual a 10 µg/mL (Bensaude, 1988):

Este método destinado a soluções diluídas de BE é eficiente, de baixo custo e não oferece perigo.

- Adicione 300 mg de carvão ativo para cada 100 mL de solução de brometo de etídio (≤ 10 µg/mL);
- Deixe a mistura sob agitação durante 1 h, à temperatura ambiente;
- Filtre a mistura em papel de filtro;
- Verifique se o filtrado está livre de BE através da fluorescência sob luz Ultravioleta (UV);
- Descarte o filtrado na pia sob água corrente;
- O filtro e o carvão com resíduos descontaminados são descartados conforme já mencionado para resíduos sólidos, em recipientes adequados.

  Obs: Existem kits comerciais para a realização deste procedimento, como por exemplo: Funnel Kit (VWR), Green Bag (VWR) e Destaining Bags (Amresco).

2.2 – Descontaminação por adsorção em resina Amberlite XAD-16 de solução de BE em concentração inferior ou igual a 100 µg/mL (Lunn & Sansone, 1987):

Este método permite a descontaminação de soluções um pouco mais concentradas. Os autores não recomendam diminuir a quantidade de resina para soluções mais diluídas, de modo a garantir a total descontaminação.

- Adicione 2,9 g de Amberlite XAD-16 para cada 100 mL de solução de brometo de etídio segundo os limites de concentração (≤ 100 µg/mL);
- Agite a mistura por 12 h à temperatura ambiente.
- Filtre através de papel de filtro;
- Verifique se o filtrado está livre de BE através da observação de fluorescência sob luz UV;
- Descarte o filtrado na pia sob água corrente;
- Coloque o filtro e a resina Amberlite em um saco plástico para descarte como resíduos do grupo C no CCS.

Atenção: os procedimentos a seguir deverão ser realizados por pessoa familiarizada com reações químicas, devido ao risco de manipulação.

2.3 – Descontaminação de solução de BE em concentração inferior ou igual a 0,5 mg/mL por reação de inativação química com ácido hipofosforoso e nitrito de sódio (Lunn & Sansone, 1987)

Este protocolo se aplica a 100 mL de solução aquosa de BE em concentração de até 0,5 mg/mL. Se você tiver uma solução mais concentrada, deverá diluir em água até alcançar essa concentração ou uma concentração inferior.

- Adicione 20 mL de ácido hipofosforoso a 5%, recém-preparado (o ácido é corrosivo e deve ser manipulado com cuidado na capela);
- Adicione 12 mL de uma solução recém-preparada de nitrito de sódio 0,5 M (com pH próximo de 3);
- Homogeneíze e deixe em repouso por 20 h, à temperatura ambiente;
- Neutralize o pH (≈7) com bicarbonato de sódio em pó;
- Verifique a fluorescência indicadora de presença de BE, por meio de luz UV. Caso exista, repita o tratamento químico para completa inativação de BE;
- Descarte a solução na pia sob água corrente.

2.4 – Descontaminação de solução de BE em concentração de 10 mg/mL por reação de inativação química com permanganato de potássio (Quillardet & Hofnung, 1988).

Este protocolo se destina à solução muito concentrada de brometo de etídio e requer muito cuidado na sua execução.

- Adicionar o volume de 1:1 de $KMnO_4$ 0,5 M e misturar cuidadosamente;
- Adicionar HCl 2,5 N na proporção de 1:1; misturar cuidadosamente e deixar descansar à temperatura ambiente por várias horas;
- Neutralizar a solução com NaOH 2,5 N também na proporção de 1:1; misturar cuidadosamente;
- Descartar a solução em água corrente.

Caso os procedimentos de descontaminação não sejam adotados para as soluções, o material deverá ser encaminhado ao descarte de resíduos químicos do Centro de Ciências da Saúde.

CUIDADO! A inativação por hipoclorito de sódio é fortemente desaconselhada, devido à formação de substâncias mutagênicas durante a reação de oxidação (Lunn & Sansone, 1987).

Referências bibliográficas: Bensaude, O. Ethidium bromide and safety – readers suggest alternative solutions. Letters to editors. Trends in Genetics 4 (4): 90, 1988; Lunn, G. Decontamination of ethidium bromide spills. Trends in Genetics 6: 31, 1990; Lunn, G.; Sansone, E.B. Ethidium bromide: destruction and decontamination of solutions. Analytical Biochemistry 162: 453-458, 1987; Quillardet, P.; Hofnung, O. Ethidium bromide and safety - readers suggest alternative solutions. Trends in Genetics 4 (4): 89-90, 1988.Resolução CONAMA nº 358, DE 29 DE ABRIL DE 2005 (DOU nº 84, de 4 de maio de 2005, Seção 1, páginas 63-65); Sambrook, J; Fritsch, E.F.; Maniatis, T. Molecular cloning: a laboratory manual. New York: Cold Spring Harbor, 1989.

O QUE FAZER EM CASO DE CONTAMINAÇÃO COM BROMETO DE ETÍDIO?

Luvas e outros materiais:

As luvas contaminadas com BE, papel toalha e outros descartáveis deverão ser colocados em um saco plástico, com a etiqueta adesiva de cor laranja para identificação de resíduo químico tóxico. Este material deverá ser descartado como rejeito químico do grupo C no CCS.

Atenção: em caso de contato da pele ou projeção sobre os olhos com solução de brometo de etídio, lave abundantemente com água a região afetada. Consulte um oftalmologista em caso de acidente com os olhos. Para evitar acidentes , nunca deixe de usar jaleco de mangas compridas, luvas e óculos de proteção ao manipular brometo de etídio!

Bancadas:

Em caso de derramamento acidental de BE em pó sobre a bancada, recolher imediatamente o material dentro de um recipiente seco para descarte posterior, devidamente identificado, como explicado anteriormente. Você derramou solução de BE na bancada, no chão? Enxugue com papel toalha embebido com solução de nitrito de sódio e ácido hipofosforoso. Limpe cinco vezes com papel toalha molhado em água. Os papéis toalhas utilizados poderão ser descartados no lixo comum (Lunn, 1990).

COMO DIMINUIR A GERAÇÃO DE RESÍDUOS DE BROMETO DE ETÍDIO?

- Revelação de DNA por outros reagentes menos tóxicos. Exemplos: Gel Red e Gel Green (Biotium) ou ainda SybrSafe (Invitrogen);
- Utilização de filtros comerciais para remoção de BE em tampões e soluções aquosas;
- Substituição, sempre que possível, de soluções concentradas de BE por soluções diluídas;
- Utilização de escalas micro e semimicro em laboratório.

Agindo assim, contribuímos para a melhoria das condições de trabalho e preservamos o meio ambiente.

Apoio: ICB INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS UFRJ

O QUE É O BROMETO DE ETÍDIO?

O brometo de etídio ou brometo de 3,8-diamino-5-etil-6-fenilfenantridinium é um corante vermelho-escuro, com fórmula molecular $C_{21}H_{20}N_3Br$ (Fig. 1). Solúvel em água (5 g/100 mL), o brometo de etídio é estável nas condições habituais de laboratório, porém reage violentamente em condições fortemente oxidantes.

A abreviatura EtBr é geralmente utilizada para se referir ao brometo de etídio (ethidium bromide). Não confundir com a representação para a fórmula do brometo de etila (C_2H_5Br). Neste folheto adotou-se uma abreviatura em português (BE).

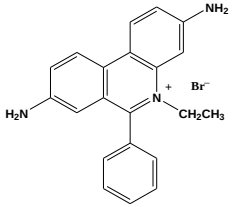


Fig. 1: Brometo de etídio (massa molar 394,31; ponto de fusão 238-240 °C)

Utilizado na coloração de géis de eletroforese, o brometo de etídio identifica fragmentos de ácidos nucléicos através da formação de complexos fluorescentes de intercalação com o DNA. Por essa característica é considerado um agente mutagênico, tóxico, possivelmente carcinogênico e teratogênico. O brometo de etídio é amplamente empregado em biologia molecular, biologia celular, citofluorometria e citologia. Sua manipulação deve ser feita com a devida precaução (uso de luvas de nitrila, óculos e máscara) para evitar contato com a pele, inalação e ingestão. Lembre-se que o brometo de etídio sob a forma de pó é muito mais tóxico do que em solução e sua inalação pode causar sérios danos ao aparelho respiratório.

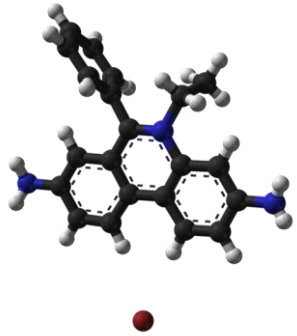
As muitas controvérsias sobre os métodos de descontaminação e descarte do brometo de etídio motivaram a Coordenação de Biossegurança do CCS a elaborar este folheto, guiada por literatura com reconhecido embasamento técnico-científico. Por isso, recomendamos os procedimentos deste folheto para o descarte seguro de brometo de etídio.

A nossa saúde e o meio ambiente agradecem!

Agradecimentos especiais aos alunos Ricardo Melo Oliveira (Núcleo de Boas Práticas de Laboratório e Biossegurança, IBCCF, UFRJ; Coordenação de Biossegurança do CCS, UFRJ) e Amanda Pietroluongo (estagiária em Biossegurança – CCS, UFRJ) pela contribuição à elaboração do folheto sob a supervisão técnica da Profª Sônia Costa (Coordenadora de Biossegurança no CCS).

CCS UFRJ

O que devo fazer com os resíduos de **brometo de etídio** no laboratório?



Coordenação de Biossegurança

Portaria Nº. 2062/2011 BUFRJ Nº. 15 (14/04/2011)

2012