



Nº25, dez./98, p.1/3

COMUNICADO TÉCNICO

DESCONTAMINAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS TÓXICAS: FENOL E BROMETO DE ETÍDIO.

Kátia Regina dos Santos Teixeira¹
Wanderley de Oliveira Pires²
José Ivo Baldani¹

A prática de processos referentes a biossegurança são essenciais para a manutenção da saúde das pessoas que lidam diretamente com organismos vivos e substâncias tóxicas para o organismo humano. No caso dos microrganismos é essencial o uso de fluxos laminares ou outras técnicas de contenção (como o uso do bico de Bunsen) que impeçam a sua dispersão durante a manipulação. Outra prática muito importante é que todos os materiais derivados de cultivos de microrganismos devem ser submetidos a esterilização (por exemplo autoclavagem) antes de serem descartados. Por outro lado, é também importante eliminar ou minimizar os riscos de contaminação do ambiente, soluções, bancadas, equipamentos, utensílios (pinças, espátulas, etc.) ou vidrarias por substâncias tóxicas para o organismo humano.

O processamento de substâncias com alto potencial tóxico ou mutagênico, como o Brometo de Etídio (EtBr) e Fenol, tem sido um dos grandes problemas da maioria dos laboratórios. O Brometo de Etídio (EtBr) é comumente utilizado nos laboratórios para corar ácidos nucléicos submetidos a eletroforese em gel de agarose ou a gradiente de Cloreto de cério. A ação do EtBr como corante se deve a sua capacidade de intercalar entre as bases dos ácidos nucléicos e fluorescer sob luz Ultra Violeta. Este caracter intercalante do EtBr também é o responsável pelo seu alto potencial mutagênico pois pode gerar alterações na estrutura do DNA as quais poderão ser perpetuadas durante o processo de duplicação. Dessa forma a leitura errada das sequências de bases do DNA pode resultar em mutação. O Fenol por sua vez requer que a sua

¹ Pesquisadores da Embrapa *Agrobiologia*, km 47, Caixa Postal 74505, CEP: 23851-970 Seropédica, RJ

² Auxiliar Operacional III da Embrapa *Agrobiologia*

manipulação ocorra em capela de exaustão devido a sua característica de volatilização. Os gases liberados são altamente tóxicos, irritantes de pele e mucosa podendo resultar em queimaduras ou até mesmo sérios problemas respiratórios. Uma das formas de minimizar o problema de descarte dessas substâncias é o tratamento químico para inativar essas moléculas pelo rompimento químico do anel aromático, pelo uso de substâncias ativadas como resina e carvão ou mesmo pela queima em fornos de alta temperatura de resíduos acumulados em papéis (Lunn & Sansone, 1987, 1989; Quillardet & Hofnung, 1988; Bensaude, 1988).

No Laboratório de Genética e Bioquímica da Embrapa Agrobiologia tem-se buscado resolver o problema de descarte de EtBr e Fenol da seguinte forma:

1 - Tratamento de resíduos de Fenol.

Todos os resíduos derivados de Fenol, utilizado em uma das etapas de extração de ácidos nucleicos para eliminar proteínas e restos celulares, são descartados separadamente em um frasco. Posteriormente, a este resíduo é adicionado Carbonato de Cálcio suficiente para formar uma pasta. Em seguida, esta pasta é deixada em repouso por mais de 6 meses até que a mistura possa ser incinerada eliminando a emissão de gases tóxicos.

2 - Tratamento de soluções concentradas de EtBr (até 10 mg/ml).

Existem várias técnicas para o tratamento de descontaminação do EtBr. A mais simples e fácil de ser aplicada na rotina é baseada no tratamento de soluções de EtBr com Permanganato de Potássio em condições de acidez. Durante este tratamento haverá a oxidação do EtBr pelo Permanganato resultando na formação de um precipitado marrom escuro. Posteriormente, esta mistura é neutralizada com NaOH e descartada (Sambrook et al., 1989). O protocolo, como descrito em Sambrook et al. (1989) é o seguinte: Adicionar, se necessário, água na solução concentrada até diluir a concentração de Et Br para 0,5 mg/ml. Em seguida adicionar KMnO₄ 0,5 M equivalente a 1 volume da solução que será descontaminada. Misturar cuidadosamente e, em seguida, adicionar 1 volume de HCl 2,5 M. Misturar cuidadosamente e deixar descansando por várias horas à temperatura ambiente. Para finalizar, neutralizar esta mistura adicionando 1 volume de NaOH 2,5N. Misturar cuidadosamente e a solução poderá ser descartada diretamente na pia sob água corrente.

Este método de descontaminação de soluções concentradas de EtBr (10 mg/ml) é capaz de reduzir a atividade mutagênica em até 3000 vezes como foi descrito por Quillardet & Hofnung (1988).

OBS.: No caso da água usada no descoramento dos géis, onde existe uma baixa concentração de EtBr, utilizar Hipoclorito de sódio (água sanitária comercial) na proporção de 1:2, antes de descartar na pia. Os resíduos sólidos (géis e papéis) são secos a temperatura ambiente e posteriormente incinerados em forno de alta temperatura.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- BENSAUDE, O. Ethidium bromide and safety - readers suggest alternative solutions. Letters to editors. **Trends in Genetics**, Amsterdam, v.4, p.90, 1988.
- LUNN, G.; SANSONE, E.B. Ethidium bromide: destruction and decontamination solutions. **Analytical Biochemistry**, New York, v.162, p.453-458, 1987.
- LUNN, G.; SANSONE, E.B. Decontamination of Ethidium bromide spills. **Applied Industrial Hygiene**, Glenway, v.4, p.234-237, 1989.
- QUILLARDET, P.; HOFNUNG, M. Ethidium bromide and safety - readers suggest alternative solutions. Letters to editors. **Trends in Genetics**, Amsterdam, v.4, p.89, 1988.
- SAMBROOK, J.; FRITSCH, E.F.; MANIATIS, T. **Molecular cloning: a laboratory manual**. New York: Cold Spring Harbor, 1989. 3v.