

אתידיום ברומיד – ethidium bromide סיכונים בריאותיים, התגוננות וסילוק פסולת

דף מידע מאת: ד"ר אשר פרדו

אתידיום ברומיד הוא תרכובת ארומטית המופיעה כאבקה גבישית בצבע אדום כהה (חומר טהור). הוא נמס במים ובכהל. השלד המולקולרי של אתידיום ברומיד בנוי מטבעת פירידינית צמודה לשתי טבעות אניליניות היוצרות יחד את שלד פננתרי הנקרא פננתרידן. טבעת פנילית מהווה זרוע צדדית של המולקולה. החנקן בטבעת הפירידינית הוא חנקן רבעוני הקושר אליו את יון הברומיד.

מנגנון פעולה ושימושים

מולקולת האתידיום ברומיד חודרת בקלות יחסית אל בין בסיסי ה-DNA בסליל הכפול של החומר הגרעיני ויוצרת קשירה עם הבסיסים. קשירה זו יוצרת סביבה הידרופובית חזקה המעצימה את הפלואורסצנסיה של מולקולת האתידיום ברומיד כמעט פי 20 מהעוצמה הפלואורסצנטית של המולקולה בנפרד. המולקולה זורחת באור אדום-כתום תחת אור אולטרה-סגול. תכונה זו מנוצלת לצביעת מולקולות של חומצות גרעין (DNA) אתידיום ברומיד מומס בשיטות של אלקטרופורזת גל בתחום הביולוגיה המולקולרית. הוא נמצא בשימוש רחב במעבדות מחקר בתחום הביולוגיה, ביוכימיה, ביוטכנולוגיה, ביולוגיה מולקולרית, רפואה, הנדסה גנטית ועוד.

סיכונים בריאותיים

יכולת הקשירה של אתידיום ברומיד למולקולות DNA הופכת אותו למוטגן בעל עוצמה ובעל פוטנציאל גנוטוקסי. על אף העדר ראיות מספיקות להיותו של אתידיום ברומיד קרצינוגני ו/או טרטוגני (מזיק לעובר) הוא נחשד ככזה עקב הפוטנציאל המוטגני הגבוה שלו.

אתידיום ברומיד חודר לגוף דרך הנשימה, העור והבליעה. במגעו עם העור וריריות דרכי הנשימה והעיניים הוא גורם לגירויים. בליעה בלתי מכוונת, או עקב גהות אישית לקויה עלולה לגרום לגירוי חזק של רירית המעי ותופעות לואי של בחילה, הקאה ושלשול.

אתידיום ברומיד עלול לגרום למטהמוגובינמיה בדם (חימצון הברזל הדו-ערכי בהמוגלובין לברזל תלת-ערכי ושיבוש קשירת חמצן להמוגלובין עקב כך).

בעור עלול החומר לגרום לשינוי צבע והשאתת כתמים. גירוי עיניים עלול להיות מלווה באודם וכאב.

במעוין הסיכון מסווג אתידיום ברומיד בסיווג 4 (קיצוני) לגבי בריאות ובסיווג 3 (חמור) לגבי מגע ישיר. הריכוז הקטלני בנשימה – LC50 – המדווח לגביו הוא 118 – 134 מ"ג/מ"ק.

במגע עם להבה עלול לחול פירוק תרמי באתידיום ברומיד ותוצרי שריפה צפויים הם תחמוצות חנקן מגרות, פחמן חד חמצני ודו חמצני, מימן ברומי (חומצה הידרוברומית) העלול להיות קורוזיבי לעור וריריות.

התגוננות

1. ההגנה ההנדסית הנכונה במעבדות היא שימוש במנדף כימי. באותם מקומות שבהם העבודה צריכה להתנהל במנדף ביולוגי למינרי או אחר, יש לוודא שהמנדף הוא בעל צינור פליטה חיצוני (IIB2 או IIB3) ואינו מהסוג המסחרר אוויר בחדר דרך מסנן (IIA).
2. יש להשתמש בכפפות ניטריל ולא בכפפות לטקס. יש לשטוף את הכפפות לפני הסרתן. בעבודה עם ריכוזים גבוהים של אתידיום ברומיד מומלץ ללבוש כפפות כפולות ולהסיר את הכפפות הפנימיות אחרי שהוסרו שאר הפרטים של ציוד המגן.

3. מומלץ לרכוש תמיסות וערכות ניסוי מוכנות כדי להמנע מהצורך להכין תמיסות עם אתידיום ברומיד במעבדה.
4. יש להמנע ממגע עם מקורות בעירה וחום ועם חשמל סטטי ומקורות הצתה. מומלצת הארקה. תאורה מוגנת פציצות ואיוורור מוהל בנוסף להגנה האישית.
5. יש להמנע ממגע עם מחמצנים חזקים כדי למנוע התלקחות.
6. יש לשטוף בזהירות מיכלים שהכילו אתידיום ברומיד בתמיסה בטרם איחסונם סילוקם.
7. מומלץ לנסות לעבור לחומר תחליפי בעל סיכון מופחת. אחד החומרים הנדונים הוא SYBR Safe™ DNA gel stain.

סילוק פסולת

המשרד לאיכות הסביבה (בחוזר מיום 24.6.2003) הנחה להתייחס לפסולת של אתידיום ברומיד כפסולת רעילה. יש לפנות מיכלי פסולת המכילים אתידיום ברומיד לרמת חובב.

הטיפול בפסולת מתחלק לטיפול במוצק וגל המכיל אתידיום ברומיד ולטיפול בתמיסות המכילות את החומר.

- פסולת מוצקה של אתידיום ברומיד וגלים נאספים במיכלים פלסטיים יעודיים. על גבי המיכל צריכה להיות מדבקה המציינת: **פסולת אתידיום ברומיד (EB); סכנה! החומר רעיל ומוטגני.**
- תמיסות המכילות אתידיום ברומיד צריכות לעבור סינון בטרם יהיה ניתן לפנות את התסנין ללא אתידיום ברומיד לביוב. הסינון מתבצע בעזרת ערכות מוכנות הכוללות שקיות ספיחה. השקית מכילה חומר סופח כגון פחם פעיל או חומר קושר יונים. חומרים אלה קושרים אליהם את האתידיום ברומיד המומס ומשאירים את התסנין נקי מהחומר הרעיל. דוגמה לערכה מסחרית לסינון תמיסות היא ערכה של חברת AMRESCO הנקראת Destaining Bag.

המוצק המתקבל לאחר הסינון הוא תערובת של האתידיום ברומיד והחומר הסופח בשקית. מוצק זה מועבר למיכל האיסוף היעודי לפסולת מוצקה ומפונה לרמת חובב.

דרכים מומלצות לטיפול באתידיום ברומיד ע"י גורמים בחו"ל

לשם העשרה והשוואה ינתנו כאן דרכים נוספות לטיפול באתידיום ברומיד, המומלצות ע"י גופי בריאות ובטיחות וביניהם גופים אקדמאים (פרינסטון, סטנפורד), שגם הם ממליצים לנהוג באופן שונה עם גל המכיל אתידיום ברומיד ועם תמיסות של החומר. ניתן להשתמש בשיטות הניטרול והסילוק המומלצות כאן.

סילוק פסולת

ריכוזי עקבות של אתידיום ברומיד בגל אינם נחשבים כיוצרי סיכון. לעומת זאת אם צבע הגל ורוד כהה או אדום מעיד הדבר על ריכוזים גבוהים של אתידיום ברומיד.

המלצות סילוק פסולת גל הן:

א. אם הגל מכיל אתידיום ברומיד בריכוז נמוך מ- 0.1% (1 גרם ב- 1 ק"ג גל) ניתן לסלקו בפסולת הרגילה של המעבדה.

ב. אם הגל מכיל אתידיום ברומיד בריכוז גבוה מ- 0.1% יש לסלקו במיכל המיועד לפסולת ביולוגית (biohazard) ולהעבירו לשריפה.

יצוין שרשות ה-EPA בקליפורניה הסכימה לראות בריכוז משקלי של אתידיום ברומיד בפסולת בגובה 0.40% כגבול בין סיווג הפסולת כמסוכנת לבלתי מסוכנת. גופים אחרים בעולם מחמירים, כאמור, יותר.

המלצות לסילוק תמיסות אתידיום ברומיד הן:

- א. תמיסה מימית המכילה אתידיום ברומיד בריכוז נמוך מ- 10 מיליגרם/ליטר ניתן לסלק לביוב רגיל.
- ב. תמיסה המכילה אתידיום ברומיד בריכוז גבוה מ- 10 מיליגרם/ליטר יש לסנן או לנטרל באחת הדרכים שתוארו להלן.
- קיימות גם המלצות המכוונות לשיטת סילוק הפסולת על סמך צורת ההופעה של אתידיום ברומיד (תמיסה, גל, גבישים מוצקים) בסביבת העבודה. הטבלה הבאה מסכמת שיטות אלה.

פרוצדורת הטיפול בפסולת	מאפיינים	סוג הפסולת
סינון או ספיחה בטרם שפיעה לביוב. יש לוודא שלא מבחינים בפלואורסצנסיה של התמיסה בטרם סילוקה.	ריכוזי אתידיום ברומיד קטנים מ- 0.5 mg/L	תמיסות בופר
ניטרול התמיסה בטרם סילוקה. סינון וספיחה אינם יעילים במצב זה.	ריכוזי אתידיום ברומיד בתחום 1 – 10 mg/L	תמיסות איחסון (או יחד עם צסיום כלוריד)
יש להניח את המסננים בשקיות מסומנות ולסלק את השקיות על פי הנחיות של פסולת רעילה ובאופן מבוקר.	מסננים מזוהמים באתידיום ברומיד	מסננים ששמשו לסינון EtBr
יש לאפשר לגל להתייבש ואז להניח אותו בשקיות מסומנות ולסלק את השקיות על פי הנחיות של פסולת רעילה ובאופן מבוקר.	ריכוז אתידיום ברומיד בתחום 3 – 5 mg/L	גל
ציוד זכוכית יש לשים במיכלים מוגנים. יש לשים שאריות אחרות בשקיות מסומנות ולסלק את השקיות לשריפה באופן מבוקר כפסולת רפואית. לפני הסילוק יש לשקול טבילת פריטים בעלי חשד לזיהום גבוה בתמיסת היפוכלורית לשם ניטרולם.	כפפות, פריטי מעבדה מזוהמים באתידיום ברומיד וכו'	שאריות פריטים וציוד
סילוק על פי נהלי פסולת רעילה	אתידיום ברומיד טהור ומרוכז	גבישים ואבקות

שפך

ניתן לאתר אתידיום ברומיד משפך קטן ע"י שימוש במנורה אולטרה סגולה. אבקות בכמות קטנה יש לנקות ע"י ספיגה במטלית או בנייר סופג רטוב. תמיסות יש לספוג היטב. יש לשטוף את מקום השפך במים מספר פעמים כדי לסלק כל עקבות של החומר. לאחר טיפול יש להאיר את הנקודות שטופלו במנורת UV כדי לגלות שאריות חומר נוספות.

ניתן לטהר שטחים שנשפך עליהם אתידיום ברומיד ע"י תמיסת ניטרול ולספוג את התמיסה במטליות יעודיות או בנייר סופג. את המטלית או בנייר המשומשים יש להכניס לשקים כפולים יחד עם פריטים מזוהמים אחרים (כפפות, פריטי זכוכית וכו') ולסלק כפסולת רעילה. בעת הטיפול בשפך יש ללבוש ציוד מגן אישי הכולל חלוק מעבדה או סרבל, כפפות, משקפי מגן סגורות.

פרוצדורות לניטרול

יש שלוש פרוצדורות מקובלות לניטרול אתידיום ברומיד.

1. שיטת Armour

בשיטה זו מערבבים כמויות שוות של אתידיום ברומיד ותמיסת היפוכלורית למשך ארבע שעות תוך ערבוב מפעם לפעם, או ללא ערבוב למשך 2-3 ימים. לאחר מכן מביאים את התמיסה ל- pH 4 – 9 בעזרת נתן הידרוקסיד ומסלקים לביוב עם כמויות גדולות של מים.

2. שיטת Sansone ו-Lunn

מערבבים 100 מ"ל של תמיסת אתידיום ברומיד עם 5% תמיסת חומצה היפו-זרחתית ו- 12 מ"ל של תמיסת נתן חנקתי בריכוז 0.5 מולאר. את התערובת מערבבים ומעמידים ל- 20 שעות. לאחר מכן מביאים את התמיסה ל- pH 4 – 9 בעזרת נתן הידרוקסיד ומסלקים לביוב עם כמויות גדולות של מים.

3. שיטת Hoffnung ו-Quillardet

ניטרול אתידיום ברומיד בתמיסה המורכבת מאשלגן פרמנגנט בריכוז 0.5M ו- חומצה הידרוכלורית בריכוז 2.5M. שיטה זו אינה מומלצת ביותר עקב אפשרות לשחרור כלור גזי מהריאקציה בין שני החומרים.

פרוצדורה לסילוק ע"י סינון

סינון תמיסות מימיות של אתידיום ברומיד דרך מסנני פחם פעיל. התסנין יכול להשפך לביוב

ואילו שכבת הפחם המסוננת מונחת בסוף התהליך במיכל לפסולת ביולוגית (biohazard) ומסולקת לשריפה. ניתן להשיג ערכות מסחריות לסינון זה. שיטה זו דומה לשיטה המומלצת בארץ.

משפטי סיכון ואזהרה המלווים סימון ותיווי של אתידיום ברומיד

R22, R26, R36,37,38, R68 S26, S28, S36/37/38, S45.

ד"ר אשר פרדו - מרכז מידע של המוסד לבטיחות ולגיהות