

Bioseguridad en la utilización del bromuro de etidio en los laboratorios de biología molecular

BIOSAFETY IN THE USE OF ETHIDIUM BROMIDE IN MOLECULAR BIOLOGY

LABORATORIES

Castro-Chacín, Luis D.; Díaz-Martínez, Luis A.

 Luis D. Castro-Chacín

luiscastro185@gmail.com

Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas,
Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias
(INIA-CENIAP), Venezuela Luis A. Díaz-MartínezFacultad de Ingeniería, Escuela de Procesos
Industriales, Universidad Central de Venezuela
(UCV), Venezuela

Petroglifos Revista Crítica Transdisciplinaria

Fundación Grupo para la Investigación, Formación, y Edición
Transdisciplinaria, Venezuela

ISSN-e: 2610-8186

Periodicidad: Semestral

vol. 4, núm. 2, 2021

editor@petroglifosrevistacritica.org.ve

Recepción: 21 Septiembre 2020

Aprobación: 22 Septiembre 2021

URL: <http://portal.amelica.org/ameli/journal/650/6503018004/>DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.5589220>Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-
NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional.

Resumen: El bromuro de etidio $C_{21}H_{20}N_3Br$ (bromuro de 3,8-diamino-5-etil-6-fenilfenantridina), comúnmente conocido como BrEt, es un agente intercalante no reactivo, utilizado en laboratorios de biología molecular como marcador para la identificación y visualización de bandas de ácidos nucleicos. El BrEt se adhiere a las moléculas de ácido nucleico, provocando un contraste entre el gel y las bandas, que en presencia de luz ultravioleta emite una luz rojo – naranja. Aunque el BrEt es un agente tóxico clasificado como mutagénico, sospechoso de ser teratógeno y carcinógeno, se usa ampliamente en laboratorios de biología molecular a concentraciones bajas ($0,01 \mu g.mL^{-1}$). Además, es de menor costo, en comparación con otros productos de acción similar, como Sybr Safe (Invitrogen®), Gel Red (Biotum®) o verde Midori (NipponGenetics®). Como cualquier sustancia de naturaleza química compleja, requiere de la formación adecuada del personal técnico e investigadores para su uso y conocimiento de las normas de seguridad necesarias en su manipulación, almacenamiento y disposición final. Por tanto, el objetivo de este trabajo fue proporcionar una información inicial del BrEt para que las personas que emplean este producto químico, puedan planificar estrategias de higiene, prevención, bioseguridad, salud y seguridad laboral en los laboratorios de biología molecular.

Palabras clave: Agente intercalante, bioseguridad, riesgo, salud ocupacional, toxicidad.

Abstract: The Ethidium bromide $C_{21}H_{20}N_3Br$ (3,8-diamino-5-ethyl-6-phenylphenanthridine bromide), commonly known as BrEt, is a non-reactive intercalating agent, used in molecular biology laboratories as a marker for the identification and visualization of nucleic acids bands. BrEt adheres to nucleic acid molecules, causing a contrast between the gel and the bands, which in the presence of ultraviolet light emits a red-orange light. Although BrEt is a toxic agent classified as mutagenic, suspected of being teratogenic and carcinogenic, is widely used in molecular biology laboratories at low concentrations ($0,01 \mu g.mL^{-1}$). In addition, it is lower in cost compared to other products of similar action, such as Sybr Safe (Invitrogen®), Gel Red (Biotum®) or Midori green (NipponGenetics®). Like any substance of a complex chemical nature, it requires the adequate training of technical personnel and researchers for its use and

knowledge of the safety standards necessary for its handling, storage and final disposal. Therefore, the objective of this work was to provide initial information about BrEt, so that people who use this chemical product can plan hygiene, prevention, biosafety, health and occupational safety strategies in molecular biology laboratories.

Keywords: Biosafety, intercalating agent, occupational health, toxicity, risk.

INTRODUCCIÓN

El personal que trabaja en laboratorios de biología molecular, se encuentra a diario expuesto a sustancias químicas de naturaleza compleja, las cuales genera potenciales efectos mutagénicos, teratogénicos y/o carcinogénicos. En general, es posible que el personal ignore las normativas de bioseguridad para el uso, manipulación, almacenamiento y disposición final de tales sustancias. Por lo cual, se exponen a riesgos muy elevados por el uso de estas. Esto hace necesario la implementación de estrategias relacionadas a la bioseguridad, incluida el diseño, proyección, investigación, organización, seguimiento y revisión de las medidas de prevención, para eliminar y reducir al mínimo los riesgos y sus consecuencias, conocidas como prevención de riesgos (Organización Internacional del Trabajo [OIT], 2017).

El riesgo, se define como la probabilidad de obtener un resultado desfavorable como consecuencia de la exposición a un evento que puede ser casual, fortuito o inseguro (Chávez, 2018). Matemáticamente, la magnitud del riesgo (daños) se expresa como el producto del peligro por la exposición a una situación particular. La peligrosidad de los agentes químicos radica en dos elementos: sus propiedades intrínsecas (propiedades fisicoquímicas, índice de toxicidad, entre otros) y la manera de manejarlas. Estas propiedades favorecen su movilización a través del aire y representan factores de riesgo elevado para el personal de laboratorio por su interacción con el químico (Torres González *et al.*, 2011).

En la mayoría de los centros de docencia e investigación, las dosis usadas en los reactivos y los tiempos de exposición son mínimos, lo cual hace que no se dé la importancia debida al riesgo, por lo que, los límites de exposición permisibles deben ser un requisito indispensable para la generación de un plan de higiene química en los laboratorios de enseñanza e investigación. Este plan de higiene, debe incluir actividades de mantenimiento, renovación, limpieza, desinfección. Así como, la actuación en situaciones de emergencia, en caso de derrame y las medidas de recolección de sus residuos. Debe tenerse en cuenta que, por alguna razón, este tipo de operaciones no se realizan habitualmente, por lo que es frecuente que se den situaciones de riesgo elevado que exigen la adopción de medidas preventivas específicas (Pastor Blázquez *et al.*, 2007).

El bromuro de Etidio (**BrEt**) es un químico ampliamente utilizado en los laboratorios de biología molecular en la técnica de electroforesis en gel de agarosa, específicamente como agente que se intercala en los ácidos nucleicos. Dicho producto, puede adquirirse comercialmente en forma sólida (polvo) o en disolución acuosa, con una concentración del 1%, siendo esta la de uso más frecuente. El BrEt no dispone de valor límite de exposición profesional, ni de una metodología reconocida para su determinación (Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo [INSSTC], 2013). Es así como la OIT en el 2017 reportó los límites de exposición química ocupacional, que muchos países han desarrollado. En sus informes se han realizado recomendaciones y normas regulatorias para la exposición en el aire a gases, vapores y partículas.

El fundamento principal de la prevención y para evitar los riesgos, es proteger al trabajador de la exposición a agentes químicos, como el BrEt, en el área de trabajo. Por tanto, una buena actuación en prevención de riesgos implica evitar o minimizar las causas de los accidentes y de las enfermedades derivadas de una exposición inadecuada a agentes químicos. Por lo que es importante, seguir las recomendaciones en las

medidas de control técnico implementadas para su manipulación, así como la verificación y seguimiento periódico de estas normas para comprobar su correcto ejercicio (Díaz Zazo, 2015).

El objetivo del presente trabajo fue proporcionar información básica sobre el bromuro de etidio, dirigido a las personas que emplean este producto químico para desarrollar y planificar las estrategias de seguridad, higiene y salud laboral en laboratorios de biología molecular, y de esa forma aportar a la cultura de prevención en el uso del BrEt.

Características del bromuro de etidio

El BrEt es un químico líquido color rojo-naranja, de naturaleza catiónica y fluorescente, químicamente identificado como Bromuro de 3,8-diamino-5-etil-6-fenilfenantridino, Bromuro de 2,7-diamino-10-etil-6-fenilfenantridinio, Bromuro de 2,7-diamino-10-etil-9-fenilfenantridinio, Bromuro de 3,8-diamino-1-etil-6-(2) fenilfenantridinio o Bromuro de Homidio (fórmula química $C_{21}H_{20}N_3Br$ y masa molecular $394,32 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) (Lunn y Sansone, 1987). El BrEt se caracteriza por ser un producto estable en condiciones normales de laboratorio, el cual es capaz de intercalarse en la hélice de los ácidos nucleicos y, según datos espectrales de luz ultravioleta, es fluorescente a longitudes de onda de 210, 285, 316, 343, 506 nm, que se intensifica unas 20 veces después de haberse unido a los ácidos nucleicos.

Los químicos de naturaleza fluorescente se intercalan en el ADN como el BrEt, y suelen ser o estar formados por estructuras policíclicas planas, generalmente sistemas aromáticos o heteroaromáticos deficientes, que poseen la capacidad de insertarse entre las bases nitrogenadas del ADN. En virtud de su estructura electrónica, son capaces de absorber fuertemente la luz ultravioleta (UV) y son sustancias coloreadas, por lo que se designan como “cromóforo” para referirse a este tipo de sistema (García Hernández, 2009).

El bromuro de etidio se intercala cuando el ligando interactúa con el ADN o ARN, formando enlaces covalentes situados entre pares de bases nitrogenadas de un fragmento lineal de ADN (Figura 1).

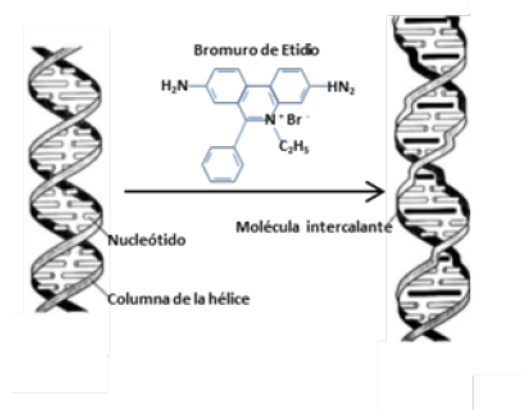


Figura 1. Esquema de la unión del intercalante BrEt a un fragmento lineal de ADN.

Nota. Adaptado de Desarrollo y validación de nuevas metodologías para la caracterización de la interacción de ligandos con ADN. Estudio de la unión de cromóforos catiónicos heteroaromáticos con potencia intercalante (p. 38), por V. García Hernández, 2009.

El BrEt fue uno de los numerosos tripanocidas de fenantridina desarrollados para su uso en el ganado a principios de los 50's (Watkins, 1952). Posteriormente, fue utilizado como sonda molecular para producir contraste en presencia de luz ultravioleta y visualizar ácidos nucleicos en estudios de microscopía fluorescente de resistencia a múltiples fármacos, la caracterización y cuantificación del ADN y como fármaco antiprotozoario parasitotóxico para el tratamiento de la leishmaniasis (Pavelic *et al.*, 1985).

El BrEt todavía se usa como fármaco antitripanosomal para el ganado africano y su mecanismo de acción, en seres vivos como el *Trypanosoma*, se caracteriza por unirse al ADN del kinetoplasto (ADNk) y alterar su

conformación a las moléculas de ADN-Z y detienen la replicación del ADNk, lo cual conduce a la muerte del organismo (Iglesias-Osores, 2019). El ADNk asemeja una corta malla entrelazada de minicirculos y maxicirculos, y debido a la acción del BrEt se pierde dicha conformación. Estudios indicaron que el ADNk, es indispensable en los tripanosomas del torrente sanguíneo, el BrEt en dosis de 0,01-10 mg.mL⁻¹, causa distorsión de la doble hélice de los minicirculos libres, esto evita el inicio de la replicación y da como resultado perdida de ADNk y muerte celular, lo que causa la muerte de los tripanosomas discinetoplásicos al inhibir la replicación (Von Wurmb-Schwark *et al.*, 2006).

El compuesto, está disponible comercialmente tanto en polvo (95 – 96% puro), como en forma de solución acuosa a concentraciones de 10 mg.mL⁻¹ y 500 µg.mL⁻¹, además de tabletas de 100 mg. Las cantidades usuales utilizadas en laboratorios se consideran inferiores al nivel requerido para causar toxicidad (DL₅₀ en administración oral en ratas es 1,5 g.kg⁻¹) (Iglesias-Osores, 2019). El BrEt no está regulado como residuo tóxico peligroso para los humanos por ninguna autoridad toxicológica del mundo, siempre y cuando sea empleado a bajas concentraciones ya que de esa manera puede degradarse químicamente, o recogerse y desecharse con facilidad (Lunn y Sansone, 1987).

Este tipo de moléculas intercalante pueden tener una importante aplicación terapéutica como antibacterianos, antivirales, antifúngicos, antiparasitarios y antitumorales (Martínez *et al.*, 2005) por su capacidad de inhibición de la división celular, también tienen efectos biológicos causados por su unión a la estructura tridimensional de ADN, provocando un cambio en la funcionalidad de la molécula debido a que afectan su interacción con otras moléculas como factores de transcripción, además de dificultar, modificar y/o impedir la acción de determinadas enzimas.

En este contexto, un compuesto intercalante suele tener efectos muy negativos por sus propiedades mutagénicas, teratogénicas y carcinogénicas, y es habitual que muestren una baja especificidad de tejido celular, lo que conlleva una alta toxicidad. Las mutaciones somáticas, por su parte, pueden causar cánceres.

Ahora bien, según el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo de España (1988), el aumento progresivo de información disponible sobre las características toxicológicas de sustancias químicas ha supuesto la constatación de un incremento en el número de agentes de uso industrial susceptibles de interaccionar y provocar efectos en el sistema nervioso. El BrEt es una sustancia que actúa sobre la mielina, originando mielinopatía, una alteración neurológica que ocasiona: edema intramielínico y espongiosis de la materia blanda, conocida como encefalopatía (en animales).

Factores de riesgo del bromuro de etidio

El BrEt genera efectos adversos para la salud ante la exposición; al ser inhalado puede irritar las vías respiratorias; al ser ingerido genera toxicidad en el organismo; en contacto con la piel puede provocar inflamación, incluso despigmentación del tejido; y al estar en contacto con los ojos puedes generar irritación (Uribe Echeberry *et al.*, 2013). Por esta razón debe ofrecerse capacitación en bioseguridad a las personas involucradas en actividades en los laboratorios de biología molecular donde se incluya información adecuada en el uso, la manipulación, almacenamiento y estrategias en caso de derrame de BrEt (Von Wurmb-Schwark *et al.*, 2006; Iglesias-Osores, 2019).

Medidas de bioseguridad para la manipulación del BrEt

La principal medida de bioseguridad que deben ser aplicadas en los laboratorios que trabajan con BrEt giran en torno a la capacitación del usuario u operador de laboratorio en la correcta y adecuada utilización de la información indicada en los Protocolos de uso de seguridad de esta sustancia química (Cuadro 1); así como en las acciones tomadas en caso de derrame (Cuadro 2) y en la ficha de datos de seguridad del BrEt (Cuadro 3).

El uso del BrEt es aún controversial, debido a que se pone en riesgo al medio ambiente con sus desechos tratados en forma inescrupulosa. Además, es un agente contaminante potencial y mutagénico. Esto hace complejo su manejo en los laboratorios de análisis, elevando la probabilidad de alto riesgo para la salud humana. Sin embargo, por ser un producto económico, si se compara con sustancias similares, es común que se utilice en laboratorios de biología molecular, especialmente en los países donde las fuentes de financiamiento son limitadas y/o escasas para el suministro de insumos de última generación con menor riesgo, por los altos costos que ello implica.

Debido a las consideraciones anteriores, las autoridades e investigadores de diferentes países del mundo, han desarrollado aportes para extremar las medidas de bioseguridad para la manipulación, almacenamiento y disposición final del BrEt; así como de otras sustancias que causen daños a la salud de los trabajadores y al ambiente. En el caso de Venezuela, se tiene la Ley sobre Sustancias, Materiales y Desechos Peligrosos (2001) la cual en su artículo 1 establece que: "...tiene por objeto regular la generación, uso, recolección, almacenamiento, transporte, tratamiento y disposición final de las sustancias, materiales y desechos peligrosos, así como cualquier otra operación que los involucre con el fin de proteger la salud y el ambiente" (p.1).

Cuadro 1. Medidas de prevención ante, durante y luego de usar Bromuro de Etidio en condiciones de laboratorios.



Antes de su uso ¹	Durante su uso ²	Después de su uso ³
<ul style="list-style-type: none"> • Considerar la sustitución del producto por otro que posea menor riesgo y que cumpla una función similar a la del BrEt. • En caso de no poder sustituir el producto, evitar el uso del BrEt en forma de polvo y adquirir en las casas comerciales las disoluciones diluidas, eliminando de esa manera la emisión de polvo al ambiente y por tanto, los riesgos derivados por su inhalación. • Alertar a todo el personal del laboratorio para que se evite el contacto directo con el producto. • Establecer un responsable directo de realizar la manipulación del producto concentrado a las soluciones diluidas. • Señalizar los espacios para la manipulación del producto, considerando delimitar las áreas de preparación de soluciones diluidas de BrEt, tinción y disposición final de los elementos que tuvieron contacto directo con el BrEt. • Exigir de manera obligatoria el uso de los equipos de protección personal, tales como guantes de nitrilo, lentes de seguridad y bata de laboratorio. 	<ul style="list-style-type: none"> • Una vez que entre en contacto con el BrEt, o de los elementos que tuvieron contacto directo con el producto, no tocarse la cara, el cabello y evitar rascarse. • Lavarse las manos antes y después de ponerse los guantes. Si tiene herida no trabajar con el producto. • Evitar el contacto del producto con piel, ojos y boca. • No beber, comer, fumar ni maquillarse en las zonas de trabajo del laboratorio. • No usar dispositivos electrónicos (celulares, tabletas, otros), en las zonas de trabajo del laboratorio. • Se recomienda trabajar con el producto en cámara de extracción. En caso de no poseer cámara de extracción, trabajar en el área delimitada para tales fines con extractor. • Evitar que el producto entre en contacto con óxidos fuertes. • El entorno de trabajo debe poseer cámaras de ventilación cerradas y cabinas de seguridad. • No inhalar la sustancia. • Obligatoria, para la manipulación del BrEt utilizar lentes de protección de montura integral. • No aplicar el BrEt sobre la solución de agarosa, si esta supera los 55°C, para evitar los vapores. En caso de la aplicación del producto sobre soluciones a temperatura mayor de 55°C, activar extractores de seguridad del laboratorio. • El material de laboratorio no desechable (cilindros graduados, matraces, etc.) que esté en contacto con el BrEt se mantendrá aislado y debidamente marcado con banda de color rojo, para reutilizarlo exclusivamente con este fin. En caso de abandonar el empleo de dicho compuesto, todo el material referido será tratado como residuo contaminado por BrEt. • El área de trabajo donde se utilizará el BrEt estará debidamente acondicionada, disponiendo de paredes y suelos lisos, mobiliarios de material inerte, recipientes de disposición de residuos y materiales de limpieza y descontaminación. • Finalizado el uso del BrEt, las superficies de trabajo deberán limpiarse con un paño limpio humedecido con solución de alcohol al 70%. 	<ul style="list-style-type: none"> • Los residuos de BrEt, deberán disponerse de manera correcta en recipientes cerrados y etiquetados. • Los residuos sólidos contaminados con BrEt (geles, materiales como: restos de servilletas, etc.), se gestionarán de acuerdo con la normativa venezolana de residuos tóxicos. • Las soluciones que estuvieron en contacto con BrEt deberán ser eliminadas según protocolo de residuos contaminados. Uso de contenedores especiales de residuos contaminantes. • Almacenar el producto en estantes a prueba de fuego, separado de oxidantes fuertes y de alimentos para humanos o animales.

Cuadro 2. Acciones tomar por el operador en caso de derrame de Bromuro de Etidio.

Actuación de los operadores/trabajadores en caso de derrames de BrEt en el laboratorio	
1.- Si el producto se derrama de manera líquida sobre el operador, este deberá retirarse la ropa contaminada de forma inmediata y separarla para lavar, siendo recomendable ducharse con abundante agua.	
2.- Si el producto se esparce en forma de polvo, y el operador lo aspira, este deberá inmediatamente acudir a un espacio abierto donde corra aire libremente, para posteriormente retirarse la ropa contaminada, separarla para lavar, siendo recomendable ducharse con abundante agua, al menos unos 15 minutos.	
3.- La ropa contaminada, deberá separarse y lavarse en el desagüero que el laboratorio disponga para casos de emergencia.	
4.- Acudir al médico especialista para la respectiva valoración.	
5.- El personal de limpieza deberá usar ropa de protección y máscaras con filtros para partículas, además de disponer de los depósitos, contenedores, paños y soluciones descontaminantes para realizar el procedimiento de eliminación del producto.	
6.- Si el derrame es en polvo, debe ser manipulado única y exclusivamente por personal capacitado usando en todo momento equipos de protección personal (guantes de hule, braga desechable, botas, mascarara antigases, capucha de seguridad, entre otros) el método más conocido para la descontaminación utiliza una solución de nitrato de sodio (NaNO_3) y ácido hipofosforoso (H_3PO_2). La solución debe tener pH 1.8, se deben colocar toallas humedecidas con la solución sobre el derrame en polvo con cuidado de no volatilizar el polvo, esperar 30 min. a que el polvo se adhiera en la toalla y retirar la misma a un contenedor de residuos tóxicos. Luego, aplicar solución de bicarbonato de sodio (H_3BO_3) pH 5-9, para neutralizar solución descontaminante.	
7.- En caso de derrame de líquido: eliminar el residuo derramado utilizando paños secos, lavar la zona cinco veces con paños humedecidos con solución de descontaminación preparada. Utilizar un paño diferente cada vez que se realice el lavado. Posteriormente, limpiar con agua y jabón, y después con alcohol al 70%.	
8.- Finalizado el uso de los paños contaminados, estos deberán neutralizarse con una solución de descontaminación con bicarbonato de sodio y verificar que el pH esté entre 5 y 9.	
9.- La operación se repetirá hasta que se comprueben que no quedan residuos de BrEt en los paños y en las superficies, utilizando una lámpara UV.	
10.- Si el colorante persiste, se limpiará la zona con una solución descontaminante (por ejemplo: una disolución acuosa que contenga 14g de NaNO_2 y 66,6 mL de H_3PO_2 al 50% en un litro de disolución), repitiendo la operación hasta que, con la fuente de luz UV, no se detecte contaminante.	
11.- Los paños utilizados para labor de limpieza del laboratorio, se deben remojar por aproximadamente una hora en recipientes con solución de descontaminación.	
12.- Todos los trabajadores que estuvieron en contacto directo durante el derrame deberán acudir obligatoriamente al servicio especializado de toxicología para la valoración médica respectiva.	
¿Cómo actuar en caso de derrames y fugas al ambiente?	
1.- En caso de caer el producto en suelo y/o aguas, hacer la debida notificación a las autoridades ambientales correspondientes para que se activen las medidas de descontaminación apropiadas y de riesgos, bomberos, entre otros.	
2.- Es importante que los laboratorios cuenten con filtros de alta eficacia para partículas, en los sistemas de extracción de aire del laboratorio.	

Nota. Facultad de Ciencias Universidad de Chile (2008).

Cuadro 3. Ficha de datos de seguridad del bromuro de etidio (BrEt).

Ficha de Bromuro de Etidio				
Bromuro de 3,8-diamino-5-etil-6-fenilfenantridinio				
Bromuro de 2,7-diamino-10-etil-9-fenilfenantridinio				
Bromuro de homidio				
Características químicas				
Estado físico; aspecto CRISTALES DE ROJOS A MARRONES.				
Peligros químicos Se descompone por calentamiento. Esto produce gases tóxicos incluyendo bromuro de hidrógeno y óxidos de nitrógeno. Reacciona violentamente con oxidantes fuertes.				
Fórmula: C ₂₁ H ₂₀ N ₂ Br. Masa molecular: 394.4 g.mol ⁻¹ Punto de fusión: 238-240°C Densidad: 0.34 g.cm ⁻³ Solubilidad en agua, g. 100ml-1, a 20°C: 5 Presión de vapor a 25°C: despreciable Punto de inflamación: >100 °C Coeficiente de reparto octanol/agua como log Pow: -1.1				
Exposición y efectos sobre la salud				
Vías de exposición La sustancia puede absorberse por inhalación y por ingestión		Riesgo de inhalación Puede alcanzarse rápidamente una concentración nociva de partículas suspendidas en el aire cuando se dispersa, especialmente si está en forma de polvo.		
Efectos de exposición de corta duración La sustancia irrita los ojos y el tracto respiratorio.				
Límites de exposición laboral				
Cancerígeno: categoría 3B; mutágeno: categoría 3B.				
Ambiente				
No se han investigado adecuadamente los efectos de esta sustancia sobre el ambiente.				
Información relacionada con el riesgo				
Riesgo	Peligro	Consecuencia	Prevención	Lucha Contra Incendios
Incendio explosión	Combustible	En caso de incendio se desprenden humos (o gases) tóxicos e irritantes	Evitar las llamas. NO poner en contacto con oxidantes fuertes.	Usar agua pulverizada, polvo, espuma resistente al alcohol.
Información en caso de tener contacto con el BrEt				
Contacto	Síntomas	Prevención	Primeros Auxilios	Otros
Inhalación	Irritación de las vías respiratorias.	Usar extracción localizada. Usar protección respiratoria	Aire limpio, reposo	
Piel	Irritaciones, dermatitis, decoloración de la piel y manchas de color púrpura	Usar guantes de protección y bata.	Aclarar y lavar la piel con agua y jabón.	Superado el evento de contacto primario, asistir inmediatamente al especialista toxicólogo para la valoración médica respectiva.
Ojos	Irritación, enrojecimiento y dolor ocular	Utilizar lentes de protección de montura integral.	Enjuagar con agua abundante durante varios minutos (quitar las lentes de contacto si puede hacerse con facilidad).	
Ingestión	Dolor de garganta	No comer, ni beber, ni fumar durante el trabajo.	Enjuagar la boca.	
Medidas de envasado y almacenamiento del producto				
Mantener la sustancia en su envase original.				
Simbología del <i>Global Harmonized System</i> (GHS) para el etiquetado				
 Irritante (cutáneo y ocular) Sensibilizador dérmico Toxicidad aguda (dañino) Efectos narcóticos Infección del tracto respiratorio Capa de ozono peligrosa (no obligatorio)		 Cancerígeno, toxicidad reproductiva Sensibilizador respiratorio, toxicidad de órgano blanco, toxicidad por aspiración		
Clase de peligro: 6. Carcinógeno				
Almacenamiento				
En estantes a prueba de incendio, separado de oxidantes fuertes y alimentos para humanos y animales				

Nota. Ficha datos de seguridad Sigma-Aldrich (2006).

Asimismo, en el Artículo 2 de esta misma ley se dispone, que también será objeto de regulación, aquellas sustancias y materiales peligrosos y otros similares que tengan incidencia y/o efectos en la salud y en el ambiente, que sean de de origen nacional o importado, que vayan a ser destinados para uso agrícola, industrial, de investigación científica, educación, producción u otros fines.

Es importante destacar que en el país, todos los laboratorios públicos y privados; así como de investigación y docencia en el territorio nacional, deben desarrollar sus protocolos de bioseguridad en todo lo relacionado a la prevención del riesgo de los productos químicos, tal y como lo establece la norma COVENIN 4004 (2000), en donde se instituye una guía para la gestión de seguridad e higiene ocupacional, por medio de la cual se creen manuales relativos a la gestión de riesgos laborales y a los elementos que lo componen (Comisión Venezolana de Normas Industriales [COVENIN], 2000).

CONSIDERACIONES FINALES

La determinación de la clase de riesgo que presente un material o un desecho peligroso, debe ser realizada por un especialista en la materia y/o personal de bomberos. Todo generador y manejador de materiales peligrosos debe conocer las características de peligro que presentan y el nivel de riesgo que conlleva su manejo para establecer las medidas de prevención, tiempo de exposición permisible; así como respuesta acorde al caso, para la información y entrenamiento al personal que está en contacto con estos materiales.

El uso incorrecto y la eliminación inadecuada de los residuos peligrosos pueden causar daños irreversibles en la salud humana y en el ambiente. Por esta razón, se tiene que ofrecer capacitación en bioseguridad.

Es importante que los entes gubernamentales (Ministerio del Poder Popular para el Ecosocialismo, Ministerio del Poder Popular para la Salud, Instituto Nacional de Higiene, Instituto Nacional de Prevención, Salud y Seguridad Laborales, Ministerio del Poder Popular para la Ciencia y la Tecnología, Instituto Nacional de Salud Agrícola Integral, entre otros), realicen auditorias frecuentes a los laboratorios de investigación científica, docencia y de salud. Asimismo, se deben realizar talleres de capacitación y cursos de actualización en el uso, manipulación, almacenamiento y la eliminación de los desechos tóxicos del BrEt y otras sustancias peligrosas.

Por ello, es importante indicar que las instrucciones de bioseguridad anteriormente señaladas participen con los directores de centros de investigación y todo el personal de los laboratorios de biología molecular, en la implementación de un Plan de acción de bioseguridad, incluyendo la ficha de datos de seguridad, siendo esta una herramienta imprescindible para la manipulación de cualquier agente químico, en este caso el BrEt.

Se debe establecer un protocolo específico para el uso de BrEt, el mismo debe contar con normativas avaladas por un grupo de especialistas en bioseguridad; así como médicos especialistas en toxicología, y dar rigor de cumplimiento obligatorio a las normativas además de ser incluido en las leyes de bioseguridad para sustancias peligrosas en Venezuela.

BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

Bromuro de Homidio. Pub Chem. NCBI, NLM, NIH de EE.UU. CID.14710. Obtenida 8 de Junio 2021 de: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/>

Burdano Rosero, E.M., Gaetano de Almeida, B., Otero Ramírez, I.D., Álvarez, S.L. (2017). *Manual de Biología Molecular: Procedimientos Básicos*. Universidad de Nariño. https://www.researchgate.net/profile/Edith-Burbano-Rosero/publication/326905291_Manual_de_Biologia_Molecular-Procedimientos_Basicos/links/5b7de35292851c1e12291a22/Manual-de-Biologia-Molecular-Procedimientos-Basicos.pdf

- Chávez López, S. (2018). El concepto de riesgo (The risk concept). *Revista Recursos Naturales y Sociedad*, 4(1), 32-52. <https://doi.org/10.18846renaysoc.2018.04.04.01.0003>.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). 2000. *Sistema de gestión de seguridad e higiene ocupacional (SGSHO). Normas para su aplicación*. Fondo Nacional para la Normalización (FONDONORMA). 31 p.
- Díaz Zazo, P. M. (2015). *Prevención de riesgos laborales: Seguridad y salud laboral*. (2º ed). Paraninfo.
- Facultad de Ciencias Universidad de Chile. (2008). *Guía para la eliminación de residuos líquidos*.
- Gracia Hernández, V. (2009). *Desarrollo y validación de nuevas metodologías para la caracterización de la Interacción de ligandos con ADN. Estudio de la unión de cromóforos catiónicos heteroaromáticos con potencial intercalante*. [Tesis doctoral, Universidad de Alcalá]. <https://core.ac.uk/download/pdf/58906986.pdf>
- Iglesias-Osores, S. (2019). Bromuro de etidio: ¿agente mutágeno en el laboratorio? *Revista del Cuerpo Médico del Hospital Nacional Almanzor Aguinaga Asenjo*, 12(3), 243 - 244. <https://doi.org/10.35434/rcmhnaaa.2019.12.3.539>
- Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo. (2013). Situaciones de exposición a agentes químicos [Archivo PDF]. https://www.insst.es/documents/94886/791398/BASEQUIM_012_0.pdf/7e56e4a0-27bc-460e-81bf-78df7295e246?t=1606302592488
- International Labour Organization (ILO). (2021). Límites de Exposición Química. Obtenida 8 de Junio 2021. https://www.ilo.org/safework/info/publications/WCMS_151534/lang-en/index.htm
- Ley sobre sustancias, materiales y desechos peligrosos. (2001). Art. 1, 2, 13 de noviembre de 2001. Gaceta Oficial de la República de Venezuela N° 5554. <http://www.sudeban.gob.ve/wp-content/uploads/MarcoLegal/GO5554.pdf>
- Lunn, G., Sansone, E. B. (1987). Ethidium Bromide: Destruction and decontamination of solutions. *Analytical Biochemistry*, 162 (2), 453-458. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(87\)90419-2](https://doi.org/10.1016/0003-2697(87)90419-2)
- Martínez, R., Chacon-Garcia, L. 2005. The search of DNA – intercalators as antitumoral drugs: what it worked and what did not Work. *Curr Med Chem.*, 12(2), 51-127.
- Organización Internacional del Trabajo. (2017). *Inspección de seguridad en el trabajo: Módulo de formación para inspectores*. (1º ed). https://www.ilo.org/wcmsp5/groups/public/---americas/---ro-lima/---ilo-buenos_aires/documents/publication/wcms_592318.pdf
- Pastor Blazquez, V., Moreno, M., Palazón, R., Martín, E. y Martín, P. 2007. Riesgos cancerígenos, mutágenos y químicos en los centros educativos de la Comunidad de Madrid. <https://cancerzeroenl trabajo.ccoo.es/b4268f6d29bd068e776f8d7b09d2463000001.pdf>.
- Pavelic, K., Beerman, T. A, Bernacki, R. J. (1985). An evaluation of the effects of combination chemotherapy in vitro using DNA-reactive agents. *Cancer Drug Delivery*, 2(4), 255-270. <https://doi.org/10.1089/cdd.1985.2.255>
- Presidencia de la República. (1998, 3 de agosto). Decreto 2635. Normas para el control de la recuperación de materiales peligrosos y el manejo de los desechos peligrosos. Gaceta Oficial Extraordinaria N° 5245 de la República Bolivariana de Venezuela.
- Sigma-Aldrich. 2006. Ficha de seguridad Ethidium Bromide.
- Torres González, J; Araujo Alvarez, M; Rojas Alegria, A.M. (2011). *Diagnostico situacional sobre riesgos químicos en laboratorios de investigación, propuesta de atención y prevención* [Tesis Maestría, Instituto Politécnico Nacional]. <http://www.repositoriodigital.ipn.mx/handle/123456789/16204>
- Universitat Politècnica de Valencia. 2012. Servicio integrado de prevención y salud laboral.
- Uribe Echeberry, P. T., Herrera Cañón, J. C., Orozco Clavijo, N. J., Betancur Pérez, J. F. (2013). Uso alternativo de colorante Gelred en la tinción de ácidos nucleicos. *Archivos de Medicina*, 13(2), 160-166. <https://www.redalyc.org/pdf/2738/273829753005.pdf>
- Von Wurmb-Schwark, N., Cavelier, L., Cortopassi, G.A. (2006). A low dose of Ethidium bromide leads to an increase of total mitochondria DNA while higher concentrations induce the mtDNA 4997 deletion in human neuronal cell line. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 596 (1-2), 57-63. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2005.12.003>

Watkins, T. I. (1952). Trypanosides of the phenanthridine series. Part I. The effect of changing the quaternary grouping in dimidium bromide. *Journal of the Chemical Society*, 3052-3064. <https://doi.org/10.1039/JR9520003059>

ENLACE ALTERNATIVO

<https://petroglifosrevistacritica.org.ve/revista/bioseguridad-en-la-utilizacion-del-bromuro-de-etidio-en-los-laboratorios-de-biologia-molecular/> (html)