

Fiche de sécurité chimique #12

Fiche d'information sur le bromure d'éthidium

Le bromure d'éthidium (BET; ethidium bromide) est généralement employé comme marqueur non radioactif pour identifier et visualiser des bandes d'acides nucléiques dans le gel d'électrophorèse et dans d'autres méthodes de séparation en gel d'acides nucléiques. Le BET est un solide rouge foncé, cristallin, non volatil, modérément soluble dans l'eau, qui entre en fluorescence de couleur brun-rougeâtre une fois exposé à la lumière ultraviolette (UV). Sa formule est le bromure de 3,8-diamino-5-éthyl-6-phényl-phénanthridium ($C_{21}H_{20}BrN_3$), numéro CAS 1239-45-8. Bien que ce soit un outil efficace, ses propriétés dangereuses exigent des procédures spéciales de manipulation et de disposition sécuritaire.

SIMDUT :

Source : Chemwatch



Toxicité aiguë - orale - Catégorie 4

Toxicité aiguë - inhalation - Catégorie 2

Lésions oculaires graves/irritation oculaire - Catégorie 1

Mutagenicité sur les cellules germinales - Catégorie 1B

Corrosion cutanée/irritation cutanée - Catégorie 2

1. Risques

Le BET est un mutagène efficace et modérément toxique après une exposition aiguë. Lorsqu'absorbé, il est métabolisé et les sous-produits ainsi formés sont plus mutagènes que la molécule intacte. Le BET peut être absorbé par la peau, ainsi il est important d'éviter un contact direct avec le produit. Il est également un irritant pour la peau, les yeux, la bouche, et pour les voies respiratoires. Il devrait être stocké loin des oxydants forts dans un endroit frais et sec, fermé hermétiquement.

2. Mesures de sécurité

Les personnes employant le BET devraient suivre plusieurs procédures de sécurité. Le plan d'hygiène du laboratoire devrait mettre en référence cette fiche d'information, qui décrit la manipulation sécuritaire du BET et les procédures appropriées de nettoyage et décontamination. Les utilisatrices et les utilisateurs de BET devraient recevoir la formation sur les risques et sur l'utilisation sécuritaire du produit. Le BET doit apparaître sur l'inventaire des produits chimiques du laboratoire, avec des évaluations précises de quantités annuelles d'utilisation. Le BET pur doit uniquement être manipulé sous une hotte chimique, l'utilisatrice ou l'utilisateur portant les équipements de protection individuelle suivants : un sarrau fermé, des chaussures fermées, des gants résistants aux produits chimiques, et des lunettes de sécurité adéquates.

Les gants de nitriles sont une barrière efficace à l'exposition à court terme au BET, tel que N-dex® ou d'autres équivalents de 100 % nitrile. Les utilisatrices et les utilisateurs de BET devraient se laver les mains après avoir retiré leurs gants, même s'ils sont certains que les gants n'ont pas été perforés.

Un lave-yeux et une douche devraient être à proximité et facilement accessibles. Comme tous les autres produits toxiques, le BET devrait être employé dans un secteur particulièrement identifié. En utilisant la lumière UV pour visualiser le BET, l'utilisatrice et l'utilisateur doivent porter des lunettes de protection contre les rayons UV ou effectuer la visualisation dans une boîte à UV adéquate.

Bien qu'elle ne soit pas encouragée, la refonte de gels d'électrophorèse en agarose contenant du BET n'est autorisée que sous une hotte chimique. Le BET n'émet pas de vapeurs toxiques à cette température. Toutefois, le produit peut être répandu par la vapeur d'eau ou par les gouttelettes d'eau des éclaboussures lors de la refonte. L'utilisation du four à micro-ondes pour cette opération est interdite.

Récemment, de nouveaux colorants fluorescents ont été développés et selon les fabricants, ils peuvent détecter des composants d'acide nucléique aux concentrations inférieures à celles possibles avec le BET.² Cependant, bien que certains produits puissent être moins toxiques, d'autres ne le sont pas moins que le BET. Tous ces colorants doivent être manipulés et éliminés de la même manière que le BET. Informez-vous auprès des personnes responsables de la

collecte des matières résiduelles de BET pour savoir si le colorant que vous utilisez peut être mélangé avec les résidus de BET lors de son élimination.

3. Procédures d'urgence suite à l'exposition au BET

Si le BET entre en contact avec les yeux, rincer immédiatement et abondamment à l'eau pendant au moins 15 minutes. (Le lave-yeux est la meilleure manière et la plus sécuritaire). Pour un contact avec la peau, laver immédiatement la région affectée avec du savon et l'eau froide, rincer abondamment. Si une personne inhale la poussière de BET, faire respirer de l'air frais. Après n'importe quelle exposition au BET (par l'intermédiaire de la peau, de l'inhalation ou du contact avec les yeux), la personne affectée devrait immédiatement recevoir une évaluation médicale.

4. Procédures d'élimination des matières résiduelles contenant du BET

Liste du type de matières résiduelles :

- Solides de BET (poudre, cristaux);
- Solutions de BET concentrées (stock) commerciales ou préparées au laboratoire;
- Résidus d'expériences : gels d'électrophorèse, gradients de chlorure de césium, etc.;
- Tampons d'électrophorèse : si le BET est ajouté directement dans le tampon, celui-ci doit être éliminé comme une solution contaminée. Par contre, si le BET n'est ajouté que dans le gel d'électrophorèse, seul le gel constitue un résidu à moins que la quantité de BET et les conditions d'électrophorèse utilisées soient telles qu'une quantité non négligeable de BET soit transférée au tampon (~0.5 µg/mL). Dans ce cas, le tampon doit être éliminé comme une solution contaminée.

NOTE : Le rejet de BET à l'égout sanitaire (drains d'évier) est interdit.

Le personnel du SSMTE ramasse les contenants de matières résiduelles lors des collectes des matières dangereuses qui se font régulièrement dans les laboratoires. Le SSMTE fournit les contenants de quatre (4) litres pour la récolte des solutions contaminées, de même que des poubelles servant à récolter les gels. Ceux-ci doivent être mis dans des sacs transparents doublés pour prévenir les fuites. Une attention particulière doit être portée afin de ne pas

contaminer l'extérieur des contenants. Contactez le personnel du SSMTE pour plus d'information (GMD@USherbrooke.ca).

5. Procédures en cas de déversement

5.1 Déversement majeur

Informez tous les autres occupants qu'un déversement s'est produit. Évacuez le laboratoire ou le secteur immédiat et appelez le 511 (Campus de la santé) ou le 811 (Campus principal) pour une assistance immédiate du SSMTE. Fournissez l'aide et les informations que vous pouvez aux répondants de la sécurité et du secteur SSMTE.

5.2 Déversement mineur

Portez toujours les vêtements de protection, tels que décrits, pendant n'importe quelle procédure de nettoyage. Vous devriez seulement nettoyer les déversements si vous en connaissez les risques et avez les équipements de protection individuelle appropriés et de nettoyage. Consultez la fiche signalétique du BET. Contactez le SSMTE si vous ne savez pas comment nettoyer un déversement de BET ou si vous avez besoin d'aide.

5.3 Procédures de décontamination des surfaces lors d'un déversement

ATTENTION : Il est interdit d'utiliser de l'eau de Javel pour traiter des solutions ou des surfaces contaminées au BET. Le traitement avec de l'hypochlorite de sodium réduit l'activité mutagène du BET qui est associée aux sous-produits métabolisés, mais transforme la molécule en un ou des composés qui sont directement mutagènes.³

NOTE 1 : Employez la lumière UV à courte longueur d'onde (254 nm) pour localiser le déversement. Il est facile de voir la fluorescence du BET. Après la décontamination, vérifiez le secteur avec la lumière UV pour s'assurer que tout le BET a été ramassé ou détruit.

NOTE 2 : Les papiers et gants utilisés pour le nettoyage et la décontamination lors d'un déversement de BET doivent être mis dans un sac de plastique transparent doublé ou tout autre contenant étanche pour qu'ils puissent être éliminés par le personnel du SSMTE.

5.4 Décontamination de SURFACES LISSES

Méthode :

- 1) Porter les équipements de protection personnelle.
- 2) Mettre le matériel contaminé hors tension avant toute manipulation.

- 3) Éponger tout excédent de liquide avec une serviette en papier ou si le déversement est une poudre, essuyez soigneusement avec des serviettes de papier humide.
- 4) Frotter la surface avec un papier absorbant imbibé d'eau distillée ou du robinet.
- 5) Reprendre l'étape 3, cinq (5) fois.
- 6) Vérifier avec une lumière UV l'efficacité de la procédure et la reprendre au besoin.
- 7) Mettre les papiers et les gants souillés dans les contenants appropriés pour leur élimination. Appelez alors le secteur SSMTE.

5.5 Décontamination de SURFACES POREUSES

5.5.1 Méthode 1 : dégradation chimique⁴

- 1) Porter les équipements de protection personnelle.
- 2) Mettre le matériel contaminé hors tension avant toute manipulation.
- 3) Éponger tout excédent de liquide avec une serviette en papier ou si le déversement est une poudre, essuyez soigneusement avec des serviettes de papier humide.
- 4) Préparer la solution de décontamination sous la hotte chimique (voir plus bas). La solution doit être fraîchement préparée.
- 5) Nettoyez l'aire contaminée avec une serviette de papier imbibée de solution de décontamination.
- 6) Rincez par la suite l'aire contaminée, cinq (5) fois avec les serviettes de papier imbibées de l'eau du robinet, en utilisant une nouvelle serviette chaque fois.
- 7) En utilisant une lumière UV, vérifiez l'aire décontaminée afin de s'assurer que tout le BET a été enlevé. Reprendre les étapes 5 et 6 au besoin.
- 8) Si l'acide peut endommager la surface souillée, employez quelques rinçages en utilisant une solution de bicarbonate de sodium (1M).
- 9) Mettre les papiers et les gants souillés, de même que la solution de décontamination restante dans les contenants appropriés pour leur élimination. Appelez alors le secteur SSMTE.

10) Vous pouvez laisser tremper toutes les serviettes dans la solution de décontamination pour une (1) heure sous la hotte, puis mener le pH entre 5 et 9 avec du bicarbonate de sodium. Retirer et essorer doucement de toute solution excessive.

11) Jeter à la poubelle les déchets solides dans un sac séparé avec les gants souillés et jeter à l'évier la solution neutralisée.

Solution de décontamination :

Préparer la solution de décontamination sous la hotte juste avant l'utilisation. Puisqu'elle est acide, portez les équipements de protection individuelle (sarrau, gants et lunettes) en préparant ou en utilisant la solution de décontamination.

La solution se compose de :

- 4,2 g de nitrite de sodium (NaNO_2 , CAS # 7362-00-0)
- 20 ml d'acide hypophosphoreux (50 %) (H_3PO_2 , CAS # 6303-21-5)

dans 300 ml de l'eau.

Le pH du mélange doit être autour de 1.8.

5.5.2 Méthode 2 : absorption³

- 1) Mettre le matériel contaminé hors tension avant toute manipulation.
- 2) Éponger tout excédent de liquide avec une serviette en papier ou si le déversement est une poudre, essayer soigneusement avec des serviettes de papier humide.
- 3) Hydrater l'absorbant Amberlite XAD-16 de manière à former une pâte et l'appliquer sur la surface contaminée.

Amberlite XAD-16 : absorbant polymérique, non ionique (Sigma # XAD-16)

Capacité de la résine : 1 g de résine absorbe environ 3.5 mg de BET

- 4) Laisser reposer une (1) heure et essuyer avec une serviette de papier.
- 5) Vérifier avec une lumière UV l'efficacité de la procédure et la reprendre au besoin.
- 6) Mettre tous les déchets (papiers, gants et absorbants contaminés) dans un sac ou contenant approprié pour leur élimination et appeler le secteur SSMTE.

Trousse de décontamination commerciale :

Voici quelques systèmes disponibles commercialement pour extraire le BET de solutions contaminées :

- BondEX Ethidium Bromide Detoxification Cartridges (Clontech)
- EtBr Green Bag (QBiogene)
- Eliminator Dye Removal System (Stratagene)

Références:

1. Source : Université de Berkeley :
<http://ehs.berkeley.edu/pubs/factsheets/47ethidiumbromide.pdf>
2. P. Quillardet, M. Hofnung *Trends in Genetics* **1988**, 4, 89-90 : «Ethidium bromide and safety – readers suggest alternative solutions».
3. J. Sambrook *et al.* *Molecular cloning : a laboratory manual*. Cold Spring Harbor, N.Y. 3^{ième} édition, **2001** (*et références incluses*).
4. G. Lunn, E.B. Sansone *Appl. Ind. Hyg.* **1989**, 4, 234-237: « Decontamination of Ethidium Bromide Spills».