

BioFix® Lumi „Single-Shot“ Leuchtbakterien für die Einzelbestimmung im Rahmen der Betriebskontrolle und Eigenüberwachung

Methode:

Bestimmung der akuten Toxizität mit Hilfe gefriergetrockneter Leuchtbakterien. Messgröße ist die natürliche Leuchtleistung (Lumineszenz) des eingesetzten Mikroorganismus *Vibrio fischeri* NRRL B-11177. Ermittelt wird die durch die Probe verursachte Hemmung der Leuchtintensität im Vergleich zu einem ungehemmten Kontrollansatz. Die Höhe der Hemmung der Leuchtintensität in der Probe ist ein Maß für deren Toxizität.

Anwendungsbereich:

Abwasser, wässrige Extrakte und Sickerwasser, Süßwasser (Oberflächenwasser und Grundwasser), Meerwasser und Brackwasser, Eluate von Sedimenten (Süßwasser, Brackwasser und Meerwasser), Porenwasser, Einzelstoffe in Wasser gelöst

Messbereich:

0 – 100 % Hemmung

Angabe der Ergebnisse:

- **% Hemmung** der Leuchtintensität in der Probe im Vergleich zu einer ungehemmten Kontrolle
- **EC_{xx}**: Konzentration einer Probe, die eine Hemmung der Leuchtintensität von genau xx % verursacht (z. B. EC₅₀-Wert: Konzentration der Probe, die eine Hemmung der Leuchtintensität von 50 % hervorruft).
- **TU-Werte** („Toxicity units“ nach Definition der amerikanischen Umweltschutzbehörde U. S. EPA): 100 geteilt durch EC₅₀-Wert.

Inhalt Reagenziensatz:

20 Röhrchen mit gefriergetrockneten BioFix® Lumi Leuchtbakterien

20 Glasküvetten, 50 x 12 mm

1 Flasche mit 30 mL „BioFix® Lumi Reaktivierungslösung für „Single-Shot“ Leuchtbakterien“

1 Flasche mit 15 mL „BioFix® Lumi Kontroll-Lösung“

Gefahrenhinweise:

Dieser Testkit enthält keine kennzeichnungspflichtigen Gefahrstoffe. Der Leuchtbakterienstamm *Vibrio fischeri* NRRL B-11177 ist noch nie als Krankheitserreger in Erscheinung getreten. Nach Merkblatt B006 1/92 ZH 1/346 der Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie ist *Vibrio fischeri* in die Risikogruppe 1 eingeordnet, d. h. es besteht kein Risiko für den Menschen und für Wirbeltiere.

Lagerung:

Die Röhrchen mit den gefriergetrockneten BioFix® Lumi Leuchtbakterien sind bei -18 °C bis -22 °C bis zu dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum haltbar. Die „BioFix® Lumi Reaktivierungslösung für „Single-Shot“ Leuchtbakterien“ und die „BioFix® Lumi Kontroll-Lösung“ können autogetaut im Kühlschrank bei +2 °C bis +8 °C bis zum aufgedruckten Haltbarkeitsdatum gelagert werden.

Die gefriergetrockneten Leuchtbakterien erst unmittelbar vor der Reaktivierung dem Gefrierfach entnehmen. Reaktivierte Leuchtbakterien sollten möglichst innerhalb von 4 Stunden aufgebraucht werden! Eine Zwischenlagerung der reaktivierten Leuchtbakterien sollte nur im Kühlschrank bei +2 °C bis +8 °C erfolgen.

Mit fortschreitender Aufbewahrungszeit der reaktivierten Leuchtbakterien kann es zu einer Abnahme der natürlichen Leuchtintensität und zu einer Verschiebung des Empfindlichkeitsspektrums kommen. Ein Wiedereinfrieren reaktivierter Leuchtbakterien ist nicht zu empfehlen und unterliegt nicht den Garantieleistungen von MACHEREY-NAGEL.

Reaktivierung und Dosierung der gefriergetrockneten BioFix® Lumi „Single-Shot“ Leuchtbakterien:

Die Reaktivierung und Dosierung gefriergetrockneter BioFix® Lumi „Single-Shot“ Leuchtbakterien erfolgt testunabhängig immer auf die gleiche Art und Weise. Details zur weiteren Testdurchführung sind den Anleitungen der entsprechenden Tests und Testsysteme zu entnehmen.

Arbeitsschritt 1: Reaktivierung

1. Ein tiefgefrorenes Röhrchen mit BioFix® Lumi Leuchtbakterien dem Tiefkühlfach und die vorgekühlte Flasche mit „BioFix® Lumi Reaktivierungslösung für „Single-Shot“ Leuchtbakterien“ dem Kühlschrank entnehmen.
2. So schnell wie möglich **Zugabe von 1,0 mL BioFix® Lumi Reaktivierungslösung für „Single-Shot“ Leuchtbakterien** („Schockauftauen“).
3. Röhrchen mit reaktivierten BioFix® Lumi „Single-Shot“ Leuchtbakterien vorsichtig mischen und mit „Kontrolle“ beschriften.

Arbeitsschritt 2: Dosierung

1. Eine leere Glasküvette, 50 x 12 mm bereitstellen und mit „Probe“ beschriften. Anschließend **0,5 mL der reaktivierten Leuchtbakteriensuspension** in die mit „Probe“ beschriftete Glasküvette pipettieren.
2. „Probe“- und „Kontroll“-Küvette etwa 10 min bei +15 °C temperieren.
3. Teststart durch **Messung des Ausgangsleuchtens I₀**.
Details zur weiteren Testdurchführung sind den Anleitungen und Handbüchern der jeweils verwendeten Luminometer zu entnehmen.

Analytische Qualitätssicherung:

Mit dem beigefügten Prüferzertifikat wird die Einhaltung der nach ISO 9001 durchgeführten internen Qualitätsstandards von MACHEREY-NAGEL garantiert.

Die Empfindlichkeit der gelieferten Leuchtbakterien ist gemäß Norm auch im eigenen Labor zu überprüfen. Die hierzu notwendigen Informationen wie Standardsubstanzen und Testkonzentrationen sind dem beiliegenden Prüferzertifikat zu entnehmen.

pH-Wert:

Gemäß der DIN EN ISO 11348-3 ist bei einem pH-Wert der Probe von 6,0 bis 8,5 keine pH-Korrektur notwendig. pH-Werte von kleiner 6,0 oder größer 8,5 können zu pH-bedingten Leuchthemungen führen. Soll der etwaige toxische Effekt des pH-Wertes unberücksichtigt bleiben, so muss dieser eingestellt werden.

Störungen:

Nicht gelöste, schwer lösliche oder flüchtige Stoffanteile oder Stoffe, die mit dem Verdünnungswasser oder der Testsuspension reagieren oder während des Tests ihren Zustand ändern, können das Testergebnis verfälschen oder die Reproduzierbarkeit der Testergebnisse beeinträchtigen.

Bei stark gefärbten (insbesondere rot oder braun gefärbt) oder trüben Proben können Lichtverluste durch Absorption oder Lichtstreuung eintreten. Diese Störungen können durch eine Probenvorbehandlung (Absetzen oder Zentrifugieren) oder z. B. durch Verwendung von Farbkorrektur-Küvetten mit Doppelwänden (REF 940006) in Anlehnung an das Verfahren nach DIN EN ISO 11348, Anhang A kompensiert werden.

Da Sauerstoff für die Biolumineszenz benötigt wird (> 3 mg/L), kann bei stark sauerstoffzehrenden Proben oder Proben mit einem geringen Sauerstoffgehalt ein Sauerstoffmangel auftreten, der zu einer Hemmung der Lichtemission führen kann. Enthält die Wasserprobe biologisch leicht abbaubare Nährstoffe, kann eine nicht durch Schadstoffe bedingte Abnahme der Biolumineszenz eintreten. Da es sich bei dem Testorganismus *Vibrio fischeri* um ein marines Bakterium handelt, führt die Untersuchung von meerwasserhaltigen Proben häufig zu einer Erhöhung der Biolumineszenz, wodurch Hemmwirkungen maskiert werden können (DIN EN ISO 11348-Anhang D).

Salzkonzentrationen in der Wasserprobe über 30 g/L NaCl oder Stoffkonzentrationen anderer Substanzen gleicher Osmolarität können zusammen mit der im Test geforderten Salzaufstockung zu hyperosmotischen Effekten führen. Zur Vermeidung dieser Wirkungen sollte die resultierende Salzkonzentration die Osmolarität einer Natriumchlorid-Lösung von 35 g/L NaCl nicht überschreiten.

Auch chlorhaltige Proben stören die Testdurchführung und müssen vor Testbeginn dechloriert werden, z. B. durch Zugabe von 1 %iger Natriumthiosulfat-Lösung.

Entsorgung:

Leuchtbakterien und Testansätze können problemlos über den Abguss entsorgt werden. Einschränkungen können entstehen, wenn die Probe gesundheitsgefährdende oder giftige, speziell entsorgungspflichtige Substanzen enthält. Für die ordnungsgemäße Entsorgung solcher Testansätze ist der Anwender gemäß den jeweils dafür gültigen Richtlinien und Bestimmungen selbst verantwortlich.

Literatur:

DIN EN ISO 11348-3:2009-05

Bestimmung der Hemmwirkung von Wasserproben auf die Lichtemission von *Vibrio fischeri* (Leuchtbakterientest); Teil 3: Verfahren mit gefriergetrockneten Bakterien

BioFix® Lumi „Single-Shot“ Luminescent Bacteria for individual determinations in accordance with operating control and self supervision

Method:

Determination of the acute toxicity with the aid of **freeze-dried** luminescent bacteria. The measurable variable is the natural luminescence of the test microorganism *Vibrio fischeri* NRRL B-11177. Evaluated is the inhibition of the luminous intensity in the sample in comparison with an uninhibited control. The amount of inhibition of the luminous intensity in the sample is a measure of its toxicity.

Field of application:

Waste water, aqueous extracts and leachates, fresh water (surface water and ground water), sea-water, brackish water, eluates of sediments (fresh water brackish water and seawater), interstitial pore water, and single substances dissolved in water.

Measuring range:

0 – 100 % inhibition

Indication of the results:

- **% Inhibition** of the light output in the sample in comparison to an uninhibited control
- **EC_{xx}**: concentration of a sample which causes an inhibition of the light output of exactly xx % (e.g. EC₅₀ value: concentration of the sample which causes an inhibition of the light output of 50 %):
- **TU values** („Toxicity units“ in accordance with the definition of the United States Environmental Protection Agency U.S. EPA): 100 divided by EC₅₀ value.

Content of reagent sample

20 vials with freeze-dried BioFix® Lumi luminescent bacteria

20 glass cuvettes, 50 × 12 mm

1 flask with 30 mL „BioFix® Lumi Reactivation solution for „Single-Shot“ luminescent bacteria“

1 flask with 15 mL „BioFix® Lumi Control solution“

Safety precautions:

This test kit does not contain any hazardous substances for which labelling is obligatory. The luminescent microorganism *Vibrio fischeri* NRRL B-11177 has never appeared as a pathogen up to now. In accordance with the code of practice B006 1/92 ZH 1/346 of the employer's liability insurance association of the chemical industry *Vibrio fischeri* is assigned to the risk group 1 i.e. there is no risk for humans and vertebrates.

Storage:

The vials with freeze-dried BioFix® Lumi luminescent bacteria can be stored until the expiration date indicated on the packaging at temperatures of -18 to -22 °C. „BioFix® Lumi Reactivation solution for „Single-Shot“ luminescent bacteria“ and „BioFix® Lumi Control solution“ can be stored in a thawed out state in the refrigerator at temperatures of between +2 °C and +8 °C until the expiration date which is printed on them.

The freeze-dried luminescent bacteria should only be removed from the freezer compartment immediately prior to their reactivation. Reactivated luminescent bacteria should be used within 4 hours! An intermediate storage of the reactivated luminescent bacteria should only take place in the refrigerator at temperatures of between +2 °C and +8 °C.

With the advancing storage period of the reactivated luminescent bacteria there can be a reduction of the natural light intensity and a shift of the sensitivity spectrum. The refreezing of reactivated luminescent bacteria cannot be recommended and is not subject to the guarantee obligations of MACHEREY-NAGEL.

Reactivation and dosage of freeze-dried BioFix® Lumi „Single-Shot“ luminescent bacteria:

The reactivation and dosage of freeze-dried BioFix® Lumi „Single-Shot“ luminescent bacteria is always carried out in the same way irrespective of the type of test. Further details to the test procedures can be derived from the instructions for use of the corresponding tests and test systems.

Step 1: Reactivation

1. Remove a deep frozen vial with BioFix® Lumi luminescent bacteria from the deep-freeze compartment and the precooled flask with „BioFix® Lumi Reactivation solution for „Single-Shot“ luminescent bacteria“ from the refrigerator.
2. As quickly as possible add **1,0 mL „BioFix® Lumi Reactivation solution for „Single-Shot“ luminescent bacteria“** („shock thawing“)
3. Mix the vial carefully with reactivated BioFix® Lumi „Single-Shot“ luminous bacteria and label the vial with the word „control“.

Step 2: Dosage

1. Prepare an empty glass cuvette, 50 × 12 mm and label it with the word „sample“. Following this, pipette **0,5 mL of the reactivated luminous bacteria suspension** in the glass cuvette which is labelled with the word „sample“.
2. Leave the „sample“ and the „control“ cuvette to stand for about 10 minutes at + 15 °C.
3. Start the test by measuring the initial luminescence I_0 .
Further details to the test procedure can be derived from the respective instructions for use of the luminometers used.

Analytical quality assurance:

The observance of the MACHEREY-NAGEL internal quality standards which have been implemented in accordance with ISO 9001 is guaranteed with the enclosed test certificate. According to the above mentioned norm the sensitivity of the luminescent bacteria has to be controlled by the end user. The required information such as reference substances of concentrations can be derived from the enclosed test certificate.

pH-value:

According to the DIN EN ISO 11348-3 no correction of the pH is necessary if the pH value of the sample is between 6.0 and 8.5. It may be noted that pH-values of less than 6.0 and greater than 8.5 can lead to pH-related inhibitions of luminescence.

Interferences:

Non-soluble or volatile substances, compounds which are difficult to dissolve, or substances which react with the diluent or the test suspension or which change their state during the test can falsify the test result or make it difficult to reproduce the test results.

Strong colored or turbid samples can cause losses of light due to light adsorption or scattering. In accordance with the procedure described in DIN EN ISO 11348-3, annex A, these effects can be minimized by an appropriate sample treatment (centrifugation or sedimentation) or by using color correction cuvettes (REF 940006).

Oxygen is required for the bioluminescence (> 3 mg/L) and can be limiting in case of samples with a strong oxygen consumption. This can finally result in an inhibition of light emission. If the water sample contains easily biodegradable nutrients a loss of the light intensity which is not caused by contaminants can occur. As the test organism *Vibrio fischeri* is a marine organism the use of sea-water samples can lead to an increase of luminescence masking potential inhibitory effects of the sample (see DIN EN ISO 11348 annex D).

Salt concentrations of the sample higher than 30 g/L NaCl or concentrations of other compounds with similar osmolarity can in conjunction with the salts in the test solutions lead to hyperosmotic effects. To prevent these effects the overall salt concentration should not exceed the osmolarity corresponding to 35 g/L NaCl.

Chlorine containing samples effect the test procedure so that a dechlorination is mandatory, e.g., by addition of a 1 % sodium thiosulfate solution.

Disposal:

Luminescent bacteria and test preparations can be disposed of without difficulty via the sink. Restrictions can arise if the sample contains hazardous or toxic substances which are subject to waste disposal regulations. The user is him/herself responsible for the orderly disposal of such test preparations in accordance with the respectively valid guidelines and regulations.

Literature:

DIN EN ISO 11348-3:2009-05

Determination of the inhibitory effect of water samples upon the light emission of *Vibrio fischeri* (luminescent bacteria test); part 3; procedure with freeze-dried bacteria.

BioFix® Lumi „Single-Shot“ Bactéries lumineuses pour l'analyse individuelle aux fins de contrôles techniques et d'auto-surveillance

Méthode :

Détermination de la toxicité aiguë via bactéries lumineuses **lyophilisées**. Le pouvoir luminescent naturel (luminescence) du micro-organisme *Vibrio fischeri* NRRL B-11177 utilise configure la variable métrologique. La détermination porte sur l'inhibition de l'intensité lumineuse par l'échantillon comparativement au milieu de contrôle non inhibé. L'indice d'inhibition de l'intensité lumineuse dans 1, échantillon constitue un critère de sa toxicité.

Domaine d'application :

Eaux usées, extraits aqueux et lixiviats, eaux douces (eaux de surface et souterraines), eau de mer et eaux saumâtres, éluats de sédiments (eau douce, eau saumâtre et eau de mer), eaux interstitielles, substances individuelles diluées dans l'eau.

Domaine de mesure :

0 – 100 % d'inhibition

Indication des résultats :

- % d'inhibition de l'intensité lumineuse dans l'échantillon par comparaison à un contrôle non inhibé
- **EC₅₀** : concentration d'un échantillon provoquant une inhibition de l'intensité lumineuse de xx% exactement (valeur EC₅₀ p.e. concentration de l'échantillon provoquant une inhibition de l'intensité lumineuse de 50%).
- **Valeurs TU** („Toxicity Units“ répondant à la définition de l'Administration Américaine de l'Environnement U.S. EPA) : 100 divisé par la valeur EC₅₀.

Contenu du jeu de réactifs :

- 20 cuvettes rondes contenant des BioFix® Lumi bactéries lumineuses lyophilisées
- 20 cuvettes en verre de 50 × 12 mm
 - 1 bouteille de 30 mL de „BioFix® Lumi solution de la réactivation pour „Single-Shot“ bactéries lumineuses“
 - 1 bouteille de 15 mL de „BioFix® Lumi solution du contrôle“

Indication de danger :

Ce test ne contient aucune matière dangereuse soumise à une obligation légale de désignation. Le milieu bactérioluminescent *Vibrio fischeri* NRRL B-11177 ne s'est jamais manifesté sous forme pathogène. Selon la fiche de données B006 1/92 ZH 1/346 délivrée par l'Association Professionnelle de l'industrie Chimique, *Vibrio fischeri* appartient au groupe de risques 1, c'est-à-dire qu'il ne présente aucun risque pour l'homme et les vertèbres.

Conservation :

Les flacons contenant les bactéries lumineuses lyophilisées BioFix® Lumi se conservent jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'emballage à une température entre -18 et -22 °C. La solution de reconstitution BioFix® Lumi décongelée peut être stockée dans le réfrigérateur à une température entre +2 et +8 °C jusqu'à la date limite d'utilisation imprimée.

Sortir les bactéries lumineuses lyophilisées du compartiment congélateur seulement juste avant la réactivation. Une fois réactivées, les bactéries lumineuses doivent si possible être utilisées en l'espace de 4 heures ! L'entreposage de milieux bactérioluminescents réactivés ne devrait uniquement s'effectuer que dans une armoire frigorifique sous une température de +2 °C à +8 °C.

Toute prolongation du temps de conservation des bactéries lumineuses réactivées peut engendrer une décroissance de la luminescence naturelle ainsi qu'un décalage du spectre de sensibilité. La recongélation des bactéries lumineuses réactivées n'est pas recommandée et elle n'est pas couverte par la garantie de MACHEREY-NAGEL.

Réactivation et dosage des BioFix® Lumi „Single-Shot“ bactéries lumineuses lyophilisées : Indépendamment du test effectué, la réactivation et le dosage des BioFix® Lumi „Single-Shot“ bactéries lumineuses lyophilisées s'effectuent toujours selon la même méthode. Prière de consulter les directives pour tests et systèmes de tests correspondants pour tous détails visant l'exécution de contrôles ultérieurs.

Démarche 1 : Réactivation

1. Prélever hors du compartiment congélateur un tube lyophilisé contenant les bactéries lumineuses BioFix® Lumi ainsi que le flacon prérefroidi contenant la „BioFix® Lumi solution de la réactivation pour „Single-Shot“ bactéries lumineuses“ hors du compartiment congélateur
2. Y **ajouter** tout d'abord le plus rapidement possible **1,0 mL de „BioFix® Lumi solution de la réactivation pour „Single-Shot“ bactéries lumineuses“** (décongélation instantanée).
3. Mélanger précautionneusement l'éprouvette contenant les bactéries lumineuses réactivées BioFix® Lumi „Single-Shot“, puis l'étiqueter avec „Contrôle“.

Démarche 2: Dosage

1. Préparer une cuvette vide en verre de 50 × 12 mm, puis l'étiqueter avec „Echantillon“. Pipetter ensuite **0,5 mL de suspension réactivée de bactéries lumineuses** dans la cuvette en verre étiquetée „Echantillon“.
2. Laisser reposer pour environ 10 min à +15 °C les cuvettes „Echantillon“ et „Contrôle“.
3. Lancer l'essai par la **mesure de la luminescence initiale I₀**.
Pour en savoir davantage sur la suite de l'essai, veuillez consulter les instructions correspondantes et les guides d'utilisation des luminomètres respectivement utilisés !

Assurance qualité analytique :

Le certificat d'homologation ci-joint atteste le standard de qualité interne observé par MACHEREY-NAGEL en conformité avec la référence ISO 9001.

La sensibilité des bactéries lumineuses livrées doit également être vérifiée par l'opérateur dans son propre laboratoire, conformément à la norme en vigueur. Les informations requises à cet effet telles que les substances standard et les concentrations des tests figurent dans le certificat de contrôle ci-joint.

pH :

Conformément à l'énoncé de la norme DIN EN ISO 11348-3, il n'est pas nécessaire de corriger le pH si l'échantillon a un pH de 6,0 à 8,5. Des pH inférieurs à 6,0 ou supérieurs à 8,5 peuvent occasionner des inhibitions de la luminescence. Pour que l'éventuel effet toxique dû aux écarts de pH reste négligeable, il est nécessaire d'ajuster le pH.

Interférences :

Les composants ou matières non dissoutes, difficilement solubles ou volatiles réagissant avec l'eau de dilution ou la suspension de test ou modifiant leur état pendant l'essai peuvent fausser les résultats obtenus ou nuire à la reproductibilité de ces derniers.

Des pertes de luminescence peuvent se produire par absorption ou diffusion de lumière en cas d'échantillons très colorés (tout particulièrement pour les colorations rouges ou marron) ou troubles. Ces interférences peuvent être compensées par une préparation de l'échantillon (sédimentation ou centrifugage) ou par ex. par utilisation de cuves de correction chromatique à double paroi (REF 940006) en référence à la méthode selon la norme DIN EN ISO 11348, annexe A. Comme la bioluminescence requiert de l'oxygène (> 3 mg/L), il se peut que dans le cas d'échantillons consommant beaucoup d'oxygène ou à faible teneur en oxygène, il se produise un manque d'oxygène susceptible d'occasionner une inhibition de l'émission lumineuse.

Si l'échantillon d'eau contient des nutriments facilement biodégradables, il peut se produire une baisse de la bioluminescence non imputable aux polluants.

L'organisme *Vibrio fischeri* utilisé pour l'essai étant une bactérie marine, l'analyse d'échantillons contenant de l'eau de mer occasionne fréquemment une élévation de la bioluminescence ce qui entraîne le masquage d'effets inhibiteurs (DIN EN ISO 11348, annexe D).

Conjointement à l'ajout de sel exigé dans le test, des concentrations dans l'échantillon d'eau de plus de 30 g/L NaCl ou des concentrations d'autres substances de même osmolarité peuvent entraîner des effets hyperosmotiques. Pour éviter ces effets, la concentration de sel résultante ne devrait pas dépasser l'osmolarité d'une solution de chlorure de sodium d'une concentration de 35 g/L de NaCl.

Les échantillons contenant du chlore perturbent aussi la réalisation de l'essai et doivent être déchlorés avant de commencer l'essai, par ex. par ajout d'une solution de thiosulfate de sodium à 1%.

Élimination des déchets :

Les bactéries lumineuses et les charges d'essai peuvent sans problème être éliminées dans l'évier. Il peut y avoir certaines restrictions si l'échantillon contient des substances toxiques ou qui présentent un danger pour la santé et sont soumises à l'obligation d'être éliminées de manière appropriée. Pour l'élimination de telles charges d'essai, l'utilisateur est responsable de leur élimination en bonne et due forme, conformément aux directives et règlements en vigueur.

Littérature :

DIN EN ISO 11348-3 :2009-05

Détermination de l'effet inhibant d'échantillons aqueux sur l'émission lumineuse-cente de *Vibrio fischeri* (test aux bactéries lumineuses) ; partie 3 : procédé aux bactéries lyophilisées.

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG · Valencienn Str. 11 · 52355 Düren · Allemagne
Tél. : +49 24 21 969-0 · info@mn-net.com · www.mn-net.com

France : MACHEREY-NAGEL SAS · 1, rue Gutenberg – BP135 · 67720 Hoerd · France
Tél. : 03 88 68 22 68 · sales-fr@mn-net.com

MACHEREY-NAGEL SAS (Société par Actions Simplifiée) au capital de 186600 €
Siret 379 859 531 00020 · RCS Strasbourg B379859531 · N° intracommunautaire FR04 379 859 531

BioFix® Lumi „Single-Shot“ Bacterias luminosas para el análisis individual dentro del control y la supervisión internos de la empresa

Método:

Análisis de toxicidad aguda por medio de bacterias luminosas **secadas por congelación**. La medida es la luminiscencia natural del microorganismo empleado *Vibrio fischeri* NRRL B-11177. Se investiga la inhibición de la intensidad lumínica a través de la muestra en comparación con un sustrato de control desinhibido. El grado de inhibición de la intensidad lumínica en la muestra constituye la medida de su toxicidad.

Áreas de aplicación:

Aguas residuales, extractos acuosos y lixiviados, agua dulce (aguas superficiales y aguas subterráneas), agua de mar y agua salobre, eluatos de sedimentos (agua dulce, agua salobre y agua de mar), agua intersticial, así como sustancias individuales diluidas en agua.

Rango:

0 – 100 % de inhibición

Parámetros determinables con este test:

- **% de inhibición** de la intensidad luminosa en la prueba consistente en la comparación con un control sin restricciones.
- **EC_{xx}**: Concentración de una prueba, que causa una inhibición de la intensidad luminosa de exactamente xx % (por ejemplo valor EC50: Concentración de la prueba que causa una inhibición de la intensidad luminosa del 50 %).
- **Valores TU** (“Toxicity units” según la definición de las Autoridades para la protección del medio ambiente americanas U.S. EPA): 100 dividido valor EC₅₀.

Contenido del kit de reactivos:

20 cubetas redondas con BioFix® Lumi bacterias luminosas liofilizadas

20 cubetas de vidrio de 50 × 12 mm

1 botella con 30 mL de “BioFix® Lumi Solución reactivada para “Single-Shot” bacterias luminosas”

1 botella con 15 mL de “BioFix® Lumi Solución del control”

Indicaciones de peligro:

Este test no contiene ninguna sustancia peligrosa que deba ser indicada en la etiqueta.

La cepa de bacterias luminiscentes *Vibrio fischeri* NRRL B-11177 nunca se ha manifestado como agente patógeno. En su hoja informativa B006 1/92 ZH 1/346, la Asociación Profesional de la Industria Química alemana ha clasificado a la bacteria *Vibrio fischeri* dentro del grupo de riesgo 1, es decir, como **NQ** peligrosa para las personas y animales vertebrados.

Almacenamiento:

Los viales con las bacterias luminiscentes BioFix® Lumi liofilizadas deben mantenerse a una temperatura de -18 a -22 °C; de esta manera podrán usarse hasta la fecha de vencimiento que consta en el envase. La “BioFix® Lumi Solución reactivada para “Single-Shot” bacterias luminosas” y la “BioFix® Solución del control” puede guardarse descongelado en la nevera entre +2 °C y +8 °C hasta la fecha de conservación impresa.

Las bacterias luminiscentes sólo deberán sacarse del congelador justo antes de su reactivación. Una vez reactivadas, procurar usar las bacterias en un intervalo de tiempo no mayor de 4 horas. El almacenamiento provisional de las bacterias luminosas reactivadas sólo debe realizarse en la nevera entre +2 °C y +8 °C.

Mientras más tiempo se guarden las bacterias reactivadas, mayor es la posibilidad de que se produzca una disminución de su bioluminiscencia, así como una alteración del espectro de sensibilidad. El volver a congelar las bacterias reactivadas no se recomienda y constituye un uso incorrecto del producto; en este caso, MACHERY-NAGEL quedará eximida de toda obligación de prestación de garantía.

Reactivación y dosificación de las BioFix® Lumi “Single-Shot” bacterias luminosas liofilizadas:

La reactivación y la dosificación de las BioFix® Lumi bacterias luminosas liofilizadas se lleva a cabo con independencia de la prueba y siempre del mismo modo y manera. Los detalles para una posterior ejecución de una prueba se pueden obtener en las instrucciones de las correspondientes pruebas y sistemas de prueba.

Fase de trabajo 1 : Reactivación

1. Sacar un tubito ultracongelado con BioFix® Lumi bacterias luminosas del congelador y la botella previamente refrigerada con „BioFix® Lumi Solución reactivada para „Single-Shot“ bacterias luminosas“ de la nevera.
2. **Añadir** lo más rápidamente posible aproximadamente **1,0 mL de “BioFix® Lumi Solución reactivada para “Single-Shot” bacterias luminosas”** (“Descongelación de choque”).
3. Mezclar cuidadosamente el tubito con bacterias luminosas BioFix® Lumi „Single-Shot“ reactivadas y etiquetarla „Control”.

Fase de trabajo 2: Dosificación

1. Preparar una cubeta de vidrio vacía de 50 × 12 mm y etiquetarla „Muestra”. Seguidamente, pipetar **0,5 mL de la suspensión de bacterias luminosas reactivadas** en la cubeta de vidrio etiquetada „Muestra”.
2. Dejar en reposo las cubetas etiquetadas „Muestra”-y „Control“ durante aprox. 10 min a +15 °C.
3. Comenzar con el ensayo **midiendo la luminiscencia inicial I₀**.
Para mayor información acerca de la forma de realizar el ensayo, véanse las instrucciones de uso de los tests respectivos respectivos, así como de los luminómetros empleados.

Garantía de calidad analítica:

Con el certificado de inspección se garantiza el cumplimiento de los estándares de calidad de MACHERY-NAGEL, verificados internamente según ISO 9001.

No obstante, la norma mencionada recomienda asimismo al usuario controlar en el laboratorio la sensibilidad de las bacterias luminiscentes. La información requerida para la realización de dicho control – p. ej. las sustancias de referencia y concentraciones a usar – se encuentra en el certificado de control.

Valor pH:

Según la norma DIN EN ISO 11348-3, las muestras con un pH entre 6,0 y 8,5 no requieren un ajuste del mismo. Los valores de pH inferiores a 6,0 ó superiores a 8,5 pueden inhibir la luminiscencia. Para que el efecto tóxico causado por las desviaciones de pH sea despreciable, es necesario realizar un ajuste del pH.

Interferencias:

Las sustancias o componentes insolubles, difícilmente solubles o volátiles que reaccionan con el agua diluyente o la suspensión, así como aquéllas cambian de estado durante el ensayo, pueden falsificar o afectar la reproducibilidad de los resultados.

En muestras turbias o fuertemente coloreadas (especialmente rojas o marrones), pueden producirse pérdidas de luz por absorción o dispersión. Estas interferencias pueden compensarse preparando previamente las muestras (centrifugación o sedimentación) o empleando cubetas de corrección de color (REF 940006), en conformidad con el método descrito en la norma DIN EN ISO 11348, Anexo A.

En las muestras que consumen mucho oxígeno o en aquéllas con un contenido bajo del mismo, la falta de oxígeno puede inhibir la luminiscencia, ya que éste es un elemento necesario para la producción de luz en los organismos vivos (> 3 mg/L).

Si la muestra de agua contiene nutrientes fácilmente biodegradables, puede producirse una disminución de la bioluminiscencia sin que hayan sustancias contaminantes.

Como el organismo usado para el ensayo es la bacteria marina *Vibrio fischeri*, al analizar muestras de agua de mar puede producirse un aumento de la bioluminiscencia quedando enmascarado cualquier efecto inhibidor de la misma (DIN EN ISO 11348-Anexo D).

Una concentración de NaCl superior a 30 g/L en la muestra, o de otras sustancias de igual osmolaridad puede causar, en combinación con las sales de agregadas durante el ensayo, efectos hiperosmóticos. Para evitar esto, la concentración de sal resultante no debería ser mayor que la osmolaridad correspondiente a 35 g/L en una solución de cloruro sódico.

Igualmente, las muestras que contienen cloro falsifican los resultados del ensayo por lo que tienen que ser descloradas previamente, p. ej. agregándoles una solución de tiosulfato sódico al 1 %.

Eliminación:

Las bacterias luminiscentes y las soluciones preparadas para el ensayo pueden verse sin problemas en el desagüe. Si la muestra contiene sustancias nocivas para la salud o venenosas (que requieran eliminación especial), esto no siempre estará permitido. Es responsabilidad del usuario eliminar las soluciones mencionadas en conformidad con las directivas y disposiciones legales aplicables.

Bibliografía:

DIN EN ISO 11348-3:2009-05

Análisis del efecto de las muestras de agua en la emisión de luz de *Vibrio fischeri* (prueba de las bacterias luminosas): Parte 3: Procedimiento con bacterias liofilizadas.

BioFix® Lumi „Single-Shot“ Lichtgevende Bacteriën voor de afzonderlijke bepaling in het kader van de bedrijfs- en zelfcontrole

Methode:

Bepaling van de acute toxiciteit met behulp van **gevriesdroogde** lichtgevende bacteriën. Meetbare groei is het natuurlijke lichtgevende vermogen (luminescentie) van het toegepaste micro-organisme *Vibrio fischeri* NRRL B-11177. Onderzocht wordt de remming van de lichtintensiteit door het monster in vergelijking met een ongeremde controletoebereiding. De hoogte van de remming van de lichtintensiteit in het monster is een maat voor de toxiciteit ervan.

Toepassing:

Afvalwater, waterige extracten en percolatiewater, zoetwater (oppervlaktewater en grondwater), zeewater en brak water, eluaten van sedimenten (zoetwater, brak water en zeewater), poriënwater, individuele stoffen in water opgelost.

Meetbereik:

0–100 % remming

Opgave van de resultaten:

- % **remming** van de lichtintensiteit in het monster in vergelijking met een ongeremde controle
- **EC_{xx}**: concentratie van een monster die een remming van de lichtintensiteit van precies xx% veroorzaakt (bijv. EC₅₀-waarde: concentratie van het monster die een remming van de lichtintensiteit van 50 % teweegbrengt).
- **TU-waarden** (“Toxicity units” volgens de definitie van de Amerikaanse milieautoriteit US EPA): 100 gedeeld door EC₅₀-waarde.

Inhoud van reagensset:

20 reageerbuisjes met gevriesdroogde BioFix® Lumi lichtgevende bacteriën
 20 reageerbuisjes, 50 x 12 mm
 1 fles met 30 mL “BioFix® Lumi Reactivering oplossing voor “Single-Shot” lichtgevende bacteriën”
 1 fles met 15 mL “BioFix® Lumi Controle oplossing”

Gevarenidentificatie:

Deze testkit bevat geen gevaarlijke stoffen met verplichte kenmerking. De lichtgevende bacteriestam *Vibrio fischeri* NRRL B-11177 is nog nooit als ziekteverwekker opgevallen. Volgens het informatieblad B006 1/92 ZH 1/346 van de beroepsvereniging van de chemische industrie is *Vibrio fischeri* bij risicogroep 1 ingeschaald, d.w.z. er bestaat geen gevaar voor mensen en gewervelde dieren.

Bewaring:

De reageerbuisjes met de gevriesdroogde BioFix® Lumi lichtgevende bacteriën zijn bij -18 °C tot -22 °C houdbaar tot de op de verpakking aangegeven vervaldatum. Het “BioFix® Lumi Reactivering oplossing voor “Single-Shot” lichtgevende bacteriën” en het “BioFix® Lumi Controle oplossing” kunnen ontdooid in de koelkast bij +2 °C tot +8 °C tot de opgedrukte houdbaarheidsdatum bewaard worden.

Haal de gevriesdroogde lichtgevende bacteriën pas vlak voor de reactivering uit het vriesvak. Geactiveerde lichtgevende bacteriën dienen zoveel mogelijk binnen 4 uur te worden verbruikt! Tijdelijke opslag van de gereactiveerde lichtgevende bacteriën is slechts in de koelkast bij +2 °C tot +8 °C mogelijk.

Tijdens de bewaartijd van de gereactiveerde lichtgevende bacteriën kan de natuurlijke lichtintensiteit minder worden en een verschuiving van het gevoeligheidsspectrum ontstaan. Opnieuw invriezen van de gereactiveerde lichtgevende bacteriën wordt afgeraden en valt niet onder de garantie van MACHEREY-NAGEL.

Reactivering en dosering van de gevriesdroogde BioFix® Lumi “Single-Shot” lichtgevende bacteriën:

De reactivering en dosering van gevriesdroogde BioFix® Lumi “Single-Shot” lichtgevende bacteriën geschiedt onafhankelijk van de test steeds op dezelfde wijze. Voor details omtrent de verdere uitvoering van de test zie de gebruiksaanwijzingen van de desbetreffende tests en testsystemen.

Stap 1: Reactivering

1. Haal een diepgevroren buisje met BioFix® Lumi lichtgevende bacteriën uit het vriesvak en haal de voorgekoelde fles met “BioFix® Lumi Reactivering oplossing voor “Single-Shot” lichtgevende bacteriën” uit de koelkast.
2. Een zo snel mogelijke **toevoeging** van in het begin **1,0 mL „BioFix® Lumi Reactivering oplossing voor „Single-Shot” lichtgevende bacteriën”** (“shockontdooien”).
3. Meng het reageerbuisje met gereactiveerde BioFix® Lumi „Single-Shot” lichtgevende bacteriën voorzichtig en schrijf er „Controle” op.

Stap 1: Dosering

1. Zet een leeg reageerbuisje, 50 x 12 mm, klaar en schrijf er „Monster” op. Pipetteer vervolgens **0,5 mL van de gereactiveerde lichtgevende bacteriënsuspensie** in het met „Monster” getiketteerde reageerbuisje.
2. Laat de „Monster“- en „Controle“-reageerbuisjes ongeveer 10 min rustig bij +15 °C staan.
3. Start van de test door **meting van het gegeven licht bij aanvang I₀**.
Details omtrent de verdere uitvoering van de test kunnen worden ontleend aan de handleidingen en handboeken van de bij de tests gebruikte luminometers.

Analytische kwaliteitsborging:

Met het bijgevoegde keuringscertificaat wordt er door MACHEREY-NAGEL gegarandeerd dat er aan de volgens ISO 9001 uitgevoerde interne kwaliteitsstandaards wordt voldaan.

De gevoeligheid van de geleverde lichtgevende bacteriën moet volgens de norm ook in het eigen laboratorium worden gecontroleerd. De daarvoor noodzakelijke informatie zoals standaardsubstanties en testconcentraties kunnen worden ontleend aan het bijgevoegde testcertificaat.

pH-waarde:

Volgens de DIN EN ISO 11348-3 is er geen pH-correctie van het monster nodig wanneer de pH-waarde tussen 6,0 en 8,5 ligt. pH-waarden van minder dan 6,0 of groter dan 8,5 kunnen leiden tot pH-inherente lichtremmingen. Moet het eventuele toxische effect van de pH-waarde buiten beschouwing blijven, dan moet deze worden ingesteld.

Interferenties:

Niet opgeloste, moeilijk oplosbare of vluchtige stofbestanddelen of stoffen die met het verdunningswater of met de testsuspensie reageren of tijdens de test van toestand veranderen, kunnen het testresultaat vervalsen of de reproduceerbaarheid van de testresultaten nadelig beïnvloeden.

Bij sterk gekleurde (met name rood of bruin gekleurd) of troebele monsters kan er lichtverlies door absorptie of lichtverstrooiing optreden. Deze storingen kunnen door een voorbehandeling van de monsters (afzetting of centrifugeren) of bijv. door gebruik van kleurcorrectie-cuvetten met dubbele wanden (REF 940006) analoog aan de methode volgens DIN EN ISO 11348, bijlage A worden gecompenseerd.

Omdat voor de bioluminescentie zuurstof nodig is (> 3 mg/L), kan er bij sterk zuurstof verterende monsters of monsters met een gering zuurstofgehalte een zuurstofgebrek optreden dat kan leiden tot een remming van de lichtemissie.

Krijgt het watermonster biologisch gemakkelijk afbreekbare voedingsstoffen, dan kan er een niet door schadelijke stoffen veroorzaakte afname van de bioluminescentie optreden.

Omdat het bij het testorganisme *vibrio fischeri* gaat om een zeebacterie, leidt het onderzoek van zeewaterhoudende monsters vaak tot een verhoging van de bioluminescentie, waardoor remmende werkingen kunnen worden gemaskeerd (DIN EN ISO 11348-bijlage D).

Zoutconcentraties in het watermonster van meer dan 30 g/L NaCl of stofconcentraties van andere substanties met dezelfde osmolariteit kunnen samen met de in de test vereiste zoutaanvulling leiden tot hyperosmotische effecten. Ter vermijding van deze effecten dient de resulterende zoutconcentratie de osmolariteit van een natriumchloride-oplossing van 35 g/L NaCl niet te overschrijden. Ook chloorhoudende monsters storen de uitvoering van de test en moeten vóór het begin van de test worden gedechloriseerd, bijv. door toevoeging van een natriumthiosulfaat-oplossing van 1 %.

Opruiming:

Lichtgevende bacteriën en testtoebereidingen kunnen probleemloos via de gootsteen verwijderd worden. Er kunnen beperkingen ontstaan, wanneer het monster substanties bevat die gevaarlijk voor de gezondheid of giftig zijn en waarvoor een specifieke verwijdering verplicht is. De gebruiker is ervoor verantwoordelijk dat dergelijke testtoebereidingen volgens de ter plaatse geldige richtlijnen en voorschriften verwijderd worden.

Literatuur:

DIN EN ISO 11348-3:2009-05

Bepaling van de remwerking van watermonsters op de lichtemissie van *Vibrio fischeri* (test lichtgevende bacteriën); deel 3: Procédé met gevriesdroogde bacteriën.

BioFix® Lumi „Single-Shot“ Batteri luminosi per la singola determinazione nel quadro del controllo di processo e del proprio monitoraggio

Metodo:

Determinazione della tossicità acuta tramite batteri luminosi **liofilizzati**. La grandezza misurabile è la naturale prestazione luminosa (luminescenza) del microrganismo impiegato *Vibrio fischeri* NRRL B-11177. L'inibizione dell'intensità luminosa viene rilevata confrontando il campione con una composizione di controllo non inibita. La grandezza di inibizione dell'intensità luminosa nel campione è una misura per la sua tossicità.

Utilizzo:

Acque reflue, estratti acquosi e percolati, acque dolci (superficiali e sotterranee), acque marine e salmastre, eluati di sedimenti (acque dolci, acque salmastre e marine), acque interstiziali nonché singole sostanze disciolte in acqua.

Campo di misura:

Inibizione 0 – 100 %

Espressione dei risultati:

- % di **inibizione** dell'intensità luminosa nel campione in confronto con un controllo non inibito.
- **ECxx**: concentrazione di un campione, che provoca una inibizione dell'intensità luminosa di esattamente xx % (ad es. EC50: concentrazione del campione, che provoca l'intensità luminosa del 50 %).
- **Valori TU** ("unità di tossicità" secondo la definizione dell'ente per la protezione ambientale americano U.S. EPA): 100 diviso per il valore EC₅₀.

Contenuto set di reagenti:

- 20 cuvette tonde con BioFix® Lumi batteri luminosi **liofilizzati**
- 20 cuvette in vetro, 50 × 12 mm
- 1 bottiglia con 30 mL del "BioFix® Lumi Medium reattivazione per "Single-Shot" batteri luminosi"
- 1 bottiglia con 15 mL del "BioFix® Lumi Soluzione di controllo"

Indicazioni di pericolo:

Questo test non contiene sostanze pericolose soggette a obbligo di etichettatura. Per il ceppo di batteri luminescenti *Vibrio fischeri* NRRL B-11177 non è nota alcuna patogenicità. Nel suo foglio informativo B006 1/92 ZH 1/346, l'Associazione Professionale dell'Industria Chimica tedesca ha assegnato *Vibrio fischeri* al gruppo di rischio 1, classificandolo quindi come microrganismo non suscettibile di provocare malattie umane e animali.

Immagazzinamento:

Le cuvette tonde con batteri luminosi BioFix® Lumi liofilizzati sono inalterabili fino alla data di scadenza indicata sulla confezione alla temperatura di -18 °C e -22 °C. Il "BioFix® Lumi Medium reattivazione per "Single-Shot" batteri luminosi" e il "BioFix® Lumi Soluzione di controllo" può essere conservato in stato scongelato in frigorifero alla temperatura di +2 °C fino +8 °C fino alla data di inalterabilità stampata sulla confezione.

Estrarre dal congelatore i batteri luminescenti liofilizzati immediatamente prima della riattivazione. Dopo la riattivazione, si consiglia di utilizzare i batteri luminescenti entro un intervallo di tempo di massimo 4 ore! Un stoccaggio intermedio dei batteri luminosi reattivati può avvenire solo in frigorifero alla temperatura di +2 °C fino +8 °C.

La conservazione comporta un decremento spontaneo progressivo dell'emissione luminosa naturale dei batteri nonché un'alterazione dello spettro di sensibilità. Si sconsiglia vivamente di non ricongelare i batteri luminescenti riattivati. In caso di ricongelamento, MACHEREY-NAGEL è esonerata da ogni obbligo di garanzia.

Reattivazione e dosaggio dei BioFix® Lumi „Single-Shot“ batteri luminosi liofilizzati:

La riattivazione e il dosaggio dei batteri luminescenti liofilizzati BioFix® Lumi si eseguono sempre allo stesso modo indipendentemente dalla tipologia del saggio.

Per maggiori dettagli in merito al susseguente procedimento analitico si rimanda alle istruzioni per l'uso dei singoli test/sistemi di saggio nonché ai manuali operativi dei luminometri utilizzati.

Passaggio 1: Riattivazione

1. Togliere dallo scomparto congelatore un tubetto congelato con batteri luminosi BioFix® Lumi liofilizzati e la bottiglia preraffreddata con „BioFix® Lumi Medium reattivazione per „Single-Shot“ batteri luminosi“.
2. Il più velocemente possibile **aggiungere** dapprima **1,0 mL del „BioFix® Lumi Medium reattivazione per „Single-Shot“ batteri luminosi“** („scongelo choc“)
3. Scuotere con cautela il tubetto con BioFix® Lumi „Single-Shot“ batteri luminosi riattivati e applicarvi la scritta „Controllo“.

Passaggio 2: Dosaggio

1. Dapprima preparare una cuvetta in vetro, 50 × 12 mm, vuota, e applicarvi la scritta „Prova“ e successivamente pipettarvi **0,5 mL della sospensione di batteri luminosi riattivati**.
2. Lasciare riposare le cuvette „Prova“ e „Controllo“ per 10 minuti da +15 °C.
3. Iniziare il saggio **effettuando la lettura della luminescenza emessa a tempo (I₀)**.
Per maggiori dettagli in merito al susseguente procedimento analitico si rimanda alle istruzioni per l'uso e ai manuali operativi dei luminometri utilizzati.

Assicurazione della qualità analitica:

Con l'allegato Certificato di prova viene garantito il rispetto degli standard di qualità interni della MACHEREY-NAGEL ai sensi della norma ISO 9001.

In conformità con la norma sopra menzionata, l'utilizzatore finale è tenuto a controllare nel proprio laboratorio la sensibilità dei batteri luminescenti forniti. Le informazioni necessarie a tal fine, quali le sostanze di riferimento e le concentrazioni di saggio, sono riportate nel certificato di controllo allegato.

pH:

In coerenza con la norma DIN EN ISO 11348-3 non è richiesta alcuna correzione del pH se il campione ha un pH da 6,0 a 8,5. Valori di pH inferiori a 6,0 o superiori a 8,5 possono influire sulla sopravvivenza dei batteri inibendone la naturale luminosità. Per minimizzare gli effetti tossici correlati al pH, il valore di quest'ultimo deve essere corretto.

Interferenze:

Sostanze insolubili o scarsamente solubili in acqua, composti che possono reagire con l'acqua di diluizione / sospensione del saggio o che si possono alterare durante le prove possono influenzare l'attendibilità dei risultati o pregiudicarne la riproducibilità.

Campioni fortemente colorati (soprattutto di colore rosso o marrone) o torbidi possono provocare perdite di luminescenza dovute ad assorbimento o diffusione della luce. Conformemente alla procedura descritta nella norma DIN EN ISO 11348, annesso A, tali interferenze possono essere minimizzate mediante trattamento preliminare del campione (sedimentazione o centrifugazione) o, ad esempio, utilizzando delle cuvette a doppia camera (REF 940006).

Poiché per la bioluminescenza è richiesto ossigeno in concentrazione > 3 mg/L, i campioni con un'elevata domanda e/o una bassa concentrazione di ossigeno possono determinare una carenza di ossigeno e presentare quindi un effetto inibitorio sull'emissione di luce.

La presenza di nutrienti facilmente biodegradabili nel campione acquoso può provocare un'inibizione della bioluminescenza anche in assenza di sostanze tossiche.

L'organismo *Vibrio fischeri* utilizzato per la prova è un batterio marino, ragion per cui la presenza di acqua marina nel campione analizzato determina effetti di stimolazione della bioluminescenza che possono mascherare eventuali inibizioni della stessa (DIN EN ISO 11348, annesso D).

Una concentrazione di NaCl superiore a 30 g/L nel campione acquoso, o di altre sostanze con osmolarità simile, può determinare, in concomitanza con la salatura prevista dal test, effetti iperosmotici. Per evitarli, la concentrazione di sale complessiva non deve superare l'osmolarità di una soluzione contenente 35 g/L di NaCl.

Campioni a contenuto di cloro influenzano l'attendibilità dei risultati e devono essere dichiarati prima del saggio (ad es. con una soluzione di tiosolfato di sodio all'1 %).

Smaltimento:

I batteri luminescenti e le soluzioni preparate per il saggio si possono rilasciare nelle acque reflue. Restrizioni sono date nel caso in cui il campione contiene sostanze specifiche dannose per la salute o velenose che richiedono uno smaltimento speciale. L'utilizzatore finale è responsabile dello smaltimento regolare di dette soluzioni in accordo con le direttive e le disposizioni vigenti.

Riferimenti bibliografici:

DIN EN ISO 11348-3:2009-05

Determinazione dell'effetto inibitorio di campioni acquosi sull'emissione di luce di *Vibrio fischeri* (prova su batteri luminescenti); parte 3: metodo con batteri liofilizzati