

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 de microorganismo empleado *Vibrio fischeri* NRRL B-11177. Se investiga la inhibición de la intensidad luminosa a través de la muestra en comparación con un sustrato de control desinhibido. El grado de inhibición de la intensidad luminosa 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 x 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 **NO** 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, MACHEREY-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 x 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 MACHEREY-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 940 006), 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 inhibitor 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.