

**“Multi-Shot” Bacterias luminosas  
(según la DIN EN ISO 11348-3)****Método:**

Análisis de la toxicidad aguda de las bacterias luminosas **liofilizadas** según la DIN EN ISO 11348-3. El objetivo de la medición es determinar la capacidad luminosa (luminiscencia) natural del microorganismo designado como *Vibrio fischeri* NRRL B-11177. Se determina la inhibición de la intensidad luminosa mediante la prueba consistente en la comparación con una fórmula de control sin restricciones. El nivel de inhibición de la intensidad luminosa en la prueba es una medida que determina la toxicidad.

**Usos:**

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

**Información sobre los resultados:**

- % de inhibición de la intensidad luminosa en la prueba consistente en la comparación con un control sin restricciones.
- **Valor  $G_1$  value** (según la DIN EN ISO 11348-3: **Valor LID**): Valor recíproco de la primera fase de dilución de una prueba, por la cual la inhibición de la intensidad luminosa es inferior al 20 %.
- **EC<sub>xx</sub>**: Concentración de una prueba, que causa una inhibición de la intensidad luminosa de exactamente xx % (por ejemplo valor EC<sub>50</sub>: 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 EC<sub>50</sub>.

**Contenido del kit de reactivos:**

- 10 cubetas redondas con bacterias luminosas liofilizadas según la DIN EN ISO 11348-3
- 1 botella con 75 mL de “BioFix® Lumi Solución reactivada para “Multi-Shot” bacterias luminosas”
- 1 botella con 20 mL de “BioFix® Lumi Solución del control”

**Precauciones de seguridad:**

Este test no contiene ninguna sustancia peligrosa de señalización obligatoria. La familia de las bacterias luminosas *Vibrio fischeri* NRRL B-11177 nunca se ha manifestado como agente patógeno de enfermedades. Según la hoja informativa B006 1/92 ZH 1/346 de la Asociación profesional de la industria química, *Vibrio fischeri* ha sido clasificado en el grupo de riesgo 1, es decir no supone ningún riesgo para las personas y para los animales vertebrados.

**Almacenaje:**

Las cubetas redondas con las bacterias luminosas BioFix® Lumi se conserva a  $-20 \pm 2$  °C hasta la fecha de caducidad indicada en el envase. La “BioFix® Lumi Solución reactivada para “Multi-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.

Sacar inmediatamente las bacterias luminosas liofilizadas antes de la reactivación del congelador. El almacenamiento provisional de las bacterias luminosas reactivadas sólo debe realizarse en la nevera entre +2 °C y +8 °C.

Si las bacterias luminosas reactivadas se conservan durante un tiempo demasiado prolongado, se puede producir una disminución de la intensidad luminosa natural y una alteración del espectro de sensibilidad. No es aconsejable volver a congelar las bacterias luminosas reactivadas y no están sujetas a las prestaciones de garantía de MACHEREY-NAGEL.

**Reactivación y dosificación de las bacterias luminosas liofilizadas BioFix® Lumi:**

La reactivación y la dosificación de las bacterias luminosas liofilizadas BioFix® Lumi se lleva a cabo con independencia de la prueba y siempre del mismo modo y manera. Para mayor información acerca de la forma de realizar cada ensayo, véanse las instrucciones de uso de los tests y sistemas analíticos respectivos, así como los manuales de los luminómetros empleados.

Fase de trabajo 1:	Reactivación
1.	Sacar un tubito ultracongelado con bacterias luminosas BioFix® Lumi del congelador y la botella previamente refrigerada con “BioFix® Lumi Solución reactivada para “Multi-Shot” bacterias luminosas” de la nevera.
2.	Añadir lo más rápidamente posible aproximadamente <b>6 mL de “BioFix® Lumi Solución reactivada para “Multi-Shot” bacterias luminosas”</b> (“Descongelación de choque”).
3.	Desprender las bacterias luminosas sacudiendo repetidas veces el tubito.
4.	Antes de seguir con el tratamiento de las bacterias luminosas reactivadas, dejar reposar la solución 5 minutos en la nevera entre +2 °C y +8 °C para que se estabilice.

Fase de trabajo 2:	Dosificación
1.	Se colocan <b>0,5 mL de suspensión de bacterias luminosas</b> en cada cubeta de depósito de prueba preparada. <b>Dejar en reposo durante aprox. 10 min a +15 °C.</b>
2.	La posterior ejecución dependerá de las correspondientes instrucciones de la prueba.

**Garantía de calidad analítica:**

En la DIN EN ISO 11348-3 se exige el cumplimiento de seguros criterios de legitimidad. Con el Certificado de prueba adjunto, MACHEREY-NAGEL garantiza el cumplimiento de los criterios de legitimidad exigidos.

Para controlar personalmente y comprobar el funcionamiento correcto del sistema de prueba, el propio usuario puede ejecutar in situ una medición de control según la norma de las llamadas soluciones estándares. La información necesaria a tal efecto así como las sustancias estándares y las concentraciones de prueba se deben obtener del Certificado de prueba adjunto.

**Nivel de pH:**

Según la DIN EN ISO 11348-3 no es necesaria ninguna corrección del pH siempre que el nivel de pH de la prueba esté entre 6,0 y 8,5. Si el nivel de pH se encuentra fuera de los citados límites, se debe ajustar hasta obtener un valor de 7,0 +/- 0,2. Niveles de pH inferiores a 6,0 o superiores a 8,5 pueden provocar inhibiciones luminosas condicionadas por el pH.

**Interferencias:**

Las sustancias o componentes insolubles, difícilmente solubles o volátiles que reaccionan con el agua diluyente o la suspensión, así como aquellas 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 11348-3, Anexo A.

En las muestras que consumen mucho oxígeno o en aquellas 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 inhibitorio de la misma (DIN EN ISO 11348-3, 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 luminosas y los sedimentos de la prueba se pueden eliminar sin problemas a través del orificio de descarga. Se pueden producir restricciones si la prueba contiene sustancias perjudiciales para la salud o tóxicas que deban ser eliminadas. El propio usuario es el responsable de la reglamentaria eliminación de semejantes sedimentos de la prueba de acuerdo con las directivas y disposiciones vigentes y que se refieren a este aspecto.

**Bibliografía:**

DIN EN ISO 11348-3: Edición mayo 2009

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.

Informativo AQS para la garantía de la calidad en el análisis de aguas, aguas residuales y suelo (LAWA) P-9/8 (en alemán)