

## 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 EC<sub>50</sub>.

### Contenuto set di reagenti:

20 cuvette tonde con BioFix® Lumi batteri luminosi **liofilizzati**

20 cuvette in vetro, 50 x 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 -15 °C e -21 °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 x 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 tempo0(I<sub>0</sub>)**.  
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 940 006).

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