REF 945022 **02.23** de

BioFix® *Lumi*

„Multi-Shot“ Leuchtbakterien
(nach DIN EN ISO 11348-3)

Methode:
Bestimmung der akuten Toxizität auf **gefriergetrocknete** Leuchtbakterien nach DIN EN ISO 11348-3. Messgröße ist die natürliche Leuchtleistung (Lumineszenz) des eingesetzten Mikroorganismus *Vibrio fischeri* NRRL B-11177. Ermittelt wird die Hemmung der Leuchtintensität durch die Probe 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 (Oberflächen-und Grundwasser), Meer-und Brackwasser, Eluate von Sedimenten (Süß,-Brack-und Meerwasser), Porenwasser, Einzelstoffe in Wasser gelöst.

Messbereich:
0 – 100 % Hemmung

Angabe der Ergebnisse:
– **% Hemmung** der Leuchtintenistät in der Probe im Vergleich zu einer ungehemmten Kontrolle
– **G_t-Wert** (nach DIN EN ISO 11348-3: **LID-Wert**): Kehrwert der ersten Verdünnungsstufe einer Probe, bei der die Hemmung der Leuchtintensität weniger als 20 % beträgt.
– **EC_{xx}:** Konzentration einer Probe, die eine Hemmung der Leuchtintensität von genau xx % verursacht (z.B. EC_{50}-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 EC_{50}-Wert.

Inhalt Reagenziensatz:
10 Röhrchen mit gefriergetrockneten Leuchtbakterien nach DIN EN ISO 11348-3
1 Flasche mit 75 mL „BioFix® *Lumi* Reaktivierungslösung für „Multi-Shot“ Leuchtbakterien“
1 Flasche mit 20 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 –20 ± 2 °C bis zu dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum haltbar. Die „BioFix® *Lumi* Reaktivierungslösung für „Multi-Shot“ Leuchtbakterien“ und die „BioFix® *Lumi* Kontroll-Lösung“ können aufgetaut 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 baldmöglichst 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* Leuchtbakterien:
Die Reaktivierung und Dosierung gefriergetrockneter BioFix® *Lumi* Leuchtbakterien erfolgt testunabhängig immer auf die gleiche Art und Weise. Details zur weiteren Testdurchführung sind den Anleitungen der entsprechenden Teste, Testsysteme und Handbüchern der jeweils verwendeten Luminometer zu entnehmen!

Arbeitsschritt 1:	**Reaktivierung**
1.	Ein tiefgefrorenes Röhrchen mit BioFix® *Lumi* Leuchtbakterien dem Tiefkühlfach und die vorgekühlte Flasche mit „BioFix® *Lumi* Reaktivierungslösung für „Multi-Shot“ Leuchtbakterien“ dem Kühlschrank entnehmen.
2.	So schnell wie möglich **Zugabe** von **6 mL „BioFix® *Lumi* Reaktivierungslösung für „Multi-Shot“ Leuchtbakterien“** („Schockauftauen“).
3.	Leuchtbakterien durch mehrmaliges Schütteln des Röhrchens lösen.
4.	Vor weiterer Verarbeitung der reaktivierten Leuchtbakterien die Lösung zur Stabilisierung für 5 min im Kühlschrank bei +2 °C bis +8 °C zwischenlagern.

Arbeitsschritt 2:	**Dosierung**
1.	In jede bereitgestellte Testansatz-Kävette werden **0,5 mL** der **reaktivierten Leuchtbakteriensuspension** vorgelegt. **Etwa 10 min bei +15 °C temperieren.**
2.	Die weitere Durchführung ist den jeweiligen Testanleitungen zu entnehmen.

Analytische Qualitätssicherung:
In der DIN EN ISO 11348-3 wird die Einhaltung bestimmter Gültigkeitskriterien gefordert. Mit dem beigefügten Prüfzertifikat wird von MACHEREY-NAGEL die Einhaltung der geforderten Gültigkeitskriterien garantiert.
Zur Eigenkontrolle und Überprüfung der korrekten Funktionsweise des Testsystems kann auch vom Anwender selbst vor Ort eine Kontrollmessung mit den in der Norm genannten Standardlösungen durchgeführt werden. Die hierzu notwendigen Informationen wie Standardsubstanzen und Testkonzentrationen sind dem beiliegenden Prüfzertifikat 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. Liegt der pH-Wert der Probe außerhalb des genannten Bereiches muss dieser auf einen Wert von 7,0 ± 0,2 eingestellt werden. pH-Werte von kleiner 6,0 oder größer 8,5 können zu pH-bedingten Leuchthemmungen führen.

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 in Anlehnung an das Verfahren nach DIN EN ISO 11348-3, 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 11348-3, 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 Ausguss 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: Ausgabe Mai 2009
Bestimmung der Hemmwirkung von Wasserproben auf die Lichtemission von *Vibrio fischeri* (Leuchtbakterientest); Teil 3: Verfahren mit gefriergetrockneten Bakterien
AQS-Merkblatt für die Qualitätssicherung bei Wasser-, Abwasser-und Schlammuntersuchungen der Länderarbeitsgemeinschaft Wasser (LAWA) P-9/8

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG · Valencienner Str. 11 · 52355 Düren · Deutschland
Tel.: +49 24 21 969-0 · info@mn-net.com · ***www.mn-net.com***
Schweiz: MACHEREY-NAGEL AG · Hirsackerstr. 7 · 4702 Oensingen · Schweiz
Tel.: 062 388 55 00 · sales-ch@mn-net.com

PD 24349 / A023555 / 945022 / 0230.5

REF 945022 **02.23** en

BioFix® *Lumi*

"Multi-Shot" Luminescent Bacteria

(in accordance with DIN EN ISO 11348-3)

Method:
Determination of the acute toxicity on **freeze-dried** luminescent bacteria in accordance with DIN EN ISO 11348-3. The measuring unit is the natural luminescence of the used microorganism *Vibrio fischeri* NRRL B-11177. The test system measures the light output of the luminescent bacteria after they have been challenged by a sample and compares it to the light output of a control (reagent blank) that contains no sample. A difference in light output between the sample and the control is attributed to the effect of the sample on the organisms.

Field of application:
Waste water, aqueous extracts and leachates, fresh water (surface water and ground water), seawater, 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
– **G_L value** (in accordance with DIN EN ISO 11348-3: LID Value) : reciprocal value of the first dilution of a sample for which the inhibition of the light output amounts to less than 20 %.
– **EC_{xx}:** concentration of a sample which causes an inhibition of the light output of exactly xx % (e.g. EC_{50} 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 EC_{50} value.

Content of reagent sample
10 vials with freeze-dried luminescent bacteria in accordance with DIN EN ISO 11348-3
1 flask with 75 mL "BioFix® *Lumi* Reactivation solution for "Multi-Shot" luminescent bacteria"
1 flask with 20 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 –20 ± 2 °C. "BioFix® *Lumi* Reactivation solution for "Multi-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 immediately used! 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* luminescent bacteria:
The reactivation and dosage of freeze-dried BioFix® *Lumi* 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, test systems and handbooks of the luminometers used.

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 "Multi-Shot" luminescent bacteria" from the refrigerator.
2.	As quickly as possible add **6 mL "BioFix® *Lumi* Reactivation solution for "Multi-Shot" luminescent bacteria"** ("shock thawing").
3.	Dissolve the luminescent bacteria by shaking the vial several times.
4.	Prior to further use of the reactivated luminescent bacteria store the solution for an interim period for 5 minutes in the refrigerator at a temperature of between +2 °C and +8 °C to stabilize it.

Step 2:	**Dosage**
1.	Transfer **0.5 mL** of the **reactivated luminescent bacteria suspension** to each provided cuvette. **Leave to stand for about 10 minutes at +15 °C**.
2.	Further details to the test procedure can be derived from the respective instructions for use.

Analytical quality assurance:
The observance of certain validity criteria is required by DIN EN ISO 11348-3. The observance of the required validity criteria is guaranteed by MACHEREY-NAGEL by means of the enclosed test certificate.
For the purposes of self-regulation and the inspection of the correct functionality of the test system a control measurement can be carried out by the user on location by means of the standard solutions stated within the standard method. The necessary information which is required to do this relating to such items as standard solutions and test 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. If the pH value of the sample is not within the stated range then it must set to a value of 7.0 ± 0.2 pH values of less than 6.0 and greater than 8.5 can lead to pH-related inhibitions of luminescence.

Interferences:
Non or hardly soluble or volatile substances or 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.
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 seawater samples can lead to an increase of luminescence masking potential inhibitory effects of the sample (see DIN EN ISO 11348-3 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.
Clorine 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: Edition may 2009
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.

AQS Data Sheet for Quality Assurance in Water, Waste Water and Silt Tests by the Federal Work Community Water of Germany (LAWA) P-9/8

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG · Valencienner Str. 11 · 52355 Düren · Germany
Tel.: +49 24 21 969-0 · info@mn-net.com · ***www.mn-net.com***

PD 24349 / A023555 / 945022 / 0230.5

REF 945022 **02.23** fr

BioFix® *Lumi*

« Multi-Shot » Bactéries luminescentes (selon DIN EN ISO 11348-3)

Méthode :
Détermination de la toxicité aiguë via bactéries luminescentes **lyophilisées** selon DIN EN ISO 11348-3. Le pouvoir luminescent naturel (luminescence) du micro-organisme *Vibrio fischeri* NRRL B-11177 utilisé configure la variable métrologique. La détermination porte sur l'inhibition de l'intensité luminescente par l'échantillon comparativement à un milieu de contrôle non inhibé. L'indice d'inhibition de l'intensité luminescente dan l'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 luminescente dans l'échantillon par comparaison à un contrôle non inhibé
– **Valeur G_L value** (selon DIN EN ISO 11348-3 : valeur LID) : valeur inverse du premier niveau de dilution d'un échantillon dont l'inhibition de l'intensité luminescente atteint moins de 20 %.
– **EC_{xx}** : concentration d'un échantillon provoquant une inhibition de l'intensité luminescente de xx % exactement (valeur EC_{50} p.e. : concentration de l'échantillon provoquant une inhibition de l'intensité luminescente 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 EC_{50}.

Contenu du jeu de réactifs :
10 cuvettes rondes contenant des bactéries luminescentes lyophilisées selon DIN EN ISO 11348-3
1 bouteille de 75 mL de « BioFix® *Lumi* solution de la réactivation pour « Multi-Shot » bactéries luminescentes »
1 bouteille de 20 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 vertébrés.

Conservation :
La conservation des cuvettes rondes contenant les bactéries luminescentes lyophilisées BioFix® *Lumi* reste assurée jusqu'à la date limite d'utilisation indiquée sur l'emballage sous une température de –20 °C ± 2 °C. L'entreposage de la « BioFix® *Lumi* solution de la réactivation pour « Multi-Shot » bactéries luminescentes » et de la « BioFix® *Lumi* solution du contrôle » peut s'opérer dans une armoire frigorifique sous des températures allant de +2 à +8 °C jusqu'à concurrence de la date limite d'utilisation imprimée. Ne prélever les bactéries luminescentes lyophilisées hors du compartiment congélateur qu'immédiatement avant la réactivation. L'entreposage de milieux bactériolumescents 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 luminescentes réactivées peut engendrer une décroissance de l'intensité luminescente naturelle ainsi qu'un transfert du spectre de sensibilité. La recongélation des bactéries luminescentes réactivées n'est pas recommandée ; elle n'est pas garantie dans les prestations de MACHEREY-NAGEL.

Réactivation et dosage des bactéries luminescentes lyophilisées BioFix® *Lumi* :
Indépendamment du test effectué, la réactivation et le dosage des bactéries luminescentes lyophilisées BioFix® *Lumi* s'effectuent toujours selon la même méthode. Pour en savoir davantage sur la suite de l'essai, veuillez consulter les instructions spécifiques aux tests et systèmes analytiques correspondants ainsi que les guides d'utilisation des luminomètres respectivement utilisés !.

Démarche 1 :	**Réactivation**
1.	Prélever hors du compartiment congélateur un tube lyophilisé contenant les bactéries luminescentes BioFix® *Lumi* ainsi que le flacon préfroidi contenant la « BioFix® *Lumi* solution de la réactivation pour « Multi-Shot » bactéries luminescentes » hors du compartiment congélateur.
2.	Y **additionner** tout d'abord le plus rapidement possible **6 mL de « BioFix® *Lumi* solution de la réactivation pour « Multi-Shot » bactéries luminescentes »** (décongélation instanttanée).
3.	Diluer les bactéries luminescentes en agitant plusieurs fois le tube.
4.	Avant de poursuivre tout traitement de bactéries luminescentes réactivées, entreposer intermédiairement la solution pendant 5 min aux fins de stabilisation dans une armoire frigorifique sous une température de +2 °C à +8 °C.

Démarche 2 :	**Dosage**
1.	Verser **0,5 mL** de **suspension bactérioluminescente réactivée** dans chaque cuvette préparée du module de test. **Laisser reposer pour environ 10 min à +15 °C.**
2.	Consulter les directives de tests spécifiques pour la poursuite des opérations.

Assurance qualité analytique :
La norme DIN EN ISO 11348-3 exige le maintien de certains critères de validité. MACHEREY-NAGEL garantit avec le certificat d'homologation joint en annexe le respect des critères de validité revendiqués.
L'opérateur peut lui-même -aux fins d'auto-contrôle et de vérification du mode fonctionnel correct du système de test -effectuer sur le site une mesure de contrôle en s'aidant des solutions standards mentionnées dans la norme. Le certificat d'homologation accompagnant le module mentionne les informations nécessaires visant les substances standards et les concentrations des tests.

pH :
Conformément à l'énoncé de la norme DIN EN ISO 11348-3, un pH de d'échantillon allant de 6,0 à 8,5 ne nécessite aucune correction de ce dernier. Lorsque le pH de l'échantillon repose hors de la plage précitée, ce dernier doit être ramené sur une valeur de 7,0 + 0,2. Des pH inférieurs à 6,0 ou supérieurs à 8,0 peuvent être l'origine d'inhibitions luminescentes.

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 centrifugeage) ou par ex. par utilisation de cuves de correction chromatique à double paroi en référence à la méthode selon la norme DIN EN ISO 11348-3, 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 11348-3, 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 %.

Elimination des déchets :
Le rejet des bactéries luminescentes et des solutions de test peut s'opérer sans problème en les déversant sur l'évier. Des restrictions doivent être envisagées en présence d'échantillons délétères ou toxiques ou contenant des substances devant être confiées à une décharge spécialisée. Conformément aux directives et législations spécifiquement en vigueur, l'opérateur reste lui-même responsable d'une remise adéquate de tels tests de contrôle à la déchetterie.

Literatur :
DIN EN ISO 11348-3 : Edition mai 2009
Détermination de l'effet inhibant d'échantillons aqueux sur l'émission luminescente de *Vibrio fischeri* (test aux bactéries luminescentes) ; partie 3 : procédé aux bactéries lyophilisées.

Fiche technique pour l'assurance de qualité des analyses de l'eau, des eaux usagées et de la vase éditée par le groupe allemand de travail sur l'eau des Land (LAWA) P-9/8.

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG · Valenciennner 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 Hoerdt · 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

PD 24349 / A023555 / 945022 / 0230.5

REF 945022 **02.23** es

BioFix® *Lumi*

"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_L 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_{xx}:** Concentración de una prueba, que causa una inhibición de la intensidad luminosa de exactamente xx % (por ejemplo valor EC_{50}: 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_{50}.

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 ± 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 guardase 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 **6 mL** de **"BioFix® *Lumi* Solución reactivada para "Multi-Shot" bacterias luminosas"** ("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 **0,5 mL** de **suspensión de bacterias luminosas** en cada cubeta de depósito de prueba preparada. **Dejar en reposo durante aprox. 10 min a +15 °C.**
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 substancias 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 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, 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 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 11348-3, 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 substancias 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)

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG · Valencienner Str. 11 · 52355 Düren · Alemania
Tel.: +49 24 21 969-0 · info@mn-net.com · ***www.mn-net.com***

PD 24349 / A023555 / 945022 / 0230.5

REF 945022 **02.23** it

BioFix® *Lumi*

“Multi-Shot” Batteri luminosi
(secondo DIN EN ISO 11348-3)

Metodo:
Determinazione della tossicità acuta su batteri luminosi **liofilizzati** secondo la norma DIN EN ISO 11348-3. La grandezza misurabile è la prestazione luminosa (luminescenza) naturale del microrganismo *Vibrio fischeri* NRRL B-11177. L'inibizione dell'intensità luminosa viene accertata mediante il campione in confronto con il metodo di controllo non inibito. La grandezza dell'inibizione dell'intensità luminosa nel campione è la 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 %

Indicazione dei risultati:
– **% di inibizione** dell'intensità luminosa nel campione in confronto con un controllo non inibito.
– **Valore G_L value** (secondo DIN EN ISO 11348-3: Valore LID): numero reciproco del primo stadio di diluizione di un campione sul quale l'inibizione dell'intensità luminosa è inferiore al 20 %.
– **EC_{xx}:** concentrazione di un campione, che provoca una inibizione dell'intensità luminosa di esattamente xx % (ad es. EC_{50}: 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_{50}.

Contenuto set di reagenti:
10 cuvette tonde con batteri luminosi liofilizzati secondo la norma DIN EN ISO 11348-3.
1 bottiglia con 75 mL del “BioFix® *Lumi* Medium reattivazione per “Multi-Shot” batteri luminosi”
1 bottiglia con 20 mL del “BioFix® *Lumi* Soluzione di controllo”

Avvertenze di pericolo:
Questo set di prove non contiene nessuna sostanza pericolosa e non è soggetto a marcatura.La matrice dei batteri luminosi *Vibrio fischeri* NRRL B-11177 finora non è mai apparsa come agente patogeno. Stando al foglio istruzioni B000 1/92 ZH 1/346 dell'Istituto di assicurazione dell'industrua chimnica “Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie” *Vibrio fischeri* viene situato nel gruppo di rischio 1, cioè uomo e vertebrati non corrono nessun rischio.

Magazzinaggio:
Le cuvette tonde con batteri luminosi BioFix® *Lumi* liofilizzati sono inalterabili fino alla data di scadenza indicata sulla confezione alla temperatura di –20 ± 2 °C. Il “BioFix® *Lumi* Medium reattivazione per “Multi-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.
Togliere i batteri luminosi liofilizzati dal frigorifero immediatamente prima della loro reattivazione.
Un stoccaggio intermedio dei batteri luminosi reattivati può avvenire solo in frigorifero alla temperatura di +2 °C fino +8 °C.
Man mano che aumenta la durata di conservazione dei batteri luminosi reattivati può avere luogo una diminuzione della naturale intensità luminosa e una modificazione dello spettro di sensibilità. Non è consigliabile un ricongelamento di batteri luminosi reattivati, i quali non sarebbero più nemmeno oggetto delle prestazioni di garanzia da parte della MACHEREY-NAGEL.

Reattivazione e dosaggio dei batteri luminosi BioFix® *Lumi* liofilizzati:
La reattivazione e il dosaggio dei batteri luminosi BioFix® *Lumi* liofilizzati avvengono, indipendentemente dalla prova, sempre alla stessa maniera. 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.

Modulo di lavoro 1:	**Reattivazione**
1.	Togliere dallo scomparto congelatore un tubetto congelato con batteri luminosi BioFix® *Lumi* liofilizzati e la bottiglia preraffreddata con “BioFix® *Lumi* Medium reattivazione per “Multi-Shot” batteri luminosi”.
2.	Il più velocemente possibile **aggiungere** dapprima **6 mL** del **“BioFix® *Lumi* Medium reattivazione per “Multi-Shot” batteri luminosi”** (“scongelamento choc”).
3.	Sciogliere i batteri luminosi scuotendo più volte il tubetto.
4.	Prima di continuare con la lavorazione dei batteri luminosi reattivati mettere, allo scopo di una stabilizzazione, per 5 minuti in frigo alla temperaturadi +2 °C fino +8 °C.

Modulo di lavoro 2:	**Dosaggio**
1.	In ogni cuvetta di prova preparata vengono immessi **0,5 mL** della sospensione di **batteri luminosi riattivati. Lasciare riposare per 10 minuti da 15 °C**.
2.	Per l'ulteriore procedere vogliate consultare le rispettive istruzioniper le prove.

Garanzia della qualità analitica:
La norma DIN EN ISO 11348-3 chiede il rispetto di determinati criteri di validità. Con l'allegato certificato di prova, MACHEREY-NAGEL garantisce il rispetto dei detti criteri di validità.
Ai fini di una propria verifica e controllo del corretto funzionamento del sistema di prova l'utente stesso può eseguire una misurazione di controllo con le soluzioni standard nominate nella norma stessa. Le informazioni a ciò necessarie nonché le sostanze standard e le concentrazioni delle prove sono da rilevare dall'allegato certificato di prova.

Valore pH:
Secondo la norma DIN EN ISO 11348-3 con un valore pH della prova di 6,0 fino a 8,5 non è necessario procedere a una correzione. Solo quando il valore pH si trova al di fuori di questo campo, allora esso deve essere regolato su un pH di 7,0 ± 0,2. I valori pH più bassi di 6,0 o più grandi di 8,5 possono condurre a una inibizione della luminosità causata dal valore pH.

Disturbi:
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 11348-3, annesso A, tali interferenze possono essere minimizzate mediante trattamento preliminare del campione (sedimentazione o centrifugazione) o, ad esempio, utilizzando delle cuvette a doppia camera.
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 11348-3, 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 declorati prima del saggio (ad es. con una soluzione di tiosolfato di sodio all' 1 %).

Smaltimento:
Batteri luminosi e composizioni di prova possono essere smaltiti senza alcun problema attraverso lo scarico. Possono esserci delle limitazioni solo nel caso
in cui la prova contenesse delle sostanze dannose alla salute o tossiche, o sostanze speciali per uno smaltimento speciale. Per il regolare smaltimento secondo la legge di tali composizioni di prova deve provvedere l'utente stesso attenendosi alle relative norme e regolamentazioni specifiche.

Letteratura:
DIN EN ISO 11348-3: Edizione maggio 2009
Determinazione dell'effetto inibitorio di prove d'acqua sulla emissione di luce di *Vibrio fischeri* (prova di batteri luminosi): parte 3: Processo con batteri luminosi liofilizzati.
AQS-foglio di note per verifica della qualità a acqua -, acque reflue -e fangoanalisi (LAWA Germania) P-9/8

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG · Valencienner Str. 11 · 52355 Düren · Germania
Tel.: +49 24 21 969-0 · info@mn-net.com · ***www.mn-net.com***

PD 24349 / A023555 / 945022 / 0230.5

REF 945022 **02.23** nl

BioFix® *Lumi*

“Multi-Shot” Lichtgevende Bacteriën

(volgens DIN EN ISO 11348-3)

Methode:
Bepaling van de acute toxiciteit op **gevriesdroogde** lichtgevende bacteriën volgens DIN EN ISO 11348-3. Meetbare grootheid 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
– **G_L-waarde** (volgens DIN EN ISO 11348-3: LID-waarde): reciproque waarde van de eerste verdunningsfase van een monster, waarbij de remming van de lichtintensiteit minder dan 20 % is.
– **EC_{xx}:** concentratie van een monster die een remming van de licht-intensiteit van precies xx % veroorzaakt (bijv. EC_{50}-waarde: concentratie van het monster die een remming van de lichtintensiteit van 50 % teweegbrengt).
– **TU-waarden** (“Toxicity units” volgens de definitie van de Amerikaanse milieuautoriteit US EPA): 100 gedeeld door EC_{50}-waarde.

Inhoud van reagensset:
10 reageerbuisjes met gevriesdroogde lichtgevende bacteriën volgens DIN EN ISO 11348-3
1 fles met 75 mL “BioFix® *Lumi* Reactivering oplossing voor “Multi-Shot” lichtgevende bacteriën”
1 fles met 20 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 –20 ± 2 °C houdbaar tot de op de verpakking aangegeven vervaldatum. Het “BioFix® *Lumi* Reactivering oplossing voor “Multi-Shot” lichtgevende bacteriën” en het “BioFix® *Lumi* Controle oplossing” kunnen ontdooid in de koelkast bij +2 °C tot +8 °C tot de opgedrukte houdbaarheids-datum bewaard worden.
Haal de gevriesdroogde lichtgevende bacteriën pas vlak voor de reactivering uit het vriesvak. Tijdelijke opslag van de gereactiveerde licht-gevende 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* lichtgevende bacteriën:
De reactivering en dosering van gevriesdroogde BioFix® *Lumi* lichtgevende bacterien 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 “Multi-Shot” lichtgevende bacteriën” uit de koelkast.
2.	Een zo snel mogelijke toevoeging van in het begin **6 mL “BioFix® *Lumi* reactivering oplossing voor “Multi-Shot” lichtgevendebacteriën”** (“shock-ontdooien”).
3.	Los de lichtgevende bacteriën op door het buisje meerdere malen te schudden.
4.	Bewaar de oplossing vóór verdere verwerking van de gereactiveerde lichtgevende bacteriën gedurende 5 min ter stabilisering tijdelijk in de koelkast bij +2 °C tot +8 °C.

Stap 2:	**Dosering**
1.	In ieder klaargezet reageerbuisje voor de testtoebereiding wordt **0,5 mL** van de **gereactiveerde suspensie van lichgevende bacteriën** gevuld. **Laat ongeveer 10 min rustig bij +15 °C staan!**
2.	Voor de verdere uitvoering zie de bijbehorende gebruiksaanwijzingen voor de test.

Analytische kwaliteitsborging:
In de DIN EN ISO 11348-3 wordt de nakoming van bepaalde geldigheidscriteria vereist. Met het bijgevoegde keuringscertificaat garandeert MACHEREY-NAGEL dat er aan de gevorderde geldigheidscriteria is voldaan.
Voor de zelfcontrole en controle van het correcte functioneren van het testsysteem kan de gebruiker ook zelf ter plaatse met de in de norm genoemde standaard-oplossingen een controlemeting verrichten. De hiertoe noodzakelijke informaties en standaardsubstanties staan in het bijgevoegde keuringscertificaat vermeld.

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. Wanneer de pH-waarde van het monster buiten het genoemde bereik ligt, moet ze op een waarde van 7,0 ± 0,2 ingesteld worden. pH-waarden die lager dan 6,0 of hoger dan 8,5 zijn, kunnen op grond van de pH-waarde tot lichtremmingen leiden.

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 analoog aan de methode volgens DIN EN ISO 11348-3, 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 11348-3, 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 gedechloreerd, bijv. door toevoeging van een natriumthiosulfaat-oplossing van 1 %.

Opruiming:
Lichtgevende bacteriën en testtoebereidingen kunnen probleemloos via de goot-steen 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: Editie mei 2009
Bepaling van de remwerking van watermonsters op de lichtemissie van *Vibrio fischeri* (test lichtgevende bacteriën); deel 3: Procédé met gevriesdroogde bacteriën.
AQS-toelichtingsblad voor de kwaliteitsgarantie bij water-, afvalwater-en slikonderzoeken van het samenwerkingsverband van de deelstaten Water (LAWA Duitsland) P-9/8

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG · Valencienner Str. 11 · 52355 Düren · Duitsland
Tel.: +49 24 21 969-0 · info@mn-net.com · ***www.mn-net.com***

PD 24349 / A023555 / 945022 / 0230.5