

Saggio su batteri bioluminescenti (*Vibrio fischeri*)



1

Il batterio *Vibrio fischeri* è simbiote del
calamaro *Euprymna scolopes*...

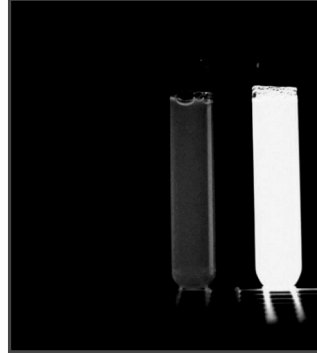
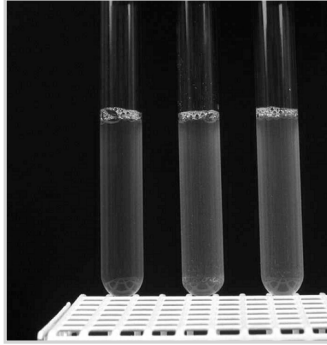


... ma si trova anche libero nelle acque marine.

Quando si trova nell'organo luminoso del calamaro
emette luce, mentre non ne emette quando vive libero

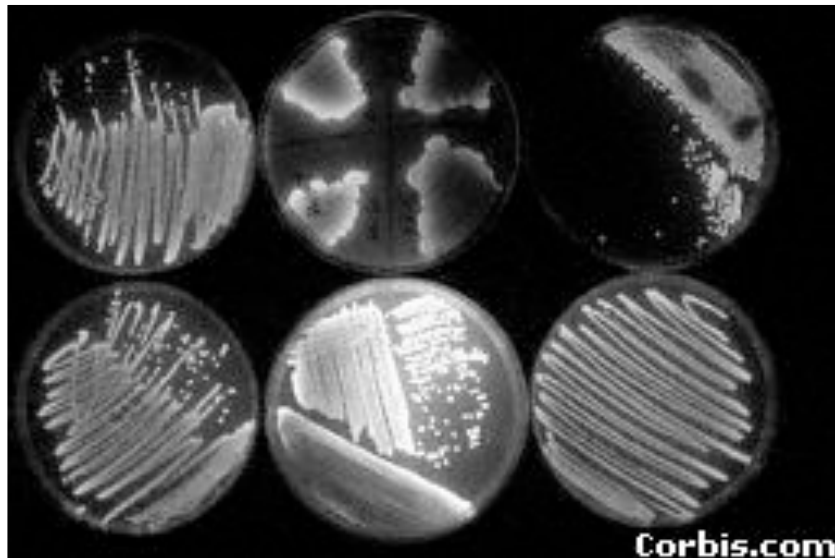
2

L'unica differenza tra la vita simbiote e quella libera sta nella densità della popolazione batterica



Quorum sensing, o regolazione da densità

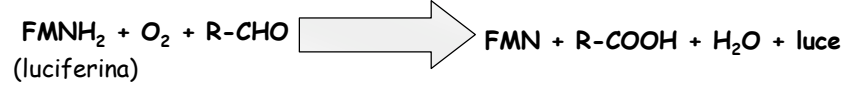
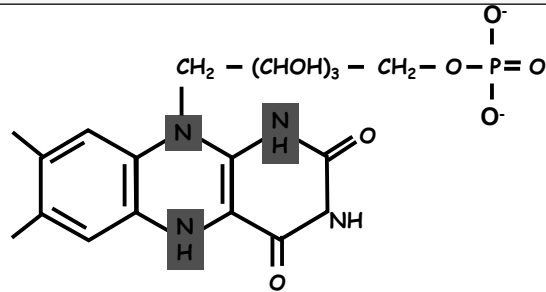
è quel processo per cui alcune attività (in questo caso la produzione di luce) hanno luogo solo quando le cellule batteriche raggiungono un certo numero, cioè un *quorum*, che sono in grado di rilevare



La luminosità è più accentuata dove la densità della massa è maggiore

Bioluminescenza

è la luce prodotta da un organismo con una reazione chimica

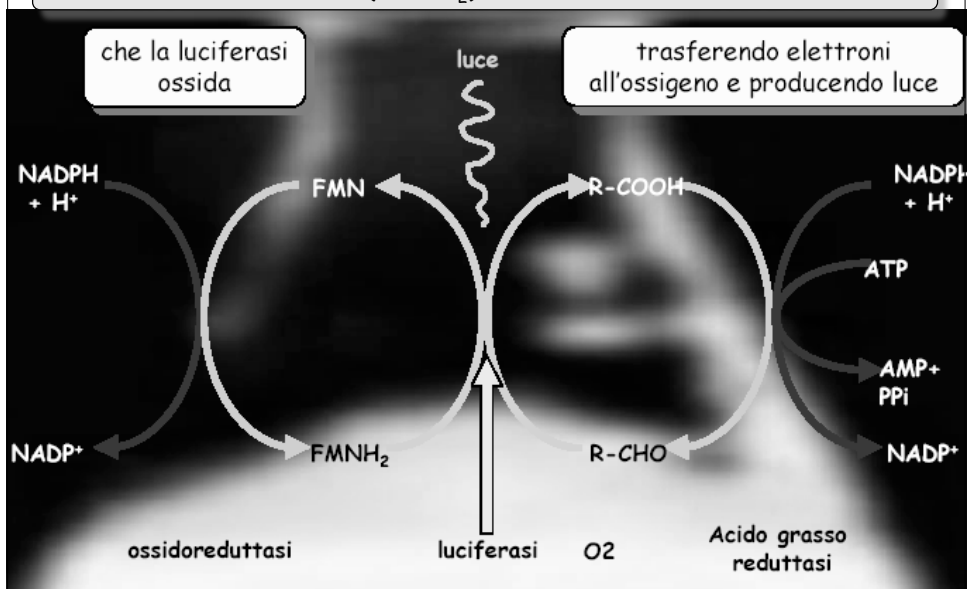


5

La luciferina batterica (FMNH₂) è una riboflavina-fosfato ridotta

che la luciferasi ossida

trasferendo elettroni all'ossigeno e producendo luce



La reazione è associata all'ossidazione di un'aldeide alifatica a catena lunga

Saggio di tossicità: Obiettivo

Valutare la tossicità acuta di campioni o estratti provenienti da corpi idrici d'acqua dolce, marina o salmastra utilizzando come risposta l'inibizione della bioluminescenza naturalmente emessa dai batteri marini della specie *Vibrio fischeri*



7

Principio del metodo

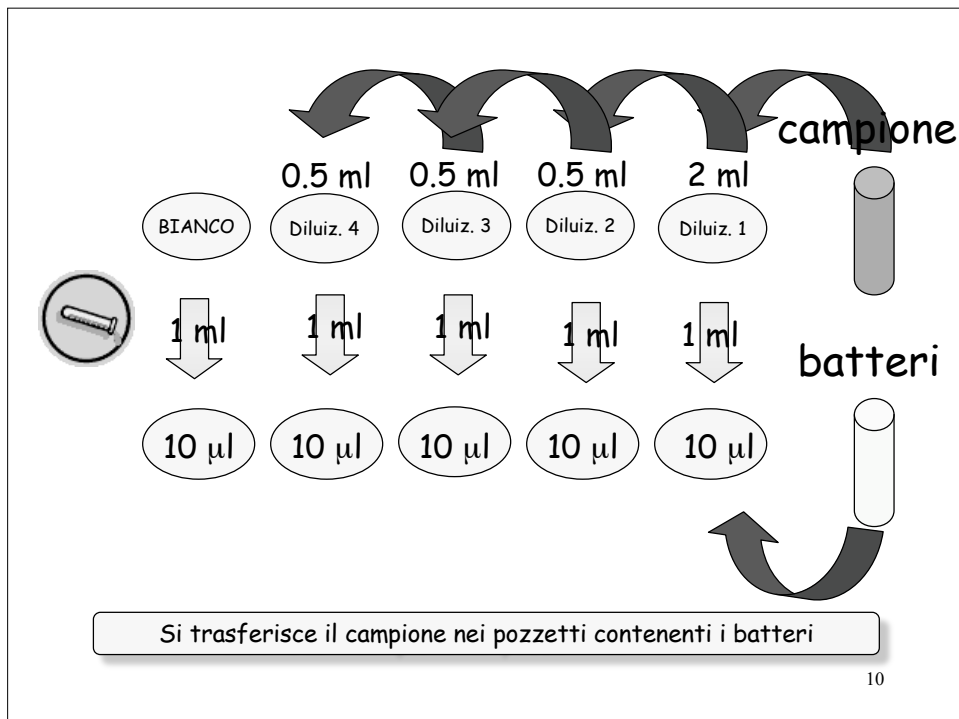
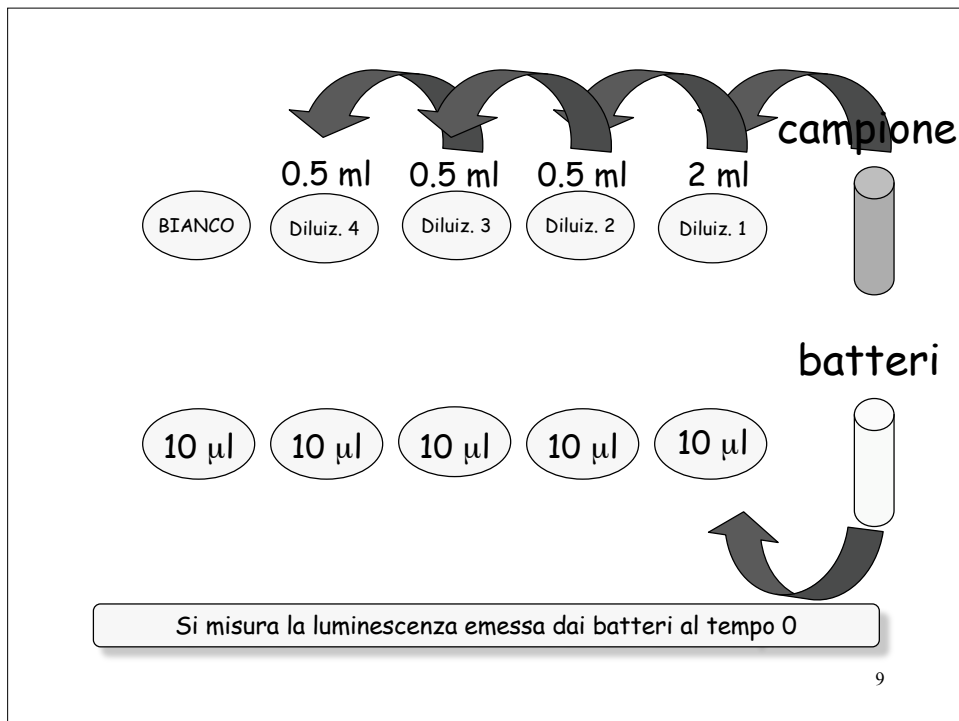
La bioluminescenza emessa dai batteri marini Gram-negativi della specie *Vibrio fischeri* (ceppo NRRL-B-11177) viene utilizzata per un saggio a 15-30 minuti per determinare:

- EC_{50} (EC= Concentrazione Efficace)
- EC_{20}
- NOEC (concentrazione senza effetto)



La diminuzione di luminescenza viene ritenuta proporzionale alla tossicità del campione

8



Trasferito il campione, si attendono 15-30 minuti...

... e poi si misura la variazione di luminescenza rispetto al tempo 0



11

Come si misura la luminescenza???

Il Microtox Analyzer 500 è un sistema automatizzato costituito da due fotometri in grado di misurare la luce emessa dal batterio *Vibrio fischeri*



L'analizzatore è collegato ad un PC munito di un software (MicrotoxOmni™) per l'analisi dei dati

12

Possibili Interferenze

- Sostanze volatili o scarsamente solubili in acqua
- Campioni colorati o torbidi
- Elevata umidità relativa dell'ambiente
- Presenza di cloro attivo
- Valori di pH al di fuori del range 6-9
- Valori di salinità inferiori a 20‰ o superiori al 50‰