

**ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΜΟΝΑΔΑ ΘΑΛΑΣΣΙΩΝ ΤΟΞΙΚΩΝ ΜΙΚΡΟΦΥΚΩΝ**

ΟΔΗΓΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ

Κωδικός: **ΟΜΤ.001**

Αρ. Έκδοσης: **4**

Ημερομηνία Έκδοσης: **01/12/2014**

Σελίδα 1 από 4

ΟΔΗΓΙΑ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

ΚΩΔΙΚΟΣ :	ΟΜΤ.001
ΤΙΤΛΟΣ :	ΟΔΗΓΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ
ΕΚΔΟΣΗ :	4
ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ :	01/12/2014
ΣΥΝΤΑΞΗ :	ΚΑΤΕΡΙΝΑ ΑΛΙΓΙΖΑΚΗ
ΕΓΚΡΙΣΗ :	ΜΗΝΑΣ ΑΡΣΕΝΑΚΗΣ

ΠΙΝΑΚΑΣ ΔΙΑΝΟΜΗΣ

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ	ΘΕΣΗ	ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΠΑΡΑΛΑΒΗΣ	ΥΠΟΓΡΑΦΗ
ΜΗΝΑΣ ΑΡΣΕΝΑΚΗΣ	ΠΡΟΪΣΤΑΜΕΝΟΣ ΕΜΘΤΜ	01/12/2014	
ΚΑΤΕΡΙΝΑ ΑΛΙΓΙΖΑΚΗ	ΥΔΠ & ΤΕΧΝ. ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ, ΑΝΑΛΥΤΗΣ	01/12/2014	
ΕΛΕΝΗ ΑΡΒΑΝΙΤΗ	ΑΝΑΛΥΤΗΣ, ΑΝ. ΥΔΠ, ΑΝ. ΤΕΧΝ. ΥΠΕΥΘ., ΑΝ. ΓΡΑΜ.	01/12/2014	
ΑΓΟΡΙΤΣΑ ΚΑΛΙΩΡΑ	ΑΝΑΛΥΤΗΣ, ΑΝ. ΥΔΠ, ΑΝ. ΤΕΧΝ. ΥΠΕΥΘ., ΑΝ. ΓΡΑΜ.	01/12/2014	
ΗΛ. ΝΙΚΟΛΟΠΟΥΛΟΥ	ΑΝΑΛΥΤΗΣ, ΑΝ. ΓΡΑΜ.	01/12/2014	
Κ. ΠΑΝΑΓΙΩΤΟΠΟΥΛΟΥ	ΓΡΑΜΜΑΤΕΙΑ	01/12/2014	

ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΕΚΔΟΣΕΩΝ

ΑΡΙΘΜΟΣ ΕΚΔΟΣΗΣ	ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΕΚΔΟΣΗΣ	ΑΛΛΑΓΕΣ
1	29/12/2011	Αρχική Έκδοση
2	13/09/2012	Αλλαγές στον πίνακα διανομής και συντακτικές/βελτιωτικές στο κείμενο
3	29/04/2013	Αλλαγές στον πίνακα διανομής και συντακτικές/βελτιωτικές στο κείμενο και στο έντυπο ΟΜΤ.001/Ε1
4	01/12/2014	Αλλαγές στον πίνακα διανομής, συντακτικές/βελτιωτικές επεμβάσεις και προσθήκη εικόνας

Υπεύθυνος Σύνταξης
Υπεύθυνος Διασφάλισης Ποιότητας: Κατερίνα Αλιγίζακη

Υπεύθυνος Έγκρισης
Προϊστάμενος ΕΜΘΤΜ: Μηνάς Αρσενάκης

1. ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας οδηγίας είναι να περιγράψει τις λεπτομέρειες που αφορούν στον τρόπο δειγματοληψίας και αποστολής των δειγμάτων θαλασσινού νερού που συλλέγονται για την ανίχνευση και τον ποσοτικό προσδιορισμό θαλάσσιων τοξικών ή/και δυνητικώς τοξικών μικροφυκών στα πλαίσια του Εθνικού Προγράμματος Επιτήρησης των Ζωνών Αλιείας και Καλλιέργειας Διθύρων Μαλακίων.

2. ΑΝΑΦΟΡΕΣ

Οι συγκεκριμένες οδηγίες συμμορφώνονται με το πρότυπο EN 15204:2006 για τον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό του φυτοπλαγκτού με τη μέθοδο καθίζησης κατά *Utermöhl (1958)*, τις οδηγίες του Manual on Harmful Marine Microalgae (Hallegraeff et al. 2003), καθώς και την κείμενη εθνική και ευρωπαϊκή νομοθεσία (Κανονισμοί 853/2004 και 854/2004 και υπ. αριθ. 1558/45842/12-04-2012 έγγραφο του ΥΠΑΑΤ).

3. ΟΔΗΓΙΕΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ

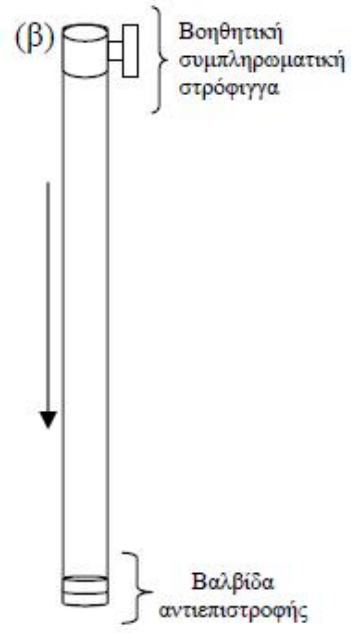
Οι δειγματοληψίες ως προς τη συχνότητά τους θα πρέπει να ακολουθούν πιστά τις οδηγίες της κεντρικής αρμόδιας αρχής, όπως αυτές περιγράφονται στο υπ. αριθ. 1558/45842/12-04-2012 έγγραφο του ΥΠΑΑΤ ή σε όποιο άλλο μεταγενέστερο έγγραφο πιθανά τις τροποποιήσει. Γενικά, αναφέρεται ότι οι δειγματοληψίες νερού κατά τις περιόδους στις οποίες επιτρέπεται η συλλογή διθύρων μαλακίων πρέπει να έχει **εβδομαδιαία** συχνότητα και να πραγματοποιείται σε συγκεκριμένους σταθμούς (με βάση καθορισμένες γεωγραφικές συντεταγμένες). Η συχνότητα δειγματοληψίας **αυξάνεται σε** δισ εβδομαδιαίως όταν αυτό κρίνεται απαραίτητο (π.χ επίπεδα αφθονίας των τοξικών ή/και δυνητικώς τοξικών μικροφυκών ανώτερα των ορίων επαγρύπνησης).

Προκειμένου τα δείγματα που συλλέγονται να είναι αντιπροσωπευτικά της στήλης του νερού και να φτάσουν στο εργαστήριο κατάλληλα προς εξέταση θα πρέπει να εξασφαλίζονται τα παρακάτω:

- Τα δείγματα θαλασσινού νερού που προορίζονται για τον ποσοτικό προσδιορισμό των τοξικών ή/και δυνητικώς τοξικών μικροφυκών λαμβάνονται **από ολόκληρη τη στήλη του νερού (ολοκληρωμένα δείγματα**, όχι από την επιφάνεια ή τον πυθμένα) και αποστέλλονται συντηρημένα στην ΕΜΘΤΜ-ΑΠΘ. Συγκεκριμένα, τα δείγματα λαμβάνονται με πλαστικό σωλήνα διαμέτρου 3-5cm, ο οποίος καθελκύεται **κατακόρυφα** στη στήλη του νερού με τη βοήθεια βαριδίων στο κάτω άκρο του. Όπως φαίνεται στην εικόνα, ο σωλήνας θα πρέπει να φέρει στο κάτω άκρο του βαλβίδα αντεπιστροφής ώστε να συλλέγεται νερό όσο ο σωλήνας καθελκύεται (βαλβίδα αντεπιστροφής ανοιχτή) και να σφραγίζει μόλις σταματά η κατέλκυση. Επιπλέον, στο ανώτερο τμήμα του σωλήνα θα πρέπει να υπάρχει κάποια συμπληρωματική στρόφιγγα ή απλά ένα κατάλληλου μεγέθους πώμα που παραμένει ανοιχτό κατά την κατέλκυση και σφραγίζει μόλις η κατέλκυση έχει ολοκληρωθεί. Οι δειγματολήπτες θα πρέπει να είναι ιδιαίτερα προσεκτικοί κατά τη συλλογή του δείγματος ώστε να μη συλλέγεται υλικό από τον πυθμένα καθώς κάτι τέτοιο είναι πιθανό να καταστήσει τα δείγματα ακατάλληλα προς εξέταση λόγω υψηλής συγκέντρωσης σωματιδιακού υλικού. Στη συνέχεια ο σφραγισμένος σωλήνας ανελκύεται και ανοίγοντας τις βαλβίδες-

Υπεύθυνος Σύνταξης Υπεύθυνος Διασφάλισης Ποιότητας: Κατερίνα Αλιγιζάκη	Υπεύθυνος Έγκρισης Προϊστάμενος ΕΜΘΤΜ: Μηνάς Αρσενάκης
---	---

πώματα αδειάζει το περιεχόμενό του σε μεγάλο καθαρό δοχείο (10-30L ανάλογα με το βάθος του σταθμού). Από το συνολικό όγκο του ολοκληρωμένου δείγματος νερού λαμβάνεται **μετά από καλή ανάδευση** υπο-δείγμα σε πλαστική φιάλη (βλ. σημείωση 1), όπου **άμεσα προστίθεται ή έχει προηγουμένως προστεθεί διάλυμα Lugol**



(βλ. σημείωση 2) προκειμένου να συντηρηθεί το δείγμα.

Τα δείγματα που δε συντηρούνται άμεσα είναι ακατάλληλα για ποσοτική εξέταση.

Σημείωση 1. Η φιάλη πρέπει να είναι από πολυαιθυλένιο (PE) ή πολυβινυλοχλωρίδιο (PVC), να είναι **καθαρή και διαφανής**, να έχει **μέγιστο όγκο 500ml**. Η φιάλη **δεν πρέπει να είναι διαπερατή σε ή να αντιδρά με το χρησιμοποιούμενο συντηρητικό**. Ο συνδυασμός της φιάλης και του βιδωτού πώματος πρέπει να διασφαλίζει **υδατοστεγές** και σχεδόν αεροστεγές κλείσιμο. Ο λαιμός της φιάλης πρέπει να είναι αρκετά ευρύς. Οι φιάλες πρέπει να γεμίζονται με το νερό του δείγματος **μέχρι περίπου 80%** (400ml στις φιάλες των 500ml).

Σημείωση 2. Προστίθενται **2ml** διαλύματος Lugol ανά **500ml** δείγματος. Σε γενικές γραμμές πρέπει να προστίθεται αρκετό Lugol ώστε το δείγμα να αποκτήσει το χρώμα του κονιάκ. Το Ιωδιούχο διάλυμα Lugol παρασκευάζεται ως εξής:

- διάλυση 100gr KI (Ιωδιούχο Κάλιο) σε 1L απεσταγμένο ή απιονισμένο νερό,
- προσθήκη 50gr Ιωδίου (κρυσταλλικού),
- ανακίνηση μέχρι διάλυσης.

Οποιοδήποτε πιθανό ίζημα πρέπει να απομακρύνεται με μετάγγιση του διαλύματος πριν τη χρήση του. Το διάλυμα Lugol μπορεί να αποθηκευτεί σε σκουρόχρωμη φιάλη σε θερμοκρασία δωματίου μέχρι και για 1 έτος. Επίσης, το συγκεκριμένο Ιωδιούχο διάλυμα Lugol είναι δυνατό να αγοραστεί από κατάλληλους κατά τόπους προμηθευτές.

- Απαραίτητως λαμβάνεται **και ένα δείγμα ζωντανού υλικού** σε κάθε σταθμό δειγματοληψίας. Το «ζωντανό δείγμα» μπορεί να είναι ένα **συμπυκνωμένο δείγμα πλαγκτού το οποίο συλλέγεται** με κατακόρυφη και οριζόντια σύρση ειδικού **πλαγκτοσυλλέκτη** (άνοιγμα «ματιού» 20-30μm). Στην περίπτωση που είναι αδύνατη η συλλογή δειγμάτων με πλαγκτοσυλλέκτη, το κάθε συντηρημένο δείγμα πρέπει να συνοδεύεται και **από ένα όμοιο δείγμα στο οποίο δεν έχει γίνει προσθήκη συντηρητικού διαλύματος. Το συγκεκριμένο υλικό είναι εξαιρετικά χρήσιμο για την προκαταρκτική ποιοτική εξέταση του δείγματος και την ανίχνευση** κυττάρων ακόμη και σε χαμηλά επίπεδα αφθονίας.
- Η σήμανση των δειγμάτων πρέπει να είναι σαφής και ευδιάκριτη.

Υπεύθυνος Σύνταξης Υπεύθυνος Διασφάλισης Ποιότητας: Κατερίνα Αλιγιζάκη	Υπεύθυνος Έγκρισης Προϊστάμενος ΕΜΘΤΜ: Μηνάς Αρσενάκης
---	---

- Κατά τη μεταφορά τους τα δείγματα πρέπει να διατηρούνται στο σκοτάδι, σε σχετικά χαμηλή θερμοκρασία (4 –10°C). Ο μέγιστος χρόνος **μεταφοράς στο εργαστήριο** δεν πρέπει να υπερβαίνει τις 36 ώρες καθώς τα δείγματα «ζωντανού» υλικού είναι πιθανό να καταρρεύσουν.
- Προαιρετικά γίνονται επιτόπιες μετρήσεις της θερμοκρασίας του επιφανειακού στρώματος νερού, οι τιμές των οποίων αποστέλλονται μαζί με το διαβιβαστικό που συνοδεύει τα δείγματα.
- Κατά την **καλοκαιρινή και φθινοπωρινή περίοδο** (Ιούνιος-Νοέμβριος) συνιστάται η **λήψη δειγμάτων μακρόφυτων** από την ακτογραμμή πλησίον των σημείων δειγματοληψίας. Προτείνεται η συλλογή των πιο κοινών μακρόφυτων (κυρίως **φυκών**) από την περιοχή και η τοποθέτησή τους σε πλαστική φιάλη τύπου PE ή PVC με θαλασσινό νερό από την ίδια περιοχή χωρίς την προσθήκη διαλύματος Lugol. Τα συγκεκριμένα δείγματα συμβάλλουν στη διερεύνηση της επιφυτικής παρουσίας τοξικών ή/και δυνητικών τοξικών **βενθικών μικροφυκών**. Τα συγκεκριμένα μικροφύκη συνήθως δεν απαντώνται στα δείγματα νερού (ή απαντώνται σε χαμηλά επίπεδα αφθονίας) ακόμη και όταν η επιφυτική τους αφθονία κυμαίνεται σε υψηλά επίπεδα. Στα εν λόγω μικροφύκη αποδίδεται η θετικότητα ως προς τη τοξικότητα πολλών δειγμάτων διθύρων μαλακίων κατά τη θερμή περίοδο (κυρίως καλοκαίρι και φθινόπωρο), ενώ στα δείγματα από τη στήλη του νερού ενδέχεται να μην ανιχνεύεται δυνητικώς τοξικό φυτοπλαγκτό.
- Τα δείγματα πρέπει να **παραλαμβάνονται** από το εργαστήριο **μέχρι και την ημέρα Πέμπτη, πάντα νωρίτερα από τη μία το μεσημέρι, ώστε να είναι εφικτός ο εγκλιματισμός τους.**

Είμαστε στη διάθεσή σας για οποιαδήποτε διευκρίνιση-καθοδήγηση σχετικά με τις προαναφερθείσες μεθόδους, την εκτέλεση των δειγματοληψιών και την αποστολή των δειγμάτων.

ΠΡΟΣΟΧΗ:

Επισημαίνεται ότι τα δείγματα **πρέπει στο εξής να αποστέλλονται στην παρακάτω διεύθυνση:**

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΜΟΝΑΔΑ ΘΑΛΑΣΣΙΩΝ ΤΟΞΙΚΩΝ ΜΙΚΡΟΦΥΚΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 54124

ΚΤΙΡΙΟ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ,

8^{ος} ΟΡΟΦΟΣ, ΕΡΓΑΣΤ. 8.04 (& 8.07)

Υπόψη Κ. Αλιγιζάκη/Ε. Αρβανίτη/Κ. Παναγιωτοπούλου

Τηλ. 2310 998376

Φαξ. 2310 998337

e-mail: aligiza@bio.auth.gr , infohab@bio.auth.gr

website: <http://hab.bio.auth.gr>

4. ΤΕΚΜΗΡΙΩΣΗ-ΑΡΧΕΙΑ.

ΔΕΛΤΙΟ ΑΠΟΣΤΟΛΗΣ ΥΛΙΚΟΥ (Έγγραφο OMT.001/E1)

Υπεύθυνος Σύνταξης Υπεύθυνος Διασφάλισης Ποιότητας: Κατερίνα Αλιγιζάκη	Υπεύθυνος Έγκρισης Προϊστάμενος ΕΜΘΤΜ: Μηνάς Αρσενάκης
---	---