

**ΕΣΩΤΕΡΙΚΟΣ ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ ΧΩΡΩΝ ΕΡΕΥΝΑΣ
ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ και ΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ
του
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ ΠΕΡΙΟΔΟΝΤΟΛΟΓΙΑΣ**

Αθήνα 2023

Το Εργαστήριο Περιοδοντολογίας λειτουργεί υπό την ευθύνη του δύο χώρους, που φιλοξενούν ερευνητικό εξοπλισμό κατάλληλο για μελέτες Μικροβιολογίας καθώς και για Κυτταρικές καλλιέργειες. Τη συνολική διεύθυνση της οργάνωσης των χώρων και της λειτουργίας τους την έχει ο Διευθυντής του Εργαστηρίου Περιοδοντολογίας, ο οποίος ορίζει και κάποιο μέλος ΔΕΠ του Εργαστηρίου ως υπεύθυνο σε καθένα από αυτούς τους ερευνητικούς χώρους.

Για την εύρυθμη λειτουργία, την ορθολογική χρήση και την αποτελεσματική λειτουργία χώρων και εξοπλισμού ισχύουν οι ακόλουθοι κανόνες, όπως περιγράφονται στη συνέχεια.

Σκοπός λειτουργίας

α) Η κάλυψη των αναγκών της ερευνητικής δραστηριότητας των μελών ΔΕΠ, των μεταπτυχιακών φοιτητών και των υποψηφίων διδασκτόρων του Εργαστηρίου Περιοδοντολογίας καθώς και κάθε άλλου συνεργάτη που διατηρεί ερευνητική ή και εκπαιδευτική σχέση με το Εργαστήριο.

β) Η συνεργασία με άλλα Εργαστήρια/Κλινικές του Οδοντιατρικού Τμήματος ΕΚΠΑ, της Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ καθώς και κάθε άλλης πανεπιστημιακής ή ερευνητικής μονάδας, ημεδαπής ή αλλοδαπής, σε πρωτόκολλα κοινού ερευνητικού ενδιαφέροντος με το εργαστήριο Περιοδοντολογίας.

Η χρήση του ερευνητικού εξοπλισμού από μέλη ΔΕΠ, μεταπτυχιακούς φοιτητές, υποψήφιους διδάκτορες του Τμήματος Οδοντιατρικής καθορίζεται από τις προτεραιότητες του Εργαστηρίου Περιοδοντολογίας.

Χώρος

Τόσο ο ερευνητικός εξοπλισμός Μικροβιολογίας όσο και Κυτταρικών Καλλιεργειών βρίσκονται στον 1^ο όροφο του Νέου Κτιρίου της Οδοντιατρικής σε δύο ανεξάρτητους, όμορους χώρους.

Εξοπλισμός

A. Μικροβιολογίας

- 1) Συσκευή FUGIFILM (LAS-3000) συστήματος ανίχνευσης χημειοφωταύγειας, φθορισμού, ορατής και υπεριώδους ακτινοβολίας συνοδευόμενη από PC, PRINTER.
- 2) Σύστημα ποσοτικής PCR (STRATAGENE MX 3005P) για ανάλυση γονιδιακής έκφρασης, επικύρωση δεδομένων μικροσυστοιχιών, γονότυπο SNP, ανίχνευση παθογόνων, ανάλυση μεθυλίωσης DNA και μελέτες ανοσοκατακρήμνισης χρωματίνης. Συνοδεύεται από Laptop, printer, UPS TURBO X2000 VA
- 3) Θάλαμος UV (VILBER LOURMAT BLX-E 254) με εσωτερικές διαστάσεις 14X33X26 cm.
- 4) Επιτραπέζιο σύστημα απιονισμού νερού (MILLIPORE DIRECT-Q3). Παράγει καθαρό νερό τύπου 3 και υπερκάρθο τύπου 1, απευθείας από τη βρύση με ταχύτητα ροής 3L/hr.
- 5) Στερεομικροσκόπιο (ZEISS STEMI SV8), με δυνατότητα μεγέθυνσης 16x-128x.
- 6) Μικροσκόπιο (ZEISS AXIOSKOP). Διαθέτει τριοφθάλμια κεφαλή και αντικειμενοφόρους φακούς 10,40,100 (ελαιοκαταδυτικός).
- 7) Επιτραπέζια φυγόκεντρος (KYBOTA 3500) με διαστάσεις: 37X64X30 cm, temperature setting -9°C ως +43°C, max capacity 48 ml, max RCF 20,630 X g, max speed 15,000 rpm.
- 8) Επιδαπέδιος καταψύκτης βαθιάς κατάψυξης -80 °C (THERMO SCIENTIFIC), με 4 ράφια για αποθήκευση βιολογικών δειγμάτων.
- 9) Επιδαπέδιοι ψυγειοκαταψύκτες (+4 °C , -20°C). ALBATROS / ANGELANTONI FCL 400/2TS.
- 10) Οριζόντιο επιτραπέζιο αυτόκαυστο (SYSTEC D-65) και κάθετο επιτραπέζιο αυτόκαυστο (PBI MINI) με max pressure 2 atm/132 °C.
- 11) Ανακινούμενα θερμαινόμενα υδατόλουτρα: GFL-1083 με διαστάσεις 45X30X16 cm και BIOLINE με διαστάσεις 50X30X20 cm και θερμοκρασίες έως 99,9 °C και στα δύο.
- 12) Επιτραπέζιοι επωαστικοί κλίβανοι. MEMMERT και HORO B-200.
- 13) Πλυντήριο υάλινων σκευών (MIELE THERMODE SINFECTOR G-7731).

B. Κυτταρικών Καλλιιεργειών

- 1) Απαγωγος νηματικής ροής (aura mini euroclone)
- 2) Επωαστικός κλίβανος (Thermo , electronic corporation)
- 3) Υδρόλουτρο (General Model, n.3015 WB)
- 4) Ανάστροφο οπτικό μικροσκόπιο (Zeiss, Axiovert 40 CFL)
- 5) Φωτογραφική μηχανή (Canon)
- 6) Φυγόκεντρος (Labfuge 300, Heraeus)
- 7) PCR (MJ mini- BIORAD)
- 8) microspiner (Robospin timer, LabTech)
- 9) vortex (Asisistent)
- 11) microdoc gel documentation system (STX-20-M)
- 12) Ηλεκτρονικός Υπολογιστής (HP Compact)
- 13) Ψυγείο (SCHAUB LORENZ)

Να σημειωθεί ότι αν και χαρακτηρίζεται ως εξοπλισμός Μικροβιολογίας και Κυτταρικών Καλλιεργειών, μεμονωμένα τα επιστημονικά όργανα που φιλοξενούν μπορούν να χρησιμοποιηθούν και σε άλλου τύπου μελέτες.

Διοικητική Οργάνωση

Η λειτουργία των δύο αυτών ερευνητικών χώρων **διευθύνεται και βρίσκεται υπό την ευθύνη του Διευθυντή του Εργαστηρίου Περιοδοντολογίας**, ο οποίος, κατά την κρίση του, ορίζει έναν ή δύο Υπεύθυνους-μέλη ΔΕΠ της Περιοδοντολογίας.

Ο Διευθυντής:

- Αποφασίζει για τα ερευνητικά πρωτόκολλα που θα πραγματοποιηθούν και για τη σειρά προτεραιότητας της διεξαγωγής των πειραμάτων, κατόπιν εισήγησης των Υπευθύνων, δίνοντας προτεραιότητα στα ερευνητικά πρωτόκολλα που εκπονεί το εργαστήριο Περιοδοντολογίας.
- Αποφασίζει μετά από πρόταση του/των Υπευθύνων τροποποιήσεις του κανόνων λειτουργίας.
- Ελέγχει και επικυρώνει τα πεπραγμένα (εσωτερικά και φιλοξενούμενων).
- Ελέγχει και επικυρώνει τον οικονομικό απολογισμό.

Οι Υπεύθυνοι:

- Εισηγούνται στο Διευθυντή τη σειρά πραγματοποίησης των ερευνητικών πρωτοκόλλων.
- Έχουν την ευθύνη τήρησης των κανόνων λειτουργίας και του ημερησίου και ωρολογίου προγράμματος καθώς και του παρουσιολόγιου του προσωπικού, όπου αυτό προβλέπεται.
- Έχουν την επίβλεψη των αγορών εξοπλισμού και αναλωσίμων που απαιτούνται για την εύρυθμη λειτουργία.
- Έχουν την επίβλεψη του τεχνικού προσωπικού.
- Ελέγχουν και υπογράφουν κάθε έγγραφο, το οποίο εξέρχεται του εργαστηρίου.

- Βρίσκονται στη διάθεση των μελών των ερευνητικών ομάδων που φιλοξενούνται στο Εργαστήριο για καθοδήγηση στην εκπόνηση των πειραμάτων.
- Εισηγούνται στο Διευθυντή για τυχόν τροποποίηση κανόνων λειτουργίας των ερευνητικών χώρων.

Το Τεχνικό προσωπικό:

- Τηρεί το βιβλίο χρηστών καθώς και το ημερολόγιο κράτησης για την χρήση του/ων χώρου/ων.
- Εποπτεύει στη διεξαγωγή των πειραμάτων και προσφέρει βοήθεια στη διεξαγωγή των πειραμάτων όταν ζητηθεί από τους Υπευθύνους και το Διευθυντή.
- Ενημερώνει τους Υπευθύνους για την εξέλιξη των πειραμάτων που διεξάγονται.
- Έχει την ευθύνη της αποστείρωσης, όπου απαιτείται
- Έχει την ευθύνη τήρησης των κανόνων ασφαλείας.
- Πραγματοποιεί την παραγγελία των αναλωσίμων κατόπιν έγκρισης των Υπευθύνων και σε συζήτηση με τα μέλη της εκάστοτε ερευνητικής ομάδας.
- Ελέγχει την καλή λειτουργία, την καθαριότητα και έχει την ευθύνη για τη συντήρηση του εξοπλισμού.
- Ενημερώνει τους Υπευθύνους για τυχόν βλάβες και μεριμνά για την επιδιόρθωσή τους.

Το Τεχνικό προσωπικό στελεχώνεται με άτομα τα οποία διαθέτουν πιστοποιημένη εξειδίκευση στη Μικροβιολογία, στη Βιολογία και τη Μοριακή Βιολογία.

Αναλυτικότερα, για τις εργασίες του αντικειμένου της μικροβιολογίας το τεχνικό προσωπικό πρέπει να πληροί τις ακόλουθες προϋποθέσεις:

1. Μικροβιολογικές καλλιεργητικές τεχνικές.
2. Ταυτοποίηση μικροβιακών στελεχών.
3. Αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης (PCR).
4. PCR πραγματικού χρόνου (real time PCR) .

5. Μεταγενομική ανάλυση μικροβιακού DNA μέσω τυποποίησης πρότυπης καμπύλης DNA με τη τεχνική της qPCR.

Για τις Κυτταρικές Καλλιέργειες, το προσωπικό πρέπει να μπορεί να διεξάγει αυτόνομα τις κάτωθι εργαστηριακές τεχνικές:

1. Κυτταρικές καλλιέργειες πρωτογενών θηλαστικών κυττάρων και κυτταρικών σειρών.
2. Τεχνογνωσία εφαπτομένων η αιωρούμενων κυτταρικών καλλιεργειών , σε στατικές ή δυναμικές συνθήκες μέσω βιοαντιδραστήρων.
3. Απομόνωση DNA, RNA και πρωτεϊνών από ιστούς και κυτταρικές καλλιέργειες.
4. Δοκιμασία ελέγχου κυτταροτοξικότητας με τη μέθοδο MTT
5. Αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης (PCR)
6. PCR πραγματικού χρόνου (real time PCR)
7. Μεταγενομική ανάλυση μικροβιακού DNA μέσω τυποποίησης πρότυπης καμπύλης DNA με τη τεχνική της qPCR
8. Ηλεκτροφόρηση DNA σε πήκτωμα αγαρόζης
9. Μικροσκοπία φθορισμού.
10. Μονιμοποίηση κυττάρων και ιστών για τη παρακολούθηση δειγμάτων στο Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης.
11. Βιντεομικροσκοπία Time Lapse.
12. Κυτταρομετρία Ροής
13. Ανίχνευση πρωτεϊνών από υπερκείμενα κυτταρικών καλλιεργειών και από βιολογικά υγρά ασθενών με τη μέθοδο ELISA.

Ερευνητές-Χρήστες

Αν η ερευνητική ομάδα είναι συνεργαζόμενη με το Εργαστήριο Περιοδοντολογίας σε συγκεκριμένο πρωτόκολλο, τότε ακολουθείται η διαδικασία που έχει ορίσει το Εργαστήριο.

Αν η ερευνητική ομάδα είναι χρήστες που εκπονούν στο χώρο ένα δικό τους ερευνητικό πρωτόκολλο τότε οι ενδιαφερόμενοι υποβάλουν στο Διευθυντή ένα συνοπτικό ερευνητικό πρωτόκολλο, το οποίο θα πρέπει να περιλαμβάνει:

- **Σελίδα Τίτλου** (Τίτλος εργασίας, ονόματα των συμμετεχόντων στην ερευνητική ομάδα, προέλευση, όνομα κύριου ερευνητή, διεύθυνση, τηλέφωνα, fax, e-mail, χαρακτηρισμός εργασίας κτλ).
- **Εισαγωγή** (παρούσα γνώση, διατύπωση του προβλήματος).
- **Σκοπό** (προτεινόμενη προσέγγιση στο πρόβλημα, διατύπωση υπόθεσης εργασίας).
- **Υλικά και Μέθοδοι** (προτεινόμενη ερευνητική μεθοδολογία, προτεινόμενες πειραματικές διατάξεις, μέθοδοι αξιολόγησης αποτελεσμάτων, κατάλογο αναλωσίμων και αντιδραστηρίων).
- **Σημασία των συμπερασμάτων της υπόθεσης.**
- **Κυριότερη Βιβλιογραφία.**
- **Προτεινόμενο χρονοδιάγραμμα εκτέλεσης έργου.**
- **Πηγές Χρηματοδότησης.**

Η αξιολόγηση του πρωτοκόλλου καθώς και της δυνατότητας εκπόνησης του στους χώρους γίνεται αρχικά από τους Υπεύθυνους που εισηγούνται στη συνέχεια στο Διευθυντή, που παίρνει και την τελική απόφαση εκτέλεσης και προγραμματισμού.

Μετά την αποδοχή του πρωτοκόλλου, ο Υπεύθυνος σε συνεργασία με τον κύριο ερευνητή ή τα μέλη της ερευνητικής ομάδας, διαμορφώνουν το ακριβές χρονοδιάγραμμα εκτέλεσης του έργου, το οποίο πλέον είναι δεσμευτικό και πρέπει να τηρείται αυστηρά ώστε να μην παρεμποδίζεται η ομαλή ροή των υπολοίπων πρωτοκόλλων. Σε περιπτώσεις που παραβιάζεται συστηματικά το χρονοδιάγραμμα, το Εργαστήριο της Περιοδοντολογίας δεν έχει καμιά υποχρέωση για τη περαιτέρω υποστήριξη του συγκεκριμένου ερευνητικού πρωτοκόλλου.

Το τεχνικό προσωπικό των δύο ερευνητικών χώρων επιδεικνύει τη λειτουργία του/των οργάνων που θα χρησιμοποιηθούν και παρίσταται κατά τη διάρκεια του/ων πειράματος/ων μέχρι να βεβαιωθεί για τη δυνατότητα ανεξάρτητης χρήσης του εξοπλισμού.

Η χρήση των οργάνων από τους εκπαιδευόμενους χρήστες θα γίνεται μόνο κατά τις ώρες λειτουργίας (Δευτέρα έως και Παρασκευή, 08:00- 16:00). Το ωράριο απασχόλησης του επί συμβάσει προσωπικού καθορίζεται ανά περίπτωση σύμφωνα με τις συμβάσεις. Για λόγους ασφαλείας απαγορεύεται η παραμονή στους χώρους σε οποιονδήποτε, πέραν του συγκεκριμένου ωραρίου. Σε ειδικές περιπτώσεις και εφόσον έχει προηγουμένως προγραμματιστεί, είναι δυνατή η παράταση του ωραρίου, πάντοτε παρουσία προσωπικού του ΕΕΠ.

Υπάρχει πιθανότητα κάποιο/α όργανο να πρέπει να χρησιμοποιείται μόνο από το τεχνικό προσωπικό κι όχι από τους ερευνητές. Σε τέτοιες περιπτώσεις, ο ερευνητής θα πρέπει να είναι τουλάχιστον παρών κι επίσης να βοηθά, με τον οποιοδήποτε τρόπο του ζητηθεί, το τεχνικό προσωπικό.

Οι εκπαιδευόμενοι χειριστές υποχρεούνται να συμμορφώνονται με τις οδηγίες του τεχνικού προσωπικού και του Υπευθύνου, να διατηρούν τα όργανα και τους πάγκους εργασίας καθαρούς, να συμπληρώνουν τα αρχεία χρήσης των οργάνων ανελλιπώς, να παραδίδουν τα μηχανήματα στην κατάσταση και στις συνθήκες που τα παρέλαβαν και να ακολουθούν τον Κανονισμό ασφαλείας (*Παράρτημα 1*).

Σε περίπτωση βλάβης οργάνου, ο χειριστής πρέπει να συμπληρώσει το αρχείο χρήσης, περιγράφοντας τα προβλήματα που εμφάνισε το όργανο. Την ευθύνη (οικονομική) για την αποκατάσταση της βλάβης φέρει η ερευνητική ομάδα ή και το Εργαστήριο από το οποίο προέρχεται ο κύριος ερευνητής.

Τα αναλώσιμα που χρειάζονται για την εκτέλεση των πρωτοκόλλων προσκομίζονται από τον ερευνητή/ερευνητές ανάλογα με το/α όργανο/α που χρησιμοποιούν. Η προμήθεια εξειδικευμένων αναλωσίμων (φιάλη διοξειδίου του άνθρακα κτλ), γίνεται μετά από συνεννόηση με τεχνικό προσωπικό και τους Υπεύθυνους.

Παράρτημα 1:

ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ ΑΣΦΑΛΕΙΑΣ

Οι κανόνες ασφαλείας αφορούν τη πρόληψη κινδύνου για την υγεία των εργαζομένων (φοιτητές και προσωπικό), τις εγκαταστάσεις και τη διαχείριση των υλικών και αντιδραστηρίων ώστε να μην επιβαρύνεται το περιβάλλον.

Μέτρα πρόληψης χημικών κινδύνων

- Χρήση εργαστηριακής ποδιάς, μάσκας, γαντιών latex και προστατευτικών γυαλιών στο χώρο του ΕΠΠ.
- Σχολαστικό πλύσιμο χεριών μετά από οποιαδήποτε εργασία.
- Σε περίπτωση επαφής του δέρματος ή των ματιών με οποιαδήποτε χημική ουσία γίνεται πλύσιμο της περιοχής με άφθονο νερό για τουλάχιστον 5 λεπτά και ειδοποιείται σχετικά ο Διευθυντής του ΕΕΠ.
- Εύφλεκτες ή πτητικές ουσίες φυλάσσονται σε καλά αεριζόμενο χώρο του Εργαστηρίου.
- Η διαχείριση τοξικών ουσιών γίνεται εντός της απαγωγού.
- Τακτικός έλεγχος της απαγωγού.
- Μετά τη χρήση δοχείων με τοξικές ουσίες γίνεται άμεση τοποθέτηση πώματος ώστε να κλείνει αεροστεγώς.
- Σήμανση όλων των χημικών με τις απαιτούμενες πληροφορίες σε επικολλημένη ετικέτα.
- Επεξήγηση των σημάνσεων επικινδυνότητας των χημικών σε αναρτημένο πίνακα.
- Καθαρισμός πάγκου εργασίας πριν και μετά τη χρήση χημικών ουσιών.

Γενικά μέτρα ασφαλείας

- Δεν επιτρέπεται από τους εργαζομένους η λήψη τροφής, υγρών και το κάπνισμα στο χώρο του εργαστηρίου και δεν τοποθετούνται τρόφιμα στα ψυγεία με χημικά προϊόντα.

- Τα απορρίμματα που προέρχονται από τις χημικές διεργασίες φυλάσσονται σε ειδικές κίτρινες σακούλες.

Διαχείριση αποβλήτων

- Πιθανόν επιμολυσμένα απόβλητα διατίθενται μετά από κατάλληλη αποστείρωση/αποτέφρωση μέσω των κεντρικών υπηρεσιών της Σχολής.
- Τα απορρίμματα του προσωπικού διατίθενται στους κάδους μαζί με τα υπόλοιπα "οικιακού τύπου" απορρίμματα της σχολής.
- Δεν απορρίπτονται στερεά απορρίμματα στους νιπτήρες του ΕΕΠ.