**Ανοικτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα**

**Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Αθήνας**

Παρασιτολογία- Μυκητολογία

**Ενότητα 5: Μονιμοποιητικά**

Ανθούλα Νικολαΐδου

Tεχνολόγος Ιατρικών Εργαστηρίων

Msc Medical Microbiology

Τμήμα Δημόσιας και Κοινοτικής Υγείας

Χειμερινό Εξάμηνο (2013 – 2014)

|  |  |
| --- | --- |
| Το περιεχόμενο του μαθήματος διατίθεται με άδεια Creative Commons εκτός και αν αναφέρεται διαφορετικά | Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από εθνικούς πόρους. |

**Περιεχόμενα**

[Μονιμοποιητικά –Συντηρητικά 3](#_Toc402792222)

[Κριτήρια επιλογής μονιμοποιητικού 4](#_Toc402792223)

[Ανάμειξη κοπράνων και μονιμοποιητικού 5](#_Toc402792224)

[Υλικά –σκεύη –όργανα 5](#_Toc402792225)

[Διαδικασία 5](#_Toc402792226)

[Φορμαλίνη (formalin) 5 or 10% 5](#_Toc402792227)

[PVA (Polyvinyl Alcohol, πολυβινυλική αλκοόλη) 8](#_Toc402792228)

[Τροποποιημένα διαλύματα PVA 8](#_Toc402792229)

[Μονιμοποιητικό διάλυμα Schaudinn’s 8](#_Toc402792230)

[MIF= Μερθειολική ιωδιούχος φορμαλίνη Merthiolate Iodine Formalin 9](#_Toc402792231)

[SAF Sodium acetate Acetic acid Formalin 10](#_Toc402792232)

# Μονιμοποιητικά –Συντηρητικά

Σε ορισμένες περιπτώσεις τα κόπρανα δεν μπορούν να εξεταστούν στην καθορισμένη ώρα όπως

* όταν ο χρόνος κένωσης δεν μπορεί να προγραμματιστεί
* δεν είναι δυνατή η έγκαιρη παράδοση των κοπράνων
* χρειάζεται να μεταφερθούν μακριά από τον τόπο συλλογής
* χρειάζεται να μεταφερθούν σε κέντρο αναφοράς
* υπάρχει φόρτος εργασίας στο εργαστήριο.

Σε αυτές τις περιπτώσεις τα κόπρανα πρέπει να τεθούν όσο το δυνατόν συντομότερο σε συντηρητικό διάλυμα ή σε μίγμα συντηρητικών για να μονιμοποιηθούν. Με την ανάμιξη τους στα συντηρητικά επιτυγχάνεται:

* Να μην αλλοιωθούν και αποσυντεθούν τα παράσιτα που μπορεί να βρίσκονται στα κόπρανα.
* Να σταματήσει η ανάπτυξη ορισμένων αυγών ελμίνθων και η ανάπτυξη προνυμφών.
* Ορισμένα παράσιτα να μην είναι μολυσματικά.

Υπάρχουν αρκετά μονιμοποιητικά μέσα για τα πρωτόζωα και τους έλμινθες.

Το ιδανικό είναι

* να διατηρεί όλες τις μορφές των παρασίτων,
* να μην αντιδρά με τα διαλύματα του εμπλουτισμού
* να μην αντιδρά με τα διαλύματα των χρώσεων.
* Μετά την μονιμοποίηση να μπορούν να εφαρμοστούν πολλές τεχνικές διάγνωσης
* να μην είναι τοξικό
* να μην είναι ακριβό

Δεν υπάρχει όμως ένα μονιμοποιητικό μέσον να αποδίδει τα καλύτερα αποτελέσματα, για όλες μορφές και τις τεχνικές που εφαρμόζονται για την διάγνωση των παρασίτων.

Αν το δείγμα δεν μπορεί να εξεταστεί αμέσως θα πρέπει να γίνει ένα επίχρισμα για μόνιμη χρώση την ίδια μέρα και να γίνει η εξέταση το αργότερο την άλλη μέρα.

Τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα μονιμοποιητικά είναι

1. 5 or 10% φορμαλίνη formalin
2. 5 or 10% ρυθμιστικό διάλυμα φορμαλίνης buffered formalin
3. PVA πολυβινυλική αλκοόλη, Polyvinyl Alcohol
4. Schaudinn’s fixative,
5. MIF Μερθειολική ιωδιούχος φορμαλίνη Merthiolate Iodine Formalin
6. SAF Sodium acetate Acetic acid Formalin

Με την επιλογή του κατάλληλου μονιμοποιητικού, το εργαστήριο μπορεί να εφαρμόσει για κάθε δείγμα κοπράνων, (νωπό -χρώση) εμπλουτισμό και χρώση.

## Κριτήρια επιλογής μονιμοποιητικού

1. Να μονιμοποιεί ικανοποιητικά τους τροφοζωίτες, τις κύστες, τις ωοκύστες, τους σπόρους των μικροσποριδίων, τα αυγά και τις προνύμφες των ελμίνθων.
2. Η δυνατότητα να εφαρμόζονται οι τεχνικές εμπλουτισμού και μόνιμο βαμμένο παρασκεύασμα.
3. Από το κόστος της χρήσης δυο σωληναρίων με μονιμοποιητικά αντί για ένα.
4. Οι ανοσολογικές μέθοδοι ή μοριακές χρειάζονται συγκεκριμένα μονιμοποιητικά.
5. Οι ειδικές χρώσεις όπως η τρίχρωμη ή αιματοξυλίνη ή τροποποιημένη οξεάντοχη χρώση για κρυπτοσπορίδια χρειάζονται καθορισμένα μονιμοποιητικά.
6. Αν η παρασκευή των διαλυμάτων γίνεται στο εργαστήριο ή προμηθεύονται από το εμπόριο.
7. Αν υπάρχει δυνατότητα ασφαλούς απόρριψης των μονιμοποιητικών που περιέχουν υδράργυρο.

**Σημεία προσοχής για την σωστή μονιμοποίηση των κοπράνων.**

1. Η μονιμοποίηση πρέπει να γίνεται αμέσως μετά την κένωση.
2. Η αναλογία κοπράνων και μονιμοποιητικού να είναι σωστή (**1 μέρος κοπράνων και τρία μέρη μονιμοποιητικού**).
3. Η καλή ανάμιξη κοπράνων και μονιμοποιητικού πρέπει να γίνεται οπωσδήποτε αμέσως και πριν την εφαρμογή οποιασδήποτε επεξεργασίας.
4. Για κάθε χρώση ή ανοσολογική μέθοδο πρέπει να χρησιμοποιείται το κατάλληλο μονιμοποιητικό.

## Ανάμειξη κοπράνων και μονιμοποιητικού

Πρώτα γίνεται σύμφωνα με τις οδηγίες η συλλογή κοπράνων και ο εξεταζόμενος ακολουθώντας τις οδηγίες του έχουν δοθεί ή υπάρχουν στην συσκευασία του εμπορίου αναμιγνύει αμέσως μία ποσότητα κοπράνων με το μονιμοποιητικό. Αν δεν διατίθεται συσκευασία, τα κόπρανα μονιμοποιούνται αμέσως μετά την άφιξη τους στο εργαστήριο.

## Υλικά –σκεύη –όργανα

1. Ξύλινες σπάτουλες
2. Ξύλινα ραβδάκια για ανάδευση ή άλλα υλικά για την μεταφορά και την ανάδευση των κοπράνων.

## Διαδικασία

1. Στη διάρκεια όλης της διαδικασίας εφαρμογή γαντιών για την αποφυγή μόλυνσης.
2. Ανάμειξη ενός μέρους κοπράνων με τρία μέρη μονιμοποιητικού. Οι εμπορικές συσκευασίες έχουν στο σωληνάριο με το μονιμοποιητικό ένδειξη που δείχνει μέχρι που πρέπει να προστεθεί η ποσότητα των κοπράνων για να είναι σωστή η αναλογία μονιμοποιητικού και κοπράνων. Συνήθως οι εξεταζόμενοι γεμίζουν το δοχείο και πρέπει να ανοίγεται με προσοχή, αντίθετα από το πρόσωπο. Δημιουργούνται αέρια τα οποία θα δημιουργήσουν αερολύματα όταν ανοίξει το καπάκι.
3. Συνήθως η συσκευασία μονιμοποίησης περιέχει δύο δοχεία. Ένα με φορμαλίνη 10% για εμπλουτισμό και ένα δοχείο με PVA για βαμμένο παρασκεύασμα.
4. Καλή ανάδευση με ραβδάκι ή με το ειδικό κουταλάκι που έχουν οι συσκευασίες στο καπάκι για να γίνει ομογενές το εναιώρημα.
5. Αφήνεται για 30 λεπτά τουλάχιστον σε θερμοκρασία δωματίου για να μονιμοποιηθούν επαρκώς τα παράσιτα. Ή ακολουθούνται οι οδηγίες της εταιρείας (ανάδευση, χρόνος παραμονής κ.λ.π)
6. Ακολουθεί παρασκευή επιχρίσματος για χρώση και εμπλουτισμός των κοπράνων.

## Φορμαλίνη (formalin) 5 or 10%

Η φορμαλίνη χρησιμοποιείται εδώ και πολλά χρόνια για τη μονιμοποίηση των αυγών των ελμίνθων, των προνυμφών, των κυστών των πρωτόζωων, των ωοκυστών και των σπόρων. Χρησιμοποιείται σε περιεκτικότητα 5 % για τη μονιμοποίηση των κυστών των πρωτόζωων και 10 % για την μονιμοποίηση των αυγών των ελμίνθων και των προνυμφών. Αν και το διάλυμα 5 % προτείνεται για όλες τις χρήσεις, τα κιτ του εμπορίου διαθέτουν συνήθως την συγκέντρωση 10% που είναι πιο πιθανόν να μονιμοποιήσει και να σκοτώσει όλα τα αυγά των ελμίνθων.

Για καλύτερα αποτελέσματα στη μορφολογία των οργανισμών στα διαλύματα της φορμαλίνης μπορούν να προστεθούν ρυθμιστικά διαλύματα (buffers) όπως φωσφορικού νατρίου. Για τα διαλύματα της φορμαλίνης που θα χρησιμοποιηθούν αποφασίζει το εργαστήριο.

Αν μονιμοποιηθούν τα κόπρανα σε υδατικό διάλυμα μπορεί μετά να χρησιμοποιηθούν για

* την παρασκευή νωπού επιχρίσματος, το οποίο όμως δεν βοηθά στην ταυτοποίηση των εντερικών παρασίτων όπως το μόνιμο βαμμένο παρασκεύασμα.
* την ανοσολογική ανίχνευση σε κόπρανα, της *Λάμβλιας της εντερικής (Giardia Lamblia)* και των κρυπτοσποριδίων.
* Κύστες πρωτόζωων (όχι τροφοζωίτες), ωοκύστεις κοκκιδίων, σπόροι μικροσποριδίων, αυγά και προνύμφες ελμίνθων μπορεί να διατηρηθούν μεγάλο χρονικό διάστημα σε 10% υδατικού διαλύματος φορμαλίνης.

Φορμαλίνη 10% σε θερμοκρασία 60 0 C μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την μονιμοποίηση και διατήρηση αυγών ελμίνθων, καθώς **στην χαμηλή θερμοκρασία**  στην φορμαλίνη πολλά αυγά ελμίνθων όπως της ασκαρίδας θα εξακολουθήσουν να αναπτύσσονται και να μολύνουν παραμένοντας για μεγάλο χρονικό διάστημα ζωντανά.

Για τη συγκέντρωση μεγάλου αριθμού κύστεων, αυγών, προνυμφών χωρίς κοπρανώδη υλικά, όλο τα δείγμα κοπράνων διαλύεται σε νερό, διηθείται μέσα από πολλές γάζες σε κωνικό σωληνάριο. Το διήθημα αφήνεται για μία ώρα ή περισσότερο, κατόπιν το υπερκείμενο απορρίπτεται. Το ίζημα πλένεται αρκετές φορές με το ίδιο τρόπο. Το τελικό ίζημα διαλύεται σε φορμαλίνη 10% .

Σε περιπτώσεις υδαρούς διάρροιας όταν αναζητούνται κρυπτοσπορίδια ή κοκκίδια δεν διηθούνται τα υδαρή κόπρανα αλλά φυγοκεντρούνται στις 2000 περίπου στροφές για δέκα λεπτά για να καθιζάνουν οι ωοκύστεις και οι σπόροι.

Στο εμπόριο υπάρχει η φορμαλδεΰδη σε συγκέντρωση 37-40%. *Φορμαλίνη ή φορμόλη**υδατικό διάλυμα αέριας φορμαλδεΰδης.* Αυτό το διάλυμα θεωρείται ως 100% . Από αυτό παρασκευάζονται τα υδατικά διαλύματα και τα ρυθμιστικά διαλύματα φορμαλίνης. Παράδειγμα: για να παρασκευαστεί 10% υδατικού διαλύματος φορμαλίνης , 10 ml από τη φορμαλδεΰδη του εμπορίου και 90ml αποσταγμένου νερού (υδατικό διάλυμα φορμαλίνης) ή 90m ρυθμιστικού διαλύματος για ρυθμιστικό διάλυμα.

**Πλεονεκτήματα**

Καλό μονιμοποιητικό για τα αυγών των ελμίνθων, των προνυμφών και των κυστών των πρωτόζωων. Μπορεί να διατηρηθούν για αρκετά χρόνια.

1. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον εμπλουτισμό των κοπράνων (μέθοδος καθίζησης).
2. Διατίθεται και από το εμπόριο και διατηρείται μεγάλο χρονικό διάστημα.
3. Τα ρυθμιστικά διαλύματα της φορμαλίνης διατηρούν τη καλή μορφολογία των παρασίτων για μεγάλο χρονικό διάστημα.
4. Χρησιμοποιούνται στην ανοσολογική ανίχνευση, της *Λάμβλιας της εντερικής (Giardia Lamblia)* και των κρυπτοσποριδίων.

**Μειονεκτήματα**

1. Δεν διατηρούνται επαρκώς οι τροφοζωίτες.
2. Δεν μπορούν να γίνουν μόνιμα βαμμένα παρασκευάσματα από κόπρανα διατηρημένα σε φορμαλίνη.
3. Η φορμαλίνη παρεμβάλλεται σε μεθόδους της Μοριακής Βιολογίας ( PCR)

## PVA (Polyvinyl Alcohol, πολυβινυλική αλκοόλη)

PVA είναι μία πλαστική ρητίνη που συνήθως ενσωματώνεται στο μονιμοποιητικό Schaudinn. Είναι σκόνη με την οποία τα κόπρανα προσκολλώνται στην αντικειμενοφόρο πλάκα. Όταν το εναιώρημα κοπράνων και PVA επιστρώνονται στην πλάκα τα κόπρανα προσκολλώνται με τη βοήθεια του PVA. Η μονιμοποίηση γίνεται από το Schaudinn.

Η αναλογία πρέπει να είναι τρία μέρη μονιμοποιητικού και ένα των κοπράνων . Καλή ανάμειξη.

**Πλεονεκτήματα**

1. Από τα κόπρανα που έχουν μονιμοποιηθεί με PVA παρασκευάζονται μόνιμα βαμμένα επιχρίσματα και μπορεί να γίνει εμπλουτισμός κοπράνων, με ορισμένες εξαιρέσεις.
2. Διατηρεί πολύ καλά την μορφολογία των κυστών και των τροφοζωιτών για μεγάλο χρονικό διάστημα και μπορεί μην εξεταστούν αμέσως.
3. Μπορεί να σταλούν τα επιχρίσματα σε οποιοδήποτε εργαστήριο όσο μακριά και αν βρίσκεται, για διάγνωση ή για επιβεβαίωση της διάγνωσης.
4. Είναι πολύ χρήσιμο στα διαρροϊκά κόπρανα.
5. Διατίθεται σε συσκευασίες εμπορίου
6. Διατηρείται για μήνες ως χρόνια σε καλά σφραγισμένα δοχεία σε θερμοκρασία δωματίου.

**Μειονεκτήματα**

* 1. Όταν τα κόπρανα μονιμοποιηθούν με PVA και ακολουθεί εμπλουτισμός μερικά παράσιτα όπως αυγά τριχίουρου ( *Trichuris trichiura)*, κύστες *Giardia lamblia* και ωοκύστες *Isospora belli,* δεν εμπλουτίζονται τόσο καλά όσο με την φορμαλίνη και ορισμένα αυγά και προνύμφες όπως του στρογγυλοειδούς μπορεί να καταστραφούν.
	2. Περιέχει ενώσεις υδραργύρου οι οποίες είναι δύσκολο να απορριφθούν με ασφάλεια.
	3. Δύσκολο να παρασκευαστεί στο εργαστήριο.
	4. Μπορεί να αποχρωματιστεί να γίνει λευκό και ζελατινώδες αν μοιραστεί σε μικρές ποσότητες ή αν διατηρηθεί σε ψυγείο.
	5. Δεν μπορεί να εφαρμοστούν ανοσολογικές τεχνικές.

## Τροποποιημένα διαλύματα PVA

Έχουν προταθεί διαφοροποιημένα διαλύματα τα οποία έχουν αντικαταστήσει τον υδράργυρο με χαλκό ή ψευδάργυρο. Δεν έχουν όμως τα αποτελέσματα του υδραργύρου.

## Μονιμοποιητικό διάλυμα Schaudinn’s

Χρησιμοποιείται για πρόσφατα κόπρανα και για επιχρίσματα από τον εντερικό αυλό για την παρασκευή μονίμων βαμμένων επιχρισμάτων.

**Πλεονεκτήματα**

1. Παρασκευή μονίμων βαμμένων επιχρισμάτων.
2. Τα μονιμοποιημένα επιχρίσματα μπορούν να διατηρηθούν μέχρι μια εβδομάδα χωρίς να καταστραφούν οι μορφές παρασίτων και μετά να βαφτούν.
3. Παρασκευάζεται εύκολα στο εργαστήριο.
4. Διατίθεται και στο εμπόριο από αρκετές εταιρίες.

**Μειονεκτήματα**

1. Χρειάζεται ειδική τεχνική για τον εμπλουτισμό των κοπράνων που δεν προτείνεται.
2. Μικρή προσκολλητική ικανότητα σε υδαρή υλικά.
3. Περιέχει υδράργυρο.

## MIF= Μερθειολική ιωδιούχος φορμαλίνη Merthiolate Iodine Formalin

Μονιμοποιεί όλα τα είδη και τα στάδια των παρασίτων που βρίσκονται στα κόπρανα.

Είναι πολύ χρήσιμο για τις έρευνες πεδίου. Χρησιμοποιείται για την μονιμοποίηση όλων των τύπων κοπράνων και των δειγμάτων αναρρόφησης. Επειδή περιέχει μερθειολικό βάμμα βάφει τα παράσιτα γίνεται νωπό και δεν χρειάζεται άλλη χρώση.

Μπορεί από τα μονιμοποημένα με MIF δείγματα να γίνουν νωπά παρασκευάσματα (να γίνει διάγνωση) ή/ και εμπλουτισμός και νωπό παρασκεύασμα.

**Πλεονεκτήματα**

1. Μονιμοποιεί και βάφει συγχρόνως όλα τα παράσιτα (πρωτόζωα, αυγά και προνύμφες) μπορεί να ανιχνευτούν σε νωπό παρασκεύασμα χωρίς περαιτέρω χρώση.
2. Χρήσιμο στις έρευνες πεδίου
3. Παρασκευάζεται εύκολα
4. Διατηρείται μεγάλο χρονικό διάστημα (χωριστά τα διαλύματα).

**Μειονεκτήματα**

1. Δύσκολο να εφαρμοστούν άλλες χρώσεις
2. Περιέχει ενώσεις υδραργύρου
3. Τα διαλύματα πρέπει να αναμιχθούν πριν την χρήση επειδή δεν είναι σταθερά τα διαλύματα ιωδίου
4. Το ιώδιο παρεμβάλλεται στις άλλες χρωστικές και στο φθορισμό και μπορεί να παραμορφώσει τους τροφοζωίτες
5. Ο εμπλουτισμός μπορεί να μην δώσει ικανοποιητικά αποτελέσματα.
6. Δεν διατηρούνται οι μορφές των παρασίτων για μεγάλο χρονικό διάστημα.

## SAF Sodium acetate Acetic acid Formalin

Στα δείγματα που έχουν μονιμοποιηθεί με SAF μπορεί να εφαρμοστεί εμπλουτισμός και να γίνει βαμμένο μόνιμο παρασκεύασμα (χρειάζεται λευκωματίνη για την προσκόλληση του δείγματος στην αντικειμενοφόρο πλάκα καθώς το μονιμοποιητικό δεν διαθέτει ιδιότητες προσκόλλησης).

**Πλεονεκτήματα**

1. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για εμπλουτισμό και για βαμμένο παρασκεύασμα.
2. Δεν περιέχει ενώσεις υδραργύρου
3. Παρασκευάζεται εύκολα και διατίθεται στο εμπόριο από αρκετές εταιρίες.
4. Διατηρείται μεγάλο χρονικό διάστημα.
5. Μπορεί να χρησιμοποιηθούν τα μονιμοποιημένα δείγματα για την εφαρμογή ανοσολογικών τεχνικών για την ανίχνευση της λάμβλιας και των κρυπτοσποριδίων.

**Μειονεκτήματα**

1. Δεν διαθέτει ιδιότητες προσκόλλησης και χρειάζεται λευκωματίνη για την προσκόλληση του δείγματος στην αντικειμενοφόρο πλάκα.
2. Η μορφολογία των παρασίτων είναι καλύτερη με την χρώση σιδηρούχο αιματοξυλίνη ( iron-hematoxylin), με την τρίχρωμη δεν δίνει ικανοποιητικά αποτελέσματα.

|  |
| --- |
| **Ανοικτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα****Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Αθήνας** |
| **Τέλος Ενότητας** |
| **Χρηματοδότηση*** Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό έχει αναπτυχθεί στα πλαίσια του εκπαιδευτικού έργου του διδάσκοντα.
* Το έργο «**Ανοικτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα στο ΤΕΙ Αθήνας**» έχει χρηματοδοτήσει μόνο τη αναδιαμόρφωση του εκπαιδευτικού υλικού.
* Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από εθνικούς πόρους.

 |

**Σημειώματα**

**Σημείωμα Αναφοράς**

Copyright ΤΕΙ Αθήνας, Ανθούλα Νικολαΐδου, 2014. Ανθούλα Νικολαΐδου. «Παρασιτολογία- Μυκητολογία. Ενότητα 5: Μονιμοποιητικά». Έκδοση: 1.0. Αθήνα 2014. Διαθέσιμο από τη δικτυακή διεύθυνση: [ocp.teiath.gr](https://ocp.teiath.gr/).

**Σημείωμα Αδειοδότησης**

Το παρόν υλικό διατίθεται με τους όρους της άδειας χρήσης Creative Commons Αναφορά, Μη Εμπορική Χρήση Παρόμοια Διανομή 4.0 [1] ή μεταγενέστερη, Διεθνής Έκδοση. Εξαιρούνται τα αυτοτελή έργα τρίτων π.χ. φωτογραφίες, διαγράμματα κ.λ.π., τα οποία εμπεριέχονται σε αυτό. Οι όροι χρήσης των έργων τρίτων επεξηγούνται στη διαφάνεια «Επεξήγηση όρων χρήσης έργων τρίτων».

Τα έργα για τα οποία έχει ζητηθεί άδεια αναφέρονται στο «Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων».

[1] http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Ως **Μη Εμπορική** ορίζεται η χρήση:

* που δεν περιλαμβάνει άμεσο ή έμμεσο οικονομικό όφελος από την χρήση του έργου, για το διανομέα του έργου και αδειοδόχο
* που δεν περιλαμβάνει οικονομική συναλλαγή ως προϋπόθεση για τη χρήση ή πρόσβαση στο έργο
* που δεν προσπορίζει στο διανομέα του έργου και αδειοδόχο έμμεσο οικονομικό όφελος (π.χ. διαφημίσεις) από την προβολή του έργου σε διαδικτυακό τόπο

Ο δικαιούχος μπορεί να παρέχει στον αδειοδόχο ξεχωριστή άδεια να χρησιμοποιεί το έργο για εμπορική χρήση, εφόσον αυτό του ζητηθεί.

**Επεξήγηση όρων χρήσης έργων τρίτων**

|  |  |
| --- | --- |
| © | Δεν επιτρέπεται η επαναχρησιμοποίηση του έργου, παρά μόνο εάν ζητηθεί εκ νέου άδεια από το δημιουργό. |
| διαθέσιμο με άδεια CC-BY | Επιτρέπεται η επαναχρησιμοποίηση του έργου και η δημιουργία παραγώγων αυτού με απλή αναφορά του δημιουργού. |
| διαθέσιμο με άδεια CC-BY-SA | Επιτρέπεται η επαναχρησιμοποίηση του έργου με αναφορά του δημιουργού, και διάθεση του έργου ή του παράγωγου αυτού με την ίδια άδεια. |
| διαθέσιμο με άδεια CC-BY-ND | Επιτρέπεται η επαναχρησιμοποίηση του έργου με αναφορά του δημιουργού. Δεν επιτρέπεται η δημιουργία παραγώγων του έργου. |
| διαθέσιμο με άδεια CC-BY-NC | Επιτρέπεται η επαναχρησιμοποίηση του έργου με αναφορά του δημιουργού. Δεν επιτρέπεται η εμπορική χρήση του έργου. |
| διαθέσιμο με άδεια CC-BY-NC-SA | Επιτρέπεται η επαναχρησιμοποίηση του έργου με αναφορά του δημιουργού και διάθεση του έργου ή του παράγωγου αυτού με την ίδια άδεια. Δεν επιτρέπεται η εμπορική χρήση του έργου. |
| διαθέσιμο με άδεια CC-BY-NC-ND | Επιτρέπεται η επαναχρησιμοποίηση του έργου με αναφορά του δημιουργού. Δεν επιτρέπεται η εμπορική χρήση του έργου και η δημιουργία παραγώγων του. |
| διαθέσιμο με άδεια CC0 Public Domain | Επιτρέπεται η επαναχρησιμοποίηση του έργου, η δημιουργία παραγώγων αυτού και η εμπορική του χρήση, χωρίς αναφορά του δημιουργού. |
| διαθέσιμο ως κοινό κτήμα | Επιτρέπεται η επαναχρησιμοποίηση του έργου, η δημιουργία παραγώγων αυτού και η εμπορική του χρήση, χωρίς αναφορά του δημιουργού. |
| χωρίς σήμανση | Συνήθως δεν επιτρέπεται η επαναχρησιμοποίηση του έργου. |

**Διατήρηση Σημειωμάτων**

* Οποιαδήποτε αναπαραγωγή ή διασκευή του υλικού θα πρέπει να συμπεριλαμβάνει:
* το Σημείωμα Αναφοράς
* το Σημείωμα Αδειοδότησης
* τη δήλωση Διατήρησης Σημειωμάτων
* το Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (εφόσον υπάρχει)

μαζί με τους συνοδευόμενους υπερσυνδέσμους.