

# Tipos de contaminación en cultivos celulares y su prevención

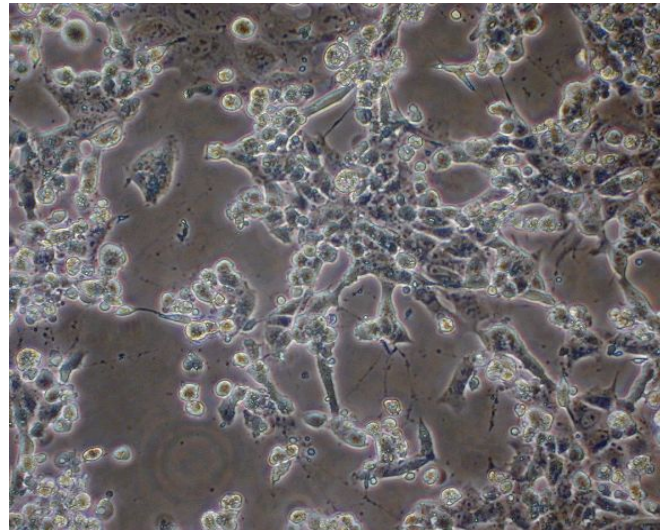
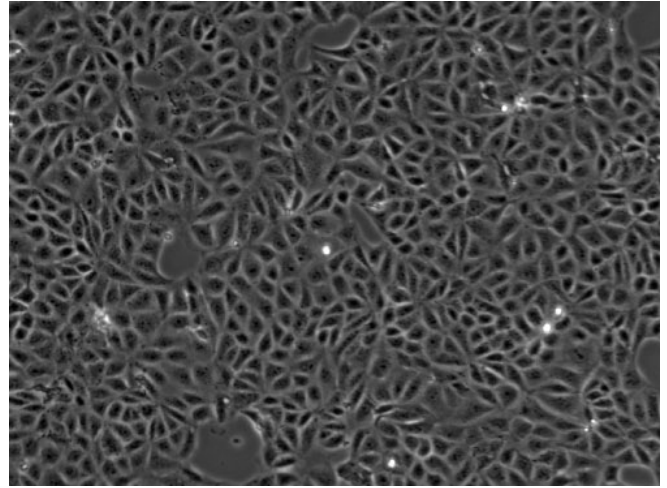



Curso de cultivos celulares avanzados

Jon Andoni Otero

INDEGSAL/Dep C.C. Biomédicas

03/02/14





# ¿Cómo se introduce una contaminación en nuestro cultivo?

- Operador
- La manipulación
- La atmósfera
- Las superficies
- Los utensilios
- Los medios y soluciones

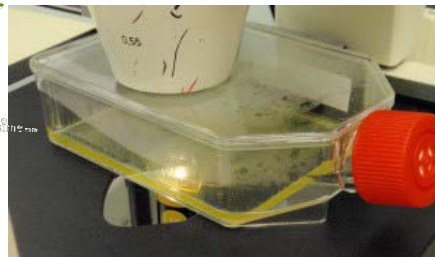
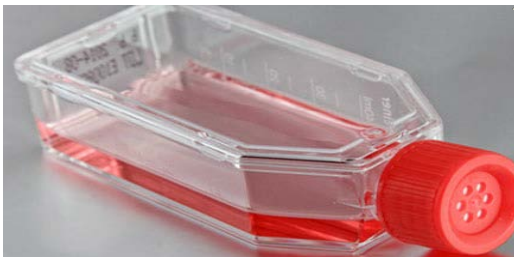
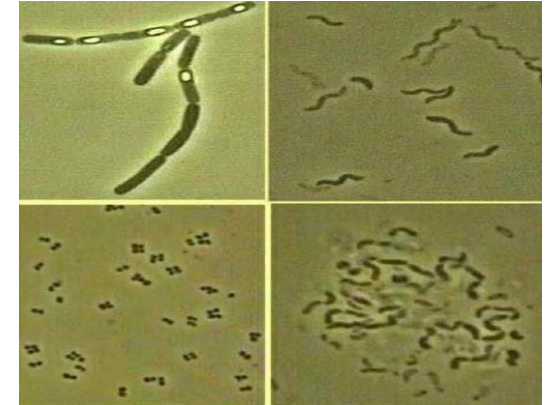


# Tipos de contaminación

- **BIOLÓGICA**
  - Bacterias
  - Levaduras
  - Hongos
  - Virus
  - Micoplasmas
  - Cruzada

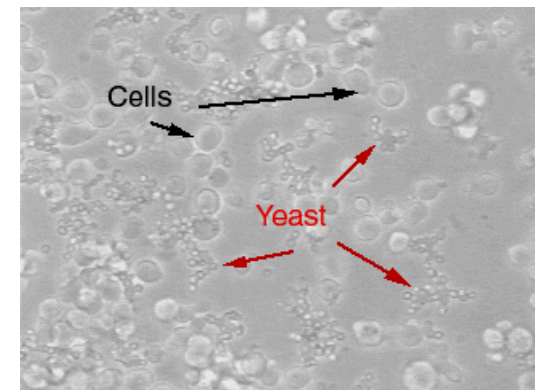
# Tipos de contaminación: Bacterias

- Fácil de detectar a microscopía
- Formas motiles (cocos, bacilos..)
- Origina cambios en el pH del medio
- Origina turbidez en el medio
- Control: penicilina/estreptomicina, gentamicina
- No utilizar antibióticos, al menos durante algún tiempo, para su control
- Eliminar los cultivos contaminados



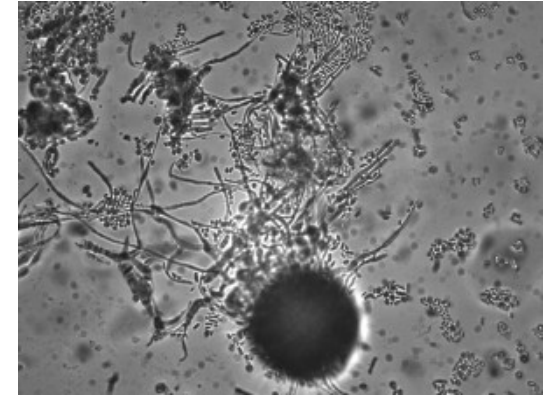
# Tipos de contaminación: Levaduras

- Fáciles de detectar a microscopía.
- Partículas redondeadas u ovoides formando cadenas
- No causan cambios rápidos en el pH del medio
- El medio se vuelve turbio
- Pueden causar alcalinización del medio
- Olor típico a pan (¿Quién anda oliendo los cultivos?)



# Tipos de contaminación: Hongos

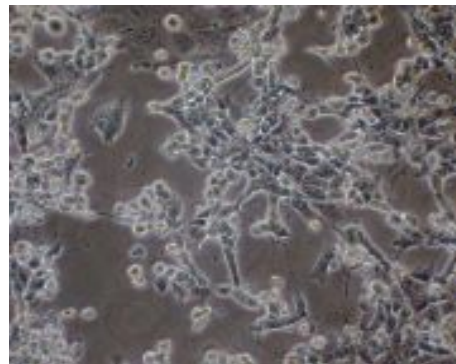
- Fácilmente observables a microscopía o incluso a simple vista.
- No provocan cambios inmediatos en el pH del medio
- Generalmente no son citotóxicos
- Esporas difíciles de detectar
- Blanquecinos, amarillentos o negros
- Control: AnfotericinaB (Fungizone) o Nistatina





# Tipos de contaminación: Virus

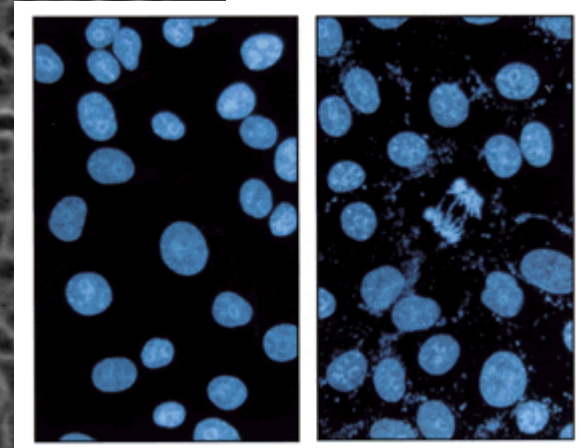
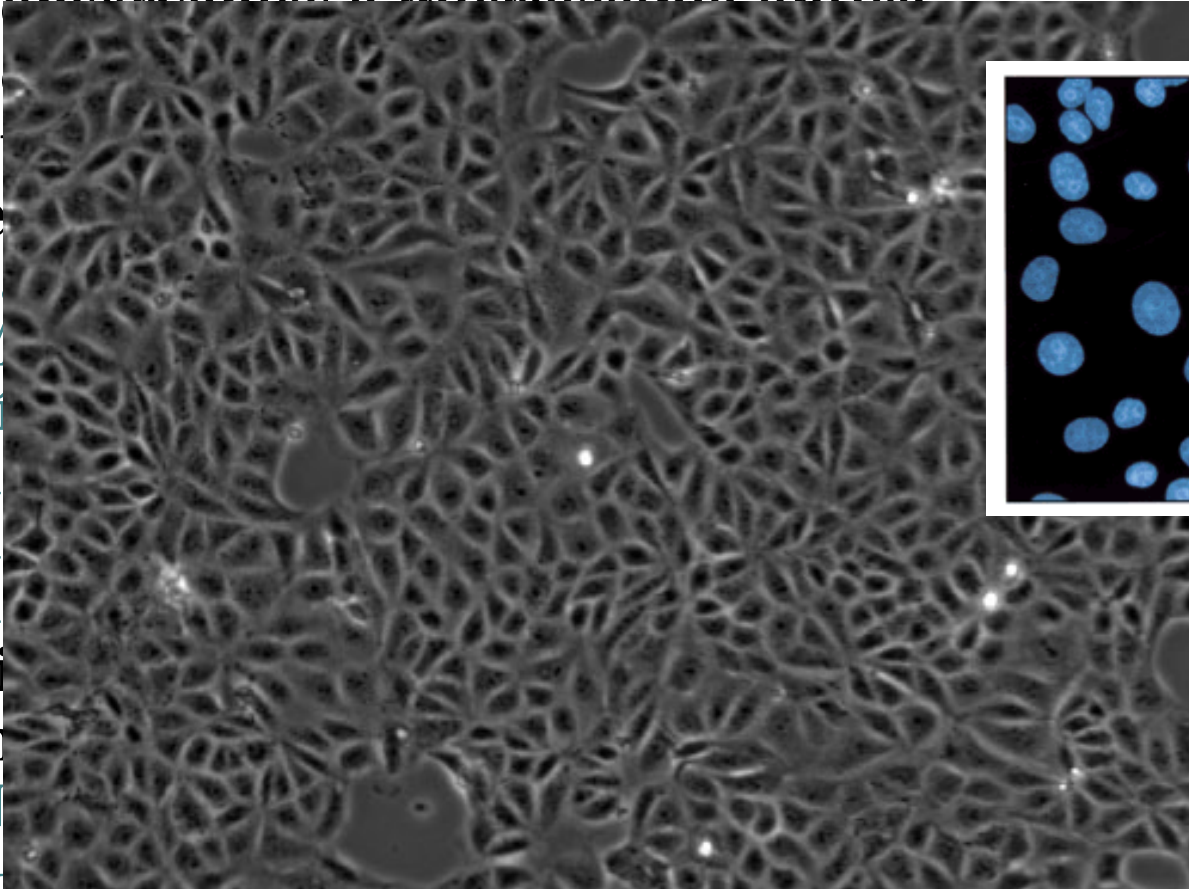
- Difíciles de detectar por su tamaño
- Requerimientos muy específicos (hospedador)
- Pueden causar efecto citopático
- Peligro potencial para el operador al manipular cultivos infectados
- El riesgo de manifestación de virus 'latentes' se incrementa con las modificaciones génicas (OMG) y los cambios en las condiciones de cultivo





# Tipos de contaminación: Mycoplasma

- No observable en microscopio óptico
- No
- Test
- Puede
  - C
  - M
  - S
  - A
  - A
  - A
- Val
- Con
  - N
  - G



do menos

??



# Tipos de contaminación: Cruzada

- Contaminación con otras células eucariotas en cultivo en el laboratorio.
- Métodos de prevención diferentes al resto de contaminaciones
- Cultivar las células **correctamente**

# Ya conocemos al enemigo...



**¡¡SE PUEDE PREVENIR SI APRENDEMOS A TRABAJAR ADECUADAMENTE!!**

# Prevención: Manejo de la cabina

- Antes de utilizar la cabina
  - Apagar la lámpara UV
  - Encender la luz
  - Desinfectar las superficies con el desinfectante apropiado
  - Desinfectar y colocar el material necesario dentro de la cabina
  - Dejar funcionar el ventilador durante 5-10 min. antes de empezar a trabajar

# Prevención: Manejo de la cabina

- Durante el uso
  - Colocar el material en la parte posterior
  - No bloquear rejillas de entrada y salida de aire
  - Usar técnicas que reduzcan salpicaduras y aerosoles
  - Las pipetas estériles solo deben tocar el interior de frascos. Ante la duda retirar el material de trabajo estéril.
  - No realizar movimientos bruscos que rompan el flujo de aire
  - Llamas desnudas suscitan controversia

# Prevención: Manejo de la cabina

- Al terminar el trabajo
  - Mantener encendido el ventilador 5 min
  - Sacar y descontaminar equipo y materiales
  - Desinfectar superficies de la cabina
  - Apagar ventilador y luz
  - Encender lámpara UV

# Prevención: Manejo de la cabina

- **Mantenimiento**
  - **Diario** –Limpiar la superficie de trabajo
  - **Semanal** –Limpiar lámpara UV
  - **Mensual** –Limpiar las superficies verticales
  - **Anual** –Verificar intensidad de lámpara UV
    - Descontaminación con formaldehído (gas)
    - Verificar funcionamiento filtro HEPA y ventilador



# Contaminación cruzada-Precauciones

- **Obtener líneas celulares de bancos autorizados o fuentes fiables**
- **No tener frascos abiertos con más de una línea celular al mismo tiempo.**
- **Manipular las líneas de crecimiento rápido en solitario y tras otros cultivos**
- **No utilizar la misma pipeta o las mismas soluciones para líneas celulares diferentes**

# Contaminación cruzada-Precauciones

- Manipular cada línea celular por separado
- No compartir medios de cultivo entre diferentes líneas
- Manipular las líneas celulares con mayor capacidad de proliferación las últimas
- Verificar periódicamente las propiedades del cultivo
- Usar un programa adecuado de almacenamiento
- No aceptar cultivos no seguros, poco caracterizados o sin referencia... o tratarlos en consonancia

**¡ Mucha suerte a todos con el  
manejo de vuestras células!**

