

APÉNDICE 2: RIESGOS DERIVADOS DEL TRABAJO CON CULTIVOS CELULARES

Los cultivos celulares son el resultado del crecimiento “in vitro” de células obtenidas de organismos pluricelulares. Tienen la categoría de agentes biológicos según la definición recogida en el Artículo 2; se refiere en este caso, tanto a los cultivos celulares primarios, como a los de líneas continuas celulares o cepas celulares bien definidas.

Los cultivos celulares no contaminados generalmente no presentan un riesgo significativo, y aun la inoculación dérmica origina sólo una inflamación local. Sin embargo, estos cultivos pueden contribuir sustancialmente al riesgo de exposición a agentes biológicos ya que pueden actuar como la base o ayudar a la supervivencia y/o la replicación de agentes oportunistas, o ser origen de otros riesgos potenciales. Los agentes oportunistas más característicos son los virus y entre los otros riesgos pueden citarse la contaminación por mycoplasmas, o productos celulares que pueden ser moléculas biológicamente activas con propiedades farmacológicas, de inmunomodulación o sensibilizantes.

1. Evaluación del riesgo

El nivel de riesgo que presenta el trabajo con cultivos celulares es variado. Por un lado se debe considerar si las cepas o líneas celulares utilizadas tienen una procedencia lo suficientemente documentada para garantizar y evitar la problemática asociada con la contaminación cruzada de la línea celular original por otro tipo de células.

Respecto a los cultivos celulares habrá que considerar asimismo tanto su origen anatómico como el de la especie, ya que está directamente relacionado con su potencial infeccioso por virus u otros agentes patógenos en humanos. En ningún caso el trabajador que realice los cultivos celulares podrá utilizar sus propias células para el desarrollo “in vitro”. Las células humanas para cultivo deberán obtenerse solamente de individuos que no tengan relación con el trabajo experimental.

Los cultivos celulares de mayor riesgo son los que proceden de primates y humanos, especialmente si derivan de sangre periférica, tejido linfóide y nervioso. Cuando se sospeche la infección del cultivo celular por un agente patógeno para el hombre, dichos cultivos deberán ser manejados en un nivel de contención adecuado al agente en cuestión.

La elección del nivel de contención, según el origen del cultivo celular, se muestra en la siguiente Tabla:

CULTIVO CELULAR	CONTENCIÓN
Líneas celulares bien caracterizadas de origen humano o de simios.	Nivel de contención 2 y empleo de cabina de bioseguridad.
Líneas celulares no humanas ni de simios bien caracterizadas, con bajo riesgo de infección endógena con patógenos humanos.	
Líneas celulares o cepas no totalmente caracterizadas o autenticadas.	Nivel de contención 2 y empleo de cabina de bioseguridad.
Células con patógenos endógenos y células deliberadamente infectadas.	Contención apropiada al patógeno.
Células sanguíneas humanas, células linfoides, tejido nervioso de origen humano o simio.	Contención apropiada al riesgo potencial.

Hay un riesgo adicional en el caso de cultivos celulares genéticamente modificados.

2. Riesgos en los procedimientos de cultivos celulares

En la manipulación de cultivos celulares deberán minimizarse todas las tareas que contribuyan a la formación de aerosoles o salpicaduras: trasvases, derrames, pipeteos continuados y rápidos,... Las agujas no deberán utilizarse si existe una alternativa razonable. Como en todo trabajo con material infeccioso o potencialmente infeccioso, deberán utilizarse cabinas de seguridad biológica, las cuales estarán correctamente instaladas y regularmente mantenidas y comprobadas.

Algunos productos celulares pueden ser alergénicos por lo que en estos casos se requerirán unos estrictos niveles de contención primaria y/o protección personal de los trabajadores para prevenir la inhalación o el contacto con las mucosas.

3. Contención

Como se indicó en la Tabla anterior, cuando hay evidencia o sospecha de la presencia de patógenos (por ejemplo: Herpesvirus simiae en tejidos de simios o VIH en células blancas de sangre periférica), los cultivos celulares se manipularán en el nivel de contención requerido para el patógeno en cuestión. Todos los procedimientos implicados en la propagación de cultivos celulares que estén contaminados deberían llevarse a cabo como mínimo en el nivel de contención 2, en la realización de las manipulaciones.

Cuando se utilice sólo un pequeño número de células con un bajo riesgo de infección y no se encuentren en fase proliferativa podrá no ser necesaria la cabina de seguridad. Por el contrario, donde el volumen y número de células es alto (procesos a gran escala) o donde el nivel de exposición va aumentando por la inevitable producción de aerosoles, los niveles de contención y planes de contingencia deberán ser más estrictos.

4. Desinfección y desecho de residuos

Es necesaria la existencia de normas efectivas para la descontaminación de todos los materiales utilizados en relación con los cultivos celulares y fluidos de desecho.

Los procedimientos de descontaminación deberán ser capaces de inactivar virus y otros agentes contaminantes aun en presencia de fluidos con una elevada carga de material orgánico. La descontaminación química es por esta causa menos efectiva que la que se obtiene por calor.

El riesgo de infección en las sucesivas etapas necesarias para el tratamiento de los desechos deberá ser valorado, tomando las medidas adecuadas en cada caso.

5. Conclusiones

Para el manejo seguro de los cultivos celulares es necesaria una valoración adecuada de los riesgos, una buena organización del trabajo y la aplicación de los principios de las buenas prácticas en el laboratorio. Es importante adoptar procedimientos de separación que prevengan la transmisión accidental de agentes infecciosos de un cultivo a otro. Para evitar dicha transmisión así como la contaminación cruzada entre células, sólo deberá manipularse una línea celular cada vez, utilizando métodos adecuados de descontaminación, especialmente en las operaciones desarrolladas entre diferentes tipos de células.

Es recomendable que los cultivos celulares que están infectados se manipulen al final del período de trabajo o preferiblemente en un laboratorio diferente de los que se reconocen como libres de infección.