Curs teòric-pràctic

Formació en cultiu cel·lular Teoria i tècniques

2ona Edició - Del 30 de setembre al 10 d'octubre

36 hores lectives (50% teoria / 50% pràctica)

Sol·licitat el reconeixement de crèdits

HOSPITAL DE LA SANTA CREU I SANT PAU
UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA

SANT PAU DOCENT

Amb la col·laboració de:

Institut sant pau



índex

- Presentació i característiques del curs
- Equip docent
- Programa
- Planificació del curs
- Informació general

Presentació i característiques del curs

Des de l'any 1980 es fan servir, en la rutina del nostre laboratori, les tècniques de cultiu cel·lular per a l'aïllament i identificació vírica. En el curs dels últims anys s'han anat afegint noves tecnologies per al diagnòstic virològic que han permès, per a algunes de les infeccions víriques, l'obtenció de resultats més ràpids. Així, actualment l'aïllament víric en cultius cel·lulars només s'utilitza en centres de referència. En els últims anys l'interès per la formació en cultiu cel·lular ha anat augmentant donant lloc a múltiples sol·licituds per part d'altres centres per a la formació del seu personal. És per això que hem organitzat el present curs.

El programa es basa principalment en un aprenentatge tutelat eminentment pràctic, de manera que l'alumne adquireixi una experiència en la manipulació dels cultius cel·lulars que li permeti instaurar les tècniques al seu laboratori. Cada alumne realitzarà individualment i sota supervisió tots els exercicis pràctics proposats.

✖ Objectius generals

El programa del curs tracta d'oferir tots els aspectes teòrics i pràctics per a realitzar amb èxit les tècniques de cultiu cel·lular:

- Conèixer els fonaments científics de la manipulació dels cultius cel·lulars.
- Planificar i gestionar una àrea de cultiu cel·lular.

✖ Objectius específics

La formació en cultiu cel·lular es basa en l'adquisició conjunta de:

- Coneixements generals que permetin comprendre els processos implicats en el cultiu de cèl·lules in vitro.
- Habilitats per a la manipulació de les cèl·lules.
- Capacitat de detectar i analitzar els problemes que apareixen en el curs de la manipulació dels cultius cel·lulars.
- Capacitat de resolució de problemes detectats.

✖ Metodologia

El curs és presencial i es plantegen diferents tipus de sessions: sessions teòriques (5 sessions de 2 hores), sessions de laboratori pràctiques (5 sessions de 2 hores i 2 sessions de 4 hores), seminari (4 hores), debat (3 hores) i avaluació (1 hora).

✖ Avaluació

Per a poder avaluar-ho es requerirà l'assistència al 100% de totes les sessions. S'avaluarà mitjançant una prova escrita de respostes curtes per comprovar els coneixements adquirits. Així mateix es valorarà la implicació i participació en les sessions que correspondrà a un 10% de la nota final.

Dirigit a:
Tècnics de grau superior de laboratori, graduats en Ciències de la Salut o en Biociències interessats en el cultiu cel·lular

Equip docent

✖ Professorat

Margarita del Cuerpo (MDC)
Llicenciada en Ciències Biològiques. Tècnica especialista de laboratori. Auditora interna ISO 9001: 2015.

Montse Esteban (MES)
Formació en cultius cel·lulars acreditada per l'Institut d'estudis de la Salut de la Generalitat de Catalunya.Tècnica especialista de laboratori.

Pilar Marin (PML)
Llicenciada en Ciències Biològiques. Tècnica especialista de laboratori.

Núria Rabella (NRG)
Doctora en medicina. Especialista en Microbiologia. Professora associada del departament de Genètica i Microbiologia de la UAB.

✖ Col·laboradors

Montserrat Espadaler
Llicenciada en Ciències Biològiques. Màster en Biologia Cel·lular. Tècnica especialista en Citogenètica i hematologia. Auditora interna ISO 9001:2015

Eduard Gallardo
Llicenciat en Ciències Biològiques. Doctor en Medicina. Investigador de l'Institut de Recerca (HSCSP), grup Malalties Neuromusculars.

Josep Julve
Doctor en Biologia. Investigador de l'Institut de Recerca de l'HSCSP.

Victoria Rubiales
Llicenciada en Veterinària. Tècnica de laboratori d'Immunologia (HSCSP). Auditora interna ISO 9001:2015.

Pilar Sardá
Llicenciada amb grau en Biologia. Doctora en Biologia. Tècnica especialista de laboratori (HSCSP). Auditora interna ISO 9001:2008.



Programa

Sesiones teòriques

Tema 1. (T-1) - El laboratori de cultiu cel·lular

- Història del cultiu cel·lular.
- Instal·lacions i equips.
- Cabines.
- Els microscopis.
- Equips de conservació (neveres, congeladors i nitrogen líquid).
- Manipulació en condicions estèrils: normes de seguretat i higiene.
- Gestió de la qualitat.

Tema 2. (T-2) - Condicions òptimes per al cultiu cel·lular. Problemes més freqüents

- Aspectes generals.
- Tipus de substrats.
- Components de la fase gasosa.
- Medis de cultiu: propietats fisicoquímiques i fisiològiques.
- Principals problemes: contaminacions bacterianes, fúngiques i víriques.
- Contaminació per micoplasma.

Tema 3. (T-3) - Propagació i manteniment dels cultius cel·lulars. Criopreservació i descongelació

- Biologia de la cèl·lula en cultiu cel·lular; corba de creixement.
- Mètodes de disgregació i propagació: mecànica i enzimàtica (tractament amb tripsina).
- Manteniment dels cultius, subcultius i passis.
- Preservació.
- Creació de col·leccions cel·lulars de treball.

Tema 4. (T-4) - Tipus de cultius cel·lulars

- Cultius d'òrgans.
- De l'explant al cultiu primari.
- Cultius secundaris i línies cel·lulars.
- Cultius en 3D.
- Bancs de cèl·lules.

Tema 5. (T-5) - Aplicacions del cultiu cel·lular en el diagnòstic virològic

- Paper del cultiu cel·lular.
- Línies cel·lulars adequades per a cada tipus de virus.
- Resultats segons la mostra i la clínica.

Tema 6. (S-6) - Seminari: Altres aplicacions dels cultius cel·lulars

- Producció de fàrmacs, vacunes, anticossos monoclonals, enginyeria de teixits, toxicologia, altres.
- Recerca bàsica.

✖ Sessions pràctiques

Pràctica - 1 (P-1)

✖ Disseny d'un laboratori de cultiu cel·lular

- Higiene i seguretat en el laboratori.
- Cabines de cultiu cel·lular.
- Diferents tipus de microscopis.
- Incubadores.
- Neveres.
- Els congeladors i el nitrogen líquid.
- Zona de neteja i esterilització.

Pràctica - 2 (P-2)

✖ Esterilització i neteja. Preparació de reactius

- Preparació del material: protocols de neteja i esterilització.
- Paper de l'autoclau.
- Preparació de reactius: versene i medis de cultiu.

Pràctica - 3 (P-3)

✖ Protocols de descongelació i estudi de la viabilitat

- Aplicació del protocol de descongelació cel·lular.
- Estudi de la viabilitat: tinció amb Blau Tripan.
- Càlcul del percentatge de cèl·lules viables.
- Preparació de cultius en monocapa.

Pràctica - 4 (P-4)

✖ Propagació dels cultius cel·lulars: tractament amb tripsina

- Avaluació de les condicions òptimes de les línies cel·lulars en monocapa per a la realització del tractament amb tripsina.
- Característiques de la manipulació del material i els reactius per minimitzar les possibles contaminacions.
- Protocol de disgregació amb tripsina d'un cultiu cel·lular en monocapa.
- Recompte cel·lular d'una suspensió. Càlcul del nombre de cèl·lules necessàries per a la preparació de cultius cel·lulars segons la línia cel·lular i diferents recipients: flascons, tubs, plaques de pous.
- Preparació d'un cultiu cel·lular a partir d'una suspensió de cèl·lules.

✖ Congelació de cèl·lules

- Aplicació del protocol de congelació cel·lular.

Pràctica - 5 (P-5)

✖ Observació microscòpica de diferents línies cel·lulars

- El microscopi invertit.
- Seguiment de diferents cultius cel·lulars en fresc.

Pràctica - 6 (P-6)

✖ Observació microscòpica: efectes citopàtics i coloracions

- Observació en fresc dels efectes citopàtics més freqüents.
- Observació dels efectes citopàtics causats pels diferents virus mitjançant coloració de Harris Shorr.
- Observació al microscopi de fluorescència de cultius cel·lulars infectats per diversos virus.
- Identificació mitjançant tècniques d'immunofluorescència.

Pràctica - 7 (P-7)	**✖ Gestió de la qualitat** • Objectius de la qualitat. • Identificació dels punts crítics. • Pla de traçabilitat. Registres. **✖ Problemes més freqüents: detecció i anàlisi** • Detecció de problemes relacionats amb contaminacions bacterianes i fúngiques. • Detecció de problemes de toxicitats. • Anàlisi de l'origen dels problemes i possibles solucions.
Pràctica - 8 (P-8)	**✖ Aplicacions del cultiu cel·lular:** **Determinació de la concentració d'un virus en una suspensió** **Titulació vírica i anàlisi de resultats** • Objectius i aplicacions d'una titulació. • Preparació de dilucions dobles progressives d'una suspensió vírica per a la seva quantificació. • Preparació de cultius cel·lulars en placa de 96 pous. • Inoculació de les suspensions víriques. • Lectura: reconeixement de cultius cel·lulars amb o sense efecte citopàtic. • Càlcul del TCID 50 (menor concentració de virus capaç de produir un efecte citopàtic en el 50% dels cultius cel·lulars inoculats) segons el mètode de Reed-Muench.

Planificació del curs

Dia	Tipus	Tema	Hores	Professors
1	T-1	El laboratori de cultiu cel·lular	2	NRG
	P-1	Disseny d'un laboratori de cultiu cel·lular	2	NRG
2	T-2	Condicions òptimes per als cultius cel·lulars	2	MDC
	P-2	Esterilització i neteja. Preparació de reactius	2	MES, PML
3	T-3	Propagació i manteniment dels cultius cel·lulars	2	MDC
	P-3	Protocol de descongelació i viabilitat	2	MES, NRG
4	P-4	TPropagació dels cultius cel·lulars	4	MES, MDC
5	T-4	Tipus de cultius cel·lulars	2	NRG
	P-5	Observació de línies cel·lulars	2	NRG, PML
6	T-5	Aplicacions del cultiu cel·lular al diagnòstic virològic	2	NRG
	P-6	Observació efectes citopàtics		NRG, PML
	P-7	Gestió de la qualitat. Detecció i anàlisi de problemes	2	MDC, MES
7	P-8	Titulació vírica i anàlisi de resultats	4	MDC, PML
8	S-6	Seminari: Altres aplicacions del cultiu cel·lular	4	NRG
9		Avaluació i debat Enquesta i lliurament de certificats	4	Totes

Informació general

Nombre màxim d'assistents: 6

Selecció dels assistents

- Per estricte ordre d'inscripció. En cas d'excés d'inscripcions es limitarà a un participant per centre.

Dates

- Del 30 de setembre al 10 d'octubre de 2019

Horari

- 16h a 20h

Documentació requerida

- Nom i cognoms
- Acreditació de formació prèvia
- Lloc de treball
- Càrrec
- Adreça personal i professional
- Telèfon
- Correu electrònic.

Seu del Curs

- Laboratoris de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau

C / Sant Quintí, 89.0841 Barcelona

Bloc B, planta -2 (Accés restringit)

Servei de Microbiologia. Àrea de Virologia

Secretaria del curs

- Sra. Cristina Díez

Servei de Microbiologia. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau

C/ Sant Quintí, 89. 08041 Barcelona

Tel: 93 553 73 80; 682 745 520

Fax: 93 553 73 73

e-mail: mdiez@santpau.cat