

Curso teórico-práctico

Formación en cultivo celular Teoría y técnicas

Del 1 al 11 de abril de 2019

36 horas lectivas (50% teoría/50% práctica)

Solicitado el reconocimiento de créditos



Con la colaboración de:



Índice

- ✘ Presentación y características del curso**
- ✘ Equipo docente**
- ✘ Programa**
- ✘ Planificación del curso**
- ✘ Información general**

Presentación y características del curso

Desde el año 1980 se utilizan, en la rutina de nuestro laboratorio, las técnicas de cultivo celular para el aislamiento e identificación vírica. En el curso de los últimos años se han ido añadiendo nuevas tecnologías para el diagnóstico virológico que han permitido, para algunas de las infecciones víricas, la obtención de resultados más rápidos. Así, actualmente el aislamiento vírico en cultivos celulares solamente se utiliza en centros de referencia. En los últimos años el interés por la formación en cultivo celular ha ido aumentando dando lugar a múltiples solicitudes por parte de otros centros para la formación de su personal. Es por ello por lo que hemos organizado el presente curso.

El programa se basa principalmente en un aprendizaje tutelado eminentemente práctico, de manera que el alumno adquiera una experiencia en la manipulación de los cultivos celulares que le permita instaurar las técnicas en su laboratorio. Cada alumno realizará individualmente y bajo supervisión todos los ejercicios prácticos propuestos.

✘ Objetivos generales:

El programa del curso trata de ofrecer todos los aspectos teóricos y prácticos para realizar con éxito las técnicas de cultivo celular:

- Conocer los fundamentos científicos de la manipulación de los cultivos celulares.
- Planificar y gestionar un área de cultivo celular.

✘ Objetivos específicos:

- Conocimientos generales que permitan comprender los procesos implicados en el cultivo de células in vitro.
- Habilidades para la manipulación de las células.
- Capacidad de detectar y analizar los problemas que aparecen en el curso de la manipulación de los cultivos celulares.
- Capacidad de resolución de problemas detectados.

✘ Metodología

El curso es presencial y se plantean diferentes tipos de sesiones: sesiones teóricas (5 sesiones de 2 horas), sesiones de laboratorio prácticas (5 sesiones de 2 horas y 2 sesiones de 4 horas), seminario (4 horas), debate (3 horas) y evaluación (1 hora).

✘ Evaluación

Para poder ser evaluable se requerirá la asistencia al 100% de todas las sesiones. Se evaluará mediante una prueba escrita de respuestas cortas para comprobar los conocimientos adquiridos. Asimismo se valorará la implicación y participación en las sesiones que corresponderá a un 10% de la nota final.

Dirigido a:

Técnicos de grado superior de laboratorio, graduados en Ciencias de la Salud o en Biociencias interesados en el cultivo celular

Equipo docente

✕ Profesorado

Margarita del Cuerpo (MDC)

Licenciada en Ciencias Biológicas. Técnica especialista de laboratorio. Auditora interna ISO 9001:2015.

Montse Esteban (MES)

Formación en cultivos celulares acreditada por el Institut d'estudis de la Salut de la Generalitat de Catalunya. Técnica especialista de laboratorio.

Pilar Marin (PML)

Licenciada en Ciencias Biológicas. Técnica especialista de laboratorio.

Núria Rabella (NRG)

Doctora en medicina. Especialista en Microbiología. Profesora asociada del departamento de Genética y Microbiología de la UAB.

✕ Colaboradores

M^a Laura Blanco

Facultativa responsable de l'área de Citogenética.

Eduard Gallardo

Investigador de l'Institut de Recerca (HSCSP), grupo de Enfermedades Neuromusculares.

Josep Julve

Investigador del programa "Miguel Servet" del Instituto Carlos III.

Victoria Rubiales

Técnica de laboratorio de Inmunología (HSCSP).

Pilar Sardá

Licenciada con grado en Ciencias biológicas. Doctora en Biología y técnica especialista de laboratorio en Citogenética (HSCSP).



Programa

✘ Sesiones teóricas

✘ Tema 1. (T-1) - El laboratorio de cultivo celular

- Historia del cultivo celular.
- Instalaciones y equipos.
- Cabinas.
- Los microscopios.
- Equipos de conservación (neveras, congeladores y nitrógeno líquido).
- Manipulación en condiciones estériles: normas de seguridad e higiene.
- Gestión de la calidad.

✘ Tema 2. (T-2) - Condiciones óptimas para el cultivo celular. Problemas más frecuentes

- Aspectos generales.
- Tipos de substratos.
- Componentes de la fase gaseosa.
- Medios de cultivo: propiedades fisicoquímicas y fisiológicas.
- Principales problemas: contaminaciones bacterianas, fúngicas y víricas.
- Contaminación por micoplasma.

✘ Tema 3. (T-3) - Propagación y mantenimiento de los cultivos celulares. Criopreservación y descongelación

- Biología de la célula en cultivo celular; curva de crecimiento.
- Métodos de disgregación y propagación: mecánica y enzimática (tratamiento con tripsina).
- Mantenimiento de los cultivos, subcultivos y pases.
- Preservación.
- Creación de colecciones celulares de trabajo.

✘ Tema 4. (T-4) - Tipos de cultivos celulares

- Cultivos de órganos.
- Del explante al cultivo primario.
- Cultivos secundarios, líneas y cepas celulares.
- Cultivos en 3D.
- Bancos de células.

✘ Tema 5. (T-5) - Aplicaciones del cultivo celular en el diagnóstico virológico

- Papel del cultivo celular.
- Líneas celulares adecuadas para cada tipo de muestra.
- Resultados según la muestra y la clínica.

✘ Tema 6. (S-6) - Seminario: Otras aplicaciones de los cultivos celulares

- Producción de fármacos, vacunas, anticuerpos monoclonales, ingeniería de tejidos, toxicología, entre otros.
- Investigación básica.

✗ Sesiones prácticas

Práctica - 1 (P-1)

✗ Diseño de un laboratorio de cultivo celular

- Higiene y seguridad en el laboratorio.
- Cabinas de cultivo celular.
- Diferentes tipos de microscopios.
- Incubadoras.
- Neveras.
- Los congeladores y el nitrógeno líquido.
- Zona de limpieza y esterilización.

Práctica - 2 (P-2)

✗ Esterilización y limpieza. Preparación de reactivos

- Preparación del material: protocolos de limpieza y esterilización.
- Papel de la autoclave.
- Preparación de reactivos: versene y medios de cultivo.

Práctica - 3 (P-3)

✗ Protocolos de descongelación y estudio de la viabilidad

- Aplicación del protocolo de descongelación celular.
- Estudio de la viabilidad: tinción con Azul Tripán.
- Cálculo del porcentaje de células viables.
- Preparación de cultivos en monocapa.

Práctica - 4 (P-4)

✗ Propagación de los cultivos celulares: tratamiento con tripsina

- Evaluación de las condiciones óptimas de las líneas celulares en monocapa para la realización del tratamiento con tripsina.
- Características de la manipulación del material y de los reactivos para minimizar las posibles contaminaciones.
- Protocolo de disgregación con tripsina de un cultivo celular en monocapa.
- Recuento celular de una suspensión.
- Cálculo del número de células necesarias para la preparación de cultivos celulares según la línea celular y diferentes recipientes: frascos, tubos, placas de pocillos.
- Preparación de un cultivo celular a partir de una suspensión de células.

✗ Congelación de células

- Aplicación del protocolo de congelación celular.

Práctica - 5 (P-5)

✗ Observación microscópica de diferentes líneas celulares

- El microscopio invertido.
- Seguimiento de diferentes cultivos celulares en fresco.

Práctica - 6 (P-6)

✗ Observación microscópica: efectos citopáticos y coloraciones

- Observación en fresco de los efectos citopáticos más frecuentes.
- Observación de los efectos citopáticos causados por los diferentes virus mediante coloración de Harris Shorr.
- Observación al microscopio de fluorescencia de cultivos celulares infectados por diversos virus.
- Identificación mediante técnicas de inmunofluorescencia.

**Práctica - 7
(P-7)**

✘ Gestión de la calidad

- Objetivos de la calidad. Identificación de los puntos críticos.
- Plan de trazabilidad.
- Registros

✘ Problemas más frecuentes: detección y análisis

- Detección de problemas relacionados con contaminaciones bacterianas y fúngicas.
- Detección de problemas de toxicidades.
- Análisis del origen de los problemas y posibles soluciones.

**Práctica - 8
(P-8)**

✘ Aplicaciones del cultivo celular:

Determinación de la concentración de un virus en una suspensión Titulación vírica y análisis de resultados

- Objetivos y aplicaciones de una titulación.
- Preparación de diluciones dobles progresivas de una suspensión vírica para su cuantificación.
- Preparación de cultivos celulares en placa de 96 pocillos.
- Inoculación de las suspensiones víricas.
- Lectura: reconocimiento de cultivos celulares con o sin efecto citopático.
- Cálculo del TCID₅₀ (menor concentración de virus capaz de producir un efecto citopático en el 50% de los cultivos celulares inoculados) según el método de Reed-Muench.

Planificación del curso

Día	Tipo	Tema	Horas	Alumnos	Grupo	Profesoras
1	T-1	El laboratorio de cultivo celular	2	12	A+B	NRG
	P-1	Diseño de un laboratorio de cultivo celular	2	12	A+B	NRG
2	T-2	Condiciones óptimas para los cultivos celulares	2	12	A+B	MDC
	T-3	Propagación y mantenimiento de los cultivos celulares	2	12	A+B	MDC
3	P-2	Esterilización y limpieza. Preparación de reactivos	2	6	A	MDC, PML
	P-2	Esterilización y limpieza. Preparación de reactivos	2	6	B	MDC, PML
	P-3	Protocolo de descongelación y viabilidad	2	6	A	MES, NRG
	P-3	Protocolo de descongelación y viabilidad	2	6	B	MES, NRG
4	T-4	Tipos de cultivos celulares	2	6	A	NRG
	T-5	Aplicaciones del cultivo celular al diagnóstico virológico	2	6	A	NRG
	P-4	Propagación de los cultivos celulares	4	6	B	MES, MDC
5	T-4	Tipos de cultivos celulares	2	6	B	NRG
	T-5	Aplicaciones del cultivo celular al diagnóstico virológico	2	6	B	NRG
	P-4	Propagación de los cultivos celulares	4	6	A	MES, MDC
6	P-5	Observación de líneas celulares	2	6	A	NRG, PML
	P-6	Observación efectos citopáticos	2	6	A	NRG, PML
	P-5	Observación de líneas celulares	2	6	B	NRG, PML
	P-6	Observación efectos citopáticos	2	6	B	NRG, PML
	P-7	Gestión de la calidad. Detección y análisis de problemas	2	6	A	MDC, MES
	P-7	Gestión de la calidad. Detección y análisis de problemas	2	6	B	MDC, MES
7	S-6	Seminario: Otras aplicaciones del cultivo celular	4	6	A	NRG
	P-8	Titulación vírica y análisis de resultados	4	6	B	MDC, PML
8	S-6	Seminario: Otras aplicaciones del cultivo celular	4	6	B	NRG
	P-8	Titulación vírica y análisis de resultados	4	6	A	MDC, PML
9		Evaluación y debate	4	12	A+B	Todas
		Encuesta y entrega de certificados	4	12	A+B	Todas

Información general

✘ Número máximo de asistentes: 12

✘ Selección de los asistentes

- Por estricto orden de inscripción. En caso de exceso de inscripciones se limitará a un participante por centro.

✘ Fechas

- Del 1 al 11 de abril de 2019

✘ Horario

- 16h a 20h

✘ Documentación requerida

- Nombre y apellidos
- Acreditación de formación previa
- Lugar de trabajo
- Cargo
- Dirección personal y profesional
- Teléfono
- Correo electrónico

✘ Sede del Curso

- Laboratorios del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau
C/ San Quintí, 89. 0841 Barcelona
Bloque B, planta -2 (Acceso restringido)
Servicio de Microbiología. Área de Virología.

✘ Secretaría del curso

- Sra. Cristina Díez
Servicio de Microbiología. 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