



Artykuł promocyjny

Hodowle komórkowe

Jedyny niezawodny sposób na dekontaminację w inkubatorach CO₂

Sterylny warunki są niezbędne w prowadzeniu wydajnej hodowli komórkowej i tkankowej. Zakażenie mikrobiologiczne jest niepożądanym zjawiskiem, które wpływa negatywnie na hodowle *in vitro*, co skutkuje zniszczeniem linii komórkowych i koniecznością powtórzenia zarówno procesów hodowli, jak i samych badań.

Producenci inkubatorów CO₂ proponują bardzo różne rozwiązania techniczne mające na celu zapewnienie jak najbardziej sterylnych warunków w komorze inkubacyjnej. Zastosowane rozwiązania różnią się, i to bardzo często, swoją efektywnością.

! ZWIĘKSZENIE WYMOGÓW BEZPIECZEŃSTWA

Nowe aplikacje związane z biologią komórki i badaniami nad komórkami i tkankami wykorzystywanymi w medycynie transplantacyjnej, regeneracyjnej oraz badaniach nad nowotworami zmieniły radykalnie wymogi techniczne, jakim muszą stawić czoło nowoczesne inkubatory CO₂. Oprócz wysokiej precyzji pomiaru i kontroli temperatury, a także szybszego pomiaru stężenia CO₂, aspekty związane ze sterylnością komór inkubatorów podczas hodowli stały się tymi, na które obecnie zwraca się największą uwagę. We wszystkich aplikacjach *in vitro*, zwłaszcza tych związanych z ludzkimi komórkami i tkankami, sterylne środowisko prowadzenia hodowli jest niezbędnym wymogiem bezpieczeństwa pracy, wpisując się tym samym w system GLP/GMP.

! SPEŁNIANIE STANDARDÓW I WYMOGÓW

Inkubatory CO₂ oferują różne rozwiązania dotyczące bezpieczeństwa hodowli komórek. Wachlarz proponowanych rozwiązań technicznych jest bardzo szeroki: od prostych inkubatorów, nie posiadających żadnych systemów zabezpieczają-

cych przed kontaminacją, po inkubatory wysokiej jakości, zapewniające najwyższy stopień sterylności. W tym miejscu należy wspomnieć, że sterylizacja gorącym powietrzem jest jedyną metodą spełniającą normę DIN 58947 (dotyczącą skuteczności metod sterylizacji).

! ROZWIĄZANIA TECHNICZNE STOSOWANE W INKUBATORACH CO₂

Popularne metody dezynfekcji i metody prewencyjne stosowane przeciwko zakażeniom mikrobiologicznym w inkubatorach CO₂, takie jak: promieniowanie UV, filtry HEPA, dezynfekcja w 90°C przy wysokiej wilgotności i komora wykonana ze stopu miedzi nie są stosowane osobno, lecz jako kombinacje tych rozwiązań. Jeżeli dane rozwiązania nie dają dobrych wyników hodowlanych, a koszty ponoszone na badania zaczynają w związku z tym rosnąć, należy poważnie rozważyć zmianę inkubatora na taki, który spełnia rygorystyczne warunki procesu hodowli. Systemy łączące procedury dezynfekcji w różnych kombinacjach: promieniowanie UV przy cyrkulującym powietrzu, filtry HEPA lub dezynfekcja w parze wodnej mają bardzo ograniczoną możliwość zapewnienia bezpieczeństwa. Nie wszystkie te rozwiązania spełniają w sposób satysfakcjonujący metody zdefiniowane w normie DIN 58947.

Promieniowanie UV nie jest w stanie zagwarantować pełnej sterylności komory, ponieważ cyrkulacja powietrza nie gwarantuje, że wszystkie zanieczyszczenia znajdą się w zasięgu promieniowania lampy. Kontaminacji hodowli nie można wykluczyć, stosując nawet filtry HEPA. Filtry HEPA świetnie spełniają swoją rolę w systemach stosowanych np. w komorach laminarnych, ale przy wilgotności sięgającej do 95%

szybko tracą na swojej skuteczności. Mikroorganizmy zatrzymywane na filtrze mnożą się w trakcie prowadzenia hodowli i jeżeli połączymy to z przypadkiem, kiedy mamy do czynienia z częściowo użytym filtrem, gwałtownie wzrasta możliwość przedostania się zakażeń do wnętrza komory i zakażenia całej linii hodowlanej. Sterylizacja komory w przypadku stosowania filtrów HEPA nie daje gwarancji, że wszystkie mikroorganizmy i ich przetrwalniki zostaną zniszczone. Jeżeli stosując filtry HEPA, chce się mieć 100% gwarancji, że zapewnią one sterylność wewnątrz komory, należałoby wymieniać je po każdej inkubacji, ale to z kolei zwiększy koszty hodowli, na które użytkownicy mogą nie być przygotowani. Dezynfekcja w 90°C przy wysokiej wilgotności gwarantuje również ograniczony poziom zapewnienia bezpieczeństwa hodowli, zwłaszcza jeżeli mamy do czynienia z przetrwalnikami mikroorganizmów.

W tym momencie jedyną skuteczną metodą sterylizacji komory inkubatora CO₂ jest sterylizacja gorącym powietrzem w 180°C, stosowana po zakończonej inkubacji hodowli. Jeżeli połączy się tę metodę sterylizacji z komorą wykonaną z jednego kawałka stali nierdzewnej i systemem zapewniającym podczas inkubacji konwekcję powietrza, przez co wszystkie potencjalne źródła zakażeń gromadzone są w waniencie zbiorczej, to otrzyma się inkubator CO₂ spełniający najbardziej rygorystyczne warunki zapewnienia bezpieczeństwa hodowli komórkowej i tkankowej.

W związku z tym, jeżeli rozpoczyna się pracę z hodowlami komórkowymi lub tkankowymi, dobrze jest zastanowić się, które rozwiązania proponowane przez producentów inkubatorów CO₂ dadzą rzeczywiste i wymierne korzyści w trakcie prowadzenia hodowli. □