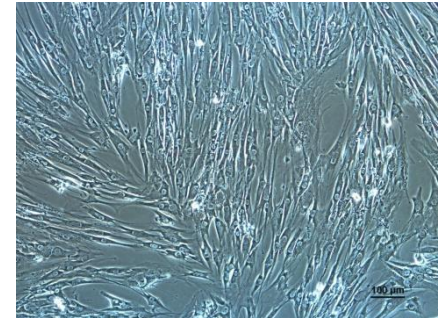


# INSTALACIONES Y EQUIPAMIENTO PARA EXPANSIÓN CELULAR DE APLICACIÓN CLÍNICA



**Prof. Dra. Cristina Touriño**  
**Depto. Básico de Medicina**  
**ATCMR**  
**2024**

# DEFINICIONES

## EXPANSIÓN CELULAR

- Proliferación de células (aumento del número)
  - de origen animal o vegetal
  - relacionado con cultivo de tejidos u órganos,
- Preservando y manteniendo sus propiedades fisiológicas, metabólicas y genéticas.

## CULTIVO CELULAR

- Conjunto de métodos y técnicas, para lograr el mantenimiento y/o la expansión de células *in vitro*
- Preservando y manteniendo sus propiedades fisiológicas, metabólicas y genéticas.



# APLICACIONES DEL CULTIVO CELULAR

- Virología: cultivo de virus, vacunas
- Inmunología (ACMo)
- Genética (análisis genómico)
- Ingeniería de proteínas (IFN, Insulina, etc)
- Estudio de interacción y señalización celular
- Investigación del cáncer y otras enfermedades
- Farmacología (toxicidad a drogas)
- Aplicaciones industriales y agronómicas
- Aplicaciones diagnósticas (citogenética)
- Terapéuticas (terapia celular, trasplante, medicina regenerativa)



# ORGANIZACIÓN CELULAR

- Todos los organismos vivos están compuestos por células (una o billones de ellas).
- Una célula se divide continuamente, dando lugar a los tejidos complejos y a los órganos y sistemas de un organismo desarrollado..
- La célula es la unidad más pequeña de materia viva, capaz de llevar a cabo todas las actividades necesarias para el mantenimiento de la vida.
- Tiene todos los componentes físicos y químicos necesarios para su propio mantenimiento, crecimiento y división. Cuando cuentan con los nutrientes necesarios y un medio adecuado, algunas células son capaces de seguir vivas en un recipiente de laboratorio por años y años.
- Ningún componente celular es capaz de sobrevivir fuera de la célula.



# FORMA DE LAS CÉLULAS

Las células presentan una gran variabilidad de formas, e incluso algunas no presentan forma fija.

La forma de la célula está estrechamente relacionada con:

- la función que realizan
- la estirpe celular a la que pertenece.
- relación con otras células: aislada libre o formando parte de un tejido.

Todo esto puede variar mucho según tengan o no una pared celular rígida, las tensiones de las uniones con otras células, fenómenos osmóticos y tipos de citoesqueleto interno.



# TAMAÑO DE LAS CÉLULAS

El tamaño de las células es extremadamente variable.

- Bacterias: entre 1 y 2  $\mu\text{m}$  de longitud
- Células humanas: mayoría entre 5 y 20  $\mu\text{m}$ .

Células por encima de estos valores son también frecuentes, en particular aquellas que poseen funciones especiales que precisan un tamaño elevado:

- *espermatozoides humanos: 53  $\mu\text{m}$  de longitud,*
- *ovocitos humanos: 150 micras,*

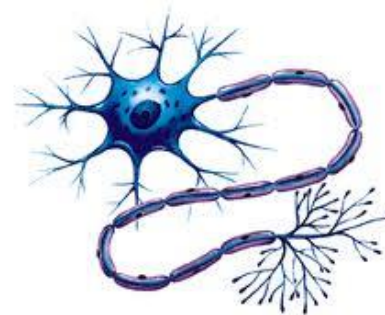
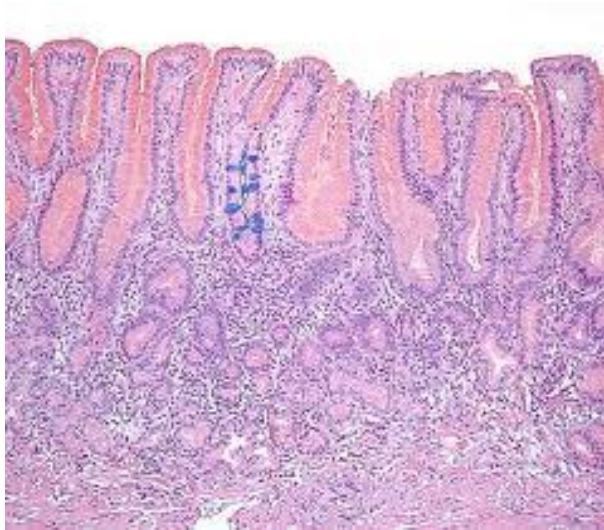
En cuanto a longitud, las prolongaciones axonales de las neuronas pueden alcanzar, en los grandes cetáceos, varios metros de longitud.



# LONGEVIDAD CELULAR

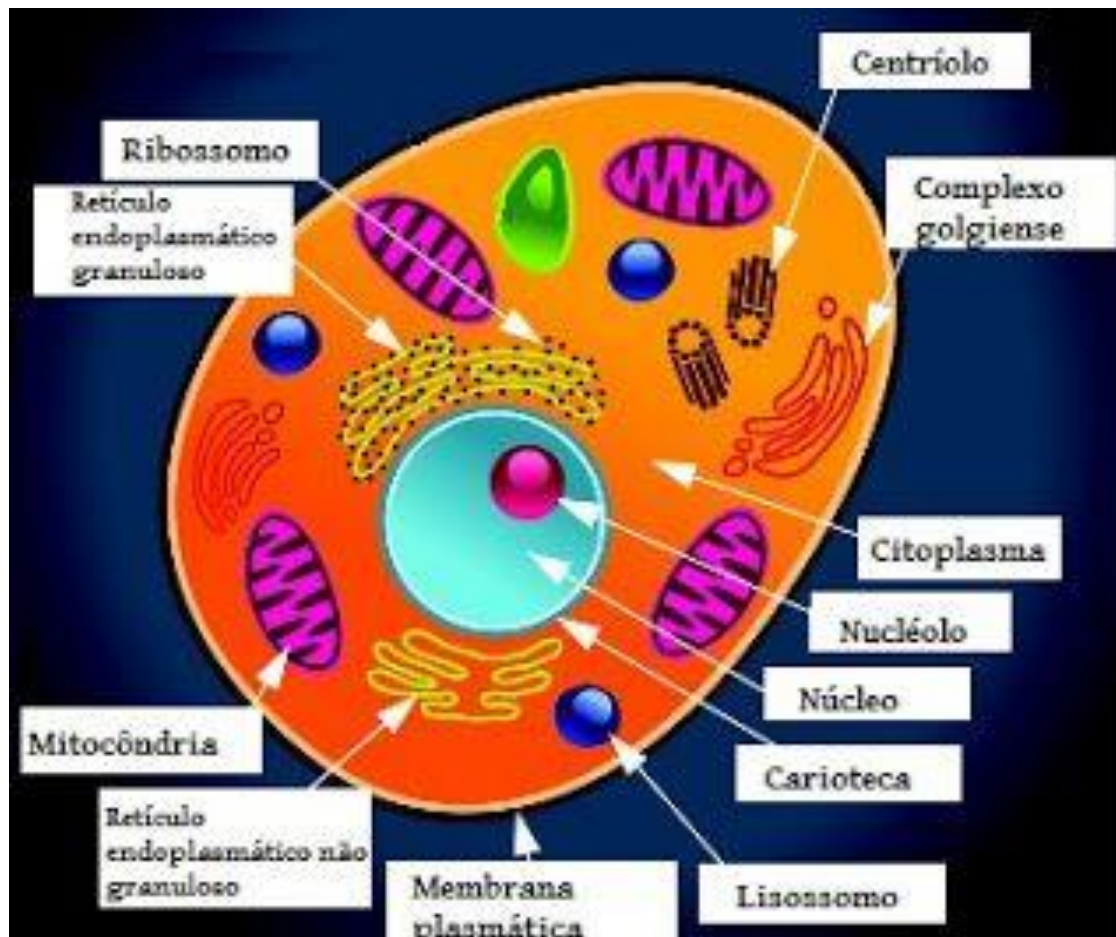
La duración de la vida de las células es muy variable. Hay células que solo duran 8 horas antes de dividirse (epitelio intestinal y pulmonar) y células que duran toda la vida del organismo, como las neuronas.

Durante la vida de la célula, los orgánulos se renuevan constantemente.



# ESTRUCTURA DE LA CÉLULAS ANIMALES

Membrana plasmática, citoplasma y núcleo con el material genético o ADN.





# NIVELES DE ORGANIZACIÓN ESTRUCTURAL

**LA CÉLULA:** Constituye la unidad estructural más pequeña de los seres vivos que posee las funciones de estos.

**EL TEJIDO:** Es un conjunto de células especializadas con una misma función similares que actúan juntas para realizar una función en común.

**EL ÓRGANO:** Es un grupo de varias clases diferentes de tejidos dispuestos de forma que pueden actuar juntos como una unidad para realizar una función concreta, llamada acto.

**EL SISTEMA:** Es una organización compuesta por órganos del mismo tipo que realizan una función también similar.

**EL APARATO:** Es una organización compuesta por órganos que son distintos y actúan coordinadamente para realizar una o varias funciones.

**EL CUERPO:** Está formado por todos los átomos, moléculas, células, tejidos, órganos, sistemas y aparatos. Es un conjunto unificado y complejo de componentes, cada uno de los cuales colabora con los otros para asegurar una supervivencia sana.



# VALIDEZ DEL CULTIVO CELULAR COMO MODELO DE FUNCIÓN FISIOLÓGICA IN VIVO

## ○ CRÍTICA:

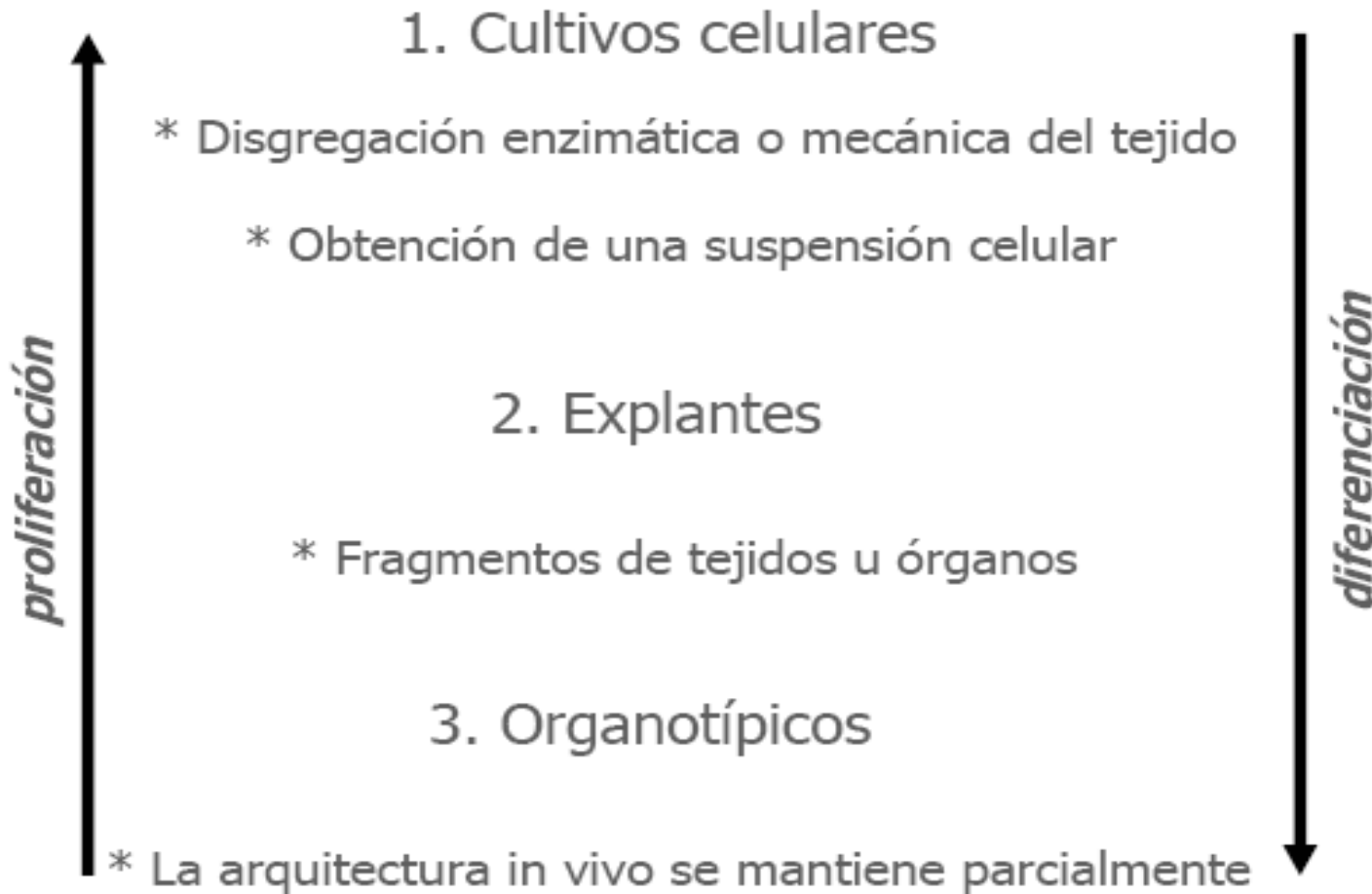
- relación célula-célula
- interacción matriz (MEC)-célula alterado
  - Falta de estructura tridimensional
  - Medio hormonal y nutricional alterado



BIOMATERIALES  
CO-CULTIVO

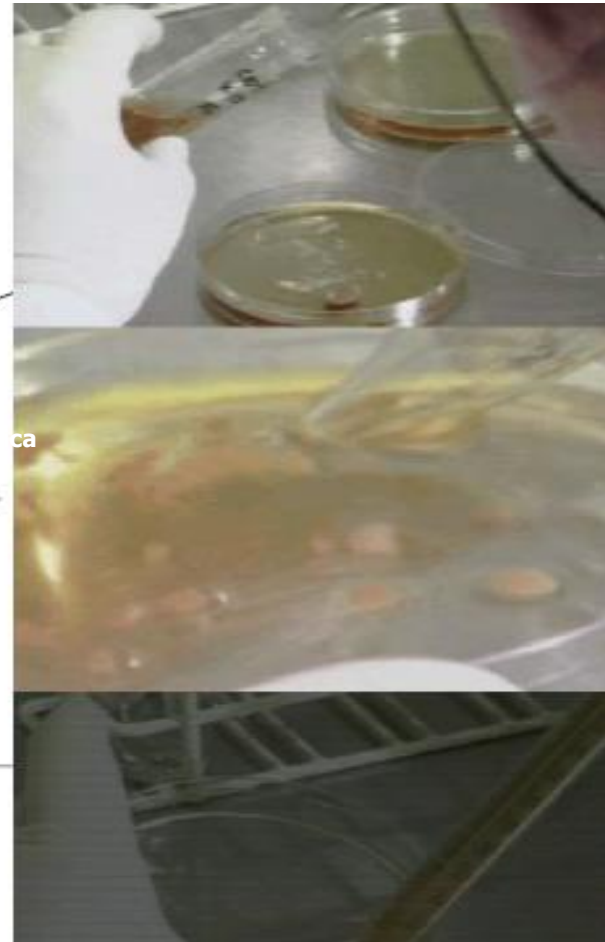
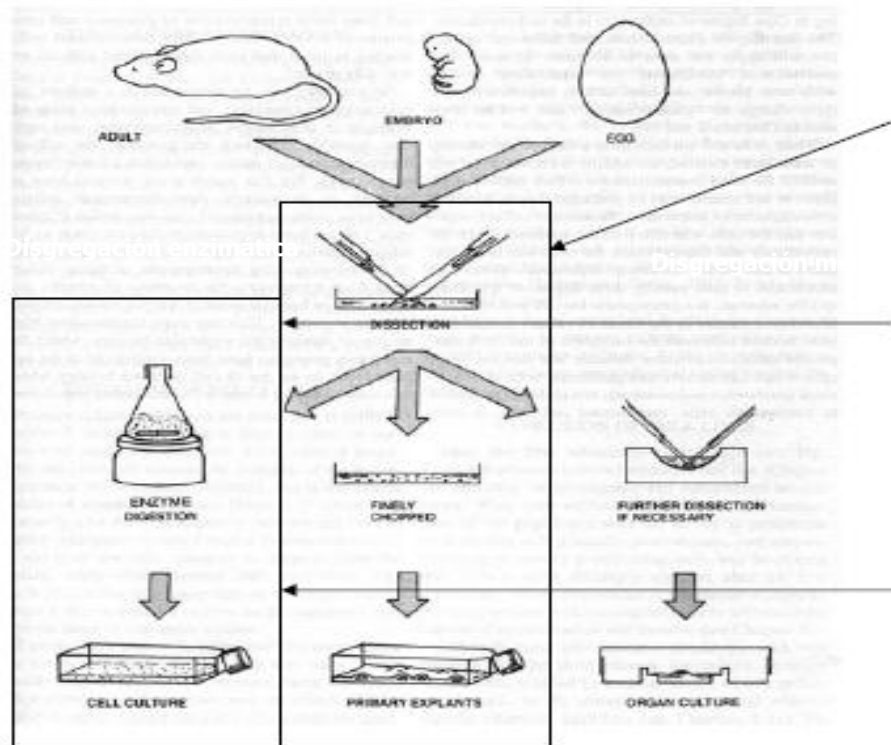


# I - CLASIFICACION DE LOS CULTIVOS CELULARES

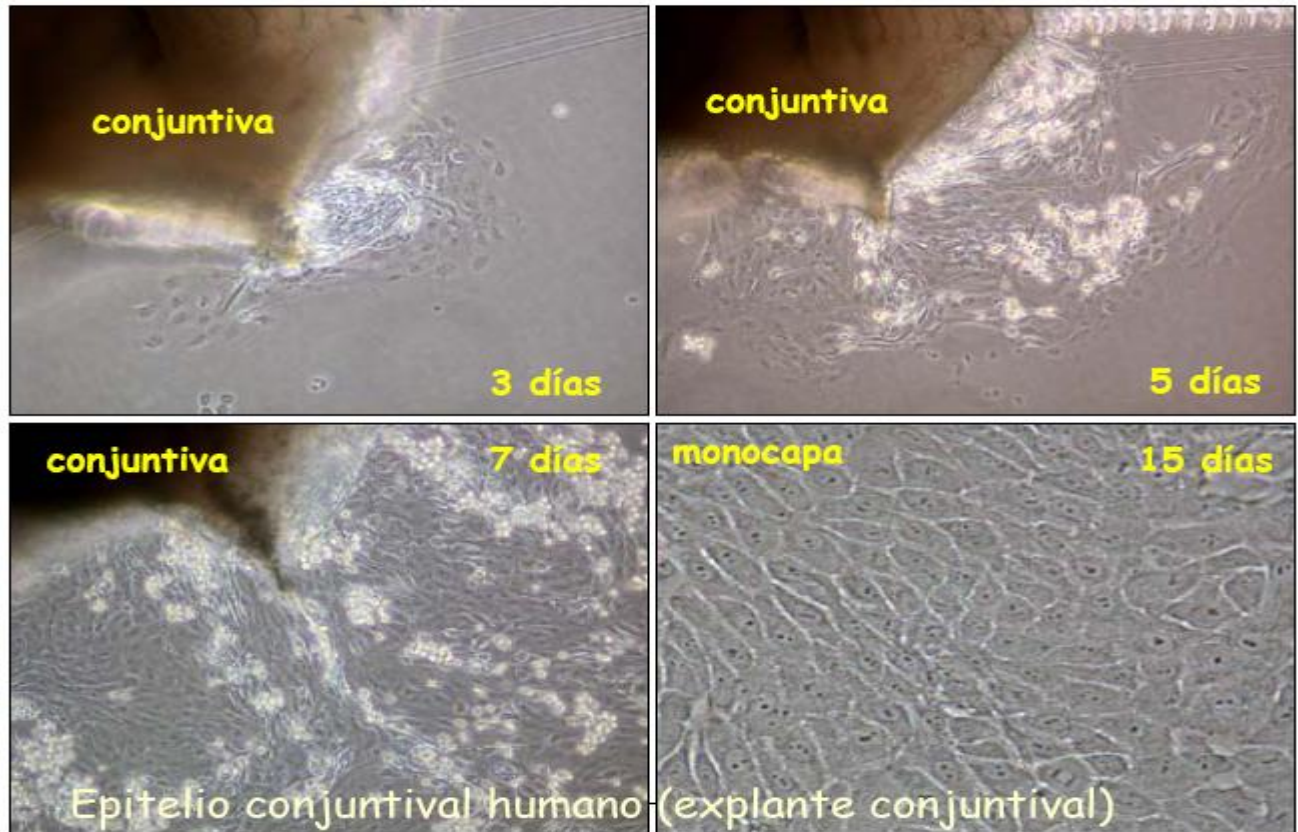
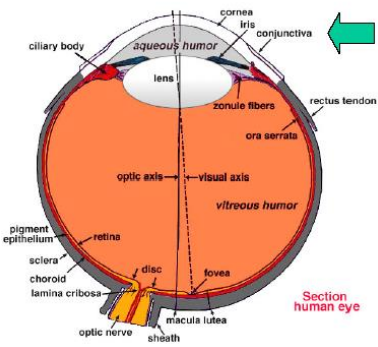


# OBTENCIÓN DE UN CULTIVO

## Técnicas de aislamiento celular



# AISLAMIENTO DEL EPITELIO DE LA CONJUNTIVA HUMANO

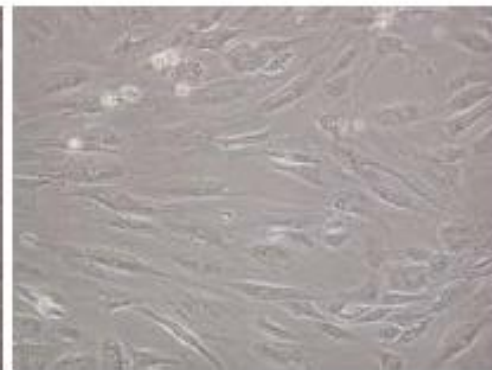
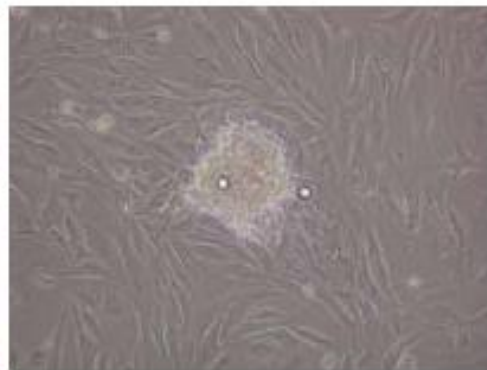
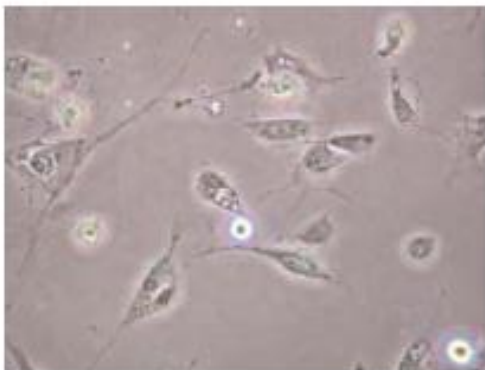
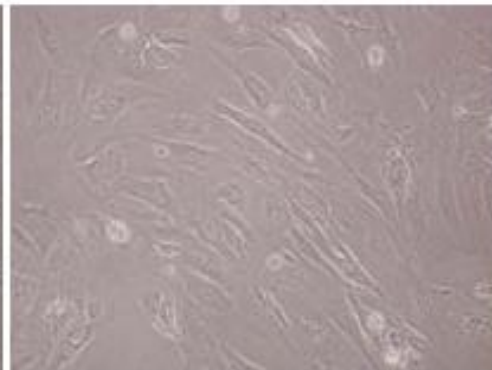
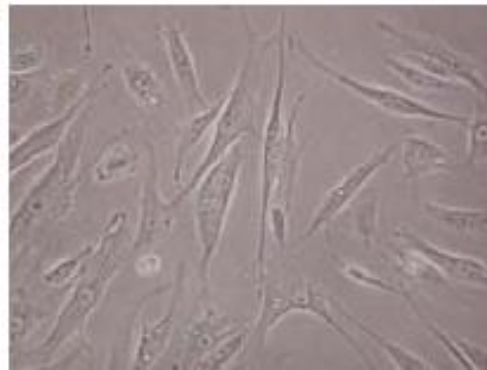
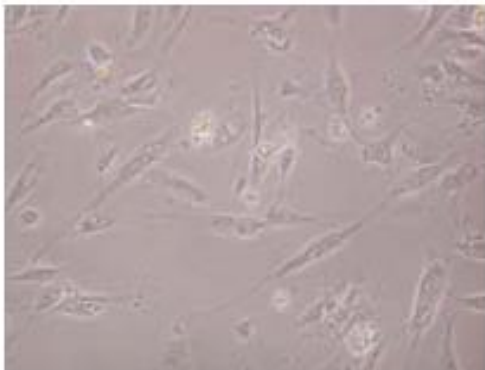


# CULTIVO DE MSC DE TEJIDO ADIPOSO HUMANO

Aislam 1- día 2

Día 5

Día 7



# II - CLASIFICACION DE LOS CULTIVOS CELULARES

- **Cultivos primarios**
  - Directamente de tejido animal o celular
- **Cultivos extendidos**
  - Multipasajes -> Estirpe o línea celular -> finito
- **Cultivos establecidos**
  - Transformado (Línea celular continua)



# III - CLASIFICACION DE LOS CULTIVOS CELULARES

## ➤ **por capacidad de anclaje al sustrato (adherencia)**

- Adherentes o en monocapa
- En suspensión

## ➤ **por medio de soporte**

- Medios líquidos
- Medios semisólidos
- Superficies tratadas
- Soportes especiales
- Feeder layers





# Técnica del cultivo celular

## 1. El ambiente externo

- Laboratorio
- Equipos

## 2. El ambiente interno: medio de cultivo

- Fase sólida
- Fase gaseosa
- Fase líquida/semisólida

## 3. Técnicas de cultivo (GLP -> GMP)

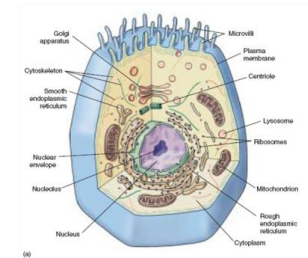


**GLP: Good Laboratory Practice** (Buenas Prácticas de Laboratorio)

**GMP: Good Manufacturing Practice** (Buenas Prácticas de Fabricación: BPF o Normas de Correcta Fabricación: NCF)

# El cultivo celular debe asegurar las funciones celulares básicas:

- Respiración O<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub>
- Condiciones de pH, temperatura, osmolaridad, etc.
- Nutrición y metabolismo: glúcidos, lípidos, aa, proteínas, nucleótidos, hormonas, minerales, etc.
- Síntesis de elementos subcelulares y duplicación celular
- Transporte y eliminación de sustancias



## CONDICIONES DEL CULTIVO CELULAR

- Aporte de O<sub>2</sub> y eliminación de CO<sub>2</sub>
- Asegurar condiciones ambientales adecuadas t<sup>o</sup> y pH

**INCUBADORAS  
DE CO<sub>2</sub>**

- Asegurar condiciones ambientales adecuadas pH, t<sup>o</sup> osmolaridad
- Aporte de nutrientes y eliminación de sustancias tóxicas
- Aporte de elementos para síntesis de estructuras y/o otros productos de acuerdo a la función celular

**MEDIOS  
DE  
CULTIVO  
Y  
SUPLEMENTOS**

- Evitar la contaminación microbiana

**SISTEMAS DE  
FILTRACION DE AIRE  
EQUIPOS DE  
ESTERILIZACIÓN**

# CONDICIONES AMBIENTALES CULTIVO CELULAR

## ○ Sustratos

## ○ Condiciones ambientales del cultivo celular:

1. Fase gaseosa
2. Propiedades físicas
3. Propiedades fisiológicas



- Fase gaseosa: O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>
- pH
- Sistema buffer
- Temperatura
- Osmolalidad
- Viscosidad
- Tensión superficial

# SUSTRATOS

**Sustrato:** dispositivo donde se colocan las células de modo directo.

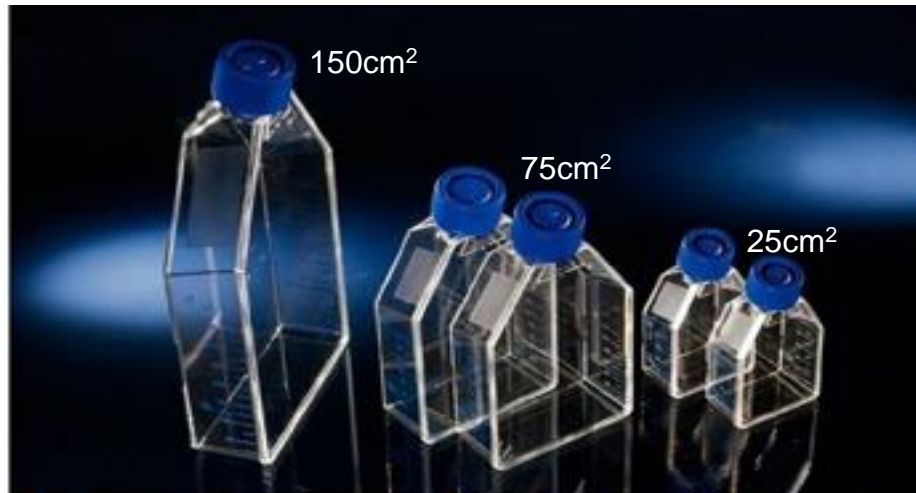
- Vidrio
- Plástico descartable
- Microcarriers
- Superficies tratadas
- Feeder layers
- Matricies tridimensionales
- Sust. no adhesivos
- Fibras huecas
- Sust. cultivos de órganos
- Biorreactores

La mayoría de líneas celulares animales y cultivos primarios son anclaje dependientes y requieren estar adheridos a una superficie para sobrevivir y proliferar.



# RECIPIENTES

Frascos de Roux o frascos T



**Filter caps for continuous venting**  
*The caps are fitted with a hydrophobic filter to ensure consistent gas exchange*

**"Y" mark indicating "vent" or "closed"**

*Any of the legs pointing vertically upwards indicates that the cap is in vent position*

*Any of the legs pointing vertically downwards indicates that the flask is closed*

## PLÁSTICO DESCARTABLE

**Poliestireno:** hidrofóbico por lo que debe ser tratado con irradiación gamma, descargas eléctricas o agentes químicos para tornarlo hidrofílico.

**Cloruro de polivinilo (PVC)**

**Policarbonato**

**Teflon**

**Otros**



# Sustratos especiales

**Superficies tratadas:** ej. recubiertas con proteínas de matriz extracelular (fibronectina, colágeno)


**Sustratos no adhesivos: semisólidos** (geles de agar, agarosa o en metilcelulosa de alta viscosidad)

**Feeder layers** sustratos constituidos por una monocapa de células vivas

**Fibras huecas** haces microcapilares huecos (donde se ubican las células) permeables a gases y nutrientes. Ej. cultivos histotípicos

**Matrices tridimensionales** distribución tridimensional, recreando contactos célula-célula y célula-matriz. (Geles de colágeno, esponjas de celulosa sola o recubierta de colágeno, esponjas de gelatina, etc)

**Sustratos para cultivos de órganos** cultivo interfase medio de cultivo/aire (grillas de metal, filtros miliporo o geles).



# Equipos necesarios

- 1) **CENTRIFUGA**
- 2) **MICROSCOPIOS**
- 3) **CABINAS DE FLUJO LAMINAR**
- 4) **INCUBADORAS o ESTUFAS DE CO<sub>2</sub>,**
- 5) **TANQUES DE N<sub>2</sub> LÍQUIDO, FREEZER -20 , -80 °C, BAÑOS TERMOSTATIZADOS**
- 6) **EQUIPOS DE ESTERILIZACIÓN: autoclave, unidades de filtración**
- 7) **Contadores de células, Balanzas, pH-metros, pipeteadores**
- 8) **OTROS: Citómetro de flujo, Equipos de selección celular, etc-**



# EQUIPOS DE CENTRIFUGACIÓN

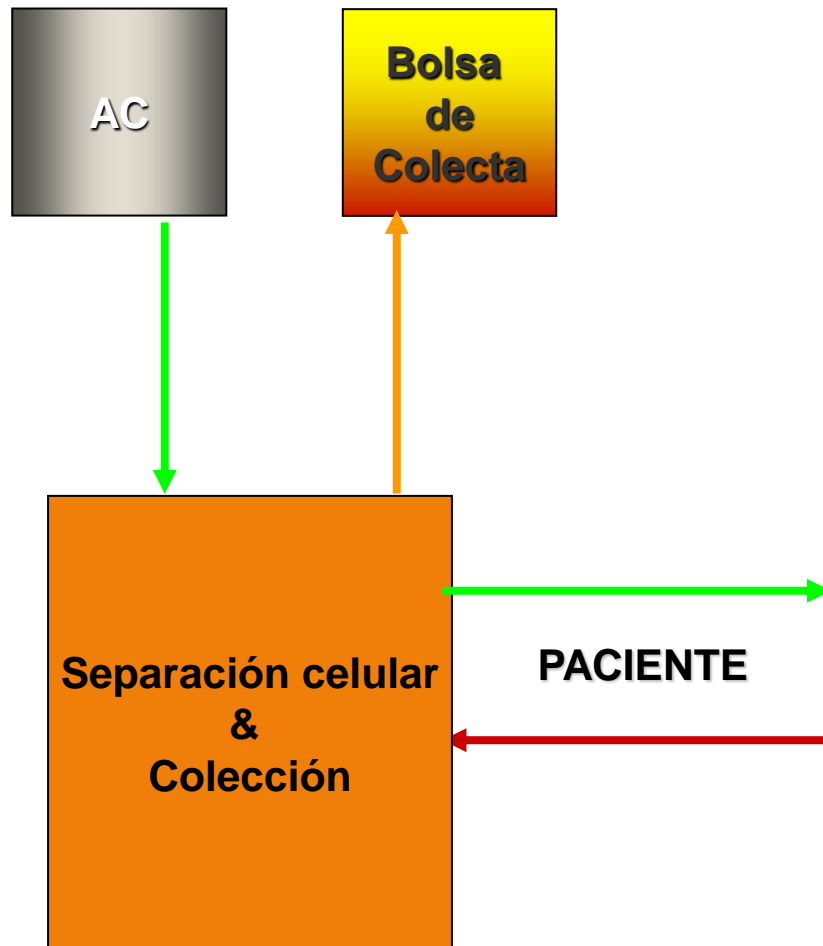


**Centrifugación:** separación de líquidos y partículas basado en su densidad.

Separa células del medio de cultivo (cambio de medio, concentración, lavado)

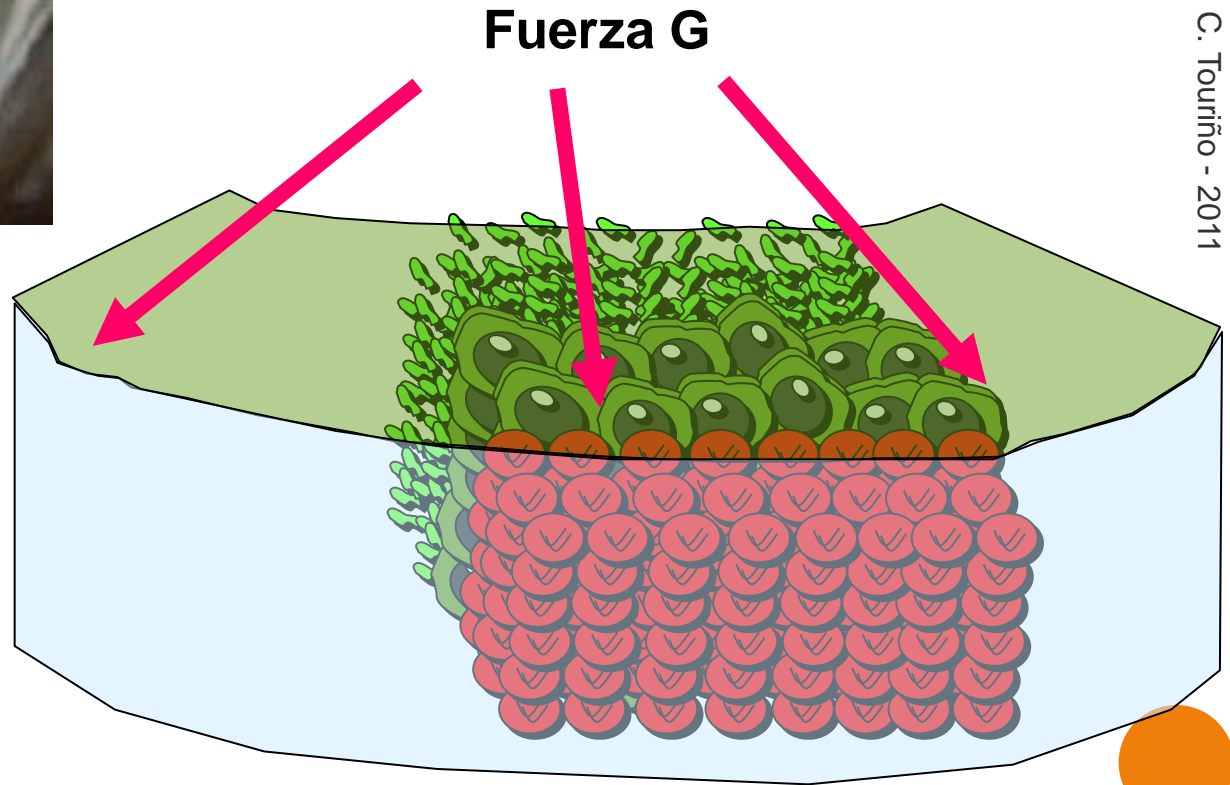


# COLECTA DE HEMOCOMPONENTES POR AFÉRESIS





# Cinturón de la centrífuga



# CONDICIONES AMBIENTALES CULTIVO CELULAR

## ○ Sustratos

## ○ Condiciones ambientales del cultivo celular:

1. Fase gaseosa
2. Propiedades físicas
3. Propiedades fisiológicas



- Fase gaseosa: O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>
- pH
- Sistema buffer
- Temperatura
- Osmolalidad
- Viscosidad
- Tensión superficial

# INCUBADORA O ESTUFA DE CO<sub>2</sub>

MANTENIMIENTO DE PARÁMETROS

- **CO<sub>2</sub>-O<sub>2</sub> 5%**
- **pH (7,3-7,4)**
- **Temperatura 37°C**
- **Humedad 95%**



# BIORREACTORES

- Sistemas de cultivo complejo regulado mediante módulos electrónicos
- Recipientes capacidad variable (3-40 lts) contienen el cultivo y realizan el control de  $t^{\circ}$ , pH,  $O_2$  y  $CO_2$ , sistema de agitación, etc.
- Cuentan con sistemas de perfusión por bombas y sistemas de recuperación de células
- Más complejo para células adherentes
- Sistemas cerrados



# CONTAMINACIÓN MICROBIANA

-La necesidad de mantener su pureza, evitando las contaminaciones

Técnica aséptica  
Equipos

-Un cierto riesgo para el operario (desde moderado a extremo)

Técnica aséptica  
Equipos  
Protección personal

-Un riesgo para el ambiente y la población

Técnica aséptica  
Equipos  
Instalaciones (BSL)

Biosafety (Seguridad Biológica)



# Protección del producto celular: iiiiiiCONTAMINACIÓN!!!!!!

Células eucariotas: >24hs.

Bacterias y levaduras: << (crecen más rápido )



## FUENTES DE CONTAMINACION

- Técnica aséptica incorrecta
- Soluciones y/o medios
- Material vidrio, pipetas, etc.
- Área de trabajo no estéril
- Muestras de tejido/líneas celulares
- Problemas en la cámara de flujo
- Incubadoras de CO<sub>2</sub> (agua de humidificación, superficies internas, ventilador)

**¿Cómo se evita la  
contaminación?**





# BUENAS PRACTICAS: GLP-GMP

## □ LABORATORIO DE CULTIVO:

- Área tranquila del laboratorio
- Laboratorio separado de área preparación y lavado de material
- Alejado de laboratorios de microbiología y bioterio
- Área manipulación estéril: sólo utilizar para cultivo
  - cuarto separado
  - evitar tránsito
  - flujo laminar
- Luz UV
- Medidas de barrera



# TÉCNICA ASÉPTICA - ESTERILIDAD

*Asegura barrera entre los microorganismos del ambiente y el cultivo*

## ❑ HIGIENE PERSONAL

- Limpieza de manos y aplicar alcohol 70
- Guantes estériles: desinfección frecuente.
- Gorros/tapaboca/zapatones/ropa especial

## ❑ MANIPULACIÓN ESTÉRIL

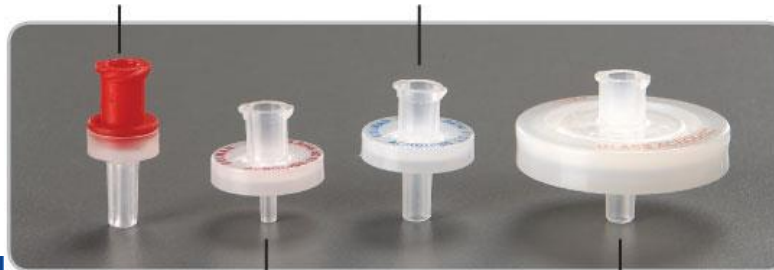
- Protocolos de procedimientos
- Material de trabajo
- Sistema de flujo laminar



# MATERIAL DE TRABAJO ESTÉRIL

4 mm Polypropylene  
Housing Male Luer

13 mm Polypropylene  
Housing Male Luer



13 mm  
Polypropylene  
Housing Minispike

25 mm  
Polypropylene  
Housing Male Luer



**Filtros de 0.2  $\mu$ m**



## *Esterilización*

- Filtración
- Autoclave
- Gas: EtO
- Radiación



# CÁMARA FLUJO LAMINAR

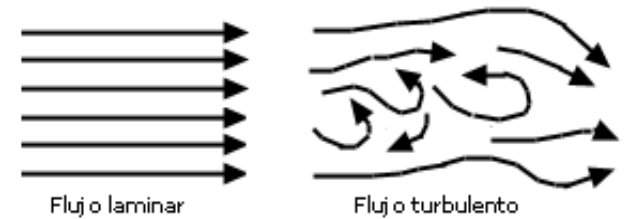


Fig.1.8.1 - Flujo laminar vs. Flujo turbulento.

- Ambiente protegido polvo y contaminación por flujo constante de aire filtrado que pasa por superficie de trabajo
- El aire es filtrado por filtros HEPA (High-Efficiency Particulate Air):
- Puede incluir filtros ULPA (Ultra Low Penetration Air)
- Tipos: horizontal y vertical

- **HEPA (H13)**: 99,99% de eficiencia para la filtración de partículas de 0,3 micras de diámetro o mayores.
- **ULPA (U15)**: 99,9995% de eficiencia para la filtración de partículas MMPS (0,1 – 0,25 micras).

*MMPS: Most Penetrating Particle Size*



# PARTÍCULAS DE APROXIMADAMENTE 0,3 MICRAS

Como referencia, las partículas de aproximadamente 0,3 micras incluyen:

- Alérgenos (0,1 a 0,3 micras)
- Tubos de escape
- Bacterias como el estafilococo (0,3 a 0,9 micras)
- Ácaros del polvo (0,1 a 0,3 micras)
- Polvo doméstico y textil
- Humos metálicos (0,3 a 0,9 micras)
- Esporas de moho
- Partículas procedentes de impresoras y fotocopiadoras láser
- Casma de animales
- Polen
- Humo de tabaco (0,3 a 0,9 micras)



# Flujo Laminar

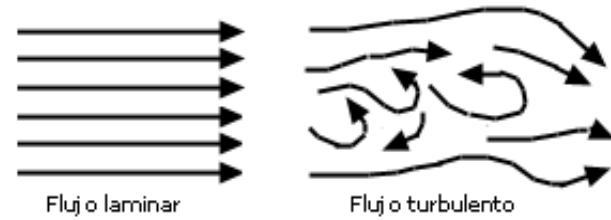
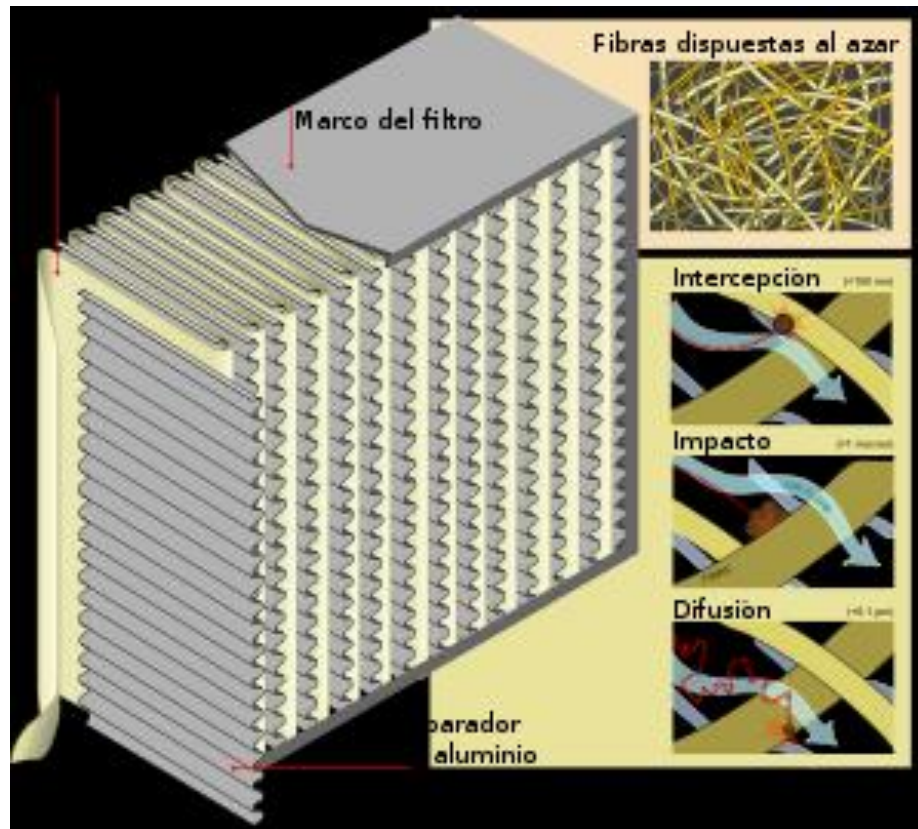
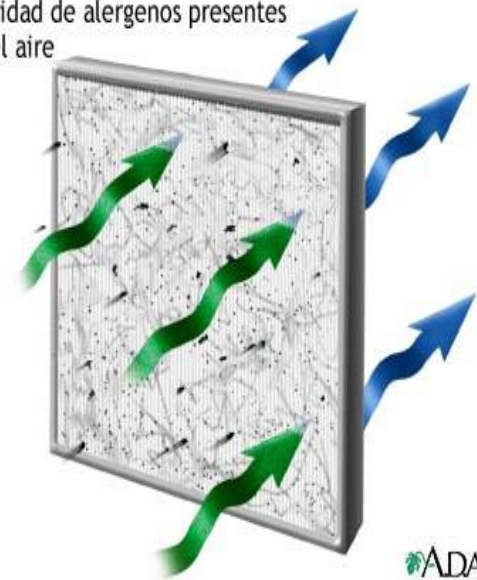


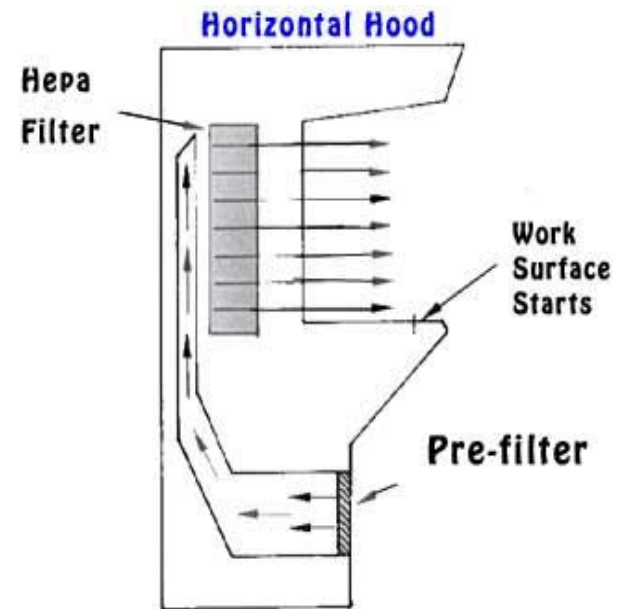
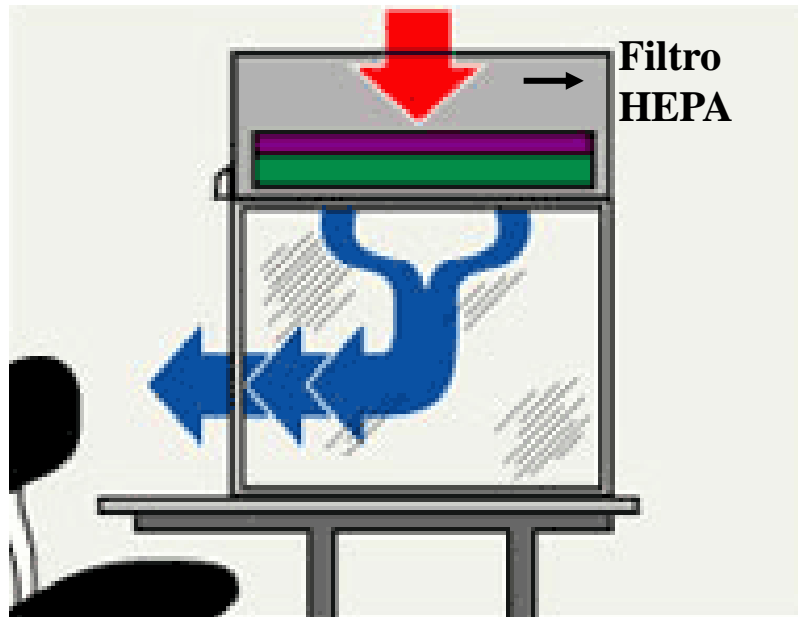
Fig.1.8.1 - Flujo laminar vs. Flujo turbulento.



Los filtros HEPA pueden reducir la cantidad de alérgenos presentes en el aire



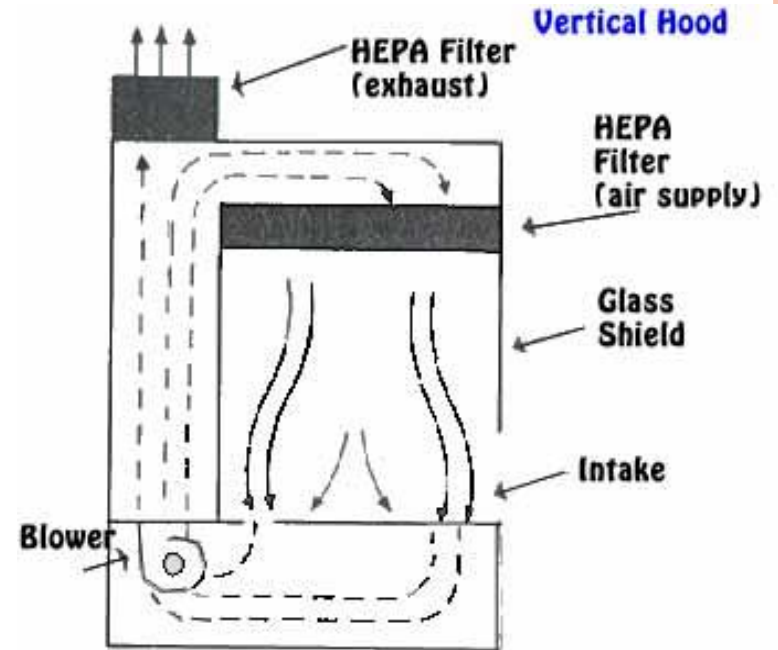
# Flujo Horizontal



- Aire no recircula
- Buena protección cultivos y reactivos
- Mala protección operador



# Flujo Vertical



- Aire puede recircular o ser expulsado completamente
- Mayor seguridad para operador





# Seguridad Biológica



- Cámara flujo laminar Clase II
  - Para trabajar con materiales potencialmente peligrosos:
    - radioisótopos
    - mutágenos
    - células transformadas humanas
    - material biológico humano en general, etc.
- Cámara flujo laminar Clase III: mayor nivel de protección del personal y el ambiente
  - Manipulación de patógenos humanos conocidos



# Seguridad Biológica

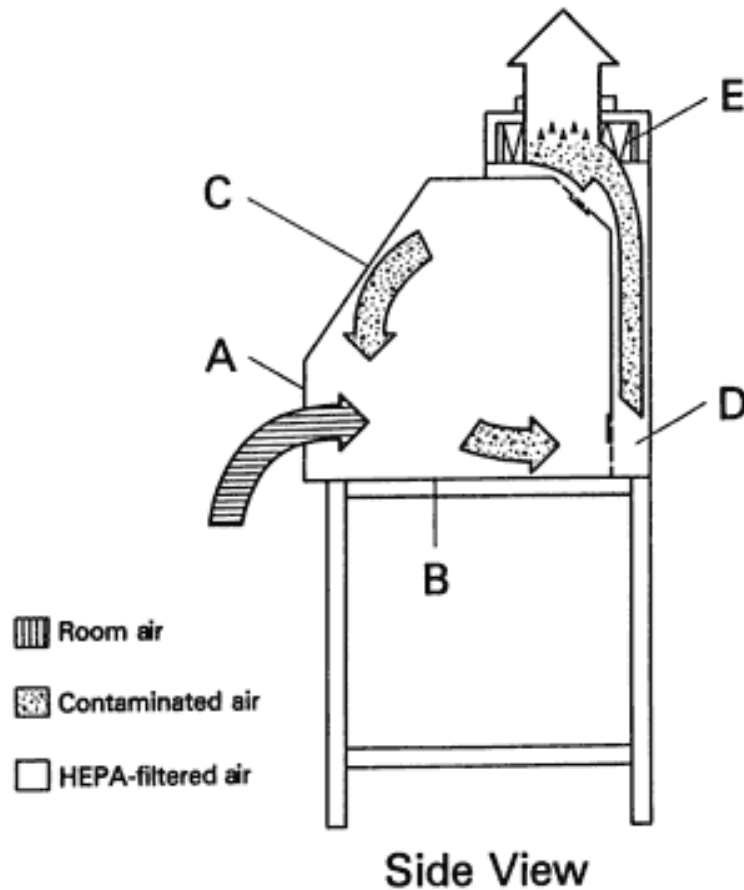


CLASE	Aire entrada	Aire salida	Recirculación aire	Protección producto	Protección frontal
I	No es filtrado (refleja aire laboratorio)	1 HEPA	No	No	Abierto/cerrado
II	Filtro HEPA	1 HEPA	A: 70% recircula B: 30% recircula C: 100% aire eliminado	Buena	Protección frontal. Cortina aire
III	Filtro HEPA	2 HEPA	Si	Buena	Totalmente cerrada. Guantes anexados Cámara bajo presión negativa

# Seguridad Biológica



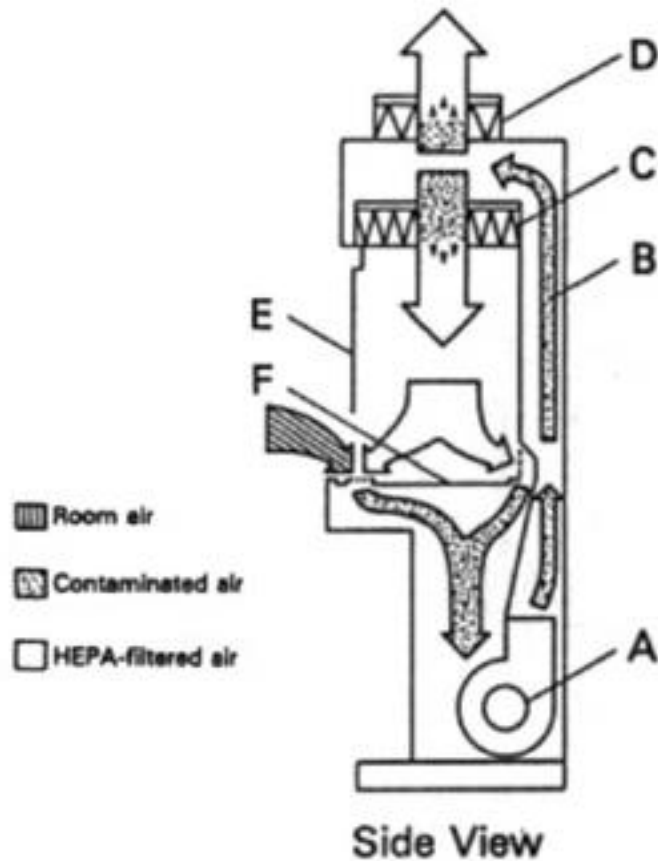
## Cámara flujo laminar Clase I:



# Seguridad Biológica



## Cámara flujo laminar Clase II:



**A:** 70% aire recircula

**B:** 30% aire recircula

**C:** 100% aire eliminado



Clase	Tipo	Velocidad frontal (cm/s)	Flujo de aire	Químicos tóxicos/Radio nucleidos	Nivel de seguridad	Tipo de protección
I		38.1	Ingreso frontal: extracción trasera a un filtro HEPA, Ducto para extracción al exterior	NO	2,3	A,P
II	A1	38.1	Ingreso frontal: volumen reciclado 70% a través de filtro HEPA; extracción a través de filtro HEPA	NO	2,3	A,P,PP
II	A2	50.8	Igual que la IIA, pero el Plenum presurizado negativamente respecto al ambiente; ducto de extracción	SI	2,3	A,P,PP
II	B1	50.8	Ingreso frontal: volumen reciclado 30% a través de filtro HEPA; extracción a través de filtro HEPA	SI (Cantidades mínimas)	2,3	A,P,PP
II	B2	50.8	Ingreso frontal: sin reciclaje de aire; extracción total a través de filtro HEPA; ducto de extracción.	SI	2,3	A,P,PP
III		NA	Suministro y extracción de aire a través de dos filtros HEPA	SI	3,4	A,P,PP

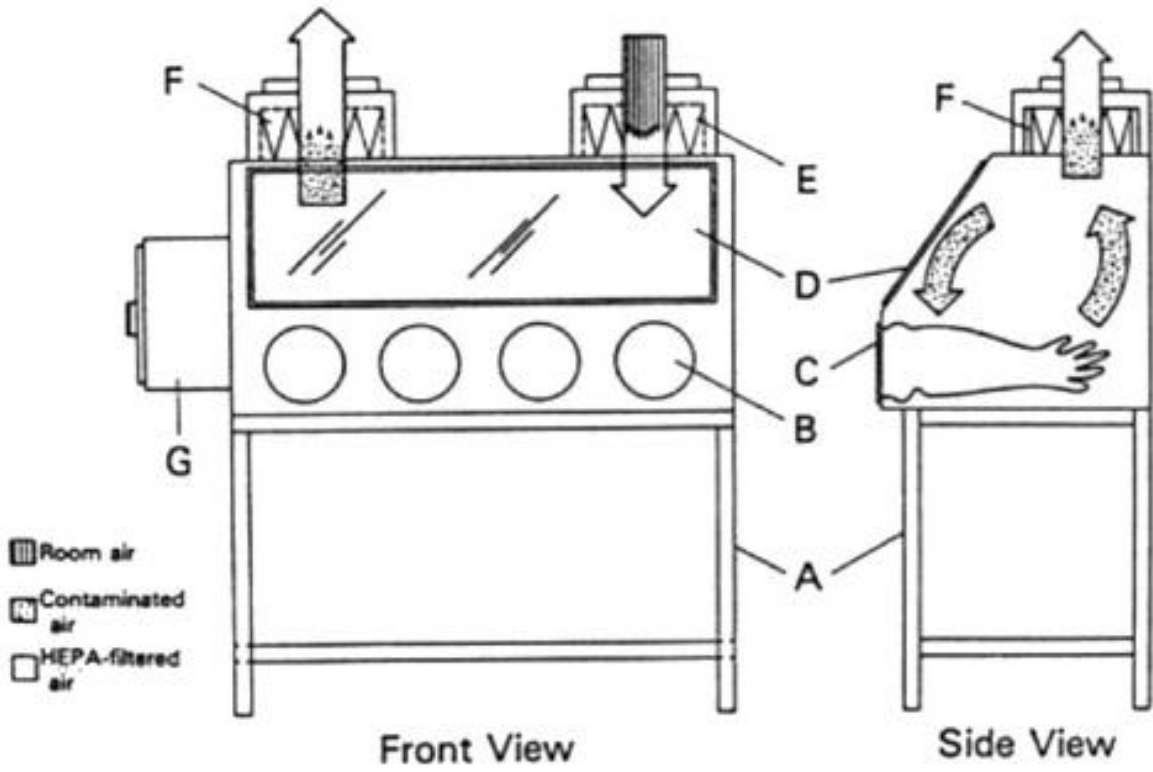
A: Protección ambiental P: Protección al personal PP : Protección al producto



# Seguridad Biológica



## Cámara flujo laminar Clase III



# SALAS BLANCAS/LIMPIAS (EN INGLÉS, CLEAN ROOM) O AMBIENTE CONTROLADO (GMP FACILITIES)

**sala** especialmente diseñada para obtener bajos niveles de contaminación.

Tabla I. Algunas aplicaciones de las salas limpias y de contención

Electrónica	Fabricación de ordenadores, fabricación de tubos de TV, producción de cintas magnéticas, tarjetas inteligentes.
Semiconductores	Producción de circuitos integrados.
Micromecanismos	Giróscopos, discos compactos.
Optica	Lentes, película fotográfica, equipos láser.
Biotecnología	Antibióticos, ingeniería genética.
Farmacia	Productos estériles
Medicina	Válvulas y <i>by pass</i> para el corazón.
Alimentación	Productos esterilizados y envasados, fabricación de bebidas. Cadenas de despiece en industrias cárnicas, etc.
Hospitales	Áreas de aislamiento, quirófanos especiales, áreas de terapia para inmunodeficiencia, neonatos, UCI, etc.

## PRODUCCIÓN DE MEDICAMENTOS DE TERAPIAS AVANZADAS:

**Terapia celular:** uso células vivas como agentes terapéutico -> "medicamento celular"

**Ingeniería de tejidos:** incorpora el uso de matrices



# SALAS BLANCAS/LIMPIAS



Se suele identificar como sala blanca o sala limpia a aquella en la que los parámetros enumerados a continuación se mantienen alrededor de los valores de consigna con tolerancias muy estrechas sean cuales sean las condiciones exteriores y el proceso de producción que se realice en su interior:

- Número y dimensiones de partículas en el aire.
- Temperatura seca y distribución de la misma.
- Temperatura húmeda y distribución de la misma.
- Flujo de aire: velocidad y dirección, así como su distribución en la sala.
- Presión interior del aire y su distribución.
- Geometría y acabados interiores.
- Iluminación.
- Protección contra incendios.
- Protección electrostática.





# SISTEMA SALA LIMPIA



## Definición de **ÁREA LIMPIA**:

Área esterilizada con control ambiental definido en términos de flujo de aire, presión, temperatura, humedad, ruido, vibración, iluminación, contaminación microbiana y por partículas, proyectada e utilizada de forma de reducir la introducción, la generación y la retención de contaminantes en su interior.

Es un **ambiente controlado** utilizado para tests o manufactura de productos donde la contaminación por partículas presentes en el aire interfiere en el resultado.

Es necesario en laboratorios químicos, laboratorios que producen medicamentos, industria de biotecnología, industria alimentaria, locales donde se manufacturan satélites espaciales, salas quirúrgicas, entre otros.

Es un local donde se consigue controlar y medir el tamaño de las partículas en suspensión (filtros absolutos HEPA, con eficiencia de 99,9%

# SISTEMA SALA LIMPIA

## INSTALACIONES:

Deben estar localizadas, proyectadas, construidas, adaptadas y mantenidas, de forma que sean adecuadas a las operaciones a ser ejecutadas.

Su proyecto debe minimizar el riesgo de error y posibilitar su limpieza y manutención, de modo de evitar la contaminación cruzada (contaminación de determinada materia prima o producto con otra materia prima o producto) durante el proceso de manipulación y el acúmulo de polvo o suciedad o cualquier efecto adverso que pueda afectar la calidad de los productos.

Las superficies deben ser lisas, impermeables, lavables, libres de juntas, de fácil limpieza, permitiendo la desinfección y no liberar partículas.



# SISTEMA SALA LIMPIA

## INSTALACIONES:

El suministro de energía eléctrica, iluminación, aire acondicionado (temperatura y humedad) y ventilación, deben ser apropiados, de modo de no afectar directa o indirectamente los productos durante los procesos de fabricación y almacenamiento o el funcionamiento adecuado de los equipos.

Las luminarias, los puntos de ventilación y otras instalaciones deben ser instaladas de modo de facilitar su limpieza.

Siempre que sea posible el acceso para el mantenimiento debe estar localizado externamente a las áreas de producción.

Deben tener la máxima protección contra la entrada de insectos y otros animales.



## CLASIFICACIÓN DE SALAS LIMPIAS

Para garantizar la debida protección del ser humano, de los procesos y de los productos, la pureza del aire exigida en una sala limpia debe ser determinada conforme a las necesidades de cada situación específica.

Con la finalidad de distinguir sistemáticamente los diferentes niveles de calidad de las área limpias, fueron establecidas diferentes clases de pureza de aire.

Existen normas que las clasifican en función de la pureza de su aire interior, o sea de la concentración de partículas por unidad de volumen de aire.



# CLASIFICACIÓN DE SALAS LIMPIAS

## NORMA ISO 14644-1

Tabla 1  
Clase de partículas contenidas en el aire para salas limpias y zonas anexas

Número de clasificación <i>N</i> de ISO	Valor máximo de la concentración de partículas (partículas por metro cúbico de aire) igual o mayor a los tamaños indicados en el cuadro inferior (los límites de la concentración están calculados de acuerdo con la ecuación (1) en 3.2)					
	0,1 $\mu\text{m}$	0,2 $\mu\text{m}$	0,3 $\mu\text{m}$	0,5 $\mu\text{m}$	1 $\mu\text{m}$	5 $\mu\text{m}$
Clase ISO 1	10	2	–	–	–	–
Clase ISO 2	100	24	10	4	–	–
Clase ISO 3	1 000	237	102	35	8	–
Clase ISO 4	10 000	2 370	1 020	352	83	–
Clase ISO 5	100 000	23 700	10 200	3 520	832	29
Clase ISO 6	1 000 000	237 000	102 000	35 200	8 320	293
Clase ISO 7	–	–	–	352 000	83 200	2 930
Clase ISO 8	–	–	–	3 520 000	832 000	29 300
Clase ISO 9	–	–	–	35 200 000	8 320 000	293 000

NOTA – Inseguridades relacionadas con el proceso de medición requieren que en la información de la concentración no se utilicen más de tres cifras para determinar el nivel de la clasificación.



# CLASIFICACIÓN DE SALAS LIMPIAS

## NORMA GMP (UE)

Grado	Número máximo de partículas de tamaño igual o superior al indicado en la tabla permitido/m <sup>3</sup>			
	En reposo		En funcionamiento	
	0,5 µm	5 µm	0,5 µm	5 µm
A	3.520	20	3.520	20
B	3.520	29	352.000	2.900
C	352.000	2.900	3.520.000	29.000
D	3.520.000	29.000	Sin definir	Sin definir



# CLASIFICACIÓN DE SALAS LIMPIAS

ISO 14644-1	US. FED STD 209D	US. FED STD 209E	GMP (en reposo)
Classe 1			
Classe 2			
Classe 3	1	M1.5	
Classe 4	10	M2.5	
<b>Classe 5</b>	<b>100</b>	M3.5	<b>A/B</b>
Classe 6	1.000	M4.5	
<b>Classe 7</b>	<b>10.000</b>	M5.5	<b>C</b>
<b>Classe 8</b>	<b>100.000</b>	M6.5	<b>D</b>
Classe 9			



# SISTEMA DE AIRE Y VENTILACIÓN

Las áreas de producción deben tener un sistema de ventilación efectivo, con unidades de control de aire incluyendo el control de temperatura, y cuando sea necesarios de humedad y filtración, apropiados a los productos manipulados, a las operaciones realizadas y a las condiciones del ambiente (**Sistemas HVAC:** heating, ventilation, and air conditioning)

Estas áreas debe ser **regularmente monitoreadas** durante el periodo de **producción y en reposo**, con la finalidad de asegurar el cumplimiento de las especificaciones de área (Sistema de alarma de fallas y registro de diferencial de presiones)





# SISTEMA DE AIRE Y VENTILACIÓN

Las áreas limpias deben tener un sistema de ventilación que insufla el aire filtrado y que mantenga una presión positiva del área en relación a las zonas circundantes.

La ventilación debe ser eficiente en relación a las condiciones exigidas.

Especial atención debe ser dada a las zonas de mayor riesgo, donde el aire filtrado entra en contacto con los productos o los componentes limpios



# CUALIFICACIÓN

Operaciones documentadas de acuerdo con un plan de tests pre-determinados y criterios de aceptación definidos, garantizando que los componentes, equipamientos e instalaciones son adecuados al uso pretendido.

Cualificación de equipamientos (QE):

Cualificación de las instalaciones (QI)

Cualificación operacional (QO)



**NORMAS GMP**



## Normas Correcta Fabricación (NCF / GMP): 4º edición. 2011

- Normas de **OBLIGADO CUMPLIMIENTO** para la **FABRICACIÓN** de:
  - Medicamentos con autorización para comercialización y **en investigación** en ensayos clínicos.
  - Medicamentos convencionales y **terapias avanzadas** Principios activos.
  - Fabricados o importados en la Unión Europea
  - Laboratorios farmacéuticos / centro vinculado al SNS.



<http://www.aemps.gob.es/industria/inspeccionNCF/guiaNCF/home.htm>

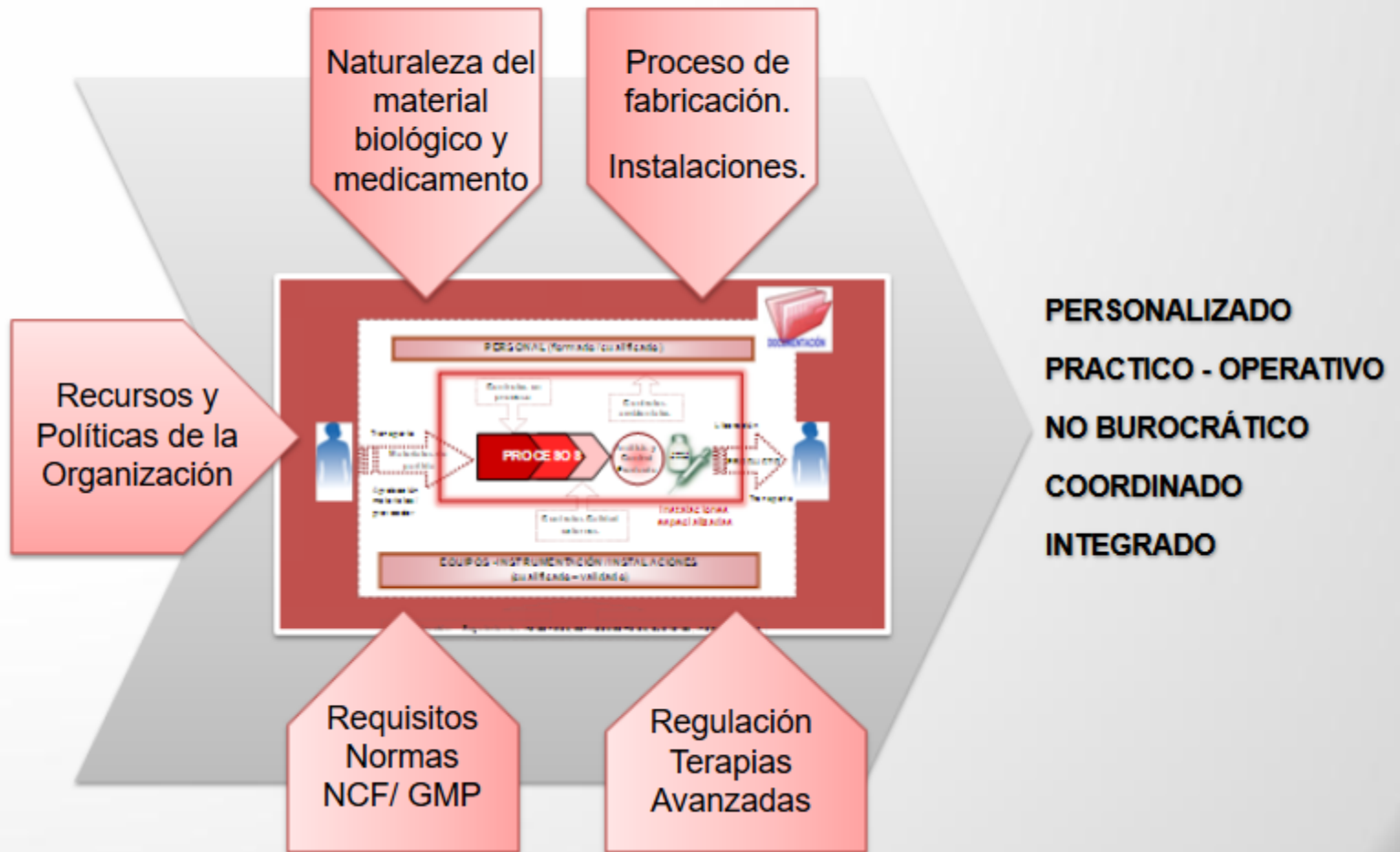
[http://ec.europa.eu/health/documents/eudralex/vol-4/index\\_en.htm](http://ec.europa.eu/health/documents/eudralex/vol-4/index_en.htm)



## ○ Objetivo de Normas Correcta Fabricación (NCF / GMP)

- **Evitar** efectos **NO DESEADOS** en los pacientes como consecuencia de errores graves en los procesos de fabricación.
- **NCF en Medicamentos en investigación:**
  - Asegurar que los sujetos del ensayo no sean expuestos a un riesgo
  - Garantizar que los resultados de los ensayos clínicos no se vean afectados por una seguridad, calidad o eficacia insuficientes derivadas de una fabricación no satisfactoria.
  - Garantizar consistencia entre lotes del mismo medicamento en investigación utilizado en el ensayo clínico.
  - Asegurar que los cambios durante el desarrollo de un medicamento en investigación estén suficientemente documentados y justificados.

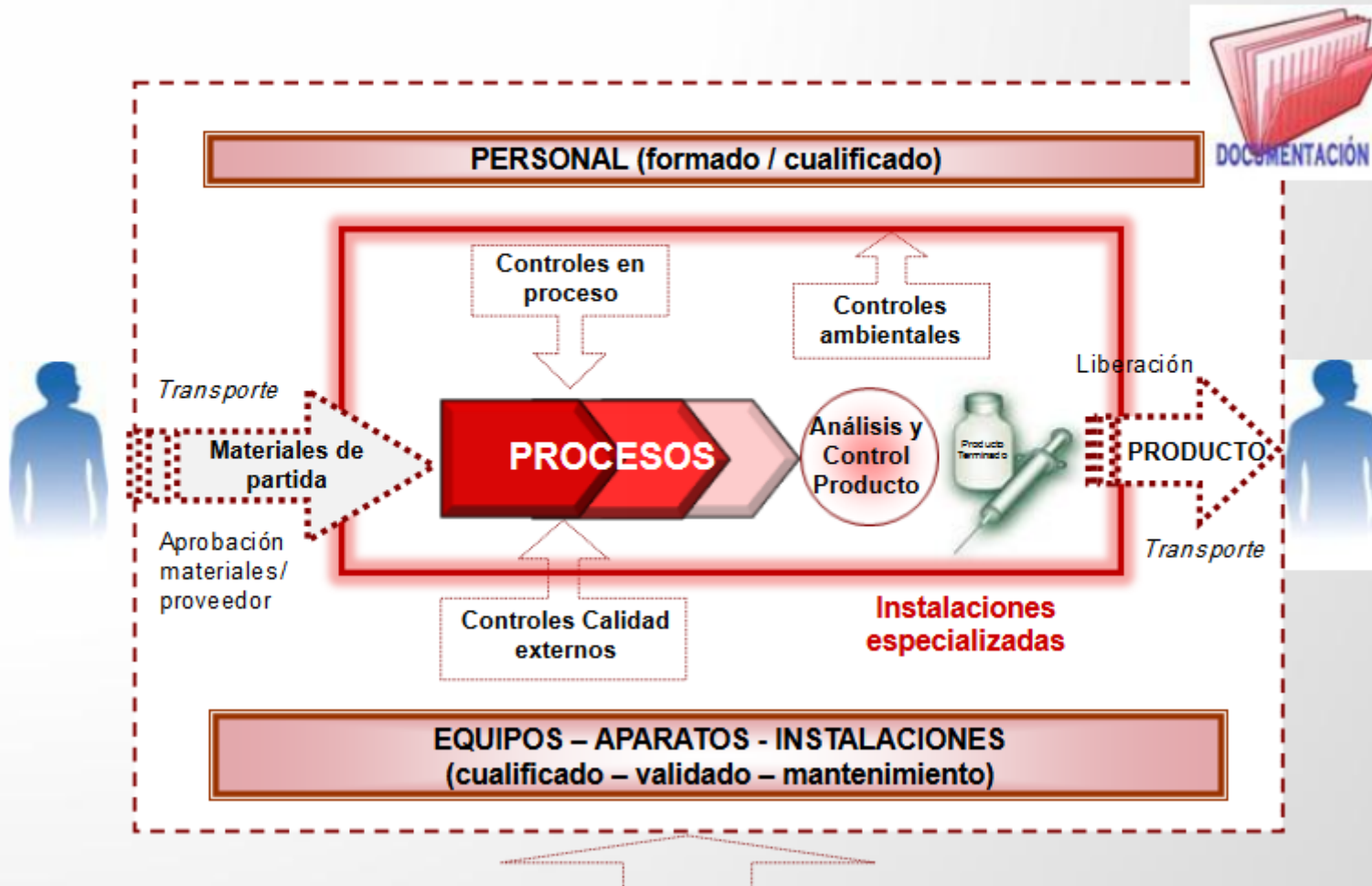
## ○ Diseño de un Sistema de Calidad según NCF / GMP



## ○ Diseño de un Sistema de Calidad según NCF / GMP: Aspectos clave



## Requerimientos del Sistema de Calidad según NCF / GMP



## ○ Particularidades del Sistema de Calidad GMP para MTA

- **PERSONAL y FORMACION:**

- La mayoría de los procesos de producción son manuales (escasa automatización):
  - Necesidad de personal técnico cualificado y especializado: formación en Cultivo Celular y normativa GMP.
- El proceso y obtención del producto depende del entrenamiento y formación del personal implicado.
- Importancia de los procesos de formación práctica. Periodo de formación debe cubrir todo el proceso y quedar registrado.
- Formación al Personal interno y personal externo (mantenimiento, limpieza, vigilancia, etc)





# PERSONAL



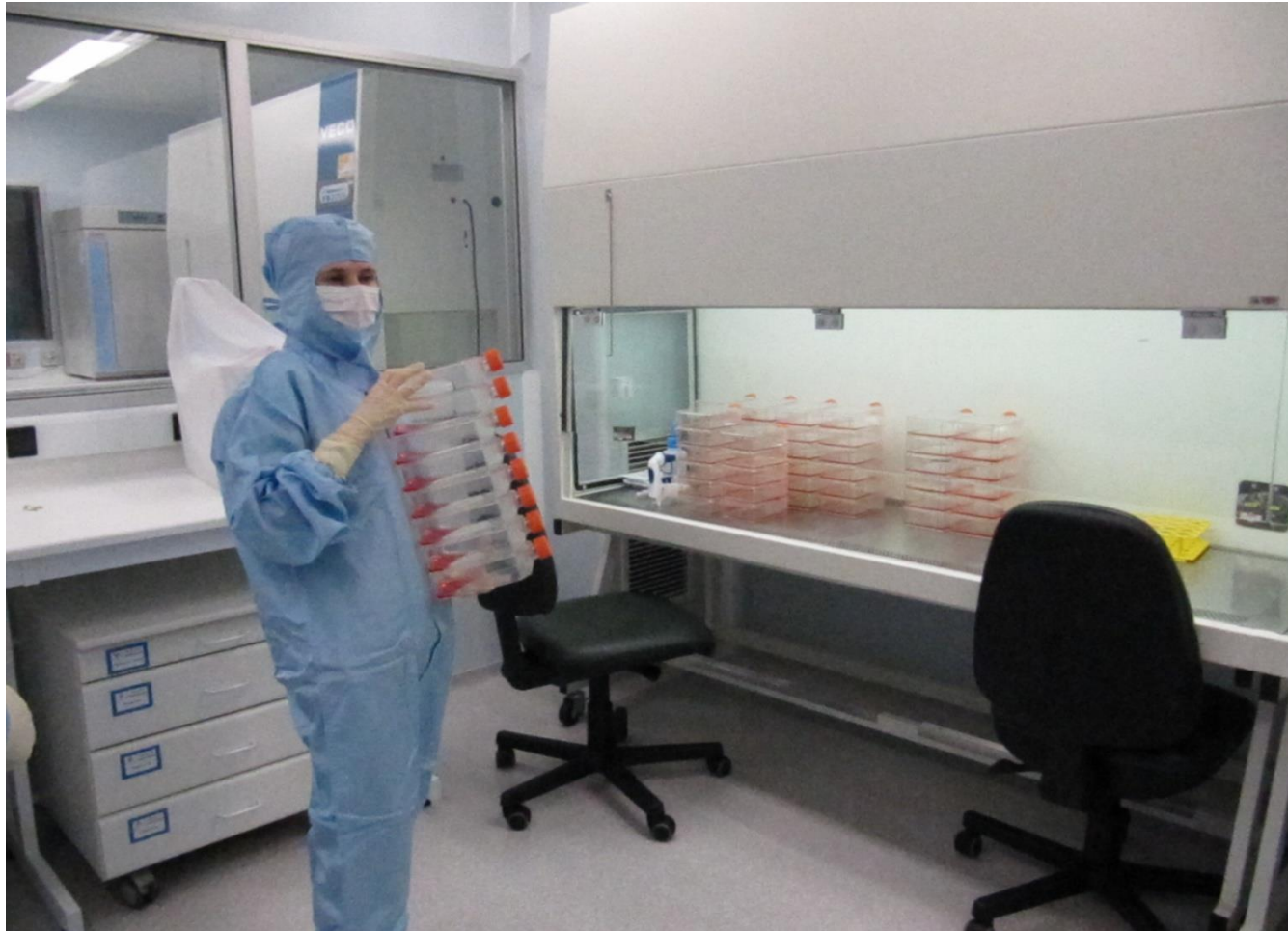


## ○ Particularidades del Sistema de Calidad GMP para MTA

- **PRODUCCIÓN Y CONTROL DE CALIDAD:**
- **Preparación aséptica** cumplimiento Anexo 1 “Medicamentos estériles”.
- Prevención de la contaminación cruzada.
- Importancia de los controles en proceso:
  - La calidad del medicamento no se basa en los ensayos sobre producto terminado sino en los controles a lo largo de todo el proceso de fabricación.
- Validaciones
  - Proceso de fabricación completo (incluido transporte).
  - Consistencia de lotes y reproducibilidad del proceso
- Liberación rápida y paramétrica
  - Controles de calidad sobre producto terminado no son inmediatos.
  - Controles en etapas previas. Validado.
- Logística, transporte, distribución inmediata (corta caducidad)



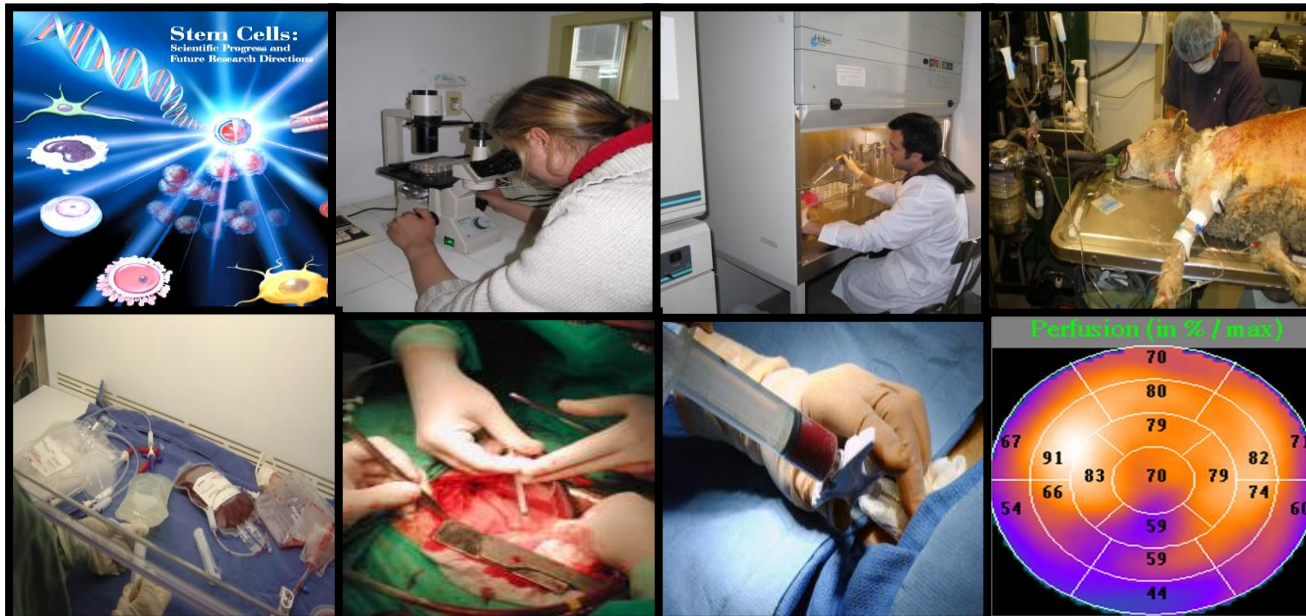
# PRODUCCIÓN DE MSCs EN CONDICIONES GMP



PROYECTO INSTITUCIONAL DEL HOSPITAL DE CLÍNICAS:  
“CREACIÓN Y DESARROLLO DEL ÁREA DE TERAPIA CELULAR Y MEDICINA REGENERATIVA EN EL  
HOSPITAL DE CLÍNICAS ”



**ÁREA TERAPIA CELULAR-  
MEDICINA REGENERATIVA**



PROYECTO INSTITUCIONAL DEL HOSPITAL DE CLÍNICAS:  
“CREACIÓN Y DESARROLLO DEL ÁREA DE TERAPIA CELULAR Y MEDICINA REGENERATIVA EN EL  
HOSPITAL DE CLÍNICAS ”



## OBJETIVO GENERAL

Creación y desarrollo del Área de Terapia Celular y Medicina Regenerativa (ATCMR) en el ámbito académico, facilitando la interrelación básico-clínica y promoviendo la creación de grupos multidisciplinarios.

## OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Consolidación del Grupo Académico Universitario
- Desarrollo de proyectos de investigación multidisciplinarios
- Formación de recursos humanos en el área
- Creación de una Unidad de Terapia y Tecnología Celular (GMP)
- Desarrollo de una Diplomatura en Terapia Celular y Medicina Regenerativa

- Desarrollo del área con proyección nacional
- Hospital Universitario como Centro de Referencia



- Proyectos de investigación

UDELAR  
Facultad de Medicina  
Facultad de Ciencias  
Facultad de Química  
Facultad de Veterinaria  
Facultad de Odontología  
Instituto de Higiene  
Facultad de Ingeniería->NIB

- Tesis de maestría y doctorado  
- Becas de posgrado  
- Pasantías



MSP-INDT



IIBCE-MEC

POLOS TECNOLÓGICOS  
PTPando  
IPMONT  
CUDIM

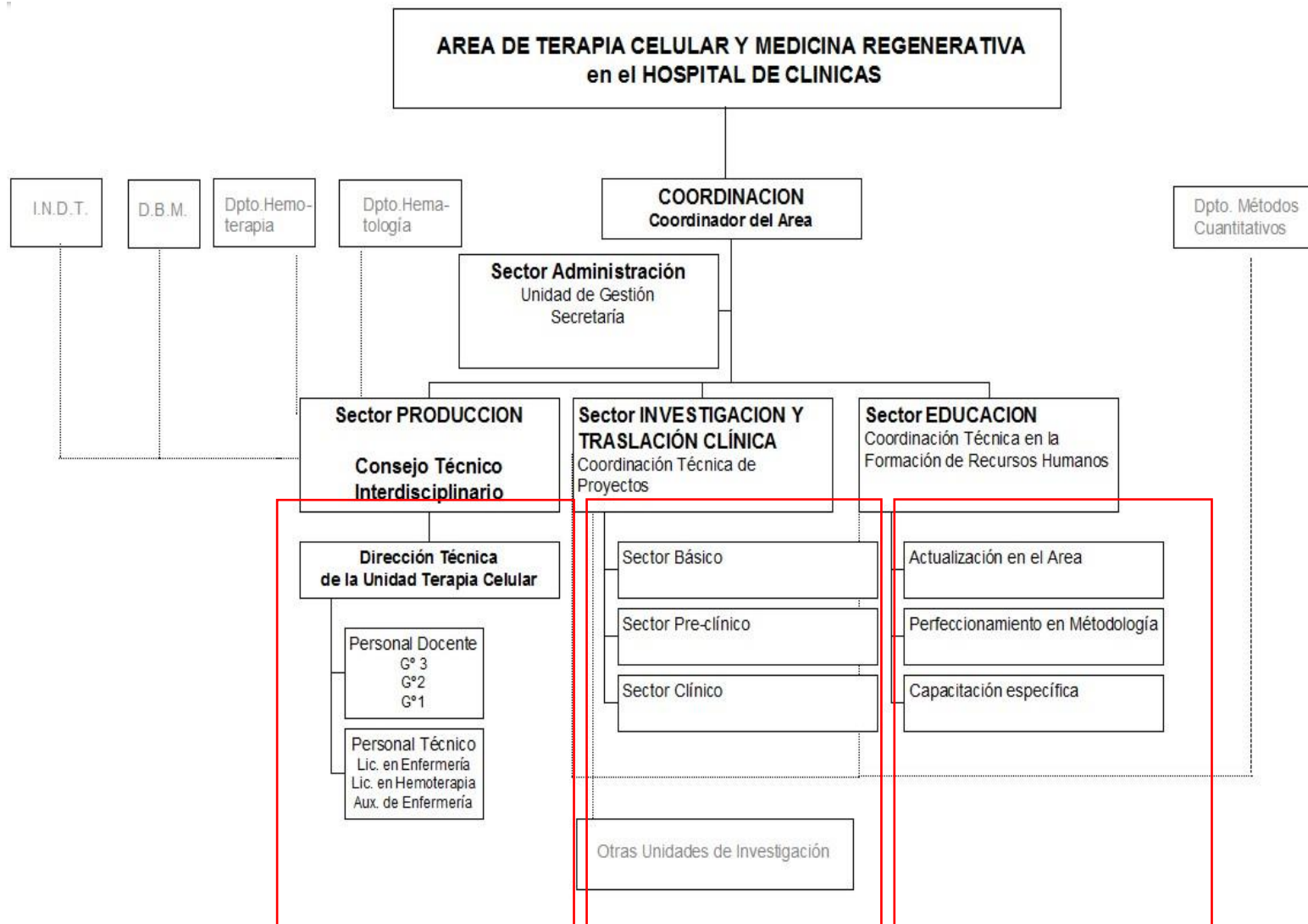
OTROS  
BPS  
ASSE  
AEPSM  
Toronto University  
PUC-PR  
UNESP

- Realización de cursos de pre y posgrado  
- Formación profesional

Realización de Jornadas Científicas



PROYECTO INSTITUCIONAL DEL HOSPITAL DE CLÍNICAS:  
“CREACIÓN Y DESARROLLO DEL ÁREA DE TERAPIA CELULAR Y MEDICINA REGENERATIVA EN EL HOSPITAL DE CLÍNICAS ”





PROYECTO INSTITUCIONAL DEL HOSPITAL DE CLÍNICAS:  
“CREACIÓN Y DESARROLLO DEL ÁREA DE TERAPIA CELULAR Y MEDICINA REGENERATIVA EN EL  
HOSPITAL DE CLÍNICAS ”



## OBJETIVO GENERAL

Creación y desarrollo del Área de Terapia Celular y Medicina Regenerativa (ATCMR) en el ámbito académico, facilitando la interrelación básico-clínica y promoviendo la creación de grupos multidisciplinarios.

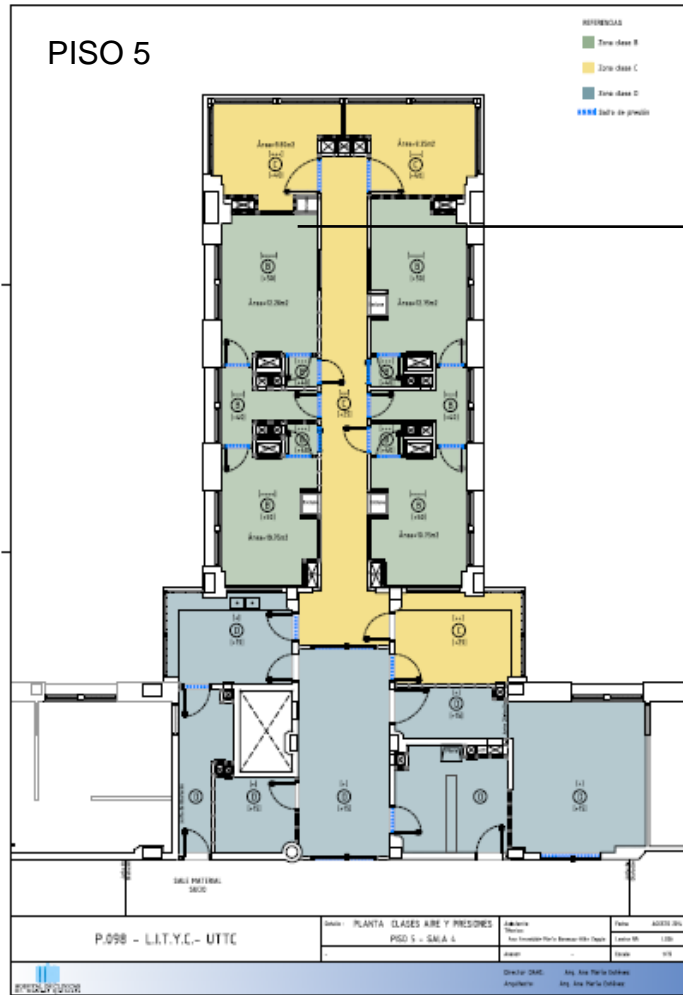
## OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Consolidación del Grupo Académico Universitario
- Desarrollo de proyectos de investigación multidisciplinarios
- Formación de recursos humanos en el área
- **Creación de una Unidad de Terapia y Tecnología Celular (GMP)**
- Desarrollo de una Diplomatura en Terapia Celular y Medicina Regenerativa

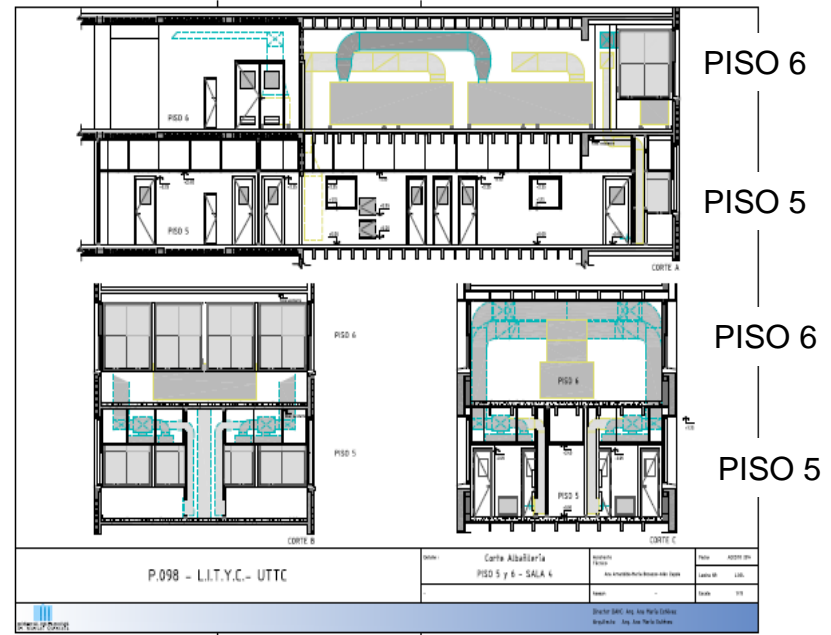
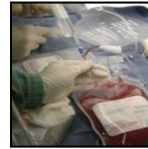
- Desarrollo del área con proyección nacional
- Hospital Universitario como Centro de Referencia



# CEPROTEA: CENTRO DE PRODUCCIÓN DE TERAPIAS AVANZADAS



Producto de  
Terapia Celular  
para uso clínico



2014: Acuerdo con el INDT (MSP)-ATCMR (HC) para desarrollar en conjunto de un Área de Terapias Avanzadas GMP:

LITYC (MSP) + UTTC (HC) = CEPROTEA









