

Boas Práticas em Cultura Celular

Prof. Marco Antonio Stephano (stephano@usp.br)
Lab. de Imunobiológicos e Biofármacos
Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo

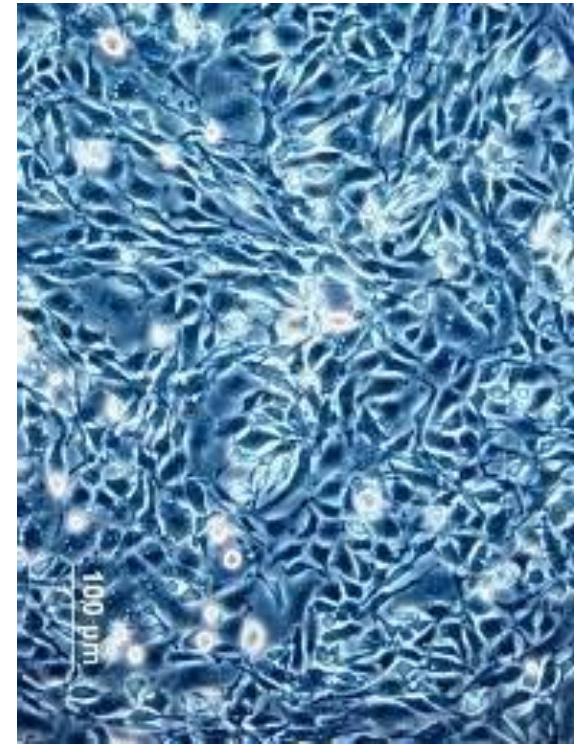


Boas Práticas em Cultura Celular

Objetivo da Boas Práticas de Cultura Celular:

A fundamentação científica tem base na manutenção de um alto padrão de de qualidade de todo material envolvido, desde os descartáveis, meios de cultura, equipamentos e principalmente a célula.

Isto é essencial para garantir a reprodutibilidade, confiabilidade, credibilidade, aceitação e principalmente, correta aplicação de quaisquer resultados produzidos.



Boas Práticas em Cultura Celular

Objetivo da Boas Práticas de Cultura Celular:

Dos US\$ 51 bilhões que o EUA gasta em pesquisa biomédica, US\$ 28 bilhões são em pesquisas irreproduzíveis.

As principais causas são:

- Delineamento científico;
- Protocolos laboratoriais;
- Reagentes biológicos;
- Análise de dados
- Relatoria dos trabalhos

30/08/2016

Irreproducible biology research costs put at \$28 billion per year : Nature News & Comment

NATURE | NEWS

Irreproducible biology research costs put at \$28 billion per year

Study calculates cost of flawed biomedical research in the United States.

Monya Baker

09 June 2015



Boas Práticas em Cultura Celular

Reproducibility: changing the policies and culture of cell line authentication

Leonard P Freedman¹, Mark C Gibson¹, Stephen P Ethier², Howard R Soule³, Richard M Neve⁴ & Yvonne A Reid⁵

Quality control of cell lines used in biomedical research is essential to ensure reproducibility. Although cell line authentication has been widely recommended for many years, misidentification, including cross-contamination, remains a serious problem. We outline a multi-stakeholder, incremental approach and policy-related recommendations to facilitate change in the culture of cell line authentication.

NATURE METHODS | VOL.12 NO.6 | JUNE 2015 | 493

Table 1 | Select reports of misidentified or cross-contaminated cell lines by major cell repositories

Cell type	Total number of lines	Number of false cell lines	Percentage of false cell lines	Ref.
Lymphoma, leukemia	550	82	15	39
Ovarian cancer	51	15	30	40
Adenoid cystic carcinoma	6	6	100	41
Thyroid cancer	40	17	43	42
Head, neck cancer	122	37	30	43
Esophageal adenocarcinoma	14	3	21	44
Total	783	160	20 (average)	



Boas Práticas em Cultura Celular

Reliability of 'new drug target' claims called into question

Bayer halts nearly two-thirds of its target-validation projects because in-house experimental findings fail to match up with published literature claims, finds a first-of-a-kind analysis on data irreproducibility.

Asher Mullard

NATURE REVIEWS | DRUG DISCOVERY | VOLUME 10 | SEPTEMBER 2011 | 643

De 57 projetos analisados pela Bayer sobre alvo terapêutico para novos medicamentos para o tratamento de câncer. Destes 43 foram inconsistentes. Somente 14 projetos foram reprodutíveis e mereceram atenção e investimento da empresa.

O maior problema: falta de especificidade para o alvo sobre diversas células cancerígenas, ou seja, o mesmo alvo terapêutico em células diferentes não interagem com o medicamento.



Boas Práticas em Cultura Celular

Base dos estudos de Boas Práticas de Cultura Celular

1) Variações Inerentes aos Sistemas “In vitro”

a) Material Inicial

b) Tipo de células

i) Primária

ii) Contínuas

c) Meio de Cultura

2) Relatório sobre a célula

a) Origem (espécie, órgão, tecido etc..)

b) Método de isolamento

c) Método de propagação

d) Fonte da célula (primária, ATCC, ECACC)

e) Morfologia Básica.

3) Equipamentos

4) Outros Materiais

ATLA 30, 407-414, 2002

407

Good Cell Culture Practice

ECVAM Good Cell Culture Practice Task Force Report 1

Thomas Hartung,¹ Michael Balls,² Claudia Bardouille,^{3,4} Olivier Blanck,⁵ Sandra Coecke,² Gerhard Gstraunthaler⁶ and David Lewis³

¹Biochemical Pharmacology, University of Konstanz, 78457 Konstanz, Germany; ²ECVAM, Institute for Health & Consumer Protection, European Commission Joint Research Centre, 21020 Ispra (VA), Italy;

³European Collection of Animal Cell Cultures, Centre for Applied Microbiology & Research, Porton Down, Salisbury SP4 0JG, UK; ⁵Pfizer Central Research, Amboise, Poce-sur Cisse, 37401 Amboise, France;

⁶Institute of Physiology, University of Innsbruck, Innsbruck, Austria



Boas Práticas em Cultura Celular



**ENGLISH ONLY
FINAL**

Recommendations for the evaluation of animal cell cultures as substrates for the manufacture of biological medicinal products and for the characterization of cell banks

Proposed replacement of TRS 878, Annex 1

© World Health Organization 2010



Keywords: cell culture; mycoplasma contamination; Human Tissue Act; cell line; cell line misidentification; cryostorage; Human Tissue Authority; STR profiling; human tissue; Human Fertilisation and Embryology Act

Guidelines for the use of cell lines in biomedical research

R J Geraghty^{*,1}, A Capes-Davis², J M Davis³, J Downward⁴, R I Freshney⁵, I Knezevic⁶, R Lovell-Badge⁷, J R W Masters⁸, J Meredith⁹, G N Stacey¹⁰, P Thraves¹¹ and M Vias¹

¹Cancer Research UK Cambridge Institute, University of Cambridge, Li Ka Shing Centre, Robinson Way, Cambridge CB2 0RE, UK;

²CellBank Australia, Children's Medical Research Institute, Locked Bag 23, Wentworthville, New South Wales 2145, Australia; ³School of Life and Medical Sciences, University of Hertfordshire, College Lane, Hatfield, Hertfordshire AL10 9AB, UK; ⁴Cancer Research UK, London Research Institute, 44 Lincoln's Inn Fields, London WC2A 3LY, UK; ⁵Institute for Cancer Sciences, University of Glasgow, 24 Greenwood Drive, Bearsden, Glasgow G61 2HA, UK; ⁶Department of Essential Medicines and Health Products, Quality, Safety and Standards Team, World Health Organization, 20 Avenue Appia, 1211 Geneva 27, Switzerland; ⁷MRC National Institute for Medical Research, The Ridgeway, Mill Hill, London NW7 1AA, UK;

⁸University College London, 67 Riding House Street, London W1W 7EJ, UK; ⁹Cancer Research UK, Angel Building, 407 St John Street, London EC1V 4AD, UK; ¹⁰National Institute for Biological Standards and Control, A Centre of the Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency, Blanche Lane, South Mimms, Herts EN6 3QG, UK and ¹¹Culture Collections, Public Health England, Porton Down, Salisbury SP4 0JG, UK

Cell-line misidentification and contamination with microorganisms, such as mycoplasma, together with instability, both genetic and phenotypic, are among the problems that continue to affect cell culture. Many of these problems are avoidable with the necessary foresight, and these Guidelines have been prepared to provide those new to the field and others engaged in teaching and instruction with the information necessary to increase their awareness of the problems and to enable them to deal with them effectively. The Guidelines cover areas such as development, acquisition, authentication, cryopreservation, transfer of cell lines between laboratories, microbial contamination, characterisation, instability and misidentification. Advice is also given on complying with current legal and ethical requirements when deriving cell lines from human and animal tissues, the selection and maintenance of equipment and how to deal with problems that may arise.

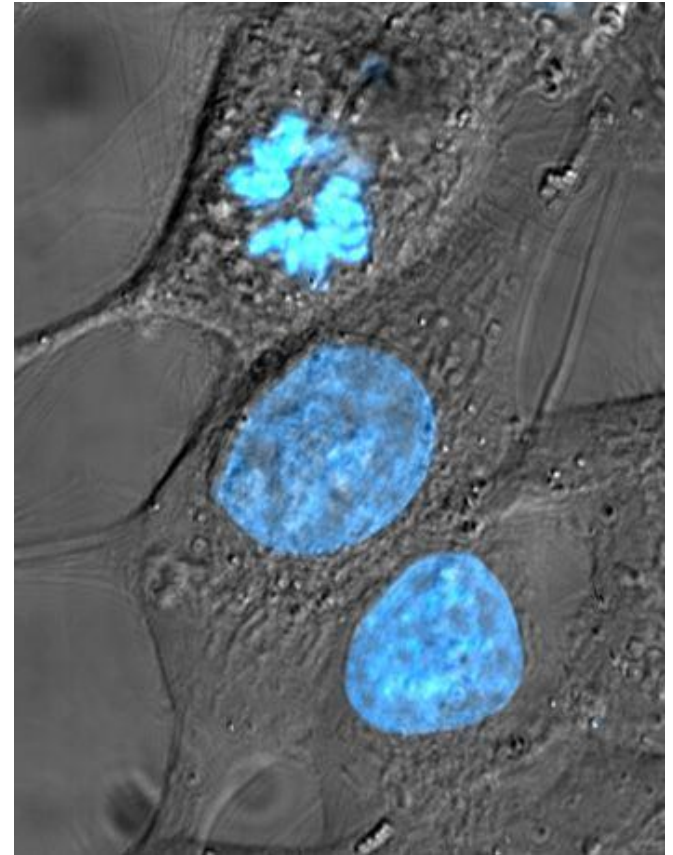


Boas Práticas em Cultura Celular

Novas Considerações sobre Boas Práticas de Cultura Celular

Problemas associados a cultura celular tais como: perda da identificação celular, contaminação por micoplasma, instabilidade fenotípica e genotípica são frequentemente ignorados pela comunidade científica.

Por estas razões em 2014 surge uma nova diretriz para trabalho com células para pesquisa biomédica.



Boas Práticas em Cultura Celular

DESENVOLVENDO UMA NOVA LINHAGEM CELULAR

Desenvolver uma nova linhagem celular é um exercício árduo que consome muito tempo, porém necessário para o desenvolvimento de novos alvos moleculares.

O seu real valor dependerá de:

Autenticidade da célula

A autenticidade é a confirmação da origem, ou seja, confirma se a célula é originária da espécie desejada.

Para obtenção de célula é necessário cumprir toda a legislação em ética em pesquisa, no Brasil é necessário consentimento da pessoa, autorização do CEP, CONEP e ANVISA. Caso seja obtido de animais vertebrados é necessário atender a legislação de ética animal e autorização das CEUAS.



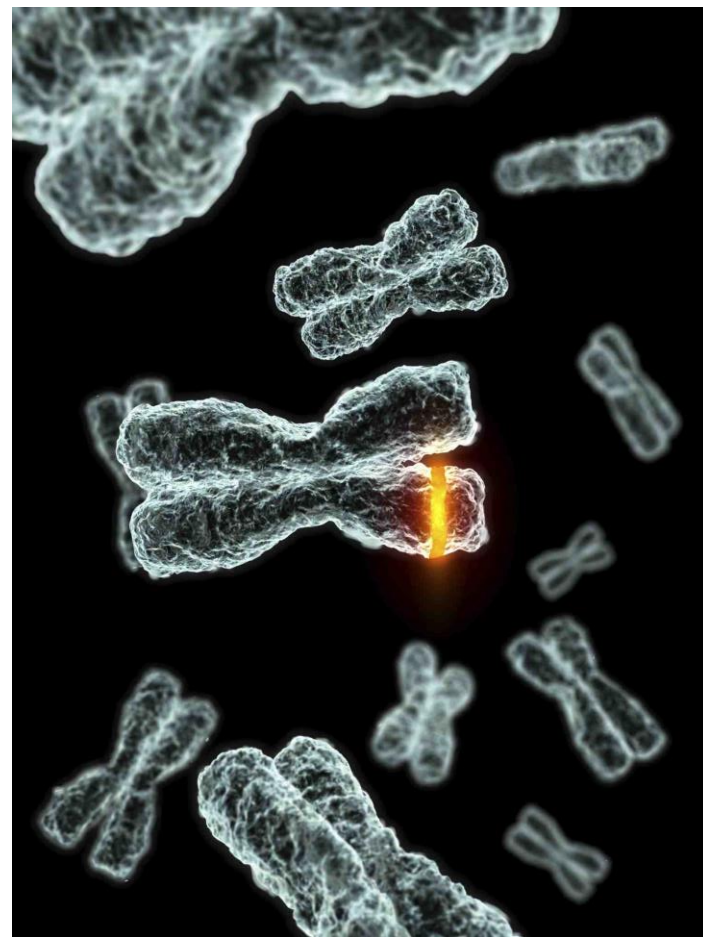
Boas Práticas em Cultura Celular

DESENVOLVENDO UMA NOVA LINHAGEM CELULAR

A autenticidade é comprovada através análise comparativa de DNA de uma amostra de sangue ou tecido do doador com a célula cultivada.

Para células obtidas de tecidos em cirurgia devem ser confirmadas por histopatologia, ou seja, parte do tecido original deve ser fixado em formol a 10%.

Amostras de sangue ou tecido do doador devem ser guardadas para prova de autenticidade e comparabilidade com tecido normal, principalmente para verificar a mutagênese celular.

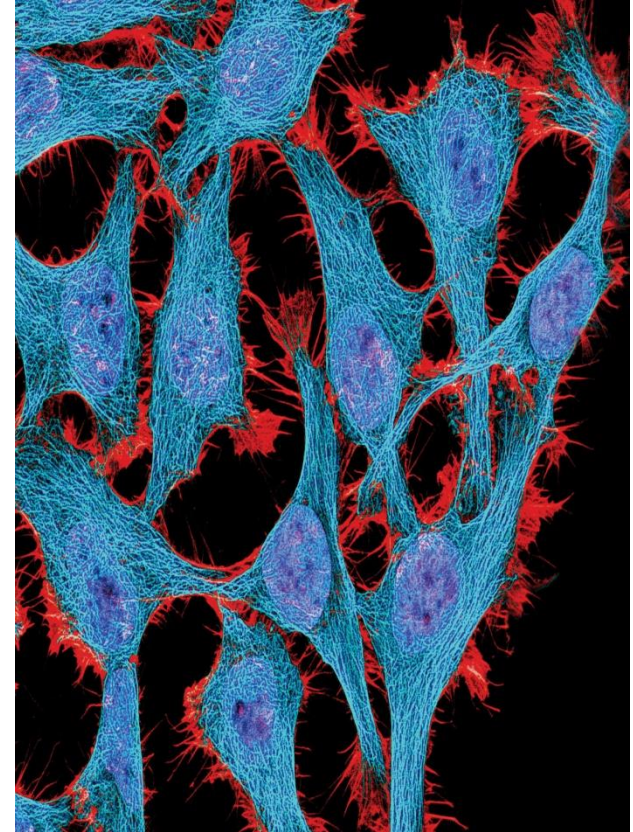


Boas Práticas em Cultura Celular

Informações Clínicas

O paciente ou doador após o consentimento e aprovação do comitê de ética deve permitir as seguintes informações:

- a) Sexo e idade
- b) Hospital e número de prontuário
- c) Órgão de origem e natureza do tecido
- d) Estágio do câncer ou patologia ou outra síndrome
- e) Cópia do relatório histopatológico
- f) Histórico clínico incluindo tratamento
- g) Informações adicionais, tais como: marcador molecular, histórico genético-familiar
- h) Informação de consentimento e evidência dos direitos comerciais



Boas Práticas em Cultura Celular

Outras Informações Importantes

Caracterização de Imortalidade – número de passagens sucessivas que a célula pode ter antes de sofrer mutações;

Formação de Banco de células – quantos “vials” e tempo em nitrogênio líquido a célula estão sendo mantidas;

Meios de cultura e aditivos, tais como antibiótico a célula foi mantida. Tão logo seja possível o antibiótico deve ser removido para determinação de contaminação de micoplasma;

Se a célula é geneticamente modificada, um relatório detalhado deve ser feito descrevendo o processo utilizado (incluindo métodos para imortalização), detalhes sobre a sequência, modo de inserção e marcadores de resistência a antibióticos.



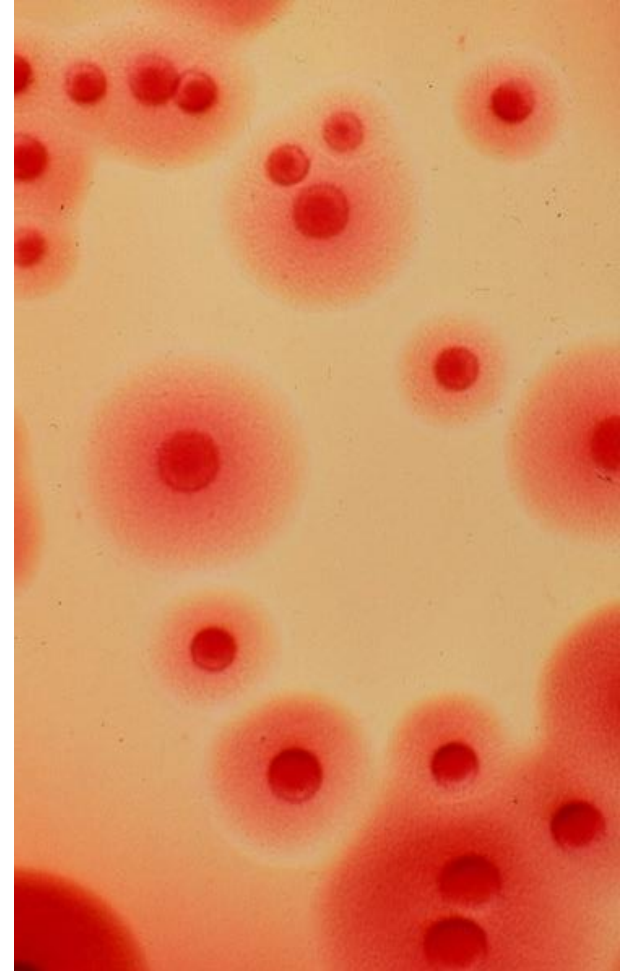
Boas Práticas em Cultura Celular

Designação da célula

A célula deve ser identificada e não pode ter ambiguidade de nomes com outras já existentes e de forma alguma pode conter a informação do doador.

Publicação

A primeira publicação deve conter todas as informações descritas anteriormente. E todas as publicações subsequentes deve demonstrar que a célula está livre de micoplasma.



Boas Práticas em Cultura Celular

Table 3. Mycoplasma detection methods

(Also refer to the studies by Uphoff et al (1992) and Tuly and Razin (1996))

Method	Sensitivity	Specificity	Advantages	Disadvantages
Microbiological culture (selective broth and agar).	High	High	European Pharmacopeia recommended test. Gives a definitive result.	Requires specialist microbiology lab. Relatively slow. Potential source of cross-contamination. Some strains are non-culturable.
Direct DNA stain, e.g. Hoechst 33258 or DAPI	Low	Low (non-specific cytoplasmic DNA stains)	European Pharmacopeia recommended test. Rapid and cheap.	Reading and interpretation of test can be difficult and subjective.
Indirect DNA stain, (using indicator cells e.g. 3T3 or 3T6)	High	Low (non-specific cytoplasmic DNA stains)	Amplifies contaminant so easier to interpret than direct stain.	Indirect therefore slower and more time consuming than direct stain.
PCR, e.g., Universal Mycoplasma Kit ¹ , Mycoplasma Plus ² , MycoSensor ² .	High	Medium (will not detect all Mycoplasma species)	Rapid and very sensitive. Several good commercial kits available.	False positives due to carry over contamination from positive controls and samples. False negatives due to PCR inhibitors in sample.
Enzyme Linked Immunosorbant Assay (ELISA), e.g. MycoProbe ³ , Mycoplasma PCR ELISA ⁴ .	Medium (High if amplified ELISA)	Medium (will not detect all Mycoplasma species)	Rapid and cheap. Useful and simple for screening large numbers of samples.	Amplified ELISAs have additional stages and are slower. Requires access to ELISA spectrophotometer.
Biochemical Detection, e.g. MycoAlert ⁵ .	Medium	High	Very rapid. Good for urgent testing of small sample numbers.	Requires access to a luminometer.

¹ATCC (www.atcc.org). ²Agilent Technologies (www.genomics.agilent.com). ³R&D Systems (www.RnDSYSTEMS.com). ⁴Roche (www.roche-applied-science.com). ⁵Lonza (www.lonza.com).
Examples of commercial mycoplasma testing kits are provided for information only with no endorsement intended or implied.



Boas Práticas em Cultura Celular

Aquisição de células de outro laboratório

Existe um risco relativamente alto ao adquirir célula de outro laboratório.

As células simplesmente pode não ser o que ela afirma ser e a descrição publicada da linhagem celular e suas propriedades podem não estar garantidas.

É importante que o número de passagens, a origem, a caracterização e a determinação de contaminantes, como fungos, bactérias e vírus adventícios tenha sido realizada.

É um custo muito alto para o pesquisador a obtenção de todos estes dados. Porém a maioria das vezes é esquecido, principalmente a determinação da autenticidade da célula, tornando o trabalho irreprodutível.



Boas Práticas em Cultura Celular

Aquisição de células de outro laboratório

Quarentena

Células adquiridas de outros laboratórios devem permanecer em quarentena até que a sua autenticidade e determinação de contaminantes seja realizada (fungus, bactérias, micoplasma e vírus).

Equipamentos como Cabine de Segurança e Estufa de CO₂ devem ser dedicados a área de quarentena.

Autenticação

A autenticação da célula deve ser feita por uma metodologia de determinação de sequência de DNA já reconhecida e aprovada. Se possível comparar a célula com outras amostras do doador.



Boas Práticas em Cultura Celular

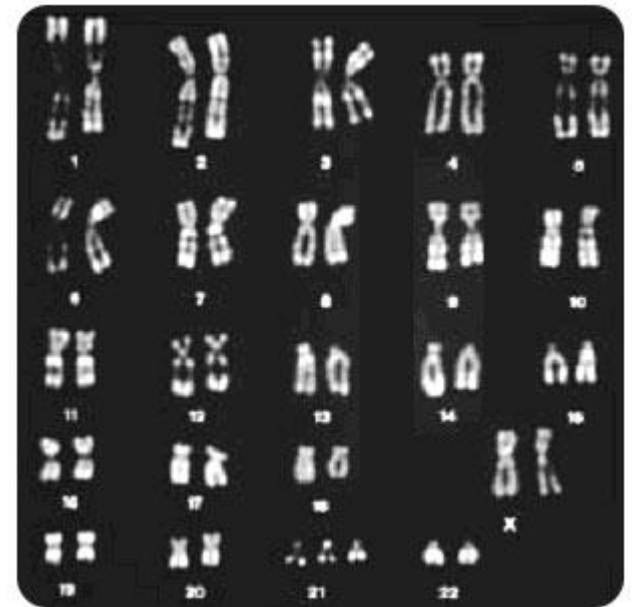
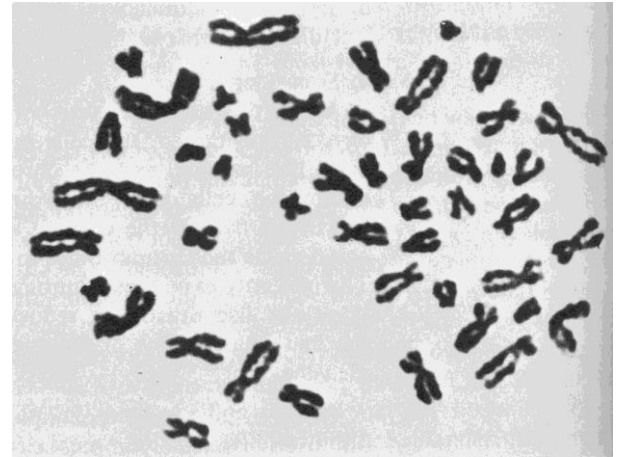
Aquisição de células de outro laboratório

Caracterização

Células que são replicadas constantemente devem ser analisadas quanto as suas características genotípicas e fenotípicas.

Genotípicas – Cariotipagem e determinação de isoenzimas;

Fenotípicas – determinação do “doubling time”; determinação de marcadores de superfície.



Boas Práticas em Cultura Celular

Adquirindo de Banco de Células

Um número muito grande de banco de células e de coleções de células tem se espalhado mundialmente. Apesar de possuir um certificado de análises, muitas vezes não são garantidas as autenticidades e ausência de contaminantes. Aliás muitas vezes o próprio certificado indica a presença do vírus da diarreia bovina, do vírus da rinotraqueite bovina e do circovírus suíno.

Uma vez que se obteve uma célula validada (autenticada e sem contaminação) o próximo passo é criar uma banco de células de estoque em sistemas de criopreservação. Este banco pode ser de 20 ampolas de 1 mL contendo de $1-5 \times 10^6$ cel./ampola.



Boas Práticas em Cultura Celular

Table 1. Cell culture banks

Collection	Web site (web addresses accessed July 2014)
American Type Culture Collection (ATCC)	www.atcc.org
CellBank Australia	www.cellbankaustralia.com
Coriell Cell Repository	http://ccr.coriell.org
Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ)	www.dsmz.de
European Collection of Animal Cell Cultures (ECACC)	www.phe-culturecollections.org.uk/
Health Science Research Resources Bank (HSRRB), Japan	www.jhsf.or.jp/English/index_e.html
Japanese Collection of Research Bioresources (JCRB)	http://cellbank.nih.go.jp
NIH Stem Cell Unit	http://stemcells.nih.gov/research/nihresearch/scunit/
RIKEN Gene Bank	http://en.brc.riken.jp
UK Stem Cell Bank (UKSCB)	www.ukstemcellbank.org.uk/
WiCell	www.wicell.org

No Brasil temos o Banco de Células do Rio de Janeiro - <http://bcrj.org.br/>



Boas Práticas em Cultura Celular

Aquisição de células de outro laboratório

Criopreservação

Células devem ser estocadas congeladas lentamente a uma taxa de $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Até chegar a -130°C com um crioprotetor (DMSO a 10%).

Algumas células podem ter como requisito o congelamento rápido $5\text{-}10^{\circ}\text{C}/\text{min}$.

A conservação em -80°C deve ser por um período muito curto (24hs) e podem ser utilizados para um primeiro congelamento.



Boas Práticas em Cultura Celular

Aquisição de células de outro laboratório

Conservação

Células devem ser conservadas em nitrogênio líquido ou ultra-freezer de -140°C .

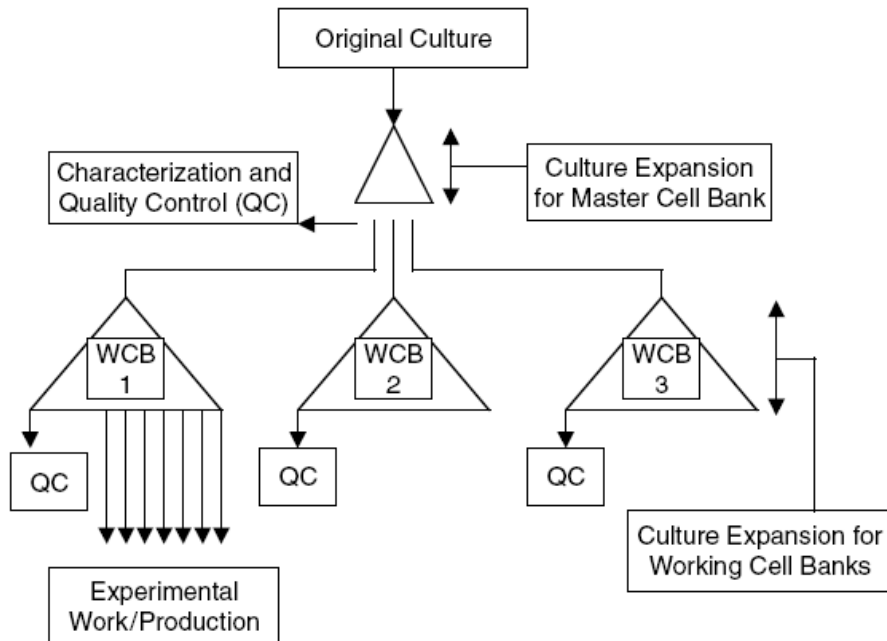
O Banco Mestre de Células (BMC) deve estar separado em dois repositórios distintos (áreas diferentes).

Existe risco ao se manipular Nitrogênio Líquido, tais como: queimaduras por frio, congelamento e asfixia.



Boas Práticas em Cultura Celular

BANCO DE CÉLULAS MESTRE E BANCO DE CÉLULAS TRABALHO



Escala e Composição do Banco de Células

Células Eucarióticas

Master Cell Bank - 20 a 50 ampolas

Work Cell Bank - 100 - 200 ampolas

Densidade - $> 5 \times 10^6$ cells ml^{-1}

Células Procarióticas

Master Cell Bank - 500 - 1000 ampolas

Work Cell Bank - 1000 - 2000 ampolas

Densidade - $> 10^{12}$

Boas Práticas em Cultura Celular

Meios de Cultivo

O desenvolvimento para meios de cultura para células de mamíferos vêm sendo estudados por mais de 50 anos.

No início utilizou-se fluidos biológicos, principalmente derivados de soro.

Porém, logo depois, Eagle desenvolve um meio mínimo essencial para o crescimento celular denominado Meio Mínimo Essencial de Eagle (EMEM). Este meio contém 13 aminoácidos, 8 vitaminas, 6 sais iônicos e soro dializado para promover um crescimento com componentes inespecíficos.



Boas Práticas em Cultura Celular



Meios de Cultivo

Novos cultivos celulares necessitaram de novos meios de cultivo, muitas destas novas linhagens celulares necessitavam de meios mais complexos.

Estes inclui o Meio de Dulbecco, o Meio de RPMI entre outros.

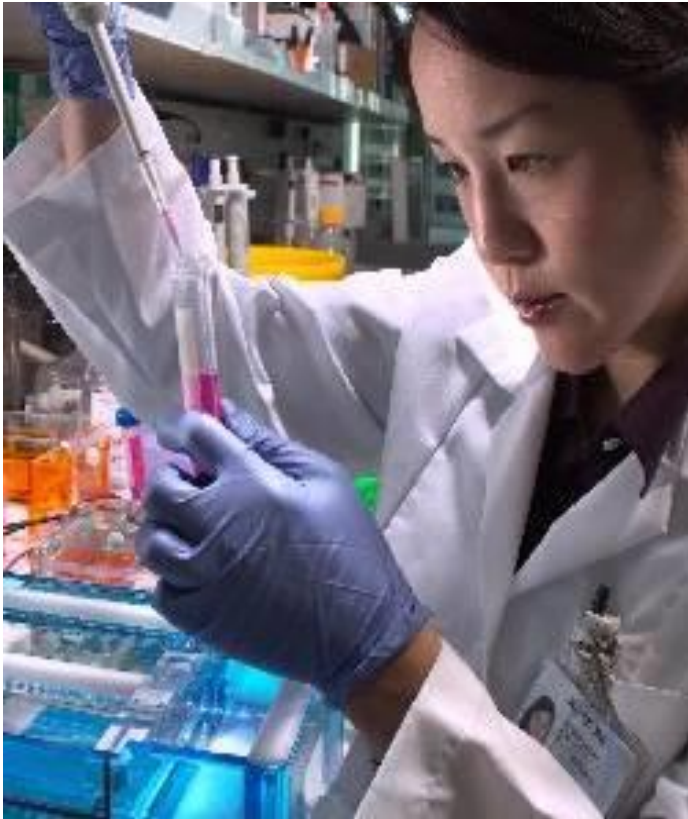
Contudo a maioria destes meios requerem componentes indefinidos existentes em soros de animais, desta forma foi extensivamente utilizado o soro fetal bovino.

Boas Práticas em Cultura Celular

Meios de Cultivo

Na década de 90 começam a ser desenvolvidos os chamados meios *serum-free*, que trouxe uma série de vantagens em relação aos meios com proteínas derivada de animais, entre estas:

- Diminuição do risco de transmissão de micoplasma;
- Diminuição do risco de transmissão de vírus de origem animal;
- Eliminação da transmissão da Encefalopatia espongiforme (Mal da Vaca Louca);



Boas Práticas em Cultura Celular

Meios de Cultivo

- Diminuição da variação de lote a lote o qual causa inconsistência nas propriedades de crescimento;
- Redução das altas concentrações de proteínas o qual pode dificultar a purificação do produto;
- Redução dos altos custos de obtenção do soro fetal bovino;
- Redução das dificuldades de obtenção em função de estar disponível durante a gestação do animal;
- Eliminação da garantia limitada em função do período de estocagem.



Boas Práticas em Cultura Celular



Meios de Cultivo

Nutrientes:

Glicose – suplementado entre 5 a 25mM é um carboidrato primário, e é metabolizado pela via da glicolise até piruvato, o qual é reduzido a lactato. Apenas 20 a 30% dos carboidratos são metabolizados pela via ácido tricoxílicos.

Glutamina – também utilizada pelas células de mamíferos é um dos maiores fornecedores de energia. Incluída em grandes concentrações em relação a outros aminoácidos (2 a 4mM).

Boas Práticas em Cultura Celular

Meios de Cultivo

Nutrientes:

Aminoácidos – devem ser adicionados os aminoácidos essenciais para o crescimento celular, pois estes não são sintetizados em mamíferos “in vivo”. Alguns aminoácidos não essenciais também são incluídos devido algumas linhagens celulares não terem capacidade de produzi-los. São metabolizados pela via da uréia.

Sais – são utilizados para manter a isotonicidade e o balanço osmótico. São eles: Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Cl^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} .



Boas Práticas em Cultura Celular

Meios de Cultivo

Nutrientes:

Elementos Figurados – são outros elementos inorgânicos que aparece a nível de traços e incluem Mn, Cu, Zn, Mo, Va, Se, Fe, Ca, Mg, Si e Ni. Muito destes elementos são importantes nas atividades enzimáticas essenciais a sobrevivência da célula.

Vitaminas – vitaminas e componentes hormonais estão presentes em concentrações relativamente baixas e são utilizadas como cofatores e mostram considerável variação dependendo do tipo de célula.



Boas Práticas em Cultura Celular

Meios de Cultivo

Nutrientes:

Antibióticos – antibióticos são utilizados em culturas de pequena duração, somente na rotina de subcultura para estoque.

Uso prolongado de antibióticos pode levar a uma retenção seletiva de contaminantes resistentes a antibióticos. São comumente utilizados: penicilina (100 UI/mL); estreptomicina (50µg/mL); amfotericina-B (25µg/mL).

Não é mais recomendado pelo FDA e pela WHO o uso de antibióticos na produção de biofármacos e vacinas virais.



Boas Práticas em Cultura Celular

Meios de Cultivo

Fatores de Crescimento:

Fator de Crescimento Fibroblástico: FGF ácido; FGF alcalino.

Fator de Crescimento Epiteliais (EGF): semelhante ao ativador da tirosina quinase.

Fator de Crescimento e Transformação: TGF-beta; TGF-alfa. Tem 30% de homologia com o fator de crescimento epitelial.

Insulina Semelhante Fator de Crescimento: IGF-1 e IGF-2

Fator de Crescimento Derivado de Plaqueta
Interleucina - 6



Boas Práticas em Cultura Celular

Contaminação Cruzada

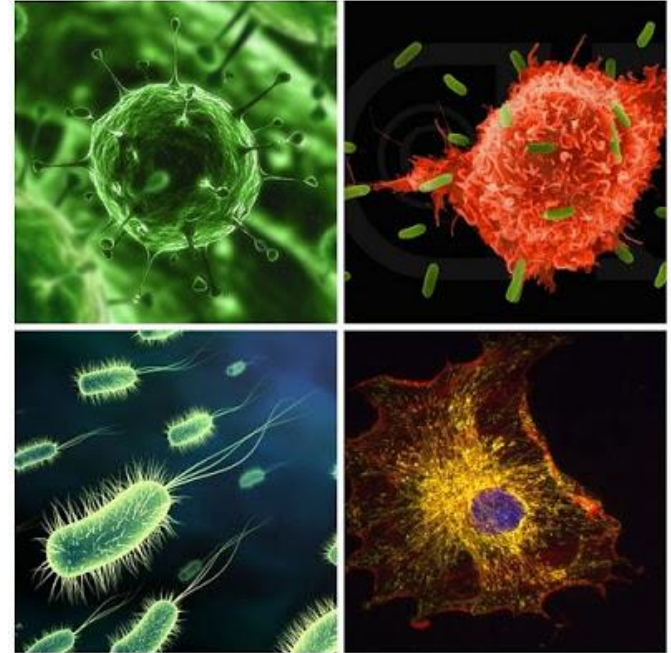
Problema geralmente negligenciando

Manutenção adequada dos equipamentos

Padronização dos Procedimentos

Treinamento e Educação

Trabalhos simultâneos



Boas Práticas em Cultura Celular

Promover um sistema efetivo de controle de qualidade;

Outros Materiais para condições de cultivos

Responsabilidades pelos Materiais

Monitoramento de reagentes em contato com as células

Correto uso e calibração dos seguintes equipamentos

Freezer de baixa temperatura

Estufas e incubadoras

Fluxo laminar e cabines de segurança biológica

pipetas e pipetadores automáticos

Estufas e autoclaves de esterelização

Equipamentos de produção e análise



Boas Práticas em Cultura Celular

Documentação e informação necessária para utilização dos materiais e métodos.

A documentação deve ser recuperável e deve conter:

1. O objetivo do trabalho
2. A base técnica para escolha dos materiais e procedimentos
3. Origem e característica das células
4. Protocolos laboratoriais incluindo resultados e conclusão dos insumos, matéria prima e controle de qualidade.
5. Preservação e estocagem das células
6. Registro de qualquer desvio durante processo e controle.



Boas Práticas em Cultura Celular

Transporte de células

O transporte de todo material químico, biológico e como qualquer outro material com potencial de risco seres humanos, animais e plantas ou meio ambiente devem estar de acordo com a legislação nacional e internacional.

http://www.iata.org/whatwedo/dangerous_goods

Todo material biológico deve ser transportado em pacotes inquebráveis, resistentes a vazamentos e corretamente identificados. Devem ser acompanhados com os documentos necessários a sua identificação e métodos de contenção em caso de acidentes.



Boas Práticas em Cultura Celular

Conformidade em relação as leis, regulamentações e princípios éticos.

Leis e Regulamentações:

ANVISA, Ministério da Saúde, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, WHO, ICH, FDA e EMEA.

Uso de material de origem animal

Decreto n.º 24.645, de 10 de julho de 1934

Lei Arouca (nº 11.794)

SBCAL

Uso de material de origem humana

ANIVISA, CONEP, WHO, EMEA e FDA

Organismos Geneticamente Modificados

Lei 11.105

CTNBio



Boas Práticas em Cultura Celular

Dentro da Boas Práticas de Laboratório em Cultura de Células devem incluir:

- Descrição do trabalho, *curriculum vitae*, registro de treinamentos e descrição da equipe de pesquisa.
- Manutenção e atualização de registros de estudos, sua natureza, testes utilizados, dados concluídos e nome dos diretores dos estudos
- Planos de estudos, Procedimento Operacional Padrão, associados aos registros de lotes, registro de controle de qualidade e certificados de análises
- Quadro da organização das facilidades, e Master Site Plan
- Detalhamento do serviço e manutenção de equipamentos
- Política do programa de saúde e treinamento das equipes
- Lista dos estudos e procedimentos e registro dos procedimentos para os apontamentos



Boas Práticas em Cultura Celular

