

 <b>Staatliche Gewerbeaufsicht Niedersachsen</b> Behörde für Arbeits-, Umwelt- und Verbraucherschutz	<b>Information für Betreiber</b> <b>-Gentechnik -</b>	Version: V02 gültig ab: 01.07.2020
	Mykoplasmen - Kontaminationen in Zellkulturen	Seite 1 von 2

# Mykoplasmen - Kontaminationen in Zellkulturen

## 1 Einleitung

Kreuzkontaminationen und Kontaminationen mit Mykoplasmen gehören zu den häufigsten Problemen in der Zellkulturtechnik. Eine regelmäßige Testung der Zellkulturen und die Einhaltung der Regeln der guten Zellkulturpraxis sind daher von großer Bedeutung für ein sicheres Arbeiten mit Zellkulturen. Nach der TRBA 468 [1] sowie den Richtlinien der „Guten Laborpraxis/Zellkulturpraxis“ wird empfohlen, Zellkulturen mindestens alle 3 Monate auf Mykoplasmen - Kontaminationen zu überprüfen und grundsätzlich eine räumliche Trennung von kontaminierten und sauberen Kulturen einzuhalten.

Auch im Rahmen von gentechnischen Arbeiten mit Zellkulturen ist von den Betreibern regelmäßig zu prüfen, ob die Zelllinien Organismen höherer Risikogruppen enthalten und/oder abgeben können.

Mykoplasmen sind sehr kleine ( $< 0,2 \mu\text{m } \varnothing$ ), parasitierende Bakterien. Einige Arten können bei Menschen und Tieren Krankheiten hervorrufen und werden deshalb der Risikogruppe 2 zugeordnet [1]. Durch die chronische Infektion mit Mykoplasmen können außerdem Funktionstüchtigkeit, Stoffwechsel und Wachstum sowie immunologische und biochemische Eigenschaften der im Labor verwendeten tierischen und humanen Zellkulturen beeinträchtigt werden.

Etwa 15-35% aller tierischen und humanen Zellkulturen sind erfahrungsgemäß mit Mykoplasmen infiziert; außer *M. orale* (Risikogruppe 1) gehören alle der nachgewiesenen Mykoplasmen zur Risikogruppe 2 [2, 3].

## 2 Nachweisverfahren

Für die Überprüfung von Zellkulturen auf Mykoplasmen eignen sich kommerzielle Kitsysteme oder auch veröffentlichte PCR-Verfahren. Das inzwischen als Amtliche Methode nach §28b Gentechnikgesetz [4] veröffentlichte Multiplex-PCR-Verfahren nach Uphoff *et al.* 2002 [3], welches auch routinemäßig im Rahmen der Gentechniküberwachung vom niedersächsischen Überwachungslabor eingesetzt wird, basiert auf der spezifischen Amplifikation eines DNA-Abschnitts des Mykoplasma-16S rRNA-Gens. Damit können Zellkulturen auf die Anwesenheit der relevanten Mykoplasmenspezies und auf *Acholeplasma laidlawii* hin untersucht werden.

## 3 Maßnahmen

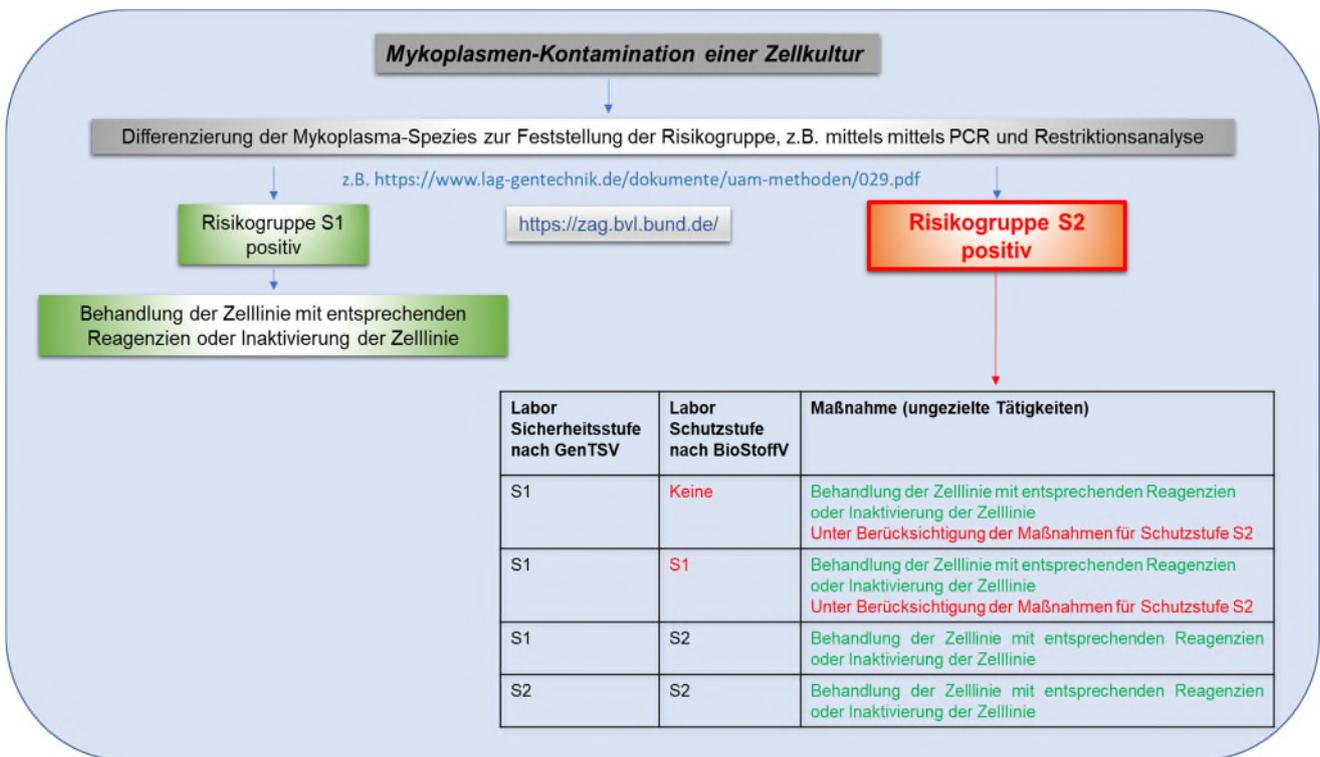
Neben der beschriebenen grundsätzlichen Problematik hat die Kontamination einer Zellkultur mit Mykoplasmen möglicherweise Auswirkungen auf den rechtskonformen Umgang im jeweiligen Labor. So muss bei einer Kontamination von Zelllinien mit Mykoplasmen der Risikogruppe 2, die im Rahmen von gentechnischen Arbeiten als Empfängerorganismen verwendet werden, in einer gentechnischen Anlage der Sicherheitsstufe S1 sichergestellt werden, dass bei den nachfolgenden Arbeiten (Behandlung der Zelllinien oder Inaktivierung) nach Bekanntwerden der Kontamination auf jeden Fall die Schutzstufe 2 gemäß Biostoffverordnung eingehalten wird. Die Behandlung der mit Biostoffen der Risikogruppe 2 kontaminierten Zelllinien mit Antibiotika oder die Inaktivierung ist nach TRBA

100 [5] als nicht-gezielte Tätigkeit anzusehen und nach Biostoffverordnung damit nicht anzeigepflichtig. Die Arbeiten dürfen jedoch nur in Laboren unter Berücksichtigung der für Schutzstufe 2 erforderlichen Maßnahmen durchgeführt werden.

Gezielte Arbeiten mit den mit Biostoffen der Risikogruppe 2 kontaminierten Zelllinien sind dagegen anzeigepflichtig nach §16 Abs.1 (1a) Biostoffverordnung.

Zur Veranschaulichung der Verfahrensweisen in gentechnischen Laboren der Sicherheitsstufen S1 und S2 bei Kontamination mit Biostoffen der Risikogruppe 1 bzw. 2 dient das nachstehende Fließschema.

**Abbildung 1: Fließschema zu den Handlungsoptionen im Falle von Mykoplasmen-befallenen Zellkulturen in gentechnischen Anlagen**



GenTSV = Verordnung über die Sicherheitsstufen und Sicherheitsmaßnahmen bei gentechnischen Arbeiten in gentechnischen Anlagen;

BioStoffV = Verordnung über Sicherheit und Gesundheitsschutz bei Tätigkeiten mit Biologischen Arbeitsstoffen

## 4 Literaturhinweise

- [1] ABAS, "TRBA-468: Liste der Zelllinien und Tätigkeiten mit Zellkulturen," ed: BAuA, 2012.
- [2] ABAS, "TRBA-466: Einstufung von Prokaryonten (Bacteria und Archaea) in Risikogruppen," ed: BAuA, 2015.
- [3] C. C. Uphoff and H. G. Drexler, "Comparative PCR analysis for detection of mycoplasma infections in continuous cell lines," (in eng), *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, vol. 38, no. 2, pp. 79-85, Feb 2002, doi: 10.1290/1071-2690(2002)0382.0.CO;2.
- [4] *Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 28b GenTG, G 21.40-3 (2015): Qualitativer Nachweis von Mykoplasmen-DNA in Zellkulturen mittels Multiplex-PCR.*
- [5] ABAS, "TRBA-100: Schutzmaßnahmen für Tätigkeiten mit biologischen Arbeitsstoffen in Laboratorien," ed: BAuA, 2013.