



www.efbs.admin.ch



Schweizerische Eidgenossenschaft
Confédération suisse
Confederazione Svizzera
Confederaziun svizra

Swiss Confederation

Eidgenössische Fachkommission für biologische Sicherheit EFBS
Commission fédérale d'experts pour la sécurité biologique CFSB
Commissione federale per la sicurezza biologica CFSB
Cumissiun federala per la segirezza biologica CFSB

Swiss Expert Committee for Biosafety SECB

Empfehlung der EFBS

zum sicheren Umgang mit menschlichen und tierischen Zellen und Zellkulturen

Juni 2011

Eidgenössische Fachkommission für biologische Sicherheit,
c/o Bundesamt für Umwelt BAFU, 3003 Bern
Tel. +41 58 46 303 55
info@efbs.admin.ch
<http://www.efbs.admin.ch>

Inhalt

1. Ziel und Anwendungsbereich.....	3
2. Kriterien zur Einstufung von Zellen in Gruppen.....	3
3. Einstufung einer Tätigkeit mit Zellen in eine Klasse.....	5
4. Sichere, sterile Arbeitspraxis	7
5. Generelle Referenzen	8
6. Textreferenzen	9

1 Ziel und Anwendungsbereich

Die vorliegende Empfehlung der EFBS soll Anwender bei der Risikobewertung zum sicheren Umgang mit menschlichen und tierischen Zellen und Zellkulturen in geschlossenen Systemen unterstützen. Sie bezieht sich dabei auf die Anforderungen der Verordnung über den Umgang mit Organismen in geschlossenen Systemen (ESV)¹ und der Verordnung über den Schutz der Arbeitnehmerinnen und Arbeitnehmer vor Gefährdung durch Mikroorganismen (SAMV)².

Das grösste Risiko beim Umgang mit Zellen ist deren Fähigkeit, pathogene Mikroorganismen unbemerkt zu beherbergen und zu vermehren. Eine Kontamination mit pathogenen Mikroorganismen bzw. Kreuzkontamination mit anderen Zellen kann während der Arbeit relativ leicht geschehen. Deshalb ist nicht nur die Bewertung des ursprünglichen Risikos der Zellen, sondern auch der sichere Umgang zur Verhinderung von Kontaminationen während der Arbeit massgebend.

2 Kriterien zur Einstufung von Zellen in Gruppen

- Zellen als solche sind in der Regel nicht infektiös. Sie überleben nicht³, wenn sie in einen Körper injiziert werden und sind auch in der Umwelt nicht überlebensfähig⁴.
- Eine Kontamination mit pathogenen Mikroorganismen kann durch Viren, Mykoplasmen, Bakterien, Pilze und Parasiten verursacht werden, wobei Viren und Mykoplasmen latent und unerkant vorhanden sein können⁵. Die wichtigsten Virenkontaminationen sind humane Retroviren, sowie Herpesviren von Mensch und anderen Primaten. Mykoplasmen stammen von Kreuzkontaminationen mit infizierten Zellen (kontinuierliche Zelllinien bis 35%, primäre Zellen 1 – 5%). Nur wenige Mykoplasmen sind jedoch humanpathogen⁶.
- Das Infektionsrisiko kontaminierter Zellen für den Menschen ist abhängig von deren phylogenetischer Nähe: menschliche Zellen > Zellen nicht-humaner Primaten > andere Säugerzellen, Vögel > Invertebraten⁷. Deshalb wird von der Verwendung autologer Zellen (Arbeiten mit von sich selbst entnommenen Zellen) abgeraten⁸.
- Das Gewebe, aus welchem die Zellen stammen, hat einen Einfluss auf die Empfindlichkeit möglicher Infektionen: Zellen aus peripherem Blut > von lymphoiden Zellen > neuronales Gewebe > Endothelium > Darmepithel > Epithel > Fibroblasten⁷.
- Auch charakterisierte Zelllinien sind nicht immer frei von Kontaminationen und die Vertrauenswürdigkeit der Bezugsquelle ist zu berücksichtigen.
- In einer Studie der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ) wurde gezeigt, dass 14.9% von 550 analysierten Zellen falsch identifiziert waren⁹. In vielen Fällen geschah die Falschidentifikation bereits bei der ursprünglichen Isolierung.
- Kontinuierliche Zelllinien entstehen durch spontane Entwicklung (CHO, Vero), unkontrollierte Mutation, können aus Tumoren gewonnen (Hela) oder durch Transformation mit onkogenen Viren immortalisiert werden⁷. Sie können bei unfallmässiger Injektion neoplastisch werden.
- Inserts, die transformierend sind oder für Pathogenitätsfaktoren oder toxische Proteine kodieren (z.B. onkogene Sequenzen aus der Immortalisierung durch onkogene Viren), oder biologisch aktive Moleküle, die in den Zellzyklus eingreifen (Cytokine, Hormone, Wachstumsfaktoren, Antigene)^{10,11}, können bei Expression ein Risiko darstellen.

Eine genaue Risikobewertung kann nur bei Vorhandensein ausreichender Informationen erfolgen. Das setzt voraus, dass die Zellen identifiziert, gut charakterisiert und auf mögliche Kontaminationen getestet sind. Sind diese Informationen nicht vorhanden, sollte deren Fehlen als Unsicherheit mit potentielltem Risiko betrachtet werden (WHO, Laboratory Biosafety Manual)¹².

In diesem Zusammenhang kann abgewogen werden, ob sich der Aufwand, zusätzliche Informationen zu beschaffen, beispielsweise mittels Dokumentation, Testen und

Charakterisieren von Zellen, lohnt oder ob es sinnvoller ist, unzureichende Informationen mit einer höheren Einstufung des Risikos abzugleichen.

Tabelle 1: Einstufung von Zellen in Gruppen

Art der Zellen	Gruppe
<p>Primäre Zellen und Zelllinien, bei denen ein Verdacht auf eine Infektion mit einem spezifischen pathogenen Mikroorganismus besteht.</p> <p>Mensch: z.B. Zytomegalievirus, Eppstein-Barr-Virus, Humanes Herpes 8 Virus, humane T-Zell-Leukämie-Viren I und II, Hepatitis A Virus, Parvovirus B19, je nach Herkunft West-Nile-Virus oder andere¹³.</p> <p>Primaten: Gelbfieberevirus, Kyasanu Forest Virus, Marburg, Ebola, Simian Hemorrhagic Fever Virus, Tollwutvirus, Hepatitis A Virus, Poliovirus, Herpes B Virus, SV40, Simian Immunodeficiency Virus, Affenpockenvirus, Simian Foamy Virus¹⁴ oder Prionen¹⁵.</p> <p>Nager: z.B. Lymphocytic Choriomeningitis Virus, Hantaan Virus.</p>	Gruppe des pathogenen Mikroorganismus
<p>Primäre Zellen und Zelllinien, bei denen eine Infektion nicht ausgeschlossen werden kann. Das Risiko, dass primäre Zellen von nicht auffälligen Spendern mit pathogenen Mikroorganismen kontaminiert sein können, wird allgemein als gering angenommen^{16, 17, 18}.</p>	Gruppe 2
<p>Primäre Zellen und Zelllinien, bei welchen eine Infektion mit einem pathogenen Mikroorganismus mit grösster Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden kann.</p> <p>Je nach Herkunft gelten folgende Kriterien:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Zellen von Menschen: Primäre Zellen aus gesunden Spendern, wenn die Zellen negativ auf mindestens HIV, HCV und HBV getestet sind. Jedoch können, abhängig vom Zelltyp und von möglichen, mit dem Spender verbundenen Risikofaktoren (z.B. Exposition gegenüber tropischen Erregern) zusätzliche Tests für eine abschliessende Einstufung notwendig sein. - Zellen von Tieren aus SPF (specific pathogen free)-Zuchten oder von Tieren, von denen angenommen werden kann, dass sie frei von Tierseuchen¹⁹ und Zoonosen sind. - Zellen von Tieren, die Symptom-frei und unter den Bedingungen der Richtlinien der Federation of European Laboratory Animal Science Associations (FELASA) gehalten werden²⁰. <p>Als Referenz für die Abwesenheit pathogener Organismen in Zellen gilt auch der Qualitätstest der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen DSMZ²¹.</p>	Gruppe 1
<p>Identifizierte und gut charakterisierte Zelllinien^{22, 23, 24} (einschliesslich primäre Zellen), die bekannterweise nicht mit spezifischen pathogenen Mikroorganismen infiziert sind (Zertifikat der Zellbank (DSMZ, ECACC, ATCC, ...), bzw. des Lieferanten).</p>	Gruppe 1
<p>Identifizierte und gut charakterisierte Zelllinien oder primäre Zellen, die mit einem spezifischen pathogenen Mikroorganismus infiziert sind (einschliesslich absichtlicher Infektion).</p>	Gruppe des pathogenen Mikroorganismus
<p>Humane Zellen mit Gensequenzen, die einen schädlichen Effekt haben könnten, wenn sie exprimiert werden (auch unter nicht gewöhnlichen Kulturbedingungen).</p> <p>Zum Beispiel:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Gene von Tumoviren, die für das onkogene Potenzial der Viren verantwortlich sind, - Gene, die massgeblich an der Entstehung humaner Tumore beteiligt sind, - Gene, die in vitro Säugerzellen transformieren und - Gene, die im Tierversuch Tumore erzeugen^{25, 26, 27, 28, 29}. 	Gruppe 2
<p>Zellen, die potentiell schädliche Gensequenzen enthalten, diese aber nicht exprimieren können.</p>	Gruppe 1, wenn Pathogen-frei

3 Einstufung einer Tätigkeit mit Zellen in eine Klasse

Generelle Bemerkung: Die Einstufung der Tätigkeit mit menschlichen oder tierischen Zellen in die Klasse 1 sollte nur erfolgen, wenn die Zellen aufgrund ausreichender Informationen zu ihren Eigenschaften sicher der Gruppe 1 zugeordnet werden können und mit den Zellen unter sicherer, steriler Arbeitspraxis (Abschnitt 4) umgegangen wird.

Tabelle 2: Einstufung von Tätigkeiten mit Zellen in Klassen

Tätigkeit	Klasse
Kulturen von charakterisierten Zellen der Gruppen 1 – 3	Klasse gemäss Gruppe der Zellen, bzw. des pathogenen Mikroorganismus
<i>Beispiele:</i>	
- Kultivierung gut charakterisierter und negativ auf pathogene Mikroorganismen getesteter, primärer menschlicher Gewebezellen mit Wachstumsfaktoren zur Bildung von Knochentransplantaten.	Klasse 1
- Kultivierung von Zellen zur anschliessenden (z.B biochemischen) Analyse, die einen Organismus der Gruppe 3 enthalten (können), sofern <u>keine explizite Vermehrung dieser Organismen angestrebt</u> wird.	Klasse 2
- Kultivierung von CESS, einer etablierten, humanen Lymphoblasten-Zelllinie, welche das gesamte Genom von Epstein Barr Virus (EBV, Gruppe 2) besitzt und EBV produzieren kann.	Klasse 2
- Ko-Kultivierung menschlicher primärer Zellen (Gruppe 2), die Cytomegalovirus (Gruppe 2) enthalten, mit SPF-Schweinezellen (Gruppe 1).	Klasse 2
- Kultivierung primärer Hundezellen (Gruppe 2) infiziert mit Staupevirus (Canine Distemper Virus, Gruppe 2).	Klasse 2
- Kultivierung von ScGT-1, einer Maus-Neuroblastom-Zelllinie, die mit Scrapie (Gruppe 2) infiziert ist.	Klasse 2
- Kultivierung von HuT 102, einer humanen T-Lymphozyten-Zelllinie, die das Humane T-lymphotrope Virus (HTLV-1, Gruppe 3) produzieren kann.	Klasse 3
Produktion von Viren oder viralen Vektoren auf Zellkulturen³⁰	Klasse gemäss Gruppe des Vektors oder Virus
<i>Beispiele:</i>	
- Produktion von replikations-defizienten, ecotropen, retroviralen Vektoren (Gruppe 1) auf etablierten murinen Zelllinien (Gruppe 1).	Klasse 1
- Produktion von infektiösen, replikations-defizienten lentiviralen Vektoren (Gruppe 2) auf Zelllinien der Gruppe 1, wenn dabei keine nativen Viren oder replikations-kompetente Vektoren entstehen.	Klasse 2
- Produktion VSV-G pseudotypisierter, replikations-inkompetenter viraler Vektoren mit den Sequenzen des humanen endogenen Retrovirus HERV (Gruppe 3) auf etablierten Zelllinien (Gruppe 1).	Klasse 3
- Produktion von HIV auf Zelllinien der Gruppe 1.	Klasse 3
Kultur von Zellen mit unzureichender Charakterisierung oder mit Verdacht auf Infektion mit pathogenen Mikroorganismen	Klasse 2 Klasse 3 (bei Verdacht auf Mikroorganismen der Gruppe 3)
<i>Beispiele:</i>	
- Kultivierung verschiedener primärer humaner Tumorzellen (RG2) zur Analyse von Mutationen in spezifischen, für die tumorigenen Eigenschaften verantwortlichen Sequenzen mittels DNA-Hybridisierungstests.	Klasse 2
- Kultivierung von Leberkarzinomzellen von HBV-seropositiven Personen.	Klasse 3

Tätigkeit	Klasse
Zellen mit gentechnischen Veränderungen³¹	Klasse gemäss Bewertung des Risikos der Zellen, Vektoren und Inserts
<ul style="list-style-type: none"> - Eigenschaften der Wirtszelllinien (bei Hybridomen sind die Eigenschaften beider Zellen zu beachten), - Vektor, der für die Transformation verwendet wird (Plasmide, virale Vektoren), - Transfer viraler Sequenzen, Transfer von Virulenzfaktoren, - Versuche zur Aktivierung endogener Retroviren, - Expression rekombinanter Genprodukte, Vorhandensein von Helferviren. <p>Zu berücksichtigen gilt auch, dass gewisse Gene (z.B. Tumorigenität) erst mit zunehmendem Alter, d.h. Passagenzahl einer Zellkultur oder nur unter spezifischen Kulturbedingungen (pH, Nähr- und Zusatzstoffe) exprimiert werden (z. B. inserierte retrovirale Sequenzen).</p> <p>Beispiele:</p>	
<ul style="list-style-type: none"> - Expression von nicht funktionellem, menschlichem Interleukin in kommerziell erhältlichen, zertifizierten Insektenzelllinien (<i>Spodoptera frugiperda</i>), die mit nicht infektiösen, kommerziell erhältlichen, gut charakterisierten Vektoren (Baculovirus) transfiziert wurden. 	Klasse 1
<ul style="list-style-type: none"> - Expression humaner Wachstumsfaktoren in gut charakterisierten Insekten- und Mauszelllinien der Gruppe 1 sowie etablierten, gut charakterisierten menschlichen Zelllinien der Gruppe 1. 	Klasse 1
<ul style="list-style-type: none"> - Überexpression von DNA-Repair-Proteinen in gut charakterisierten primären Zellen der Gruppe 1. 	Klasse 1
<ul style="list-style-type: none"> - Transfektion primärer muriner neuronaler Zellen von Mäusen, die unter FELASA-Bedingungen gehalten werden (Gruppe 1), mit attenuierten Pseudorabies Vektoren (Gruppe 2). 	Klasse 2
<ul style="list-style-type: none"> - Transfektion primärer humaner Beta-Zellen aus der Leber (Gruppe 2) mit adenoviralem Vektor (Gruppe 2) mit siRNA für Diabetes Gene. 	Klasse 2
Arbeit mit Zellen (Gruppe 1) für biochemische Untersuchungen, ohne Kultivierung	Anforderungen der SAMV zum Schutz vor Exposition gegenüber potentiell infektiösem Material befolgen
<p>Arbeit mit Zellen (auch Blut, Biopsien), die keine Vermehrung der Zellen, bzw. der allfällig vorhandenen pathogenen Mikroorganismen beinhaltet und die nicht die Identifikation pathogener Mikroorganismen bezweckt, gilt nicht als Umgang mit pathogenen Mikroorganismen und fällt daher nicht unter den Geltungsbereich der ESV.</p> <p>Es wird empfohlen, die SUVA-Empfehlungen zur Verhütung blutübertragbarer Infektionen in medizinischen Laboratorien (1997, Bestellnummer: 2869/19.d) einzuhalten.</p> <p>Beispiele:</p> <p>Extraktion von Proteinen aus primärem menschlichem Probenmaterial zur Aufklärung der Kristallstruktur der Proteine.</p>	

4 Sichere, sterile Arbeitspraxis

Kontaminationen von Zellkulturen mit pathogenen Mikroorganismen oder Kreuzkontaminationen mit anderen Zellen können durch das Einhalten einer sicheren, sterilen Arbeitspraxis signifikant reduziert oder sogar vermieden werden.^{32, 33.}

Die Kontamination von Zellen während der Arbeit entsteht durch:

- bereits vorhandene Kontamination beim Erwerb der Zellen;
- kontaminierte Materialien wie Medien (z. B. Bovine Viral Diarrhoea Virus in Bovine Serum Albumin) und Additive zur Zellkultivierung;
- Kreuzkontaminationen mit anderen, im selben Labor verwendeten Zellen, die bekannter- oder unbekannterweise kontaminiert sind, oder durch andere mikrobiologische oder molekularbiologische Arbeiten im selben Labor;
- unabsichtliche Kontamination der Personen, die die Zellen handhaben (dokumentierte Beispiele sind: keine Handschuhe, Sprechen, Niesen, verstaubter Ärmel in der Biosicherheitswerkbank);
- die Luftzufuhr oder anderweitig aus der Umwelt.

Zur Vermeidung dieser Kontaminationen stehen folgende Methoden zur Verfügung^{34.}:

- Einhalten bzw. Überprüfen guter Laborpraxis: Verwenden steriler, zertifizierter Medien und Verbrauchsmaterialien, persönliche Hygienemassnahmen (Handschuhe, Labormantel), regelmässige Dekontamination der Werkbänke und Geräte, Arbeit in einer biologischen Sicherheitswerkbank der Klasse II, die nicht überstellt ist;
- Masterzellbanken sicher verwenden und strategisch verwalten, Aufteilen der Zellen in Master- und Arbeitszellbanken mit tiefen seriellen Überimpfungszahlen (Passagen);
- so wenig wie möglich Antibiotika verwenden;
- Testen der verwendeten Zelllinien zum Nachweis von Kontaminationen, bzw. zur Bestätigung des Fehlens von Kontaminationen.

Tests zur Identifikation oder Kontamination von Zelllinien können bei den meisten kommerziellen Zelllinien-Lieferanten entweder bezogen oder durchgeführt werden^{35.}

Im Falle einer Kontamination wird empfohlen, die Zelllinie sachgemäss zu entsorgen und wenn möglich mit einer frischen Kultur aus der Masterzellbank weiterzuarbeiten. Eine Kontamination z.B. mit Mycoplasmen oder Viren zu entfernen ist sehr aufwändig oder fast unmöglich.

Anstatt Zelllinien routinemässig zu testen, können auch höhere Sicherheitsmassnahmen getroffen werden. Falls aber hohe Qualitätsstandards und Qualitätsprogramme in einem Betrieb vorhanden sind, kann die Tätigkeit unter Umständen in einer tieferen Risikoklasse durchgeführt werden.

5 Generelle Referenzen

- CDC - NIH, 2007, Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, 5th edition, <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/bmbl5/index.htm>.
- Commission de Génie Génétique (France), 2001. Principes de classement et guides officiels de la commission de génie génétique. Chapitre 3, http://media.enseignementsup-recherche.gouv.fr/file/Commission_de_Genie_Genetique_/59/7/guide_161597.pdf
- Fleming D.O. & Hunt D.L., Biological safety principles and practices, Doblhoff-Dier O. & Stacey G., Cell lines: applications and biosafety, 2006, 4th Edition, ASM Press: 221-240.
- EMEA, 1996, Note for guidance on quality biotechnological products: analysis of the expression construct in cell lines used for production of r-DNA derived protein products, CPMP/ICH/139/95, http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002802.pdf
- European Collection of Cell Cultures, ECACC, <http://www.hpacultures.org.uk/collections/ecacc.jsp>
- Stacey G., 1995. Risk assessment of animal cell culture procedures, Biosafety Journal 1: 8, <https://tspace.library.utoronto.ca/retrieve/291/by95008.pdf>.
- Public Health Agency of Canada, 2013, Canadian Biosafety Standards and Guidelines, First edition, <http://canadianbiosafetystandards.collaboration.gc.ca/cbsg-nldcb/index-eng.php?page=1>.
- SBB, Service of Biosafety and Biotechnology, Belgium, 2005. Risques associés à l'utilisation de vecteurs viraux, d'inserts ou de cultures cellulaires, <http://www.biosafety.be/CU/Annexes/virFR.html>.
- SBB, Service of Biosafety and Biotechnology, Belgium, 2006, Animal cell cultures: risk assessment and biosafety recommendations, <http://www.biosafety.be/CU/animalcellcultures/mainpage.html>.
- WHO, 2004, Laboratory biosafety manual. 3rd Edition, <http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/Biosafety7.pdf>.
- ZKBS, Zentrale Kommission für die Biologische Sicherheit Deutschland, Allgemeine Stellungnahmen zur Zellbiologie, Primärzellstellungnahme (2010) http://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/06_Gentechnik/ZKBS/01_Allgemeine_Stellungnahmen_deutsch/10_Zellbiologie/Primaerzellstellungnahme.pdf?__blob=publicationFile&v=2

6 Textreferenzen

- 1 Verordnung über den Umgang mit Organismen in geschlossenen Systemen, ESV, SR 814.912, <http://www.admin.ch/opc/de/classified-compilation/20100803/index.html>.
- 2 Verordnung über den Schutz der Arbeitnehmerinnen und Arbeitnehmer vor Gefährdung durch Mikroorganismen (SAMV), SR 832.321, <http://www.admin.ch/opc/de/classified-compilation/19994946/index.html>.
- 3 HSE, 2005, Biological agents: managing the risks in laboratories and healthcare premises. Appendix 3.1. Cell cultures: 68-70, <http://www.hse.gov.uk/biosafety/biologagents.pdf>.
- 4 HSE, 2007, The SACGM Compendium of guidance, Part 2: Risk assessment of genetically modified microorganisms. 2.5. Work with cell cultures: 64-67, <http://www.hse.gov.uk/biosafety/gmo/acgm/acgmcomp/>.
- 5 EMEA, 1997. Note for guidance of biotechnological products: viral safety evaluation of biotechnology products derived from cell lines of human or animal origin. CPMP/ICH/295/95 http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002801.pdf.
- 6 Mycoplasma Contamination, Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ, Deutschland), 2004, http://www.dsmz.de/human_and_animal_cell_lines/main.php?content_id=95.
- 7 Pauwels K., Herman Ph., Van Vaerenbergh B., Dai Do Thi C., Berghmans L., Waeterloos G., Van Bockstaele D., Dorsch-Häsler K. & Sneyers M., 2007, Animal cell cultures: Risk assessment and biosafety recommendations. Applied Biosafety 12(1): 26–38.
- 8 Doblhoff-Dier O. & Stacey G., 2006. Cell lines: applications and biosafety. In Fleming D.O. & Hunt D.L., Biological safety principles and practices, 4th Edition, ASM Press: 221-240.
- 9 DSMZ, False leukemia and lymphoma cell lines, http://www.dsmz.de/human_and_animal_cell_lines/main.php?contentleft_id=97
- 10 EMEA, 2001, Position statement on the use of tumourigenic cells of human origin for the production of biological and biotechnological medicinal products, CPMP/BWP/1143/00, http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003294.pdf.
- 11 Fleckenstein B., Daniel M.D., Hunt R. et al., 1978, Tumour induction with DNA of oncogenic primate herpesviruses. Nature 274: 57-59.
- 12 WHO, 2004, Laboratory Biosafety Manual. 3rd Edition, <http://www.who.int/bookorders/anglais/detart1.jsp?sesslan=1&codlan=1&codcol=15&codcch=3213>
- 13 Sicherheit von Blutprodukten bezüglich viraler Infektionen, Niederhauser, Ch., Blutspendedienst SRK Bern, in pipette 3/2005, http://www.sulm.ch/pipette_magazin/files/pipette/2005-03/2005-03-019.PDF.
- 14 Pauwels K., Herman Ph., Van Vaerenbergh B., Dai Do Thi C., Berghmans L., Waeterloos G., Van Bockstaele D., Dorsch-Häsler K. & Sneyers M., 2007, Animal cell cultures: Risk assessment and biosafety recommendations. Applied Biosafety 12(1): 26–38.
- 15 Empfehlung der EFBS zur Einstufung von Tätigkeiten mit Prionproteinen, <http://www.efbs.admin.ch/de/dokumentation/empfehlungen/>.
- 16 Stellungnahme der ZKBS zur Einstufung gentechnischer Arbeiten mit primären Zellen aus Vertebraten http://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/06_Gentechnik/ZKBS/01_Allgemeine_Stellungnahmen_deutsch/10_Zellbiologie/Primaerzellstellungnahme.pdf?__blob=publicationFile&v=2
- 17 Belgian Biosafety Authorities, Animal cell cultures : Risk assessment and biosafety recommendations <http://www.biosafety.be/CU/animalcellcultures/mainpage.html>.
- 18 UK Scientific Advisory Committee on Genetic Modification, <http://www.hse.gov.uk/biosafety/gmo/acgm/acgmcomp/index.htm>.
- 19 Tierseuchenverordnung, TSV, SR 916.401 <http://www.admin.ch/opc/de/classified-compilation/19950206/index.html>.

-
- 20 Federation of European Laboratory Animal Science Associations (FELASA), Recommendations for the health monitoring of rodent and rabbit colonies in breeding and experimental units: <http://la.rsmjournals.com/cgi/reprint/36/1/20.pdf>
- 21 DMSZ, Human and Animal Cell Lines http://www.dsmz.de/human_and_animal_cell_lines/main.php?contentleft_id=21.
- 22 ATCC 2007: Cell line authentication test recommendations. ATCC Technical Bulletin 8, <http://www.atcc.org/~media/PDFs/Technical%20Bulletins/tb08.ashx>.
- 23 DMSZ, Human and Animal Cell Lines http://www.dsmz.de/human_and_animal_cell_lines/main.php?contentleft_id=21.
- 24 Liste gut charakterisierter, in Gruppen eingeteilter Zelllinien der ZKBS: <http://apps2.bvl.bund.de/cellswww/protected/main/cell.do>
- 25 Stellungnahme der ZKBS: Vorsichtsmassnahmen beim Umgang mit Nukleinsäuren mit onkogenem Potential http://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/06_Gentechnik/ZKBS/01_Allgemeine_Stellungnahmen_deutsch/10_Zellbiologie/Nukleinsauren_mit_onkogenem_Potenzial_2016.pdf?__blob=publicationFile&v=2
- 26 Empfehlung der EFBS: Risk assessment of activities with oncogenic and cytokine-encoding sequences, <http://www.efbs.admin.ch/de/dokumentation/empfehlungen/>.
- 27 Guidance from the Scientific Advisory Committee on Genetic Modification, UK, <http://www.hse.gov.uk/biosafety/gmo/acgm/acgmcomp/index.htm>.
- 28 Allgemeine Stellungnahme der ZKBS zur Risikobewertung der Expression von Tat-Fusionsproteinen http://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/06_Gentechnik/ZKBS/01_Allgemeine_Stellungnahmen_deutsch/08_Vektoren/Tat-Fusionsprotein.pdf?__blob=publicationFile&v=2
- 29 Empfehlung der EFBS: Risk assessment of work with TAT- or VP22-fusion proteins; <http://www.efbs.admin.ch/de/dokumentation/empfehlungen/>.
- 30 Empfehlung der EFBS: Classification of work with genetically modified viral vectors; <http://www.efbs.admin.ch/de/dokumentation/empfehlungen/>.
- 31 Public Health Agency of Canada, 2013, Canadian Biosafety Standards and Guidelines, First edition, 3.12. Cell lines: <http://canadianbiosafetystandards.collaboration.gc.ca/cbsg-nldcb/index-eng.php?page=11#a12>
- 32 EMEA, 1997. Note for guidance of biotechnological products: viral safety evaluation of biotechnology products derived from cell lines of human or animal origin. CPMP/ICH/295/95 http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002801.pdf
- 33 WHO, 2003, Requirements for the use of animal cells as *in vitro* substrates for the production of biologicals (Addendum 2003), WHO Technical Reports Series, http://www.who.int/biologicals/publications/amendment_cell_substrates_ecbs_nov_2003.pdf
- 34 Corning Life Sciences, 2002, Understanding and managing cell culture contamination, technical bulletin, Technical Bulletin - CLS-AN-020 REV2, <http://www.level.com.tw/html/ezcatfiles/vipweb20/img/img/20297/contamination-COR.pdf>
- 35 A. Stang et al., 2009, Unintended spread of a biosafety level 2 recombinant retrovirus. *Retrovirology* 6(86):1-6