



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

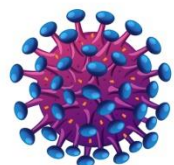
PFA

**Formazione Interdisciplinare su Attività di Sanità Animale presso le Strutture di
Biotecnologie e Diagnosi delle Malattie Virali**

2° Modulo

Caratteristiche Fondamentali del Laboratorio di Virologia Pratica

29 novembre – 11 dicembre 2018



HIV



Hepatitis B



Ebola Virus



Adenovirus



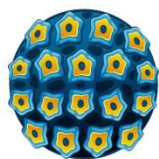
Influenza



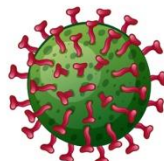
Rabies Virus



Bacteriophage



Paillomavirus



Rotavirus



Herpes Virus

www.focus.it

I VIRUS

Aspetti di Biosicurezza

Giusy Cardeti

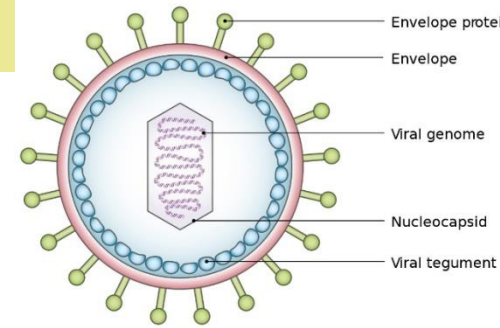
Lab. Microscopia elettronica e Virologia speciale



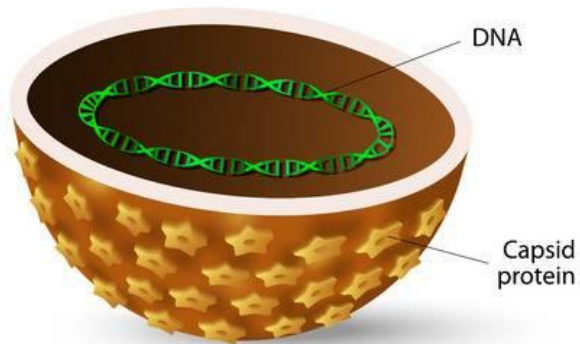
VIRUS: dal latino “veleno”

Definizione: parassiti endocellulari obbligati = incapaci di moltiplicarsi all'esterno di una cellula vivente

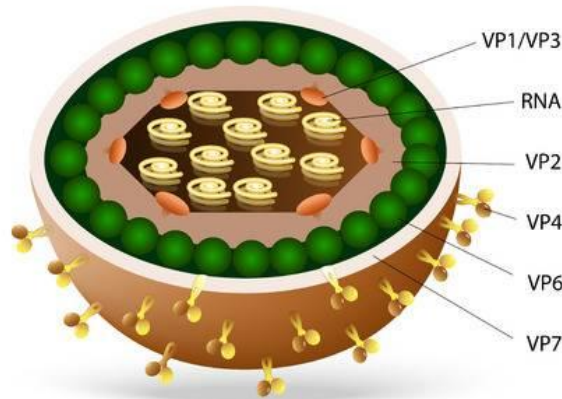
- Particella virale completa (stato extracellulare) -> **Virione** => virus maturo = particella infettante
- Genoma -> un tipo di acido nucleico: **DNA** o **RNA** -> ds o ss; (+) o (-)
Proteine stabilizzanti associate all'ac.nucleico-> *Core*
- Involucro di rivestimento -> **Capside** costituito da numerose subunità (**capsomeri**) -> simmetria elicoidale e icosaedrica; virus a struttura complessa (*Poxvirus, Retrovirus, PSA*)
- Ac.nucleico/core + capsid = **Nucleocapsid**
- Limitato numero di **enzimi** (tra cui DNA polimerasi o RNA polimerasi)
- In alcuni virioni -> ulteriore involucro di natura lipoproteica = **Envelope**
- superficie dell'-envelope -> **Peplomeri** = glicoproteine ad aculeo (**Spikes**) o globose (**Knobs**)
 - *Orthomyxovirus* -> gp HA e NA -> proprietà emoagglutinante e neuroaminidasi
 - *Coronavirus* -> gp S -> proprietà di fusione di membrana



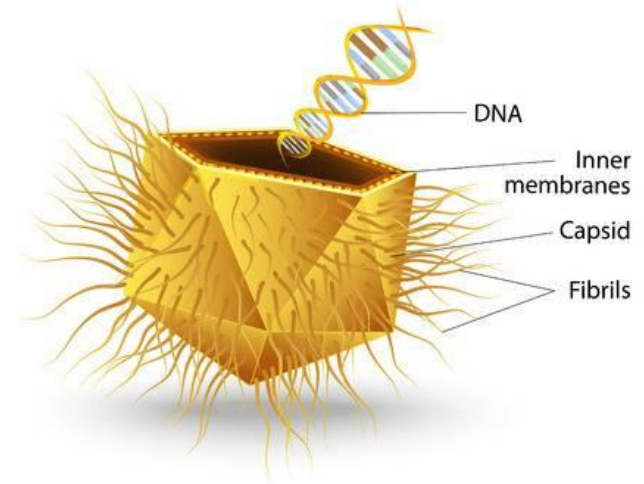
PAPILLOMAVIRUS



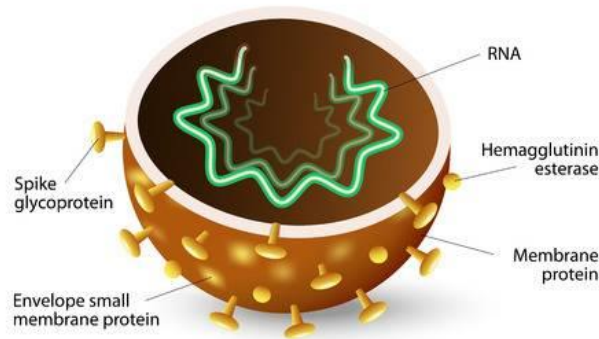
ROTAVIRUS



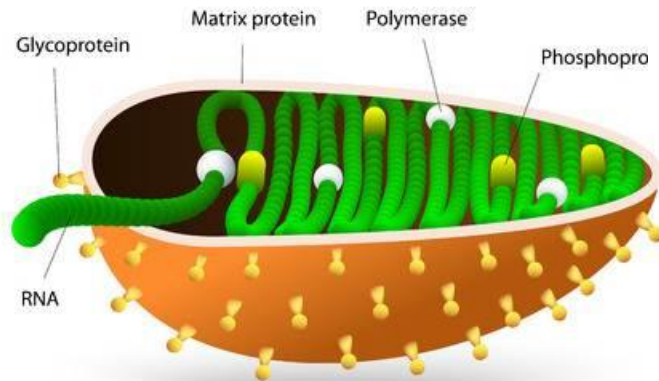
MIMIVIRUS



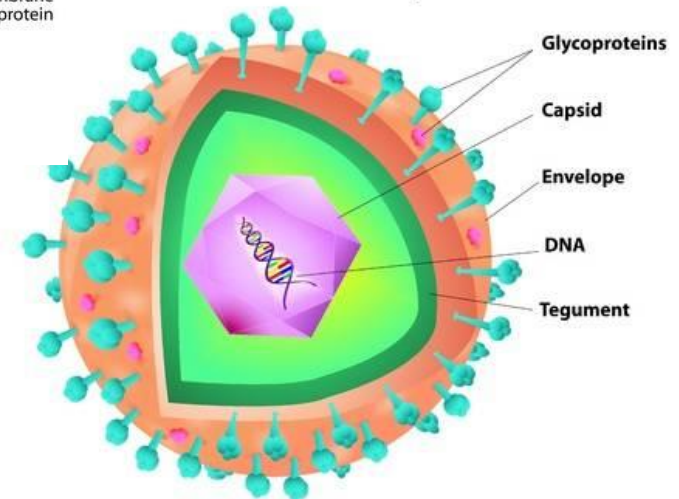
CORONAVIRUS



RABIES VIRUS



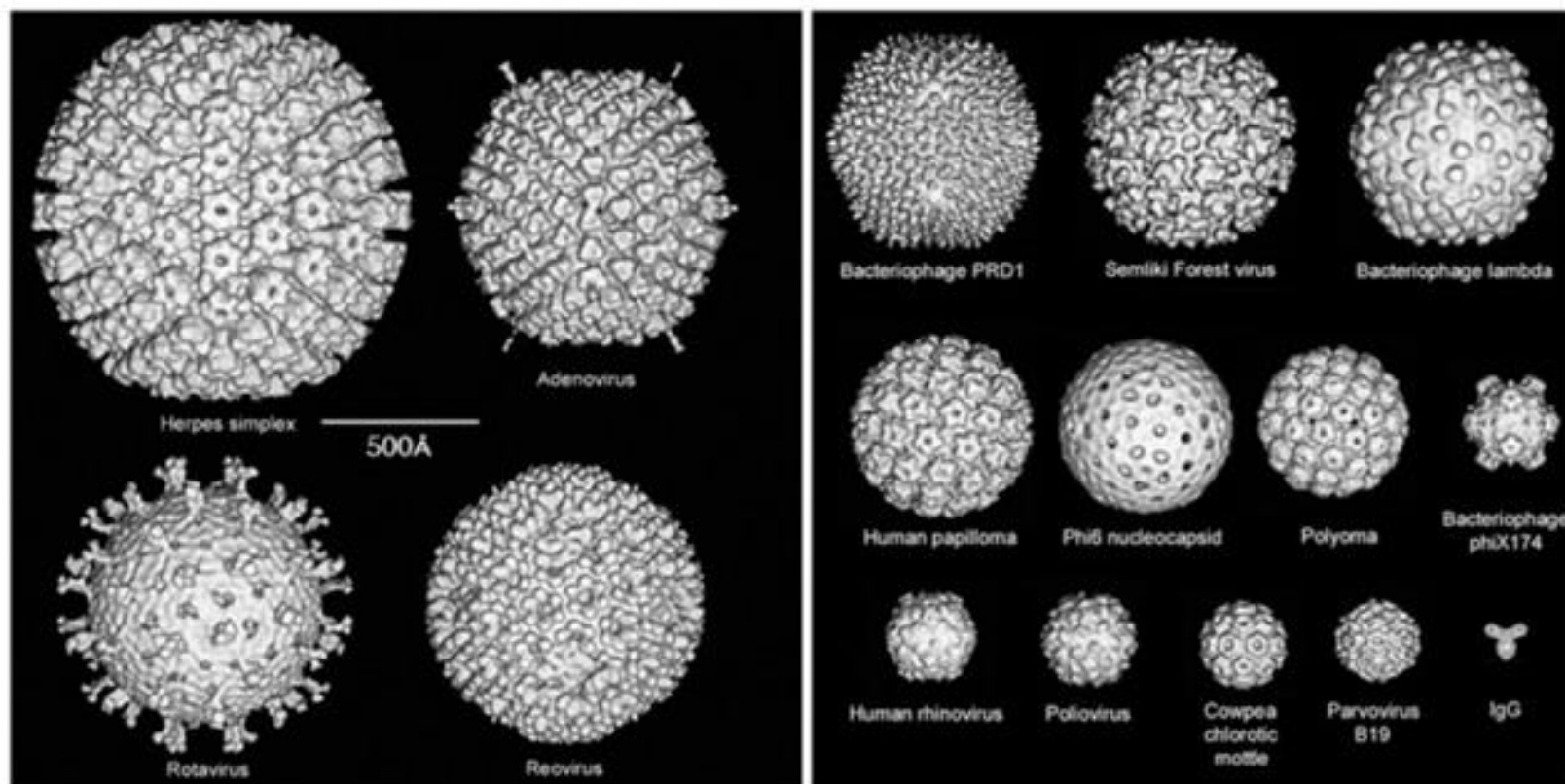
Structure of the Herpesvirus virion



i Virus (foto dal web)



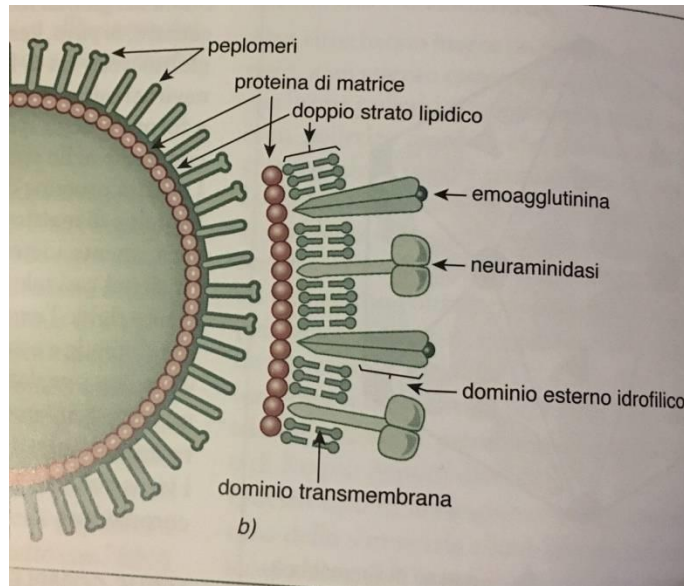
Simmetria Icosaedrica



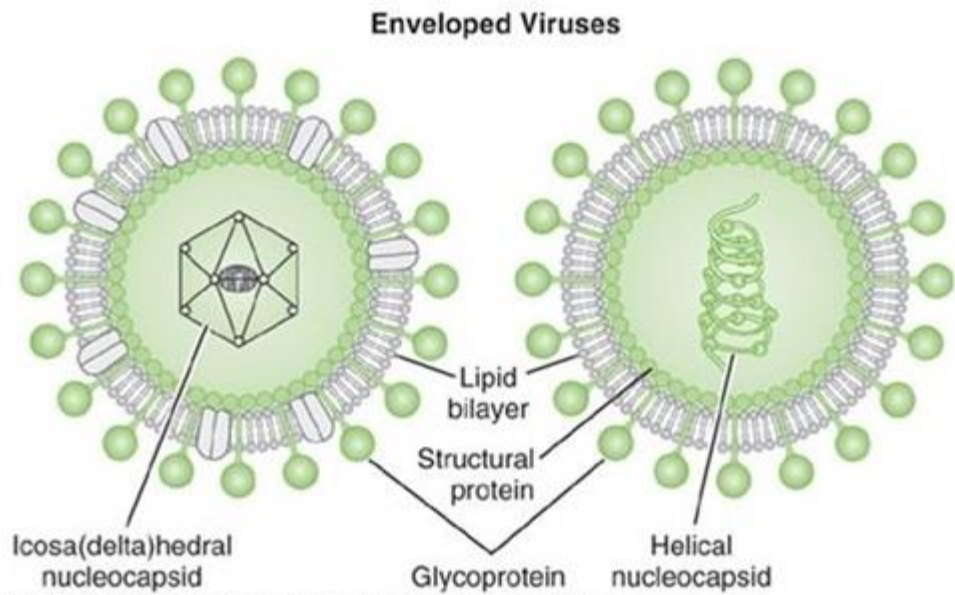
Field's Virology.
Fifth edition,
2007

Figure 3.1 A gallery of image reconstructions from electron cryomicroscopy of icosahedrally symmetric virus particles. The images illustrate the variety of sizes and specializations, even in these highly regular structures. The particles are labeled; the herpes simplex image is the nucleocapsid only. The image of an immunoglobulin molecule (IgG) is included on the same scale as the virus images for direct comparison. The scale bar corresponds to 500 Å. (Adapted from ref. 6, with permission.)

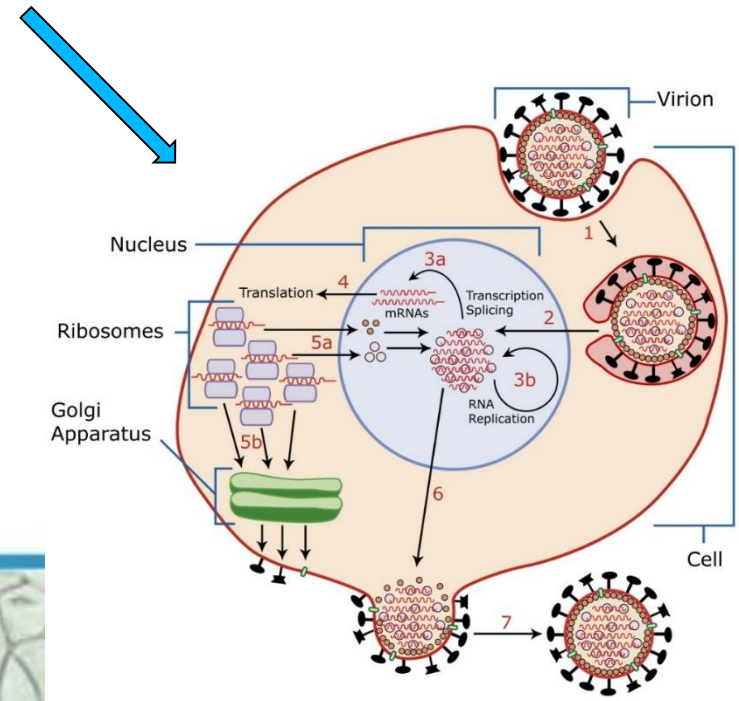
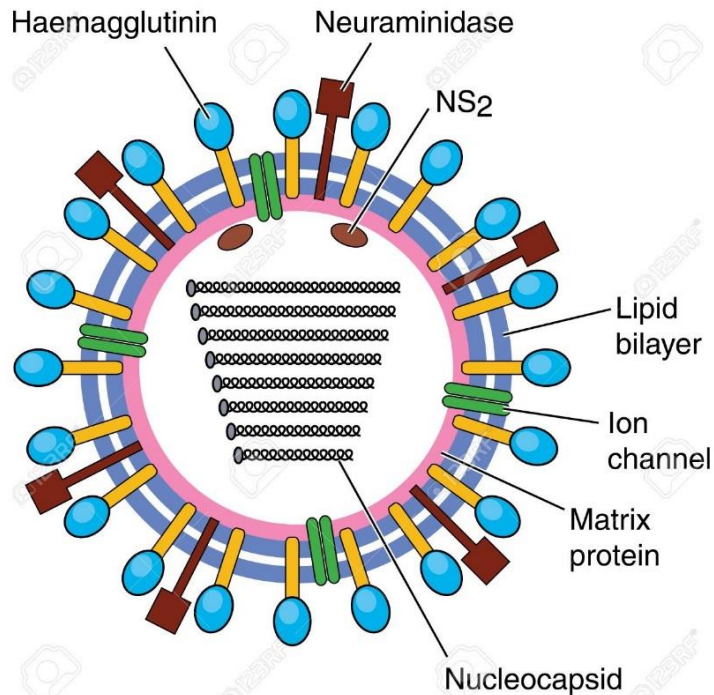
ENVELOPE



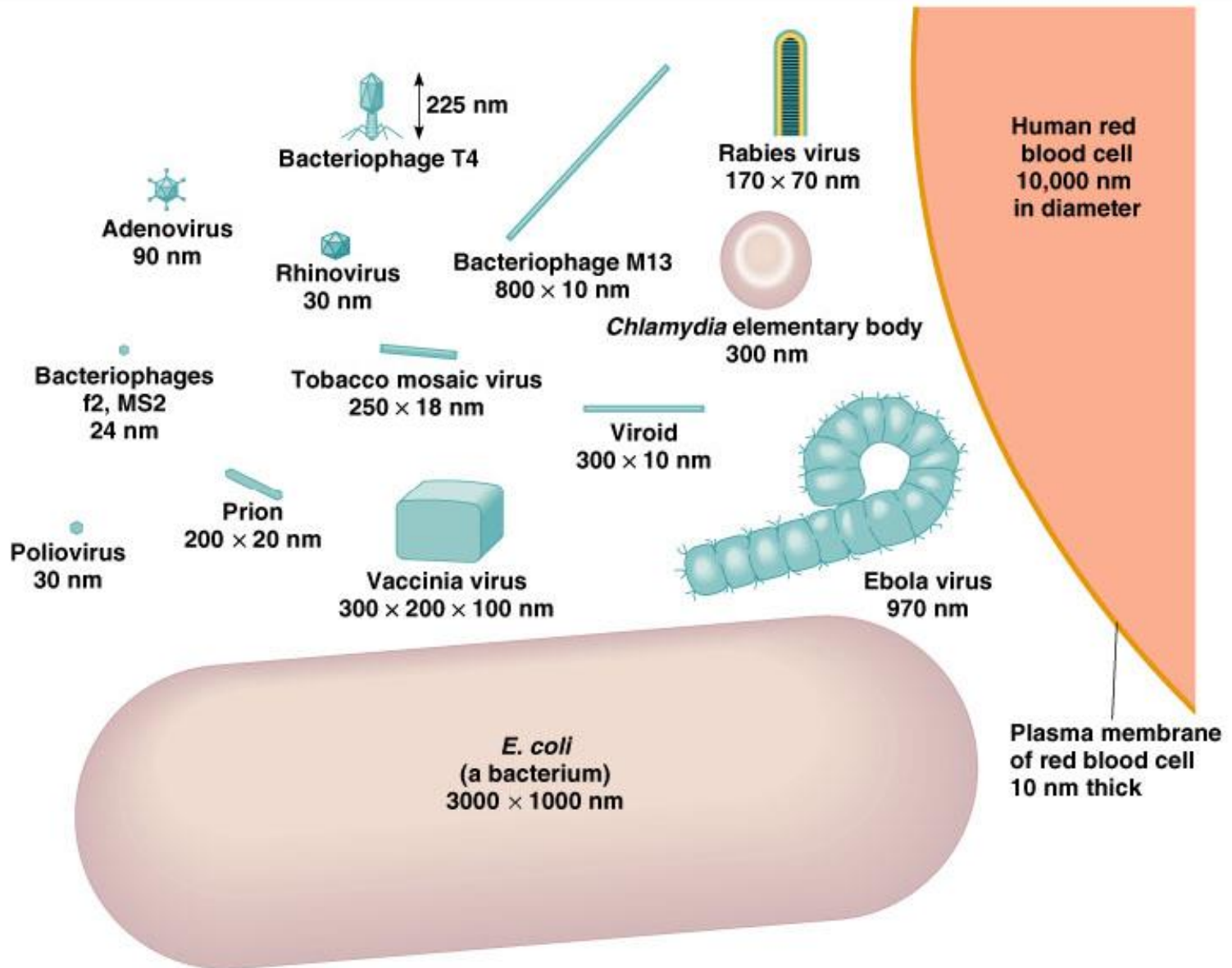
Poli, 2018



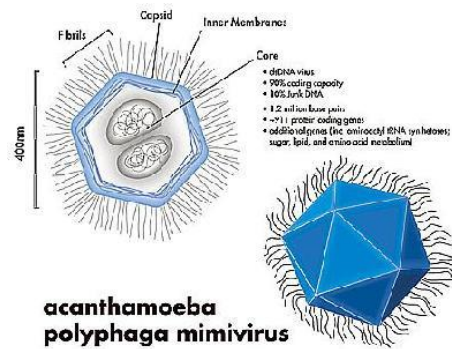
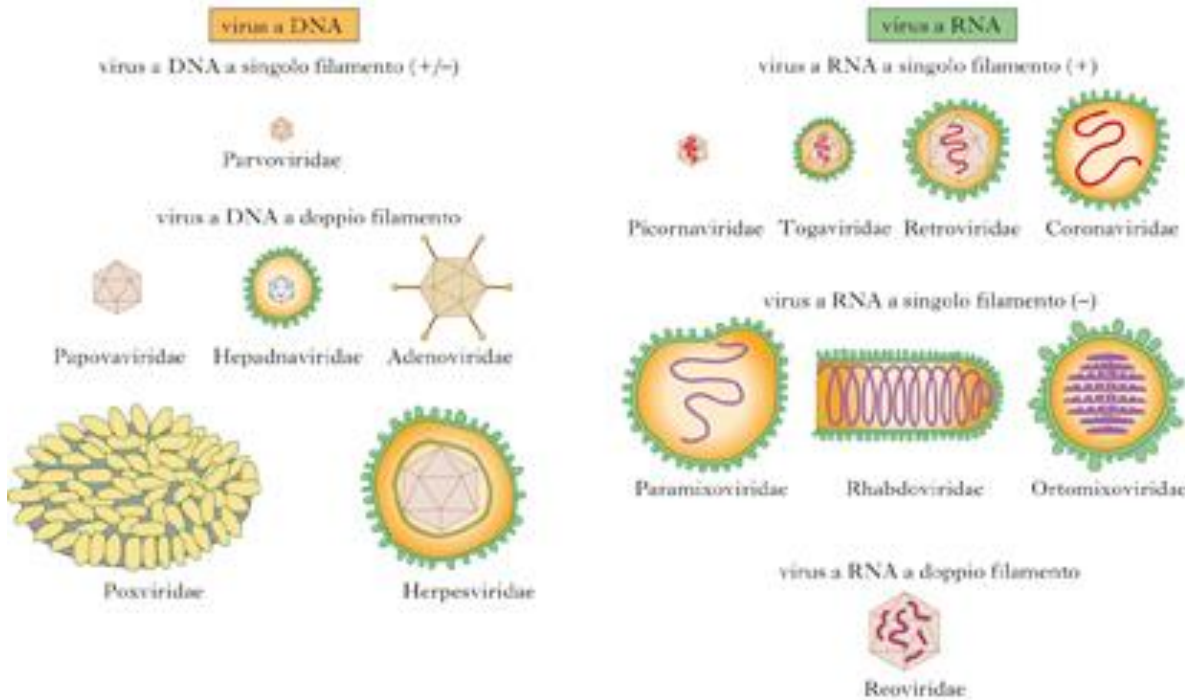
Rosenthal & Tan : Rapid Review Microbiology and Immunology, 3rd Edition
Copyright © 2011 by Mosby, an imprint of Elsevier, Inc. All rights reserved.



Dimensioni (10-300 nm)



Dal più piccolo (10 nm) al più grande (450-1500 nm)



Large and in charge

Giant viruses are so huge they can even have their own parasites - the biggest are almost the same size as some bacteria

Human immunodeficiency virus (HIV)

~100nm
Genes: 9
Discovered: Human blood

Mimivirus

~400nm
Genes: 1018
Discovered: Water tower, Bradford, UK

Mamavirus

~400nm
Genes: 1023
Discovered: Water tower, Paris, France
Can be infected by Sputnik virophage
• SPUTNIK VIROPHAGE ~50nm Genes: 21

Megavirus

440nm
Genes: 1120
Discovered: Ocean off Chile

Pithovirus

1500nm
Genes: 467
Discovered: 30,000-year-old Siberian ice core

E. coli bacterium

~2000nm
Genes: 4288
Discovered: Human colon

500nm

Nomenclatura e Classificazione (1)

Nomenclatura:

Inizialmente -> nome del virus in fx di: specie di isolamento, luogo, forma clinica

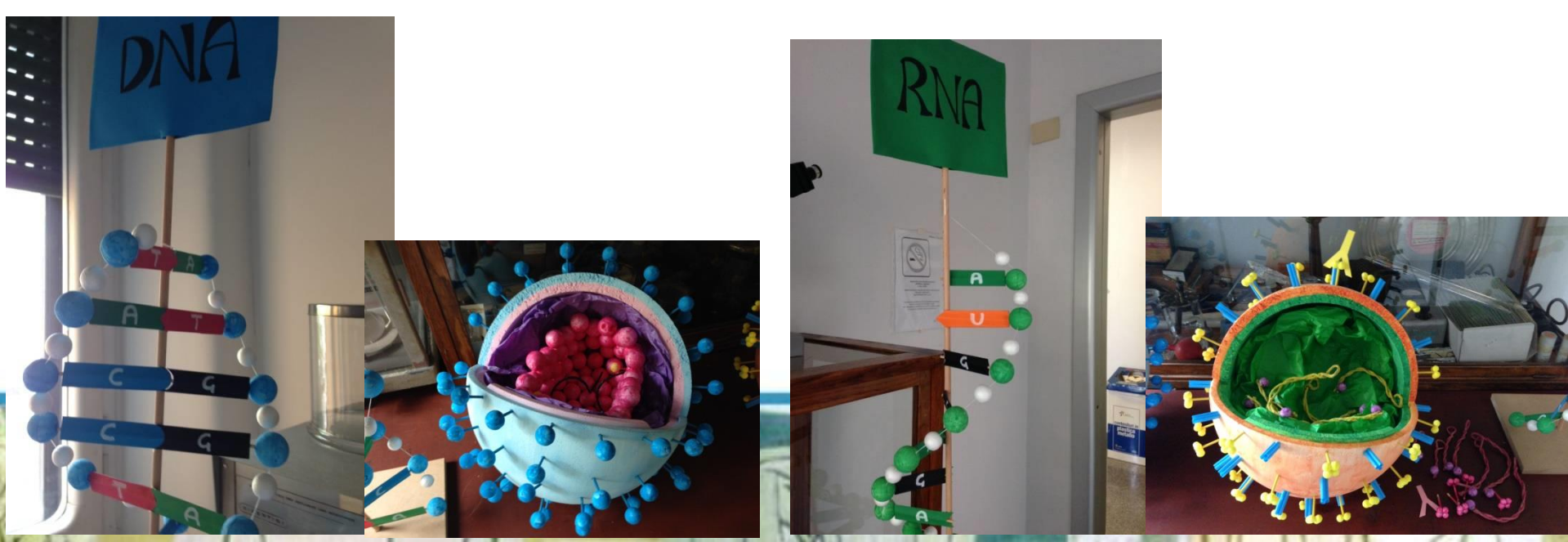
Incertezze -> adozione di un sistema condiviso.

Attualmente -> acronimo del nome con sigla specie ospite primario e spesso numero progressivo se più virus stessa famiglia o genere in grado di infettare stessa specie (EHV-1, EHV-4)

Classificazione LHT:

basata su caratteristiche fisiche o chimiche: **acido nucleico** (DNA o RNA), **simmetria** (elicoidale, icosaedrica o complessa), presenza di **Involucro**, diametro del **Capside** o numero di **Capsomeri**.

Approvata nel 1962 dalla Commissione per la Nomenclatura Provvisoria dei Virus (PNVC)
dell'International Union of Microbiological Society



Classificazione (2)

Classificazione di Holmes:

Holmes nel 1948 utilizzò la **nomenclatura binomiale** di **Linneo** per classificare i virus in tre gruppi riuniti in un unico ordine, *Virales*:

Gruppo I: *Phaginae* (virus che attaccano i batteri)

Gruppo II: *Phytophaginae* (virus che attaccano le piante)

Gruppo III: *Zoophaginae* (virus che attaccano gli animali)

Classificazione ICTV:

Ordine (suffisso -*virales*)

Famiglia (suffisso -*viridae*)

Sottofamiglia (suffisso -*virinae*)

Genere (suffisso -*virus*)

Specie



ICTV: International Committee on Taxonomy of Viruses = organo incaricato dall'International Union of Microbiological Societies (IUMS) di sviluppare, rifinire e mantenere la tassonomia universale dei virus.

Al 2011 sono stati stabiliti sei ordini: *Caudovirales*, *Herpesvirales*, *Mononegavirale*, *Nidovirales*, *Picornavirales*, e *Tymovirales*.



The ICTV Report

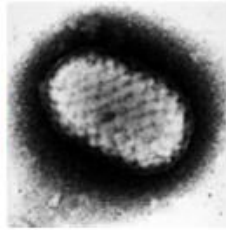
Virus Taxonomy: The Classification and Nomenclature of Viruses



Help!



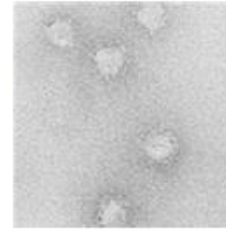
Introduction



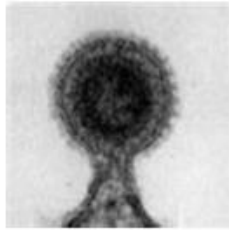
dsDNA Viruses



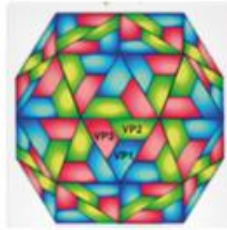
ssDNA Viruses



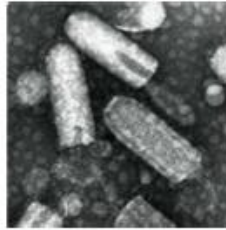
ssDNA/dsDNA Viruses



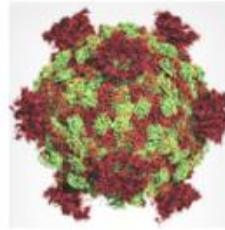
Reverse Transcribing
DNA and RNA Viruses



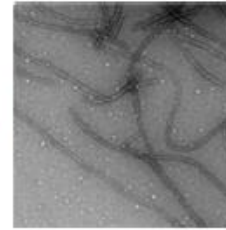
Positive-sense RNA
Viruses



Negative-sense RNA
Viruses



dsRNA Viruses



Subviral Agents



Unclassified Viruses

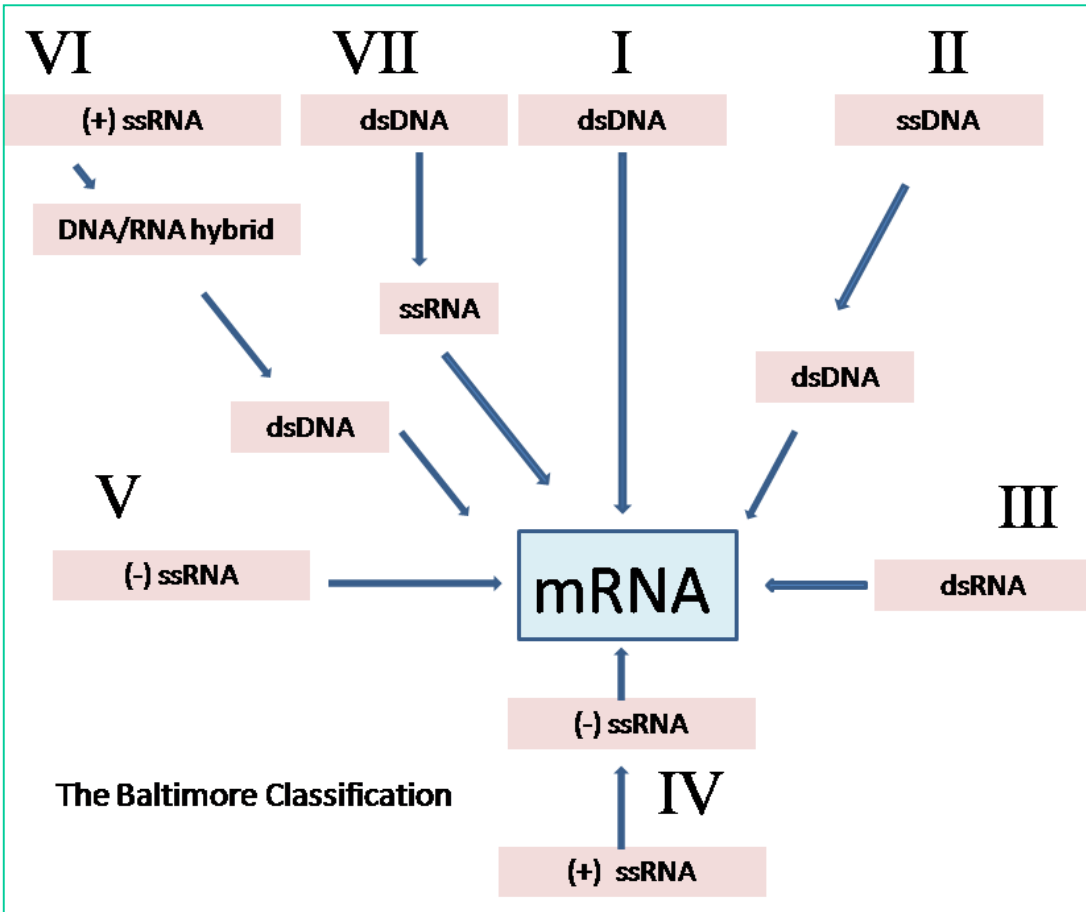
https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report

MSL 2018

New Master Species List including all taxa updates since the 2017 release.
Updates approved during EC 50, Washington, D.C., July 2018; Email ratification Fall 2018 (MSL #33).

Classificazione (3)

Classificazione di Baltimore



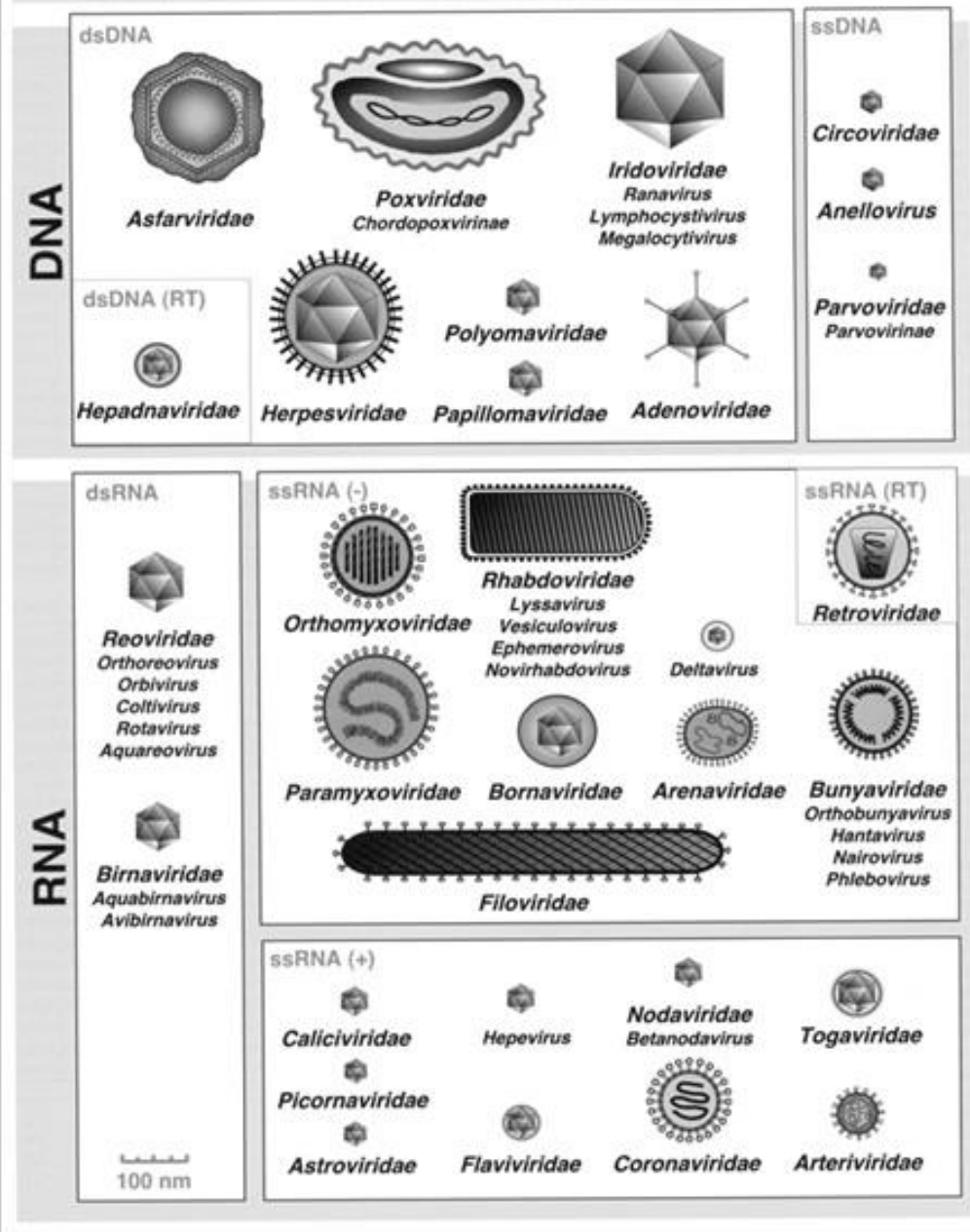
Creata nel 1971.

Classificazione dei virus in sette gruppi in base a:
acido nucleico (DNA o RNA),
a doppia o singola catena,
senso positivo o negativo, e
 metodo di **replicazione**.

Ideata da **David Baltimore**,
 biologo premio Nobel nel
 1975.

Sette gruppi -> identificati
 mediante **numeri romani**

Families and Genera of Viruses Infecting Vertebrates



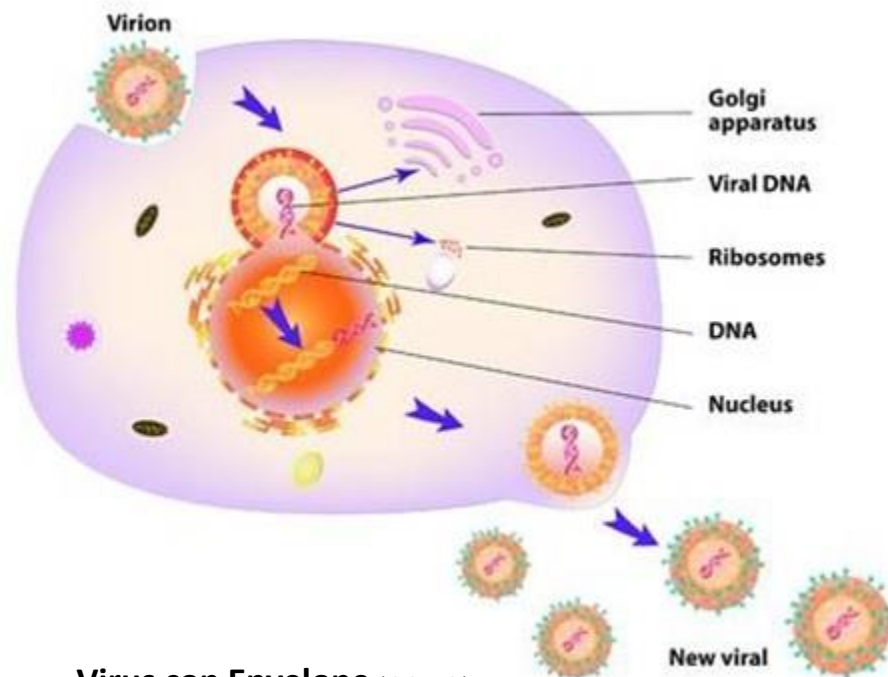
Field's Virology.
Fifth edition,
2007

Figure 2.1 Diagrams of the vertebrate viruses. Diagrams are drawn to relative scale and grouped by genome type or replication strategy (reverse transcription). (From ref. 28, with permission.)

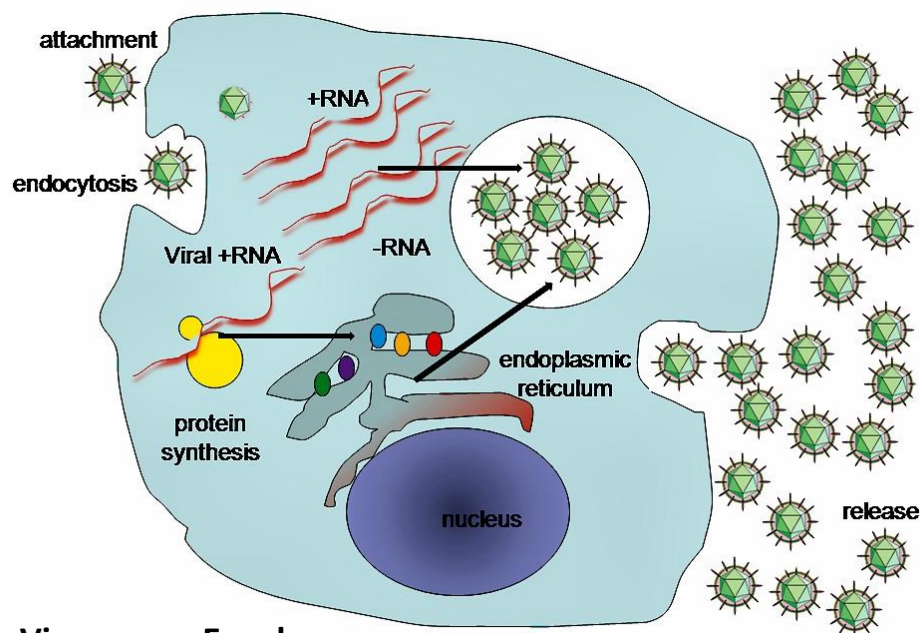
CICLO REPLICATIVO

Interazione Virus-Cellula

- Adsorbimento
- Penetrazione
- Svestimento
- Replicazione*
- Assemblaggio
- Maturazione
- Rilascio**



Virus con Envelope (dal web)



Virus senza Envelope

2 tipi di ciclo replicativo:

- Litico**
- Lisogenico*

TROPISMO



Adsorbimento virale

= **primo evento** del ciclo replicativo

Attrazione elettrostatica → interazione idrofobica localizzata

Siti di Adsorbimento del virus o Antirecettori + recettori cellulari

Riconoscimento della cellula target da parte di proteine virali (**VAP**)

VAP = **V**irus **A**ttachment **P**rotein

- limita l'infezione a specifici tipi di cellule (cellule permissive)
- determina il **tropismo** del virus
 - **Tropismo tissutale** - es.: **poxvirus** (cellule epidermiche), **rabbia** (cellule nervose)
 - **Tropismo di specie** - es.: **influenza** (cellule di mammifero e di uccelli),
poliovirus (cellule di primati)

VAP

Famiglia

Picornaviridae
Reoviridae
Rhabdoviridae
Orthomyxoviridae
Paramyxoviridae
Retroviridae
Adenoviridae
Herpesviridae

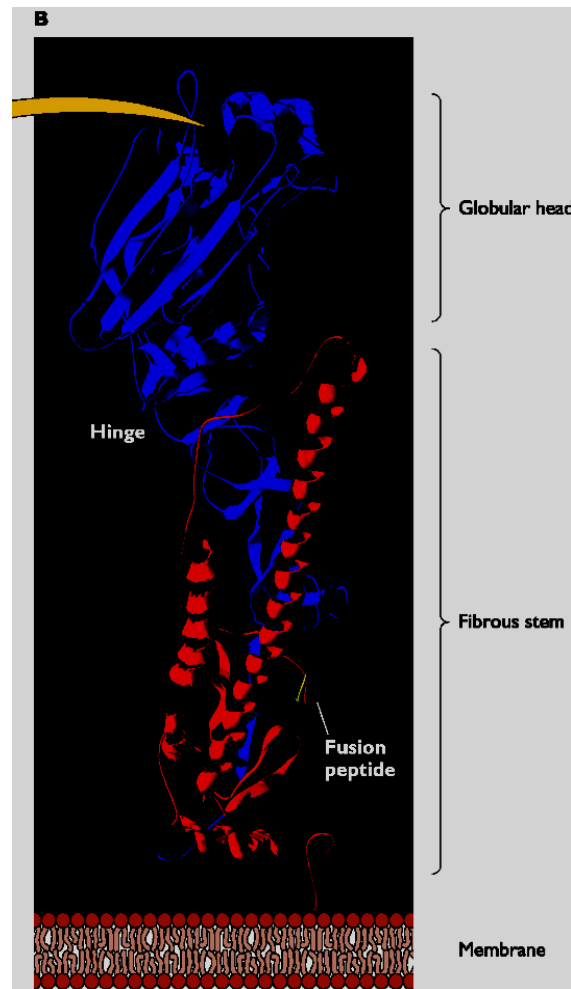
Virus

Rhinovirus
Rotavirus
VSV
Influenza A
Sendai
EIAV/BLV
Adenovirus
HSV

VAP

VP1
VP7
G protein
HA
HN
gp90/51
Fiber protein
gC - gD

Regione di adesione



HA di Orthomyxovirus

Recettori Cellulari di VIRUS Animali

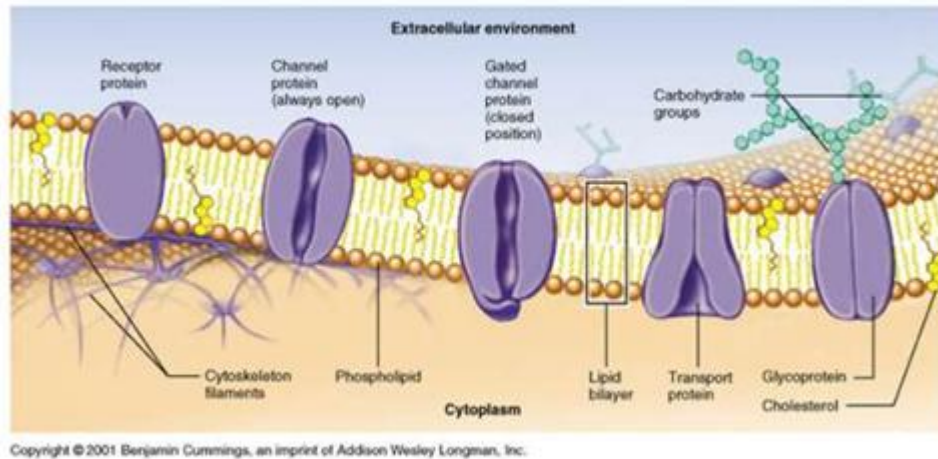
«Molecole di superficie con funzioni precise nell'economia della cellula»

Virus	Recettore <i>funzione</i>	Tipo molecolare
Influenza virus	Acido sialico	carboidrato
Reo e Coronavirus		
Virus del Cimurro	CD46 e SLAM	proteina di superficie dei linfociti B e T
HHV-6		
Poliovirus	Pvr	proteina simile a Ig
Rhinovirus	ICAM-1 <i>(molecola 1 di adesione intercellulare)</i>	proteina simile a Ig
Virus della Rabbia	Acetilcolina	proteina neuronale



Penetrazione

Tutti i virus devono attraversare il doppio strato lipidico
(virus delle piante e dei batteri -> anche la parete cellulare)



Fenomeno
Energia-
dipendente

Presenza o assenza dell'**Envelope** -> notevole differenza nel meccanismo di penetrazione

3 Modalità:

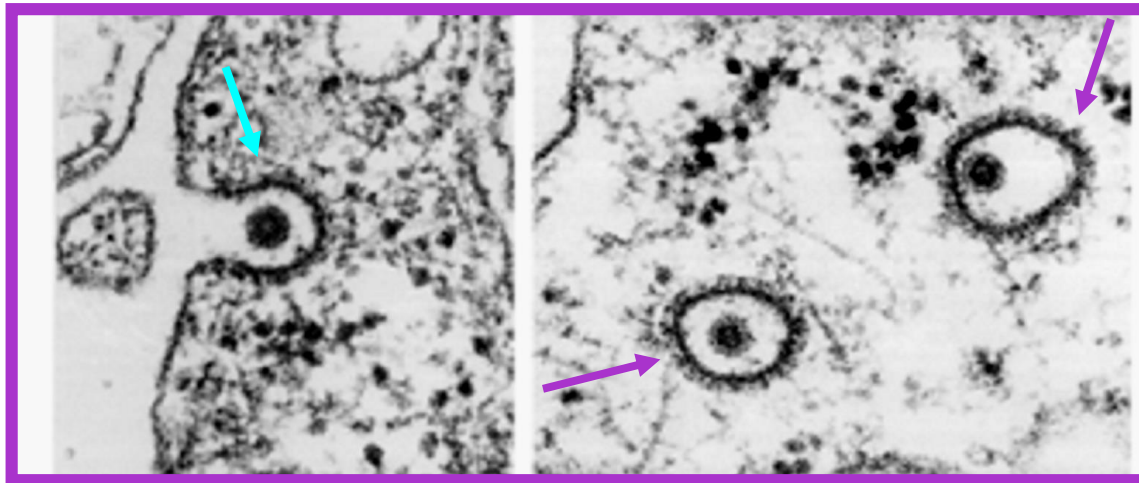
a) Traslocazione b) Endocitosi c) Fusione

Inizia il **Periodo di Eclissi** (da 3h a 40h)

b) ENDOCITOSI

Meccanismo più comune

Semliki Forest virus (SFV): primo esempio di penetrazione per endocitosi



A. Helenius

Studi di microscopia elettronica (1980) hanno dimostrato che il virus penetra mediante vescicole - oggi note come **vescicole ricoperte di clatrina o CCV**

Endosoma

Endosomi e virus

Gli endosomi sono utilizzati dalla cellula per l'assunzione di nutrienti e fattori di crescita

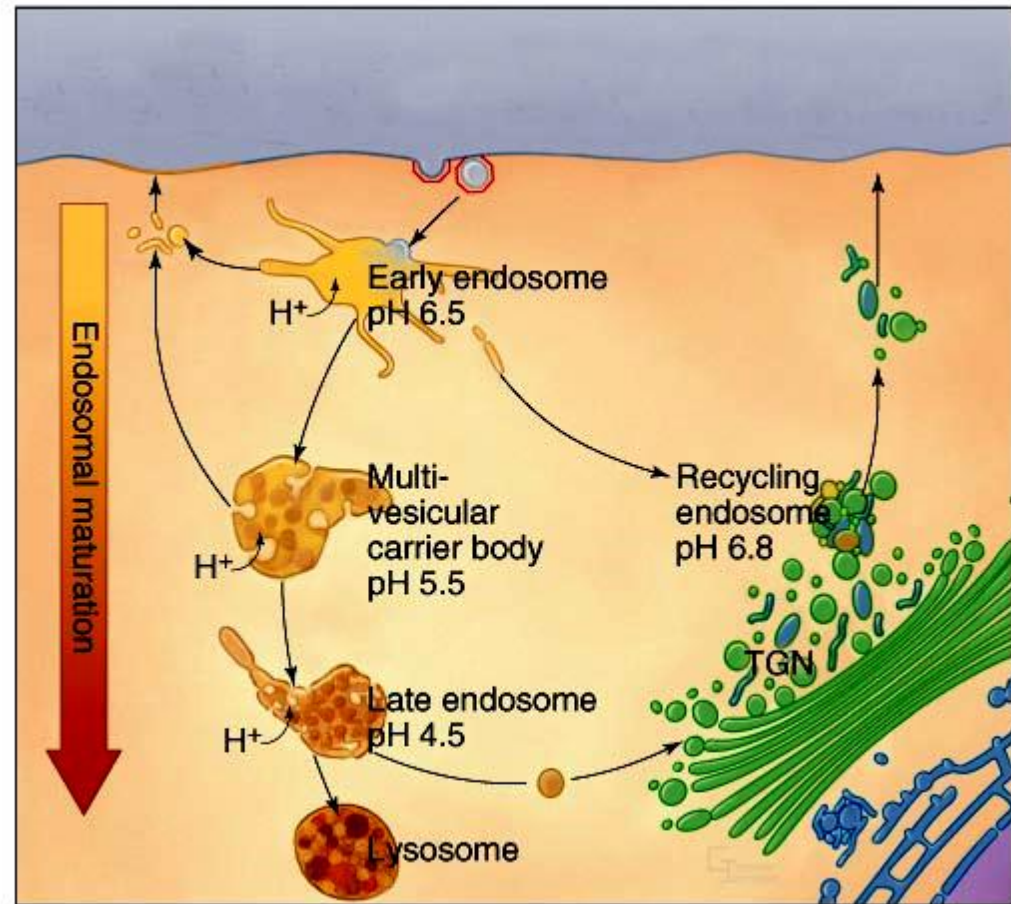
Una caratteristica degli endosomi è la loro progressiva **acidificazione** - dovuta all'azione di H^+ /ATPasi vacuolari

I virus utilizzano questo meccanismo cellulare per:

- **PENETRAZIONE**
- **SVESTIMENTO**

Per i virus gli endosomi inoltre assicurano:

- **trasporto citosolico** mediante il sistema dei microfilamenti e dei microtubuli
- **specifico ambiente ionico** e stato redox
- **lipidi per la fusione** (penetrazione)



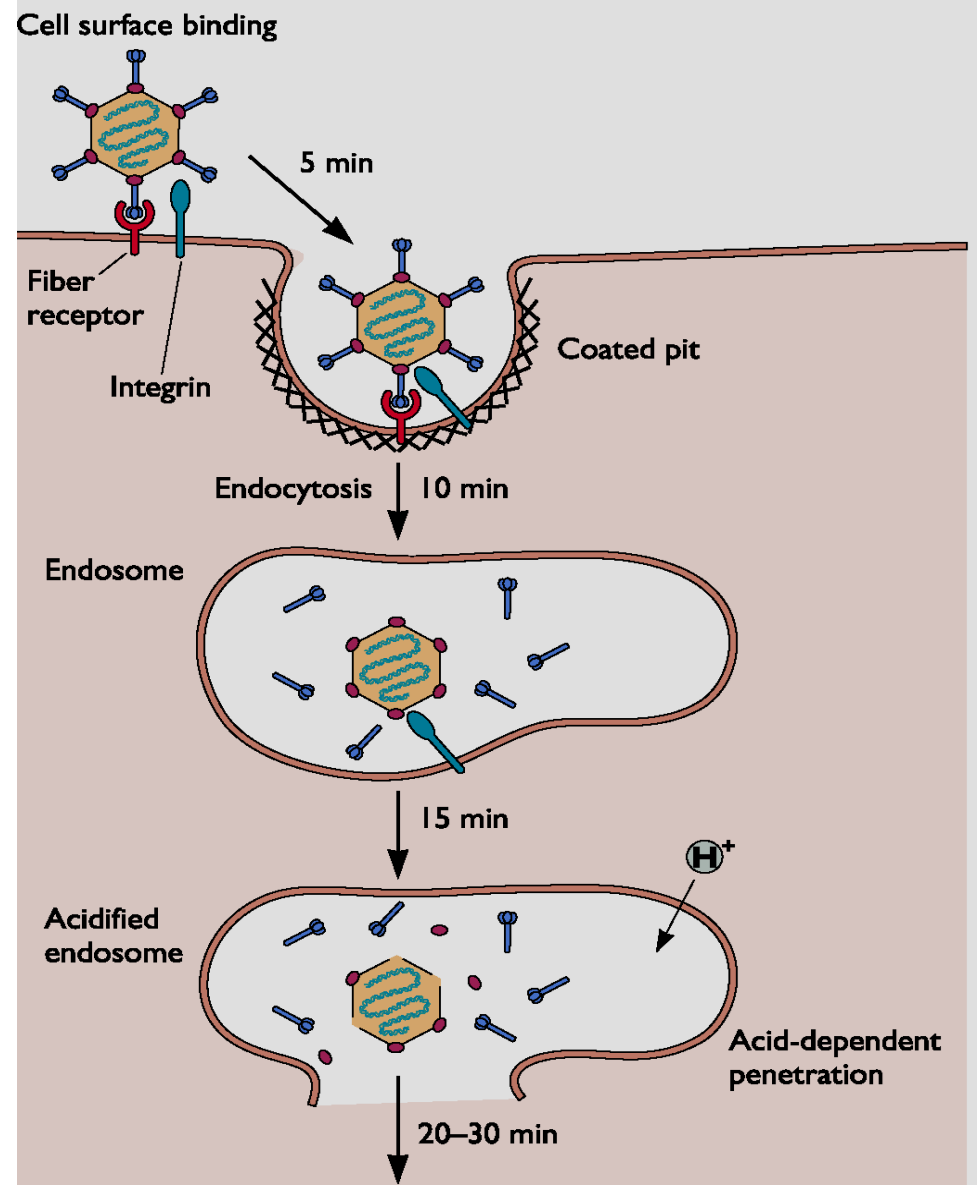
Elsevier Science (USA) items and derived items copyright © 2002, Elsevier Science (USA). All rights reserved.

From Cell Biology, Pollard and Earnshaw, Saunders

Endocitosi Adenovirus

entrata mediante **endocitosi clatrina-dipendente**

abbassamento del pH ->
perdita delle fibre e **lisi**
della membrana degli
endosomi per opera delle
proteine alla base dei
pentoni



From Principles of Virology, Flint et al, ASM Press

Endocitosi

Reoviridae

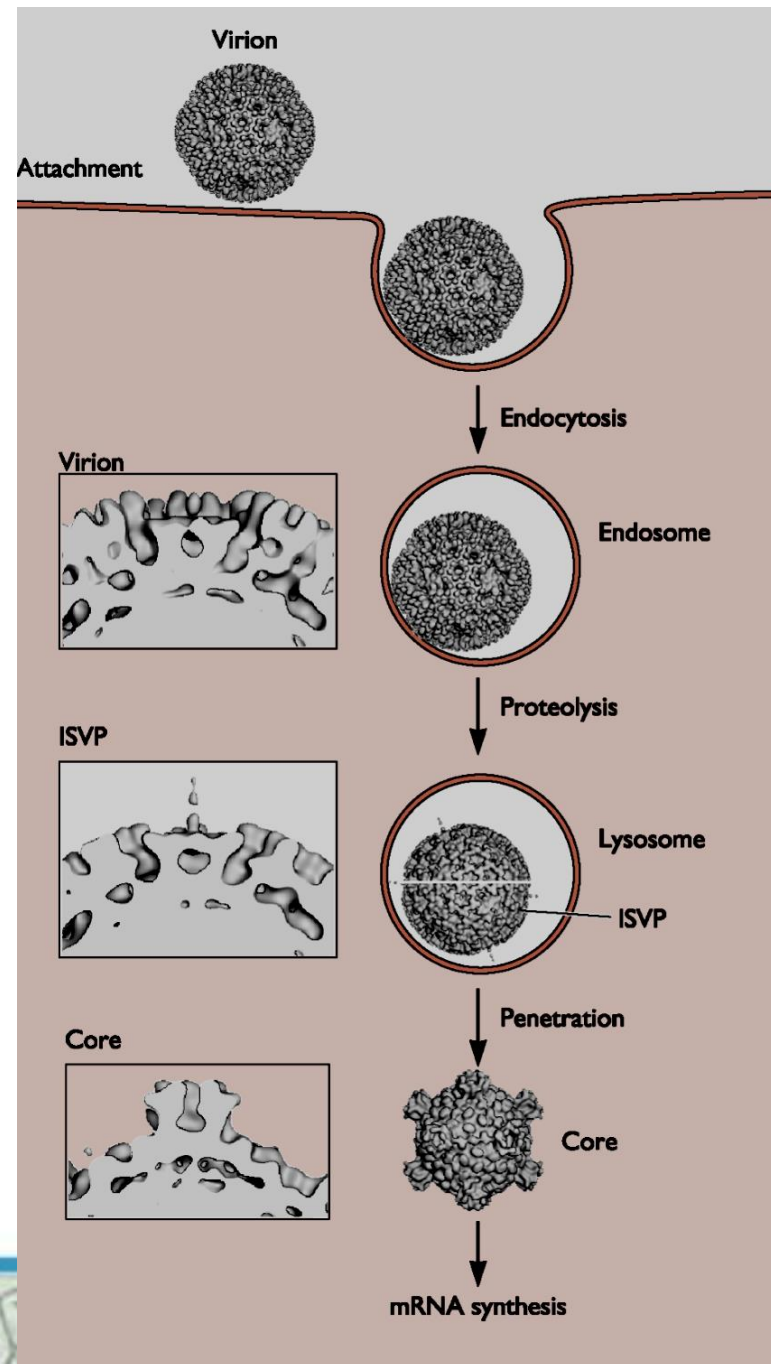
Raro esempio di virus che richiede la fusione degli **endosomi** con i **lisosomi**

I Reovirus hanno un doppio capsid, stabile a pH bassi (virus gastro-intestinali)

Le proteasi lisosomiali degradano il capsid esterno -> formazione della particella subvirale

Sintesi dell'RNA ed estrusione nel citoplasma in zone chiamate Viroplasma (VIB) -> aggiunta del capsid alla periferia delle VIB

From Principles of Virology, Flint et al, ASM Press



Endocitosi

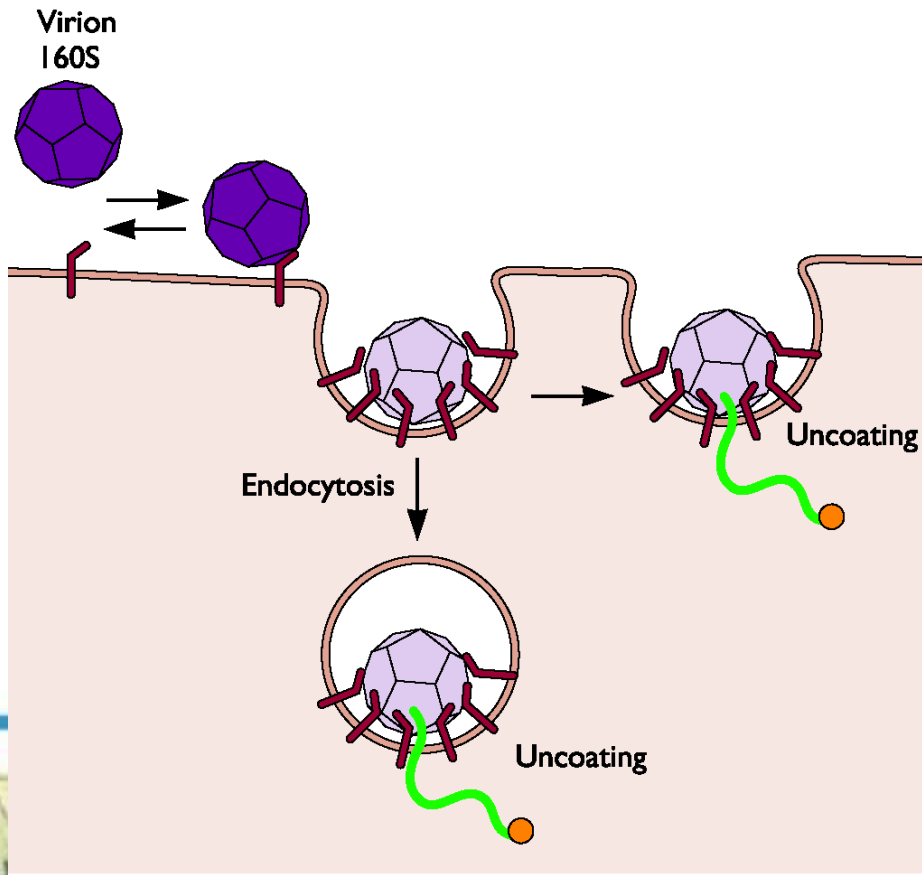
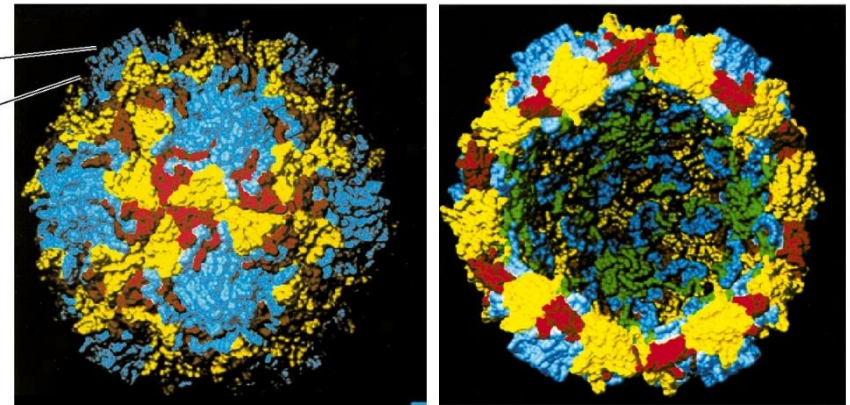
Picornaviridae

penetrano per endocitosi
in maniera pH-indipendente

B

Plateau

Canyon



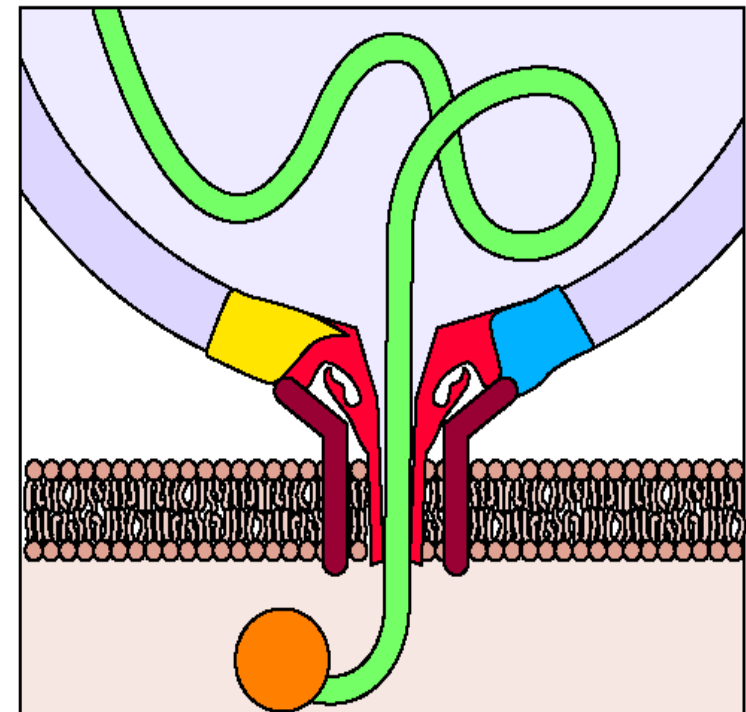
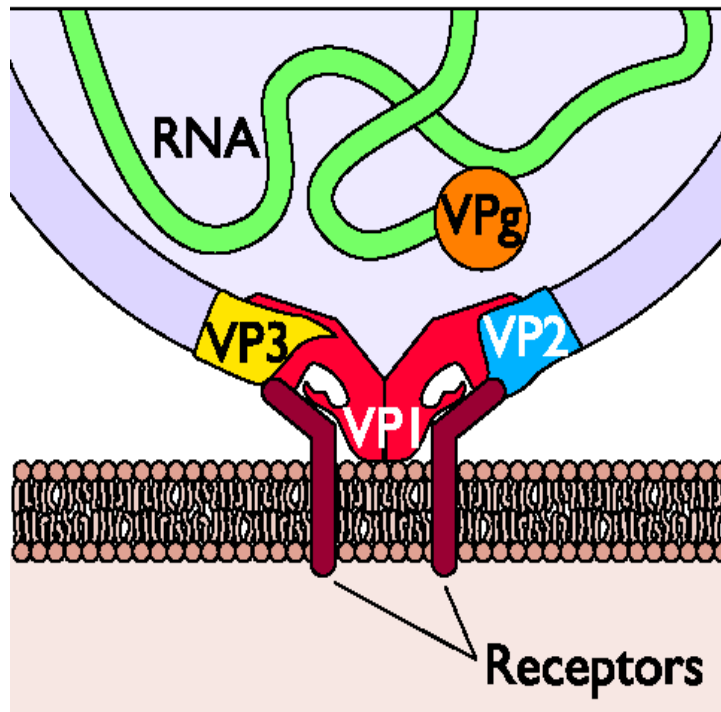
l'interazione con il recettore
determina *cambi
conformazionali* nella struttura
del virione - perdita della VP4 e
formazione della *particella A*
(meno densa e più rilassata)

From Principles of Virology, Flint
et al, ASM Press



Le particelle A sono idrofobiche e possono formare un **poro** sulla membrana endosomiale

-> **passaggio dell'acido nucleico**



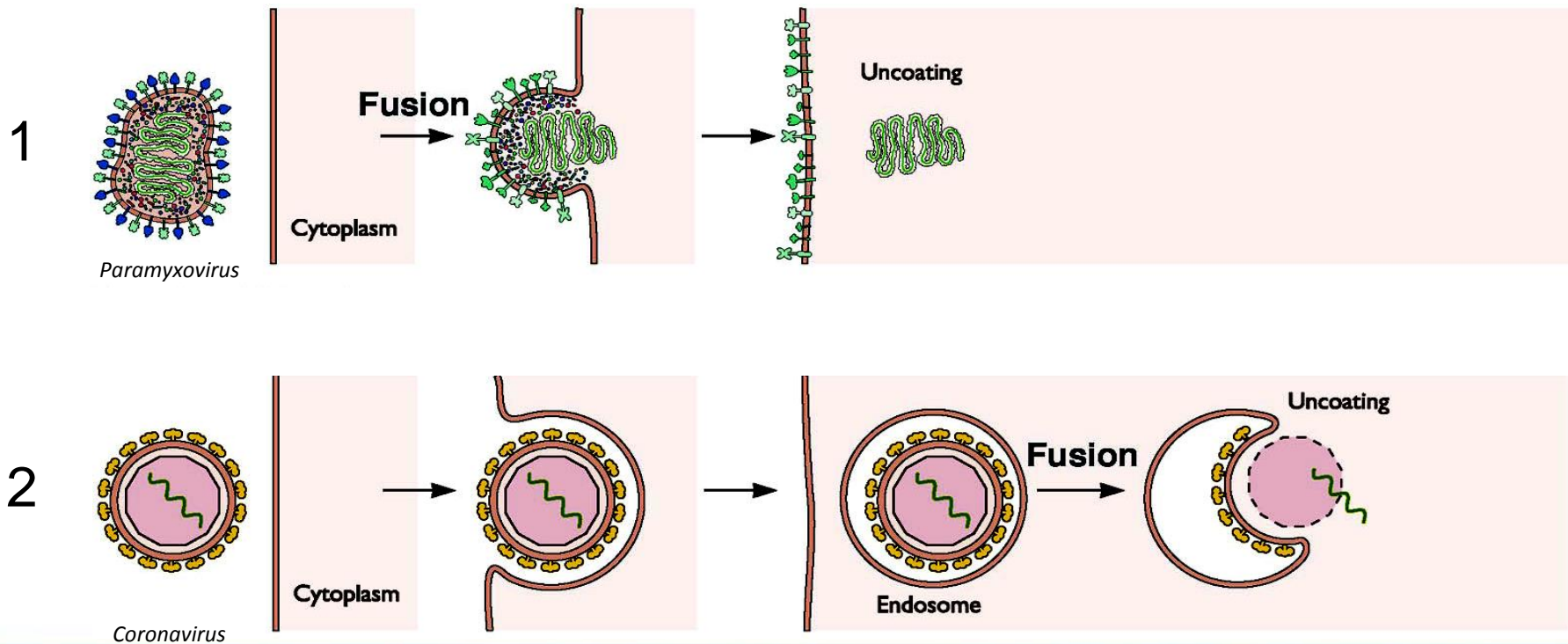
From Principles of Virology, Flint et al, ASM Press

c) FUSIONE

Solo virus con Envelope

Meccanismi di penetrazione

- 1) Fusione sulla plasmamembrana (pH-indipendente)
- 2) Fusione negli endosomi (pH-dipendente)



1) Fusione pH-Indipendente

Herpesvirus

Riconoscimento dei recettori eparansolfato da parte della **gC**.

Successivo adsorbimento della glicoproteina **gD** ad un **co-recettore** specifico

Molecole co-recettoriali

HveA TNF-R

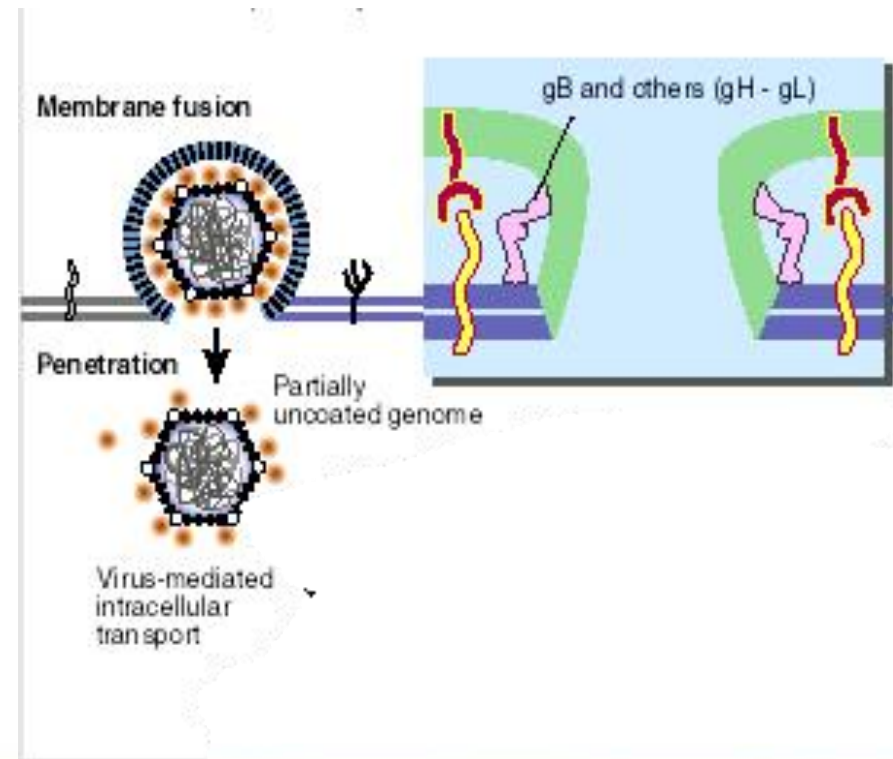
HveB Nectin2

HveC Nectin1

HveD PVR

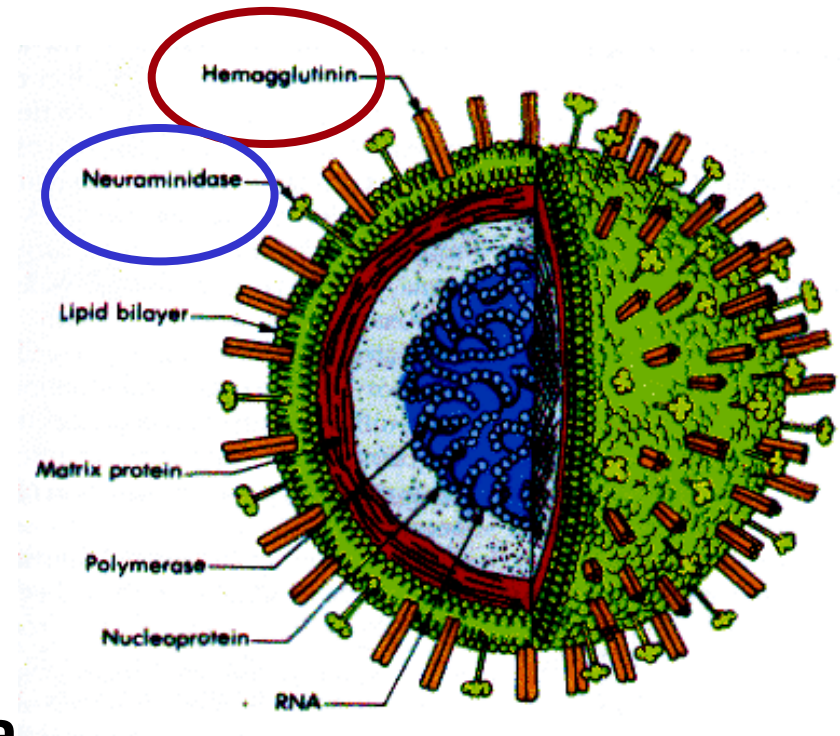
Fusione dell'involucro virale con la plasmamembrana mediato da **gB** in associazione con il complesso **gH-gL**.

Liberazione del nucleocapside virale nel citoplasma

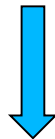


2) Fusione pH-Dipendente

Virus influenzale



Endocitosi Recettore-Mediata

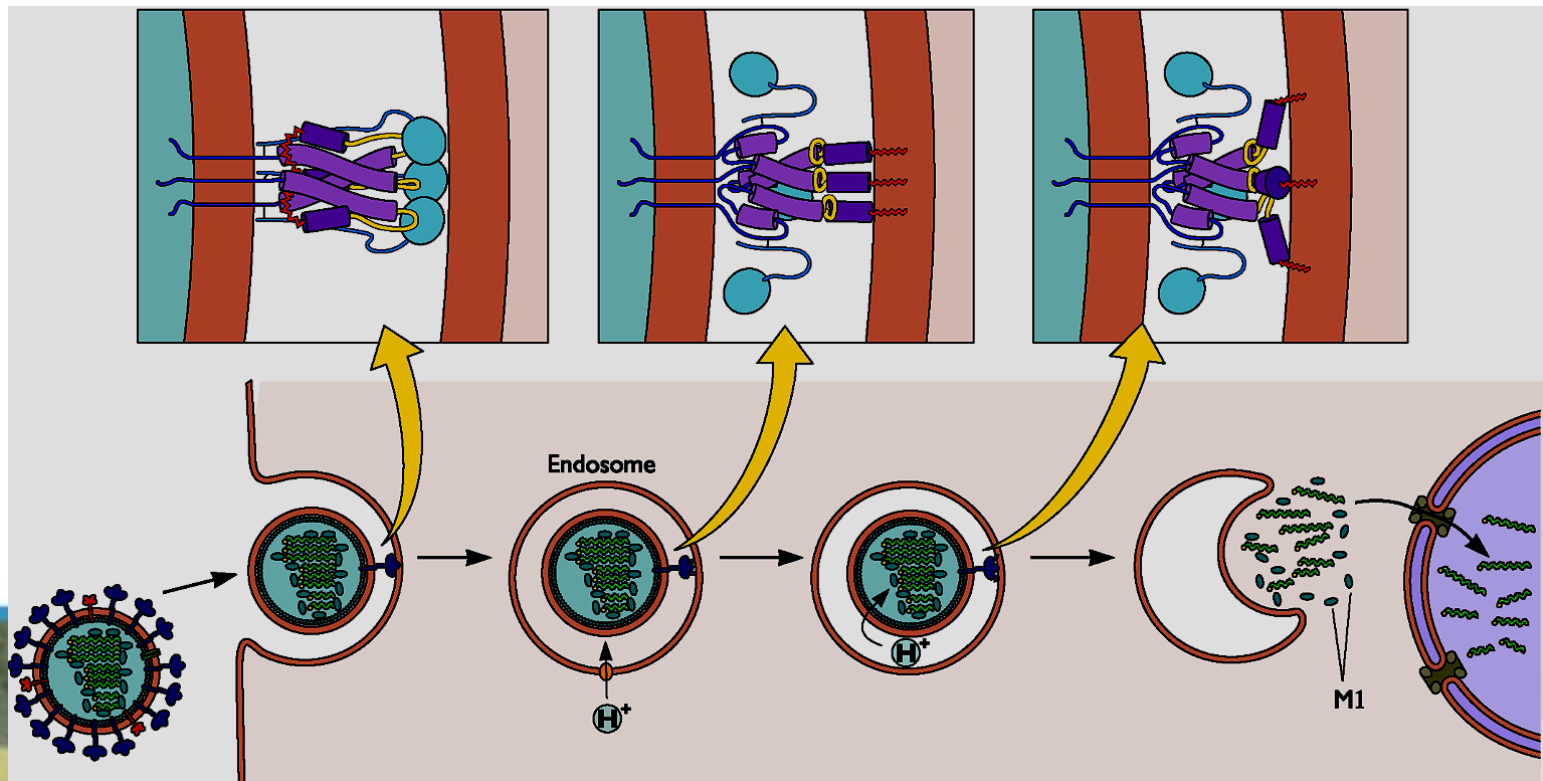


FUSIONE con MEMBRANA ENDOSOMIALE

Virus influenzale (2)

Cambio di pH nell'endosoma -> ruolo importante per la **fusione** del **virus influenzale**.

Sull'Envelope del virus -> **proteina M2** che a pH acido forma un **canale ionico** che permette l'acidificazione del virione, e promuove cambi conformazionali della proteina HA e distacco di M1 dai complessi M1/RNP -> fusione dell'Envelope con la membrana dell'Endosoma

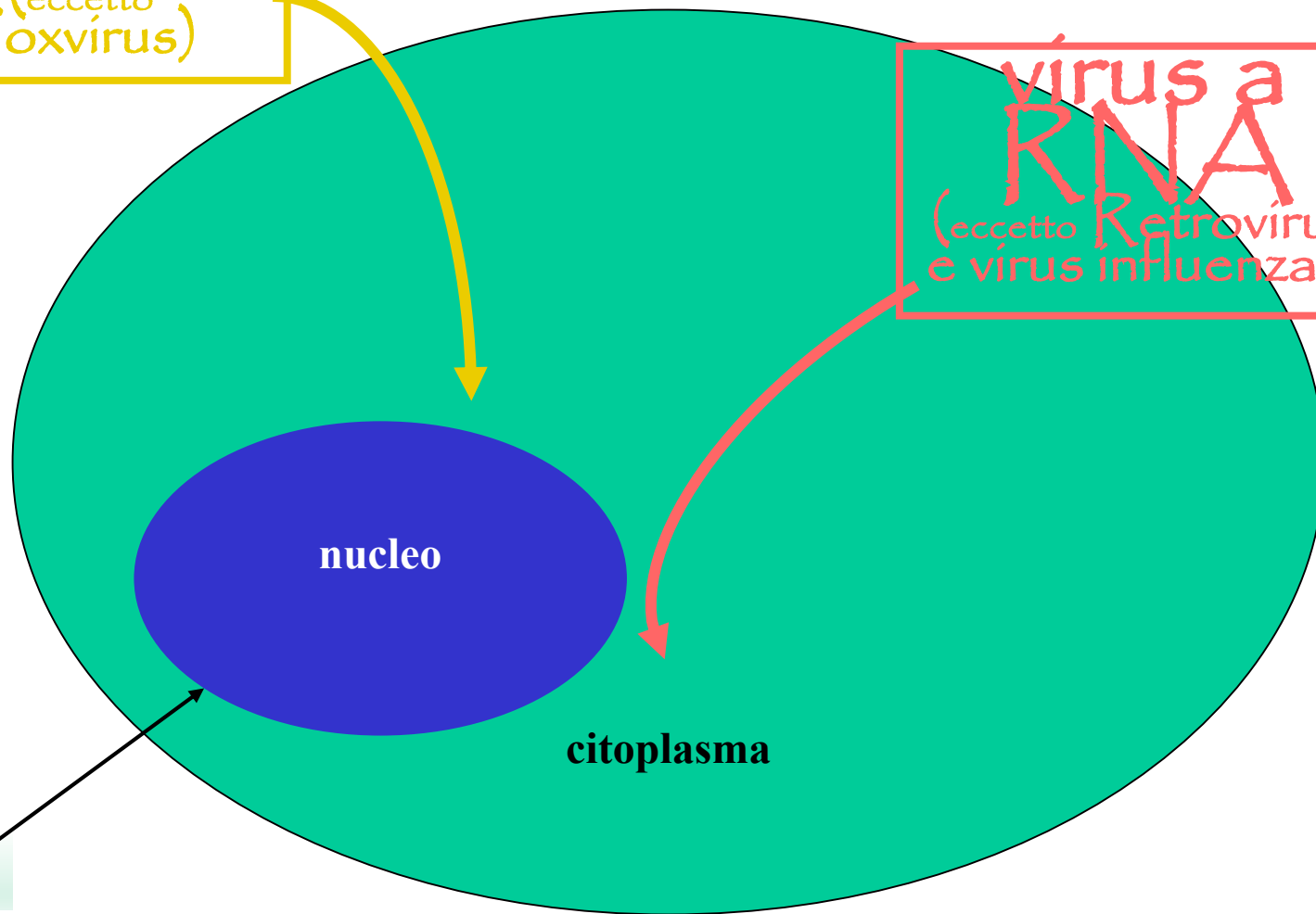


virus a
DNA
(eccetto
Poxvirus)

SVESTIMENTO

nel nucleo o nel citoplasma

virus a
RNA
(eccetto Retrovirus
e virus influenzali)

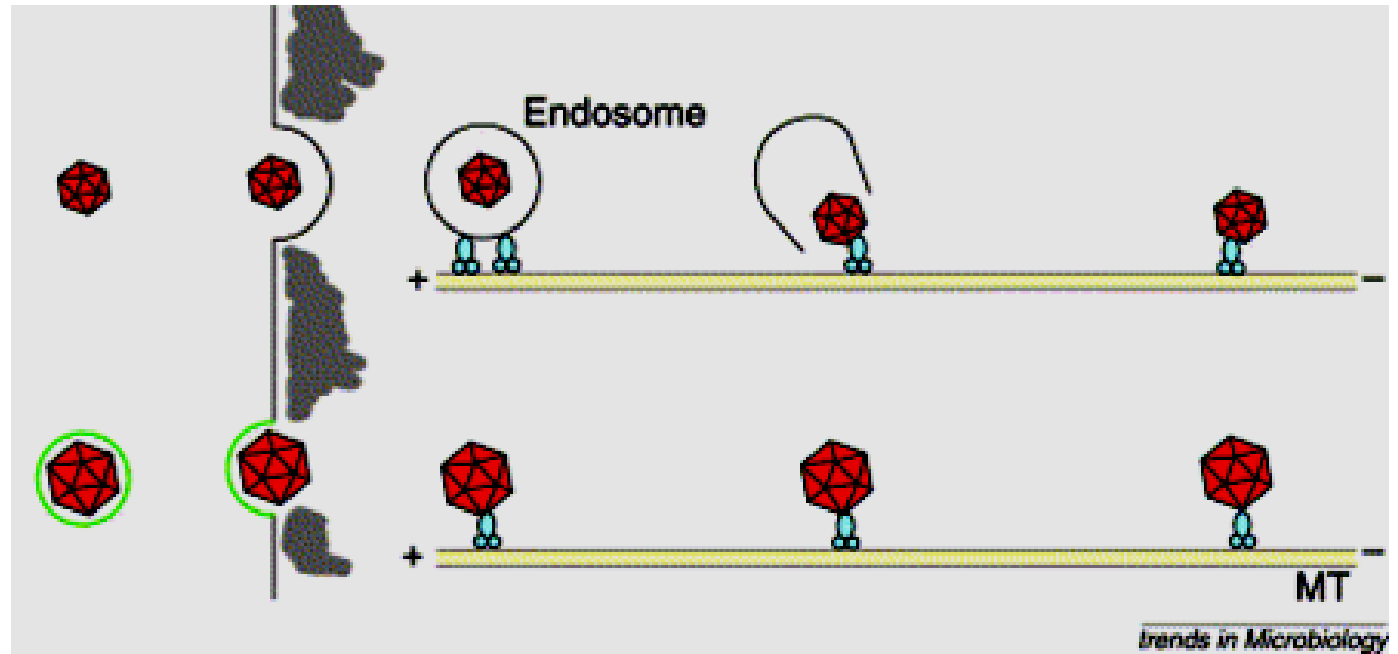


Virus con NLS

Il trasporto citoplasmatico

Adenovirus

Herpesvirus



- I capsidi (o nucleocapsidi) si legano al citoscheletro e utilizzano proteine dinamiche associate ai microtubuli (i.e. dineina) per facilitare il loro trasporto intracellulare

Penetrazione nel nucleo

Trasporto del capside virale fino ai pori nucleari grazie alla presenza di sequenze NLS in proteine capsidiche



penetrazione
diretta del virus



legame del capside al poro nucleare

“uncoating” finale del capside

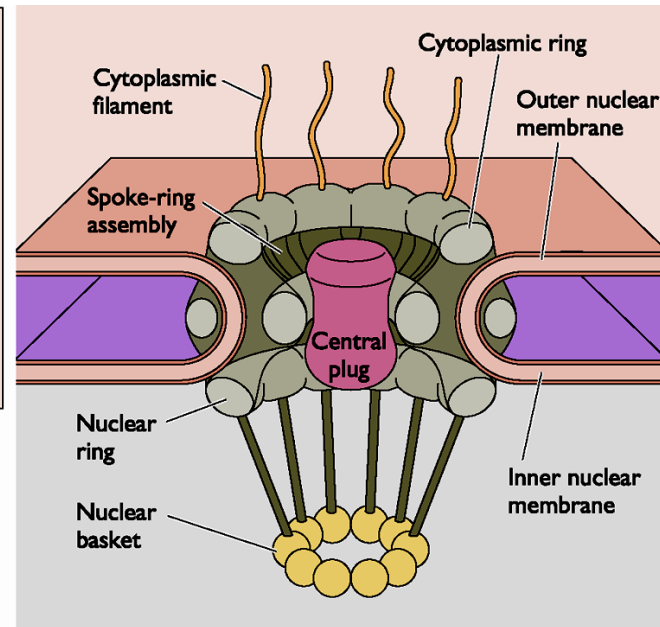
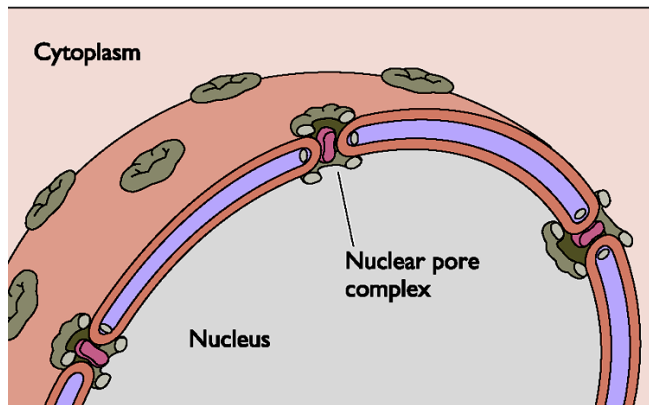
- il DNA è “iniettato” nel nucleoplasma

Membrana nucleare

Il nucleo della cellula è circondato da un doppio strato lipidico -> membrana nucleare.

un'ulteriore barriera per il processo di infezione

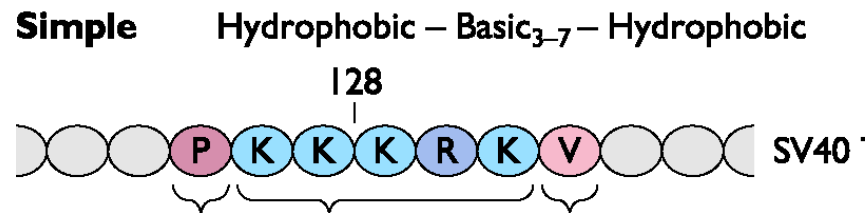
La membrana nucleare è fornita di canali di trasporto -> **pori nucleari**



From Flint et al Principles of Virology ASM Press

Parvovirus

- Esempio di entrata diretta nel nucleo
- Piccolo virus a ssDNA a simmetria icosaedrica (diametro 18-26 nm)
- Penetrazione mediata endocitosi pH-dipendente
- Il capside è formato da VP1, VP2 e VP3
- VP1 contiene una sequenza NLS (*Nuclear Localization Signal*)



La sequenza NLS si lega a recettori dei PORI NUCLEARI (carioferine o importine) che permettono l'entrata diretta del virus nel nucleo dove avviene la spoliatura

Adenovirus

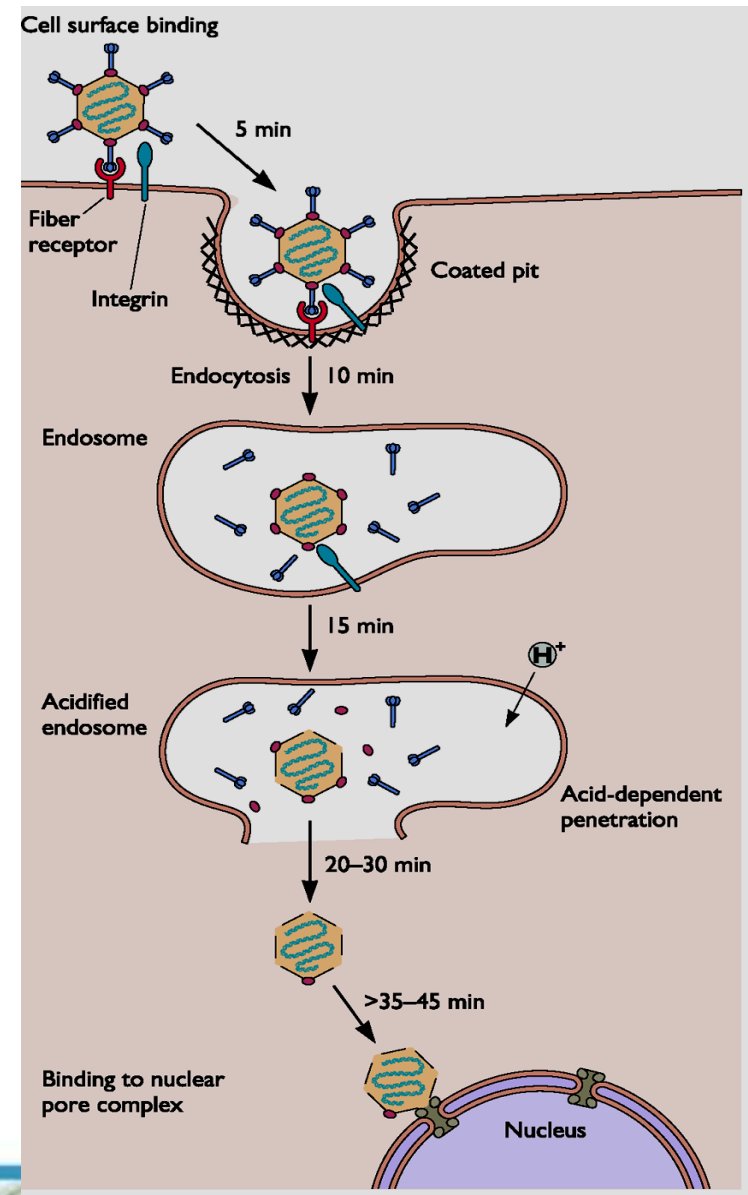
Trasporto mediato da dineina

Presenza di sequenze NLS in proteine
del capside (100 nm)

I capsidi vengono trasportati fino ai pori.

ma.....la massima grandezza
funzionale del poro nucleare è di 26
nm

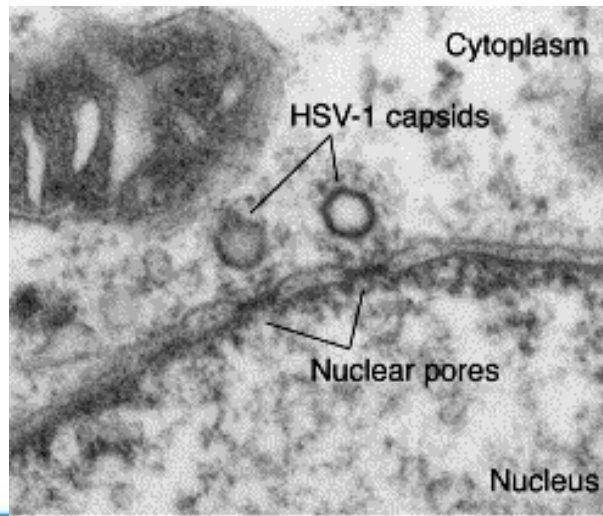
Il capside si lega al poro nucleare,
subisce il disassemblaggio finale e il
DNA viene "iniettato" nel nucleo.



From Principles of Virology, Flint et al, ASM Press

Herpesvirus

- ❖ Presenza di sequenze NLS nelle proteine che formano il capside
- ❖ il capside virale viene trasportato ai pori nucleari
- ❖ si lega al poro nucleare e subisce “uncoating” finale
- ❖ il DNA è “iniettato” nel nucleoplasma.

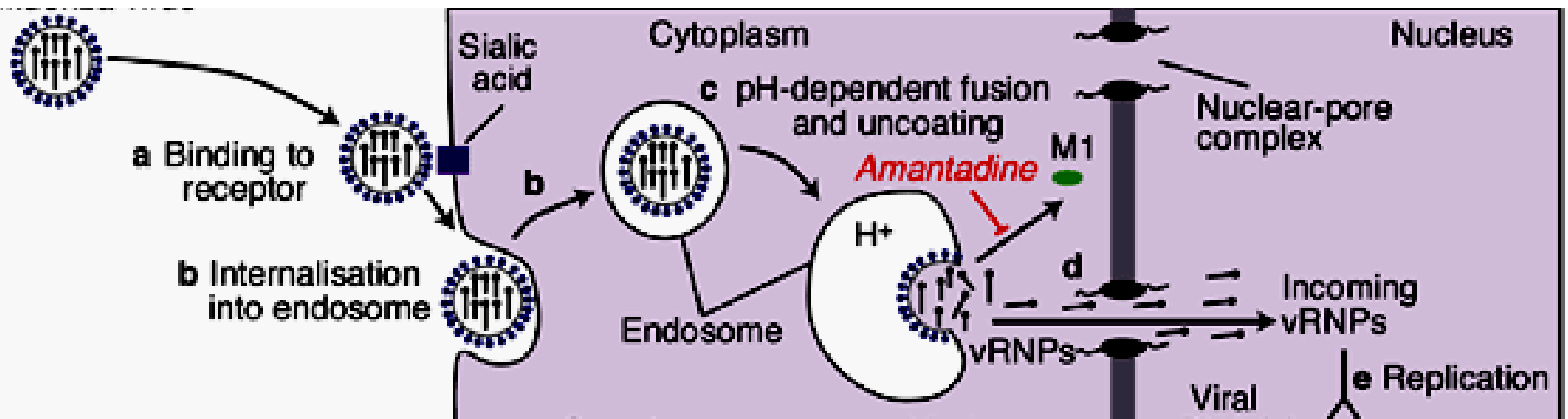


From Whittaker *Trends Microbiol* 6: 178

**Notare i capsidi vuoti
ai pori nucleari**

Orthomyxovirus

L'evento chiave per la spoliatura dei genomi del virus influenzale è la dissociazione pH-dipendente tra la proteina di matrice M1 ed i complessi RNP.



From Whittaker Exp. Rev. Mol. Med. 8 February, <http://www-ermm.cbcu.cam.ac.uk/01002447h.htm>

- I complessi RNP sono sufficientemente piccoli per attraversare i pori nucleari.
- La nucleoproteina (NP) contiene sequenze NLS

Replicazione

Nel Nucleo -> virus a DNA
veicolati dai NLS

Nel Citoplasma -> virus a RNA,
mediante RNA polimerasi-
RNA dipendente

Eccezioni: Poxvirus/Retrovirus

Sfruttamento dei meccanismi tipici della cellula:
Nucleo -> trascrizione di mRNA da dsDNA +
replicazione del DNA

Citoplasma -> traduzione dell'mRNA in proteine
(nei ribosomi)

Nel Citoplasma: sistema di sintesi proteica della cellula -> traduzione di
messaggi monocistronici (estremità 5'). Virus -> meccanismi vari di
traduzione: per es. genoma segmentato (1 gene = 1 proteina), o
poliproteina clivata da enzimi.

TRASCRIZIONE in tempi diversi:

Proteine precoci -> proteine per la replicazione del genoma

Proteine tardive -> proteine strutturali



- **Assemblaggio e Maturazione**
- **Rilascio**

N.B. non sempre
distinguibili tra loro

Assemblaggio delle componenti virali in sedi diverse della cellula a seconda di dove replica e da dove esce il virus

-> **Virione immaturo** <- modificazioni conformazionali per azione di proteasi virali -> **Virione maturo** che esce

Fasi finali sostanzialmente diverse per **Virus**

➤ **Nudi** -> Lisi della cellula

a) Aggregazione spontanea delle proteine strutturali + b) *self assembly* dei capsomeri + c) impacchettamento all'interno, dell'acido nucleico ->

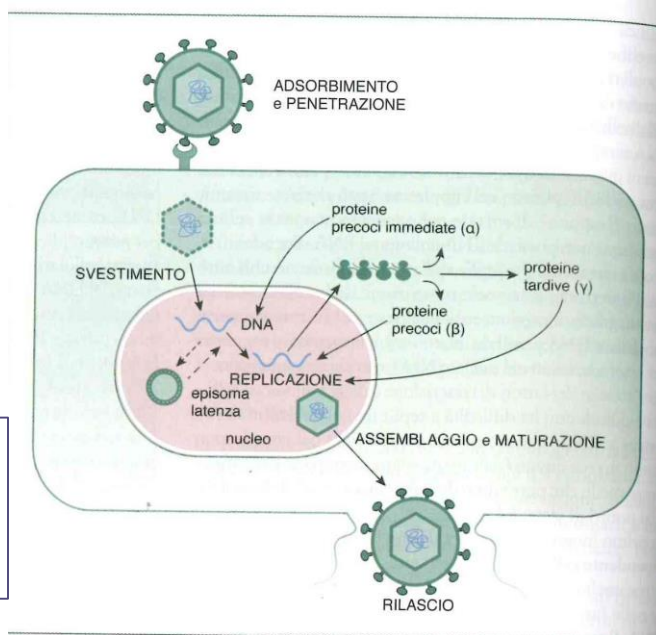
Provirione

d) Riarrangiamento enzimatico con formazione della struttura definitiva -> accumulo nel Nucleo o nel Citoplasma -> uscita per **LISI** della cellula

➤ **con Envelope** -> aggregazione spontanea del nucleocapside e acquisizione dell'envelope mediante:

Budding (Gemmazione) -> acquisizione dalla membrana citoplasmatica

Esocitosi -> da altre membrane cellulari (RER, Apparato del Golgi); veicolati dentro vescicole lisce verso la superficie -> fusione della membrana delle vescicole con quella citoplasmatica



Ciclo replicativo virus
 Classe I -> dsDNA
 replicazione nucleo
 (Herpes) o
 citoplasma (Pox)

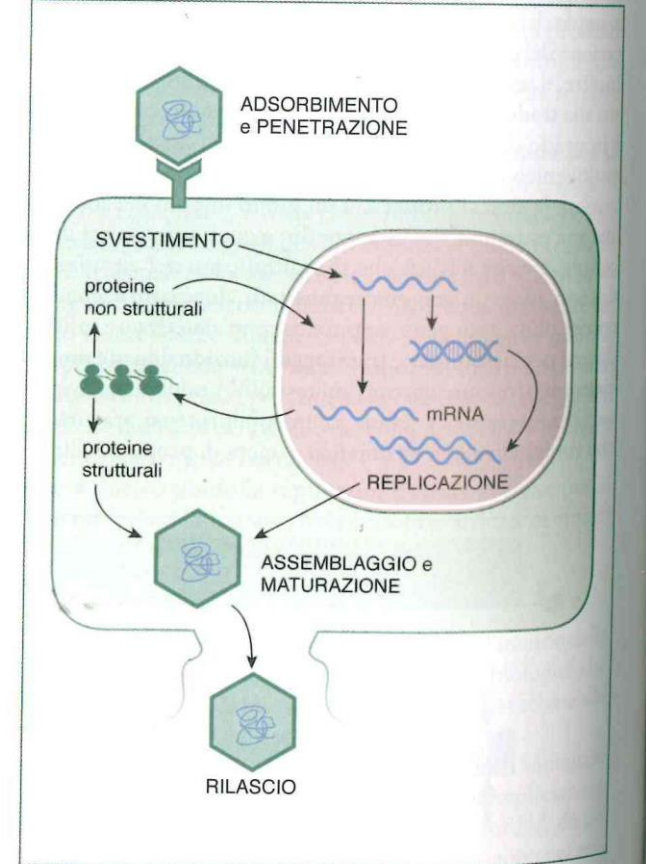
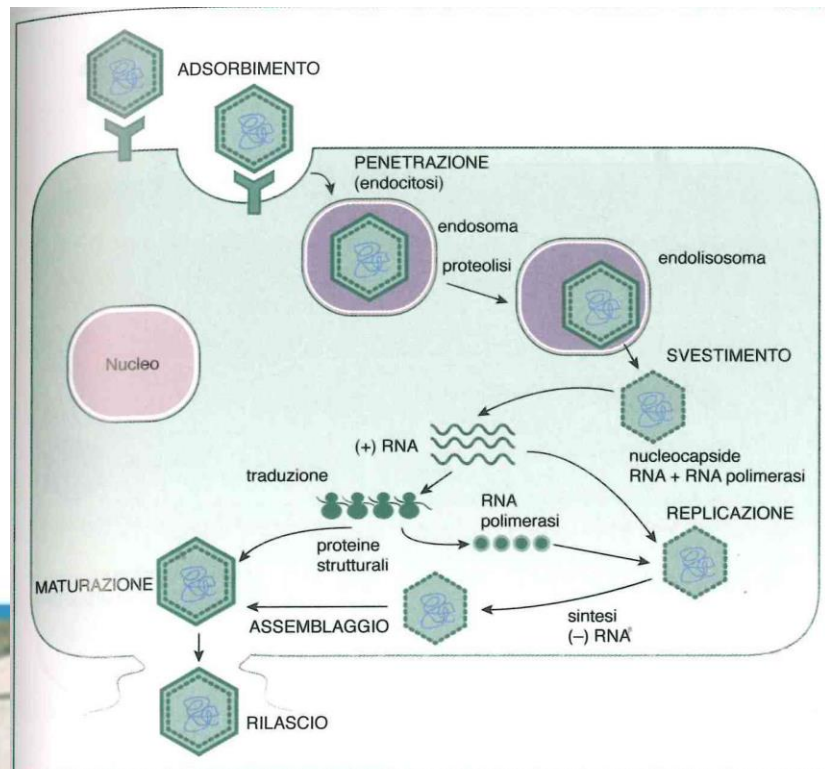


FIGURA 12.9 Rappresentazione schematica del ciclo replicativo dei virus di classe II.



Ciclo replicativo virus
 Classe III -> dsRNA
 replicazione
 citoplasma =
 Reoviridae

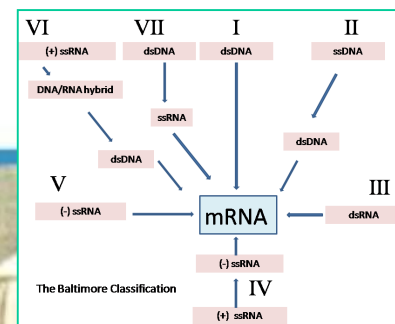


FIGURA 12.11 Rappresentazione schematica del ciclo replicativo dei virus di classe IVa.

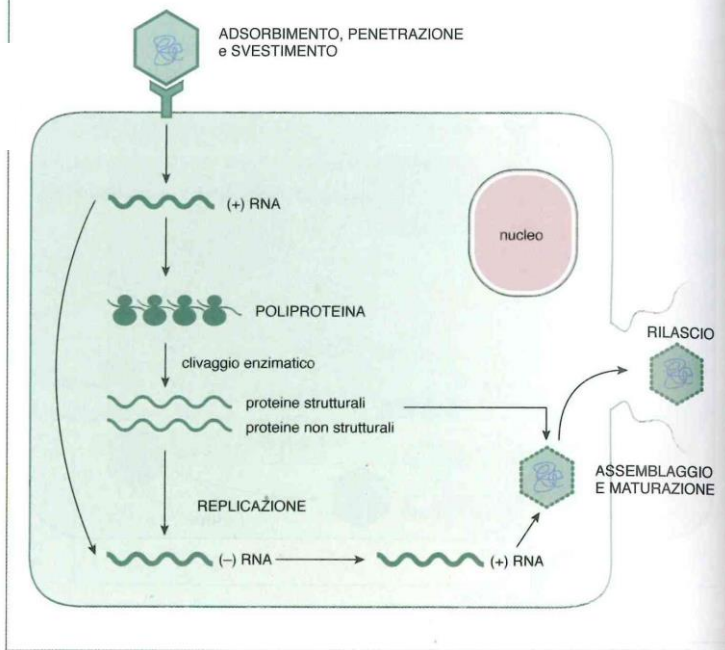


FIGURA 12.12 Rappresentazione schematica del ciclo replicativo dei virus di classe V con genoma non segmentato.

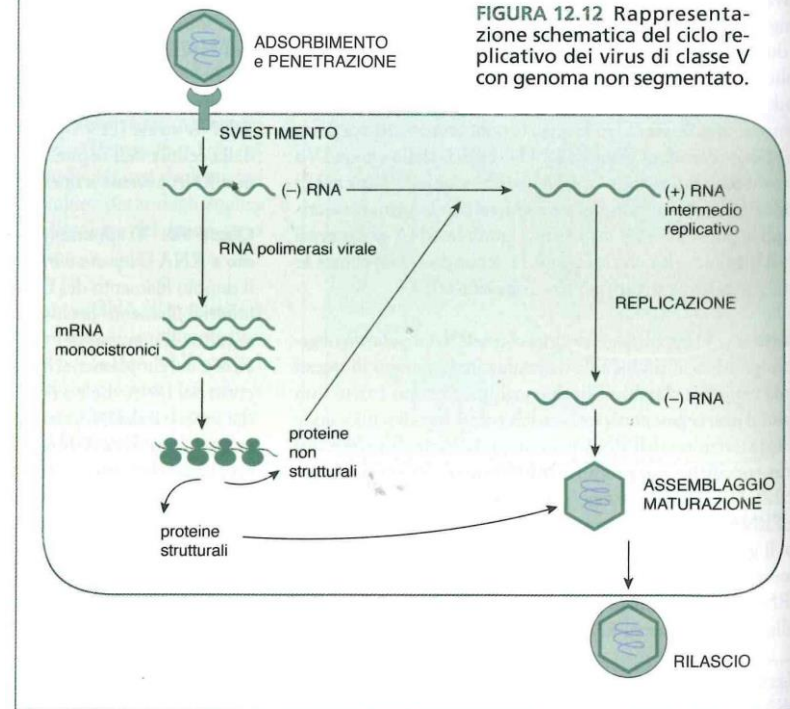


FIGURA 12.13 Rappresentazione schematica del ciclo replicativo dei virus di classe VI.

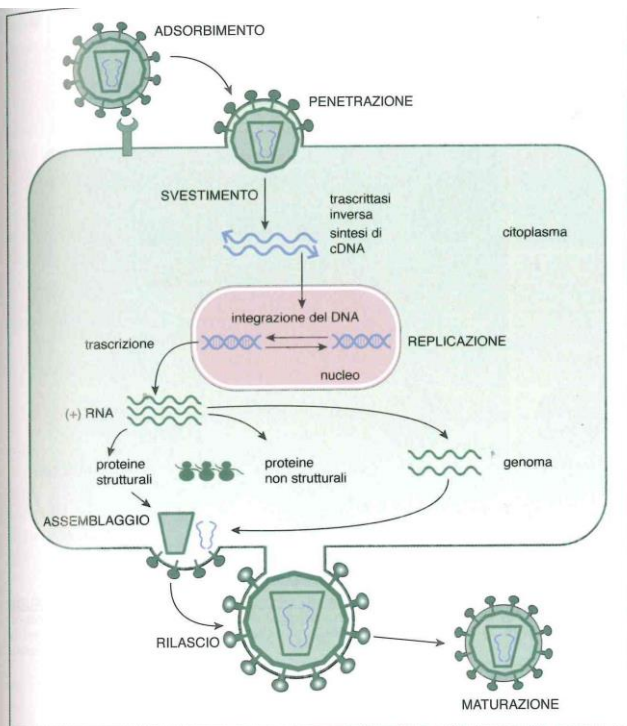
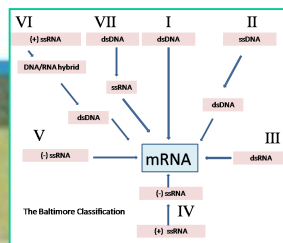
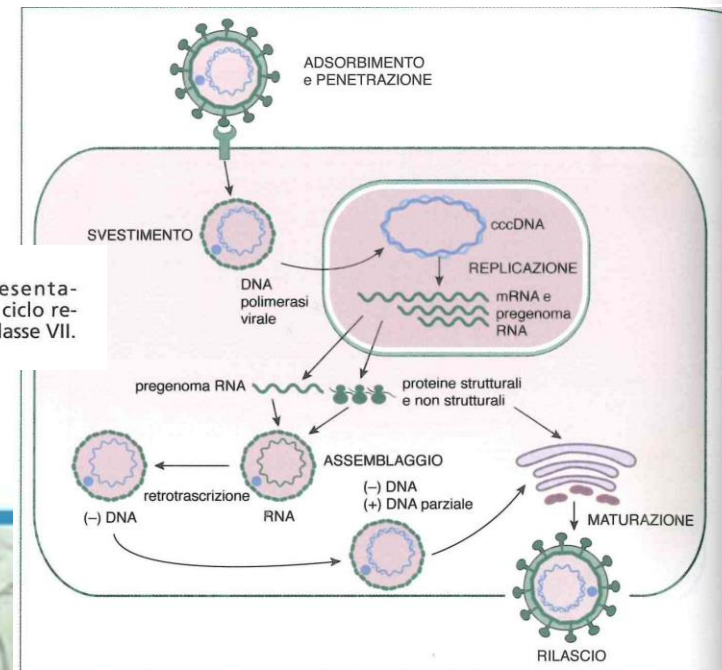
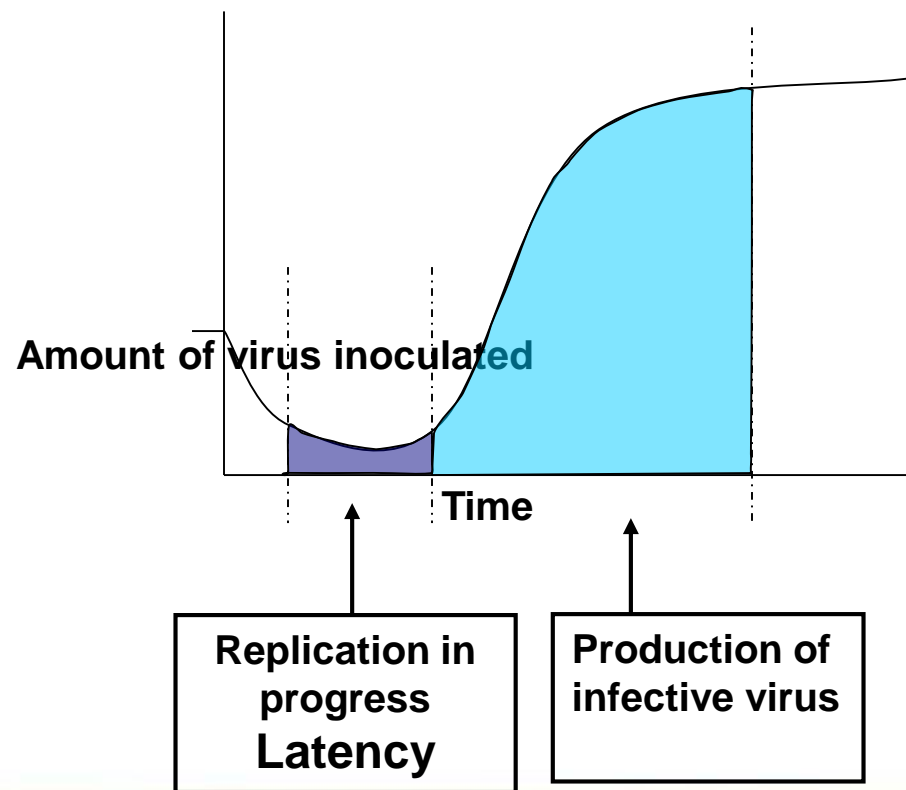


FIGURA 12.14 Rappresentazione schematica del ciclo replicativo dei virus di classe VII.

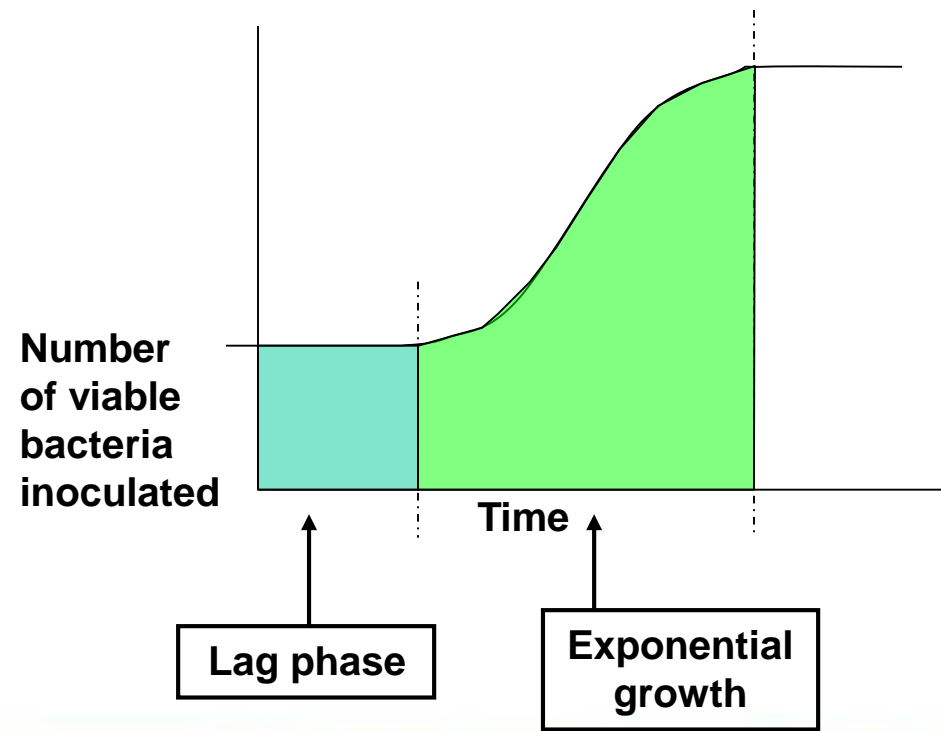


CICLO UNICO di REPLICAZIONE “One-Step” growth

VIRUS

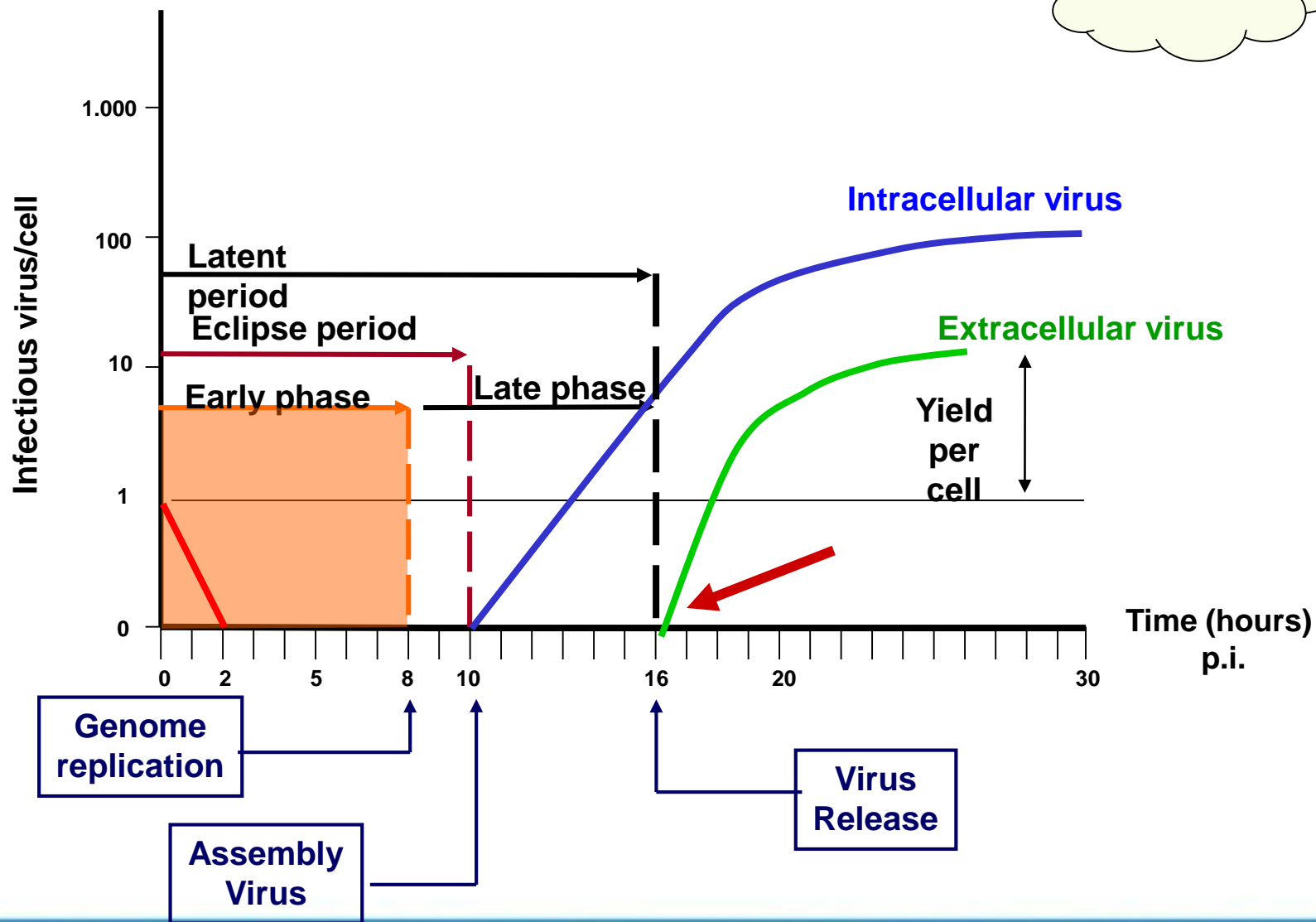


BATTERI



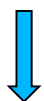
CURVA DI CRESCITA

INTERFERONE



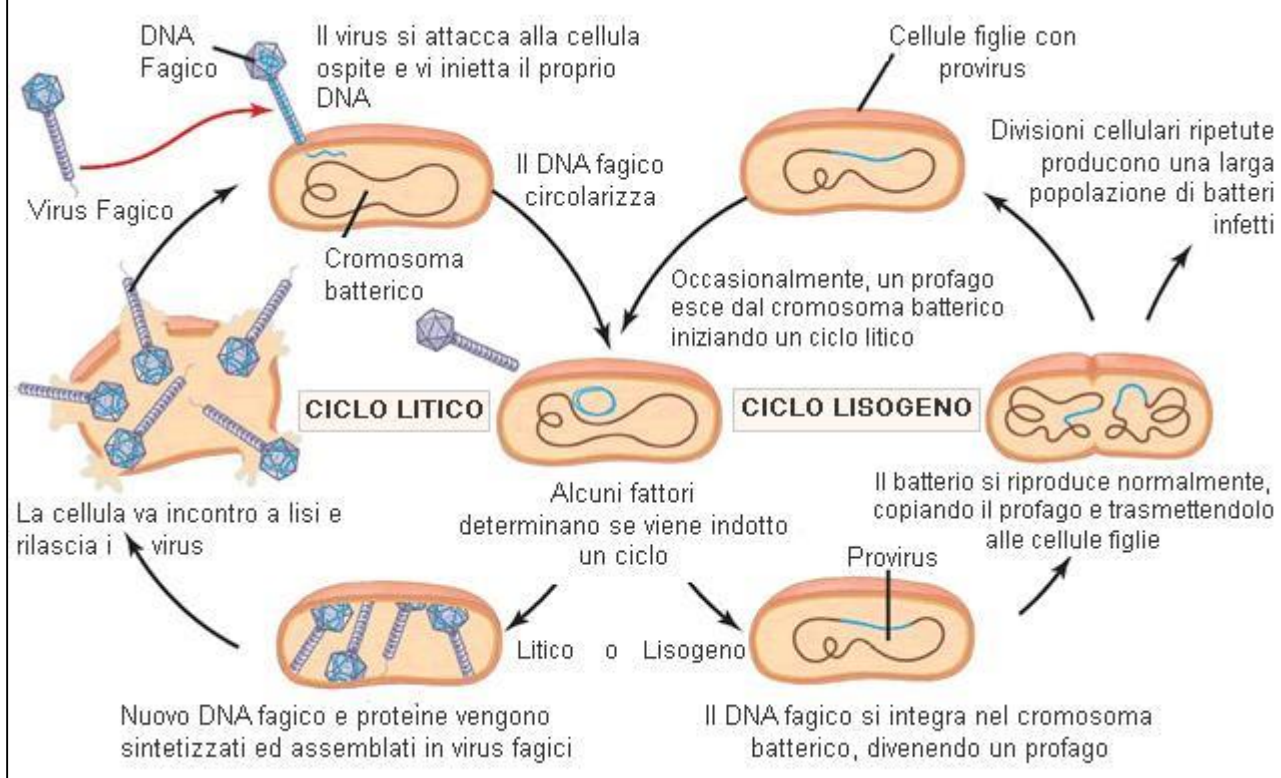
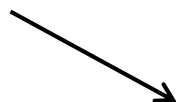
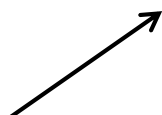
Virus e Cellula

- Adsorbimento
- Penetrazione
- Svestimento
- Replicazione
- Assemblaggio
- Rilascio



Ciclo Litico

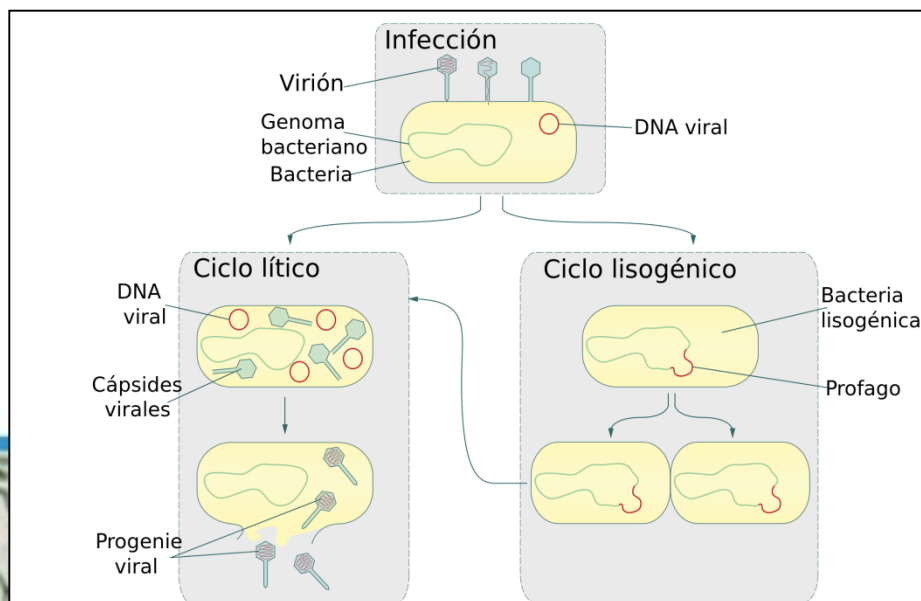
Enterovirus
Orthomyxovirus
Coronavirus
ecc.



www.tes.com

Ciclo Lisogenico

Retrovirus
Herpesvirus

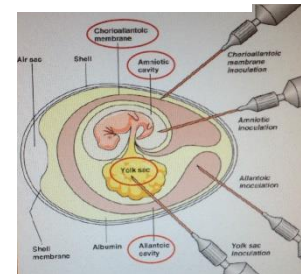


Metodi di rilevazione:

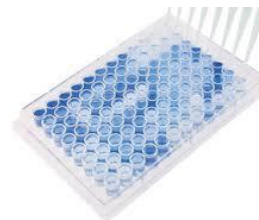
Isolamento *in vivo* -> Animali da laboratorio e UE
Isolamento *in vitro* -> Coltura cellulare



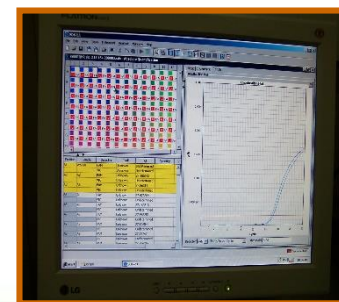
Osservazione al MO e TEM



Rilevazione di proteine -> ELISA

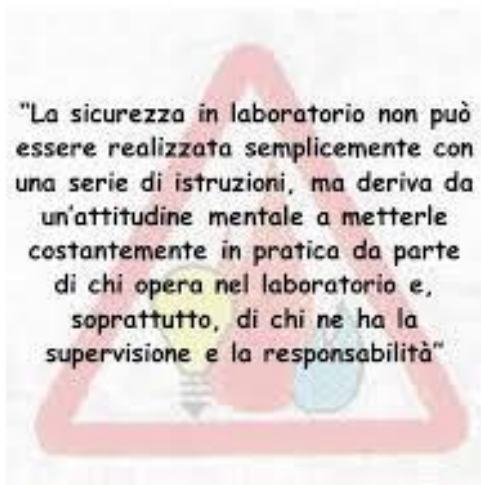


Rilevazione di acido nucleico -> PCR



Le attività svolte nel Lab. di Microscopia elettr. e Virologia sp.
implicano

Rischio da esposizione ad agenti biologici



dal web



Procedure per Biosicurezza e Biocontenimento

Documenti vigenti che regolamentano a riguardo

D.Lgs 81/08 - D.Lgs. 106/09 e s.m.s. -> Titolo III e Titolo X

Manuale di Biosicurezza dell'IZSLT

PG SPP 003 – Valutazione del rischio biologico

PG SPP 002 – Uso dei dispositivi di protezione individuale

PG QUA 008: Gestione delle emergenze da contaminazioni di agenti biologici

PG VIR 009 – Norme di Biosicurezza US Biotecnologie (in emissione)

POS VIR 070 SUP – Monitoraggio ambientale

Documento VdR di Biotecnologie

Doc. VdR Biologico (in preparazione)

Titolo X del D.Lgs. 81/08

ESPOSIZIONE AD AGENTI BIOLOGICI

Art. 266

Campo di applicazione

Tutte le attività lavorative in cui vi è rischio di esposizione ad agenti biologici



Le attività lavorative che espongono al rischio biologico vanno distinte in :

attività che fanno uso deliberato di agenti biologici quali ad esempio

- istituti di ricerca
- industrie farmaceutiche

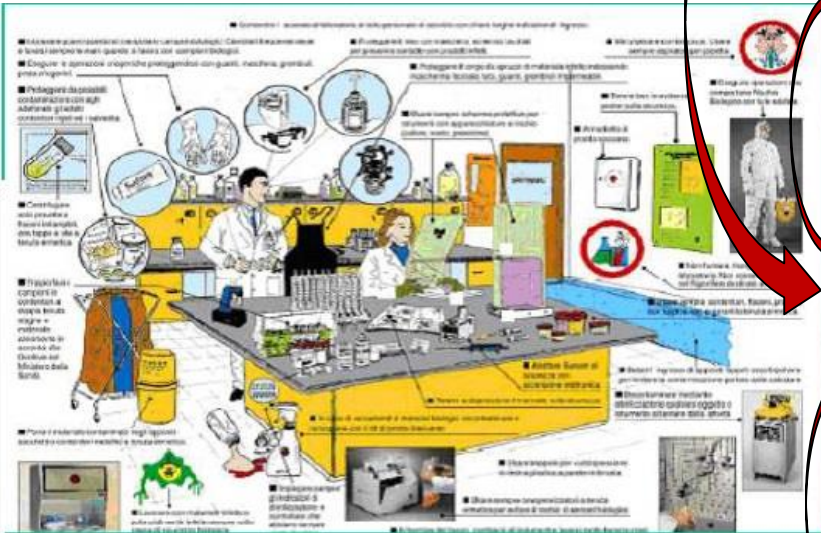
attività che hanno una potenziale esposizione ad agenti biologici:

- servizi sanitari
- macellazione
- lavorazioni delle carni
- allevamento del bestiame

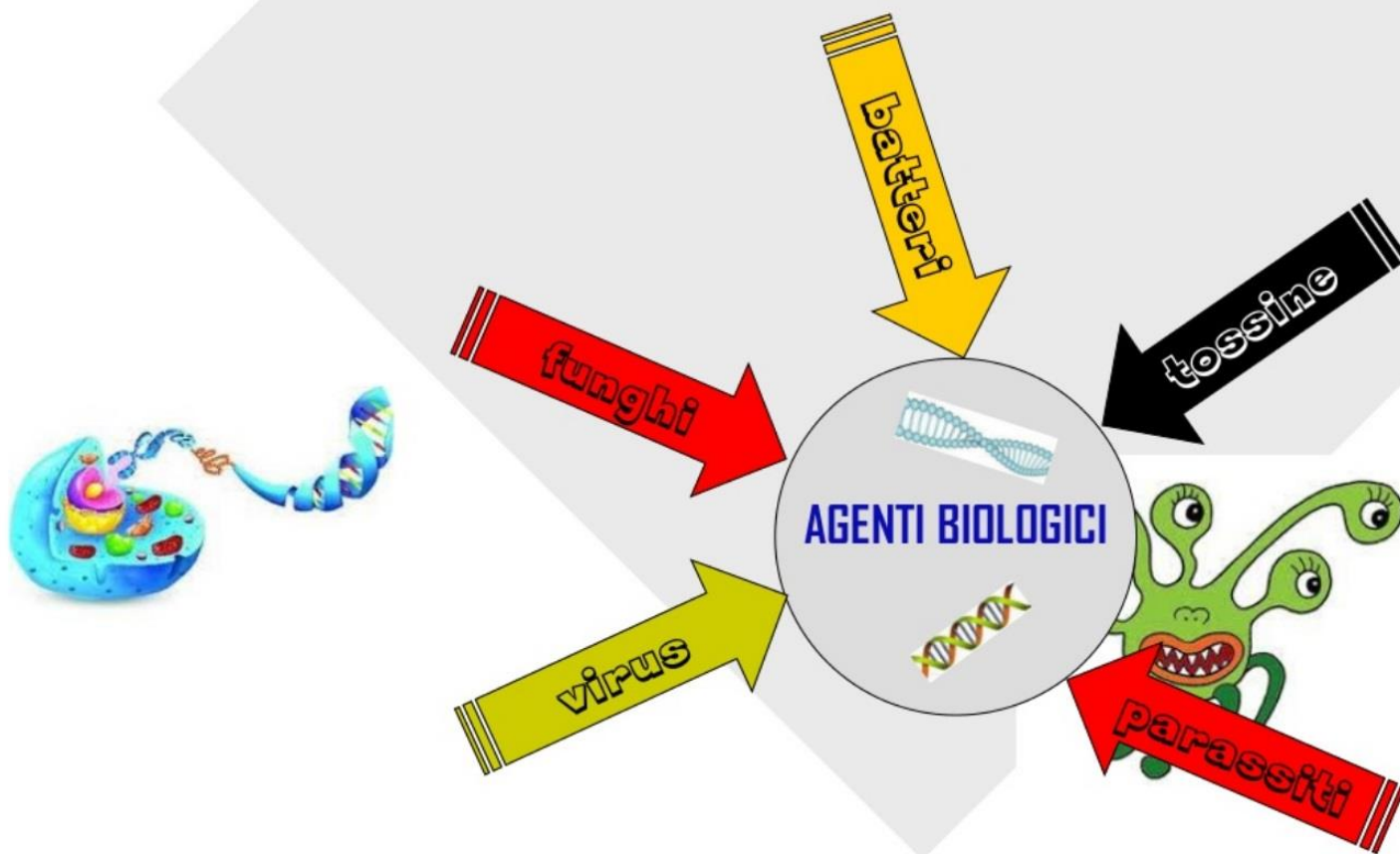


IZSLT -> Uso deliberato e Uso potenziale di agenti biologici

Laboratorio -> ambiente di lavoro dove vengono manipolati agenti biologici -> rischi per la salute (e sicurezza) del lavoratore



RISCHIO BIOLOGICO: PROBABILITA' DI SVILUPPARE MALATTIE INFETTIVE IN SEGUITO AL CONTATTO CON



Pericolosità degli agenti biologici:

- Patogenicità
- Trasmissibilità
- Infettività
- Neutralizzabilità

La classificazione degli agenti biologici è elencata nell'allegato XLVI del D.Lgs. 81/08

Classificazione degli agenti biologici in funzione della loro pericolosità

(Art. 268)

- rischio limitato di diffusione in comunità,
- disponibili misure profilattiche e terapeutiche
(es. pertussis, tetani, pneumophila, cholerae)

- serio rischio per i lavoratori
- possono propagarsi nella comunità
- disponibili misure profilattiche e terapeutiche
(es. Brucella, tuberculosis, HBV, HCV, HIV)

- ✓ serio rischio per i lavoratori
- ✓ elevato rischio di propagazione in comunità;
- ✓ non disponibili misure profilattiche e terapeutiche
(es. Virus Ebola, febbre emorragica di Crimea/Congo)



GRUPPO 2

GRUPPO 1
SCARSAMENTE
PATOGENI

POSSONO CAUSARE
MALATTIA



GRUPPO 3

ALTAMENTE
PATOGENI

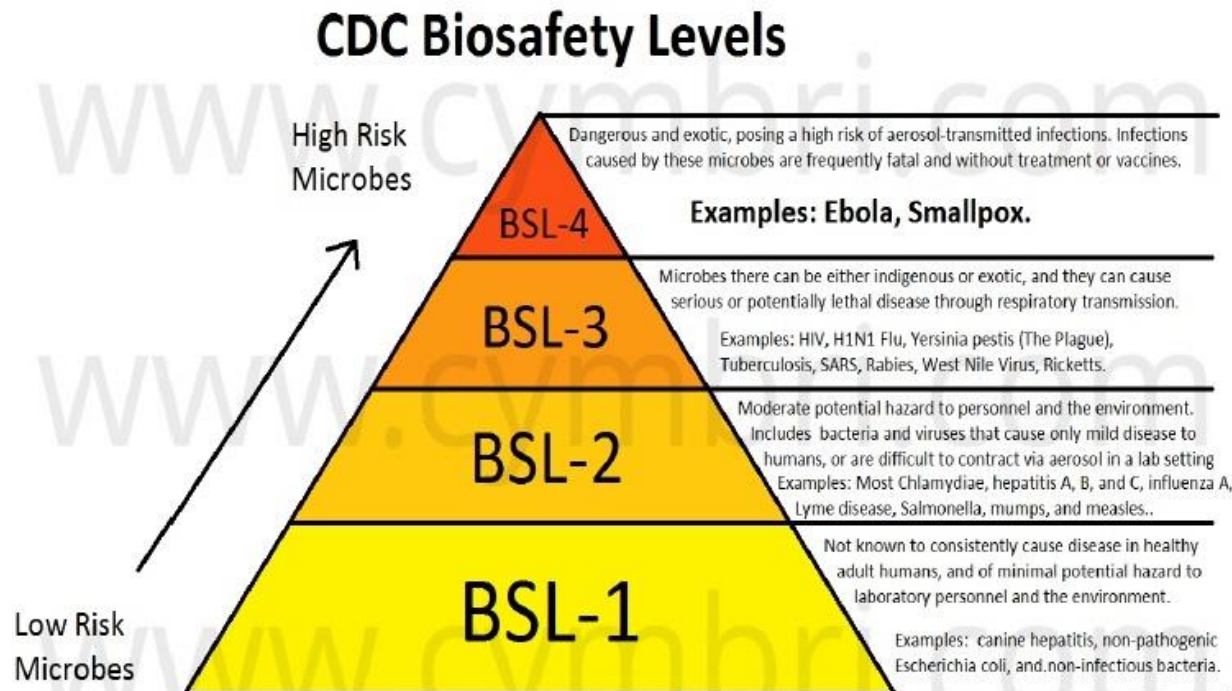


GRUPPO 4

ALTAMENTE
PATOGENI
ED INFETTANTI



I campioni di origine animale (liquidi biologici, escreti, secreti e organi): potenzialmente portatori di agenti patogeni di varia natura (virus, batteri, parassiti) anche a carattere zoonosico. I **virus animali** ricercati nel Lab. ME-VS, sono per la maggior parte **non patogeni** per l'uomo, appartenenti alla classe di rischio II -> **BSL-2**



MISURE DI PROTEZIONE

Complesso di disposizioni e/o misure che diminuiscono l'entità del danno.

Agiscono sulla magnitudo dell'incidente:

$$\text{Rischio} = \text{Pericolo} \times \text{Danno}$$

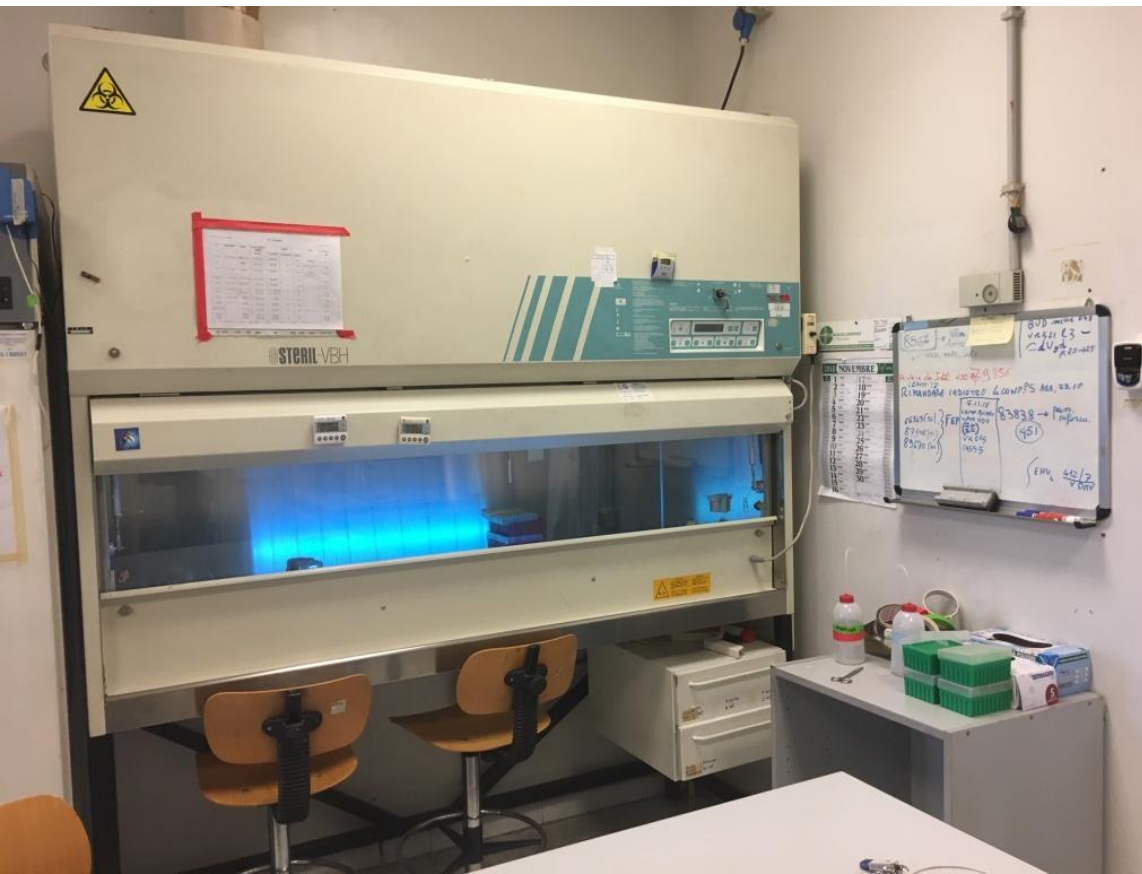
- **Barriere biologiche** (vaccinazione delle persone esposte, quando possibile)
- **Barriere fisiche** (isolamento, cappe biologiche, guanti, maschere, occhiali, sterilizzazione)
- **Barriere chimiche** (detersivi, disinfettanti, lavaggio delle mani, ecc.)





Rischio Biologico

Per eliminare ogni rischio di infezione, tutte le operazioni di manipolazione del campione, vengono effettuate sotto **cappa a flusso laminare verticale Classe II, tipo A1** indossando **DPI** (camice, guanti di vinile monouso e calzature da laboratorio). Al termine della prova: **disinfezione** del **piano di lavoro** con disinfettante in uso presso il laboratorio (Virkon o ParaSafe).





Neutralizzazione ->
Barriere chimiche =
Misure igieniche

Al termine della giornata di lavoro: disinfezione di tutti i piani di lavoro con disinfettanti in uso presso il laboratorio.

Lavaggio delle Mani

Come lavarsi le mani?

Lavare le mani quando sono sporche, oppure utilizzare le salviettine monouso

Durata della procedura: 40-60 secondi



Fonte: World Health Organization



Pulizia e Disinfezione

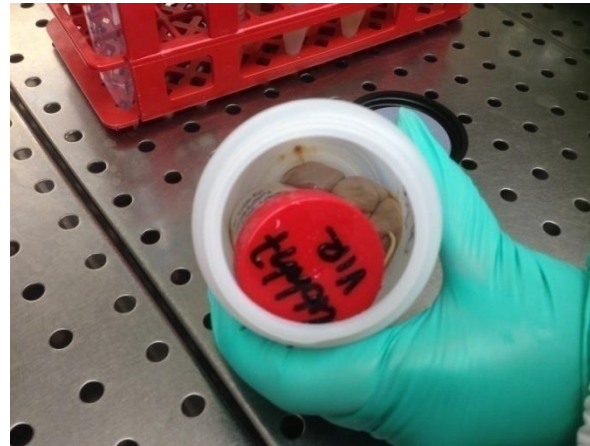
Sistema perossido biodegradabile acido
-> AZIONE BIOCIDA E DETERGENTE



Rely+On Virkon® -> prodotto
sanitizzante introdotto da IZS, FAO,
WHO, Forze Armate ONU, EI, EPA nei
propri protocolli di disinfezione sia per
uso umano che veterinario



Trattamento campioni mal confezionati -> esposizione a Rischio biologico



Smaltimento Materiale a Rischio biologico

I *campioni di origine animale* utilizzati per gli esami: in contenitore ermetico e rigido, smaltiti in appositi **contenitori ROT** raccolti giornalmente dalla ditta per lo smaltimento.

Gli *aghi da siringa* utilizzati per filtrare gli omogenati: smaltiti in appositi **contenitori** a chiusura e raccolti dalla ditta per lo smaltimento quando pieni al 75%



Materiale plastico infetto: trattare con ipoclorito di sodio e in buste chiuse nel ROT

Liquidi infetti: in contenitori a tenuta contenenti ipoclorito di sodio

Lavanderia

Lavaggio e sterilizzazione giornaliera del materiale da laboratorio utilizzato durante le prove



Kit d'emergenza (PG QUA 008)

Nelle aree di lavoro in cui si manipolano agenti patogeni di classe 2 e 3** deve essere disponibile un **Kit di emergenza** con:

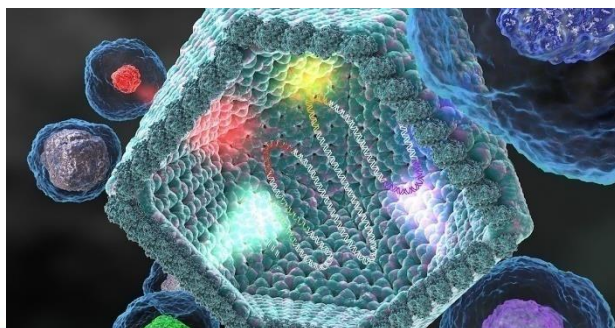
- Camici monouso
- Guanti monouso
- Mascherine chirurgiche di tipo II o IIR
- Filtrante respiratorio FFP2
- Occhiali di protezione o visiera
- Calzari monouso
- Carta o altro materiale assorbente
- Disinfettante pronto all'uso
- Spruzzetta con alcol al 70%
- Sacchetti per lo smaltimento di materiale infetto
- Cartelli per la segnalazione dell'emergenza
- Nastro adesivo

Procedura in caso di contaminazione di superfici all'interno del laboratorio

- Versare disinfettante sul materiale contaminante la superficie
- Circondare l'aria interessata ed assorbire i liquidi con carta assorbente
- Trascorso il tempo di contatto con il disinfettante, raccogliere il materiale con apposita scopa e paletta, riponendolo in doppio sacco e in ROT
- Disinfettare accuratamente scopa e paletta utilizzate



VIRUS e Aspetti di Biosicurezza



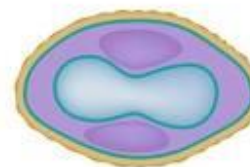
Papillomavirus
Enterovirus
Rhinovirus
Rotavirus



Coronavirus



Herpesvirus
Hepatitis B virus



Smallpox virus



Mastadenovirus



Rabies virus



Filovirus (Ebola virus)



Hepatitis D virus



Hantavirus



Libro “Field’s Virology”. Fifth edition, 2007

ICTV -> <https://talk.ictvonline.org/>

Libro “Microbiologia e Immunologia Veterinaria” Giorgio Poli 2017, terza edizione

Virus -> <https://www.youtube.com/watch?v=8FqlTslU22s>

Virus Influenza-> <https://www.youtube.com/watch?v=Rpj0emEGShQ>

Flu Virus into the Cell -> <https://www.youtube.com/watch?v=ehURuRL94oU>

How do Viruses Reproduce -> <https://www.youtube.com/watch?v=QHHrph7zDLw>

Attach & Entry -> <https://www.youtube.com/watch?v=xqlxZruKpm0>

Ciclo litico e lisogenico: https://www.youtube.com/watch?v=L8oHs7G_syl