

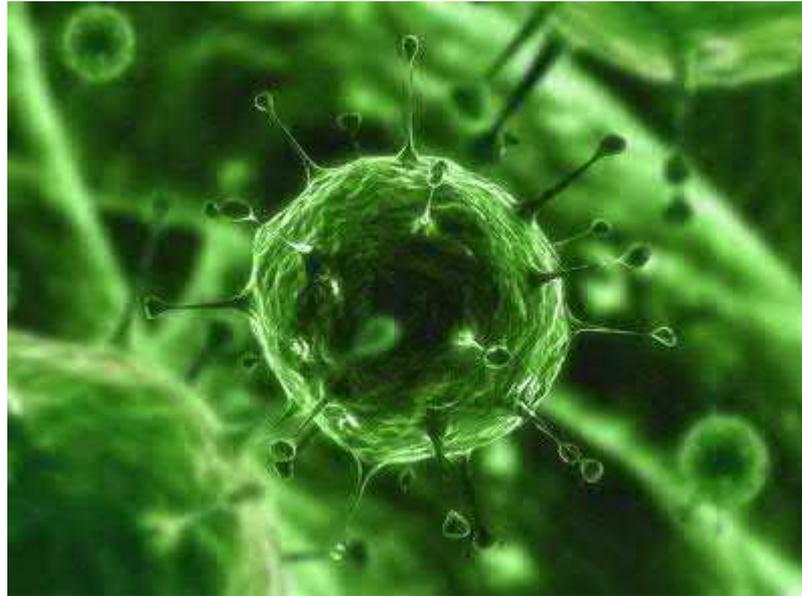
# VIROLOGIA GENERALE

- Classificazione e struttura
- Replicazione virale
- Patogenesi virale
- Diagnosi delle infezioni virali
- Farmaci antivirali

# Virologia

disciplina che studia i virus, gli unici organismi che non possono riprodursi da soli  
ma solo grazie all'intermediazione di cellule

**Virus = veleno**  
*“agenti filtrabili”*



# 1500 AC: prime evidenze della presenza di virus

deformità della gamba:  
poliomielite



Poliovirus

segni sul viso:  
vaiolo



Faraone Ramses V morto di vaiolo (poxvirus) ne 1157 A.C.

**Primo virus identificato: foot and mouth disease  
(picornavirus), 1898**

Afta-epizotica

# MOSAICO DEL TABACCO

Patologia che colpisce molte specie vegetali (barbabietola da zucchero, cetriolo, mais, patata, pomodoro, pisello, tabacco).

Si manifesta con la formazione di macchie di colore giallo o verde sulle foglie della pianta, causate dalla distruzione dei cloroplasti e l'alterazione dell'attività degli enzimi della fotosintesi

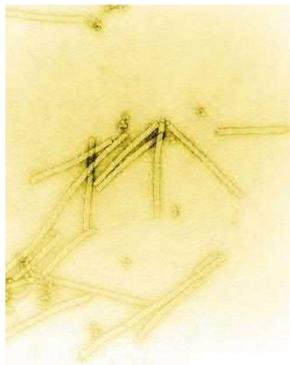
1982: Dmitrij Iosifovic Ivanovskij

"virus filtrabili" in quanto passavano attraverso filtri che trattenevano i batteri, filtri in ceramica a porosità micrometrica, ma a differenza delle semplici tossine, potevano essere trattenuti da ultrafiltri



1898: Martinus Willem Beijerinck

Usando esperimenti di filtrazione su foglie di tabacco infette, riuscì a dimostrare che il mosaico del tabacco è causato da un agente infettivo di dimensioni inferiori a quelle di un batterio.



# DIFFERENZE BATTERI-VIRUS

	BATTERI	BATTERI ATIPICI (intracellulari)	VIRUS
	Batteri tipici	Rickettsiae/Chlamidiae	
Parassiti endocellulari	-	+	+
Membrana citoplasmatica	+	+	-
Scissione binaria	+	+	-
Filtrabile attraverso filtri x batteri	-	-/+	+
DNA+RNA	+	+	-
Metabolismo che genera ATP	+	+/-	-
Ribosomi	+	+	-
Sensibili agli ATB	+	+	-
Sensibili all'interferone	-	-	+

# Cosa sono i Virus?

Non sono né eucarioti né procarioti

Sono microrganismi **acellulari** in grado di passare attraverso filtri che trattengono i batteri

Sono totalmente dipendenti da una cellula vivente per la loro replicazione: **Parassiti endocellulari obbligati**

Alcuni codificano propri enzimi ma non sono capaci di riprodurre da soli le informazioni contenute nei loro genomi.

Non hanno sistemi per la produzione di energia, e devono usare l'energia della cellula parassitata.

# Caratteristiche dei virus

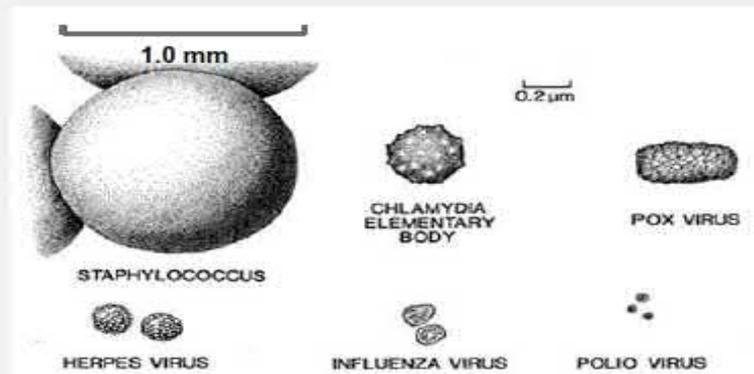
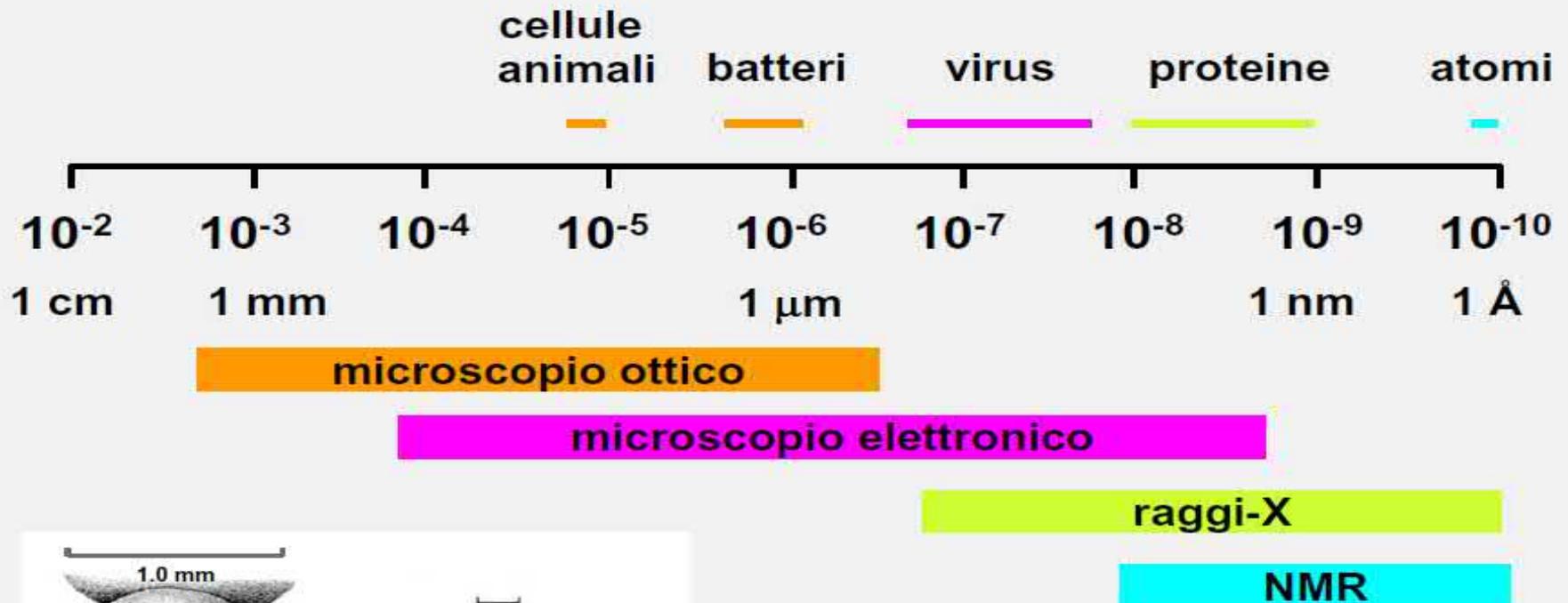
- **Parassiti endocellulari obbligati**
- **Organismi submicroscopici: dimensioni 20-300 nm**
- **Non hanno l'informazione genetica per produrre energia e per la sintesi proteica**
- **Non crescono e non si dividono - si assemblano da componenti preformate**
- **Sono metabolicamente inerti (fuori dalle cellule)**

**I virus sono "vivi"?** Dipende dalla definizione di vita

**I virus:** sono metabolicamente inerti, non respirano, non si muovono, non crescono, non reagiscono all'ambiente

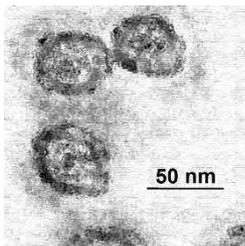
**MA:** si riproducono, possono adattarsi all'ospite, all'interno delle cellule sono metabolicamente attivi.

# Dimensioni dei Virus



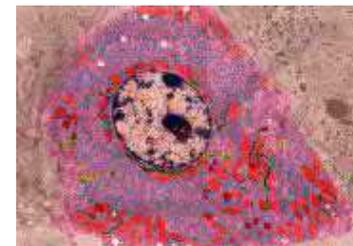
**LE DIMENSIONI VARIANO  
da 20-30nm a 300nm  
(1nm è uguale a  $10^{-6}$ mm  
= un milionesimo di mm)**

# MICROSCOPIO



Virus HCV dell'Epatite C

Microscopio elettronico:  
particelle virali



Microscopio ottico:  
cellule infette

# **STRUTTURA E CLASSIFICAZIONE**

I VIRUS SONO ORGANISMI SUB-CELLULARI  
ESSENZIALMENTE COSTITUITI DA:

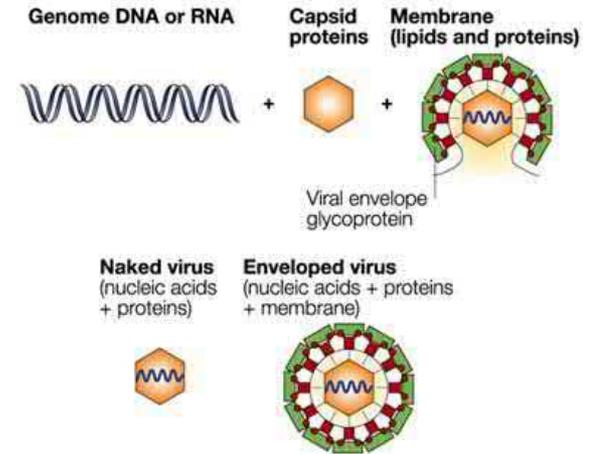
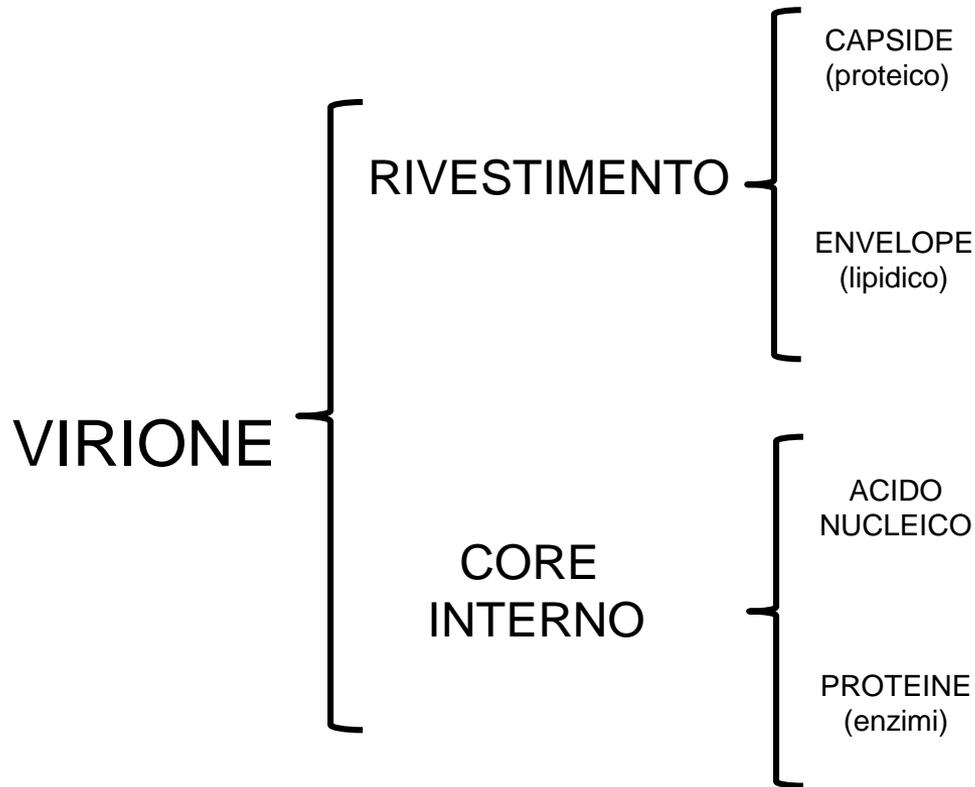
- **ACIDO NUCLEICO**
- **INVOLUCRO PROTEICO (CAPSIDE)**

ALCUNI HANNO UN **RIVESTIMENTO ESTERNO**  
CHIAMATO

- ***ENVELOPE* o *MANTELLLO* o *PEPLOS* o *PERICAPSIDE***

Le particelle virali o “virioni” presentano in superficie  
antirecettori che riconoscono i recettori sulle cellule  
bersaglio

# STRUTTURA



Nature Reviews | Molecular Cell Biology

## Composizione chimica

- ✓ **Proteine**: maggiore componente (fino a oltre il 90%), strutturali e enzimatiche
- ✓ **Acido nucleico**: DNA O RNA (1-15% in peso)
- ✓ Virus con involuppo: **lipidi** (10-30%) e **carboidrati** (glicoproteine)

## Qualche definizione:

**Virione:** particella virale completa

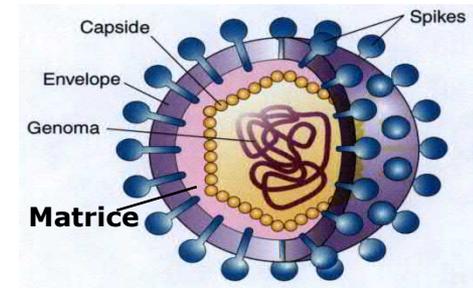
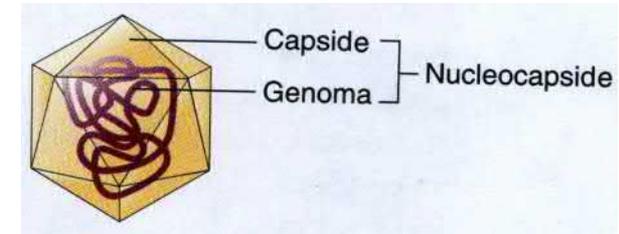
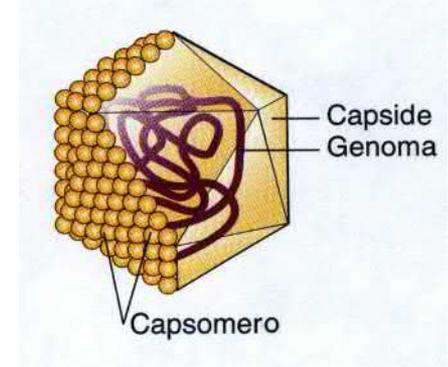
**Core:** acido nucleico + proteine associate

**Capside:** rivestimento proteico del genoma, lo protegge dall'ambiente esterno

**Nucleocapside:** capside + acido nucleico (e proteine associate)

**Envelope:** rivestimento lipidico e glicoproteico (o pericapside) che circonda il capside

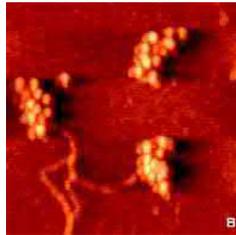
**Matrice o tegumento:** zona fra capside ed envelope



**N.B. L'envelope deriva dalla cellula, le proteine del capside e le glicoproteine inserite nell'envelope sono di origine virale.**

# ACIDO NUCLEICO

- Impacchettato nel CAPSIDE
- RNA o DNA
- A singola o doppia elica
- Non segmentato o segmentato
- Lineare o circolare
- Associato a ioni<sup>+</sup> o a proteine basiche (virali o cellulari) per neutralizzare i gruppi fosfato<sup>-</sup>

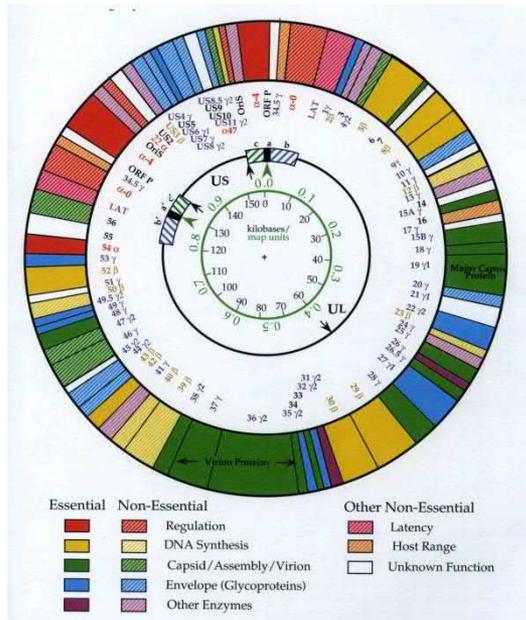


Fotografia al microscopio elettronico di proteine legate ad una molecola di DNA

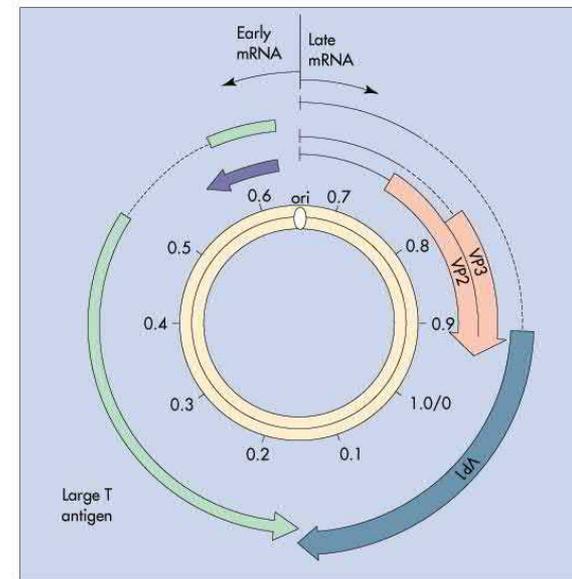
# Acido Nucleico

Capacità codificante estremamente varia: poche (3-4) o molte (>100) proteine

**Potenziale di informazione compresso: geni sovrapposti, splicing multipli**



Genoma del virus dell'herpes simplex (150.000 paia di basi), codifica circa 100 geni



Mosby, Inc. items and derived items copyright © 2002 by Mosby, Inc.

Genoma del virus SV40 (5.000 paia di basi), codifica 5 geni

## DNA: deossiribovirus

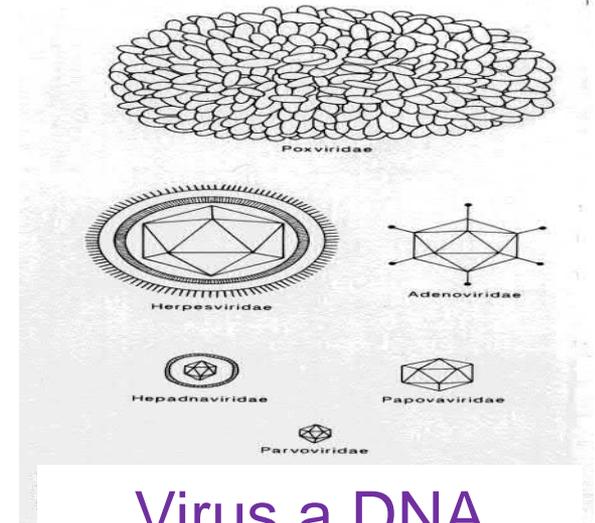
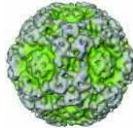
15% peso del virione

Dimensioni 5-300 kilobasi

Solitamente bicatenario lineare

Papovavirus: bicatenario circolare

Parvovirus: singola elica



## RNA: ribovirus

1-30% peso del virione

Dimensioni: 7-30 kilobasi

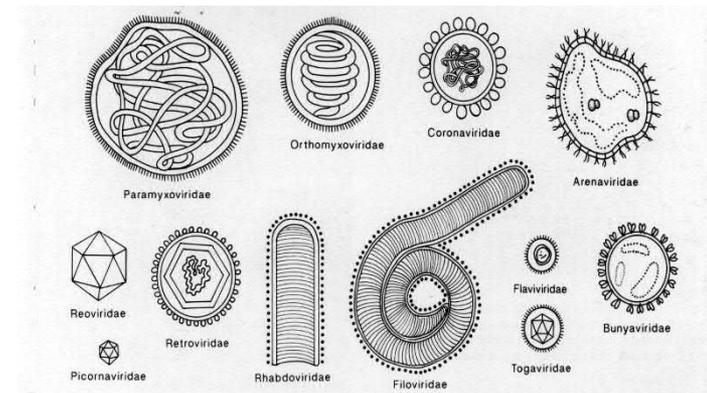
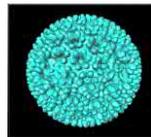
Monocatenario lineare

Reovirus: bicatenario

Ortomixovirus: frammentato

Polarità positiva (+) RNA

Polarità negativa (-) RNA



## Virus a RNA

= può funzionare da RNA messaggero

= serve da stampo per mRNA

## PROTEINE VIRALI

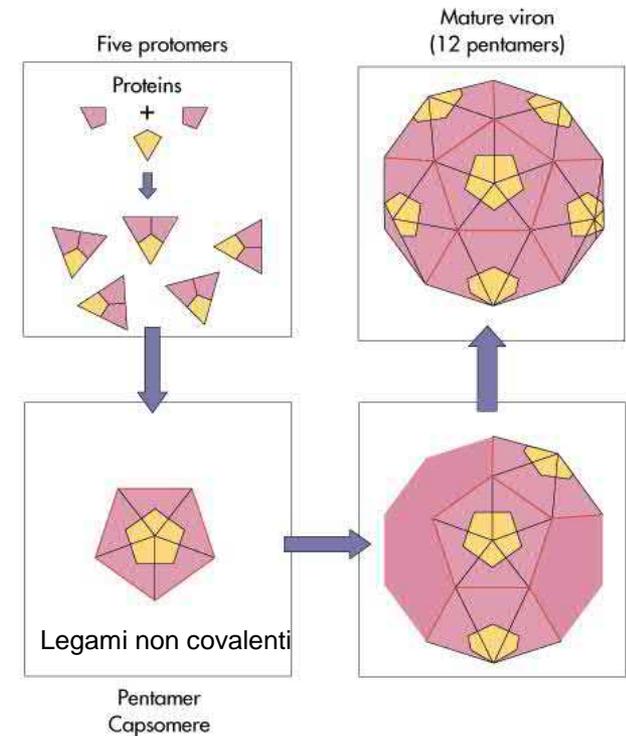
Si distinguono:

- **Proteine funzionali** che permettono ad es. all'acido nucleico virale di replicarsi (DNA- o RNA-polimerasi)
- **Proteine strutturali**: incorporate nelle nuove particelle virali come **costituenti del capsido** o come strutture particolari (es. le emoagglutinine) presenti nell'envelope
- **Proteine che alterano alcune funzioni e strutture della cellula ospite**
- **Proteine strettamente associate agli acidi nucleici**
- **Proteina di matrice** o proteina M

# CAPSIDE (rivestimento proteico)

**Funzione:** protezione, riconoscimento recettori, consente penetrazione

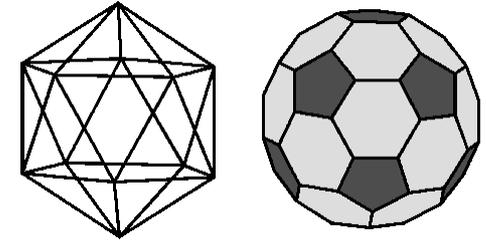
**Struttura:** rigida e resistente. Formata dalla ripetizione di poche specie differenti di subunità proteiche (**capsomeri**) disposte **simmetricamente** (simmetria icosaedrica, elicoidale, binaria, complessa)



# Simmetria CUBICA o ICOSAEDRICA

ICOSAEDRO: figura solida con

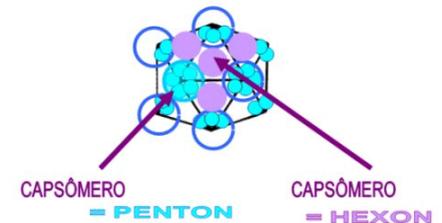
- 20 facce identiche (triangoli equilateri)
- 12 vertici
- 30 spigoli



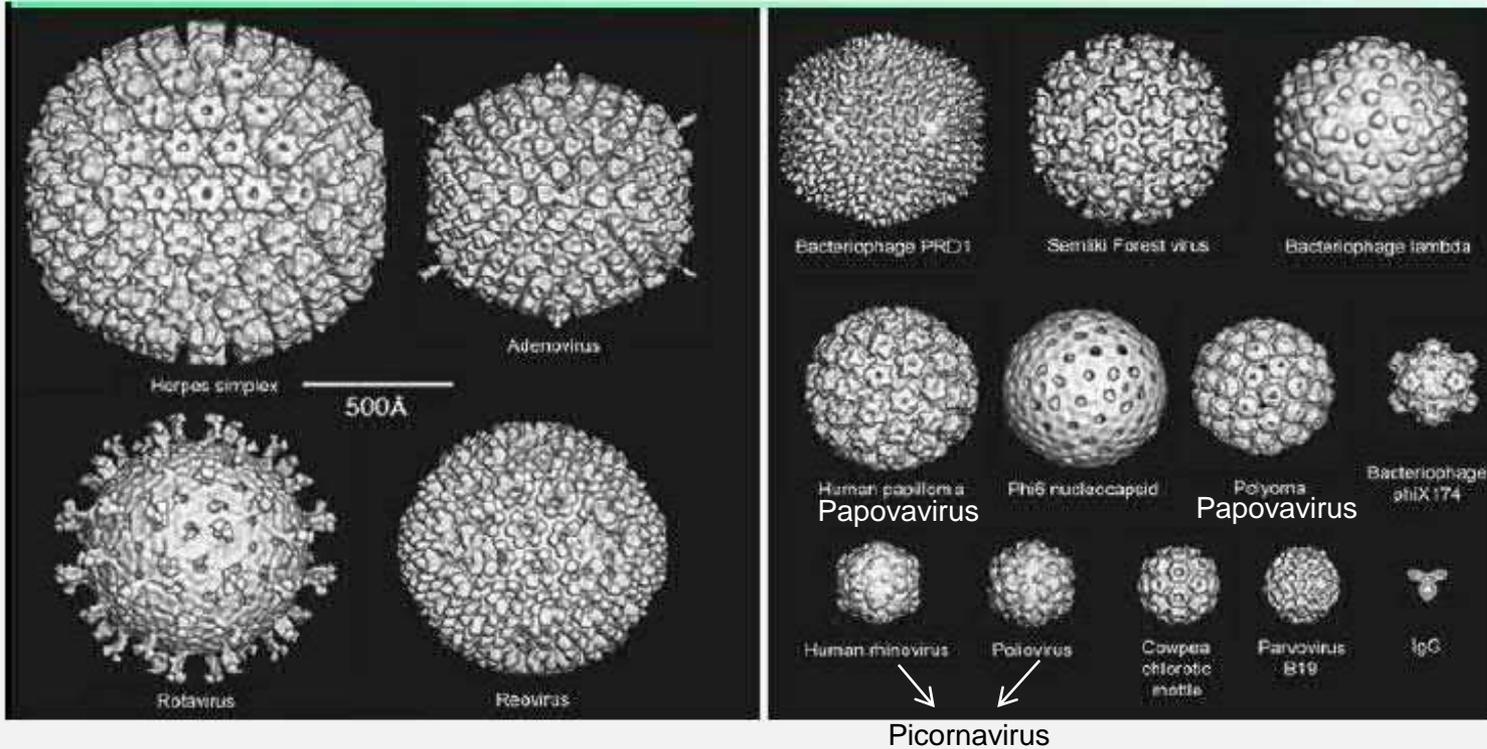
Le unità polipeptidiche si dispongono sulla superficie di un icosaedro ideale, assumendo una disposizione tale per cui si riuniscono in gruppi, ognuno dei quali forma un capsomero.

**Pentoni:** 5 protomeri ai vertici

**Esoni:** 6 protomeri sulle facce



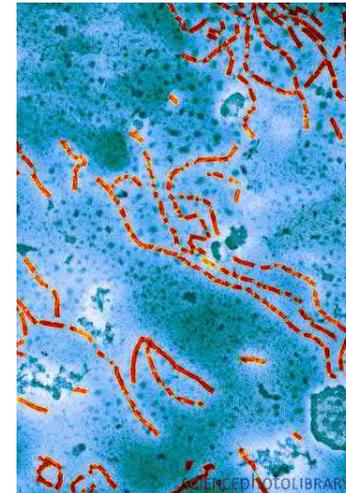
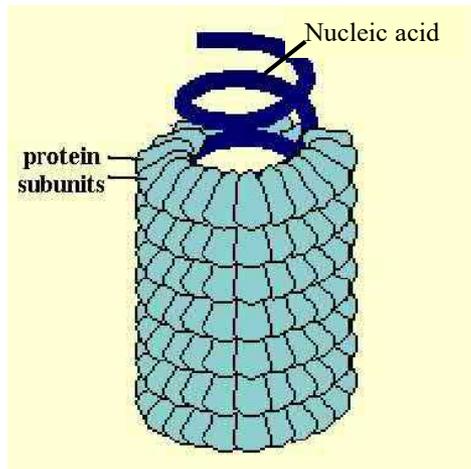
# VIRUS ICOSAEDRICI



Adenovirus, herpesvirus, rotavirus, picornavirus, reovirus, papovavirus, parvovirus.

# Simmetria ELICOIDALE

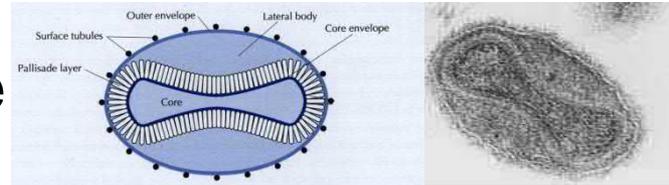
I protomeri si dispongono a spirale  
Capside cilindrico con all'interno l'acido nucleico



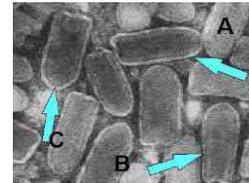
Paramyxovirus umano tipo 1

# Simmetria COMPLESSA

Poxvirus: forma a mattone

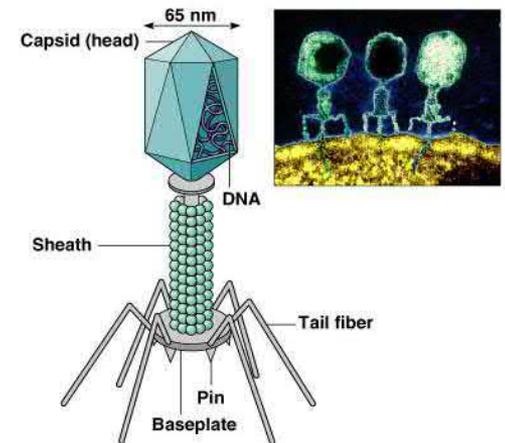


Rhabdovirus: forma a proiettile

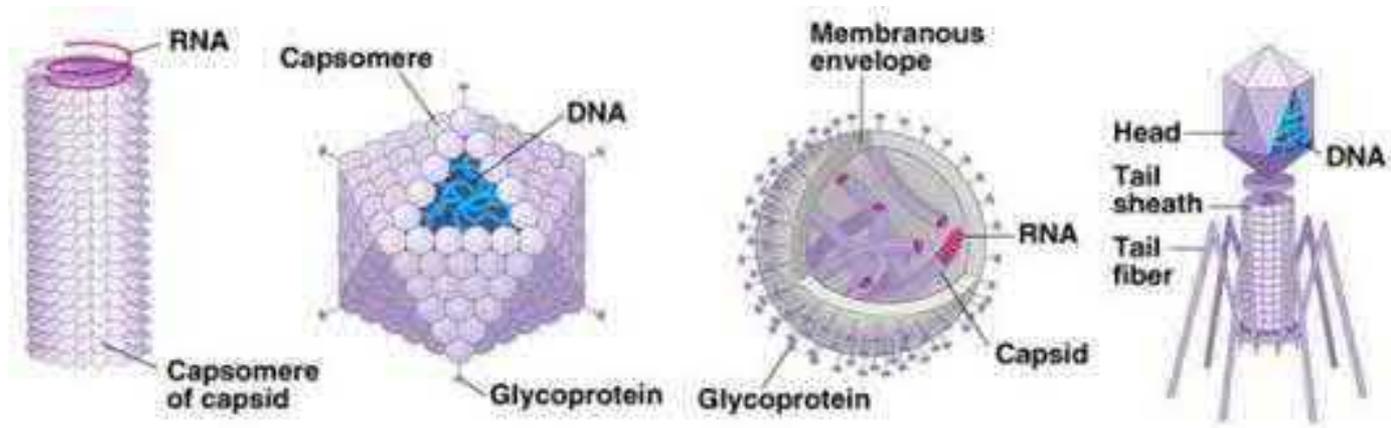


# Simmetria BINARIA

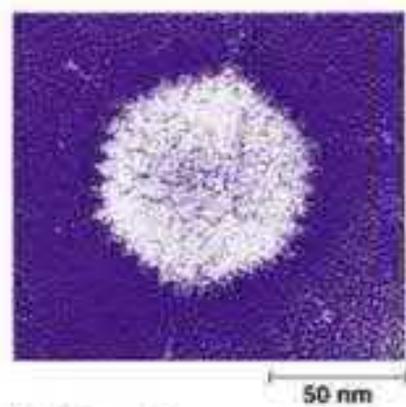
Batteriofagi: virus dei batteri



(a) A T-even bacteriophage



(a) Tobacco mosaic virus



(b) Adenoviruses



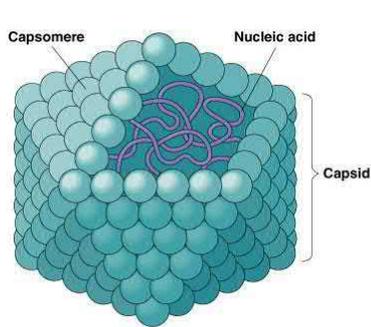
(c) Influenza viruses



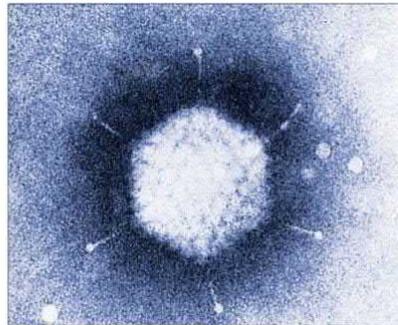
(d) Bacteriophage T4

# A seconda del virus, il capsid può essere “nudo”, o rivestito da envelope

## Virus a capsid nudo

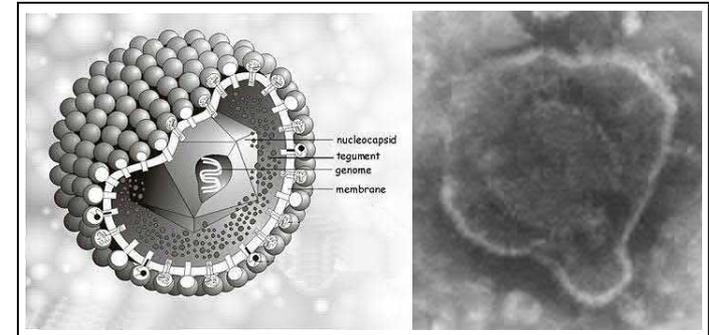


(a) A polyhedral virus



(b) A Mastadenovirus

## Virus con envelope



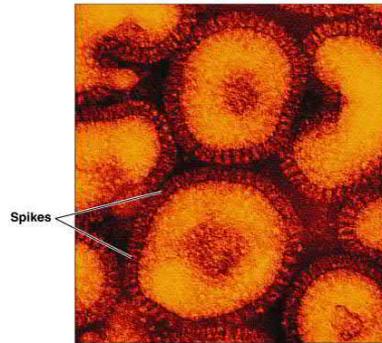
# INVILUPPO / ENVELOPE

Membrana che riveste il capsid.

Doppio strato lipidico derivante dalle membrane nucleari (herpes) / cellulari (ribovirus) modificate durante l'infezione con l'inserimento di glicoproteine virali.

Le glicoproteine dell'inviluppo sono ancorate alla membrana e proiettate all'esterno ("spike").

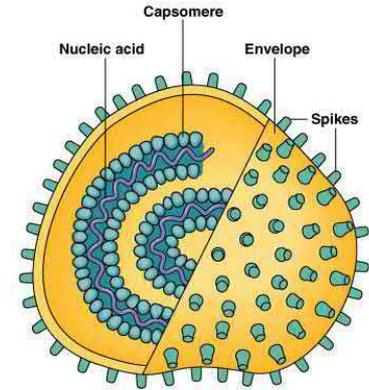
I virus con inviluppo di solito sono meno stabili all'ambiente rispetto a quelli con capsid nudo



(b) Influenzavirus

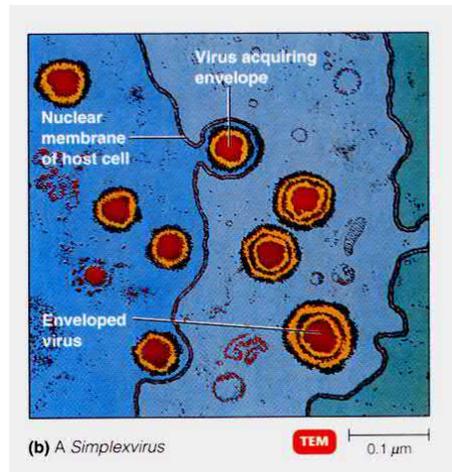
Sono la maggiore sorgente antigenica dei virus con inviluppo, e riconoscono i recettori cellulari.

Viene acquisito nella fase tardiva dell'infezione.



(a) An enveloped helical virus

Presente in tutti i virus elicoidali ed in alcuni icosaedrici (herpes, hepadna, togavirus, retrovirus)



(b) A Simplexvirus

TEM

0.1 μm

## CAPSIDE NUDO

### **Proprietà**

Resistente a:  
alte temperature, acidi,  
detergenti, essiccamento  
E' rilasciato dalla cellula per lisi

### **Conseguenze:**

Facilmente diffuso (su oggetti, da una mano all'altra, con la polvere o piccole gocce d'acqua)

Può essere essiccato e mantenere l'infettività

Può sopportare le diverse condizioni dell'intestino

Può resistere ai detergenti e alle acque di scolo trattate blandamente

## CAPSIDE CON ENVELOPE:

### **Proprietà**

Distrutto da: acidi, detergenti, essiccamento, calore  
Modifica le membrane cellulari durante la replicazione (fusione)  
E' rilasciato per gemmazione, talvolta per lisi cellulare

### **Conseguenze:**

Deve rimanere in ambiente umido  
Si diffonde con gocce d'acqua, secrezioni, trapianti d'organi e trasfusioni di sangue  
Non sopravvive nel tratto gastro-intestinale

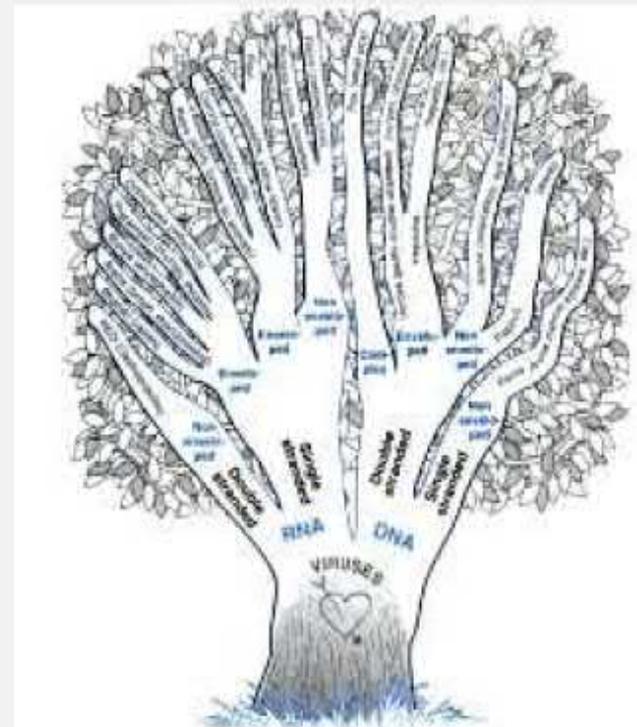
Non uccide necessariamente la cellula per diffondersi

**I virus con envelope sono più fragili (in genere...)**

# Classificazione tassonomica dei virus

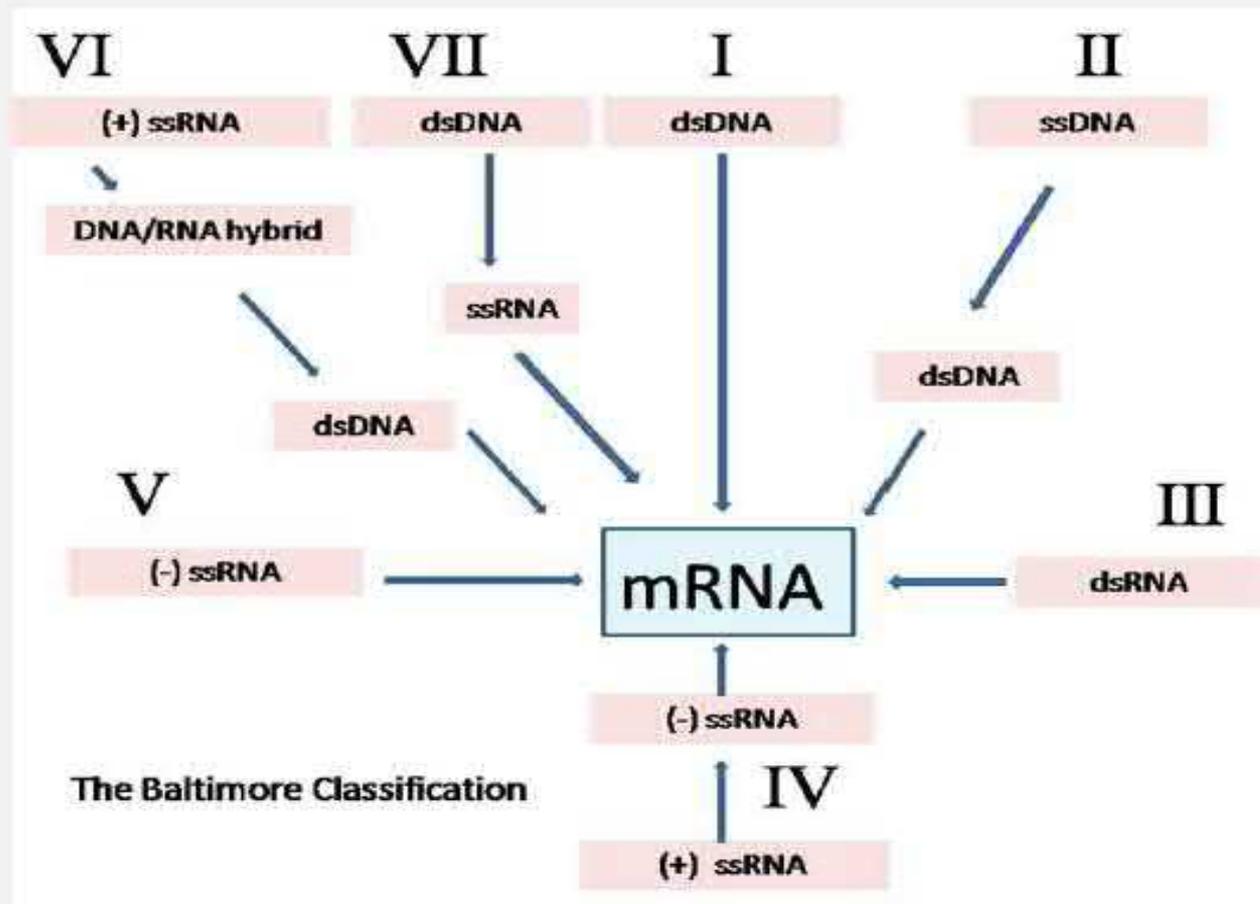
## Criteri:

- acido nucleico (DNA o RNA)
- simmetria del capside (icosaedrica, elicoidale, complessa)
- envelope (si o no)
- architettura del genoma (ds o ss, +/-) → classe di Baltimore
- modalità replicative
- polimerasi associata al virione
- diametro virione (nm) e numero dei capsomeri
- dimensioni genoma (kb)

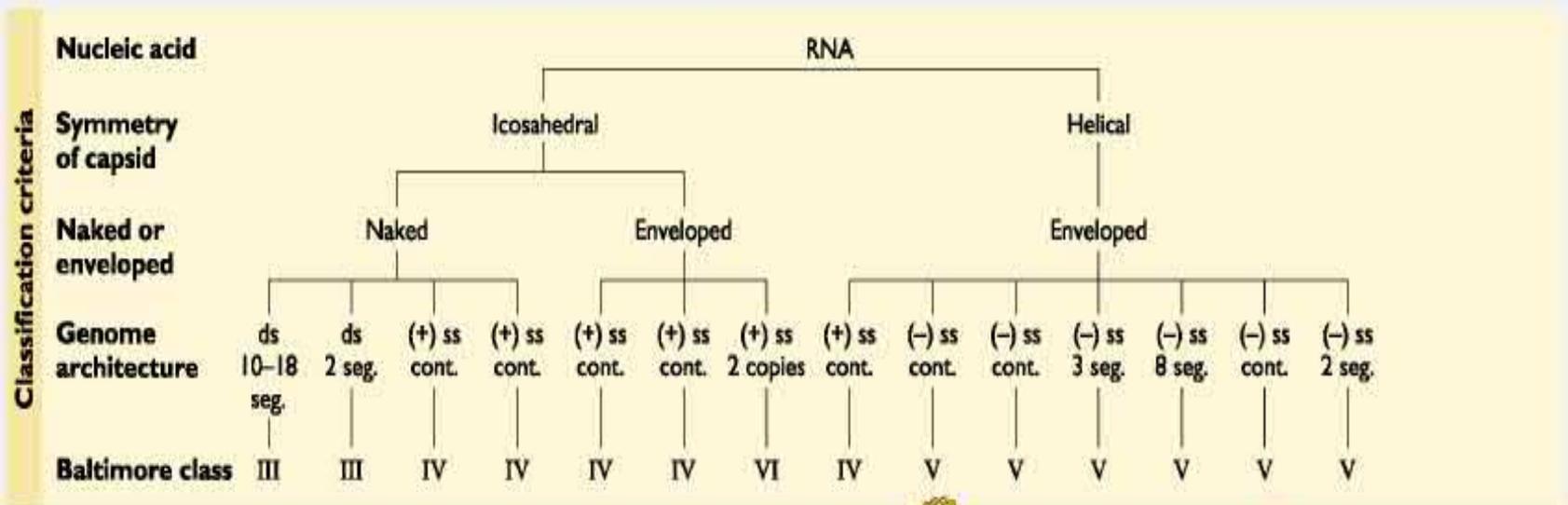


# Classificazione tassonomica dei virus

Classificazione di Baltimore in base all'acido nucleico



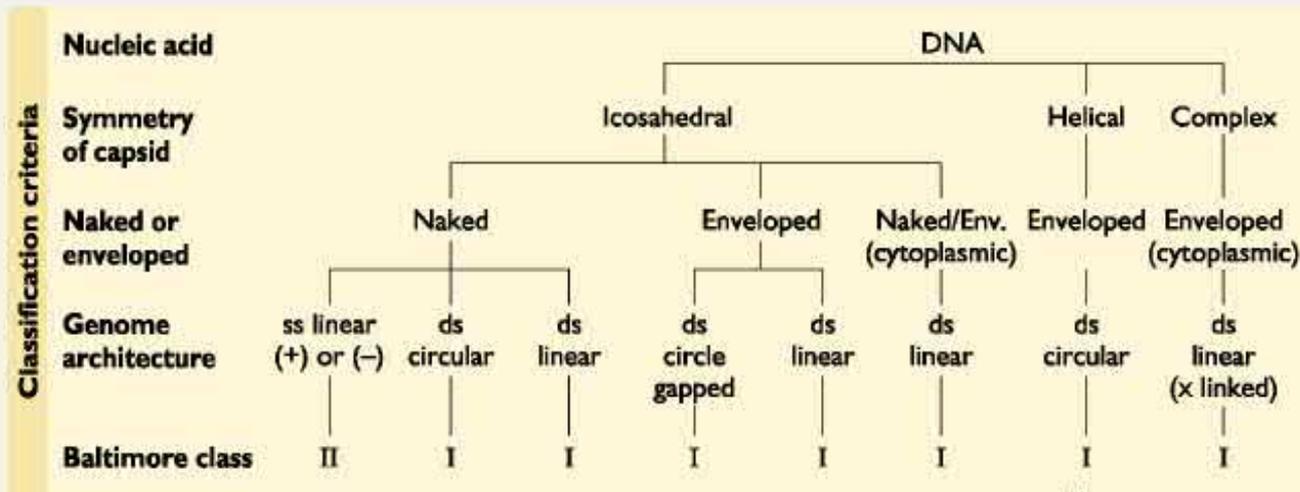
# virus ad RNA



**Properties**

Family name	Reo	Birna	Calici	Picorna	Flavi	Toga	Retro	Corona	Filo	Rhabdo	Bunya	Orthomyxo	Paramyxo	Arena
Virion polymerase	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Virion diameter (nm)	60-80	60	35-40	28-30	40-50	60-70	80-130	80-160	80 x 790-14,000	70- 85 x 130-380	90-120	90-120	150-300	50-300
Genome size (total in kb)	22-27	7	8	7.2-8.4	10	12	3.5-9	16-21	12.7	13-16	13.5-21	13.6	16-20	10-14

# virus a DNA



**Properties**

Family name	Parvo	Papova	Adeno	Hepadna	Herpes	Irido	Baculo	Pox
Virion polymerase	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
Virion diameter (nm)	18-26	45-55	70-90	42	150-200	125-300	60 X 300	170-200 x 300-450
Genome size (total in kb)	5	5-8	36-38	3.2	120-200	150-350	100	130-280

# Classificazione tassonomica dei virus

## International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV)

- Ordine ( - *virales*)
- Famiglia ( - *viridae*)
- Sottofamiglia ( -*virinae*)
- Genere ( - *virus*)
- Specie (*common names*)

per esempio:

herpes*viridae*

betaherpes*virinae*

cytomegalov*virus*

# Denominazione dei virus

## ➔ STRUTTURA

DIMENSIONI, MORFOLOGIA E TIPO DI ACIDO NUCLEICO  
*ad es.:* PICORNAVIRUS = PICCOLI VIRUS AD RNA  
TOGAVIRUS = VIRUS CON MANTELLO

## ➔ CARATTERISTICHE BIOCHIMICHE

STRUTTURA E TIPO DI REPLICAZIONE (SISTEMA CORRENTE PER LA CLASSIFICAZIONE TASSONOMICA DEI VIRUS)

## ➔ MALATTIE

*ad es.:* VIRUS DELLE ENCEFALITI, VIRUS DELLE EPATITI

## ➔ TIPO DI TRASMISSIONE

*ad es.:* ARBOVIRUS VIRUS = ARTHROPOD-BORNE VIRUS

## ➔ CELLULA OSPITE (SPETTRO D'OSPITE)

ANIMALI (uomo, topo, uccelli), PIANTE, BATTERI)

## ➔ TESSUTO OD ORGANO (TROPISMO)

*ad es.:* ADENOVIRUS, ENTEROVIRUS

# REPLICAZIONE VIRALE *Qualche definizione*

**Spettro d'ospite** = animale o cellula che può essere infettata da quel virus

**Cellula suscettibile** = che viene infettata (quindi ha i recettori per il virus)

**Cellula permissiva** = che viene infettata e consente la trascrizione del genoma e la sintesi di tutte le proteine virali

**Infezione produttiva**= viene prodotta una progenie virale infettante; avviene in cellule permissive.

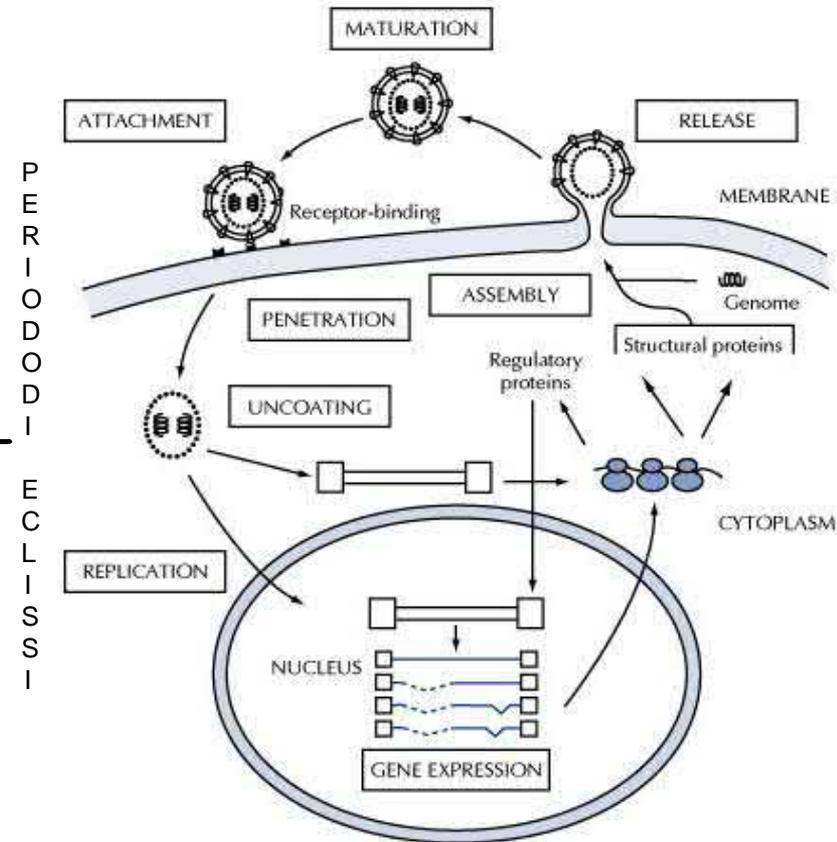
**Infezione abortiva** = vengono espressi solo alcuni geni virali, 1) perché il virus è difettivo (= non contiene tutta l'informazione genetica necessaria), o 2) perché la cellula non è permissiva. Non viene prodotto nuovo virus

**Una cellula infettata produttivamente può produrre fino a 100.000 particelle virali (poliovirus)**

Il virus contiene solo parte dell'informazione genetica necessaria per la sua moltiplicazione. Infatti il suo genoma codifica solo le proteine strutturali (che compongono il rivestimento virale) ed alcuni enzimi necessari per la replicazione dell'acido nucleico. Tutte le altre funzioni (sintesi proteica, produzione di energia, produzione di nucleotidi e aminoacidi, ecc.) sono fornite dalla cellula.

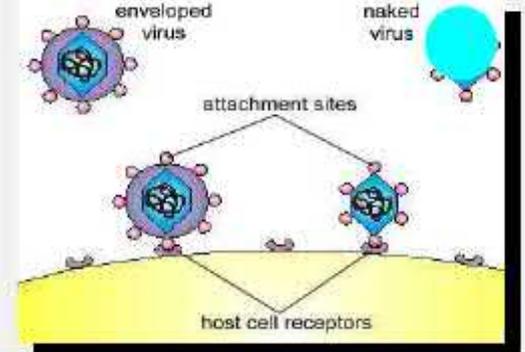
# Fasi dell'infezione produttiva:

- 1) Riconoscimento cellula target
- 2) Adsorbimento
- 2) Penetrazione
- 3) Spoliazione (Uncoating)
- 4) Sintesi delle componenti virali
  - Sintesi RNA precoci e proteine enzimatiche
  - Replicazione del genoma
  - Sintesi RNA tardivi e proteine strutturali
- 5) Assemblaggio
- 6) Uscita



# A) RICONOSCIMENTO-ATTACCO

Contatto virus-cellula



**ANTIRECETTORI VIRALI**  
(viral attachment protein: **VAP**)

EBV: gp220-gp350 →

HIV: gp120 →

Influenza: HA →

Morbillo: H →

Rhinovirus: VP1-VP2-VP3 →

**RECETTORI CELLULARI**

CR2 (CD21) - C3dR

CD4

Gp contenenti

acido sialico

CD46

ICAM-1

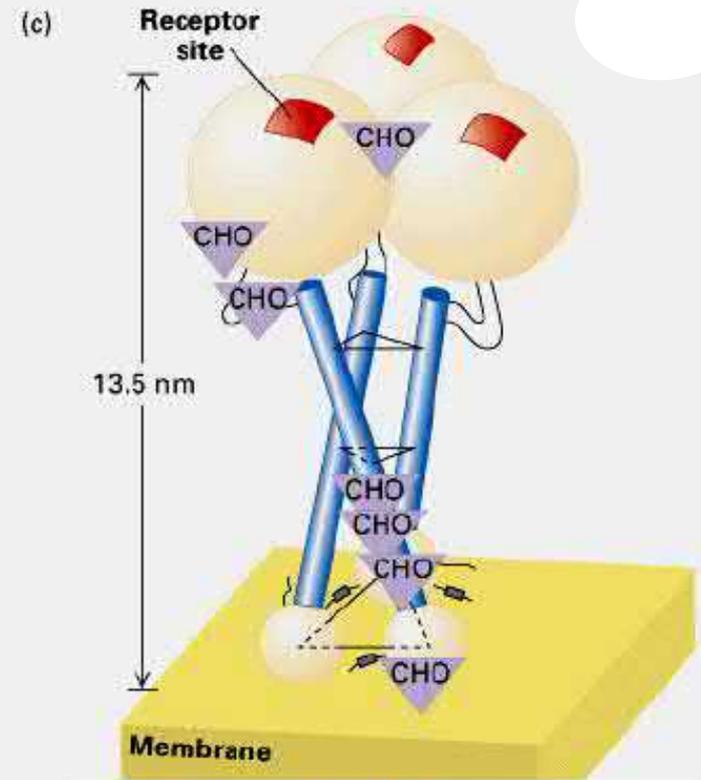
# ESEMPI di VAP

**TABELLA 6-6.** Esempi di recettori virali

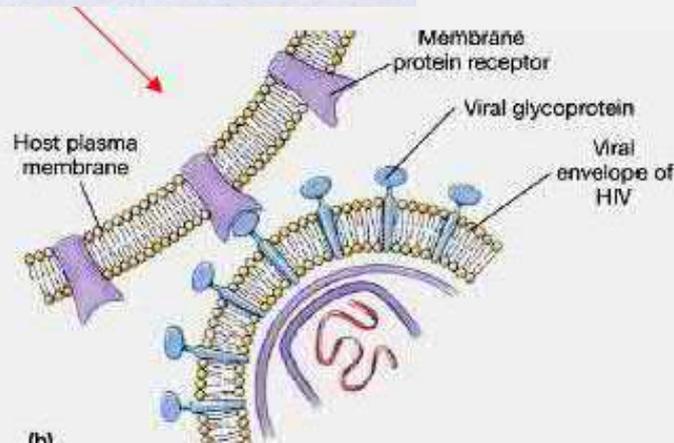
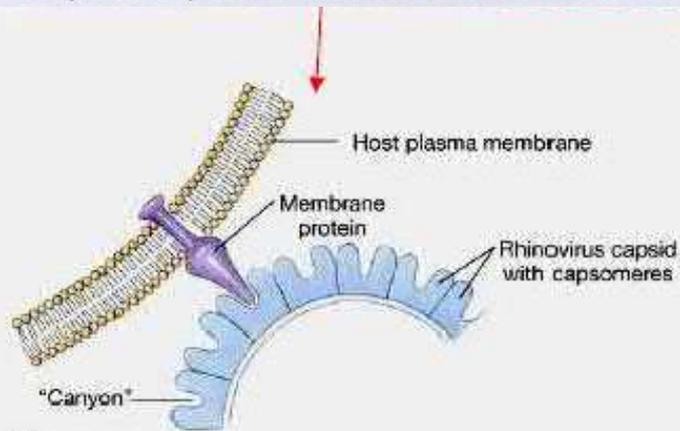
VIRUS	CELLULA BERSAGLIO	RECETTORE*
Virus di Epstein-Barr	Linfocita B	CR2 (CD21), recettore per il C3d del complemento
Virus dell'immunodeficienza umana	Linfocita T "helper"	Molecola di CD4 e corecettori per le chemochine
Rhinovirus	Cellule epiteliali	ICAM-1 (proteina della superfamiglia delle immunoglobuline)
Poliovirus	Cellule epiteliali	Proteina della famiglia delle immunoglobuline
Virus dell'herpes simplex	Molte cellule	Proteine della famiglia delle immunoglobuline
Virus della rabbia	Neuroni	Recettore per l'acetilcolina
Virus dell'influenza A	Cellule epiteliali	Acido sialico
Parvovirus B19	Precursori eritroidi	Antigene P degli eritrociti (globoside)

ICAM-1, Molecola di adesione intercellulare.

\* Per questi virus possono esistere anche altri recettori.

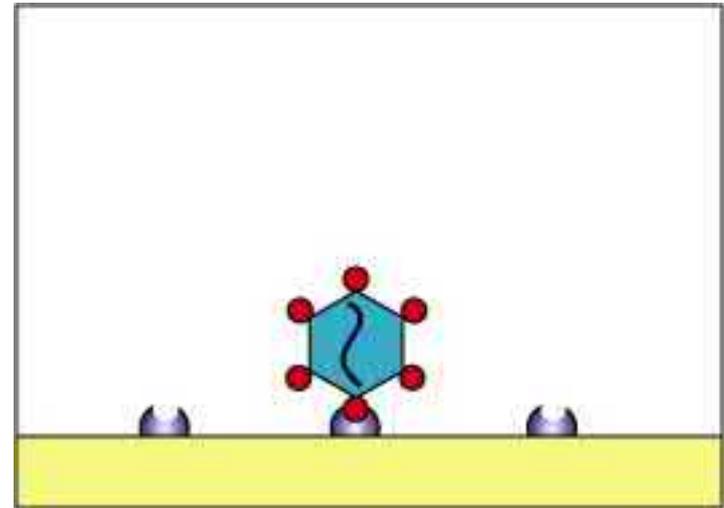
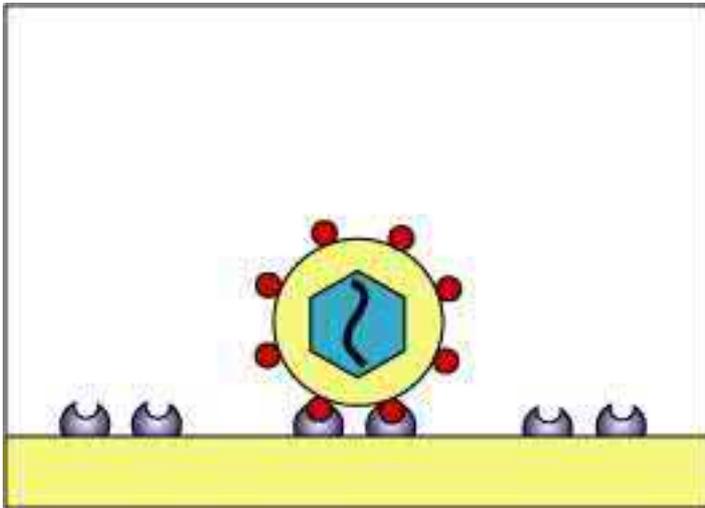


**Emagglutinina (HA)  
virus dell'influenza**



# Adsorbimento

Richiede l'interazione specifica fra strutture virali (antirecettori) e cellulari (recettori) posti sulla membrana plasmatica.



**I recettori cellulari sono molecole normalmente presenti sulla superficie delle cellule (es Rinovirus lega ICAM-1, molecole dell'epitelio nasale che interagiscono con linfociti, HIV lega recettori per chemochine, ecc.).**

**Parte dell'antirecettore virale assomiglia alla forma chimica del ligando**

**Le caratteristiche del recettore determinano lo spettro d'ospite, quali cellule possono essere infettate e le caratteristiche della malattia**

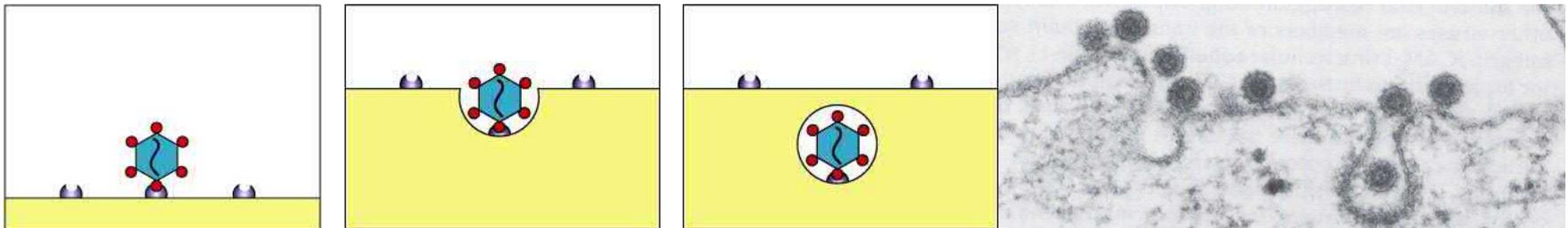
# Penetrazione

Cellula metabolicamente attiva (l'adsorbimento si verifica anche su cellule morte o porzioni isolate di membrana).

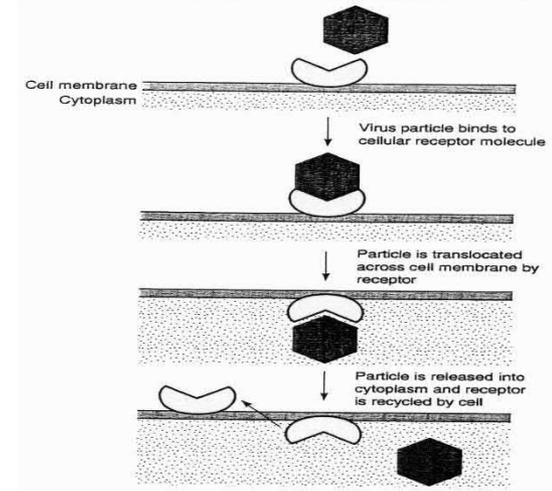
Si verifica a 37°C ed avviene quasi istantaneamente dopo l'attacco al recettore.

## 1) Virus a capside nudo:

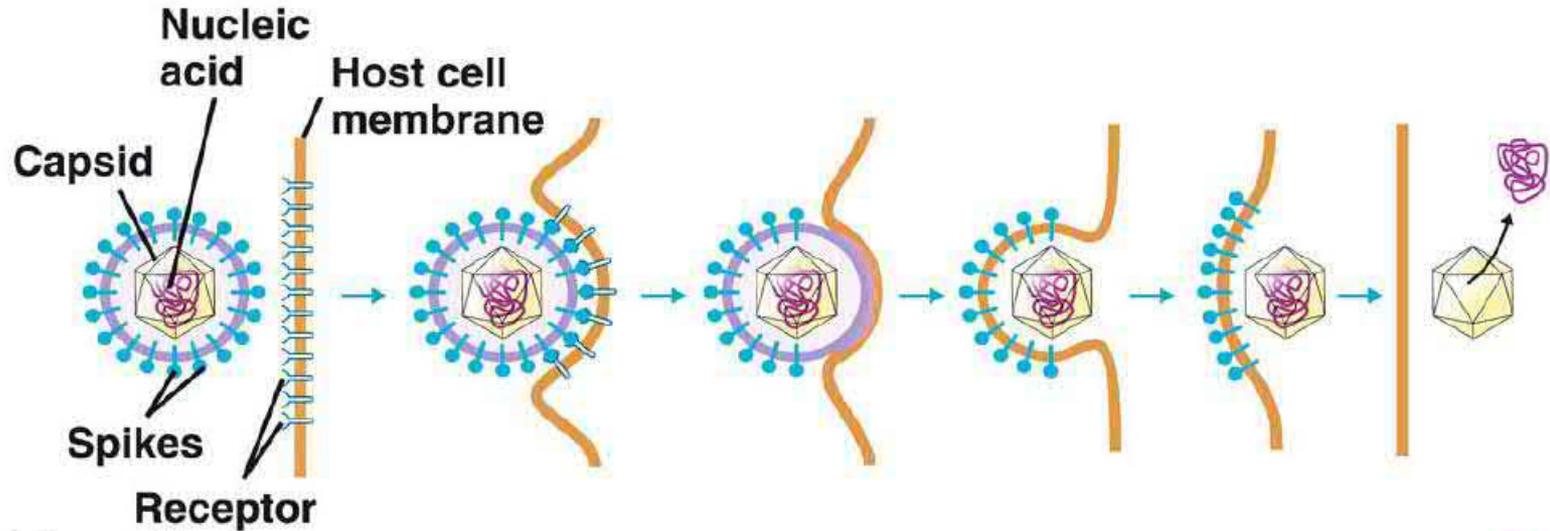
### a) endocitosi in vescicole endoplasmatiche



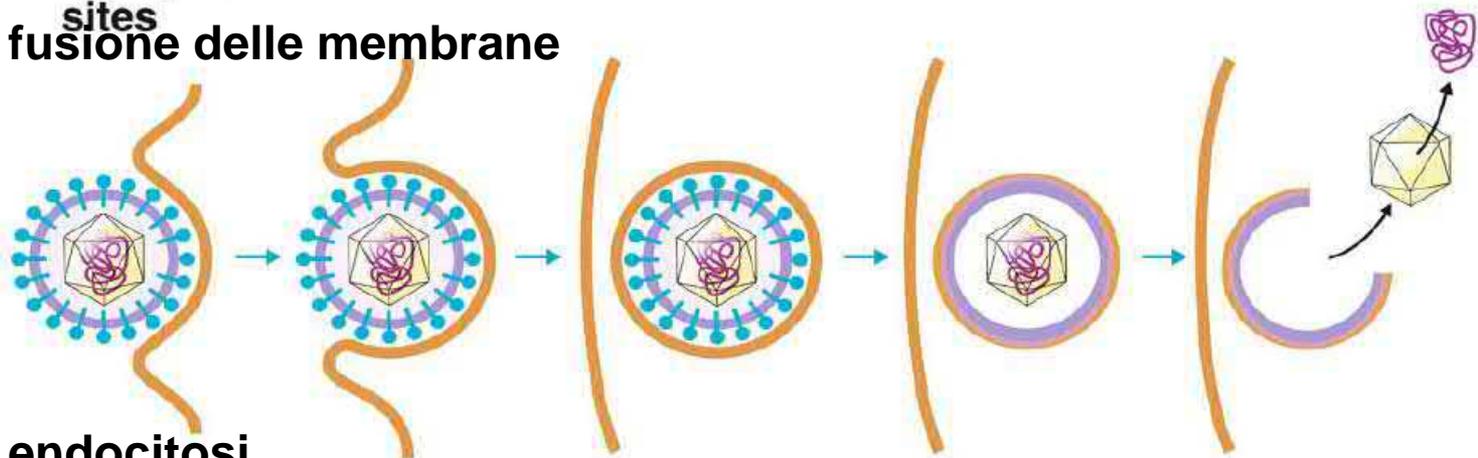
### b) Traslocazione della particella attraverso la membrana plasmatica



## 2) Virus con involuppo



(a) fusione delle membrane

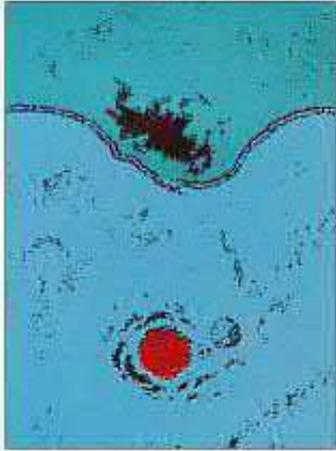


(b) endocitosi

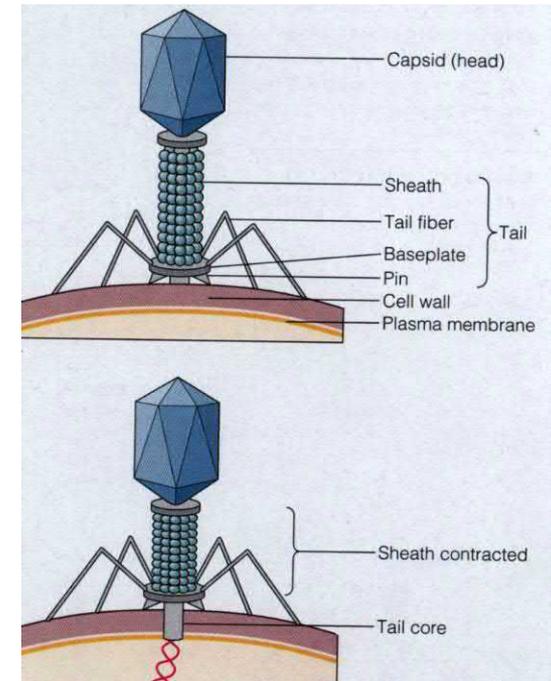
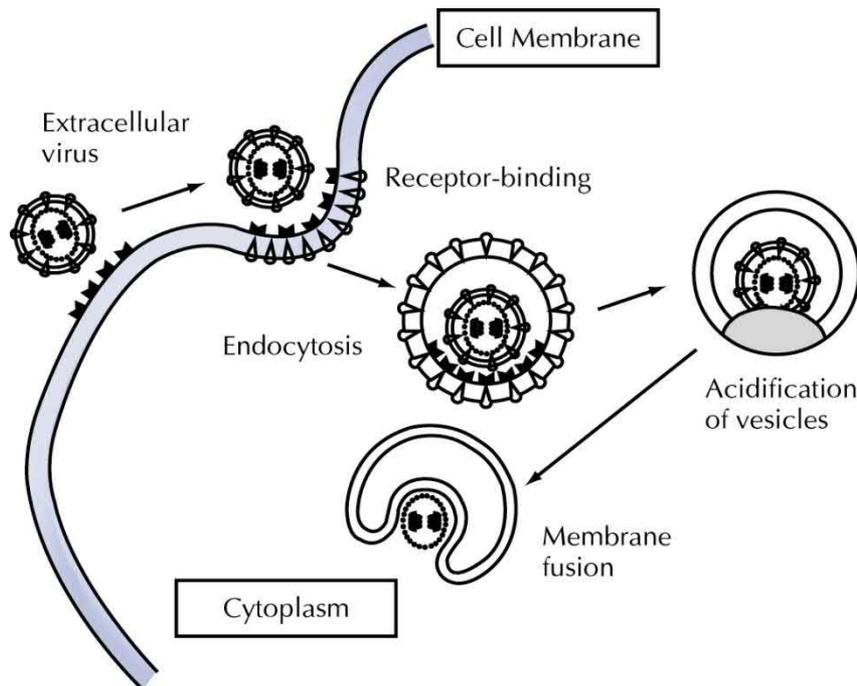
# Spoliazione - Uncoating

Il capsid virale viene rimosso, ed il genoma viene liberato

Intervento enzimi lisosomiali



Uncoating



Per i batteriofagi penetrazione e spoliazione sono simultanei

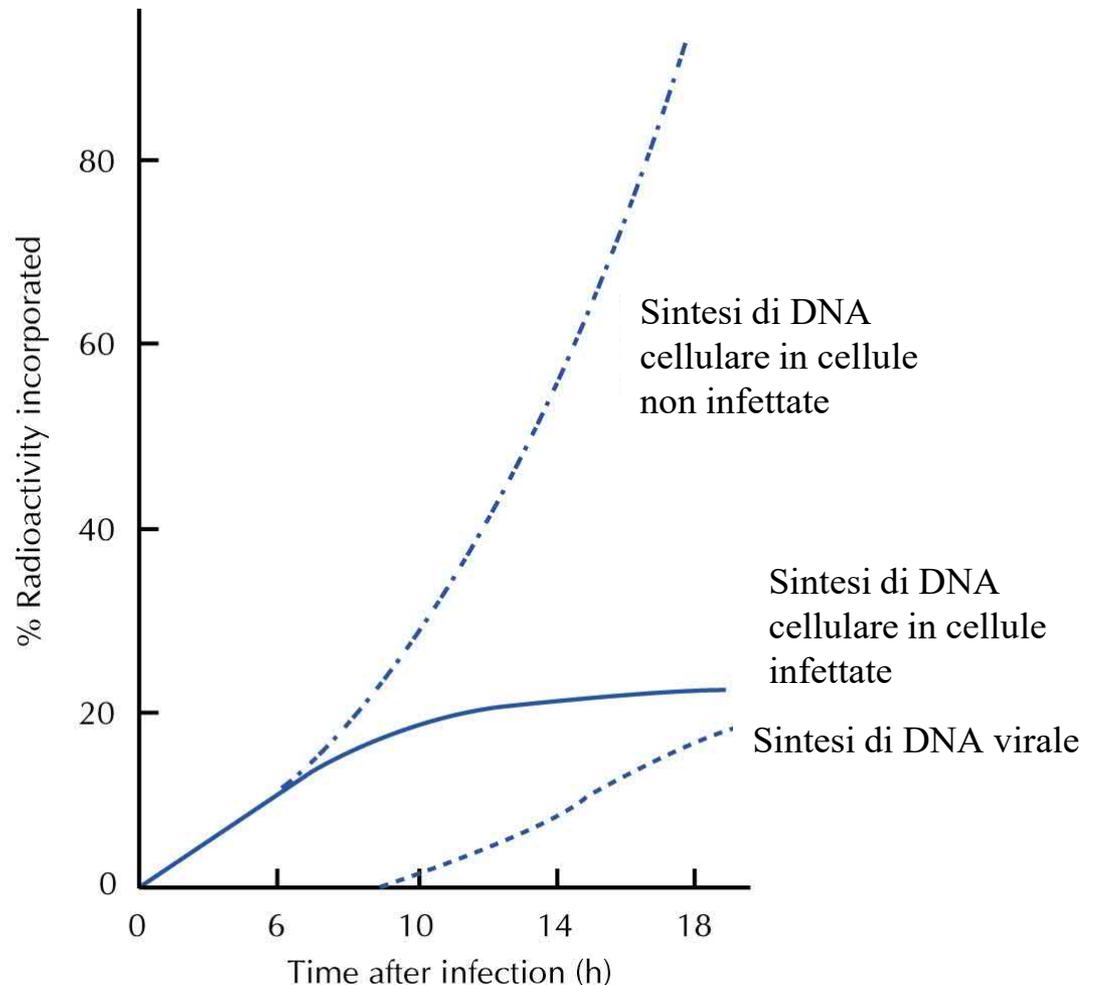
# Sintesi delle componenti virali

Il virus deve:

- 1) utilizzare il metabolismo cellulare per sintetizzare proteine virali
- 2) replicare il proprio acido nucleico

Molti virus possono replicare solo in cellule con metabolismo estremamente attivo.

Il virus entra in competizione con i moltissimi geni cellulari. Per avere il sopravvento, deve bloccare le sintesi macromolecolari della cellula (sia DNA che proteine)



Generalizzando, le proteine virali si possono dividere in:

***Precoci:***

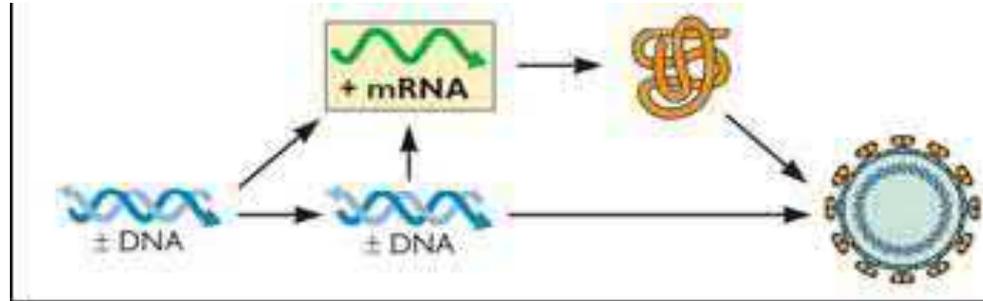
sintetizzate subito dopo la spoliazione, sono soprattutto di natura enzimatica e regolatoria. Intervengono nella replicazione dell'acido nucleico virale (polimerasi, ecc.)

***Tardive:***

sintetizzate dopo la replicazione dell'acido nucleico, sono soprattutto strutturali

Ogni virus replica in modo diverso, a seconda del suo materiale genetico (DNA o RNA) e della sede di replicazione (citoplasma o nucleo)

# Replicazione virus dsDNA



## Sintesi dell'mRNA:

- Enzima **RNA polimerasi DNA-dipendente** (della cellula) copia l'elica (-) del dsDNA
- Da DNA genomico **proteina precoci**, da DNA neoformato **proteine tardive**

## Sintesi del DNA:

- Sintetizzare alla cellula la **propria DNA polimerasi** (Adeno, Herpes, Pox)
- Utilizzano la **DNA polimerasi della cellula** (Papilloma, Polyoma)

# Replicazione dei Genomi a RNA

Per utilizzare l'RNA come stampo è necessario un enzima specifico: RNA polimerasi RNA-dipendente

Le cellule non codificano RNA pol **RNA**-dip

L'enzima necessario è codificato dal virus

Le RNA pol RNA-dip virali producono sia mRNA che RNA genomico

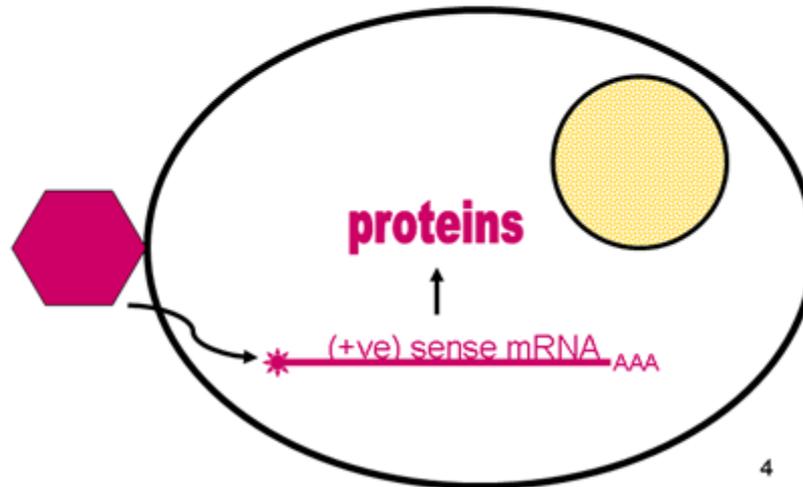
L'mRNA prodotto è traducibile dai ribosomi cellulari

## RNA (+)

mRNA può essere usato direttamente dai virus a RNA (+)

### Need to make mRNA

PLUS (POSITIVE) SENSE RNA GENOMES

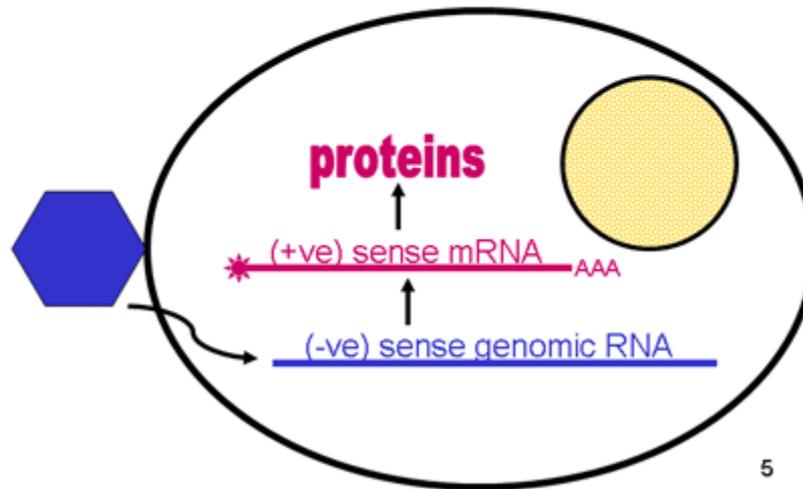


## RNA (-): complementare all'mRNA

Sintetizzare mRNA partendo da RNA (-) quindi devono avere nel virione la RNA-pol-RNA-dip

### Need to make mRNA

MINUS (NEGATIVE) SENSE RNA GENOMES



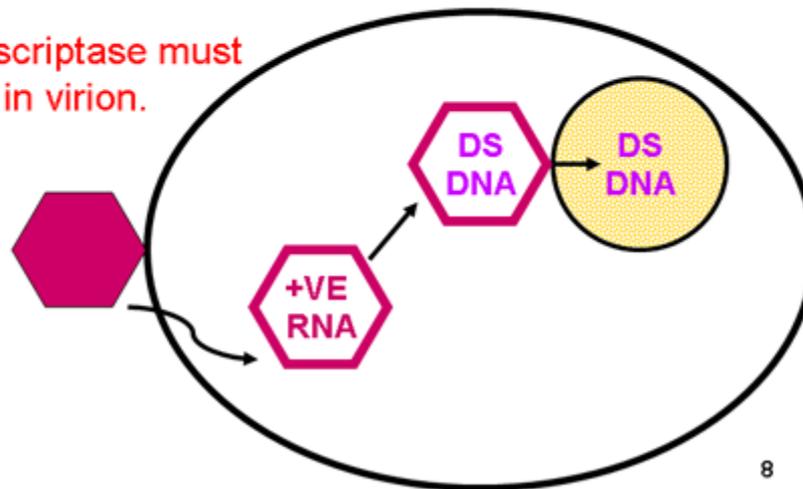
## Retrovirus

Enzima in grado di convertire  
il loro genoma da RNA a DNA e cioè una DNA-pol-RNA-dip

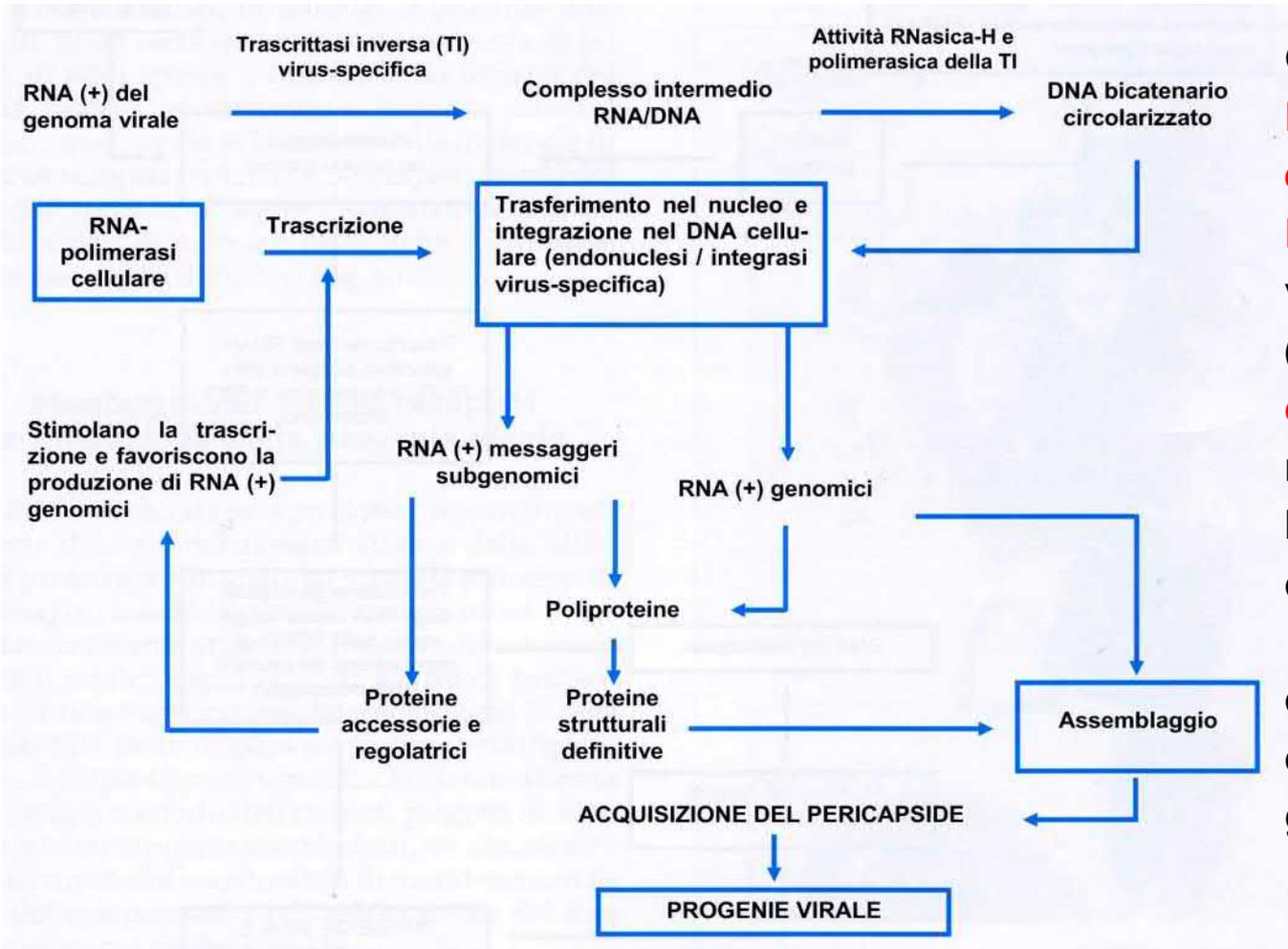
Need to make mRNA

RETROVIRUSES

Reverse transcriptase must  
be packaged in virion.



# RETROVIRUS: replicano attraverso un intermedio a DNA DNA-pol-RNA-dip



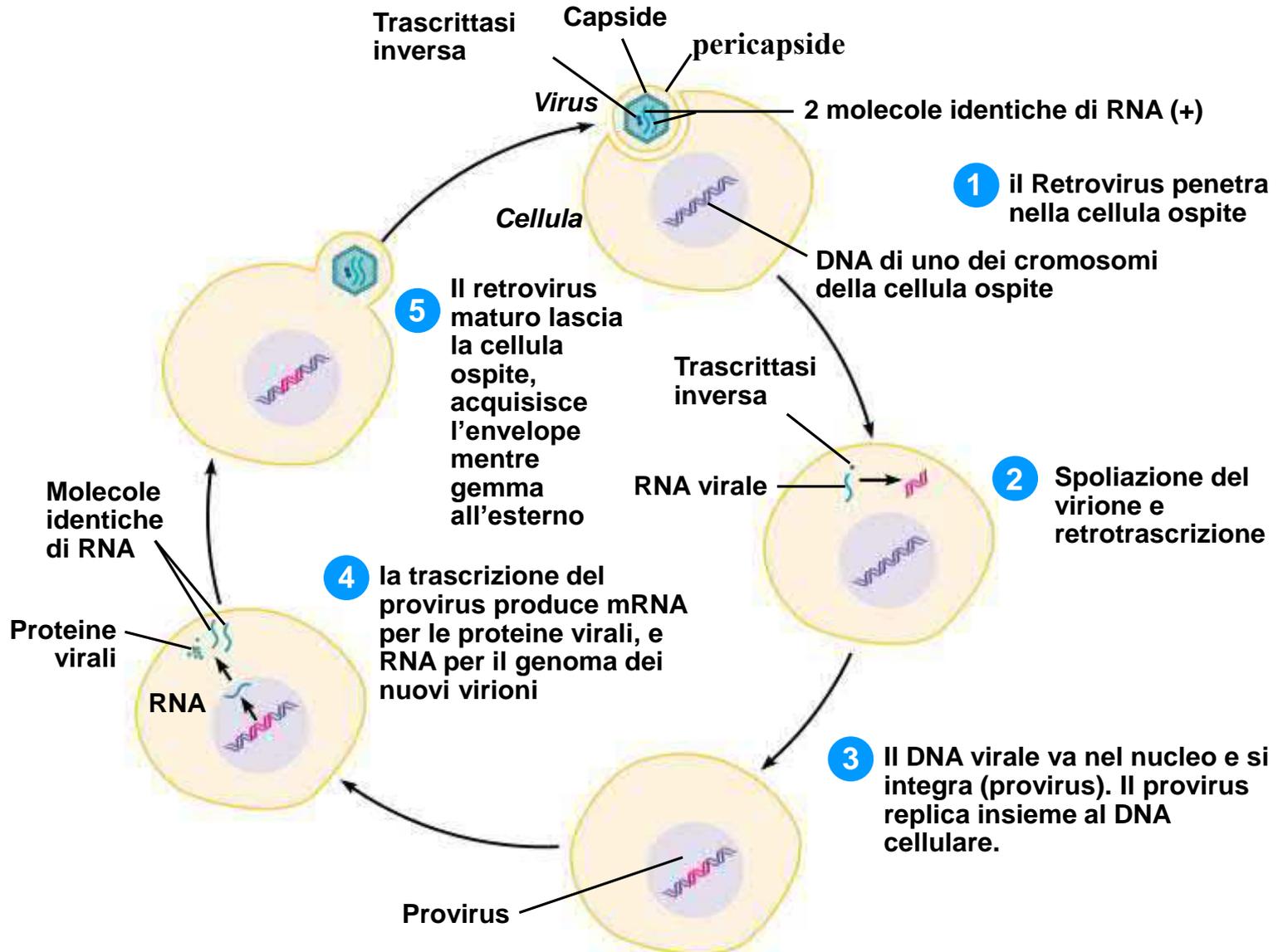
**Genoma: due molecole RNA (+) (35S) a singola elica**

**Retrotrascrizione: RNA viene convertito in DNA (DNA-pol-RNA-dip) = dsDNA circolare che migra nel nucleo**

**Integrazione nel genoma della cellula (PRO-VIRUS)**

**Trascrizione a RNA (+) con RNA-pol-DNA-dip cellulare: mRNA e RNA genomico**

# Replicazione dei Retrovirus

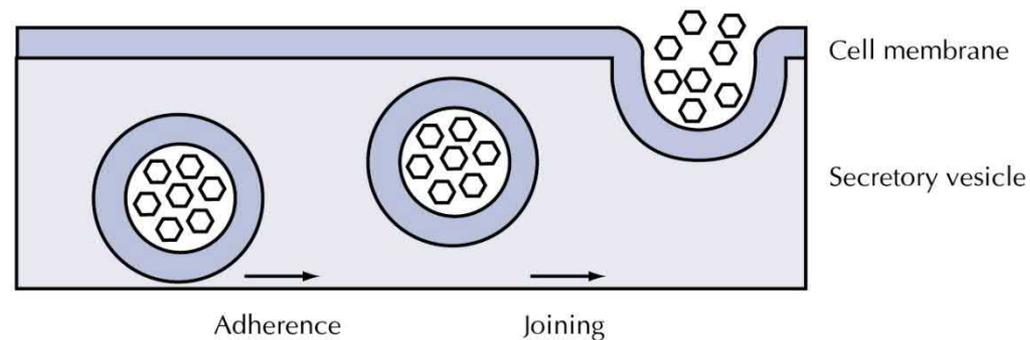


# Assemblaggio

Quando sono state sintetizzate tutte le componenti virali, le proteine si riuniscono per formare il capside, che racchiude l'acido nucleico del virus.

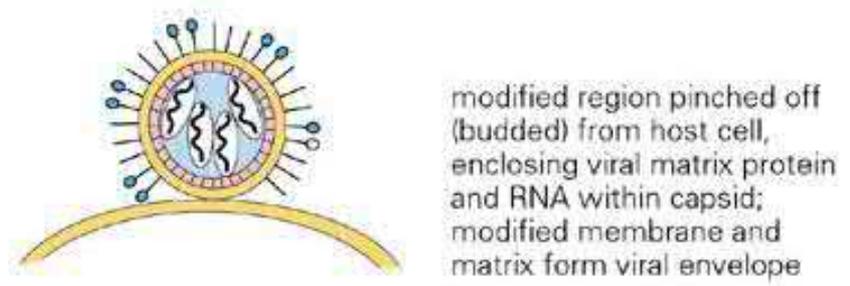
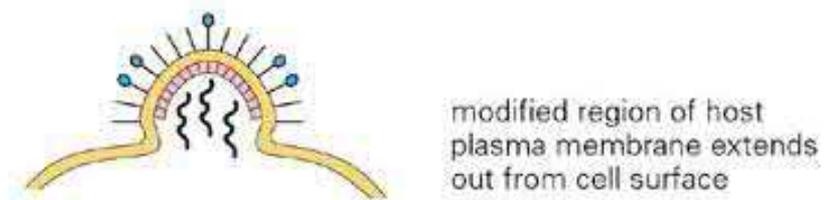
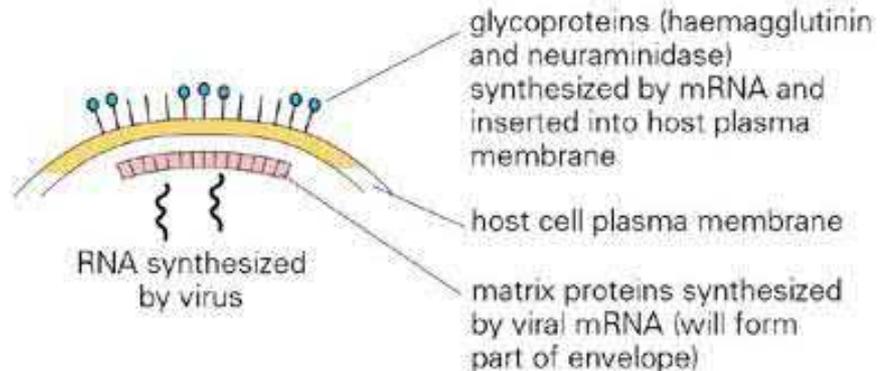
Le progenie virale neoformata può uscire dalla cellula per esocitosi:

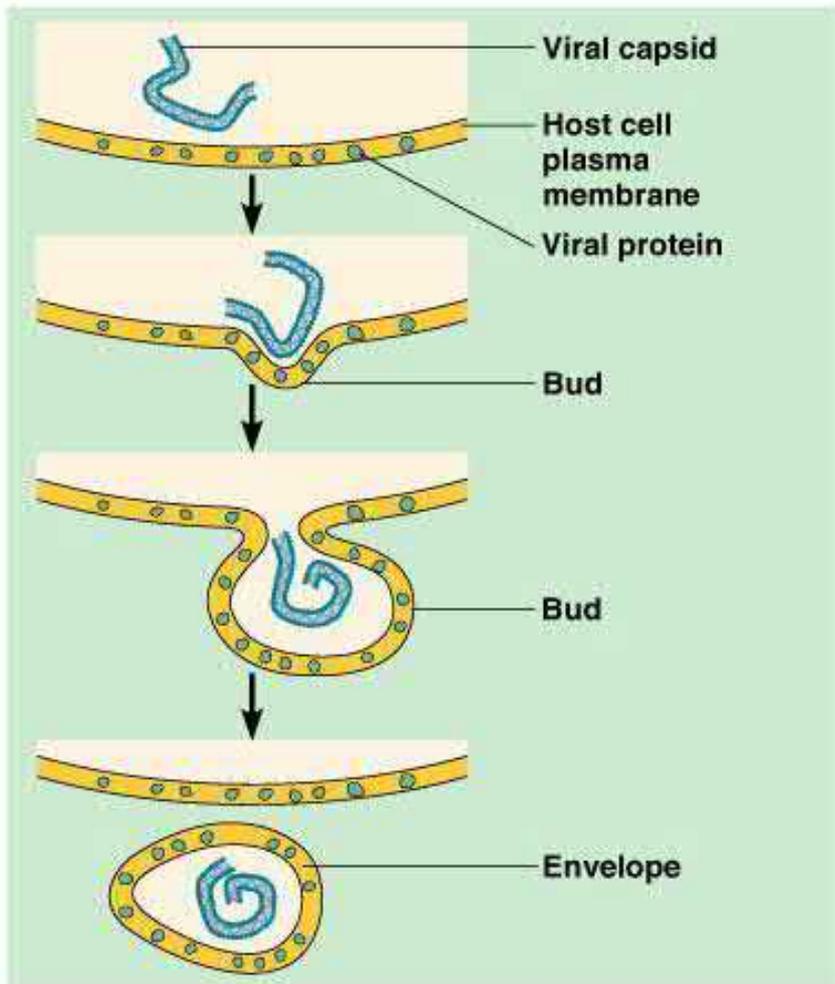
EXOCYTOSIS:



o per distruzione (lisi) della cellula, a causa dell'alterata permeabilità della membrana, del blocco delle funzioni metaboliche e dell'induzione di apoptosi.

Nei virus con involuppo, mentre le proteine del capsid si combinano fra loro e attorno al genoma, alcune proteine e glicoproteine virali si inseriscono sulla membrana citoplasmatica, il capsid si accosta a queste zone e vi aderisce (tramite le proteine della matrice), si verifica una estroflessione e la gemmazione.





**(a)** Release by budding



**(b)** *Alphavirus*

# Coltivazione dei Virus

**I virus sono parassiti intracellulari obbligati = non possono moltiplicarsi all'esterno di una cellula vivente.**

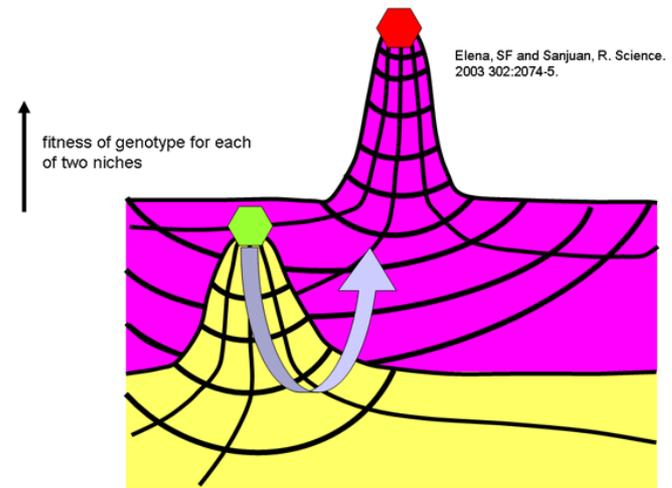
I virus vengono coltivati in laboratorio per tre motivi principali:

- **diagnosi** dell'infezione;
- **ricerca**;
- **produzione** di antigeni per vaccini.

Per crescere i virus in laboratorio è necessario impiegare animali, embrioni di pollo o colture di cellule. Attualmente gli animali sono utilizzati raramente (es. topino neonato per coxsackievirus).

# Genetica virale

I virus sono in continua evoluzione, con l'emergenza di nuove caratteristiche genetiche (mutazioni, ma non solo) e la loro stabilizzazione nella popolazione. Le nuove caratteristiche sorgono casualmente, durante la replicazione del genoma. Se il cambiamento non altera la capacità replicative del virus, si potrà trasmettere alla progenie virale e stabilizzare nella popolazione.



Virus adattati ad un particolare ambiente (in verde). Altre forme del virus (in rosso) potrebbero avere successo ma per mutare a questa forma il virus dovrebbe passare attraverso una forma che non può competere in questo ambiente e pertanto sarà diluito al di fuori della popolazione.

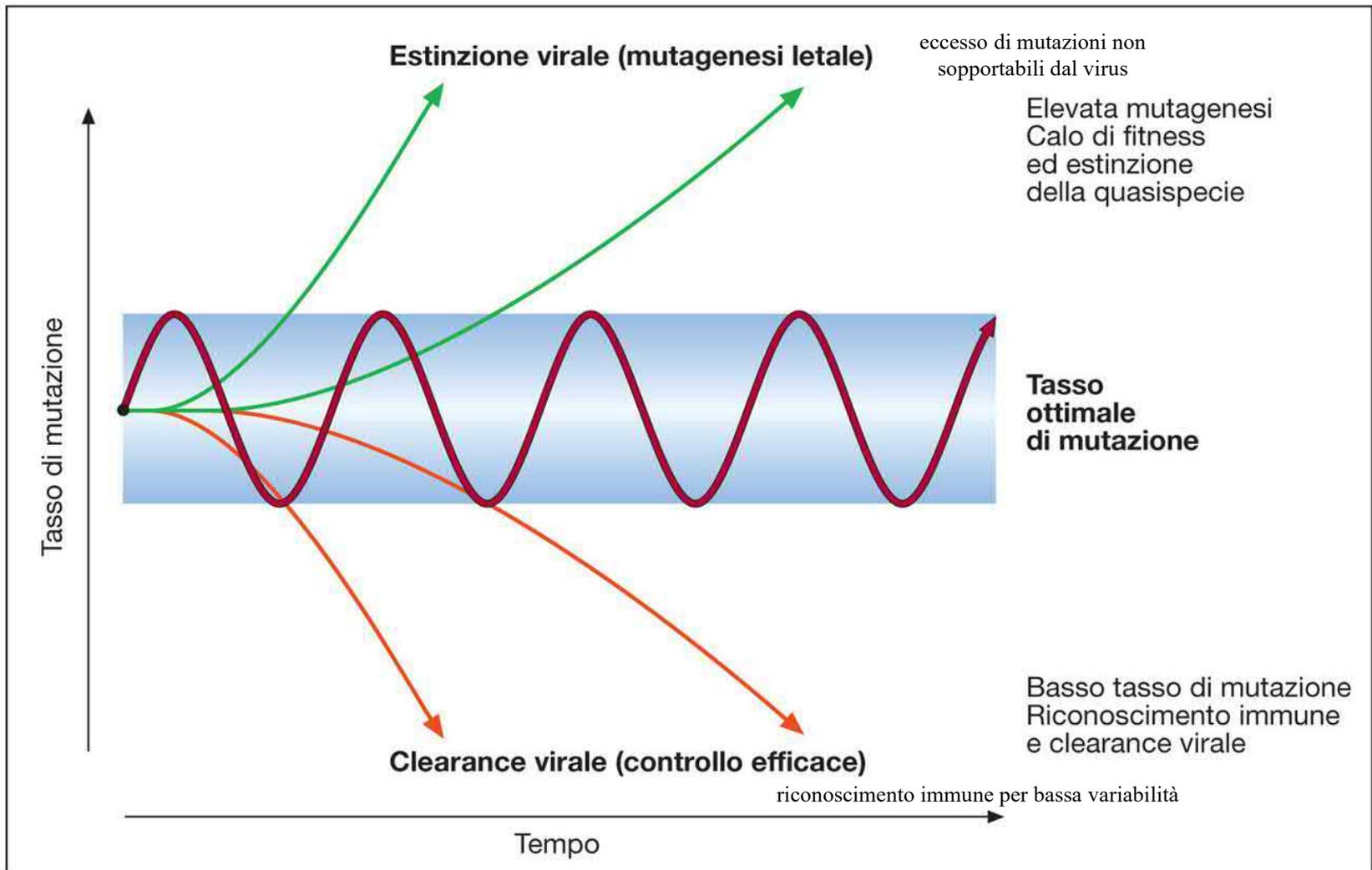
**Mutazioni:** raramente sono vantaggiose, molto spesso sono letali, deleterie o indifferenti.

## Tassi di mutazione:

I virus a DNA hanno tassi di mutazione simili a quelli della cellula eucariotica (le DNA polimerasi hanno attività di proof-reading, correzione):  $\sim 10^{-8}/10^{-11}$ . Anche i virus più complessi (200.000 bp) generano raramente mutanti.

I virus a RNA non hanno enzimi con la funzione di proof-reading, per cui la frequenza di mutazioni è molto più alta:  $\sim 10^{-3}/10^{-4}$ . Persino i virus più semplici (7000 basi) generano moltissime mutazioni.

Caratteristiche degli eventi legati alla variabilità di virus a RNA in vivo: per ciascun virus esiste un tasso ottimale di mutazione al di fuori del quale si può avere mutagenesi letale o clearance virale.



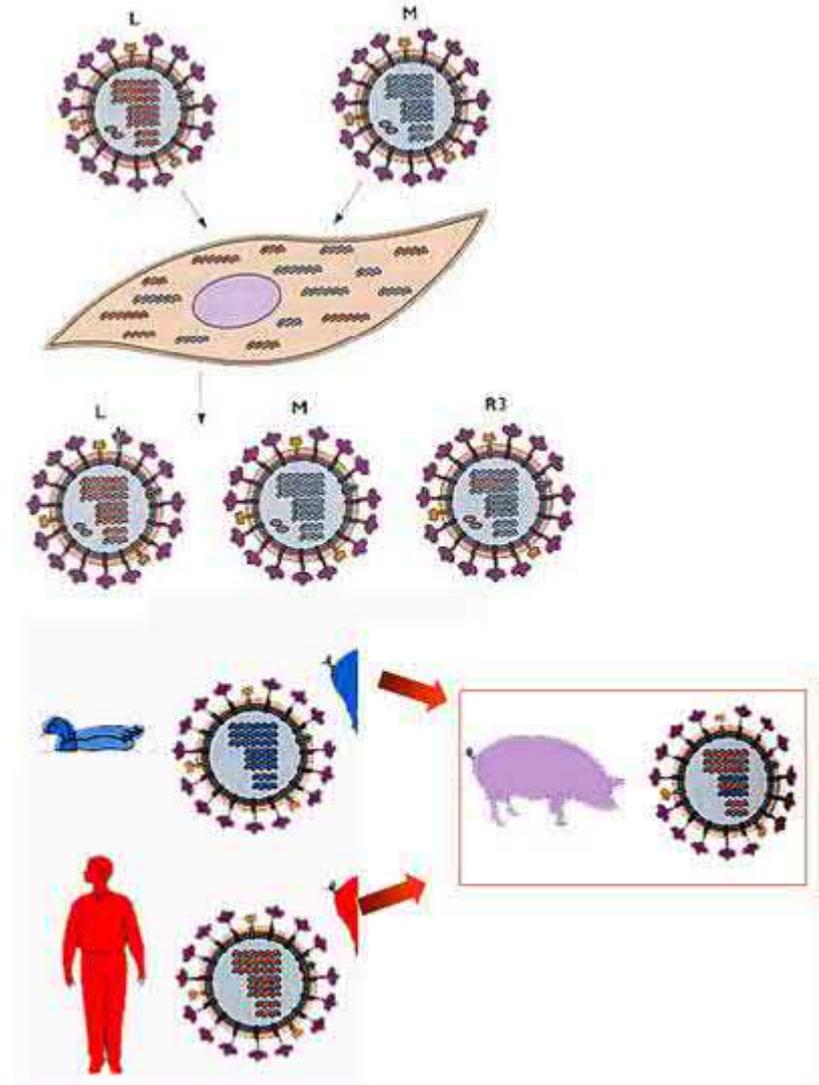
**RICOMBINAZIONE:** scambio di tratti di materiale genetico fra virus diversi (ma correlati) che si trovano nella stessa cellula. In genere per i virus a DNA questo fenomeno si verifica per rottura e risaldatura di segmenti neosintetizzati, mentre per i virus a RNA la ricombinazione avviene durante la replicazione per salto della RNA-polimerasi da un filamento stampo ad un altro.

**RIASSORTIMENTO:** è una forma di ricombinazione che si verifica solo nei virus con genoma segmentato (ortomixovirus, reovirus, rotavirus). Nella cellula infettata contemporaneamente da due virus diversi con genoma segmentato si trovano segmenti di entrambi i virus parentali. Durante l'assemblaggio e la maturazione questi segmenti possono essere casualmente distribuiti nella progenie virale. Ne risulteranno dei virioni che possiedono caratteristiche intermedie tra i due virus parentali. I virus ricombinanti possono differire sensibilmente dai virus parentali sia dal punto di vista antigenico (e quindi mettere in difficoltà la capacità dell'ospite di rispondere immunologicamente in maniera adeguata) che biologico (capacità di invadere nuove nicchie replicative in ospiti differenti). Il riassortimento è alla base della variabilità antigene che si verifica nei virus influenzali.

# RIASSORTIMENTO

**Scambio di materiale genetico tra virioni co-infettanti:  
virioni che possiedono caratteristiche intermedie tra i due virus parentali**

**Virus influenzali**



# PATOGENESI VIRALE

**Sia l'ospite che il virus tendono ad un vantaggio riproduttivo: l'ospite sviluppa difese, il virus subisce continue modifiche. La selezione naturale favorisce i virus con scarso potere patogeno (= che non eliminano l'ospite) e molte infezioni virali sono asintomatiche.**

**Non è bene per il virus distruggere il suo ospite, anzi spesso le malattie sono una conseguenza (non voluta dal virus) che deriva da come il virus ha risolto i suoi tre problemi “esistenziali” (riproduzione, trasmissione, evasione).**

**La patologia virale può essere dovuta:**

**a) all'azione diretta del virus (es. distruzione della cellula infettata)**

**b) dalla risposta dell'ospite. Spesso la risposta immunitaria non colpisce esclusivamente il virus, ma può causare dei danni collaterali**

# PATOGENESI VIRALE

**Patogenicità** = capacità di causare malattia

Patogenesi virale = meccanismi con cui i virus colpiscono gruppi di cellule in organi bersaglio per produrre i segni e sintomi della malattia.

**Virulenza** = grado di patogenicità, può variare nella stessa specie virale. **Denota le abilità *relative* del patogeno di causare malattia.**

La patogenicità è legata:

- alle caratteristiche del virus
- alla permissività e alla capacità di risposta dell'ospite

## **3 condizioni necessarie:**

- 1) ci deve essere abbastanza virus infettante
- 2) le cellule oggetto dell'infezione devono essere accessibili, suscettibili, permissive
- 3) il virus deve superare le difese antivirali dell'ospite

## **RIQUADRO 46-1. Fattori determinanti la malattia virale**

### **Natura della malattia**

Tessuto bersaglio

Via d'ingresso del virus

Accesso del virus al tessuto bersaglio

Tropismo tissutale del virus

Permissività delle cellule alla replicazione virale

Ceppo virale patogeno

### **Gravità della malattia**

Capacità citopatica del virus

Stato immunitario dell'ospite

Competenza del sistema immunitario

Precedente immunità nei confronti del virus

Immunopatologia

Entità dell'inoculo virale

Tempo richiesto per la risoluzione dell'infezione

Condizioni generali di salute dell'ospite

Nutrizione

Altre patologie influenzanti lo stato immunitario

Patrimonio genetico dell'ospite

Età

# VIRULENZA

Quantificazione della virulenza: si usano parametri come Dose Letale 50 ( $DL_{50}$ , la dose infettante che uccide il 50% degli animali inoculati), o la Dose Infettante 50 ( $DI_{50}$ , la dose che infetta il 50% delle colture)

Ceppo virale **VIRULENTO**: causa una malattia evidente o più grave di uno meno virulento

Ceppo **AVIRULENTO**: non causa malattia

Ceppo **ATTENUATO**: non causa malattia oppure molto ridotta.

Geni virali che condizionano la virulenza sono quelli che:

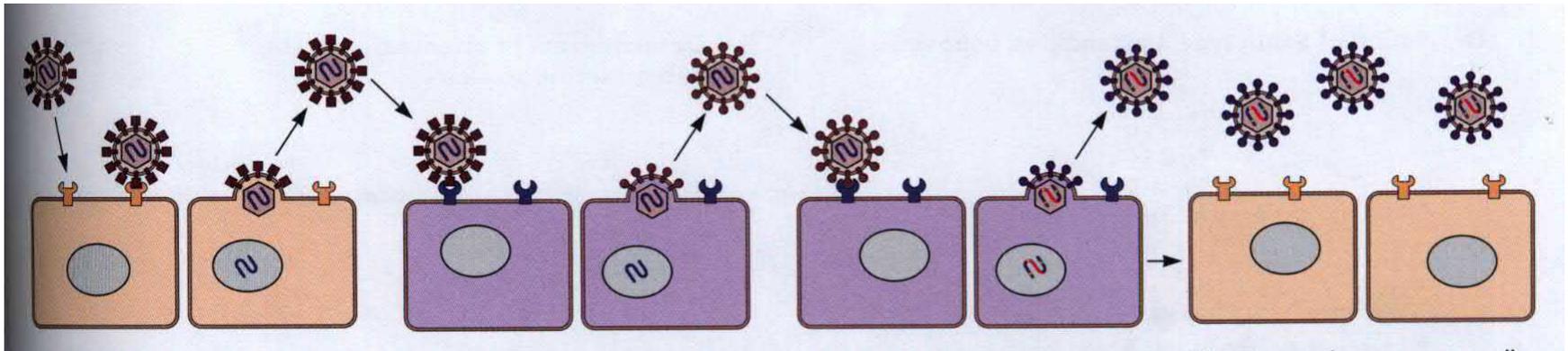
- ❖ Cambiano le capacità replicative del virus
- ❖ Consentono al virus di diffondere nell'ospite o di passare da un ospite ad un altro
- ❖ Sconfiggere i meccanismi di difesa dell'ospite
- ❖ Produrre prodotti tossici

## Virus attenuati: dalla capacità patogena molto ridotta.

Molti virus codificano funzioni che assicurano l'efficienza di replicazione, trasmissione, accesso a organi bersaglio, elusione del riconoscimento del sistema immune. Queste funzioni possono non essere necessarie per la replicazione virale in vitro, mentre sono importanti per la patogenicità e la virulenza in vivo.

La perdita di queste funzioni causa l'attenuazione del virus.

Molti vaccini basati su virus vivi utilizzano ceppi virali attenuati.



## La patogenesi virale comprende 5 eventi principali:

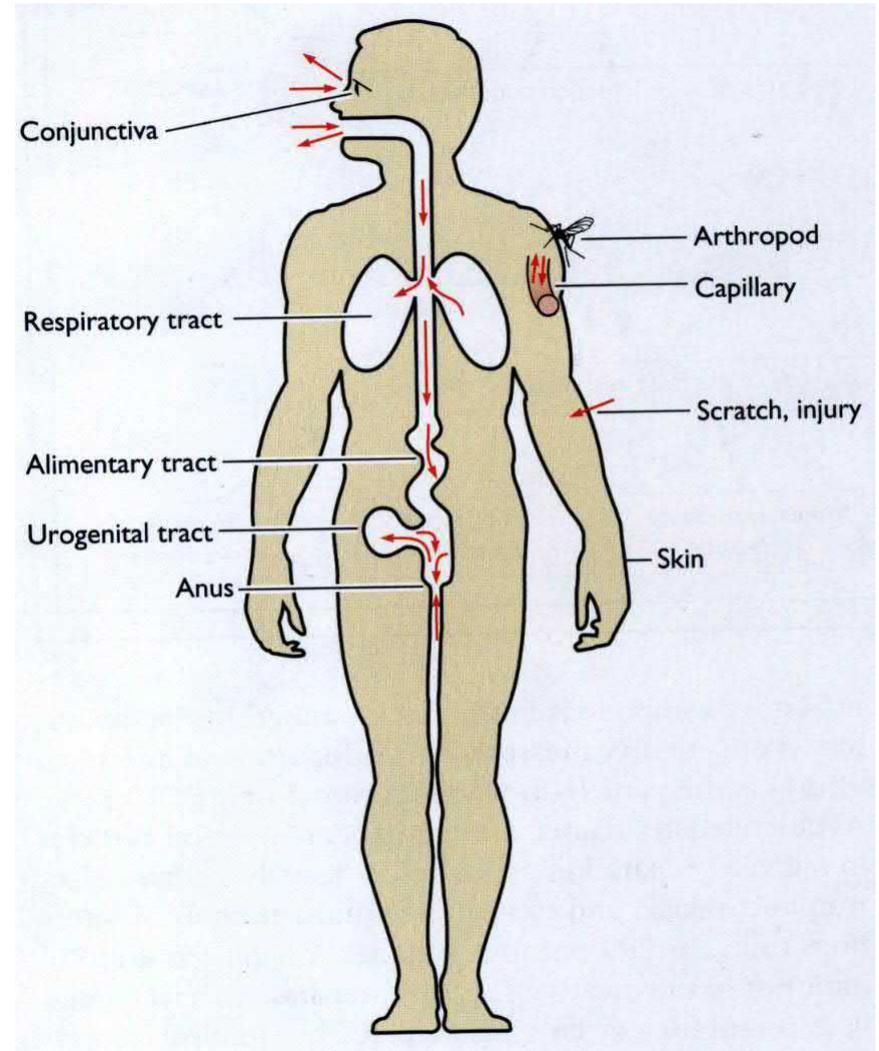
- 1) **Ingresso** del virus nell'ospite.
- 2) **Replicazione** del virus nel sito di ingresso.
- 3) **Diffusione** dalla sede di impianto.
- 4) **Disseminazione** agli organi bersaglio.
- 5) **Eliminazione** del virus dall'organismo e risoluzione dell'infezione.

# 1) Ingresso del virus nell'ospite

Le vie più comuni sono il tratto respiratorio e il tratto digerente. A seconda del virus e delle condizioni dell'ospite, l'infezione può rimanere localizzata nel sito di ingresso (es. raffreddore).

Il corpo è rivestito dalla pelle, che ha uno strato esterno relativamente impermeabile di cellule morte. Sono però presenti anche strati di cellule vive per assorbire nutrienti e gas, e per rilasciare fluidi. Questi strati sono più facilmente infettabili dai virus.

I virus possono essere introdotti anche tramite graffi e ferite, punture di insetti, o inoculati con aghi.



## Trasmissione Orizzontale Diretta

- Nella **trasmissione orizzontale diretta**, l'ingresso del virus nell'organismo può avvenire attraverso varie vie: le più comuni sono la **via respiratoria** e quella **digerente**.
- Meno comuni, ma sempre frequenti, sono la **via genitale** e quella **parenterale**.
- La **via d'ingresso** condiziona le modalità di trasmissione dal punto di vista epidemiologico. La trasmissione di un agente virale per via respiratoria avviene **direttamente da soggetto infetto ad uno suscettibile** con una diffusione non influenzata dalle condizioni ambientali.
- La **trasmissione per via digerente (oro-fecale)** avviene attraverso alimenti contaminati e la diffusione è fortemente **influenzata dal grado di inquinamento ambientale** e dall'**efficienza dei sistemi di bonifica**.
- la distribuzione di un virus trasmesso per via digerente è influenzata **fortemente dal livello igienico della popolazione**, mentre la diffusione di un virus per via respiratoria è molto meno dipendente dalle condizioni socio-economiche della popolazione.
- La **trasmissione orizzontale diretta** può avvenire attraverso il trasferimento del virus da un soggetto infetto a uno suscettibile **tramite contatto diretto** (ad es. contatto con cute infetta o con il bacio e il conseguente scambio di saliva) o rapporti sessuali.
- La **trasmissione diretta** può avvenire anche a causa di alcune pratiche mediche: **trasfusione di sangue, somministrazione di emoderivati e trapianti d'organo.**

## La **t**rasmissione **o**rizzontale **i**ndiretta

- La **trasmissione orizzontale indiretta** avviene attraverso veicoli, agenti o strumenti che rendono possibile il trasferimento del virus da un soggetto infetto a uno non infetto.
- Sono coinvolti spesso **strumenti** (inoculazione attraverso aghi o siringhe infette, strumenti per tatuaggi o per agopuntura non sterili), ma anche **artropodi ematofagi**.
- Si tratta di virus che mantengono la loro capacità infettante nel vettore o nello strumento per un tempo sufficiente per infettare un nuovo ospite.

## MODALITÀ DI TRASMISSIONE E DI ELIMINAZIONE DEL VIRUS DALL'ORGANISMO

- Le vie di trasmissione dei virus sono determinate dall'**organo o tessuto infettato**, dalle **vie di eliminazione del virus** e dalla **stabilità delle strutture virali**, specie quelle più esterne, **all'ambiente** (variazioni di pH, calore, irraggiamento, essiccamento).
- I **virus con pericapside** sono molto più sensibili a tali agenti, mentre quelli senza pericapside sono più resistenti.
- I virus possono essere **trasmessi** in modo verticale (dalla madre al figlio) od orizzontale (da un soggetto infetto a uno non infetto; questi due modi di trasmissione possono realizzarsi a loro volta sia in modo diretto che indiretto) (tab. 34.1).

**Tabella 34.1** Vie di trasmissione dei virus.

Verticale (dalla madre al figlio)	Orizzontale
Attraverso le cellule gametiche contenenti il virus	Diretta (passaggio diretto da un soggetto infetto a uno non infetto: ad es. trasmissione sessuale)
Per via transplacentare	Indiretta (strumenti infetti, cibi infetti, vettori)
Nella vita perinatale	

# Trasmissione Verticale

La **trasmissione verticale** può avvenire:

- **attraverso le cellule gametiche** (ad es. DNA provirale di un retrovirus integrato nel DNA cellulare (trasmissione verticale propriamente detta);
- **per via trans-placentare** (ad es. citomegalovirus o virus della rosolia);
- **nella vita perinatale** (una trasmissione che avviene durante il passaggio attraverso il canale del parto per virus che causano infezioni localizzate a cute e mucose (herpes simplex) o di virus presenti nel sangue e nei liquidi biologici come il latte ( virus dell'epatite B; Virus dell'immunodeficienza umana.

## 2) Replicazione del virus nel sito di ingresso

Avviene nelle cellule permissive presenti nel sito di ingresso.

Deve esserci una carica infettante sufficiente (di solito poche particelle virali non riescono a stabilire una infezione in quanto poche cellule infettate vengono eliminate facilmente dalle difese dell'ospite).

Può incontrare ostacoli da parte delle difese dell'ospite (es interferon beta, una sostanza antivirale prodotta dall'organismo, che protegge le cellule non ancora infettate).

Alcuni virus (es. influenza-malattia esclusivamente respiratoria; rotavirus - infezione esclusivamente intestinale) provocano malattia unicamente a livello del sito di ingresso. non invadono i tessuti sottostanti e non diffondono a sedi lontane

### 3) Diffusione dalla sede di impianto

Il virus può diffondere nell'organismo (attraverso il sangue, il sistema linfatico, o i neuroni), raggiungendo gli organi bersaglio.

Viremia = presenza del virus nel sangue.

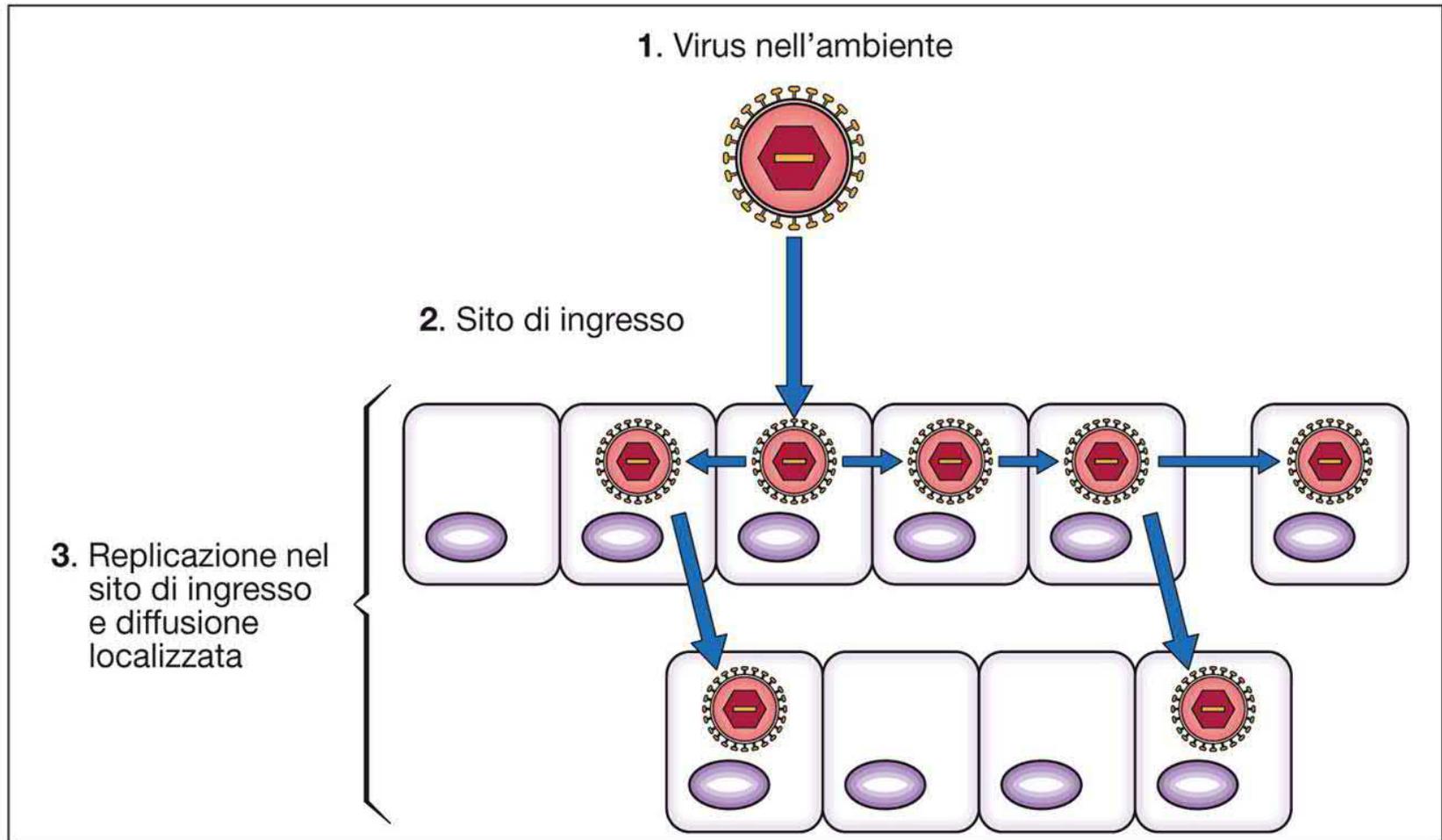
Può esservi diffusione anche lungo i nervi periferici (es. virus dell'herpes simplex, virus della rabbia).

Le infezioni virali possono essere:

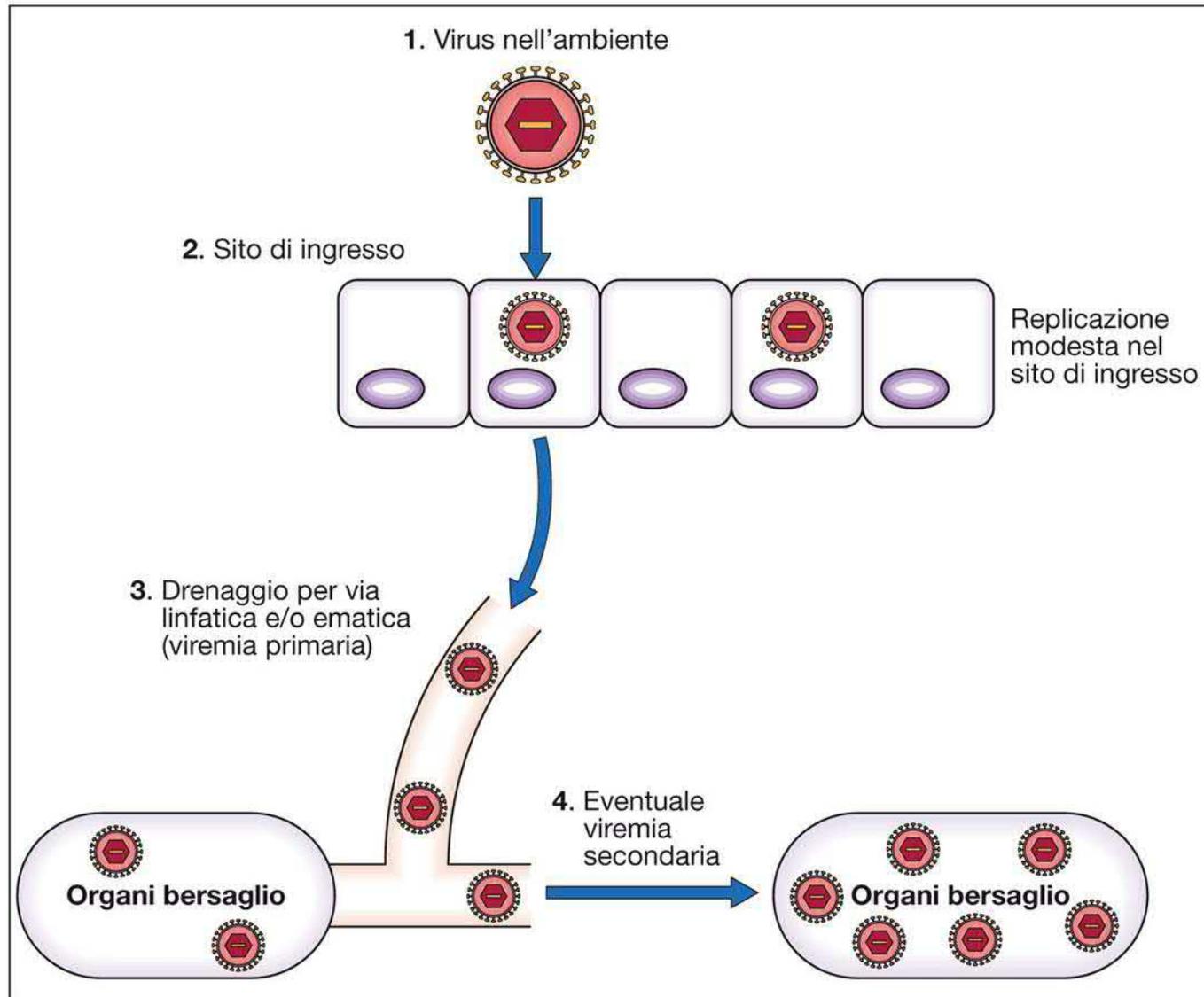
**localizzate** (soprattutto a carico delle superfici epiteliali: cute, mucose, ecc. es rinovirus, papillomavirus)

**generalizzate** (il virus diffonde per viremia).

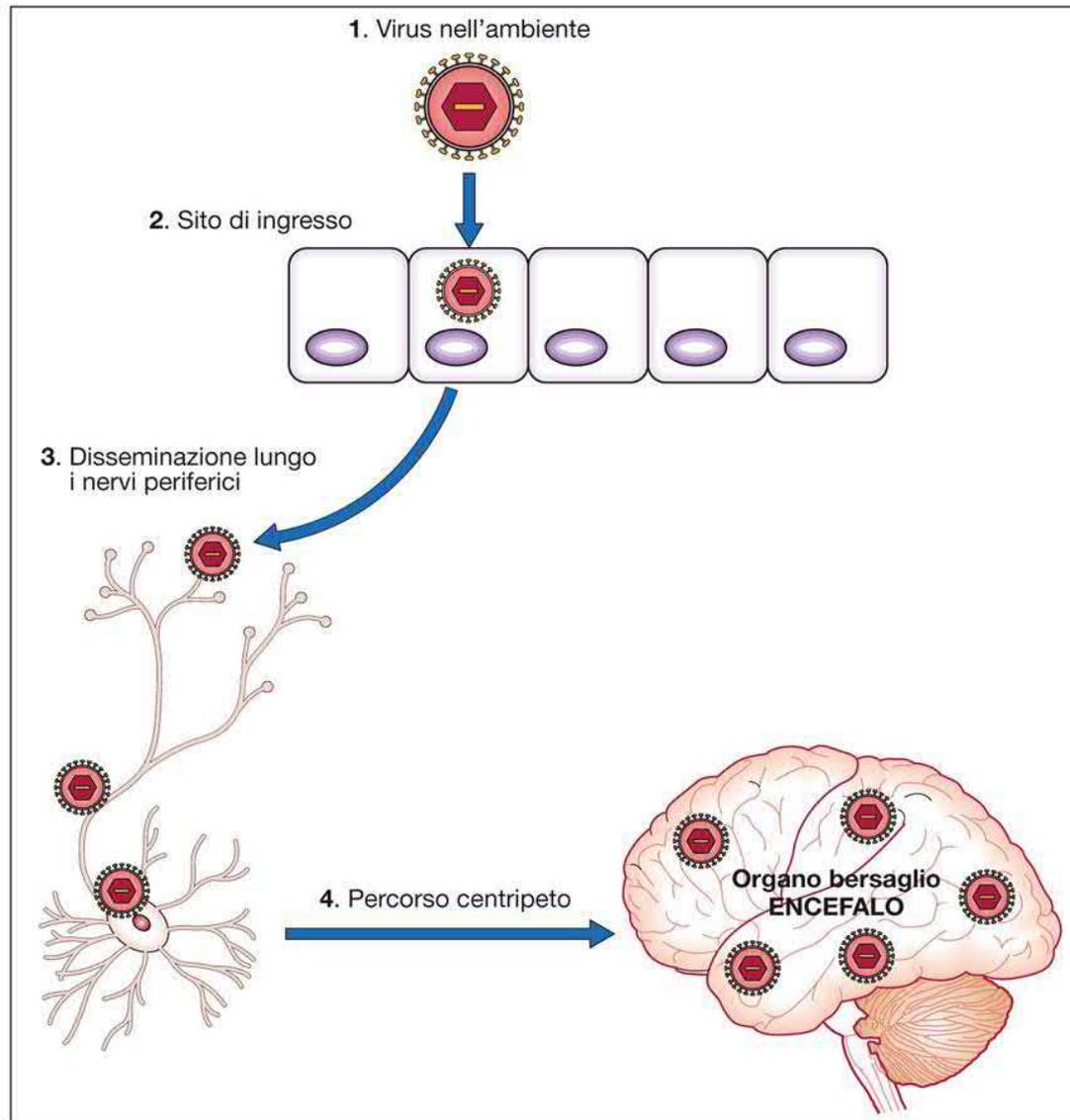
# Diffusione di un virus all'interno dell'ospite: fasi essenziali di una infezione localizzata



# Diffusione di un virus all'interno dell'ospite: fasi essenziali di una infezione disseminata.



# Diffusione di un virus all'interno dell'ospite attraverso la via nervosa.



## 4) Disseminazione agli organi bersaglio.

Di solito, coincide con l'inizio di sintomi evidenti.

Ogni virus ha i propri organi bersaglio.

Esistono virus dermatotropi, epatotropi, neurotropi, ecc.

Può dipendere dalla presenza (o assenza) di recettori, o dallo stato metabolico del soggetto infettato (es di influenza ormonale: topo neonato sensibile a Coxackievirus, ma non il topo adulto; virus della parotite si localizza più frequentemente nel testicolo dell'adulto che del bambino).

Il virus replica negli organi bersaglio, dando una seconda viremia, più imponente.

Replicazione al sito di ingresso

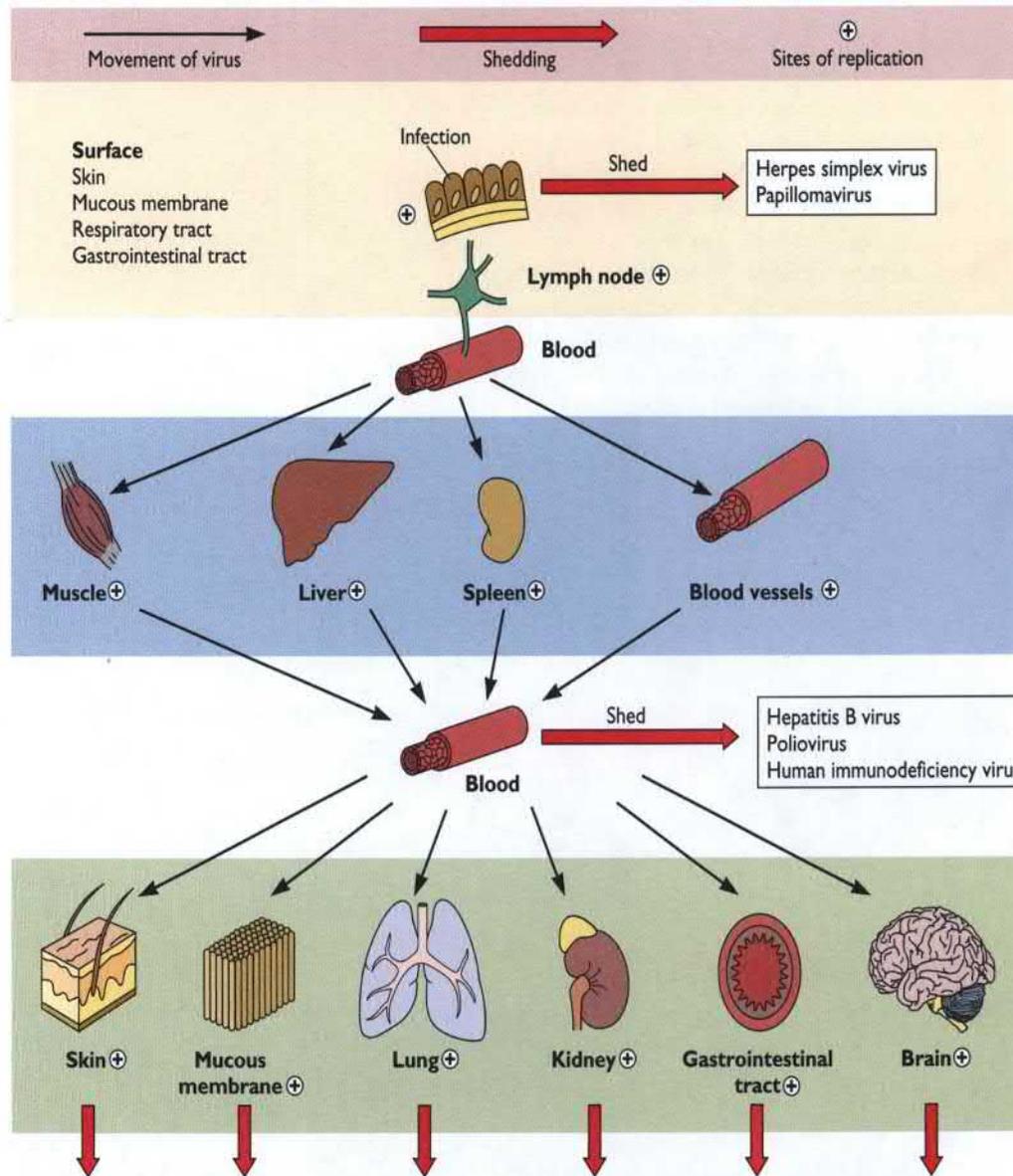
Viremia primaria

Replicazione in organi bersaglio

Viremia secondaria

Replicazione in organi bersaglio (siti secondari di localizzazione)

Trasmissione



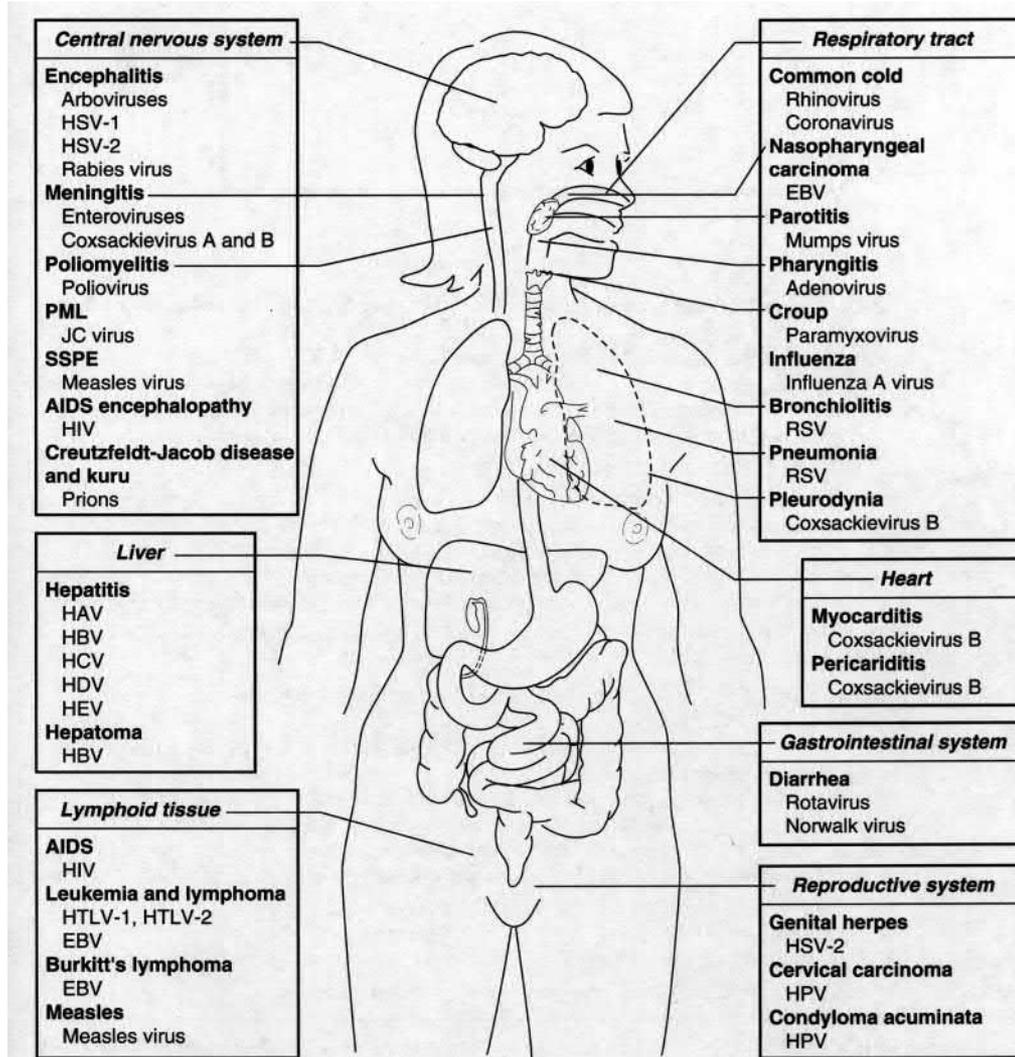
Di solito l'infezione diventa clinicamente evidente quando il virus raggiunge gli organi bersaglio

I sintomi dipendono:

-dalla replicazione del virus (che danneggia l'organo bersaglio)

-dalla risposta dell'organismo all'infezione (es. i sintomi dell'influenza dipendono da interferone e citochine, sostanze prodotte dall'organismo come difesa aspecifica; nel corso dell'epatite B le cellule del fegato infettate dal virus sono distrutte dagli anticorpi)

# Schema degli organi bersaglio delle principali infezioni virali



**FIGURE 26-1.** Target organs and tissues for the most important human pathogenic viruses. *EBV* = Epstein-Barr virus; *HAV* = hepatitis A virus; *HBV* = hepatitis B virus; *HCV* = hepatitis C virus; *HDV* = hepatitis D virus; *HEV* = hepatitis E virus; *HPV* = human papillomavirus; *HSV* = herpes simplex virus; *HTLV* = human T-lymphotropic virus; *PML* = progressive multifocal leukoencephalopathy; *RSV* = respiratory syncytial virus; *SSPE* = subacute sclerosing panencephalitis.

## **5) Eliminazione del virus dall'organismo e risoluzione dell'infezione**

Varia a seconda del virus, ma più spesso attraverso le vie respiratorie e il canale digerente.

In alcuni casi un virus può avere più vie di eliminazione, ma solo una di esse è efficiente per la trasmissione (es virus morbillo viene eliminato per via respiratoria e con le urine, ma viene trasmesso solo per via respiratoria)

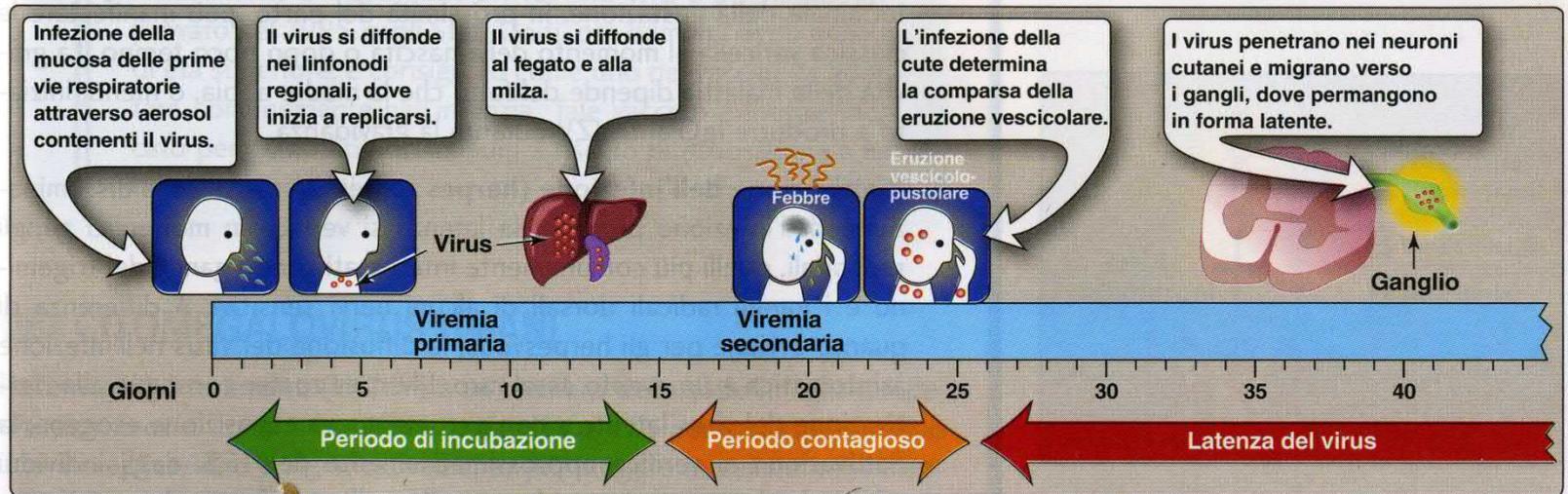
Incubazione = tempo fra  
l'infezione e la malattia

**TABELLA 46-4.** Periodi di incubazione delle  
più comuni infezioni virali

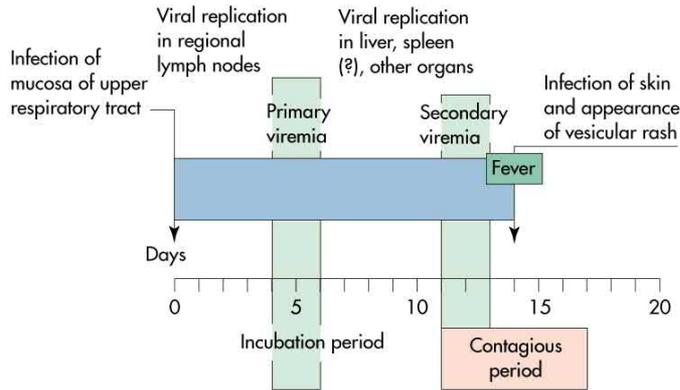
<b>MALATTIA</b>	<b>PERIODO DI INCUBAZIONE (GIORNI)*</b>
Influenza	1-2
Raffreddore comune	1-3
Bronchiolite, "croup"	3-5
Patologia respiratoria acuta (da adenovirus)	5-7
Dengue	5-8
Herpes simplex	5-8
Enterovirus	6-12
Poliomielite	5-20
Morbillo	9-12
Vaiolo	12-14
Varicella	13-17
Parotite	16-20
Rosolia	17-20
Mononucleosi	30-50
Epatite A	15-40
Epatite B	50-150
Rabbia	30-100
Papilloma (verruche)	50-150
HIV (sindrome da immu- nodeficienza acquisita)	1-10 anni

\* Fino al momento della comparsa dei prodromi. Sintomi di utilità diagnostica (ad es. rash, paralisi) possono comparire non prima di 2-4 giorni dopo.

# Esempio di infezione virale : Varicella



Tipico decorso clinico della Varicella



Mosby, Inc. items and derived items copyright © 2002 by Mosby, Inc.

Decorso clinico della varicella. Il decorso nei bambini, descritto in figura, è generalmente più breve e meno grave che negli adulti.

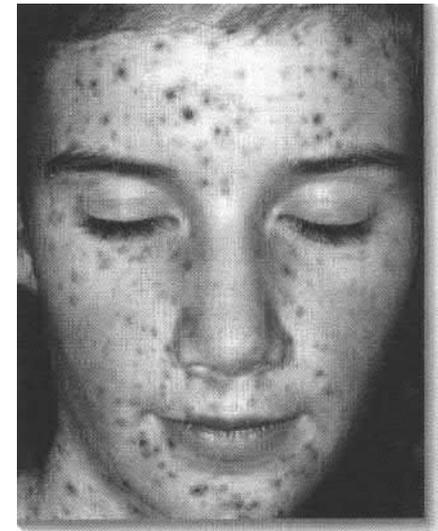
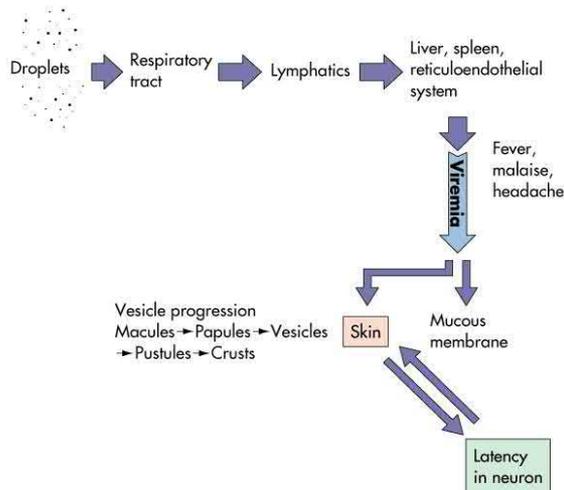


Figure 28.12 Appearance of chickenpox with lesions at all stages of development.



Herpes Zoster in un dermatomo toracico

Diffusione del virus della Varicella nel corpo. Il virus all'inizio infetta il tratto respiratorio e diffonde attraverso il sistema reticolo-endoteliale e attraverso il sangue a tutto il corpo.

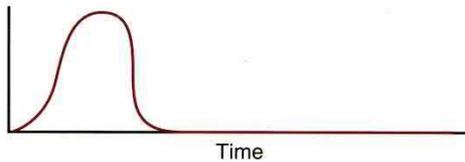
# Esito dell'Infezione - 1

Si possono verificare varie possibilità:

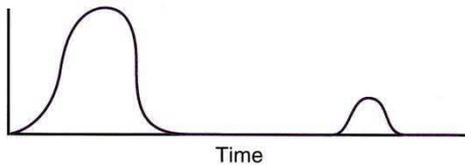
- Il virus viene completamente **eliminato** dall'organismo. grazie alle difese immunitarie (es. Raffreddore, Influenza, Epatite A)
- Le difese dell'organismo contrastano il virus, la malattia si riduce o scompare, ma **il virus persiste** nell'organismo, replicando a bassi livelli (**infezione cronica**). Il paziente conduce una vita quasi normale anche per molti anni, finchè gradatamente non si sviluppa una grave malattia (es. Epatite B, Epatite C, AIDS)
- Le difese dell'organismo impediscono al virus di replicare, la malattia finisce, ma il virus non è eliminato dall'organismo. Il genoma del virus rimane in alcune cellule, senza replicare (**infezione latente**). In condizioni particolari, può riattivarsi dando luogo alle *recidive*. Si verifica una infezione produttiva, generalmente limitata, seguita da una nuova latenza (es. virus dell'herpes simplex, virus varicella zoster).

# Patterns infezioni virali

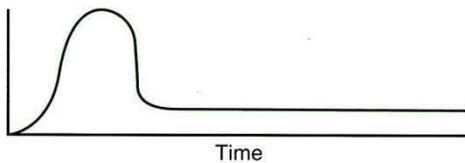
A. Acute infection followed by clearing



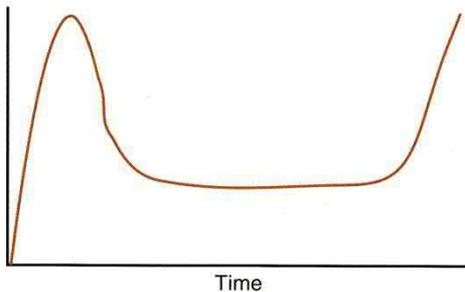
B. Acute infection followed by latent infection and periodic reactivation



C. Acute infection followed by chronic infection



D. Acute infection followed by persistent infection (set point) and virus overproduction (eg. HIV)



Levels of infectious virus

**A. In molte infezioni il virus scompare dall'organismo e c'è guarigione completa (es. virus influenza, Epatite A).**

**B. A volte invece l'infezione può diventare persistente latente con periodiche riattivazioni (Es. virus dell'Herpes Simplex).**

**C. Le infezioni persistenti croniche sono caratterizzate dalla continua presenza del virus, che non scompare dopo la fase acuta, ma continua a replicare, a livelli molto più bassi e per lungo tempo, causando sintomi più leggeri ma in progressiva evoluzione (HBV e HCV).**

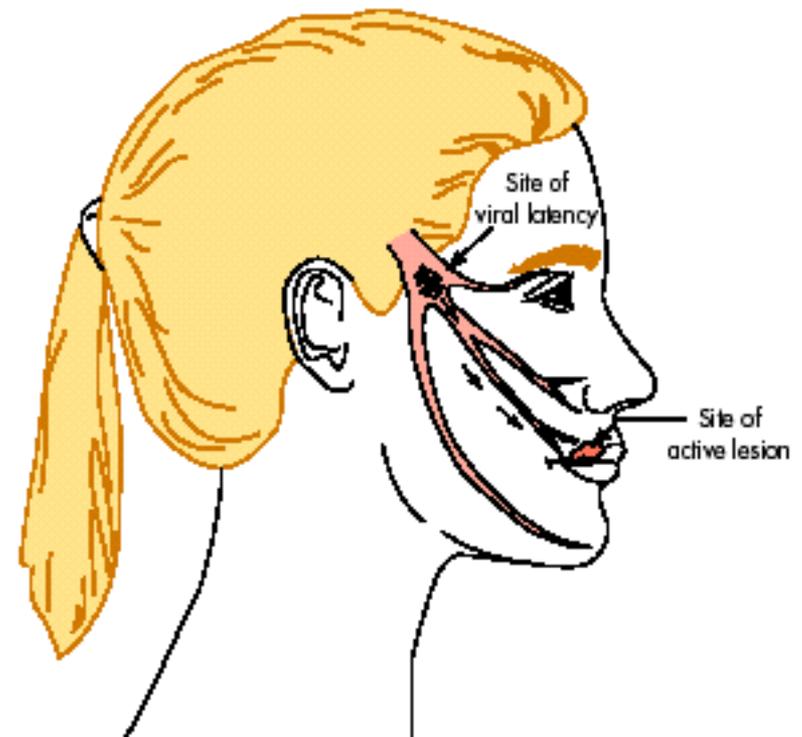
**D. Nel caso del virus dell'AIDS, all'infezione acuta segue un'infezione cronica che conduce alla progressiva decurtazione delle cellule immunitarie con conseguente over-produzione virale.**

# Infezione Latente

## Latenza:

Dopo la risoluzione dell'infezione primaria, il virus permane nell'organismo in cellule specifiche, senza replicarsi ed esprimendo solo pochissimi geni virali. In condizioni particolari può riattivarsi, dando luogo alle recidive. Si instaura una infezione acuta produttiva, seguita da nuova latenza.

**Es. Virus dell'herpes simplex dopo la guarigione entra in latenza nei gangli nervosi (es. trigemino) e, riattivandosi, causa malattia nella zona innervata**



## Esito dell'Infezione - 2

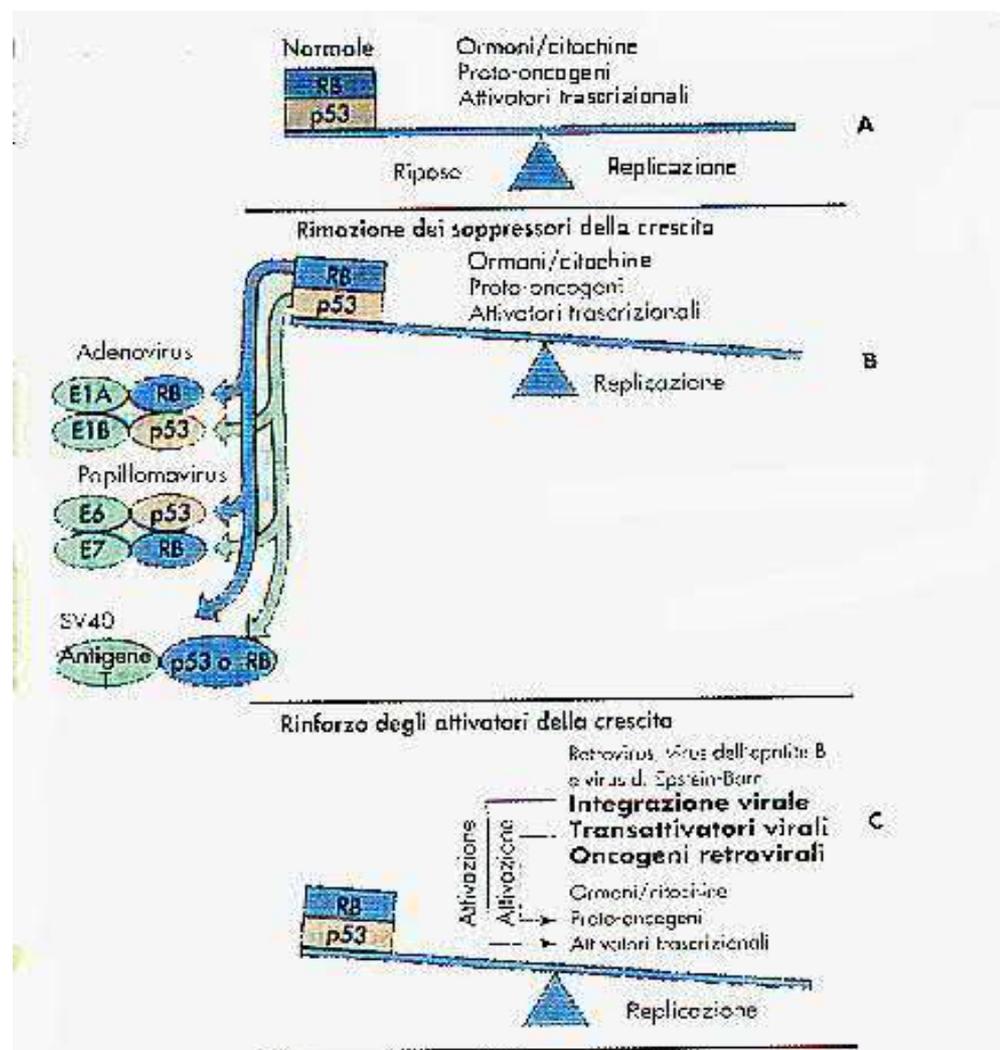
In seguito all'infezione con alcuni specifici tipi di virus si possono sviluppare tumori (oncogenesi virale).

Si pensa che circa il 10% dei tumori possono essere associati ad infezione virale

Alcuni virus stabiliscono infezioni persistenti che, a volte, stimolano la cellula a proliferare in modo incontrollato: inibiscono l'apoptosi, attivano geni che causano la divisione cellulare, inattivano proteine che regolano la proliferazione cellulare (oncosoppressori), ecc.

- es. Human T lymphotropic Virus = leucemie
- Papilloma virus = carcinomi della cervice uterina
- Epatite B e C = tumori del fegato
- Virus di Epstein Barr = linfomi
- Herpesvirus umano 8 = Sarcoma di Kaposi.

# Meccanismi di oncogenesi virale



**FIGURA 46-2** Meccanismi della trasformazione e della immortalizzazione indotta da virus. La crescita cellulare viene controllata (A) dal bilanciamento fra attivatori della crescita (acceleratori) esterni ed interni e soppressori della crescita quali la p53 ed il prodotto del gene del retinoblastoma (RB) (freni). I virus oncogeni alterano l'equilibrio rimuovendo i freni (B) o aumentando l'effetto degli acceleratori (C).

# Esito dell'Infezione - 3

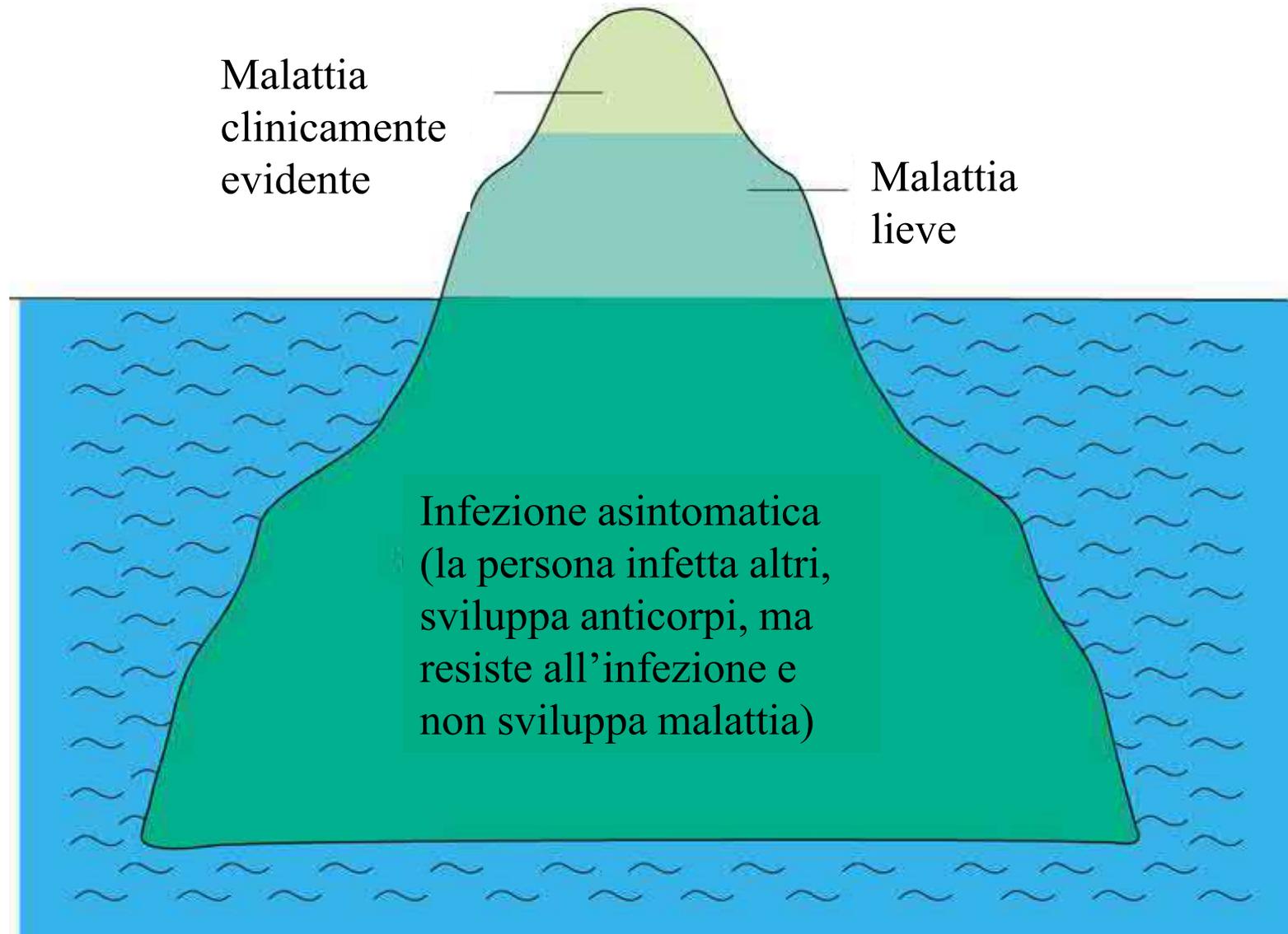
## **Infezioni Inapparenti o Asintomatiche.**

Sono molto comuni infezioni transitorie, che non causano malattie evidenti e sintomi chiari.

Hanno una grande importanza epidemiologica perchè rappresentano una importante fonte di disseminazione del virus; conferiscono immunità. Si verificano quando l'organismo riesce a controllare l'infezione prima che raggiunga l'organo bersaglio, se l'infezione è controllata in tempo rapido, se il livello di danno è inferiore alla soglia funzionale per quel determinato tessuto.

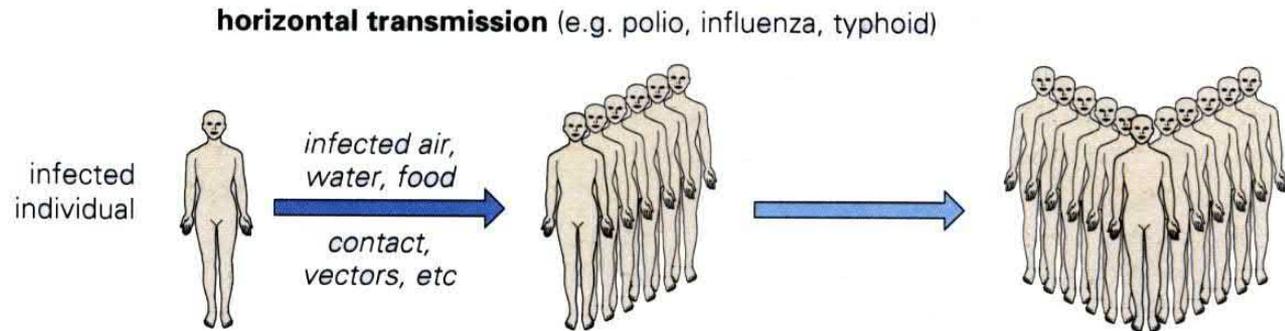
es: oltre il 90% di adulti ha anticorpi contro il virus varicella-Zoster, ma solo la metà di essi ricorda di avere avuto la varicella.

## Concetto dell'iceberg delle malattie infettive virali



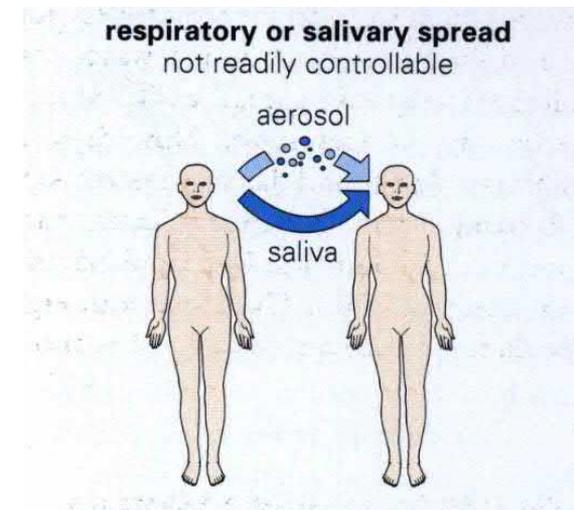
# Vie di Trasmissione delle infezioni

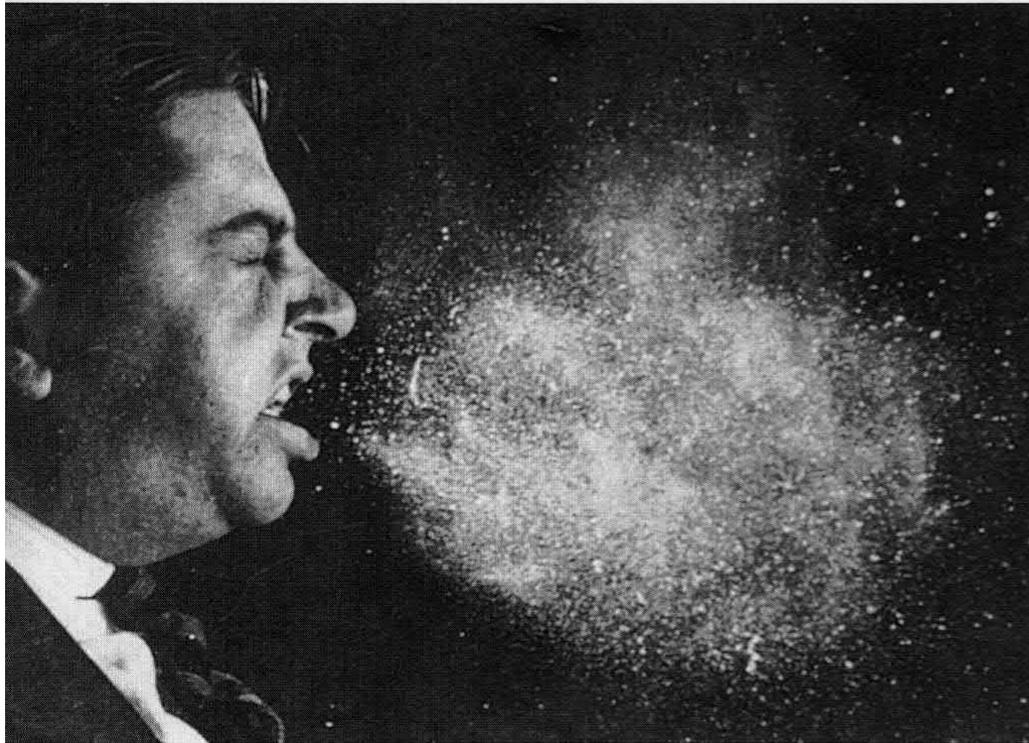
**Orizzontale:** da ospite a ospite



**Respiratoria**: virus escreto con starnuti, tosse, ecc. anche se il soggetto è asintomatico. Probabilmente la trasmissione più comune.

Molti virus sono sensibili all'essiccamento è necessario un contatto stretto per la trasmissione. Questo è uno dei motivi per cui le infezioni respiratorie sono più comuni d'inverno, quando molte persone affollano luoghi chiusi.

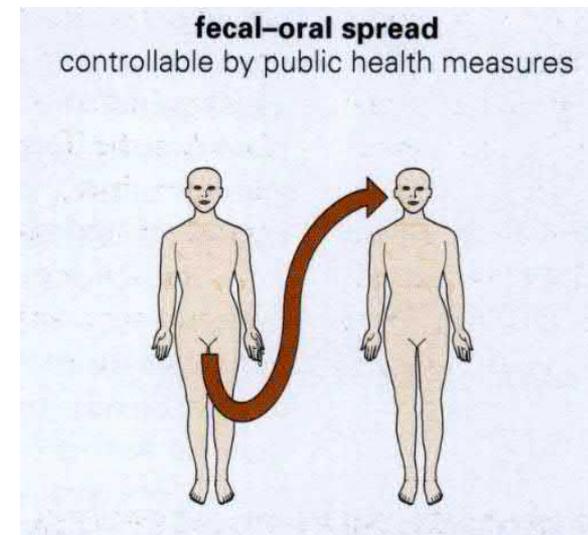




**Fig. 8.15** Droplet dispersal following a violent sneeze. Most of the 20 000 particles seen are coming from the mouth. (Courtesy of the American Association for the Advancement of Science.)

**Oro-fecale:** Altra comune causa di trasmissione.

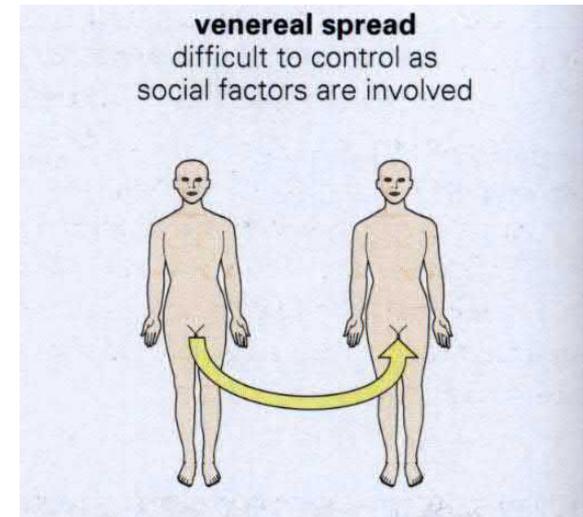
La resistenza del virus alla inattivazione nel tratto gastrointestinale è correlato alla sua struttura. Gli enterovirus hanno un capsido nudo, e non sono inattivati dalla bile, che distrugge l'envelope virale. Il loro capsido proteico è anche resistente a pH acido e alle proteasi intestinali.



I virus che infettano il tratto gastrointestinale possono venire escreti per alcune settimane .  
Il paziente rimane infettante anche dopo la malattia (portatore asintomatico)

## Venerea :

es AIDS, herpes (simplex e HHV8),  
epatite, condilomi. Lacerazioni e  
piccole lesioni della mucosa facilitano  
la trasmissione.



## Cutanea:

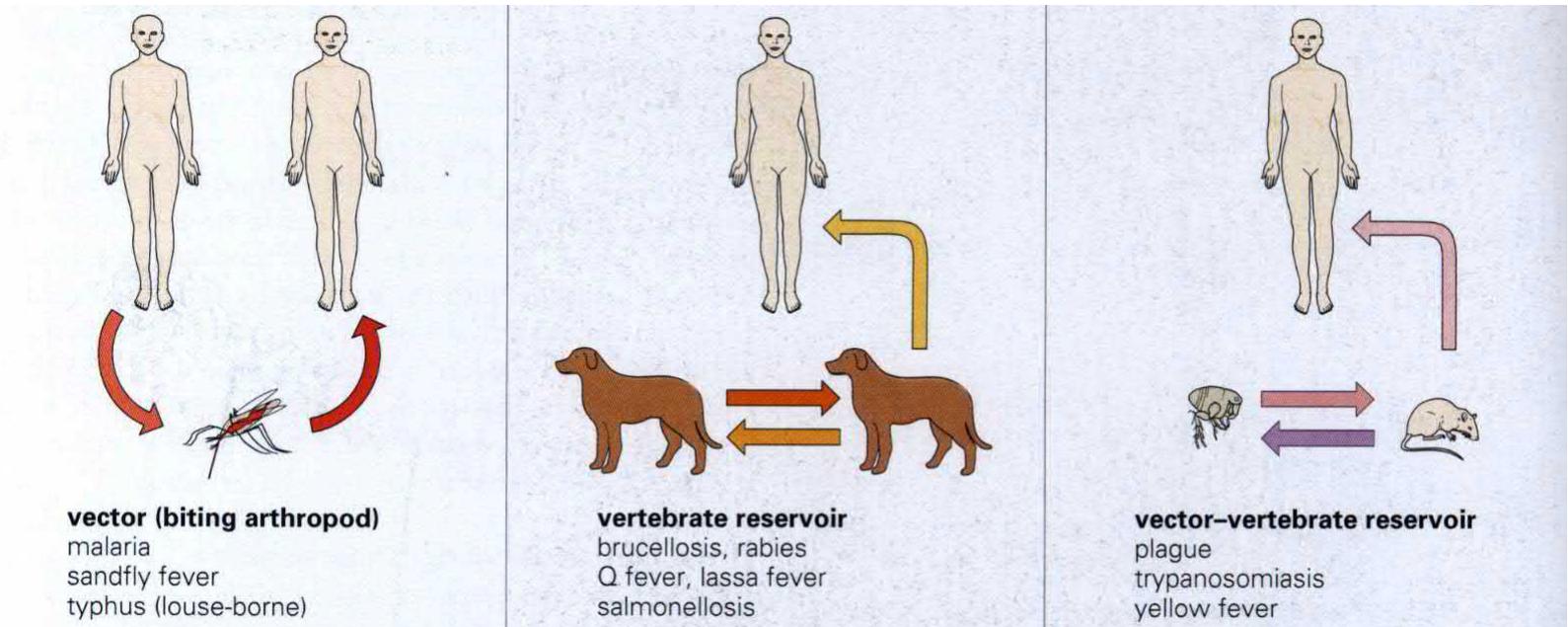
Abrasioni meccaniche degli strati superficiali del derma facilitano l'infezione. Interessa pochi virus (papilloma, mollusco contagioso [poxvirus]).

## Parenterale :

Nel caso di infezioni virali che evidenziano una consistente presenza di virus nel sangue. Trasmissione mediante **siringhe** e contaminazione con sangue infetto

## Zoonosi:

Trasmesse da artropodi (Morsi di insetti) o mammiferi (infezioni zoonotiche: infezioni il cui ospite naturale sono animali, e l'uomo rappresenta un ospite terminale.)



# Trasmissione Verticale: da madre a figlio

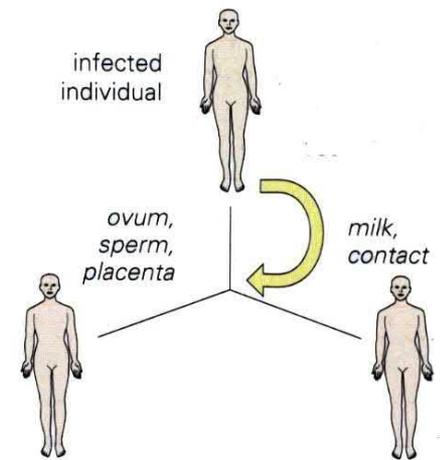
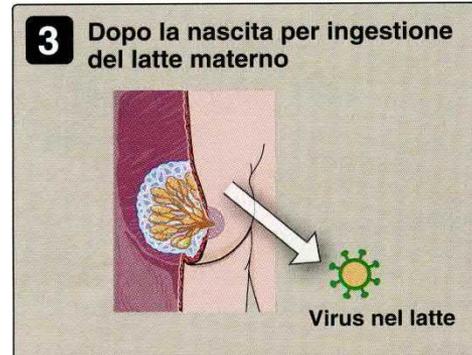
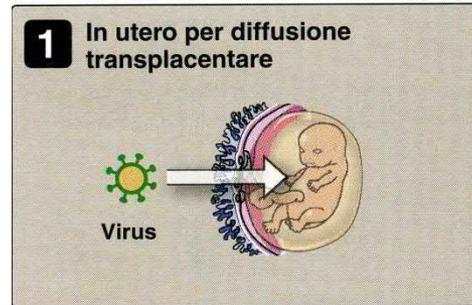
## Transplacentare =

causa infezioni congenite (es HIV, rosolia, citomegalovirus, HSV-1 e 2).

## Perinatale =

acquisita mentre il feto attraversa il canale del parto infettato

Può anche esserci infezione durante l'allattamento = es HIV può essere trasmesso col latte materno.



# Barriere naturali (1)

L'ospite ha diverse barriere naturali all'infezione virale. Esse rappresentano la prima linea di difesa che ha il compito di prevenire o limitare l'infezione.

## **Pelle**

La pelle funziona come una formidabile barriera contro molti virus e solo dopo che tale barriera viene lesionata i virus sono in grado di infettare l'ospite.

## **Mancanza di recettori di membrana**

I virus entrano nelle cellule dell'ospite attraverso il legame di specifici recettori. Lo spettro d'ospite di un virus dipende dalla presenza di questi recettori. Pertanto se un ospite manca del recettore per un determinato virus o se le cellule dell'ospite non hanno alcuni componenti essenziali alla sua replicazione l'ospite risulta naturalmente resistente all'infezione da parte di quel virus. Es: i topi mancano dei recettori per i poliovirus e pertanto sono ad essi resistenti. Gli esseri umani sono naturalmente resistenti ai virus delle piante e a molti virus animali.

## **Muco**

Il muco che ricopre l'epitelio funziona come una barriera che impedisce l'infezione. In alcuni casi si limita a questa funzione meccanica, ma in altri casi può prevenire l'infezione competendo con il virus per i recettori cellulari. Ad es. ortomixovirus e paramixovirus infettano le cellule dell'ospite attraverso il legame con il loro recettore che è l'acido sialico. Nel muco sono presenti glicoproteine che contengono l'acido sialico che possono competere con i recettori cellulari e diminuire o prevenire l'attacco del virus alla cellula.

# Barriere naturali (2)

## **Epitelio ciliato**

Attraverso il movimento delle cilia l'epitelio ciliato può diminuire l'infettività di alcuni virus. Questo meccanismo è importante nelle infezioni respiratorie: infatti quando l'attività di tale sistema è inibita da farmaci, dal catrame contenuto nel fumo di sigarette o da infezioni concomitanti, aumenta la percentuale di infezione per una determinata dose di virus.

## **Basso pH**

L'acidità delle secrezioni gastriche inattiva molti virus. Tuttavia, gli enterovirus sono resistenti alle secrezioni gastriche e quindi possono sopravvivere e replicare nello stomaco.

## **Barriere indotte**

I cambiamenti che avvengono nell'ospite in risposta all'infezione possono contribuire a diminuire l'infettività del virus.

## **Febbre**

La febbre può aiutare ad inibire la replicazione virale attraverso il potenziamento di altre difese immuni e diminuendo le capacità replicative del virus (la replicazione di molti virus è ridotta a temperature superiori a 37°C).

## **Basso pH**

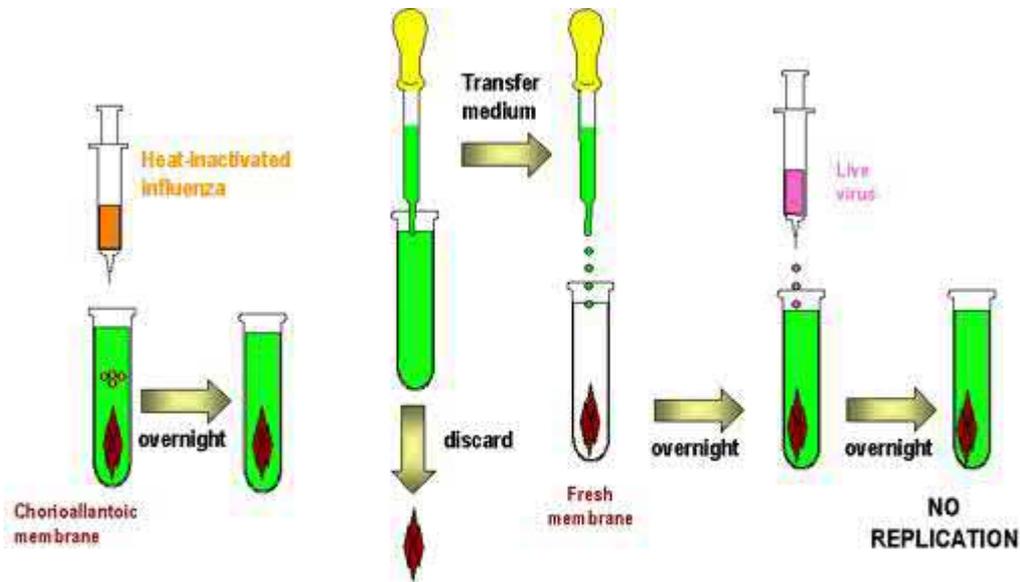
Anche l'infiltrato infiammatorio è acido e può aiutare a limitare l'infezione inattivando il virus.

# Difese non specifiche

Diverse componenti umorali del sistema immunitario funzionano come difese non specifiche all'infezione virale. Alcune di queste sono costitutivamente presenti mentre altre sono indotte dall'infezione.

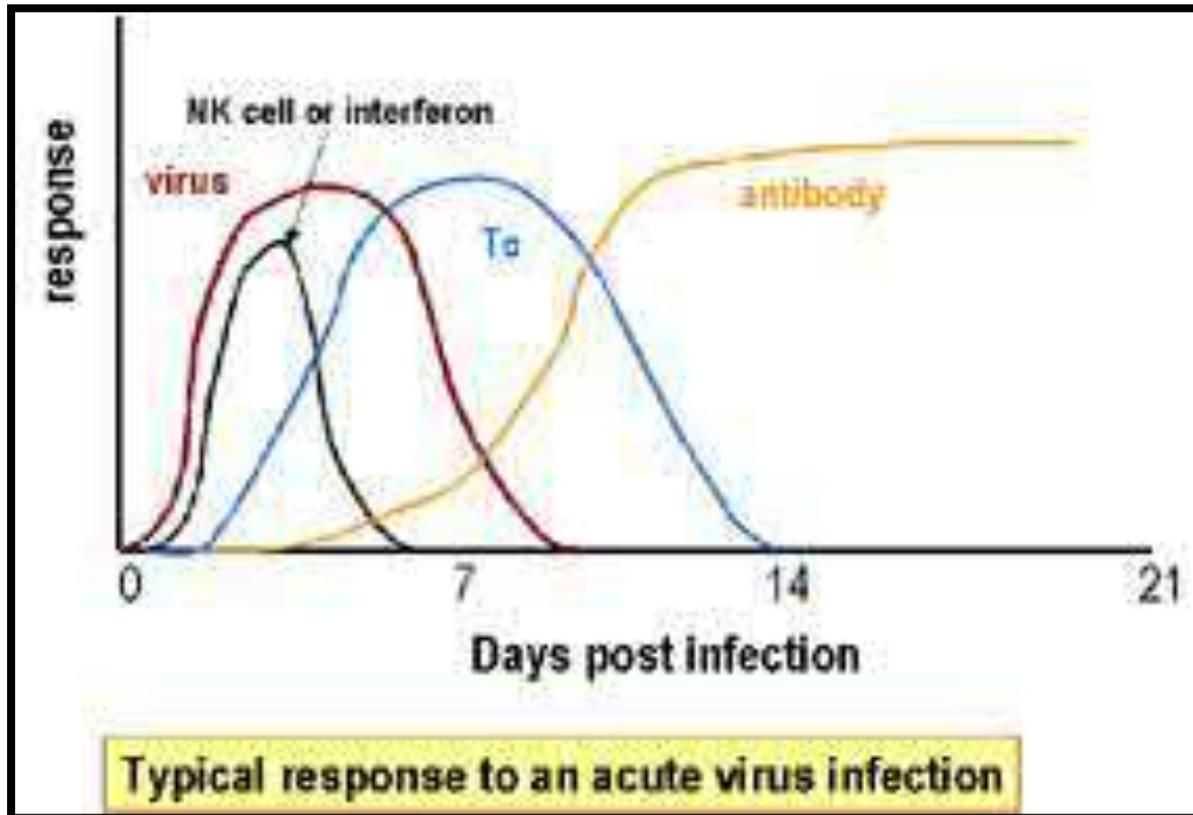
## Interferone (IFN)

IFN è stato scoperto più di 40 anni fa da Isaacs and Lindemann che mostrarono che il supernatante di cellule infettate da virus conteneva una proteina in grado di conferire resistenza all'infezione virale alle altre cellule. Questa sostanza NON agisce direttamente sul virus ma piuttosto sulla cellula per renderla resistente all'infezione.



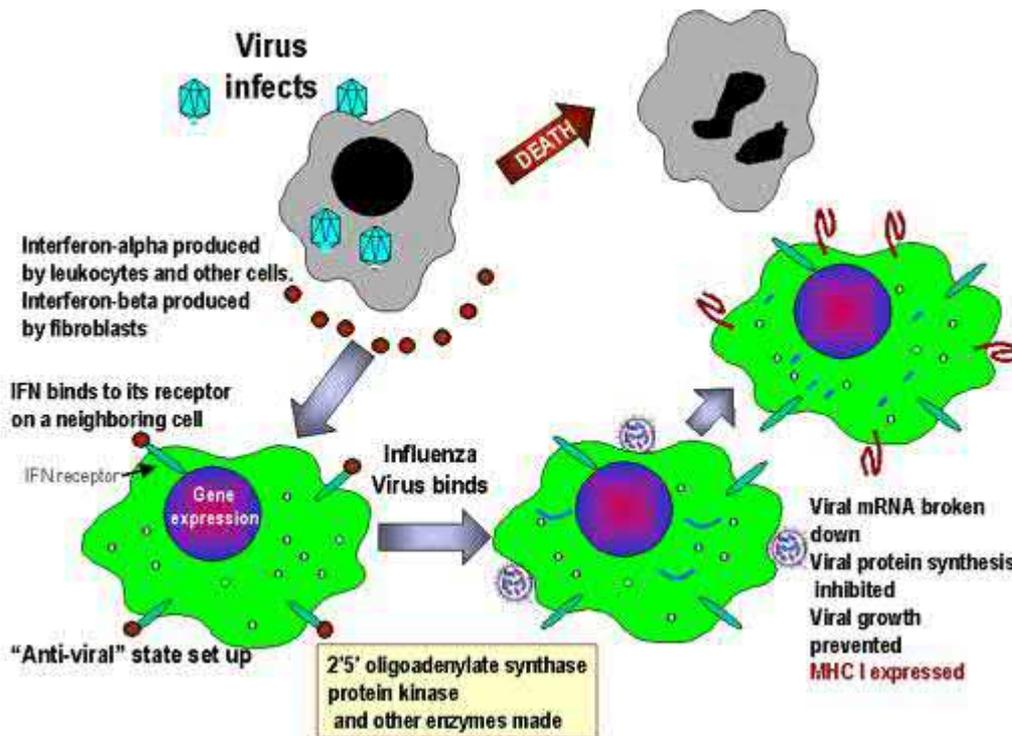
## The Discovery of Interferon

From Isaacs and Lindenmann, Proc. Roy Soc B, 1957



IFN è una delle prime linee di difesa contro le infezioni virali perché è indotto precocemente dal virus e prima che compaiano altre difese (anticorpi, linfociti T citotossici ecc.). Il tempo di comparsa dell'IFN può variare in funzione della carica virale.

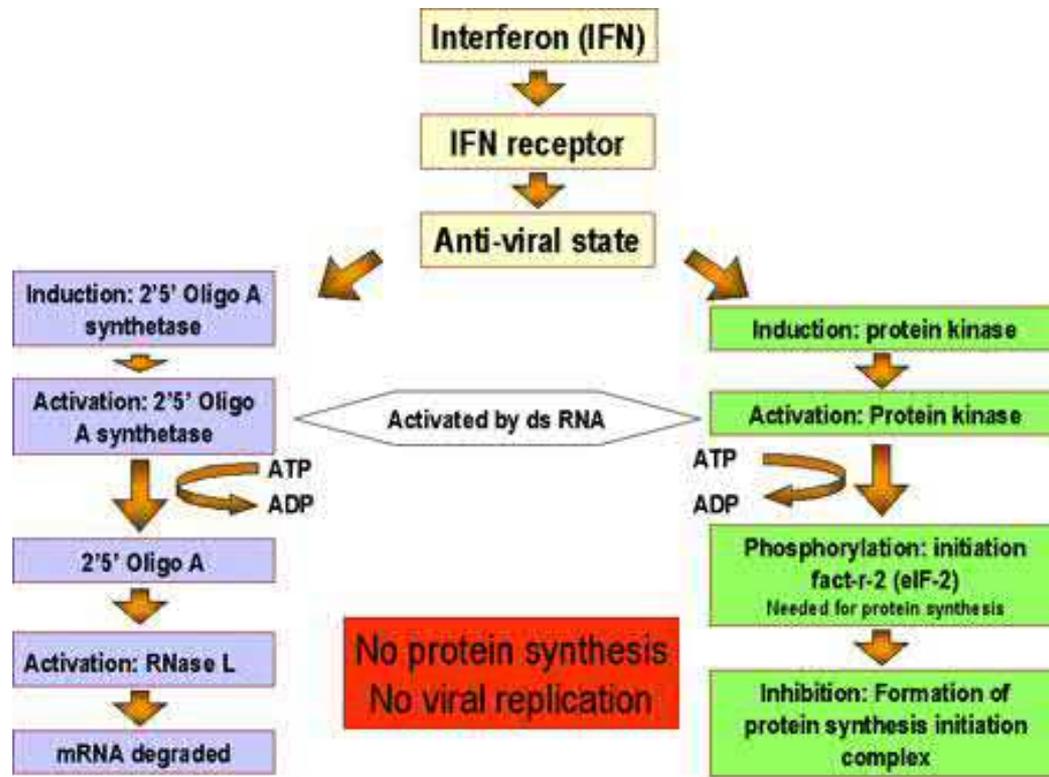
# Eventi cellulari dell'induzione degli IFNs



I geni per gli IFN non sono normalmente espressi nella cellula perché viene prodotto un repressore (labile, proteico) che si lega al promotore ed inibisce la trascrizione. In aggiunta, la trascrizione dei geni richiede anche che una proteina-attivatore si leghi alla regione del promotore.

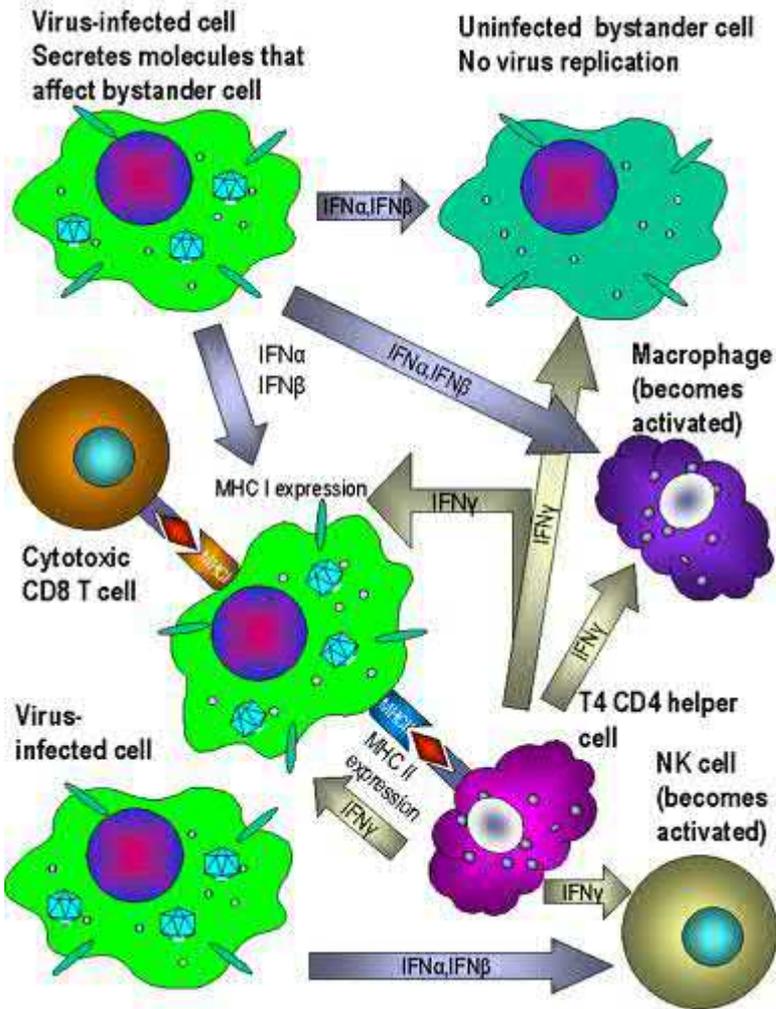
Gli induttori di IFN agiscono sia prevenendo la sintesi del repressore sia aumentando il livello della proteina attivatore. Quando l'induttore non è più disponibile, il gene IFN viene "spento" dalla proteina-repressore e/o dalla mancanza della proteina-attivatore. Quando il gene è attivo, viene trascritto, gli mRNA vengono tradotti ed i prodotti proteici secreti dalla cellula. L'IFN si potrà legare a recettori specifici sulle cellule vicine ed indurre in esse uno stato antivirale.

# Eventi cellulari in seguito alla produzione di IFN



Il legame IFN-recettore induce la trascrizione di un gruppo di geni che codificano per proteine antivirali coinvolte nella prevenzione della replicazione virale nella cellula. Come conseguenza la cellula sarà protetta dall'infezione da parte del virus sino a quando le proteine antivirali non saranno degradate, processo che richiede diversi giorni. Lo stato antivirale IFN-indotto nelle cellule si manifesta con la sintesi di 2 enzimi in grado di inibire la sintesi proteica virale.

Un enzima blocca la sintesi proteica indirettamente distruggendo l'mRNA virale (2' 5' Oligo Adenilatosintetasi) l'altro (una protein chinasi) direttamente inibendo l'allungamento della catena peptidica. Sebbene la cellula infettata può morire come conseguenza dell'inibizione della sintesi proteica dell'ospite, l'infezione viene bloccata. Le cellule non infettate non vengono uccise dal trattamento con IFN in quanto l'attivazione dei due enzimi antivirali richiede RNA a doppia elica che la cellula non possiede. Alcuni virus sembrano eludere gli effetti antivirali dell'IFN. Ad es. gli adenovirus producono un RNA che previene l'attivazione della protein chinasi da parte di RNA a doppia elica riducendo di fatto l'effetto antivirale dell'IFN.



IFN ha anche altri effetti sulle cellule, alcuni dei quali contribuiscono indirettamente alla capacità dell'ospite di resistere o di sopravvivere all'infezione virale. Ad es. IFN può aiutare a modulare la risposta immune attraverso il suo effetto sulle molecole MHC di Classe I e Classe II. IFN-alpha, IFN-beta and IFN-gamma aumentano l'espressione delle molecole di Classe I promuovendo il riconoscimento delle cellule infettate da parte delle cellule Tc. IFN-gamma può inoltre aumentare l'espressione delle molecole MHC di Classe II sulle cellule presentanti l'ATG facilitando così il riconoscimento dell'ATG alle cellule CD4+ T helper. In più IFN-gamma può attivare le cellule NK che possono uccidere le cellule infettate. Gli IFNs inoltre attivano le attività antivirali intrinseche (capacità di resistere all'infezione virale) ed estrinseche (capacità di uccidere altre cellule infettate dal virus) dei macrofagi. Gli IFNs hanno anche attività antiproliferativa.

# Risposta dell'ospite all'infezione virale

**All'inizio intervengono difese innate (non specifiche):**

**Barriere meccaniche (pelle, mucosa)**

**Barriere chimiche (lacrime, saliva, acidi, muco)**

**Fagociti (macrofagi, neutrofilii attivati)**

**Cellule NK (rilasciano sostanze citolitiche)**

**Risposta infiammatoria**

**INTERFERON**

**In seguito si sviluppa la risposta adattativa (specifica):**

**-Produzione di anticorpi neutralizzanti**

**-immunità cellulo-mediata**

**- lisi delle cellule infettate mediata dal complemento**

## Tipi e proprietà di IFN

Proprietà	Interferon		
	Alfa	Beta	Gamma
Precedente designazione	Leukocyte IFN Tipo I	Fibroblast IFN Tipo I	Immune IFN Tipo II
Geni	>20	1	1
pH2 stabilità	Stabile	Stabile	Labile
Induttori	Virus (RNA>DNA) dsRNA	Virus (RNA>DNA) dsRNA	Antigeni, Mitogeni
Principale sorgente	Leucociti, Epitelio	Fibroblasti	Linfociti

Ci sono principalmente tre tipi di interferone, IFN-alfa, IFN-beta (IFNs di Tipo I) e IFN-gamma (IFN di Tipo II). Ci sono circa 20 sottotipi di IFN-alfa ma solo un IFN-beta e un IFN-gamma. Le cellule normali non contengono IFN preformato e non lo secernono costitutivamente. Questo perché la trascrizione dei geni per gli IFN avviene solo dopo l'esposizione della cellula ad un determinato induttore. Gli induttori di IFN-alfa e IFN-beta includono l'infezione virale, RNA a doppia elica, LPS, e alcune componenti batteriche. Tra i virus, i virus a RNA sono i migliori induttori mentre i virus a DNA inducono scarsamente la produzione di IFN ad eccezione dei poxvirus. Gli induttori di IFN-gamma comprendono mitogeni ed antigeni (es. tutto ciò che attiva i linfociti).

**Gli Interferon sono una famiglia di proteine che differiscono per origine, dimensioni, proprietà, modalità d'azione.**

**Non sono proteine virus-specifiche: l'IFN indotto da un virus è attivo anche contro altre specie virali.**

**Sono specie-specifiche: es. IFN di cavia non protegge l'uomo**

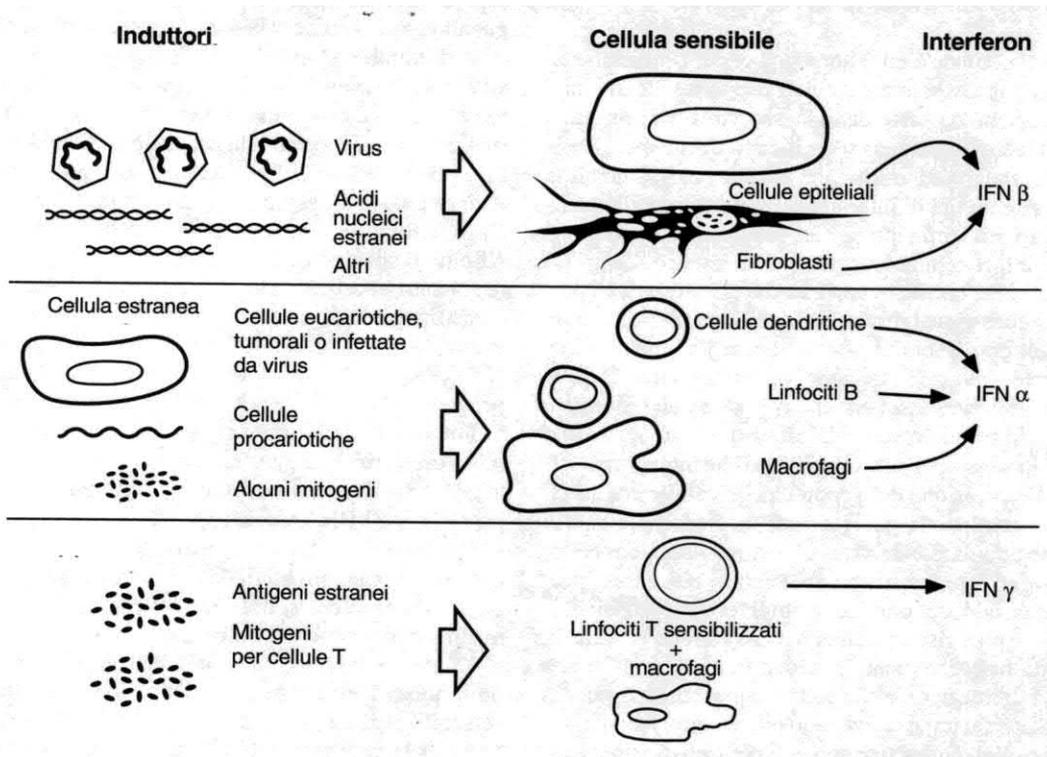
## **EFFETTI:**

**Previene la replicazione virale IN CELLULE NON ANCORA INFETTATE**

**attiva la risposta immune**

**aumenta il riconoscimento delle cellule infettate da parte dei linfociti T**

**causa molti dei sintomi aspecifici (mialgia, febbre, brividi, ecc.) associati alle infezioni virali**

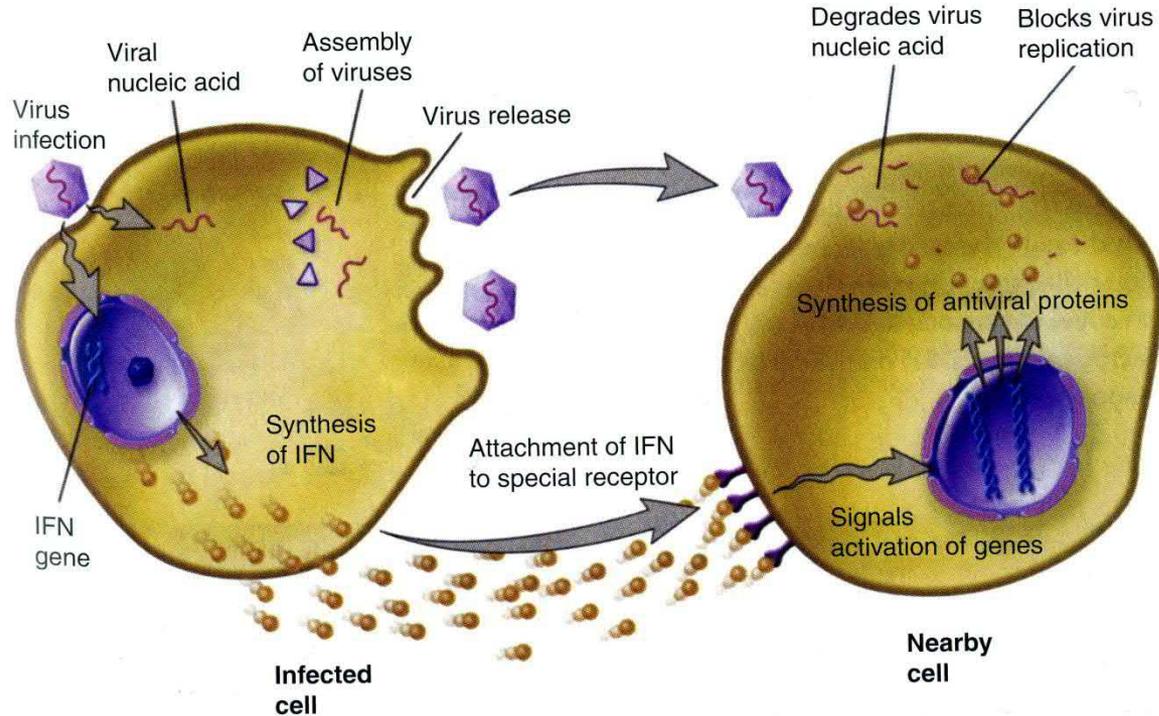


**I principali tipi di interferone sono tre:**

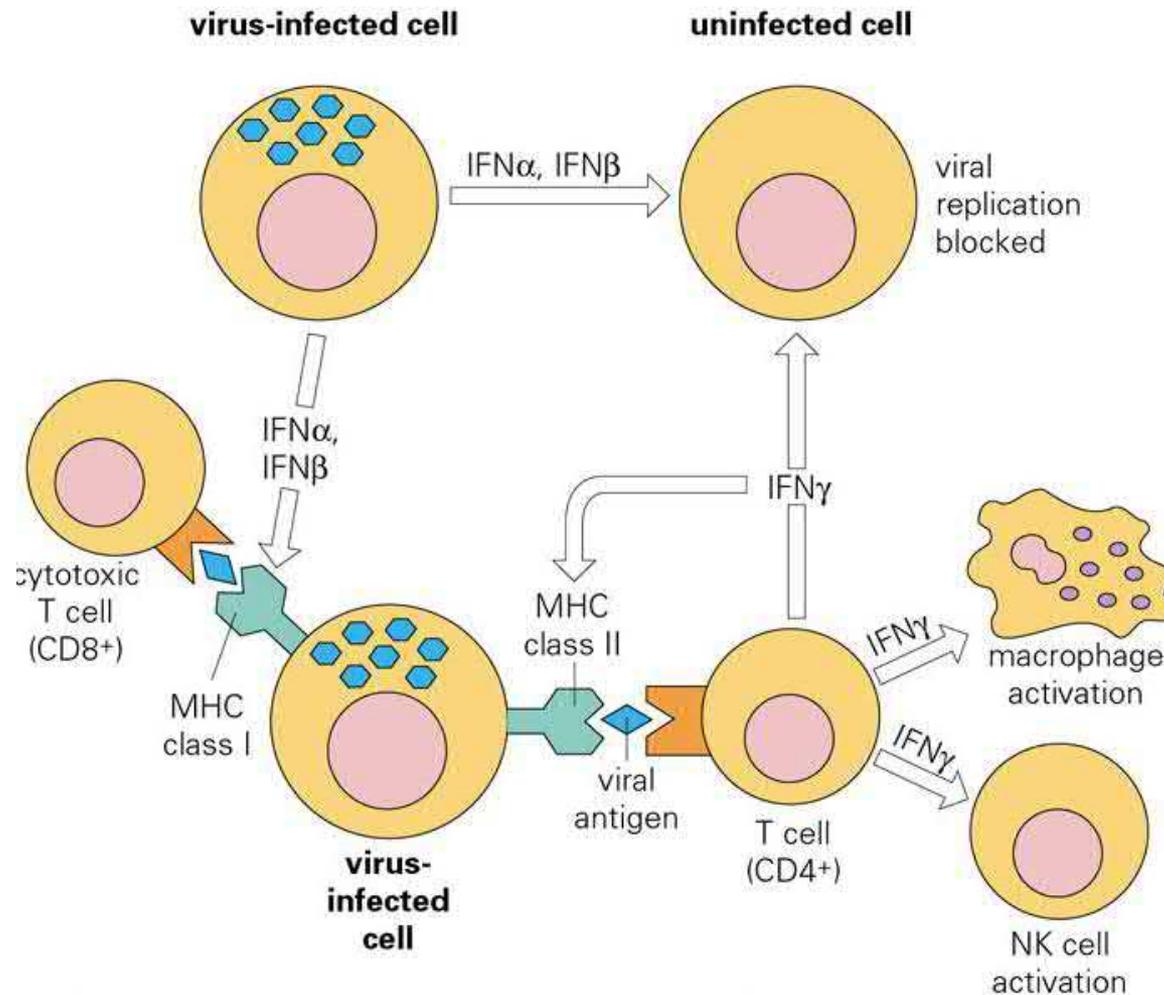
**IFN $\alpha$  = prodotto da cellule dendritiche e linfociti B quando sono a contatto con cellule estranee (batteriche, tumorali, infettate da virus).**

**IFN $\beta$  = Prodotto da cellule epiteliali, fibroblasti e macrofagi dopo contatto con acidi nucleici virali (soprattutto RNA a doppia elica)**

**IFN $\gamma$  = prodotto da linfociti T sensibilizzati in seguito a contatto con antigeni e mitogeni. Necessaria la presenza di macrofagi.**



**Gli IFN  $\alpha$  e  $\beta$ , prodotti dalle cellule infettate dal virus in scarsa quantità, reagiscono con recettori presenti sulle membrane citoplasmatiche o nucleari, inducendo le cellule non infettate a produrre mRNA per la sintesi di proteine antivirali (AVP). Queste proteine sono enzimi che interrompono diversi stadi della replicazione virale. Ad esempio, una di queste AVP è una oligoadenilato sintetasi che degrada l'mRNA virale; un'altra è una protein chinasi che inibisce la sintesi di proteine virali.**



**Gli IFN aumentano anche l'espressione degli antigeni di istocompatibilità (MHC) con conseguente aumento dell'attività dei linfociti citotossici ed attivazione di macrofagi e di cellule NK**

**L'IFN  $\gamma$  è prodotto dai linfociti stimolati da antigeni, mitogeni, agenti ossidanti. L'IFN  $\gamma$  ha un'attività antivirale più debole e più lenta rispetto agli IFN  $\alpha$  e  $\beta$ , ma una maggiore attività immunomodulante. Inoltre è capace di potenziare l'azione degli altri IFN e di inibire altri tipi di microrganismi intracellulari, quali Rickettsie ed alcuni protozoi.**

**Gli IFN sembrerebbero le sostanze antivirali ideali.**

**In realtà gli IFN prodotti mediante biotecnologia:**

- 1) hanno effetto solo per brevi periodi;**
- 2) bisogna somministrarne quantità abbastanza grandi, per cui si hanno diversi effetti collaterali.**

**Comunque, vengono utilizzati nel trattamento di alcune infezioni virali (es. epatite C) e anche di alcune malattie non infettive (es. sclerosi multipla)**

# **Profilassi e terapia delle infezioni virali**

**La lotta contro le infezioni virali può essere condotta attraverso varie strategie:**

- 1) impedendo le infezioni mediante opere di bonifica che eliminino il virus dall'ambiente;**
- 2) contrastando la replicazione del virus nei soggetti infetti attraverso la somministrazione di farmaci antivirali;**
- 3) rendendo la popolazione resistente all'infezione ed alla malattia mediante immunoprofilassi passiva (immunoglobuline) o attiva (vaccini).**

# FARMACI ANTIVIRALI

**Paradosso:** *gli organismi più semplici sono i più difficili da controllare*

Difficoltà maggiore: differenziazione fra meccanismi replicativi virali e cellulari

**Farmaco ideale:** interrompe la replicazione virale in un punto SPECIFICO ed ESSENZIALE del ciclo replicativo virale senza influenzare il normale metabolismo cellulare.

**I bersagli migliori sono funzioni uniche del virus, che non hanno controparti cellulari.**

**Es. DNA polimerasi per herpesvirus (acyclovir); proteine virali per l'influenza (Tamiflu); retrotrascrittasi e proteasi per HIV (AZT); ecc**  
**Comunque i virus possono mutare e sviluppare resistenza ai farmaci**

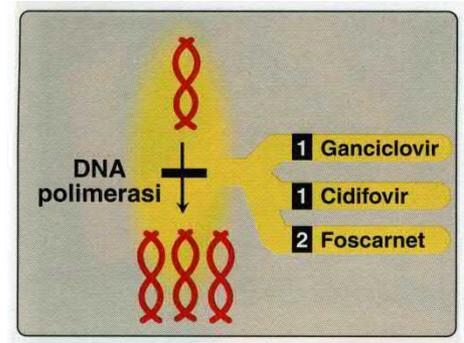
# La maggior parte dei farmaci antivirali approvati dalla Food and Drug Administration negli Stati Uniti sono analoghi nucleosidici che inibiscono le polimerasi virali.

Questi farmaci sono in genere attivati dalla fosforilazione da parte di chinasi cellulari o virali.

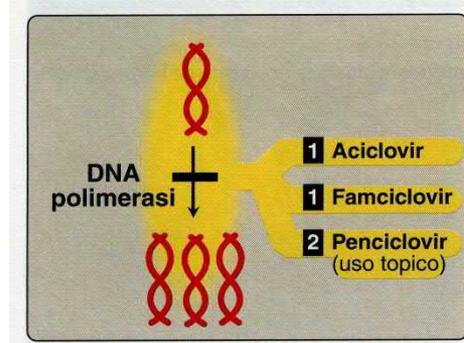
**TABELLA 50-2.** Alcune terapie con farmaci antivirali approvati dalla Food and Drug Administration degli Stati Uniti

Virus	Farmaco antivirale	Nome commerciale
Virus dell'Herpes simplex e virus della varicella-zoster	Aciclovir*	Zovirax
	Valaciclovir*	Valtrex
	Penciclovir	Denavir
	Famciclovir*	Famvir
	Iododeossipuridina (idossipuridina) <sup>†</sup>	Stoxil
	Trifluoridina	Viroptic
Citomegalovirus	Ganciclovir	Cytovene
	Valganciclovir	Valcyte
	Cidofovir	Vistide
	Fosfonoformato (foscarnet)	Foscavir
<b>Virus dell'immunodeficienza acquisita</b>		
Analoghi nucleosidici inibitori della trascrittasi inversa	Azidotimidina (zidovudina)	Retrovir
	Dideossinosina (didanosina)	Videx
	Dideossicitidina (zalcitabina)	Hivid
	Stavudina (d4T)	Zerit
	Lamivudina (3TC)	Epivir
	Inibitori non-nucleosidici della trascrittasi inversa	Nevirapina
Delavirdina		Rescriptor
Saquinavir		Invirase
Inibitori delle proteasi	Ritonavir	Norvir
	Indinavir	Crixivan
	Nelfinavir	Viracept
	Enfuvirtide	Fuzeon
Inibitore della fusione		
Virus dell'influenza A	Amantadina	Symmetrel
	Rimantadina	Flumadine
Virus dell'influenza A e B	Zanamivir	Relenza
	Osetamivir	Tamiflu
Virus dell'epatite B	Lamivudina	Epivir
	Adefovir dipivoxil	Hepsera
Virus dell'epatite C	Interferone- $\alpha$ + ribavirina	
Papillomavirus	Interferone- $\alpha$	
Virus respiratorio sinciziale, virus di Lassa	Ribavirina	Virazole
Picornavirus	Pleconaril	

\*Attivo anche contro il virus della varicella-zoster.  
<sup>†</sup>Solo per uso terapeutico.



**Figura 25.17**  
 Terapia farmacologica nelle infezioni da citomegalovirus.



**Figura 25.8**  
 Terapia farmacologica nell'infezione da herpes simplex.

## Meccanismo dell'azione selettiva di ACV su HSV e VZV:

1. fosforilazione specifica ad opera di una timidina chinasi (TKV) virale: la sola che è in grado di trasformare ACV in ACV-MP.

Sulla forma monofosforilata intervengono chinasi cellulari che formano ACV-TP

2. alta affinità per la DNA polimerasi virale
3. incorporazione di ACV-TP nella catena nascente di DNA virale e terminazione della catena di neosintesi (manca l' OH in 3' )
4. inattivazione selettiva, irreversibile, della DNA polimerasi virale

ACV in circolo ha emivita breve: sono stati sviluppati diversi derivati (es: valaciclovir e famciclovir) con maggiore biodisponibilità e stabilità.

Sviluppo di ceppi resistenti (mutazione nella Timidina Chinasi virale)

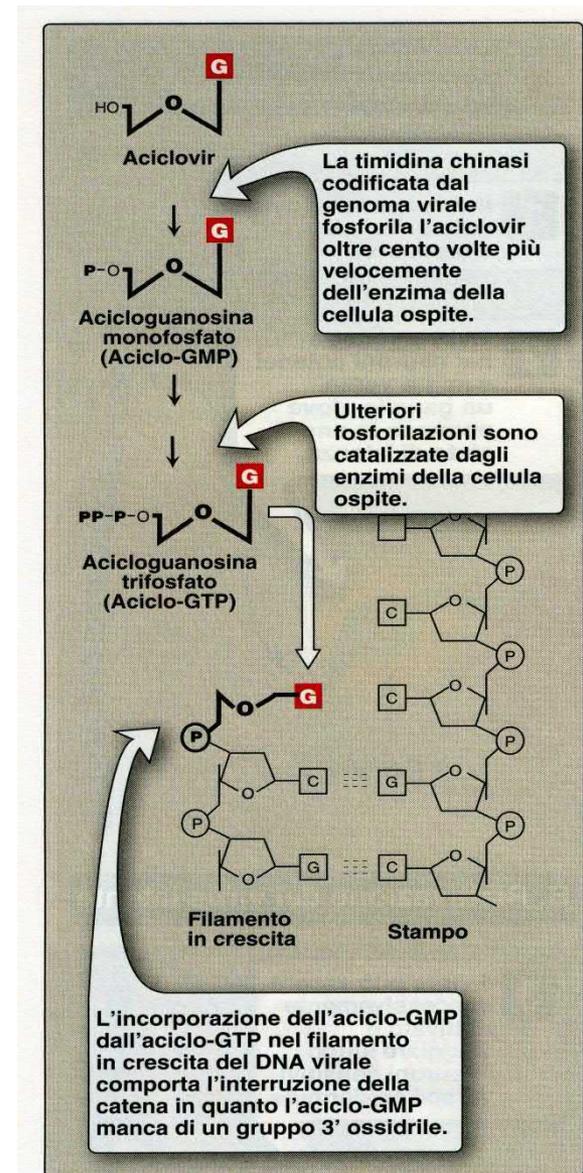
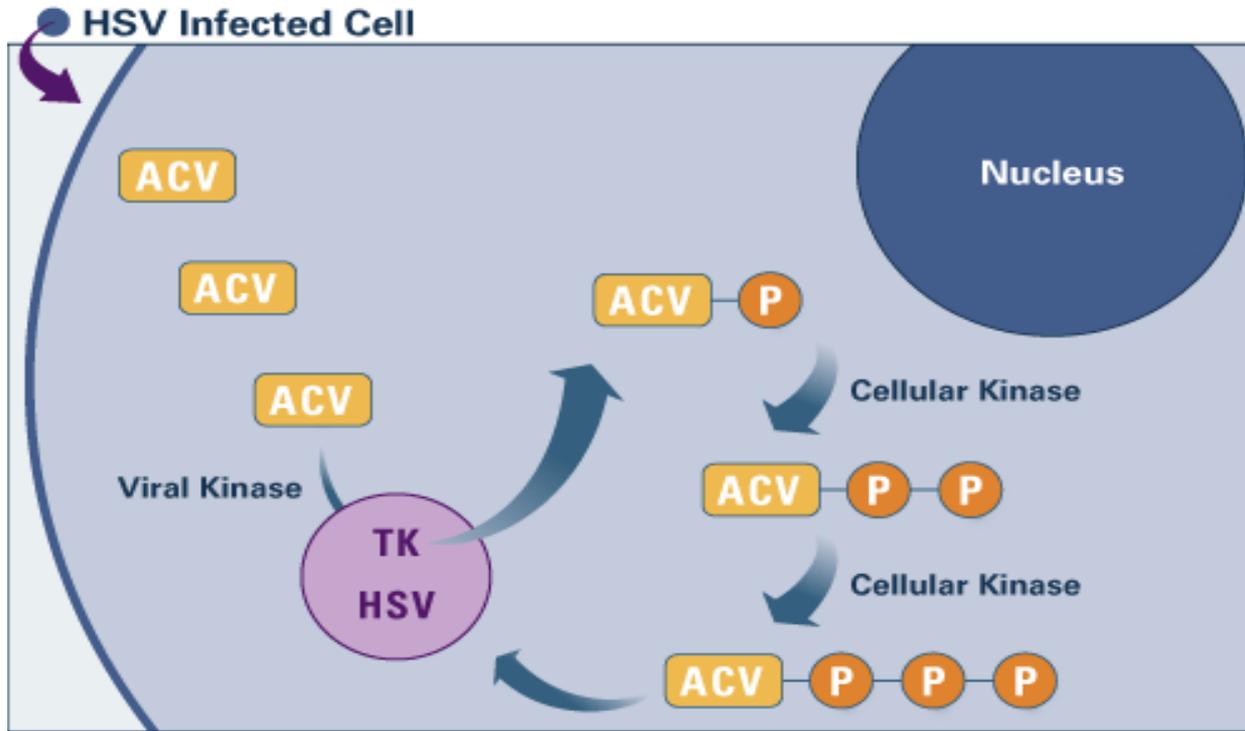


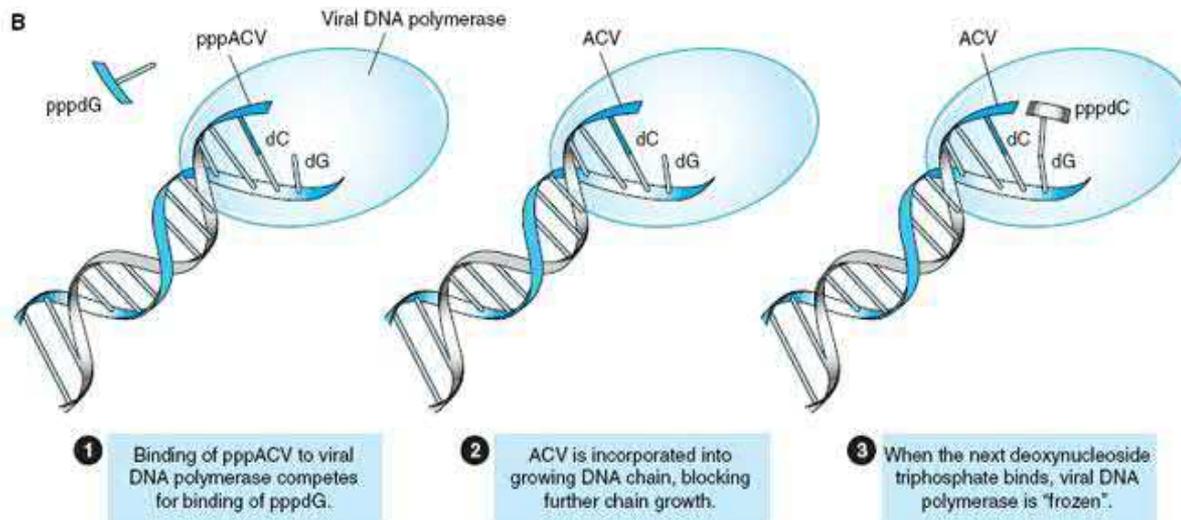
Figura 25.7  
Meccanismo d'azione dell'aciclovir.

# Inibizione replicazione



**Meccanismo d'azione di acyclovir**

Il farmaco è fosforilato dalla timidina chinasi del virus herpes simplex o varicella-zoster, formando ACV monofosfato. Enzimi cellulari intervengono sul monofosfato formando il trifosfato. L'ACV-ppp lega la citosina, con binding competitivo verso la guanina, viene incorporato nella catena nascente, rendendo impossibile l'elongazione (manca l'ossidrile necessario). La polimerasi viene inibita irreversibilmente quando tenta di elongare la catena nascente.



## NOTA BENE: Attività in vitro diversa da efficacia clinica

### DETERMINAZIONE DELL'EFFICACIA CLINICA DI UN FARMACO ANTIVIRALE

Molte sostanze mostrano attività antivirale "in vitro", ma poi si rivelano inapplicabili dal punto di vista terapeutico.

- Valutazione attività antivirale "in vitro":
  - su diversi tipi cellulari
  - con inoculi e isolamenti diversi
  - con diversi trattamenti (es. continuo/intermittente)
- Valutazione della tossicità cellulare; indice terapeutico
- Paragone con altri composti; studio del meccanismo d'azione.

## Studio in modelli animali:

- via di somministrazione: assorbimento e biodisponibilità
- farmacocinetica, escrezione, stabilità
- capacità di raggiungere l'organo bersaglio con concentrazioni adeguate
- tossicità e massima dose tollerata.



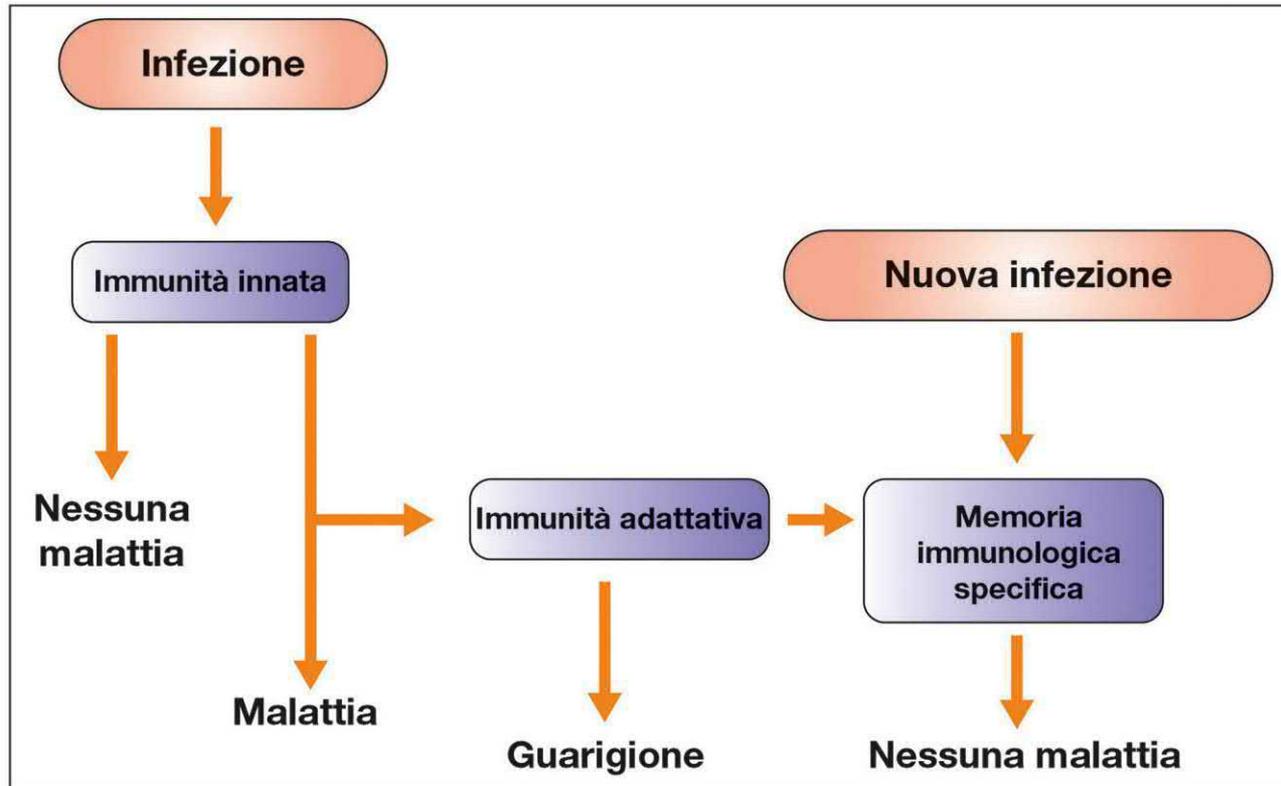
Pilot trials (fase 1)

Determinazione farmacocinetica, escrezione, tollerabilità, ecc. nell' uomo

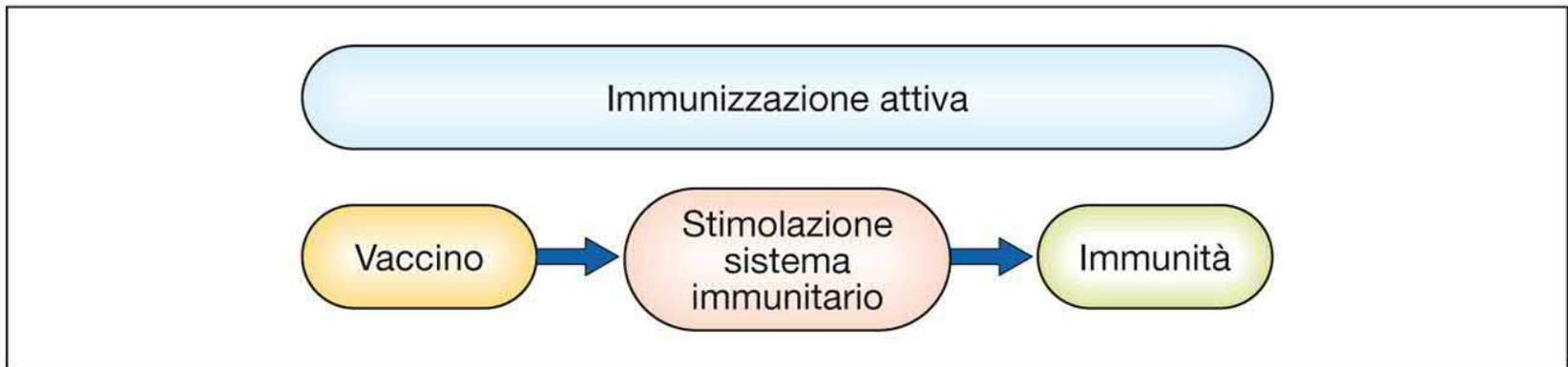


Trials clinici controllati, in doppio cieco

## Immunizzazione da infezione naturale



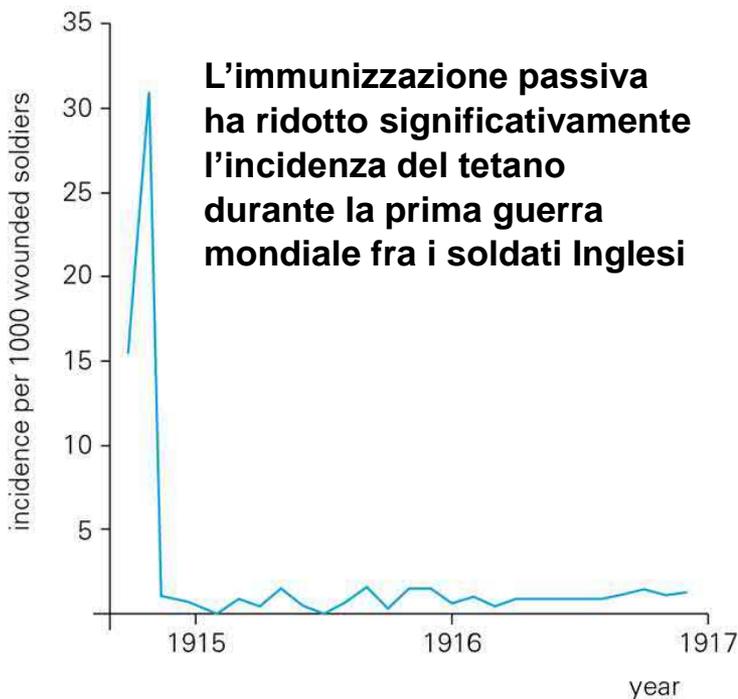
# Immunizzazione in seguito a vaccinazione



# Immunizzazione Passiva

Mediante sieri o anticorpi purificati. Si pratica a scopo terapeutico dopo l'esposizione all'agente patogeno, o in pazienti già malati; oppure a scopo protettivo (profilassi) in individui con alto rischio di infettarsi (es. turisti).

I neonati sono immunizzati passivamente, con gli anticorpi materni passati attraverso la placenta o presenti nel latte. Dura circa 6 mesi dalla nascita (a volte fino a 1 anno ).



SPECIFIC PASSIVE IMMUNOTHERAPY WITH ANTIBODY		
infection	source of antibody	indication
diphtheria	human, horse	prophylaxis, treatment
tetanus	human, horse	
varicella-zoster	human	treatment in immunodeficiencies
gas gangrene	horse	post exposure
botulism		
snake bite scorpion bite		
rabies	human	post-exposure (plus vaccine)
hepatitis B	human	post-exposure
hepatitis A	pooled human immunoglobulin	prophylaxis (travel)
measles		post-exposure

# Immunizzazione Attiva

***Vaccini Inattivati*** = prodotti trattando i microrganismi col calore o con agenti chimici. Rimane la capacità di stimolare la produzione di anticorpi, ma non quella di infettare.

***Vaccini vivi*** = con ceppi avirulenti o attenuati, che possono moltiplicarsi ma hanno perso la capacità di dare la malattia.

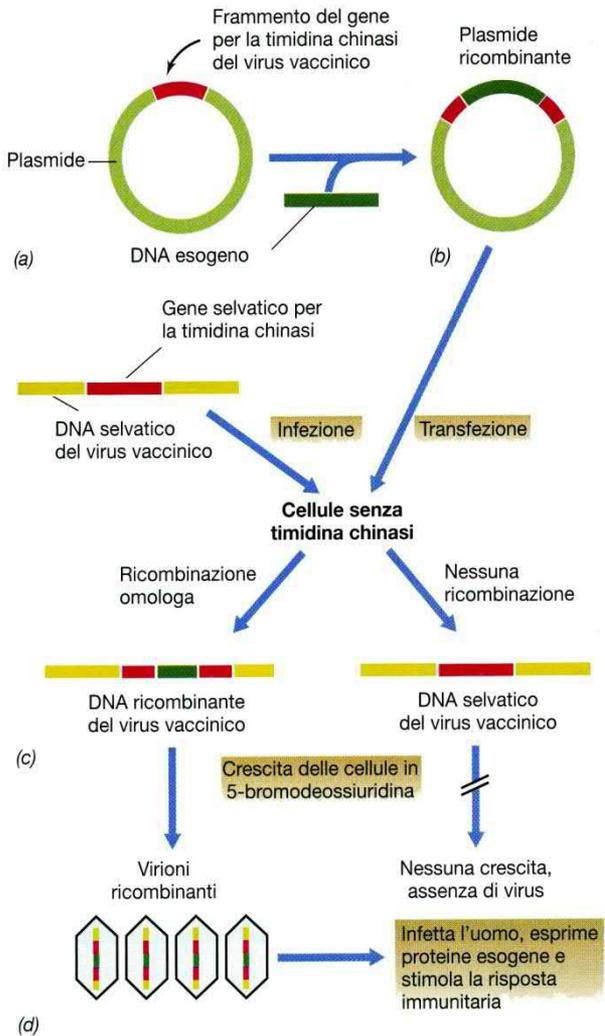
***Anatossine*** = esotossine modificate (es. con formaldeide a caldo per diversi giorni), che mantengono il potere antigene ma perdono il potere patogeno.

**Vaccini coniugati:** l'atg poco immunogeno del microrganismo viene coniugato (legato) a materiale proteico in modo da aumentare la risposta anticorpale.

***Vaccini ricombinanti*** = vaccini prodotti per ingegneria genetica. E' possibile eliminare dal patogeno i geni responsabili della virulenza lasciando quelli che inducono una risposta immunitaria (vaccino ricombinante vivo attenuato) o inserire in vettori virali non patogeni qualunque gene di un patogeno verso il quale si vuole ottenere immunità (vaccini polivalenti)

**Vaccini a subunità** = contengono una o più proteine immunogene del microrganismo patogeno

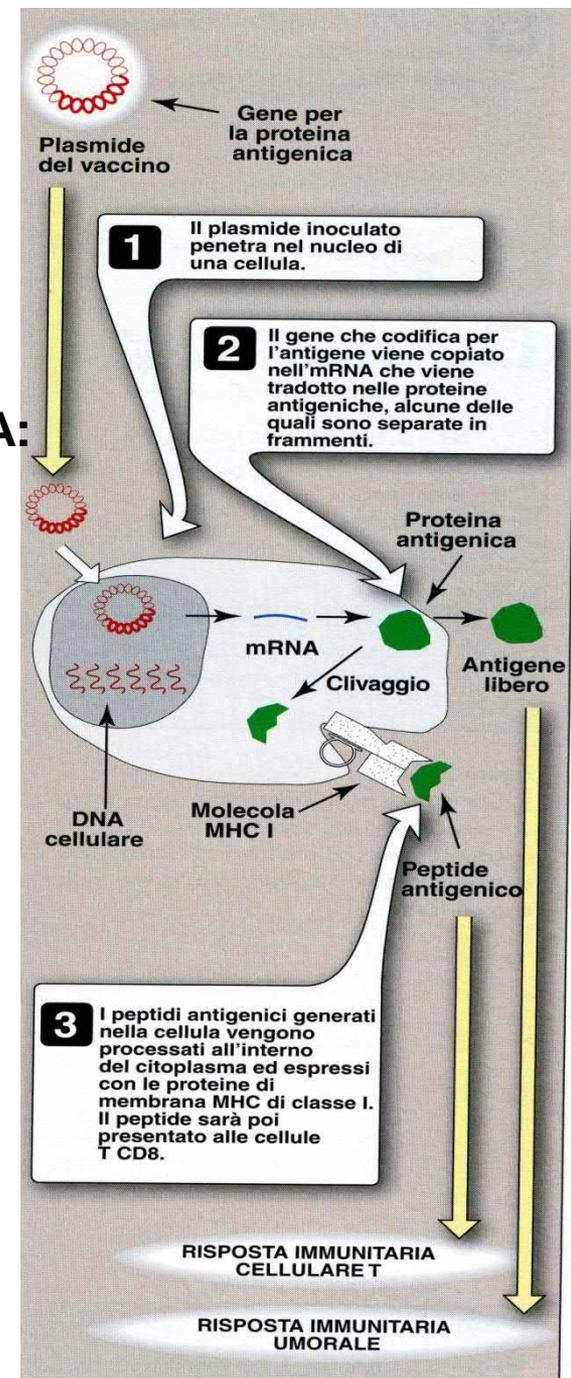
**Vaccini a DNA:** viene trasferito un gene codificante un Atg in particolari vettori che promuovono l'espressione nell'ospite di tale Atg inducendo una risposta immunitaria



• **Figura 15.12 Produzione e utilizzo del virus vaccinico ricombinante.** (a) Il DNA esogeno è clonato in un plasmide contenente un piccolo pezzo del gene per la timidina chinasi del virus vaccinico. (b) Il plasmide ricombinante completo. (c) Il plasmide ricombinante è quindi utilizzato per transfettare le cellule ospite già infettate con il virus vaccinico selvatico. Se avviene la ricombinazione, si ha produzione di DNA vaccinico ricombinante. (d) Le cellule sono quindi poste in presenza di 5-bromodeossiuridina, composto tossico per le cellule che hanno una timidina chinasi attiva. Solamente i virioni ricombinanti si svilupperanno in queste condizioni. Se i virioni vaccinico ricombinanti contengono geni per altre proteine del rivestimento virale, anche queste potrebbero essere espresse.

## Vaccini ricombinanti

## Vaccini a DNA:



# Vaccinazioni in Italia

Sono il mezzo più efficace e conveniente per prevenire le malattie infettive e le loro complicazioni. Stimolano l'organismo a produrre attivamente una risposta immunitaria e lo rendono capace di resistere, così, alle infezioni.

Con le vaccinazioni vengono evitati nel mondo, ogni anno, non meno di tre milioni di decessi nei bambini di età inferiore a 5 anni, ed almeno 400.000 casi di polio paralitica, malattia di cui è prossima la totale eliminazione in tutto il mondo, al pari di quanto già avvenuto per il vaiolo.

Questi traguardi sono stati raggiunti grazie al “Programma Esteso di Immunizzazione” (EPI), dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS). Anche l'Italia, come stato membro dell'OMS, ha aderito al programma EPI e ne segue le raccomandazioni.

Ecco il calendario delle vaccinazioni offerte attivamente e gratuitamente a tutta la popolazione.

Vaccino	Nascita	3° mese	5° mese	6° mese	11° mese	13° mese	15° mese	5-6 anni	11-18 anni	> 65 anni	Ogni 10 anni
Difterite-Tetano-Pertosse		DTPa	DTPa		DTPa			DTPa <sup>1</sup>	dTpa		dT <sup>2</sup>
Poliomielite		IPV	IPV		IPV			IPV			
Epatite B	HBV <sup>3</sup>	HBV	HBV		HBV						
Haemophilus Influenzae b		Hib	Hib		Hib						
Morbillo-Parotite-Rosolia						MPR		MPR	MPR <sup>4</sup>		
Pneumococco		PCV	PCV		PCV						
Meningococco C						Men C <sup>5</sup>			Men C <sup>5</sup>		
Infezione papillomavirus umano									HPV <sup>6</sup> (2 o 3 dosi)		
Influenza										Influenza	
Varicella									Var <sup>7</sup> (2 dosi)		



## Vaiolo



**Testi Indù del 1000 a.C.  
descrivono unguenti per la sua  
cura**

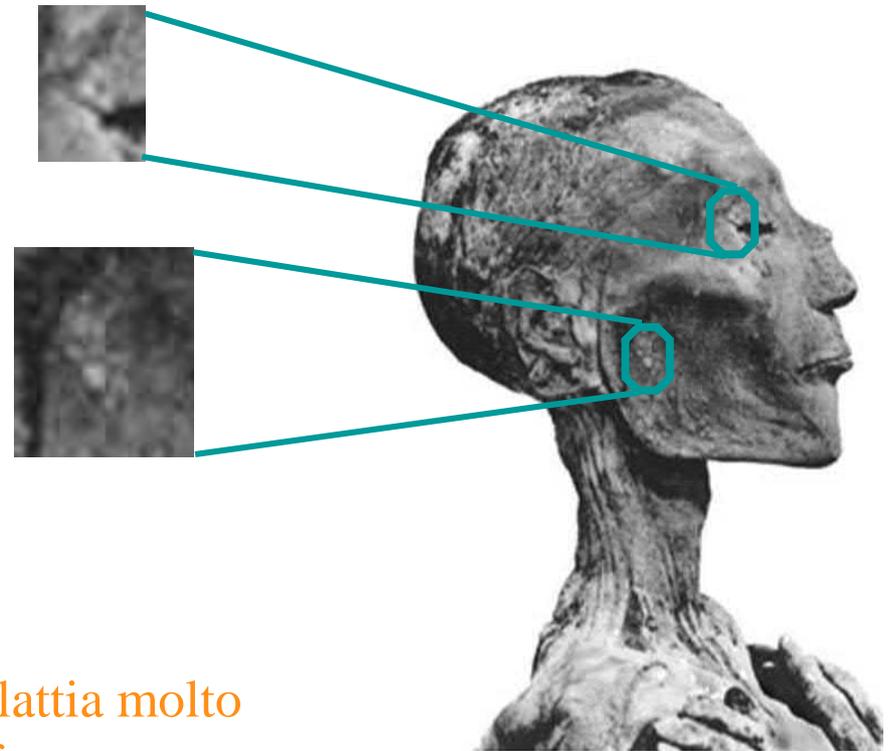
**Europa: prime epidemie nel 700  
d.C.**

**1520: 3.5 milioni di Atzechi  
morirono di vaiolo in due anni**

**nel 1700 il 25% di tutti i bambini  
in Inghilterra moriva di vaiolo**

**N. America, 1763; utilizzato  
come arma biologica contro gli  
Indiani**

**nel 1950 in India più di 41.000  
persone morte di vaiolo**



**Malattia molto  
diffusa e grave,  
presente già  
nell'Antico Egitto**

**Mummia di Ramsete  
V - 1157 a.C.**

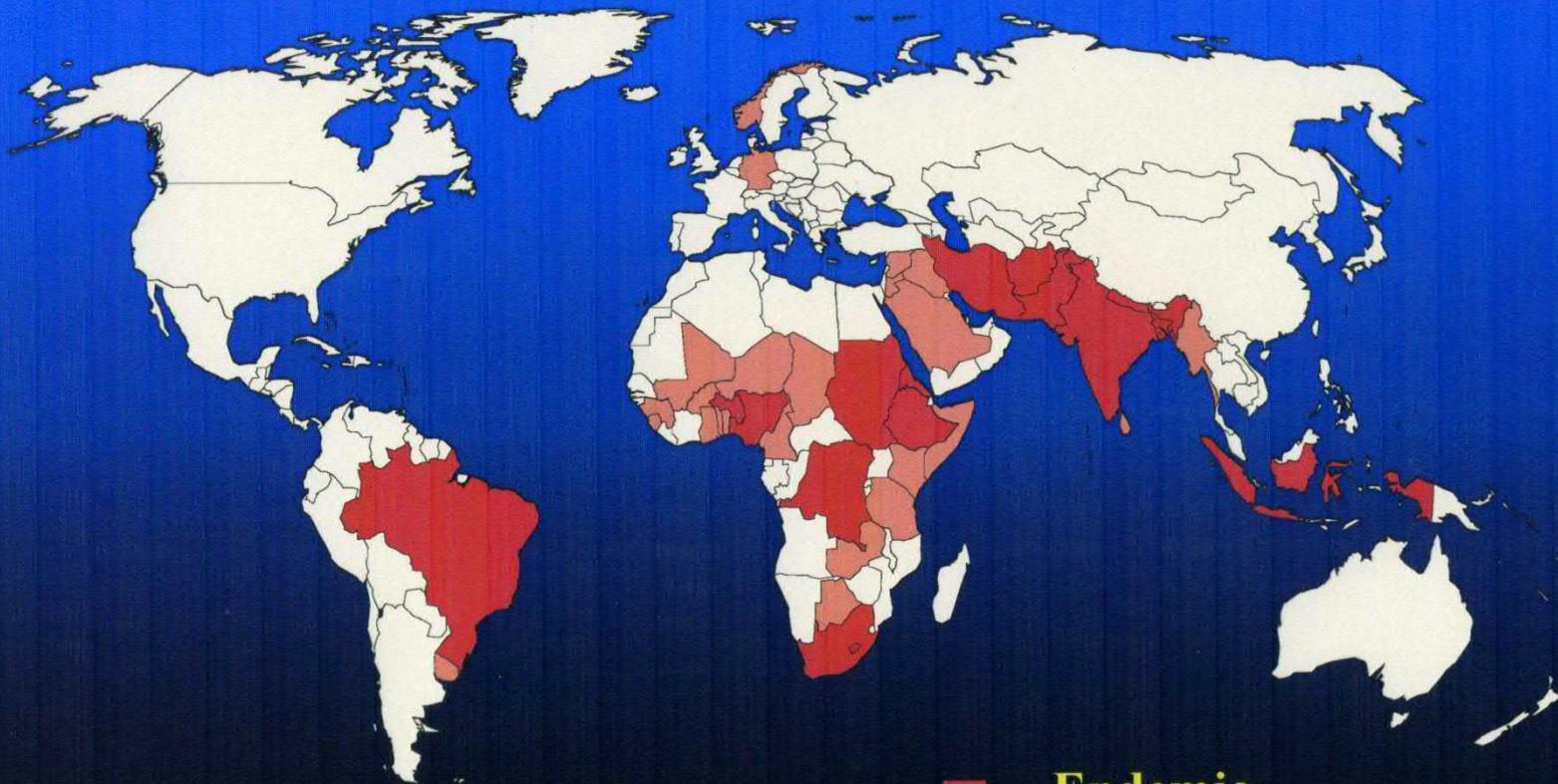
**Disponibile un vaccino  
efficace, scoperto da Jenner  
(1796).**



**Nel 1965 l'OMS ha lanciato la campagna di eradicazione.  
Somalia, Ottobre 1977: ultimo caso registrato di infezione  
naturale  
Inghilterra, 1978: 2 casi in laboratori, 2 morti**

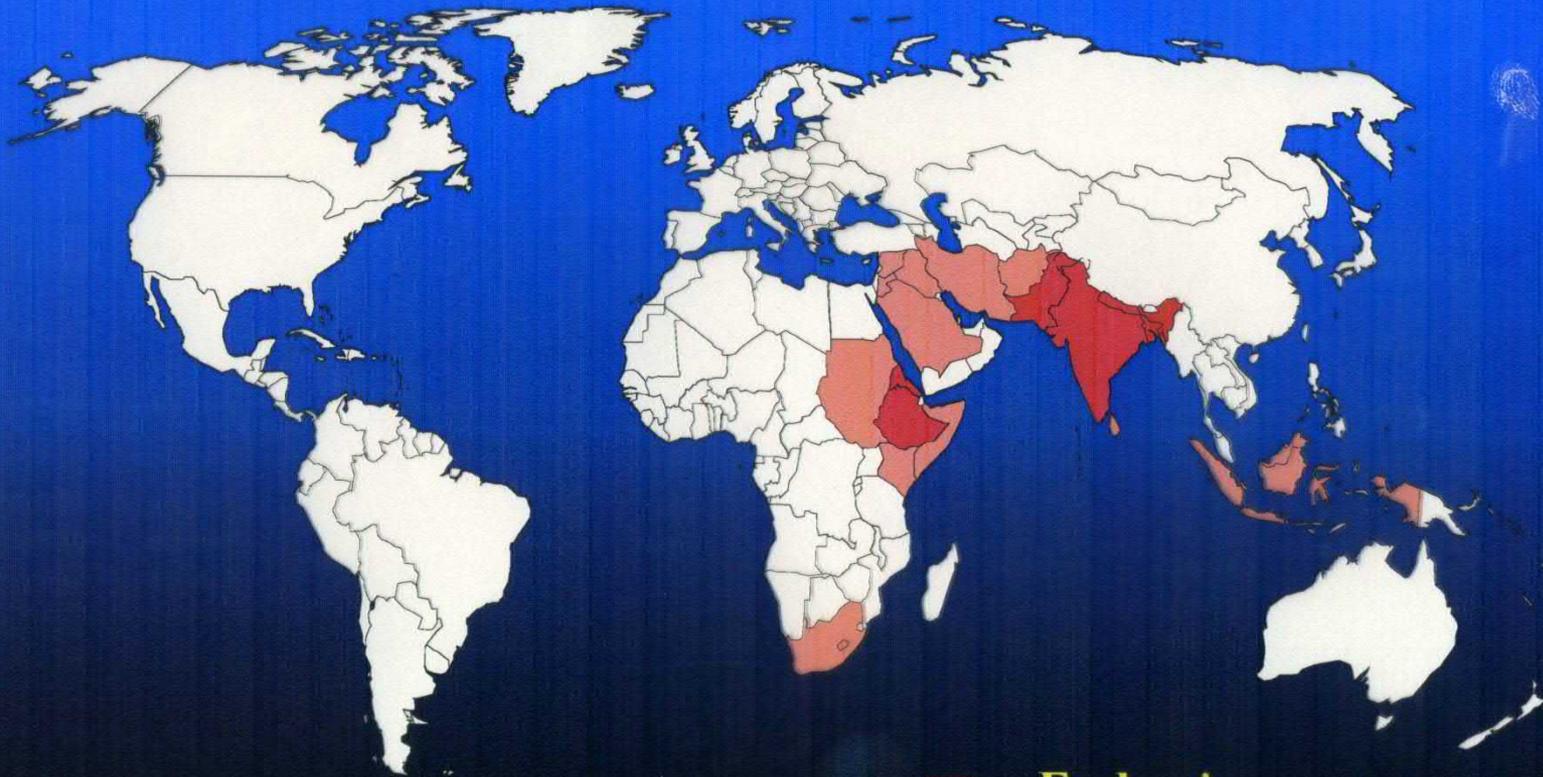
**1980: dichiarazione ufficiale di eradicazione  
La malattia del vaiolo non esiste più!!**

# SMALLPOX 1968



■ Endemic  
■ Sporadic

# SMALLPOX 1972



 Endemic  
 Sporadic

# SMALLPOX 1976-1977



■ Endemic  
■ Sporadic

# SMALLPOX 1978



# Poliomielite



## Malattia antica

## Due diversi tipi di vaccini

### Eradicazione in corso

1988: 350,000 casi

1998: 35000 casi

2000: 702 casi

2001: 475 casi

2002: 1918 casi

2003: 784 casi

2004: 1255 casi

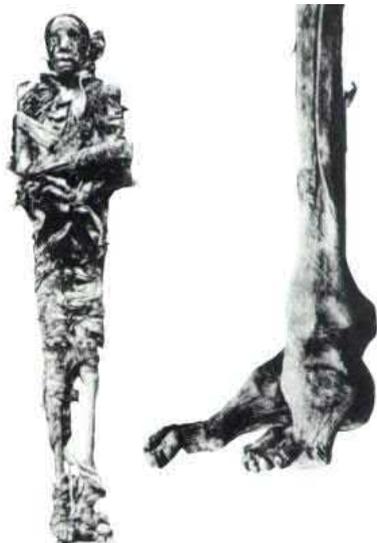
2005: 1979 casi

2006: 1997 casi

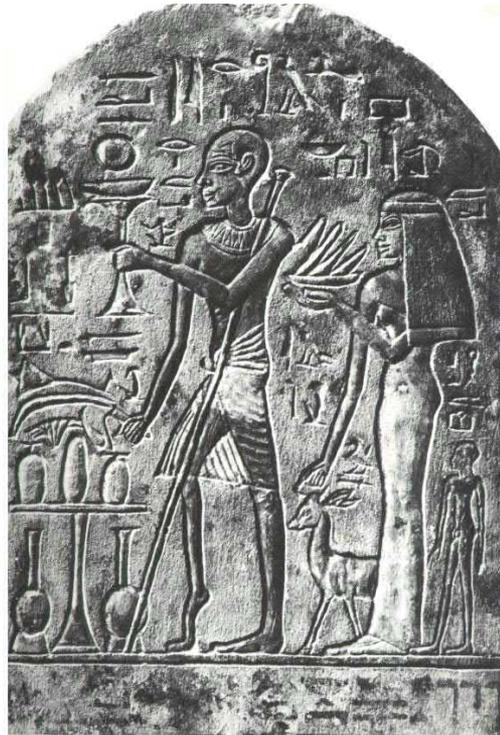
2007: 1315 casi

2008: 1651 casi

2009: 1604 casi



Mummy and clubfoot of 19th Dynasty  
Pharaoh Siptah (c. 1300 B.C.)



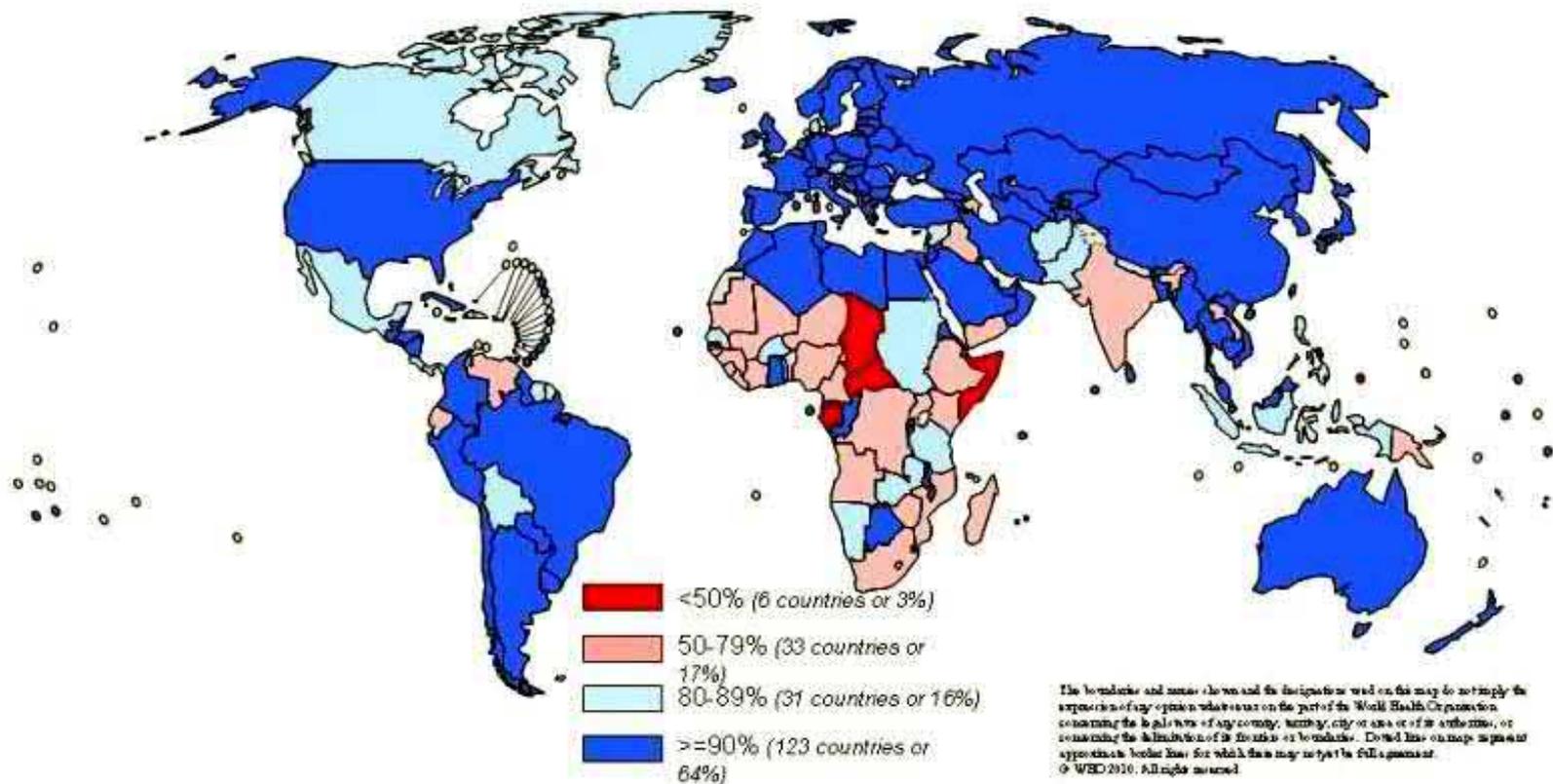
Young man with withered leg characteristic  
of polio (c. 1580-1350 B.C., 18th dynasty)

Dagli anni Settanta in poi, il programma di vaccinazione è stato esteso in tutto il mondo con l'obiettivo di controllare la diffusione della polio anche nei Paesi in via di sviluppo. Oggi la polio è endemica solo in 4 Paesi in tutto il mondo: Afghanistan, India, Nigeria e Pakistan.

Nel 1994, il continente americano è stato dichiarato *polio free*, cioè libero da poliomielite, grazie all'attività della Pan American Health Organization (Paho), seguito dalla Regione del Pacifico occidentale nel 2000 e dall'Europa nel giugno 2002. Nel 2010 tuttavia un'epidemia in Tajikistan ha rimesso in discussione lo status "polio free" della Regione europea dell'Organizzazione mondiale della sanità. Infatti, un Paese con una trasmissione indigena di polio resta "*polio free*" se nei sei mesi successivi all'ultimo caso non vi sono più casi; quindi, se questo avviene, a marzo 2011 si potrà confermare lo stato di polio free per l'Europa.

Pur riconoscendo i progressi sostanziali ottenuti dalla *Global Polio Eradication Initiative* negli ultimi 12 mesi, in particolare nel Nord della Nigeria, nel Nord dell'India e in molti Paesi sede di re-introduzione virale, il Sage ha ricordato le persistenti lacune esistenti in molti dei programmi subnazionali. Secondo il Sage, tra i principali ostacoli alla piena attuazione del Piano strategico 2010-2012, il finanziamento insufficiente costituisce la minaccia più grande alla buona riuscita degli sforzi globali. Ha quindi sollecitato una mobilitazione urgente per raccogliere i fondi mancanti per finanziare le attività di eradicazione della polio per il periodo 2010-2012: **1,4 miliardi di dollari**.

# Immunization coverage with 3<sup>rd</sup> dose of polio vaccines in infants, 2009





# West Nile Virus

Nella tarda estate del 1999, a New York si è verificata una limitata epidemia di encefalite umana, in corrispondenza di un periodo di elevata mortalità di uccelli selvatici (soprattutto corvi). Dagli uccelli morti, dai casi umani e da zanzare è stato isolato un *Flavivirus* – *il Virus West Nile*.

**1999: 62 casi umani di malattia, con 7 morti; si stima che circa 1000 persone siano state infettate (asintomatiche).**

**2000: 21 casi umani, 2 morti.**

**2001: 66 casi umani, 9 morti.**

**2002: 4156 casi umani, 284 morti.**

**2003: 9862 casi umani, 264 morti.**

**2005: 3000 casi umani, 119 morti**

**2006 (Ott): 3498 casi, 108 morti**

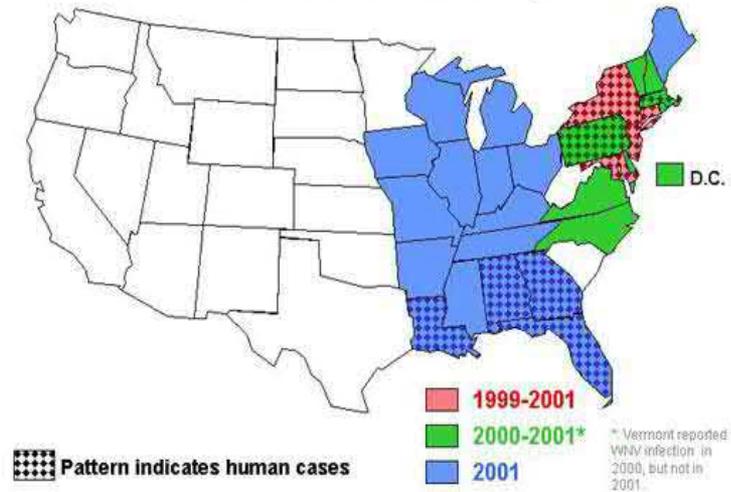
Nel 2006 sono stati trovati 273 donatori di sangue *viremici* (= *infettati, asintomatici, in grado di passare l'infezione*)

L'analisi filogenetica ha mostrato una stretta omologia con un ceppo del Mediterraneo. Indagini epidemiologiche hanno mostrato la diffusione dell'infezione negli uccelli, e l'infezione si è diffusa rapidamente.



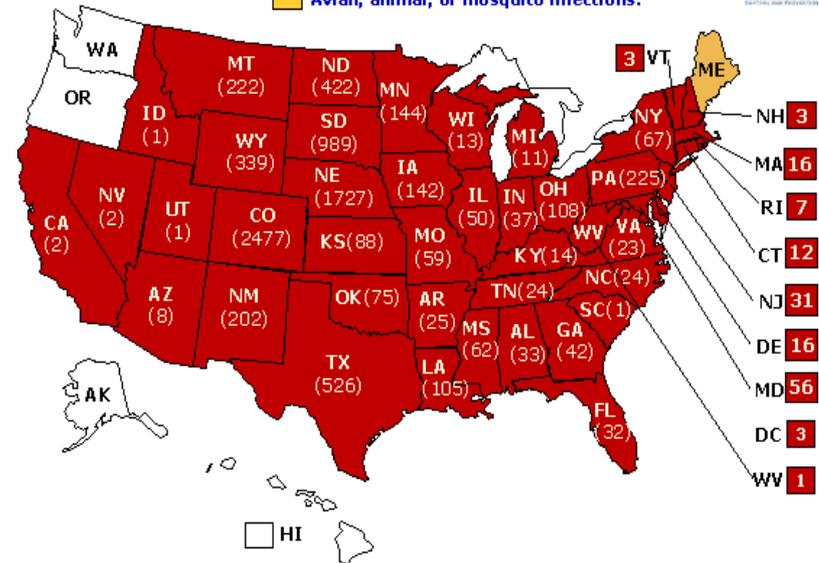
# Diffusione dell'infezione da virus West Nile

West Nile Virus in the United States, 1999-2001



1999 - 2001

# Indicates human disease case(s).  
■ Avian, animal, or mosquito infections.



2003

## Virus West Nile è presente anche in Europa

**Romania, 1996:** 339 infezioni umane, 17 morti

**Toscana, tarda estate 1998:** 6 casi di infezione in cavalli, a Pistoia, Lucca, Pisa e Firenze, ma probabilmente altre decine di casi non sono stati riportati.

Probabilmente introdotto da uccelli migratori, perché molto simile a ceppi presenti in Nord Africa.

**Francia, Settembre 2000:** circa 200 cavalli infettati e 54 cavalli morti, virus isolato anche da zanzare. **Settembre 2004:** 37 cavalli infettati, 4 morti.

*Nessun caso umano*

**Russia, estate 2005:** 150 casi umani, 35 morti

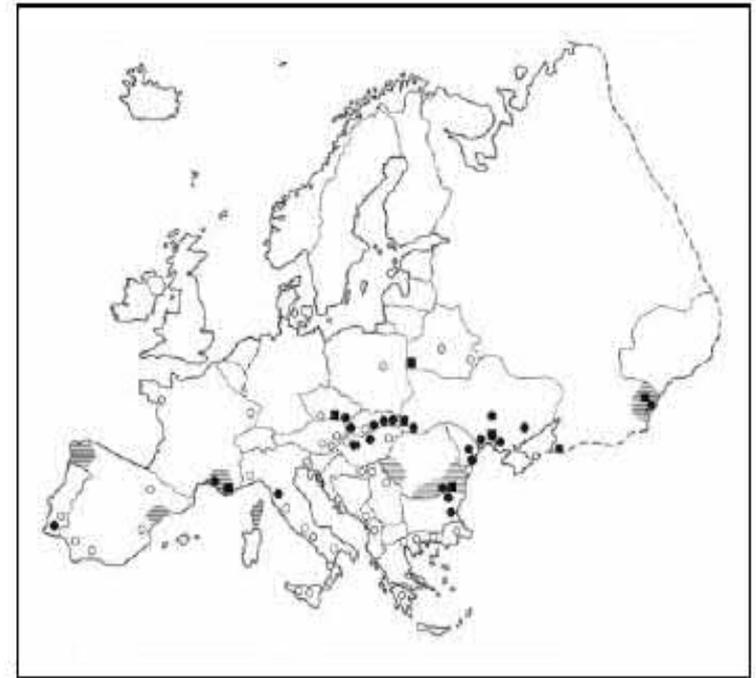
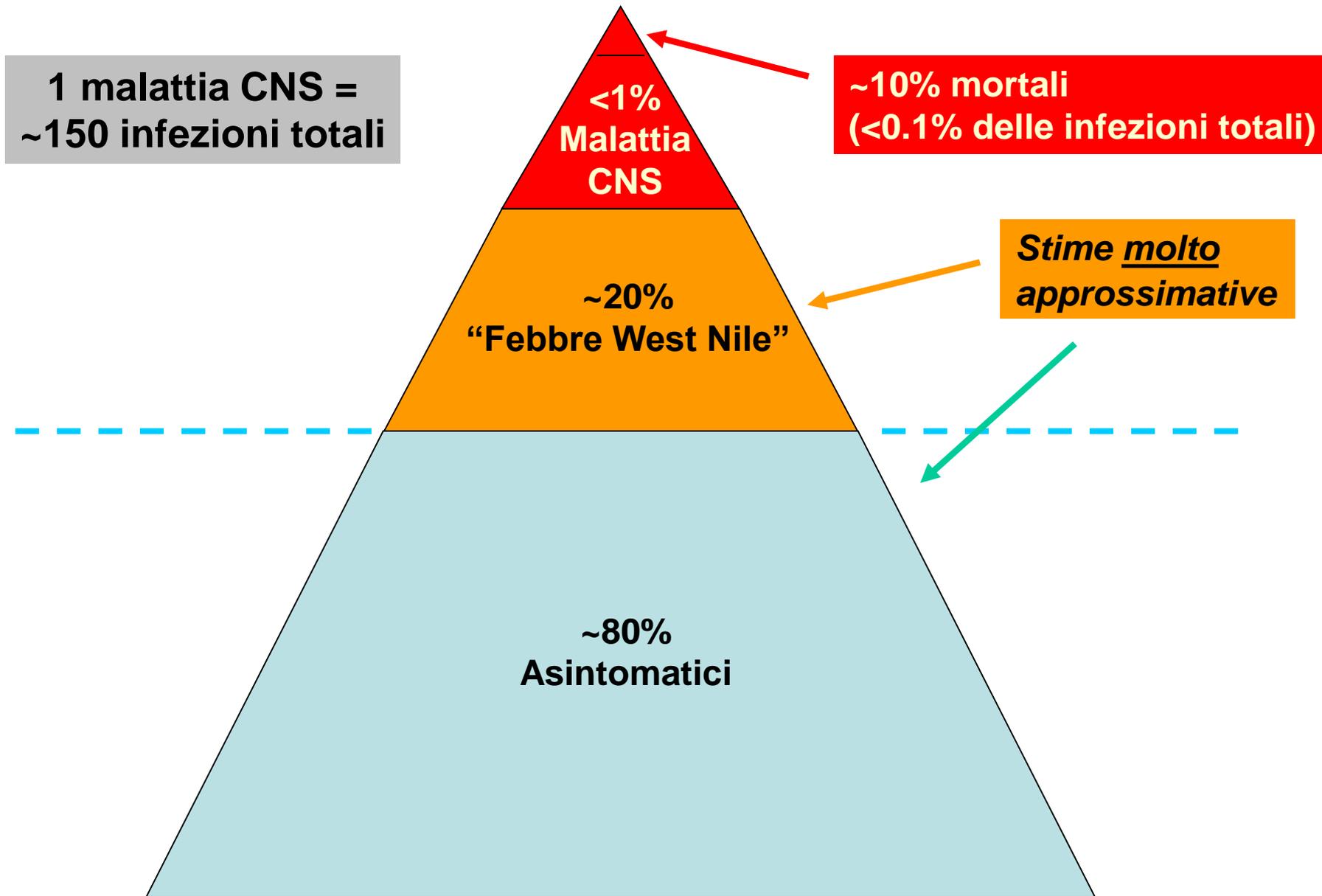
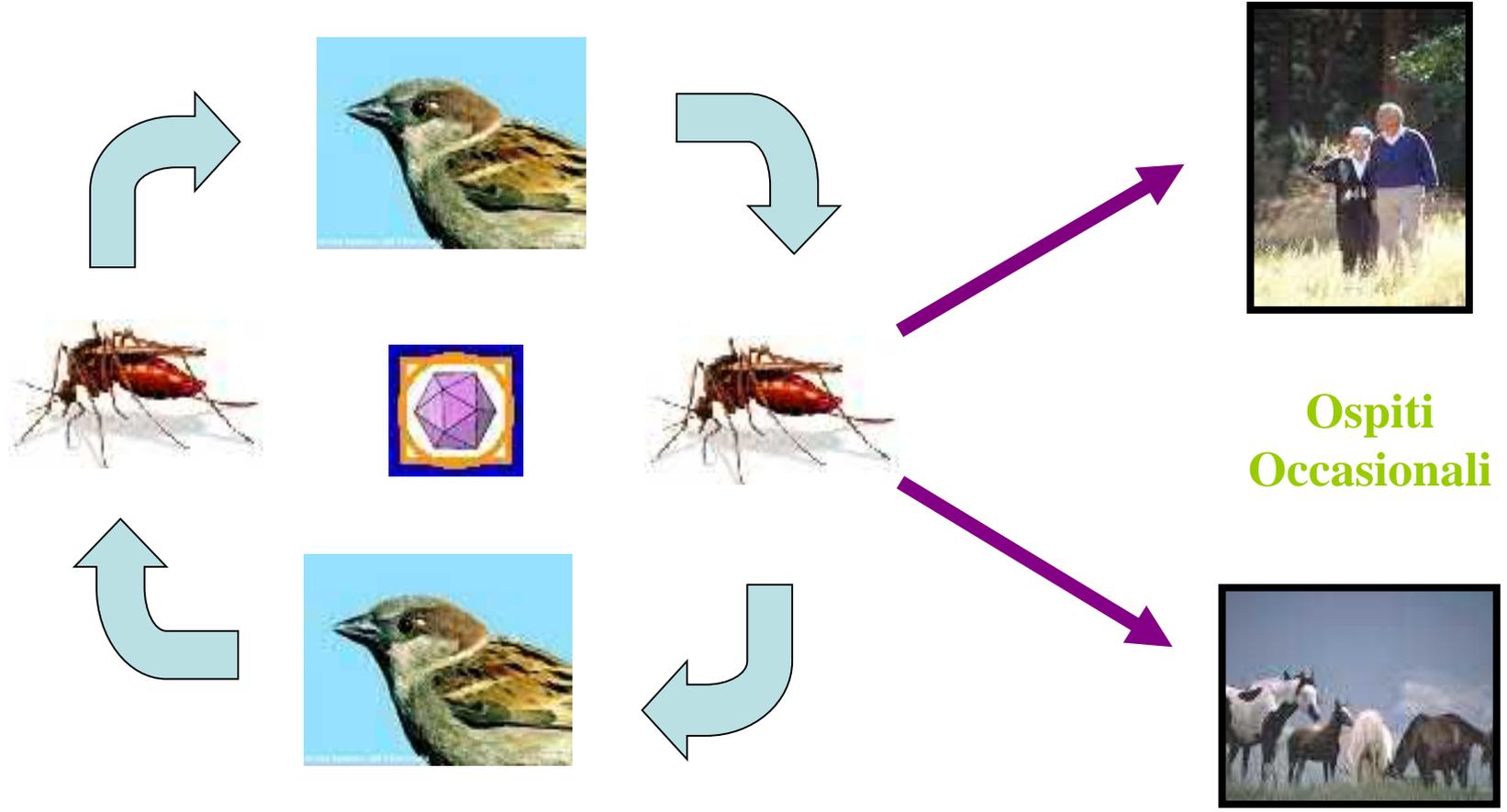


Figure. European distribution of West Nile virus, based on the virus isolation from mosquitoes or vertebrates, including humans (black dots), laboratory-confirmed human or equine cases of West Nile fever (black squares), and presence of antibodies in vertebrates (circles and hatched areas).

# Infezione da West Nile: la punta dell'Iceberg



# Trasmissione del Virus West Nile

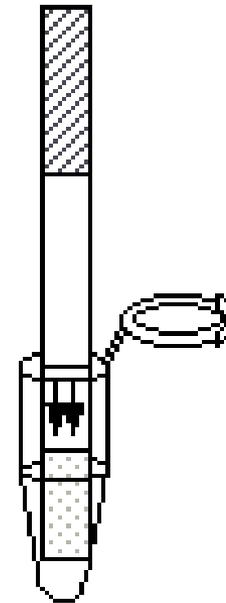


**Ospiti  
Occasionali**

**Riserva Animale**



VecTest strip



Control  
SLE  
WNV

15 min



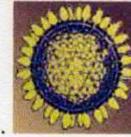
250  $\mu$ l mosquito  
pool suspension

## Galline “Sentinella” per Virus West Nile



**Importanza della prevenzione!!**

## Il virus Chikungunya (CHIKV) e la diagnosi di infezione



Virus della famiglia TOGAVIRIDAE, trasmesso mediante la puntura di artropodi ematofagi. Sferico, di 70 nm, con envelope lipoproteico e genoma monometrico (+) non segmentato, infettante, composto da 11824 nucleotidi la cui sequenza è stata completamente sequenziata.



Il virus circola in Africa e in Asia dagli anni 50 ed è trasmesso da vari artropodi ematofagi tra cui *Aedes albopictus*, ovvero la zanzara tigre. Questa zanzara, grazie alle sue capacità di vivere e riprodursi in situazioni climatiche ed ambientali molto diverse e nonostante la sua capacità di volo limitata, si è diffusa in gran parte dell' Oriente, l' Oceano Pacifico, le isole dell' Oceano Indiano, le Americhe, buona parte del continente Africano e il sud Europa.

La trasmissione di CHIKV attraverso la puntura di zanzara infetta viene seguita da un periodo di incubazione di 2-12 giorni. Nell' 80% dei casi circa, segue la fase clinicamente evidente:

- Esordio acuto
- Febbri alte e dolori articolari
- Spesso mialgie, edemi, eruzioni cutanee
- Le artralgie possono essere invalidanti per periodi lunghi

Non esiste vaccino o terapia specifica e l' unica prevenzione è evitare la puntura delle zanzare.

**La prima epidemia** da CHIKV in Europa è quella avvenuta in Romagna tra luglio e settembre 2007. Nelle province di Ravenna, Rimini, Forlì-Cesena e Bologna si sono avuti 247 casi di trasmissione locale del virus mediata dalla zanzara tigre. Il focolaio epidemico è originato da un indiano immigrato regolare nel nostro Paese, rientrato, durante la fase viremica, in Italia dopo un soggiorno in India. A causa dell' alta concentrazione di zanzare, l'epidemia ha avuto inizio e si è sviluppata, seppur in modo limitato grazie agli interventi di contenimento attuati dalla sanità Pubblica regionale, fino alla fine di settembre 2007.

**Il CRREM** – Centro di Riferimento regionale per le Emergenze Microbiologiche – dell'U.O. Microbiologia ha subito operato ai fini diagnostici per identificare i casi di infezione. Nell'arco di tre mesi sono state eseguite più di 600 diagnosi sierologiche e virologiche. Attualmente il CRREM offre test diagnostici che permettono la definizione del caso entro 12 ore dall'arrivo del campione. In particolare test sierologici di immunofluorescenza e immunoenzimatica e virologici di PCR (su 2 diversi target genomici) e di isolamento del virus su monostrati cellulari.

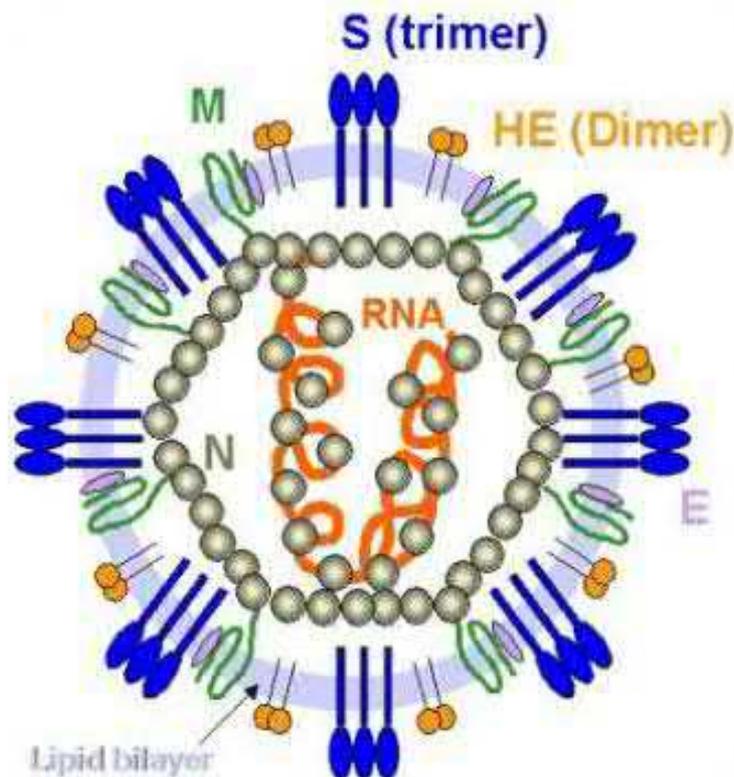
I materiali patologici su cui si esegue la diagnosi di laboratorio sono il siero e il plasma e la scelta dell'approccio diagnostico da usare dipende dai tempi in cui il prelievo viene eseguito in relazione alla comparsa dei sintomi (precoce: approccio virologico, tardivo: approccio sierologico).

# SARS

La SARS (Sindrome Respiratoria Acuta Grave) è una malattia infettiva acuta che interessa prevalentemente l'apparato respiratorio presentandosi come una polmonite atipica. La causa della SARS è un nuovo tipo di virus, SARS-CoV, che appartiene alla famiglia dei Coronavirus. Generalmente la malattia si manifesta dopo un periodo di incubazione di 2-7 giorni, massimo 10 giorni, con febbre superiore a 38°C, tosse secca e difficoltà respiratorie. A volte si associano brividi o altri sintomi che includono cefalea, dolori muscolari e senso di spossatezza. Nel 10-20 per cento dei casi i pazienti possono andare incontro ad un aggravamento dei sintomi respiratori tale da richiedere la ventilazione assistita.

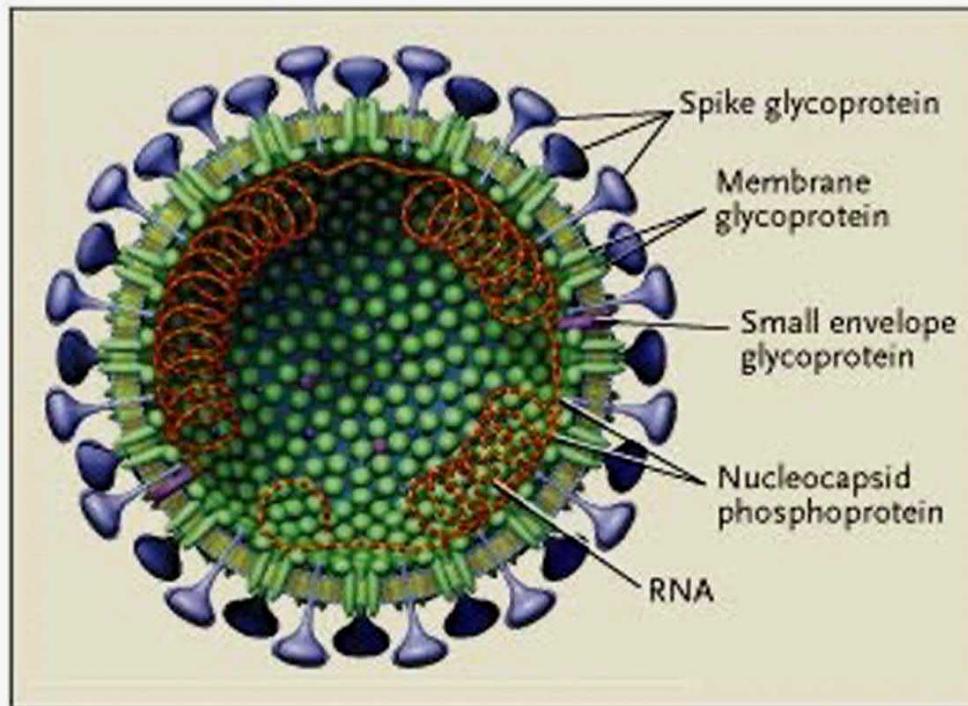
# SARS belongs to Corona virus

- Coronaviruses are positive-strand, enveloped RNA viruses that are important pathogens of mammals and birds. This group of viruses cause enteric or respiratory tract infections in a variety of animals including humans, livestock and



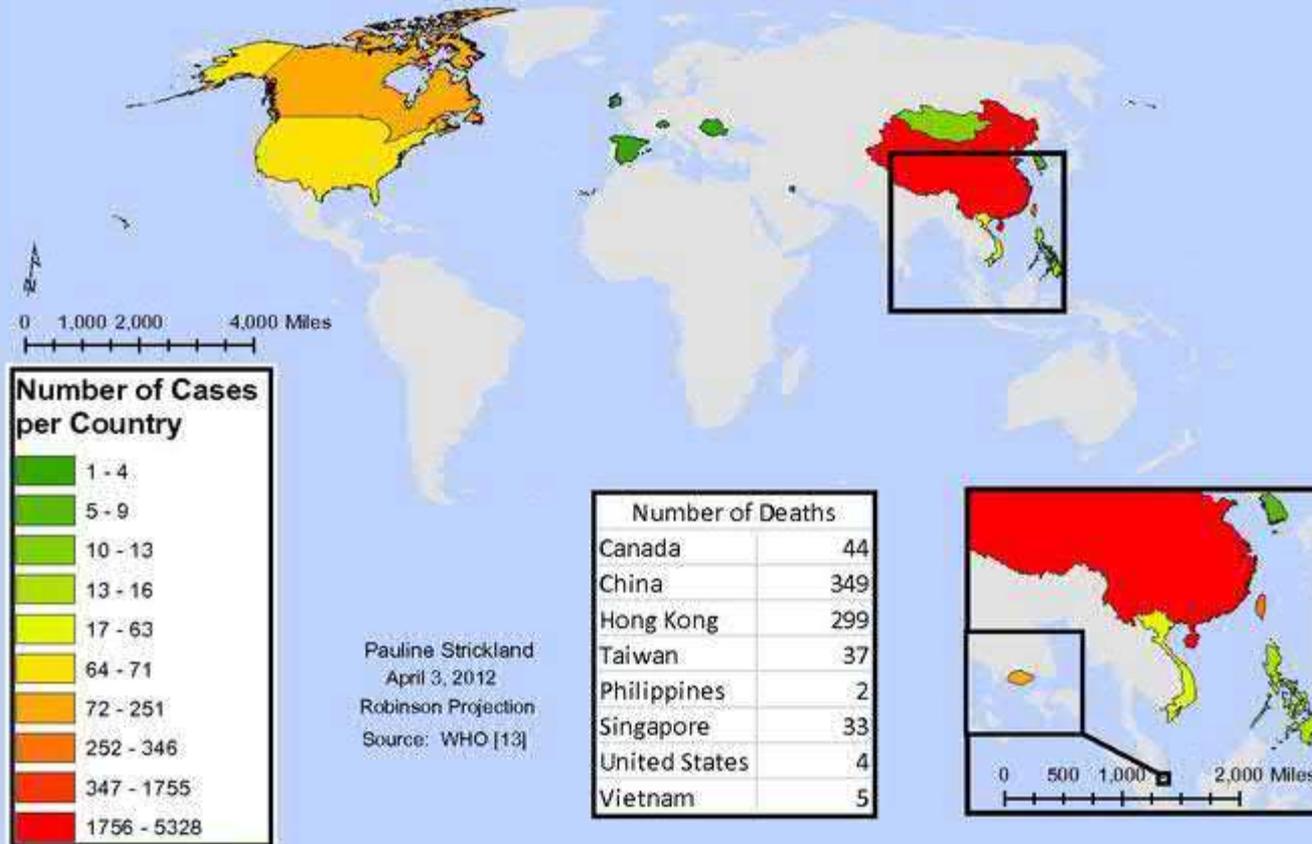
Individuata nella regione cinese di Guandong, dove sono stati registrati i primi casi a partire dal novembre 2002.

**Schematic drawing of SARS coronavirus**



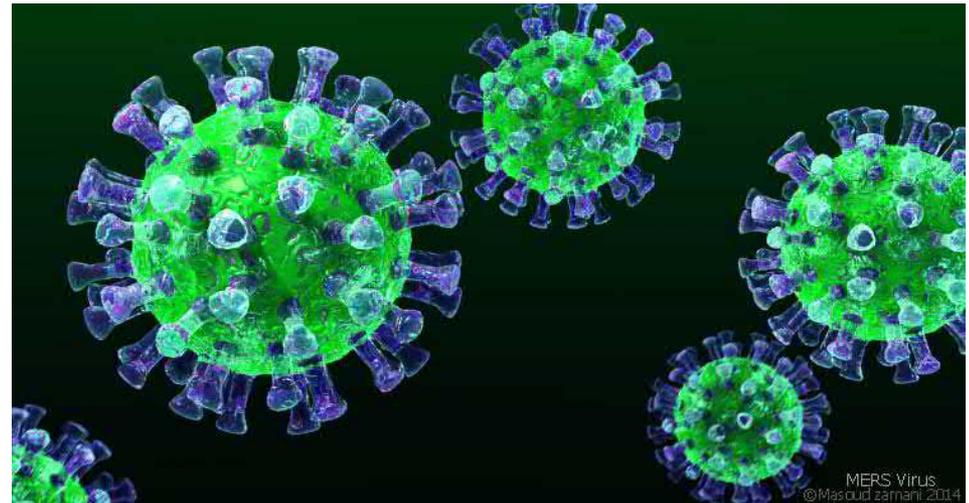
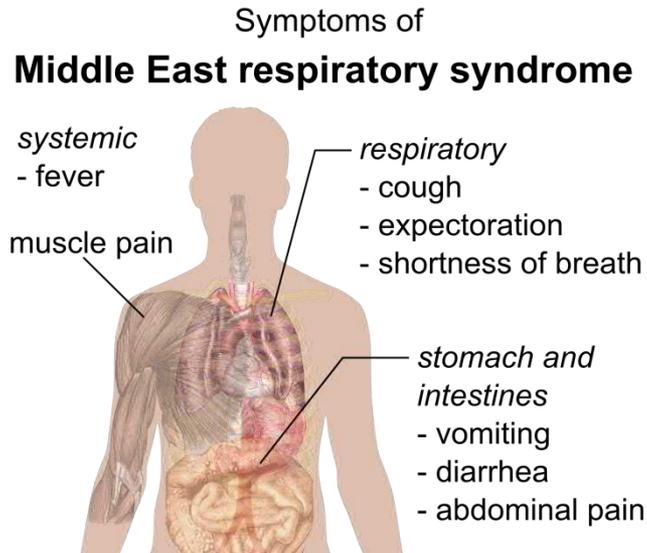
Source: Drazen JM<sup>14</sup>

## SARS CASES AND DEATHS

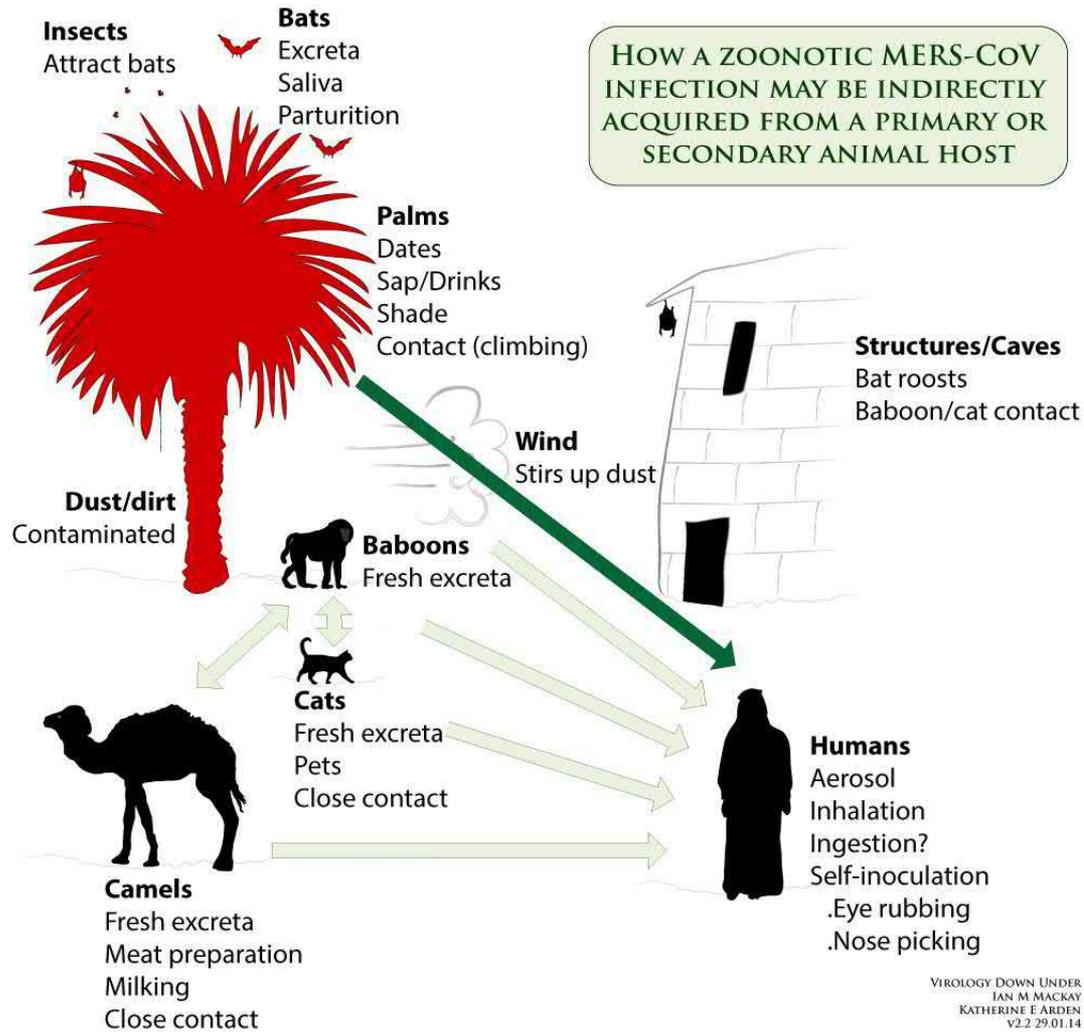


# MERS

Dal 2004 in poi non sono stati documentati casi di trasmissione fino ad oggi, nel 2013, quando purtroppo sono stati segnalati nuovi casi in Arabia Saudita (il nome corretto dell'attuale forma è *MERS*, acronimo di Middle East Respiratory Syndrome); è notizia del 28 maggio 2013 della prima morte in Francia.



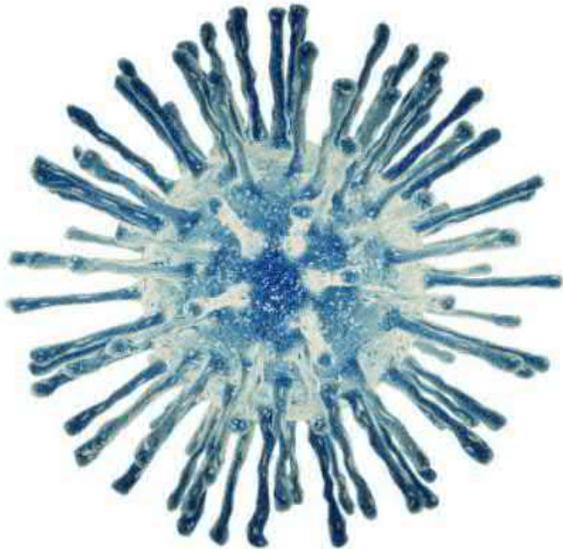
**HOW A ZONOTIC MERS-COV INFECTION MAY BE INDIRECTLY ACQUIRED FROM A PRIMARY OR SECONDARY ANIMAL HOST**



# Virus WIV1-Cov

Simile a SARS

virus nei pipistrelli a ferro di cavallo si è replicato rapidamente nelle colture di tessuti delle vie aeree umane, caratteristica che fa supporre la capacità di questo nuovo virus di colpire direttamente gli esseri umani.



# Zika virus

Il virus Zika (ZIKV) è un virus a RNA della famiglia Flaviviridae, genere Flavivirus, gruppo Spondweni, specie *Zika*, isolato per la prima volta nel 1947 da un primate in Uganda,<sup>[2]</sup> nella Foresta Zika, una riserva naturale vicino Entebbe.<sup>[3]</sup> Negli ultimi anni la malattia si è poi diffusa in tutti i continenti, Europa inclusa.<sup>[4]</sup>

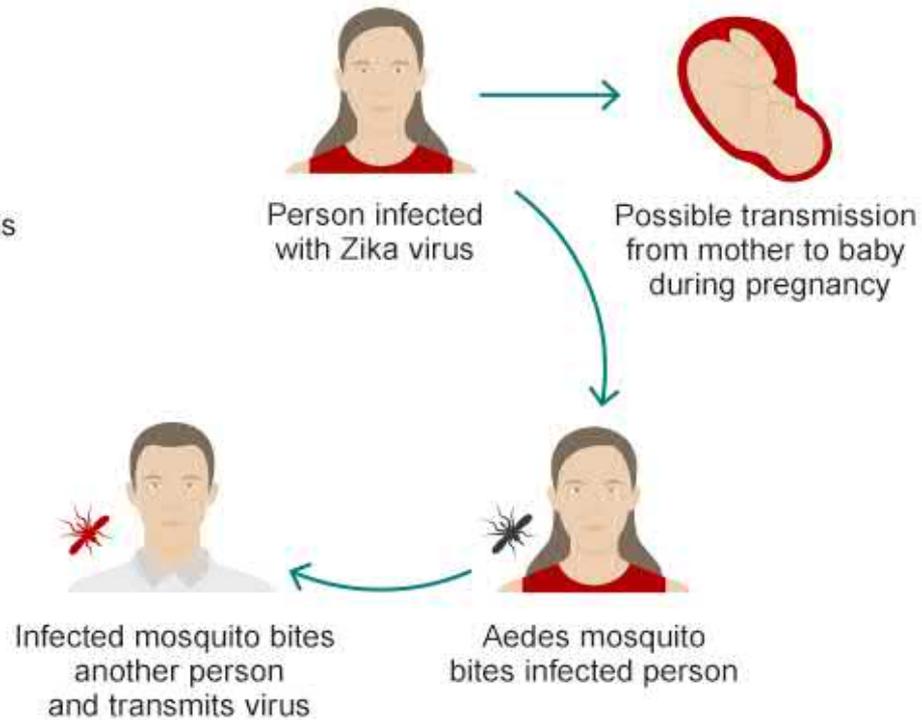
Negli esseri umani provoca una malattia nota come "zika" o febbre Zika. Il virus è strettamente correlato a quelli che provocano la dengue, la febbre gialla, l'encefalite del Nilo occidentale e l'encefalite giapponese, tutti trasmessi principalmente da punture di insetto e pertanto definiti arbovirus.<sup>[5]</sup>

Esso è trasmesso da numerose zanzare del genere Aedes, negli ambienti equatoriali soprattutto la Aedes aegypti e in quelli temperati la Aedes albopictus (zanzara tigre).<sup>[6]</sup>

## Zika virus transmission cycle

### Symptoms

- Fever
- Rash
- Joint pain
- Conjunctivitis (red eyes)

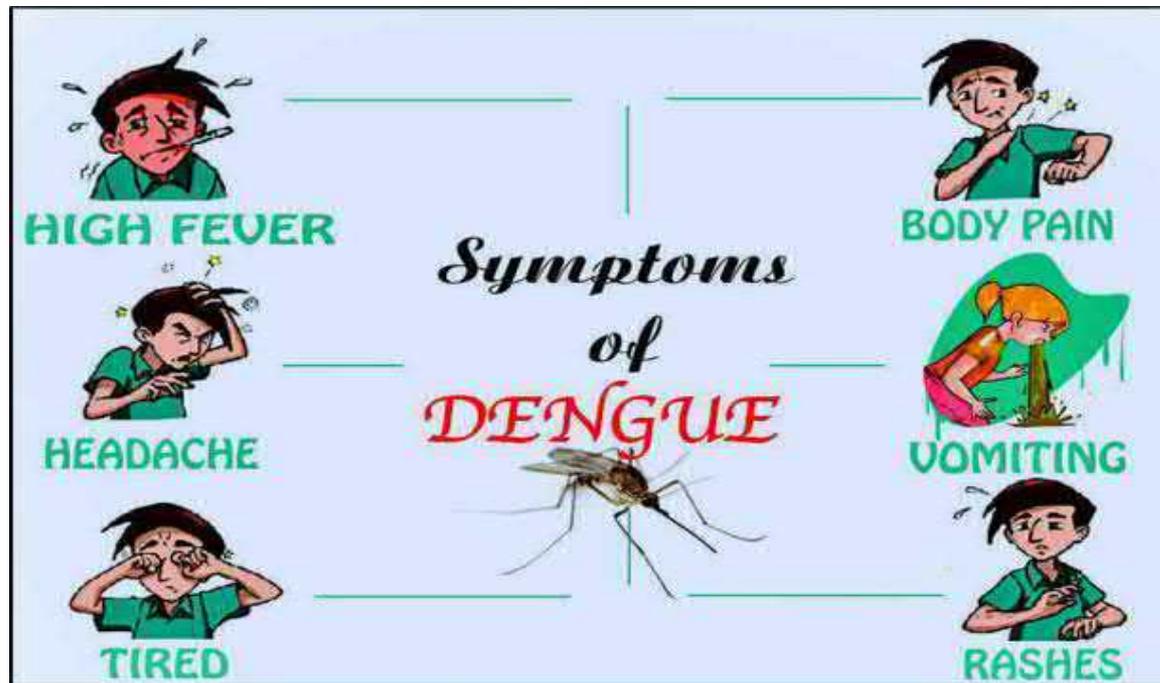


Zika can be transmitted through blood, but this is an infrequent mechanism. The virus has also been isolated in semen, but person-to-person sexual transmission is unconfirmed.

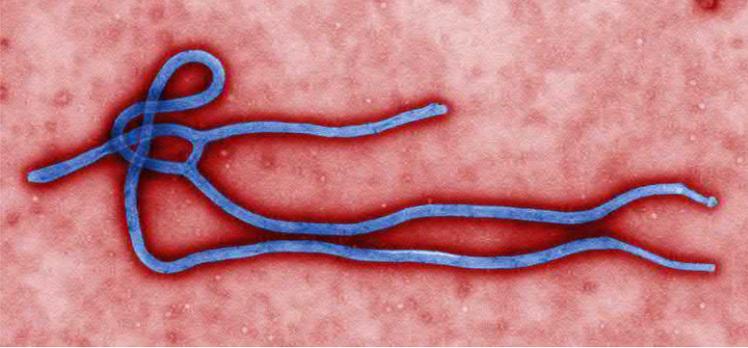
## Dengue virus

La **febbre dengue**, più conosciuta semplicemente come **dengue**, è una malattia infettiva tropicale causata dal virus *Dengue*. Il virus esiste in quattro sierotipi differenti (DENV-1, DENV-2, DENV-3, DENV-4) e generalmente l'infezione con un tipo garantisce un'immunità a vita per quel tipo, mentre comporta solamente una breve e non duratura immunità nei confronti degli altri. L'ulteriore infezione con un altro sierotipo comporta un aumento del rischio di complicanze gravi. It is a mosquito-borne single positive-stranded RNA virus of the family *Flaviviridae*; genus *Flavivirus*.

La malattia è trasmessa da zanzare del genere *Aedes*, in particolar modo la specie *Aedes aegypti*. Si presenta con febbre, cefalea, dolore muscolare e articolare, oltre al caratteristico esantema simile a quello del morbillo. In una piccola percentuale dei casi si sviluppa una febbre emorragica pericolosa per la vita, con trombocitopenia, emorragie e perdita di liquidi, che può evolvere in shock circolatorio e morte. Non esistendo una vaccinazione efficace, la prevenzione si ottiene mediante l'eliminazione delle zanzare e del loro habitat, per limitare l'esposizione al rischio di trasmissione



## Ebola virus



*Ebolavirus*, fa parte della famiglia Filoviridae, a sua volta parte dell'ordine dei Mononegavirales

colpisce gli umani con una febbre emorragica con un tasso di letalità molto alto.

l'epidemia di febbre emorragica di Ebola in Zaire del 1976  
e l'epidemia di febbre emorragica di Ebola in Africa Occidentale del 2014

Il nome *Ebolavirus* deriva dal fiume Ebola nello Zaire (oggi Repubblica Democratica del Congo), un tributario del fiume Congo dove avvenne l'epidemia del 1976



# Il virus Ebola

Appartiene alla famiglia dei *Filoviridae*.

Identificato per la prima volta nel 1976 in Congo RD e Sudan.

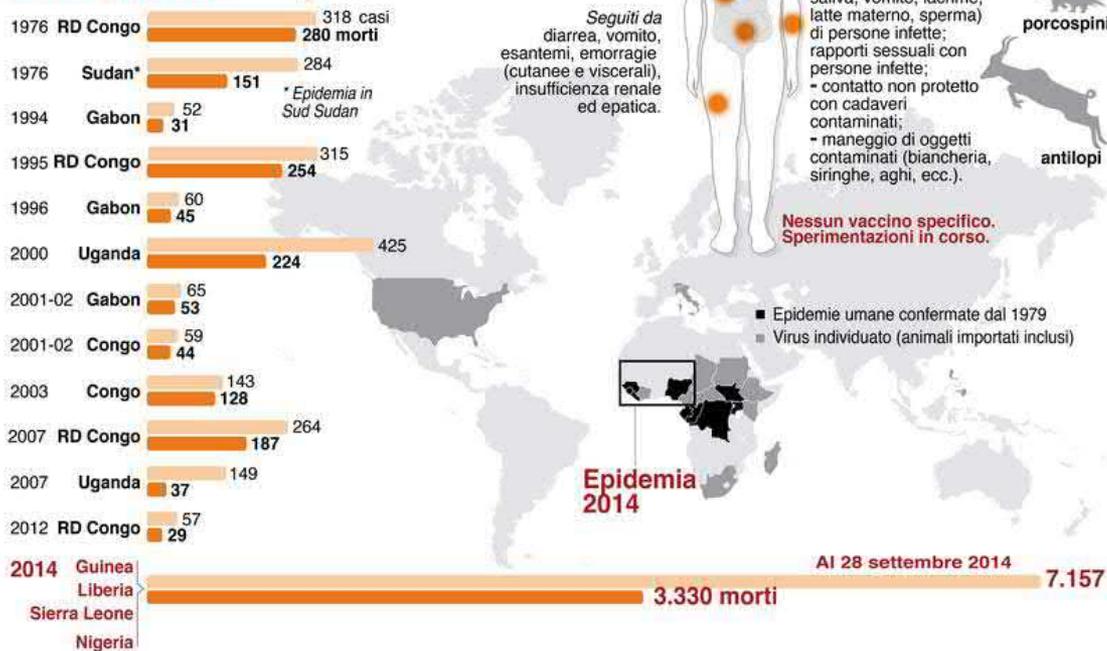


Il nome deriva da un fiume del Congo RD.

Sono state identificate 5 specie diverse del virus Ebola, 3 particolarmente pericolose.

Nell'uomo si può arrivare a un tasso di mortalità del 90 per cento.

## LE PRINCIPALI EPIDEMIE:



I pipistrelli della frutta - famiglia *Pteropodidae* - sono considerati gli ospiti naturali del virus.

Presenza accertata anche in:



gorilla  
scimpanzé  
porcospini  
antilopi

**Nell'uomo:**  
All'esordio, febbre, astenia, mal di testa, mal di gola.

Seguiti da diarrea, vomito, esantemi, emorragie (cutanee e viscerali), insufficienza renale ed epatica.



## Modalità di contagio:

- contatto con animali infetti (anche con le loro carni crude);
- contatto diretto con sangue, feci e urine, fluidi corporei (muco, saliva, vomito, lacrime, latte materno, sperma) di persone infette;
- rapporti sessuali con persone infette;
- contatto non protetto con cadaveri contaminati;
- maneggio di oggetti contaminati (biancheria, siringhe, aghi, ecc.).

Nessun vaccino specifico. Sperimentazioni in corso.

■ Epidemie umane confermate dal 1979  
■ Virus individuato (animali importati inclusi)

**Epidemia 2014**

Fonti: Who / Who Africa / Usdcdp. / Traduzione e aggiornamenti: Paolo Moiola (redazione MC).