

LABORATORIO TRASDUZIONI RETROVIRALI

PROCEDURE DI SICUREZZA NELL'USO DI RETROVIRUS E LENTIVIRUS

CONSIDERAZIONI GENERALI E OBBLIGHI PER L'OPERATORE

La trasfezione delle cellule di impaccamento (LXA, LXE) con il plasmide retro/lentivirale determina il rilascio nel surnatante di virioni retro/lentivirali che verranno utilizzati per l'infezione delle cellule riceventi. Seppure il virus prodotto sia difettivo per la replicazione, l'ingestione o il contatto con ferite esposte può determinare l'integrazione stabile del virus ricombinante nel genoma dell'operatore.

Sebbene la pericolosità dei virus sia modesta sulla base delle seguenti considerazioni **i)** esistono barriere naturali all'infezione, **ii)** i virus prodotti sono labili e instabili nell'atmosfera, **iii)** i geni virali sono facilmente silenziabili con meccanismi epigenetici, **iv)** i vettori virali utilizzati sono difettivi di alcuni geni fondamentali per la biogenesi di nuovi virioni e i difetti sono complementari solo in presenza di geni accessori espressi esclusivamente nelle cellule di impaccamento, è tuttavia necessario seguire sempre con attenzione le procedure di sicurezza per evitare l'integrazione del genoma virale nel genoma dell'operatore.

PROCEDURE OBBLIGATORIE

Le procedure di manipolazione devono avvenire esclusivamente nel locale LT-46, adibito al contenimento di classe 2, e in cappe biologiche di sicurezza di Classe II a flusso laminare.

L'operatore deve:

- Indossare opportuni mezzi di protezione individuale (doppi guanti, camice adeguato per proteggere ogni lembo di pelle esposta)
- Posizionarsi in modo da avere una seduta stabile e che consenta l'accesso a tutto il materiale necessario, inclusi i contenitori per lo smaltimento del materiale contaminato. Dall'inizio al termine della manipolazione dei virioni l'operatore non deve uscire dalla cappa a flusso laminare; al termine delle operazioni deve pulire il primo guanto con ipoclorito di sodio e scartarlo
- Adibire appositi contenitori/sacchi per raccogliere tutto il materiale contaminato. Tali contenitori saranno poi esposti a raggi UV (sotto cappa) e conferiti in contenitori per materiale sanitario per successivo incenerimento.
- Procedere alla pulizia accurata di ogni superficie con la quale è venuto accidentalmente a contatto al di fuori della cappa
- Ristabilire la pulizia e l'ordine del locale

Le cellule di impaccamento, una volta recuperato il surnatante virale, vengono trattate con ipoclorito di sodio e la capsula petri smaltita come sopra descritto.

Le cellule riceventi vengono mantenute per il tempo richiesto dall'esperimento in appositi incubatori a CO₂ all'interno del laboratorio. Se è richiesta una centrifugazione del materiale virale, viene utilizzata la centrifuga in dotazione del laboratorio con camera di contenimento delle piastre a multi-pozzetto da 6. La piastra multiwell che deve essere centrifugata viene sigillata con del parafil.

La cappa e il locale adibito alla manipolazione virale devono essere sottoposti a controlli periodici da parte di un personale autorizzato da parte della struttura.