

L'obiettivo di questo progetto è quello di studiare di studiare gli effetti e di indagare il meccanismo di azione dei PI nella prevenzione dell'insorgenza o progressione del CC utilizzando topi transgenici per le onco-proteine E6/E7 di HPV (topi K14-HPV16/E2) che sviluppano lesioni CIN/CC dopo l'esposizione ad estrogeni, in collaborazione con l'IRCCS Istituto di Candiolo – FPO. In questo modello la progressione del CIN avviene mediante l'attivazione di un “interruttore angiogenico” che porta alla progressione in cancro invasivo, consentendoci quindi di condurre studi specifici sui meccanismi di azione dei PI a livello delle lesioni stesse. In parallelo verranno effettuati studi in vitro su colture cellulari di CIN/CC infettate da HR-HPV per valutare l'azione dei PI sulla crescita, l'apoptosi, l'invasione e la differenziazione di cellule CIN e CC, come anche sulle vie di trasduzione del segnale deregolate dalle onco-proteine E6 d E7 di HPV. I risultati preliminari indicano che gli HIV-PI sono in grado di prevenire sviluppo, crescita e progressione di lesioni CIN nei topi transgenici.

In parallelo sono stati studiati gli effetti antitumorali degli HIV-PI in linee cellulari CIN/CC in vitro, inclusi effetti su proliferazione, differenziazione, apoptosi e invasione tumorale, espressione/attivazione di MMP come anche sulle vie di trasduzione del segnale deregolate dalle onco-proteine E6 d E7 di HPV. I risultati di questi studi indicano che gli HIV-PI sono in grado di inibire l'attività e l'espressione della metalloproteasi della matrice extracellulare MMP-9, un enzima che ha un ruolo chiave nello sviluppo del CIN e della progressione in CC, mediante un blocco della via di trasduzione del segnale AKT/Fra-1 in cellule CIN in vivo (Bacigalupo I et al., *Oncology Letters* 2017). In considerazione dell'importante ruolo patogenetico di AKT/Fra-1/MMP-9 nella progressione del CIN/CC, questi dati supportano il “drug repositioning” degli HIV-PI nel trattamento delle lesioni cervicali sia in donne con infezione da HIV che sieronegative.

Infine verranno effettuati studi clinici al fine di valutare l'infezione da HPV e le lesioni cervicali che si sviluppano nella coorte di donne HIV+/HPV+ in trattamento con HIV-PI o NNRTI arruolate nello studio osservazionale prospettico VALHIDATE coordinato dall'Ospedale Sacco di Milano, inclusa la valutazione della prevalenza dell'infezione da HPV e di lesioni cervicali all'ingresso nello studio, l'incidenza di nuove lesioni durante il follow-up, la progressione o la regressione delle lesioni basali, l'incidenza e la clearance o la persistenza dell'infezione da HPV in donne che ricevono cART o non trattate. Verrà inoltre studiata la presenza di marcatori biologici di CIN/CC e di infezione da HPV in campioni citologici/lesioni cervicali. I risultati saranno correlati all'esito della malattia e alla risposta a specifici trattamenti ARV e alle principali caratteristiche demografiche, cliniche, comportamentali e di laboratorio (tra cui conta delle cellule T CD4+, carica virale dell'HIV, carico

virale/genotipizzazione dell'HPV). I dati preliminari indicano che terapie contenenti HIV-PI prevengono la progressione di lesioni CIN rispetto a terapie basate su inibitori della trascrittasi inversa o in donne non trattate.

Questo progetto, che è stato presentato al Ministero della Salute nell'ambito del bando per la Ricerca Finalizzata 2016, contribuirà a chiarire gli effetti dei PI sullo sviluppo e la progressione del CIN/CC indipendentemente dall'infezione da HIV, e a sviluppare nuove terapie per prevenire o curare i tumori che insorgono sia in pazienti HIV+ che sieronegativi.

Effetto della terapia anti-HCV con farmaci DAAs sull'outcome virologico ed immunologico in pazienti in terapia ART co-infetti HIV/HCV.

Progetto privo di finanziamento per il 2017. Proposto per il finanziamento nell'ambito della Ricerca Finalizzata – Ministero della Salute. Centro Nazionale per la Ricerca su HIV/AIDS

L'immunodisfunzione correlata alla progressione ad AIDS nei pazienti HIV/HCV coinfetti è mediata in parte dal sistema interferonico dell'ospite e quindi strettamente legata all' infezione da HCV. Il sistema immunitario e l'infiammazione sembrerebbero avere un ruolo fondamentale per la progressione della fibrosi epatica durante l'infezione da HCV e HIV. L'ipotesi da convalidare è quella per cui la soppressione della replicazione dell'HCV tramite farmaci antivirali ad azione diretta (Directly Acting Antivirals, DAA) può essere associata ad un outcome più favorevole della malattia indotta da HIV in termini di risposta virologica e immunologica. Sono stati arruolati 24 pazienti (10 HCV+/HIV, 14 HCV+) in trattamento DAAs. I campioni sono stati raccolti prima dell'inizio (T0), ad una settimana (T1), a due settimane (T2) a fine terapia e a tre mesi dalla fine del trattamento. Dati preliminari indicano un diverso assetto immunitario tra i coinfetti HIV/HCV e i moninfetti HCV suggerendo una diversa risposta alla terapia da parte dei due gruppi di pazienti.

Markers predittivi di risposta persistente alla terapia antiretrovirale: correlazione della presenza di anticorpi anti-Tat con durability dell'efficacia terapeutica

Progetto privo di Finanziamento nel 2017. Proposto per il finanziamento nell'ambito del Gilead Fellowship Program - Gilead Sciences Srl – Italia. Centro Nazionale per la Ricerca su HIV/AIDS.

La terapia antiretrovirale combinata (cART) blocca la progressione verso l'AIDS ma non è in grado di eradicare l'infezione. Benché non rilevabile nel sangue periferico (limite di rilevazione: <40 copie di RNA virale per mmc di plasma) la replicazione virale residua, dovuta a incompleta soppressione

virale o a riattivazione stocastica, contribuisce in maniera importante all'infiammazione cronica e disregolazione immunitaria osservate in soggetti in cART efficace ed allo stesso tempo assicura il mantenimento dei serbatoi virali e conseguente compromissione del sistema immune. In effetti la ricostituzione del sistema immune nel soggetto virologicamente soppresso è spesso parziale, come indicato da un recupero incompleto del numero dei linfociti CD4 circolanti, dal mancato ristabilimento del rapporto CD4/CD8 e delle sottopopolazioni linfocitarie (naive, memory, effector), dal persistere d'immunoattivazione (CD38, HLA-DR). Di qui l'importanza di identificare marcatori in grado di distinguere chi andrà incontro nel medio/lungo termine al fallimento terapeutico da chi invece continuerà a rispondere bene all'ART, al fine di migliorare il management clinico e fornire ai pazienti una corretta informazione sul loro stato clinico.

A questo riguardo, dati epidemiologici del nostro e di altri gruppi hanno dimostrato che anticorpi anti-Tat sono rilevabili solo in una minoranza (circa 30%) dei soggetti HIV+ e che la loro presenza si associa ad una ridotta o assente progressione della malattia e ad una più rapida e maggiore responsività alla terapia antiretrovirale. Tat (TransAttivatore della Trascrizione) è la prima proteina prodotta dall'HIV, è essenziale per un'efficiente replicazione virale, è rilasciata dalle cellule infette ed esercita numerosi effetti disregolatori, inclusa l'attivazione e il richiamo di linfociti CD4, alimentando così la replicazione e diffusione del virus. A questo riguardo va sottolineato che la cART non ha effetto sull'espressione di geni virali, incluso Tat, che è misurabile anche dopo anni di cART. Inoltre, Tat, prodotto da provirus integrato o non integrato può indurre replicazione virale da entrambi. Tat costituisce pertanto un bersaglio critico per ridurre la replicazione virale residua ed attaccare il serbatoio virale. I risultati ottenuti con l'intensificazione della cART con il vaccino Tat in trial clinici terapeutici di fase I e II corroborano questa ipotesi. In particolare, l'intensificazione della cART con il vaccino Tat ha promosso un significativo e durevole recupero dei linfociti T, e un incremento della percentuale dei linfociti T della memoria centrale (T_{cm}) CD4+ e CD8+, accompagnata da diminuzione delle cellule della memoria effettrice (T_{em}, CD4+ CD8+), dati che nell'insieme depongono per una riduzione dell'immunodisregolazione ed un ritorno verso l'omeostasi. Infine, da notare la lenta e progressiva riduzione del DNA provirale nel sangue, che ha raggiunto la significatività dopo 2 anni e con una stima di decadimento dopo 3 anni dalla vaccinazione del 70%. Questa riduzione è significativamente associata alla presenza di anticorpi anti-Tat.

Sulla scorta di queste evidenze epidemiologiche e sperimentali ci proponiamo di investigare retrospettivamente una serie di parametri immunologici, infiammatori e virologici in una corte di

soggetti (n=121) in trattamento efficace che hanno partecipato ad uno studio osservazionale prospettico (ISS OBS T-002, ClinicalTrials.gov NCT0102455) condotto in 8 centri clinici in Italia, monitorato e validato da una CRO in accordo con le regolamentazioni GCP e GLP. I soggetti arruolati fra il 2008 e 2011 sono stati seguiti in media per 2 anni con periodicità trimestrale. Dei 121 partecipanti, 33 (27,3%) avevano anticorpi anti-Tat all'arruolamento.

Con il presente progetto intendiamo delucidare in soggetti HIV+ virologicamente soppressi il contributo degli anticorpi anti-Tat naturalmente presenti alla durability terapeutica, in termini di recupero immunologico, riduzione dell'infiammazione, e riduzione del reservoir virale.

A questo scopo, ci proponiamo di:

- Valutare retrospettivamente biomarcatori solubili di immunoattivazione e infiammazione nei soggetti partecipanti all'ISS OBS T-002 e identificare quelli significativamente diversi in soggetti con o senza anticorpi anti-Tat.
- Valutare il carico di DNA provirale nella stessa coorte e determinare se sia significativamente diverso nei soggetti con e senza anticorpi anti-Tat.
- Correlare i biomarcatori investigati con parametri di ricostituzione immunologica (conte dei CD4, CD4/CD8 ratio, sottopopolazioni linfocitarie funzionali) per i quali i dati sono già disponibili (analisi eseguita in citofluorimetria a flusso su sangue periferico fresco).
- Utilizzare i dati raccolti per identificare markers prognostici di persistenza o di fallimento dell'efficacia terapeutica.
- Generare un algoritmo per migliorare la valutazione ed il monitoraggio del rischio di persistenza o di fallimento dell'efficacia del trattamento terapeutico adottato.

Il presente studio, longitudinale, sarà effettuato su campioni biologici criopreservati (PBMC, siero e plasma) raccolti longitudinalmente durante lo studio. Per garantire un'elevata qualità ed affidabilità dei risultati, i campioni oggetto di questo studio, raccolti dopo firma del consenso informato nei 9 centri clinici, sono stati spediti, congelati e conservati nella biobanca dedicata del Centro Nazionale per la Ricerca su HIV/AIDS dell'ISS seguendo rigorose procedure operative standard uniformi per tutti i centri clinici, messe a punto nell'ambito di AVIP, un progetto integrato finanziato dalla Comunità europea, validate e già utilizzate in trials clinici di fase I preventivi (Clinicaltrials.gov

Identifier NCT00529698 e Clinicaltrials.gov Identifier NCT01441193) ed in trials clinici di fase I e II.

Saranno analizzati solo i biomarcatori e i parametri misurabili con saggi validati per campioni congelati. Pertanto, i sieri e plasmi dei 121 volontari arruolati nello studio osservazionale e raccolti nell'arco di 24 anni con cadenza trimestrale, saranno investigati a vari time point (almeno 3 determinazioni) per valutare biomarcatori di infiammazione e di attivazione immunitaria (D-dimero, IL-6, CXCL10, TNFalfa, e la proteina C reattiva ad alta sensibilità). I livelli plasmatici di sCD14, VCAM1 e ICAM1 verranno misurati per investigare l'attivazione di monociti e di cellule endoteliali. Per lo studio di questi biomarcatori verranno impiegati, saggi elisa e di citofluorimetria (multiplex Cytometric Bead Array, CBA) disponibili in commercio. In particolare, saggi ELISA validati saranno utilizzati per il dosaggio di hsCRP e DDimero. Il saggio multiplex CBA permetterà di valutare più analiti contemporaneamente (IL6, VCAM1, ICAM1, sCD14, TNFalfa, CXCL10) tramite lettura in citometria a flusso (citofluorimetro FACSCanto, BD). Il DNA provirale totale e non integrato sarà valutato mediante Real Time PCR utilizzando un Kit commerciale (Diatheva s.r.l., Fano, Italia).

Con l'uso sempre più diffuso della cART, identificare parametri immunologici predittivi della durability della risposta terapeutica, e di converso del suo fallimento, costituisce un'importante priorità per il management clinico dei pazienti e, quindi, di sanità pubblica, ma rappresenta anche un'informazione essenziale da fornire al paziente in terapia.

Le informazioni fornite da questo progetto contribuiranno a identificare biomarcatori di rischio di fallimento o efficacia terapeutica e a chiarire il ruolo degli anticorpi anti-Tat nel controllo dell'infezione da HIV in soggetti in cART efficace, al fine di sviluppare nuove strategie di prevenzione e cura e/o migliorare quelle esistenti, nella prospettiva di un approccio medico sempre più personalizzato.

Caratterizzazione del profilo farmacocinetico e farmacogenetico di farmaci antiretrovirali, sottotipi di HIV, forme virali ricombinanti e varianti con mutazioni di resistenza a supporto della gestione clinica di pazienti HIV-positivi da popolazioni migranti o paesi in via di sviluppo.

Progetto privo di Finanziamento per il 2017. Centro Nazionale per la Ricerca su HIV/AIDS.

I regimi di combinazione di farmaci antiretrovirali (ARV) (cART) hanno ridotto grandemente la morbilità e la mortalità di soggetti HIV+ grazie alla loro capacità di sopprimere la replicazione

virale e favorire il recupero immunologico. Una parte dei soggetti in trattamento tuttavia non raggiunge o mantiene una soppressione virologica adeguata a causa di una ridotta aderenza alla terapia, tossicità farmacologica, alterata farmacodinamica, resistenze virali.

Il raggiungimento di un'esposizione ottimale è fondamentale per il successo virologico della cART e, in ultima analisi, della loro efficacia terapeutica. Livelli di farmaci sub-ottimali sono infatti associati all'emergenza di ceppi resistenti che contribuiscono al fallimento virologico, mentre concentrazioni eccessivamente elevate aumentano il rischio di reazioni avverse ai farmaci.

I livelli plasmatici di ARV sono influenzati non solo dall'aderenza alla terapia ma anche dal background genetico della popolazione studiata. È ben documentata infatti un'elevata variabilità interindividuale legata alla presenza relativamente frequente di polimorfismi in geni codificanti per enzimi citocromiali coinvolti nel metabolismo dei diversi ARV.

La valutazione dei livelli plasmatici di ARV può aiutare ad identificare pazienti con concentrazioni adeguate, sub-terapeutiche o tossiche di farmaci, come anche ad identificare pazienti non aderenti. Tuttavia, le finestre terapeutiche degli ARV sono state stabilite sulla base di studi effettuati in paesi sviluppati su soggetti infettati con virus essenzialmente di sottotipo B. Ci sono pochi dati disponibili sull'effettivo raggiungimento dei range terapeutici e della loro validità in soggetti infettati con altri sottotipi virali e diverso background genetico, che vivono o provengono da paesi in via di sviluppo dove la prevalenza dell'infezione da HIV è più elevata, e dove c'è minore accesso all'assistenza sanitaria, inclusa la diagnosi, il monitoraggio immunologico e virologico dell'infezione, l'accesso alla terapia, ed in cui è ben documentata una minore aderenza. E' stato ipotizzato inoltre che i differenti sottotipi virali di HIV-1 e forme ricombinanti abbiano differenti proprietà biologiche che potrebbero essere alla base non solo di una differente efficienza di trasmissione e di una diversa progressione della malattia ma anche di diversa sensibilità alla cART (Santoro & Perno, *Microbiology* 2013). È ben documentata infine la circolazione di ceppi virali con mutazioni che conferiscono resistenza a singoli ARV o intere classi di farmaci.

A causa dell'aumento del tasso di immigrazione, si stima che attualmente in Italia quasi un terzo delle nuove diagnosi di HIV sia di nazionalità straniera e che questo numero sia in costante aumento (http://www.iss.it/binary/ccoa/cont/HIV_AIDS_DIC_2015.pdf). Di conseguenza la frequenza in Italia di infezioni da sottotipi HIV-1 non-B è aumentata dal 2.6% nel periodo 1985-1992 al 18.9% nel periodo 1993-2008 (Lai, *HIV Med* 2010). Questi soggetti, socialmente più fragili, sono notoriamente meno aderenti alla terapia e ciò potrebbe contribuire alla diffusione di varianti resistenti sia nelle comunità dei migranti che nella popolazione generale.

Con il presente studio ci proponiamo di valutare il profilo farmacocinetico e farmacogenetico di ARV in soggetti HIV+ in trattamento cART provenienti da paesi in via di sviluppo in correlazione con sottotipi/varianti virali e ceppi con mutazioni di resistenza.

In particolare, stiamo studiando pazienti HIV+ in trattamento cART da 2 coorti coordinate dal CNAIDS, di circa 100 pazienti ognuna:

1. pazienti sudafricani arruolati presso la Mecru Clinical Research Unit, Sefako Makhathe Health Sciences University, Gauteng Province, Sud Africa, nell'ambito di studi immuno-virologici in pazienti infetti da HIV.
2. migranti arruolati nell'ambito di un network che coinvolge 9 centri clinici italiani (Brescia, Prato, Firenze, Latina, Napoli, Bari, Cosenza, Catanzaro, Lamezia Terme) (Sanarico, Ann Ist Super Sanità 2015), mirato alla sorveglianza della variabilità genetica di HIV in Italia;

Campioni di cellule e/o plasma di questi pazienti vengono valutati per i livelli plasmatici di ARV, polimorfismi dei geni codificanti per enzimi citocromiali coinvolti nel metabolismo degli ARV (nei soggetti con livelli di ARV al di fuori delle finestre terapeutiche), identificazione di sottotipi/forme ricombinanti di HIV-1, identificazione di ceppi con mutazioni di resistenza.

Lo studio delle concentrazioni di ARV raggiunte in soggetti con differente background genetico, infettati con altri sottotipi/varianti virali o ceppi resistenti potrebbe avere importanti ricadute non solo nella gestione clinica di pazienti appartenenti a popolazioni fragili, ma anche ai fini di una sorveglianza epidemiologica/molecolare delle varianti di HIV circolanti nella popolazione generale. Infatti è ancora poco studiata la prevalenza in Italia dei sottotipi/ forme ricombinanti di HIV-1 e dei ceppi con mutazioni di resistenza in soggetti da paesi in via di sviluppo. Infine, dato che il dosaggio plasmatico di ARV è l'unico mezzo affidabile ed obiettivo per poter accertare il raggiungimento di un'esposizione farmacologica ottimale, lo studio del profilo farmacodinamico di ARV in popolazioni diverse da quelle occidentali infettate da virus non-B potrebbe fornire informazioni importanti per la valutazione di studi clinici terapeutici, in quanto i livelli di ARV hanno ricadute evidenti ed importanti sugli stessi indicatori utilizzati per valutare la loro efficacia.

Validazione di un *Realtime PCR assay* per la determinazione del *DNA provirale* di HIV

Progetto privo di finanziamenti per il 2017. Centro Nazionale per la Ricerca su HIV/AIDS.

Lo sviluppo di un saggio per la determinazione del DNA provirale di HIV di facile esecuzione ed elevata affidabilità è essenziale per la misura dei reservoir virali, per la determinazione della persistenza di HIV e per la valutazione di terapie innovative funzionali e/o eradicanti. Il CNAIDS ha

da alcuni mesi sviluppato un metodo per la determinazione del DNA provirale sia nella forma integrata nel genoma dell'ospite che nella forma non integrata (*extracromosomica*). Il metodo consiste nell'isolamento del DNA da cellule infettate latentemente, cellule di controllo e cellule del sangue periferico isolate da pazienti infettati con HIV, cui segue l'amplificazione delle sequenze integrate e non integrate di HIV (DNA *totale* virale). Il metodo è in grado, inoltre, di amplificare selettivamente il DNA provirale extracromosomico, consentendo di stimare per differenza la quantità di DNA virale integrato. L'obiettivo di questo progetto è la validazione del metodo. A questo scopo, sono in corso di valutazione i principali parametri di validazione del saggio in considerazione (selettività, limiti di rivelabilità e di quantificazione, intervallo di linearità, precisione [ripetibilità e riproducibilità], sensibilità, accuratezza). A questo scopo vengono utilizzati linee cellulari infettate latentemente e campioni di sangue di pazienti naïve al trattamento o in trattamento con antiretrovirali. Questi studi si avvalgono inoltre di campioni di sangue provenienti da coorti di pazienti seguiti longitudinalmente sia in studi osservazionali che nei trial vaccinali Tat di fase I e II.

Caratteristiche delle persone che vivono con HIV/AIDS in Italia: uno studio cross-sectional

Progetto privo di finanziamento per il 2017. Dipartimento di Malattie Infettive

Questo studio nato nel 2013 ha avuto lo scopo di valutare il continuum of care delle persone che vivono con HIV in Italia. Il continuum of care tiene traccia del numero di persone con diagnosi di HIV che sono in cura con terapia antiretrovirale (ART) e tra queste il numero di coloro con carica virale soppressa (< 50 copie/mL), cioè che non hanno più presenza di virus rilevabile nel sangue. Tale strumento è utile per monitorare la qualità delle cure delle persone con l'HIV e, nel contempo, per valutare l'estensione della soppressione virale a livello di popolazione. Nel 2013 è stato svolto un primo censimento, coinvolgendo tutti i Centri Clinici di malattie infettive presenti in Italia, per conoscere il numero delle persone che vivevano con l'HIV in Italia nel 2012, per valutare la prevalenza dell'infezione da HIV e descrivere il "continuum of care" italiano. Nel 2017 sono stati elaborati e pubblicati i dati relativi al secondo censimento svolto negli anni 2015/2016 per valutare e aggiornare tre outcome dell'HIV "continuum of care" nel 2014 e i cambiamenti rispetto al 2012. Di seguito si riportano i dati relativi a questo secondo censimento.

Quante sono le strutture in Italia che hanno in cura la persona con l'HIV o affetta da AIDS?

Come nel primo censimento, nella fase iniziale dello studio, sono stati contattati tutti i Centri Clinici di malattie infettive regionali che prendono in carico persone HIV positive e che somministrano ART.

In totale, nel 2014, i Centri Clinici che somministrano ART sono risultati essere 153. In alcuni Centri Clinici afferivano più strutture adibite alla cura delle persone sieropositive; pertanto, le strutture che hanno in cura le persone HIV positive o in AIDS e che somministrano ART risultano essere 179, di cui uno pediatrico che ha inviato i dati di tutti i casi pediatrici italiani. Tutte le elaborazioni qui presentate sono basate sul numero delle strutture che hanno partecipato all'indagine (96,6%). Il Nord Italia risulta l'area geografica con il più alto numero di Centri Clinici adibiti alla cura delle persone HIV positive (n. 63), seguito dal Centro (n.33), dal Sud (n. 30), e dalle Isole (n. 21). Le strutture ricalcano la stessa distribuzione per area geografica dei singoli Centri Clinici. La Lombardia rappresenta la regione del Nord con una percentuale maggiore di strutture (29,4%), per il Centro è il Lazio (47,1%), per il Sud è la Campania (28,9%) e per le Isole è la Sicilia (77,3%). A livello dell'intero territorio nazionale, la regione italiana con la percentuale maggiore di strutture risulta essere il Lazio (13,4%), seguita dalla Lombardia (11,2%) e dalla Sicilia (9,5%). Il numero medio di persone HIV positive in carico presso ciascun Centro Clinico è di circa 620 persone e varia notevolmente per area geografica e regione. Nel Nord sono presenti Centri con il numero più alto di persone HIV positive in carico (n. 917), al Sud quelle con il numero più basso (n. 234). Nel 2014, la regione con il più alto numero medio di pazienti HIV positivi in carico per centro è risultata essere la Lombardia (n. 1.549 persone), seguita dall'Emilia-Romagna (n. 870 persone) e dal Piemonte (n. 623 persone). La regione italiana, invece, con il minor numero medio di persone HIV positive in carico è risultata essere il Molise (n. 67 persone, tutte provenienti dall'unica struttura della regione). Nel 2014, le strutture che non hanno partecipato allo studio (3,4%) sono quelle di Arezzo, Avellino, Lecce, Pistoia, Pesaro e Ragusa. Ha partecipato, invece, allo studio il 96,6% delle strutture censite.

Quante sono le persone diagnosticate con HIV e in cura presso i Centri Clinici di malattie infettive italiani nel 2014?

A tutti i responsabili delle 179 strutture è stata inviata una breve scheda di raccolta dati per avere informazioni sul numero delle persone HIV positive in carico, sul numero delle persone HIV positive in ART, sul numero delle persone con una nuova diagnosi di infezione da HIV, nonché su alcune loro caratteristiche essenziali come genere, età, nazionalità, modalità di trasmissione, numero di CD4, carica virale e stadio clinico. Per 5 strutture (Arezzo, Avellino, Lecce, Pistoia, Pesaro) che

avevano partecipato al censimento del 2012, ma non a quest'ultimo, è stato imputato il numero delle persone sieropositive sulla base dei dati riportati nel 2012 con un aumento proporzionale a quello riportato in totale da tutti i Centri Clinici che hanno partecipato a entrambi i censimenti. La struttura di Ragusa, che non ha partecipato alle due survey, non è stata inclusa nella stima. Nel 2014, sono state stimate 100.049 (n. 721 con età < 18 anni) persone diagnosticate con l'infezione da HIV e in cura presso i Centri Clinici di malattie infettive, con un aumento del 6,3% rispetto alla rilevazione del 2012, probabilmente dovuto al continuo verificarsi di nuove infezioni e nello stesso tempo all'uso di nuove terapie che hanno migliorato la sopravvivenza delle persone con HIV.

Tra le persone diagnosticate e in cura, 91.916 (91,9%) erano in ART, con un incremento dell'11,4% rispetto alla rilevazione del 2012, e 80.610 (87,7%) hanno raggiunto la soppressione virale (<50 copie/mL) all'ultima visita. Nel 2014, la prevalenza delle persone diagnosticate con HIV e in cura (calcolata come rapporto tra numero totale di persone diagnosticate con HIV e in carico e numero di abitanti residenti), è stata pari a 0,16 persone per 100 residenti, senza variazione rispetto al 2012. La prevalenza più bassa è stata registrata in Molise (0,02%), mentre quella più alta in Lombardia (0,31%).

Quali sono le caratteristiche delle persone diagnosticate con l'HIV e in cura presso i Centri Clinici italiani?

Delle 100.049 persone diagnosticate con HIV e in cura, la maggior parte (72,1%) erano maschi e l'83,0% italiani. Il 2,2% aveva meno di 24 anni, il 56,6% un'età compresa tra i 25 e i 49 anni, il 29,5% un'età compresa tra i 50 e i 59 anni e l'11,7% aveva più di 60 anni.

La modalità di trasmissione più frequente era quella eterosessuale (37,9%), mentre i maschi che fanno sesso con maschi (MSM) erano il 31,3% e i consumatori di sostanze per via iniettiva (IDU) rappresentavano il 25,2%. Il 22,9% delle persone diagnosticate e in carico aveva un numero di CD4 inferiore a 350 cellule/μl, il 17,6% aveva una carica virale soppressa e il 22,9% ha avuto una diagnosi di AIDS. Rispetto alla survey condotta nel 2012, oltre all'aumento osservato delle persone in carico e quelle in ART, è aumentata la proporzione delle persone di genere maschile, di quelle di 50-59 anni e degli MSM.

Quante sono le persone con HIV che vivono in Italia?

I dati di questo studio forniscono informazioni importanti sulle persone che sono diagnosticate con HIV e che sono in cura presso i Centri Clinici italiani; tuttavia, per avere un quadro completo della diffusione di questo virus nel nostro Paese è necessario raccogliere informazioni anche sulle persone

che hanno avuto una diagnosi di HIV ma che non sono seguite presso i Centri Clinici e sulle persone non ancora diagnosticate con HIV. Quest'ultime sono difficili da stimare perché possono essere asintomatiche e inconsapevoli del rischio a cui si sono esposte e, pertanto, possono arrivare tardi alla diagnosi di HIV. In questi ultimi anni sono stati sviluppati, da parte di ricercatori di vari Paesi, diversi modelli statistici e nel 2014, in Italia, in accordo con questi modelli, sono state stimate circa 14.000 persone non ancora diagnosticate con HIV e circa 18.000 persone diagnosticate con HIV ma non in cura presso i Centri Clinici, che sommate alle persone diagnosticate e in cura ottenute da questo censimento, portano a determinare un numero di circa 130.000 persone viventi con l'infezione da HIV. A oggi osserviamo risultati incoraggianti riguardo i pazienti in terapia e con carica virale non rilevabile, ma è necessario incrementare gli sforzi per aumentare l'accesso alle cure per le persone non ancora diagnosticate o che si sono perse durante il percorso terapeutico.

Stima del numero di persone viventi con HIV in Italia e dei non diagnosticati.

Progetto privo di finanziamento per il 2017. Dipartimento di Malattie Infettive.

Progetto nato nel 2016 e proseguito nel 2017 con l'obiettivo di stimare il numero totale delle persone viventi con HIV in Italia che pur avendo acquisito l'infezione non sono ancora state diagnosticate. Tale stima risulta importante per quantificare il numero di persone che, non appena diagnosticate, dovranno ricevere prontamente la terapia antiretrovirale, per ridurre la progressione dell'infezione, e prevenire la trasmissione dell'infezione ad altre persone.

Nel 2017 il COA in collaborazione con l'Istituto Nazionale per le Malattie infettive "L. Spallanzani" e lo European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) ha stimato il numero dei casi HIV non diagnosticati in fase avanzata di infezione ossia con numero di linfociti CD4 <350 cellule/ μ L.

I risultati preliminari hanno evidenziato che tra il 2012 e il 2014 circa 6.000 persone sieropositive non erano ancora diagnosticate e avevano urgente bisogno di sottoporsi a terapia. Altri studi hanno stimato che in Italia nel 2012 vi erano 125.000-130.000 persone viventi con l'HIV, di cui 12.000-18.000 non ancora diagnosticate. In base ai risultati relativi all'anno 2012 almeno un terzo dei non diagnosticati totali vivrebbe con una infezione da HIV in fase avanzata. La maggior parte di essi sono maschi, sia eterosessuali che MSM. Questi risultati sottolineano l'importanza di migliorare gli sforzi per promuovere l'identificazione precoce delle infezioni HIV, in particolare tra la popolazione maschile.

Applicazione del test dell'Indice di Avidità anticorpale anti-HIV alle diagnosi di infezione da HIV.

Progetto privo di finanziamento per il 2017. Dipartimento di Malattie Infettive.

La misura di incidenza e la conoscenza delle caratteristiche delle nuove infezioni da HIV rappresentano strumenti necessari per monitorare l'andamento dell'infezione e per stabilire programmi di prevenzione mirati. L'incidenza dell'infezione da HIV permette di conoscere l'attuale diffusione dell'infezione nella popolazione generale ed identificare i gruppi che sono maggiormente a rischio di infezione. È possibile stimare l'incidenza di HIV attraverso gli studi di coorte, che tuttavia sono molto costosi, complessi e non facilmente applicabili alla popolazione generale.

Negli ultimi anni si è cercato di mettere a punto alcuni test sierologici in grado di stabilire una 'datazione' dell'infezione al fine di poter stimare l'incidenza di HIV in modo rapido e semplice. L'Indice di Avidità anticorpale anti-HIV (in inglese, Avidity Index = AI) è uno di questi test sierologici. Si basa sul principio ormai assodato del progressivo incremento della avidità/affinità degli anticorpi nei mesi successivi all'infezione primaria e della persistenza di un'avidità anticorpale elevata nelle infezioni croniche. Questa maturazione nel tempo permette, attraverso la misurazione dell'AI, di identificare le infezioni recenti (cioè quelle sier conversionsi avvenute nei 6 mesi precedenti al momento del prelievo, ≤ 6 mesi) e le infezioni non recenti (sier conversionsi avvenute prima degli ultimi 6 mesi antecedenti il prelievo, >6 mesi) da HIV, consentendo così di poter stimare l'incidenza dell'infezione da HIV. Il test utilizza la guanidina come agente denaturante: questo agente riesce a scindere i legami deboli tra antigene (Ag) ed anticorpo (Ab). Tanto più recente è l'infezione, tanto minore sarà la forza di avidità/affinità nel legame Ag-Ab, e maggiore sarà il numero di legami scissi dalla guanidina, risultando quindi un valore più basso di AI.

La determinazione dell'AI presenta vari vantaggi: viene eseguita su un unico campione di siero, utilizza i test immunoenzimatici per HIV disponibili in commercio con l'unica aggiunta di una diluizione preanalitica del campione, è semplice, non richiede macchinari né formazione particolare del personale di laboratorio coinvolto, è riproducibile, robusta ed economica. L'identificazione delle infezioni recenti è particolarmente utile per scopi epidemiologici (diffusione dell'infezione, misura dell'incidenza, stima dei prevalenti, identificazione dei gruppi a rischio, futuri scenari epidemiologici), per scopi clinici (impostazione della terapia), per scopi preventivi (contact tracing, partner notification, valutazione di campagne di prevenzione), e per scopi di sanità pubblica (pianificazione sanitaria, previsioni di spesa).

Nell'ambito di questo progetto il COA ha raccolto dal 2000 ad oggi i dati relativi a 647 campioni di siero testati per AI da 279 individui HIV positivi con data nota di sieroconversione, seguiti presso diversi centri clinici di malattie infettive localizzati nelle città di: Brescia, Milano, Torino, Ancona e Roma. Nel corso del 2017 il COA ha valutato l'accuratezza diagnostica e la precisione del AI utilizzando un test EIA commerciale di quarta generazione e pubblicato i risultati dello studio in una rivista internazionale.

Il COA ha partecipato al *Technical working group on HIV Incidence Assays* coordinato dal WHO ed al progetto CEPHIA supportato dal Bill and Melinda Gates Foundation.

Il COA, inoltre, collabora con la Medical Research Council Biostatistics Unit dell'Università di Cambridge (UK) per stimare il tempo medio di infezione recente usando un test di generazione e confrontando i risultati ottenuti con altre metodiche utilizzate a livello internazionale.

Mortalità delle persone con HIV/AIDS (Progetti inclusi nel Piano Statistico Nazionale 2017-2019).

Progetti privi di finanziamento. Dipartimento di Malattie Infettive.

Il COA provvede dal 1987 alla raccolta, analisi e pubblicazione dei dati relativi alle diagnosi di AIDS a fini epidemiologici. In collaborazione con l'ISTAT e il Centro di Riferimento Oncologico di Aviano (CRO) analizza la mortalità, la sopravvivenza e le cause multiple di morte delle persone con AIDS. Per migliorare la gestione del Sistema di Sorveglianza AIDS e raggiungere livelli ottimali di completezza, identificando eventuali casi di AIDS non notificati al RAIDS, ogni anno è necessario linkare i dati individuali sulle cause di morte con i casi di AIDS notificati al RAIDS.

Il COA, inoltre, gestisce la sorveglianza delle nuove diagnosi di infezione da HIV e in collaborazione con l'ISTAT e il CRO di Aviano analizza anche la mortalità dei pazienti con HIV, le cause multiple di morte e la sottonotifica del sistema di sorveglianza.

Nel corso del 2017 il COA, insieme all' ISTAT e al CRO di Aviano, ha effettuato uno studio retrospettivo da 1999 al 2013 con lo scopo di descrivere l'andamento del ritardo di diagnosi (primo test HIV positivo ≤ 3 mesi la diagnosi di AIDS) nelle persone con AIDS e identificare i determinanti del ritardo. E' stato osservato un crescente aumento delle proporzioni di "late testers" evidenziando la necessità di nuove strategie di prevenzione per gruppi a maggior rischio, come la promozione attiva del test e l'educazione, soprattutto tra i giovani.

Parallelamente sono stati effettuati studi sulle cause multiple di morte.

Un primo studio basato sulle cause multiple di morte ha avuto come obiettivo l'analisi del profilo di mortalità per causa delle persone con AIDS in Italia.

I radicali miglioramenti nella sopravvivenza delle persone con infezione da HIV dopo l'introduzione, nella metà degli anni Novanta, delle terapie antiretrovirali altamente efficaci (HAART) ha prodotto sostanziali cambiamenti anche nel profilo di mortalità per causa dei soggetti deceduti. In particolare, si è assistito ad una graduale crescita della proporzione di decessi dovuti a malattie non incluse nella definizione di AIDS.

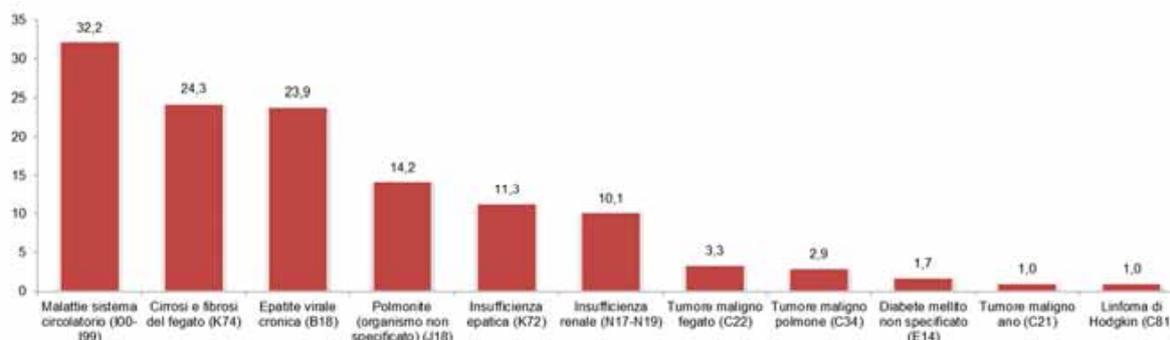
Lo studio si basa su una procedura di record-linkage individuale (utilizzando variabili identificative in forma anonima) tra i soggetti inclusi nel Registro Nazionale AIDS e i certificati di morte raccolti dall'ISTAT nell'ambito della Rilevazione su decessi e cause di morte. Per ciascuno dei soggetti linkati sono state prese in considerazione tutte le patologie riportate nel certificato di morte, ovvero le cause multiple di morte. L'utilizzo di tale dato consente di analizzare informazioni aggiuntive rispetto a quelle fornite dalla sola causa iniziale, tipologia di dato tradizionalmente più diffusa nell'ambito delle statistiche ufficiali di mortalità. Lo studio ha analizzato 2.515 certificati di morte di soggetti con AIDS deceduti tra il 2006 ed il 2010, in età compresa tra 35 e 54 anni. La scelta di tale fascia di età è motivata dal fatto che oltre a presentare i livelli di mortalità più elevati, include il 78% dei decessi di soggetti con AIDS nel periodo considerato, pertanto, garantendo la robustezza dell'analisi dettagliata delle cause multiple di morte.

Nei 2.515 soggetti linkati con il Registro Nazionale AIDS, l'81% riportava HIV/AIDS tra le cause di morte (codici ICD-10: B20-B24, R75).

La Figura 1 illustra alcune malattie non incluse nella lista delle patologie definitorie di AIDS frequentemente riportate nei certificati di morte delle persone con AIDS.

In conclusione, lo studio ha evidenziato come l'utilizzo dei dati sulle cause multiple rispetto a quelli riferiti alla sola causa iniziale permetta di far riferimento ad un'informazione più completa riguardo il quadro morboso presente alla morte nel paziente con AIDS e di far emergere il reale contributo al decesso delle patologie non-AIDS correlate a distanza di anni dall'introduzione delle terapie antiretrovirali.

Figura 1. Cause di morte* (patologie non definitive di AIDS) frequentemente riportate nei certificati di decesso delle persone con AIDS. Percentuale di certificati con menzione della causa specifica sul totale dei certificati.



* Per ciascuna descrizione sono riportati tra parentesi i codici della Classificazione Internazionale delle Malattie (ICD-10)

Un secondo studio sempre basato sulle cause multiple di morte ha avuto lo scopo di mettere a confronto in modo completo la mortalità per causa delle persone con AIDS rispetto alle persone senza AIDS.

Questo lavoro svolto a livello nazionale si è basato sull'analisi dei certificati di morte di 2.515 persone italiane con AIDS e 123.224 persone senza AIDS morte tra il 2006 e il 2010. Le condizioni più frequentemente associate alla mortalità delle persone con AIDS, rispetto alle persone senza AIDS, sono state identificate utilizzando un rapporto proporzionale standardizzato per età (ASPR) calcolato come rapporto tra la percentuale standardizzata per età di una causa specifica tra le persone con AIDS e la stessa proporzione tra le persone senza AIDS.

Le condizioni di mortalità più frequentemente riportate tra le persone con AIDS erano malattie infettive / parassitarie (52%), digestive (36%), respiratorie (33%) e circolatorie (32%) e neoplasie (29%). Tutte le condizioni che definiscono l'AIDS sono risultate altamente associate (ASPR significativamente superiore all'unità) con decesso per AIDS. Sono emerse anche associazioni significative per la leishmaniosi (ASPR = 188,0), encefalite / mielite / encefalomielite (ASPR = 14,3), demenza (ASPR = 13,1), epatite virale cronica (ASPR = 13,1), fibrosi / cirrosi epatica (ASPR = 4,4), polmonite (ASPR = 4,4), cancro anali (ASPR = 12,1) e epatici (ASPR = 1,9) e malattia di Hodgkin (ASPR = 3,1). I risultati dello studio hanno identificato il contributo di diverse condizioni che non definiscono l'AIDS sulla mortalità delle persone con AIDS, sottolineando la necessità di interventi preventivi di sanità pubblica rivolti a questa popolazione.

Definizione del materiale informativo-educativo riguardante il reclutamento dei donatori di sangue in relazione al rischio di trasmissione dell'infezione da HIV.

Progetto privo di finanziamento per il 2017. Centro Nazionale Sangue e Dipartimento di Malattie Infettive.

Il progetto è stato messo a punto nel 2016 dal Centro Nazionale Sangue, in collaborazione con il COA e la UO RCF, al fine di migliorare le procedure di selezione del donatore di sangue, con particolare riferimento all'efficacia del materiale informativo come strumento di identificazione di donatori con comportamenti a rischio o ad alto rischio di contrarre l'infezione da HIV.

Il Progetto è proseguito nel 2017 e, nel corso dell'anno, il COA e l'UO RCF sono stati impegnati nella definizione e stesura del nuovo materiale informativo-educativo sull'HIV, altresì, nella formulazione di un nuovo questionario post-donazione destinato alla raccolta dei dati sulla sorveglianza epidemiologica dei donatori di sangue risultati positivi ai marcatori di infezione per HIV, epatite B, epatite C e sifilide.

Il materiale informativo-educativo elaborato è volto alla sensibilizzazione e all'informazione dei donatori di sangue in relazione al rischio di trasmissione dell'infezione da HIV, comprensivo delle informazioni in merito alla disponibilità del test HIV presso strutture sanitarie diverse dai servizi trasfusionali.

I risultati dello studio saranno parte integrante del decreto del Ministero della Salute che sarà approvato e pubblicato nel 2018 e affiancherà la normativa trasfusionale già esistente.

Di seguito i principali contenuti del materiale informativo:

I dati epidemiologici dimostrano che in Europa stanno riemergendo alcune infezioni sessualmente trasmesse; tra queste, particolare rilevanza assume l'HIV (virus responsabile dell'AIDS). Nonostante in Italia l'incidenza dell'infezione da HIV sia in lenta ma costante diminuzione, nuove diagnosi vengono ancora registrate ogni anno soprattutto nella fascia d'età compresa tra 30 e 49 anni. Attualmente la trasmissione sessuale rappresenta la modalità principale di diffusione dell'HIV in Italia (fonte dati: COA, ISS). Molte persone scoprono tardivamente di essere HIV positive, quando sono già in fase avanzata di malattia, in quanto non ritengono di essersi esposte ad un contatto a rischio. Come è ben noto l'HIV si può trasmettere:

- attraverso rapporti sessuali non protetti da preservativo;
- da madre HIV positiva a feto/neonato;
- attraverso sangue infetto. È bene ricordare che analoghe modalità di trasmissione riguardano anche epatite B ed epatite C e sifilide.