

istituito nel 1987 dalla Commissione Nazionale per la Lotta contro l'AIDS e co-finanziato dal Ministero della Salute e dall'Istituto Superiore di Sanità, ha rappresentato la prima esperienza di AIDS Help-line pubblica, a copertura nazionale, impegnata nella prevenzione primaria e secondaria dell'infezione da HIV e delle altre IST rivolta alla popolazione generale italiana e straniera. A tutt'oggi l'intervento di counselling telefonico continua a rappresentare una delle risposte più efficaci nelle strategie di prevenzione dell'infezione da HIV e delle IST, promosse dal Ministero della Salute. L'impatto positivo di tale impostazione è da ricercare nell'opportunità di erogare alla persona/utente, attraverso un colloquio specialistico mirato e non direttivo, informazioni scientifiche trasformate in messaggi personalizzati, utili per facilitare la messa in atto di modifiche comportamentali e decisionali necessarie per la riduzione dei comportamenti a rischio. Il gruppo di esperti del TV AIDS e IST è costituito da ricercatori con diverse professionalità (medici, psicologi, esperti in comunicazione e legali), nonché da collaboratori tecnici enti di ricerca. L'HIV/AIDS/IST counselling telefonico è svolto in anonimato e gratuitamente, dal lunedì al venerdì, dalle ore 13.00 alle ore 18.00; gli esperti rispondono anche in lingua inglese. Tale intervento, permette all'utente di esprimere dubbi, perplessità, paure e, al contempo, di ricevere informazioni conformi ai suoi reali bisogni, rappresentando una vera e propria relazione professionale tra un operatore con competenze tecnico-scientifiche e comunicativo-relazionali specifiche e una persona/utente che esprima una richiesta, un bisogno, una necessità.

Dal 2012, il Servizio, nei giorni di lunedì e giovedì dalle ore 14.00 alle ore 18.00, si avvale della presenza di un consulente in materia legale.

Da luglio 2014 in occasione dell'avvio del Semestre di Presidenza italiano in Europa è stato attivato il contatto Skype *uniticontrolaids* (il lunedì e il giovedì dalle ore 14.00 alle ore 17.00) per erogare un intervento di counselling telefonico anche a coloro i quali vivano all'estero.

Il TV AIDS e IST, dal 2008 coordina il Network Italiano *ReTe AIDS* composto da 17 Servizi di HIV/AIDS/IST counselling telefonico (compreso lo stesso TV AIDS e IST), appartenenti a strutture pubbliche e non governative, presenti in diverse Regioni del Nord, Centro e Sud Italia. Nell'anno 2018, sono pervenute al Network *ReTe AIDS* complessivamente un totale di 19.619 telefonate.

Inoltre, dal 1° dicembre 2017 è stata avviata una collaborazione integrata tra il Dipartimento di Studi Linguistici e Culturali Comparati dell'Università Cà Foscari Venezia e l'UO RCF, che ha consentito l'attivazione di un canale informativo mirato alle persone sorde, attraverso l'istituzione di un Servizio e-mail dedicato <[tvalis@iss.it](mailto:tvalis@iss.it)>, al quale accedere per un intervento di prevenzione personalizzato, gratuito e basato sulla scrittura.

Nell'arco del lungo periodo di attività (1987-2018) gli esperti del TV AIDS e IST hanno risposto a 791.653 telefonate per un totale di 2.178.065 quesiti. Nello specifico, dal 1° gennaio al 31 dicembre

2018, il TV AIDS e IST ha ricevuto un totale di 12.776 telefonate, delle quali 10.816 (84,7%) provenienti da persone di sesso maschile, 1.959 (15,3%) da persone di sesso femminile e 1 da persona transessuale. La distribuzione per classi di età evidenzia come siano soprattutto gli utenti di età compresa fra i 20 e i 39 anni (64,3%) a rivolgersi al Servizio e, in particolare, il 27,8% fra i 20 e i 29 anni ed il 36,5% tra i 30 e i 39 anni. L'età mediana è di 35 anni (range interquartile 28-42). Nella Figura 1 sono rappresentate le frequenze assolute delle telefonate ricevute per sesso e classi d'età.

**Figura 1. Distribuzione delle telefonate ricevute per sesso e classi di età - Frequenze assolute**

Per quanto riguarda la distribuzione geografica, dal Nord Italia sono giunte 5.744 telefonate (44,9%), dal Centro 3.653 (28,6%), dal Sud 2.460 (19,3%), dalle Isole 883 (6,9%), per 36 (0,3%) tale dato risulta mancante. Sulla base dei tassi per 100.000 abitanti<sup>1</sup> si evince che il numero maggiore di telefonate è pervenuto, in rapporto alla popolazione residente, dalle regioni del Centro Italia (Figura 2). Le prime 4 province dalle quali si registra una più alta affluenza di telefonate sono nell'ordine: Roma (14,2%), Milano (10,6%), Napoli (6,1%) e Torino (5,1%).

**Figura 2. Distribuzione delle telefonate per aree geografiche – Tassi per 100.000 abitanti**

Nel corso del 2018, oltre i due terzi delle telefonate giunte al TV AIDS e IST sono da attribuirsi a persone che hanno dichiarato di aver avuto rapporti eterosessuali (65,6%). Fra questi sono inclusi anche i clienti di prostitute e di transessuali (22,7%), target non facile da individuare e da raggiungere, che sembra preferire l'interazione telefonica per ricevere informazioni in merito ai comportamenti a rischio di IST.

Per quanto riguarda gli altri gruppi di utenti che più spesso si sono rivolti al Servizio, si riscontrano, nel 23,1% dei casi, persone che, pur non avendo messo in atto comportamenti a rischio (Non Fattori Di Rischio - NFDR), temono di essersi esposti al contagio da HIV o da altri agenti eziologici.

Nel corso del 2018, la percentuale di “Nuove Telefonate” è pari al 57,6%. Si tratta di 7.307 persone che hanno scelto di rivolgersi per la prima volta al TV AIDS e IST, spesso a seguito dell'utilizzo di social network, forum e motori di ricerca.

---

<sup>1</sup>Calcolati sulla Popolazione residente al 1 gennaio 2018– dati ISTAT

Dai dati si può ricavare un'ulteriore significativa informazione circa la proporzione di telefonate nelle quali gli utenti dichiarano di aver effettuato, almeno una volta nella vita, il test per la ricerca degli anticorpi anti-HIV; nel 2018 tale quota è pari al 35,7%.

Dal 1° gennaio al 31 dicembre 2018 i quesiti formulati dagli utenti, all'interno del colloquio di HIV/AIDS/IST counselling telefonico, sono stati complessivamente 46.437 e hanno riguardato principalmente: le modalità di trasmissione dell'HIV e delle altre IST (34,8%); le informazioni sui test, dove effettuarli, dopo quanto tempo da una situazione a rischio e con quali modalità (26,2%); gli aspetti psico-sociali su: sostegno psicologico, privacy, discriminazione, previdenza e assistenza (11,1%); dubbi derivanti dalla disinformazione (9,7%).

In riferimento alla popolazione giovanile (15 - 24 anni), nel 2018 il TV AIDS e IST ha ricevuto 1.476 telefonate (pari al 11,6% del totale delle telefonate), di queste 1.220 (82,6%) pervenute da utenti di sesso maschile e 256 (17,4%) da utenti di sesso femminile.

#### Attività di HIV/AIDS/IST counselling telefonico in materia legale.

Dal febbraio 2012 ad oggi sono pervenute 612 richieste di consulenza per un totale di 728 quesiti prevalentemente su tematiche riguardanti aspetti legislativi in materia di HIV/AIDS/IST.

Nel solo anno 2018, 90 persone si sono rivolte al TV AIDS e IST, chiedendo chiarimenti e indicazioni di natura legale. Gli utenti che usufruiscono dell'intervento di counselling in materia legale, in linea con quanto già rilevato dalla panoramica totale delle telefonate, sono in maggioranza persone di sesso maschile (57,8%).

L'età mediana di tali utenti è di 45 anni (range interquartile 37-53). La percentuale di persone con l'HIV che hanno richiesto una consulenza legale è pari al 63,3% del totale e risulta anche significativa la percentuale (20,0%) di persone-utenti "Non Fattori Di Rischio" che telefonano in quanto parenti di persone con HIV. Il Nord Italia è l'area del Paese da cui proviene la più alta percentuale di richieste di consulenza legale (52,2%).

I quesiti posti dagli utenti riguardano per lo più aspetti di legislazione su HIV/AIDS, specie con riferimento alle implicazioni dell'infezione in ambito lavorativo (28,4%), tematiche concernenti la violazione della privacy (31,4%) trasversali alla maggior parte dei colloqui, nonché questioni inerenti previdenza e assistenza, invalidità civile, pensioni, permessi ex legge n. 104 del 05.02.1992 (14,1%).

Tra le richieste di assistenza su problematiche relative alla violazione della riservatezza, più frequenti in ambito lavorativo, (a seguire in contesti di istruzione, formazione e in organizzazioni o club sportivi) si rileva anche un aumento di segnalazioni da parte di persone che sono state selezionate per partecipare a *reality show* o programmi di cucina e alle quali le società di produzione

hanno chiesto di presentare certificazioni mediche comprendenti il test HIV. Tale prassi è del tutto immotivata e contrastante con le disposizioni della Legge n. 135/1990. Lo stato sierologico delle persone che partecipano a qualunque titolo a questi programmi non può infatti essere oggetto di indagine, diretta o indiretta, da parte degli organizzatori.

Negli anni, poi, si è progressivamente assistito ad un sensibile incremento dei quesiti riguardanti la mobilità transnazionale delle persone con HIV, per ragioni lavorative o per turismo, con richieste volte a conoscere gli assetti normativi dei Paesi di destinazione, nonché i rischi di viaggiare portando con sé scorte di farmaci antiretrovirali. Dagli interventi di counselling telefonico è emerso quanto tale problematica possa essere particolarmente complessa nei casi in cui il trasferimento avvenga per motivi lavorativi e la nazione di destinazione richieda verifiche sanitarie in ingresso per tutti gli stranieri che si stabiliscono sul suo territorio. I profili di tutela della riservatezza anche in queste specifiche situazioni assumono una dimensione rilevante, poiché la rivelazione dello stato di positività può avere pesanti ricadute tanto sulla possibilità di stabilirsi nel paese in questione quanto, talvolta, sul mantenimento stesso del posto di lavoro.

Nella maggior parte dei casi i quesiti posti risultano essere articolati e complessi, sottendendo prevalentemente questioni di ordine amministrativo/legale. Non di rado è accaduto che, nel corso dell'intervento di counselling, la reale richiesta della persona-utente risultasse essere in tutto o in parte diversa da quella inizialmente formulata. In altri casi, la risposta del consulente legale ha favorito l'esplicitazione di ulteriori nuovi bisogni di informazioni/chiarimenti, ai quali è stato fornito un immediato e competente riscontro.

*Dati relativi all'attività di HIV/AIDS/IST counselling telefonico svolta dai Servizi della ReTe AIDS nel periodo gennaio - dicembre 2018.*

Dal 1° gennaio al 31 dicembre 2018, i Servizi della *ReTe AIDS\** hanno ricevuto un totale di 6.843 telefonate. I dati riportati in questo paragrafo si riferiscono esclusivamente ai 17 Servizi di HIV/AIDS/IST della Rete AIDS, sono quindi esclusi i dati delle telefonate pervenute al TV AIDS e IST dell'Istituto Superiore di Sanità, illustrati nel dettaglio nei precedenti paragrafi. Le analisi statistiche sono state effettuate aggregando i dati provenienti da 17 Servizi.

Le telefonate sono state effettuate per lo più da utenti di sesso maschile, 5.482 (80,2%); 1.358 (19,8%) da persone di sesso femminile e 2 (0,0%) da persone transessuali, mentre 1 (0,0%) telefonata è stata effettuata da una persona che ha dichiarato di essere transgender.

La distribuzione per classi di età evidenzia come siano soprattutto le persone di età compresa fra i 25 e i 44 anni (59,5%) a rivolgersi ai Servizi della ReTe AIDS, l'età mediana degli utenti è di 35 anni (range interquartile 28-42). Nella Figura 3 sono rappresentate le frequenze assolute delle telefonate ricevute per sesso e classi d'età.

**Figura 3 - Distribuzione delle telefonate ricevute per sesso e classi di età - Frequenze assolute**

Per quanto riguarda la distribuzione geografica, dal Nord Italia sono giunte 4.521 telefonate (66,1%), dal Centro 1.449 (21,2%), dal Sud 586 (8,6%), dalle Isole 249 (3,6%) per 38 (0,6%) tale dato risulta mancante. Sulla base dei tassi per 100.000 abitanti<sup>2</sup> si evince che il numero maggiore di telefonate è pervenuto, in rapporto alla popolazione residente, dalle regioni del Nord Italia

Nel corso del 2018, oltre la metà delle telefonate giunte ai Servizi della *ReTe AIDS* sono da attribuirsi a persone che hanno dichiarato di aver avuto rapporti eterosessuali (58,7%). Per quanto riguarda gli altri gruppi di utenti il 19,8% delle telefonate, sono state effettuate da persone che non hanno messo in atto alcun comportamento a rischio (Non Fattori Di Rischio - NFDR). In una proporzione di telefonate pari al 9,0% la persona dichiara di essere omo-bisessuale. Mentre la proporzione di telefonate eseguite da persone con HIV non supera il 2%. Nel corso del 2018, la percentuale di “Nuove Telefonate” è pari al 81,3%. Dal 1° gennaio al 31 dicembre 2018 i quesiti formulati dagli utenti agli esperti dei Servizi della *ReTe AIDS*, sono stati complessivamente 12.000 e, hanno riguardato per il 41,1% informazioni sui test (dove effettuarli, dopo quanto tempo da una situazione a rischio e con quali modalità) e per il 34,4% modalità di trasmissione dell'HIV e delle altre IST. La disinformazione riguarda il 6,2% delle telefonate pervenute.

Dall'analisi dei dati sono emerse differenze statisticamente significative per quanto riguarda la distribuzione dei quesiti per sesso. Prendendo, infatti, in considerazione i due gruppi di quesiti che emergono con maggiore frequenza negli interventi di HIV/AIDS/IST effettuati dai Servizi della *ReTe AIDS*, gli uomini sono risultati i più interessati alle modalità di trasmissione degli agenti responsabili delle IST e particolarmente dell'HIV, mentre le donne sono risultate più interessate alle informazioni inerenti alle modalità di accesso e fruizione degli esami diagnostici (Test chi-quadro, p-value <0,001).

---

<sup>2</sup>Calcolati sulla Popolazione residente al 1 gennaio 2018– dati ISTAT.

\***Servizi della ReTe AIDS:** ANLAIDS Sez. Laziale – Roma; ANLAIDS Sez. Lombarda G.V.M.A.S. – Milano; ANLAIDS Sez. Piemontese – Torino; ASA-Associazione Solidarietà AIDS Onlus – Milano; ASL Roma2/D11 - Unità Operativa II Liv. A.I.D.S. Reg. – Roma; Associazione / Verein Pro Positiv Südtiroler AIDS HILFE – Bolzano; Associazione ARCOBALENO AIDS – Torino; Associazione Spazio Bianco AIDS – Perugia; Centro Giusy InformAIDS – Salerno; Centro MTS ASL Milano 2 - Medicina Preventiva - Melzo – Milano; Filo diretto-TELEFONO VERDE AIDS Emilia Romagna – Bologna; Gruppo C dell'ULSS 20 della Regione Veneto – Verona; Linea Telefonica HIV/MTS – Milano; Linea Telefonica HIV/MTS – Milano; Linea Verde AIDS - ASL Napoli 1 Centro – Napoli; S.O.S. Salute - ALA – Milano; Segreteria AIDS-Caritas Ambrosiana – Milano; Telefono Verde AIDS e IST dell'Istituto Superiore di Sanità – Roma; Unità HIV – Fondazione Villa Maraini Onlus – Roma.

Questi dati, come già rilevato per le telefonate pervenute al TV AIDS e IST, suggeriscono l'opportunità che nella predisposizione di interventi di prevenzione, sia a livello locale/regionale, sia a livello nazionale, si tenga conto delle differenze di genere e si attuino azioni diversificate per uomini e per donne.

In conclusione, l'ampia panoramica fornita dai dati raccolti durante l'attività di HIV/AIDS/IST counselling telefonico indica che un notevole numero di persone continua a contattare gli esperti, scegliendo il mezzo telefonico e la modalità in anonimato per esprimere i propri bisogni informativi sulle IST, chiarire dubbi in materia legale e avere indicazioni relative ai servizi psico-socio-sanitari presenti sul territorio nazionale impegnati nella prevenzione, diagnosi e cura delle diverse infezioni. Il risultato che ne scaturisce è una proficua sinergia che consente di avvicinare in modo diretto ed efficace fasce di popolazione che altrimenti potrebbero non essere raggiunte da appropriati interventi di prevenzione nell'area delle IST.

Alla luce di quanto sopra esplicitato il Telefono Verde AIDS e IST rappresenta, ancora oggi, una struttura di prevenzione in grado di rispondere con competenza comunicativa e rigore scientifico alle richieste poste dagli utenti e fornire indicazioni aggiornate sulle modalità di accesso ai centri diagnostico-clinici per l'esecuzione dei diversi test, costituendo, al contempo, un contesto elettivo per la conduzione di *survey telefoniche*, utili a fornire dati e informazioni inerenti i comportamenti a rischio nell'area sessuale di specifici target, dati e informazioni sulla base dei quali implementare interventi di Sanità Pubblica per il controllo delle IST.

**Sito “Uniti contro l’AIDS” – la comunicazione online dell’Unità Operativa Ricerca psico-socio-comportamentale, Comunicazione, Formazione, Dipartimento Malattie Infettive.**

*Servizio co-finanziato dal Ministero della Salute e dall’Istituto Superiore di Sanità.*

L'intervento di counselling erogato dagli esperti del Telefono Verde AIDS e IST, anche per l'anno 2018, è stato integrato da una comunicazione online per la prevenzione delle IST. Nello specifico, i ricercatori dell'UO RCF hanno interagito con la popolazione generale attraverso il Sito Uniti contro l'AIDS [link [www.uniticontrolaids.it](http://www.uniticontrolaids.it)], l'account [Twitter @UniticontrolAIDS](https://twitter.com/UniticontrolAIDS), il Servizio Skype [uniticontrolaids](https://www.skype.com/it/uniticontrolaids) e il canale [YouTube uniticontrolaids](https://www.youtube.com/channel/UC...).

Le attività online hanno riguardato principalmente la creazione di 97 nuovi argomenti, tra news, eventi e iniziative presenti sul Sito e la viralizzazione dei video della Campagna del Ministero della Salute “*Con l’HIV non si scherza, proteggiti te stesso e gli altri!*” tramite la realizzazione di una

campagna creata ad hoc [\[link\]](#) per rendere tale intervento di prevenzione quanto più efficace possibile. Un'ulteriore iniziativa è stata “*Uniti contro l'AIDS Challenge*” [\[link\]](#), che si colloca all'interno del Progetto “*Prevenzione AIDS problematiche adolescenziali: anno scolastico 2017/2018*” condotto dagli operatori sanitari del Servizio per l'HIV e l'AIDS dell'ASL RM2 Distretto 8 di Roma. Ciò a conferma che Uniti contro l'AIDS rappresenti un valido strumento, versatile ed efficace.

Tutti i diversi contenuti, affiancati dall'attività di social media marketing, hanno permesso di raggiungere, in termini di traffico sul sito Uniti contro l'AIDS circa 193.000 utenti per un totale di oltre 229.000 sessioni e 471.000 visualizzazioni di pagina.

Un aspetto importante è che tra i *referral* del Sito sono presenti i siti web di oltre 90 Scuole Secondarie di Secondo Grado dislocate su tutto il territorio nazionale.

In tal modo, attraverso la presenza di Uniti contro l'AIDS su siti e social delle Scuole, è garantito un contatto diretto con un target strategico (i giovani, i giovanissimi, gli educatori e le persone a loro vicine) nella lotta alle IST.

In riferimento alle attività di prevenzione su HIV/AIDS/IST del Ministero della Salute, il sito Uniti contro l'AIDS e il Servizio TV AIDS e IST hanno supportato le proposte della Terza Giornata Nazionale della Salute della Donna [\[link\]](#) e le iniziative realizzate in occasione del 1 dicembre 2018, Giornata Mondiale di Lotta contro l'AIDS.

Per quanto riguarda le attività di prevenzione Uniti contro l'AIDS e TV AIDS e IST hanno dato un efficace contributo nell'area della comunicazione con il lancio del nuovo Servizio [tvalis@iss.it](mailto:tvalis@iss.it) dedicato alle persone sorde, nonché nell'area della ricerca psico-socio-comportamentale con la promozione e la conduzione del sondaggio “Le donne e la prevenzione delle Infezioni Sessualmente Trasmesse”. I due Servizi hanno attivamente partecipato alla “*Notte Europea dei Ricercatori*”, coinvolgendo il pubblico in una mostra interattiva dal titolo “*Le Infezioni Sessualmente Trasmesse: diventa parte attiva nella prevenzione*” e, successivamente procedendo alla pubblicazione di una espansione online [\[link\]](#).

L'account Twitter di Uniti contro l'AIDS ha permesso di avere un dialogo aperto, diretto e rapido con la popolazione generale e, al tempo stesso, con influencer su temi della prevenzione dell'HIV e delle altre IST. L'impiego di piattaforme digitali come Tweetdeck, l'utilizzo degli hashtag e la ricerca per argomenti chiave ha consentito di “ascoltare” la Rete, di intervenire e di ricevere riscontri in tempo reale. Sempre nell'ottica di avere un Sito il più interattivo possibile, le pagine collegate al database del TV AIDS e IST (dove sono presenti i Centri diagnostico-clinici per le IST, i Centri di cura delle MTS e delle Epatopatie, i Centri appartenenti alla Rete Odontoiatria Pubblica e Malattie Infettive, i Centri di PMA anche per coppie con HIV e le Associazioni di volontariato) sono state

integrate da un sistema che permette agli stessi utenti di segnalare alla Redazione eventuali discrepanze tra ciò che è pubblicato (in base a quanto riferito dagli stessi referenti delle strutture) e la corrispondenza nella realtà.

L'analisi, per anno, dei contatti al Sito Uniti contro l'AIDS, rileva come la “viralizzazione” ad ottobre 2018 della Campagna “*Questa sera non ti dico no. Però usiamo il preservativo!*”, abbia avuto impatto anche nei mesi successivi, mostrando l'efficacia dell'operazione, a riprova che il sito Uniti contro l'AIDS rappresenti oggi un consolidato Servizio di informazione scientifica per quanti usufruiscano del web su temi cruciali di salute pubblica (Figura 1).

***Figura 1- Andamento Contatti Sito Uniti contro l'AIDS gennaio 2014 – dicembre 2018***



## **2.2 ATTIVITA' DI RICERCA**

L'attività ISS di ricerca nel campo dell'HIV/AIDS è finanziata da Programmi di Organizzazioni e Istituzioni nazionali ed internazionali, quali il Ministero della Salute, Ministero degli Affari Esteri, AIFA e i programmi europei ed extraeuropei. Nel 2018, l'attività di ricerca ha compreso: la ricerca biomedica, programmi di prevenzione e di monitoraggio dell'infezione da HIV e le malattie e tumori ad essa associate nonché la ricerca psico-socio-comportamentale.

### **RICERCA BIOMEDICA**

La ricerca biomedica in ISS, nel campo dell'HIV/AIDS, comprende progetti finanziati da Programmi nazionali ed internazionali. Le attività di ricerca sono, di seguito, brevemente descritte.

#### **Finanziamenti Nazionali**

##### **Structure and biology of the Tat/Env complex and role of anti-Tat/Env antibodies in HIV infection: implication for HIV/AIDS preventative vaccine development.**

*Progetto finanziato dalla Ricerca Finalizzata – Ministero della Salute. Centro Nazionale per la Ricerca su HIV/AIDS.*

Scopo del progetto è la determinazione del ruolo del complesso Tat/Env nella patogenesi dell'infezione da HIV e le implicazioni di queste nuove acquisizioni sullo sviluppo di vaccini contro l'HIV/AIDS.

A seguire sono illustrati i risultati ottenuti nel 2018 nell'ambito di un progetto triennale volto alla definizione del ruolo di cellule dendritiche (DC) ed endoteliali (EC) nella patogenesi dell'infezione da HIV, ed in particolare di come questa sia modulata da Tat, il transattivatore della trascrizione virale che è attivamente rilasciato in forma biologicamente attiva dalle cellule infette ed esercita numerosi effetti su cellule sia infette sia non infette, con il risultato di promuovere l'infezione primaria, la propagazione del virus nell'organismo, la formazione di serbatoi virali, la riattivazione nei soggetti in trattamento antiretrovirale.

In questo scenario, i risultati di questo progetto arricchiscono di un nuovo capitolo il complesso e molteplice ruolo svolto da Tat extracellulare nella patogenesi dell'infezione da HIV, un ruolo così importante che ci ha condotto alla scelta di Tat come candidato per un vaccino preventivo o terapeutico per l'HIV/AIDS.

A questo riguardo, gli studi condotti nel biennio precedente avevano portato ad acquisizioni importanti e di potenziale rilevanza clinica in quanto indicano che il test di neutralizzazione dell'entrata del complesso Tat/Env in DC da parte di anticorpi anti-Tat i) consente di identificare con ampio anticipo chi andrà incontro alla riduzione di DNA provirale, riserva silente di HIV in soggetti in terapia antiretrovirale efficace e maggiore ostacolo all'eradicazione del virus, ii) dimostra l'ampio

spettro di ceppi virali riconosciuti dagli anticorpi indotti dal vaccino Tat, iii) fornisce uno strumento indispensabile per valutare la responsività al vaccino e la persistenza di risposte associate ad un andamento favorevole dell'infezione.

Come previsto nel progetto, abbiamo poi investigato se, in analogia a quanto dimostrato per le DC, la proteina Tat promuovesse l'ingresso del virus e/o l'infezione anche di altri tipi cellulari. A questo riguardo la nostra attenzione si è concentrata sulle cellule endoteliali (EC) perché studi pregressi avevano dimostrato che EC, attivate da citochine infiammatorie alle concentrazioni presenti nel siero di soggetti HIV-1+, acquisivano la capacità di legare ed internalizzare Tat.

I risultati ottenuti si possono brevemente sommarizzare come segue:

Cellule endoteliali (EC) primarie (HUVEC) internalizzano Tat biologicamente attivo con modalità che dipendono dallo stato di attivazione e dalla dose di Tat utilizzata. In particolare abbiamo confermato nei nostri modelli sperimentali che EC acquisiscono la capacità ad internalizzare Tat solo se attivate dall'esposizione a citochine infiammatorie a concentrazioni comparabili a quelle presenti nel siero di soggetti HIV-1+.

La cinetica temporale del processo d'entrata di Tat in IC-HUVEC è estremamente breve, raggiungendo il massimo già dopo 5 min di incubazione.

L'internalizzazione richiede che Tat sia in forma nativa, biologicamente attivo, ed il processo è energia-dipendente, perché viene abolito a 4 °C.

il dominio RGD e la regione basica di Tat sono necessari per l'endocitosi, rispettivamente, di concentrazioni nano- e micro- molar di Tat da parte di IC-HUVEC, come dimostrato da esperimenti di competizione con fibronectina e vitronectina e di blocco con mAbs contro le integrine  $\alpha_5\beta_1$ ,  $\alpha_v\beta_3$  e  $\alpha_v\beta_5$ , e dalla dimostrazione che Tat e  $\alpha_v\beta_3$  colocalizzano in IC-HUVEC.

Tat lega la forma oligomerica (funzionale) dell'involucro (Env) di HIV e ne media l'entrata in IC-HUVEC, internalizzazione abrogata da mAbs anti-integrine.

Il dato biologico è stato confermato negli studi strutturali condotti in collaborazione con la Prof. Banci: i modelli strutturali d'interazione con Env basati sui calcoli di docking dimostrano infatti che il dominio RGD di Tat è esposto e lega  $\alpha_v\beta_3$ . Pertanto, è possibile che Tat complessato all' Env presente sulla membrana virale medi l'infezione di EC attivate.

A questo riguardo, EC presenti nel tessuto linfoide di soggetti infetti con HIV-1 sono risultate fortemente positive per HIV-1 Tat e p24-Gag a conferma della potenziale rilevanza biologica del dato acquisito sperimentalmente in vitro che ci ha suggerito di proseguire nella valutazione del ruolo di Tat nell'infezione di EC.

Abbiamo pertanto intrapreso studi con il virus HIV e dimostrato che Tat abbassa la soglia di suscettibilità all'infezione con HIV-1 di IC-HUVEC e ne promuove la replicazione, e che in assenza di Tat l'infezione è assente o abortiva.

### Conclusioni.

Nel corso del progetto, conclusosi nel novembre 2018, sono stati confermati ed estesi gli studi sulla neutralizzazione dell'ingresso del complesso Tat/Env in cellule dendritiche da parte degli anticorpi anti-Tat indotti in corso di vaccinazione terapeutica con Tat in volontari infettati con virus omologo al vaccino (italiani, sottogruppo B) od eterologo (sudafricani, sottogruppo C). L'induzione o l'incremento da parte del Tat B di anticorpi che riconoscono Tat di altri sottogruppi (A, C, D) indica una potenziale valenza universale del vaccino Tat.

Abbiamo poi dimostrato che le cellule endoteliali attivate da citochine infiammatorie diventano in presenza di Tat extracellulare permissive all'infezione produttiva da HIV, un dato di estrema rilevanza in considerazione del fatto che le EC rappresentano uno dei tipi cellulari più rappresentati nell'organismo (circa il 7% di tutte le cellule) e, in base ai nostri dati sperimentali ed ai dati rilevati nei tessuti di soggetti infetti, un serbatoio virale potenzialmente molto importante.

Il passo successivo, stante la disponibilità di nuovi finanziamenti, sarà l'allestimento di un test di neutralizzazione dell'entrata dell'Env (surrogato del virus) in IC-HUVEC per valutare se gli anticorpi anti-Tat, sia quelli che si sviluppano nel corso dell'infezione naturale in una minoranza di soggetti infetti, sia quelli indotti nella quasi totalità dei soggetti dopo vaccinazione con Tat, blocchino questo meccanismo di propagazione e accumulo dell'HIV in cellule endoteliali.

### **Studi clinici sull'immunità naturale anti-Tat e sul vaccino basato sulla proteina Tat in Italia.**

*Progetto finanziato dal Ministero della Salute. Centro Nazionale per la Ricerca su HIV/AIDS.*

In studi preclinici condotti dal Centro Nazionale per la Ricerca su HIV/AIDS, è stato dimostrato che la proteina Tat, nella sua forma biologicamente attiva, è sicura ed induce una risposta immune specifica ed efficace, in quanto in grado di controllare la replicazione del virus e di bloccare lo sviluppo della malattia in primati non umani (*Macaca fascicularis*). Sulla base di questi incoraggianti risultati, l'ISS ha sponsorizzato una sperimentazione clinica multicentrica di fase I del vaccino anti-HIV/AIDS basato sulla proteina Tat di HIV-1 in individui sieronegativi (approccio preventivo, ISS P-001) e sieropositivi (approccio terapeutico, ISS T-001), arruolati in 3 centri clinici

in Italia. Lo studio ha dimostrato sia la sicurezza del candidato vaccinale somministrato a differenti dosi, sia la sua elevata capacità di indurre un'ampia risposta immunitaria (sia anticorpale che cellulo-mediata). Il programma di sviluppo clinico del vaccino Tat, finanziato dal Ministero della Salute è proseguito con una sperimentazione clinica terapeutica di fase II, randomizzata ed *open label*, condotta su 168 soggetti HIV-infetti in trattamento HAART, arruolati in 11 centri clinici in Italia (ISS T-002). I risultati dello studio non solo hanno confermato l'immunogenicità e la sicurezza dell'immunizzazione terapeutica con la proteina Tat, ma hanno indicato anche che questa vaccinazione è in grado di ridurre significativamente la disregolazione immunitaria e l'immunoattivazione che persistono nonostante la terapia antiretrovirale, promuovendo il ritorno del sistema immunitario all'omeostasi. Inoltre, l'immunizzazione con Tat ha indotto nel sangue periferico una riduzione significativa dei livelli di DNA provirale di HIV. Tale riduzione è associata alla presenza di anticorpi anti-Tat capaci di neutralizzare l'entrata di Env mediata da Tat in cellule bersaglio. Questi risultati hanno confermato il ruolo centrale della proteina Tat nella patogenesi dell'infezione, della riattivazione cellulare, della trasmissione da cellula-cellula e nella formazione dei reservoir virali, e la validità di questo candidato vaccinale nell'immunizzazione terapeutica.

Al fine di valutare la persistenza nel tempo degli effetti immuno-virologici indotti dall'immunizzazione terapeutica con la proteina Tat, è stato condotto uno studio osservazionale (ISS T-002 EF-UP) con l'obiettivo di estendere il follow-up dei pazienti che hanno preso parte allo studio di fase II ISS T-002. In particolare, lo scopo dello studio era l'acquisizione di informazioni sulla persistenza delle risposte anticorpali indotte dalla vaccinazione e sugli effetti nel tempo sul DNA provirale. I risultati di questo studio, attivato nel 2011 e concluso nel 2016, confermano il persistere fino a 8 anni di anticorpi specifici e dell'immunoricostituzione promossi dal vaccino Tat. In particolare, i livelli di linfociti T CD4<sup>+</sup> sono continuati ad aumentare durante il corso dello studio, con aumenti di circa 100 cellule/ $\mu$ l rispetto ai livelli basali (pre-vaccinazione) a partire dal 4° anno di follow-up, anche in soggetti con un nadir di linfociti T CD4<sup>+</sup>  $\leq$ 250 cellule/ $\mu$ l, un marcatore associato con un ridotto recupero immunologico dopo terapia e prognosi infausta sul lungo termine. La stratificazione di questi risultati secondo il livello di linfociti T CD4<sup>+</sup> al basale indica che il recupero immunologico è particolarmente evidente nei pazienti che hanno livelli di linfociti T CD4<sup>+</sup> particolarmente ridotti e quindi più immunocompromessi.

L'immunoricostituzione promossa dal vaccino Tat è associata ad una progressiva riduzione del serbatoio di DNA provirale di HIV a partire dal 3° anno dopo l'immunizzazione, che è continuata per tutti gli 8 anni di follow-up.

Il DNA provirale costituisce un “serbatoio di virus latente” che rimane invisibile al sistema immunitario ed è inattaccabile dalla terapia cART. Il calo di DNA provirale è avvenuto con una velocità in media 4-7 volte maggiore di quella osservata in studi analoghi in pazienti trattati solo con cART. Nei volontari vaccinati, inoltre, la riduzione del serbatoio di virus latente si è associata ad un aumento delle cellule T CD4+ e del rapporto delle cellule T CD4+/CD8+, considerati parametri importanti di ricostituzione del sistema immune. Livelli molto bassi di DNA provirale ed un elevato rapporto dei linfociti T CD4+/CD8+ sono presenti anche in rari pazienti denominati post-treatment controllers, che sono in grado di controllare spontaneamente la riattivazione della replicazione virale dopo aver sospeso la terapia.

Nel loro insieme questi dati indicano che la vaccinazione con Tat possa conferire ai pazienti la capacità di divenire “post-treatment controllers”, cioè di controllare il virus senza assunzione di farmaci per periodi di tempo la cui durata dovrà essere valutata con specifici studi clinici. Pertanto, i risultati dello studio aprono la strada a studi di interruzione programmata e controllata della terapia nei volontari in trattamento con cART vaccinati con Tat, attualmente in corso di pianificazione proprio allo scopo di verificare questa ipotesi.

Sempre nell'ambito di questo programma, sono proseguite le valutazioni immuno-virologiche previste nell'ambito degli studi osservazionali condotti Centro Nazionale per la Ricerca su HIV/AIDS per valutare la frequenza intensità e persistenza delle risposte immuni naturali dirette contro la proteina Tat ed il loro impatto sulla malattia in soggetti HIV+ in trattamento HAART o naive alla terapia (studi ISS OBS T-002 e ISS OBS T-003, rispettivamente), attivati nel 2007 e completati nel 2012. Inoltre nel corso del 2018 è stato preparato ed approvato dalla autorità etiche, amministrative e regolatorie competenti un nuovo studio osservazionale longitudinale volto a identificare gli effetti della proteina Tat e della risposta immunitaria anti-Tat (naturale o indotta da vaccinazione con Tat) nella formazione e mantenimento dei serbatoi dell'HIV-1 nel sangue periferico di pazienti infetti da HIV in trattamento con terapia antiretrovirale (cART) (ISS OBS T-005). Lo studio viene svolto in collaborazione con gli Istituti Fisioterapici Ospitalieri (IFO) - S. Galliciano, Roma, e prevede l'arruolamento di circa 100 volontari suddivisi in 2 gruppi di 50 partecipanti sulla base della presenza o meno di una risposta immunitaria umorale anti-Tat, L'obiettivo principale dello studio è la valutazione del tasso di riduzione del DNA totale dell'HIV nel sangue di pazienti HIV+ con anticorpi sierici anti-Tat rispetto a pazienti negativi per anticorpi anti-Tat durante trattamento con cART. Gli obiettivi secondari sono la valutazione della correlazione tra la riduzione del DNA

dell'HIV con: i) la persistenza di risposte umorali anti-Tat; ii) biomarcatori della stabilità del reservoir dell'HIV potenzialmente interessati dalla proteina Tat o dalle risposte immunitarie anti-Tat.

**Program to support the Ministry of Health of South Africa in the implementation of a national program of global response to HIV & AIDS.**

*Progetto finanziato dal Ministero degli Affari Esteri. Centro Nazionale per la Ricerca su HIV/AIDS.*

Il Programma, implementato dal Centro Nazionale per la Ricerca su HIV/AIDS (CNAIDS), in cooperazione con il Department of Health del Sudafrica ed il South African Medical Research Council, prevedeva attività di supporto i piani strategici del Ministero della Salute del Sudafrica (National Department of Health, NDOH) miranti a contenere la diffusione dell'infezione da HIV nel territorio nazionale. Il Programma, e si è concluso nel febbraio del 2017.

Il Programma è stato strutturato in tre componenti: Componente 1. Rafforzamento del Servizio Sanitario del Sudafrica in siti sudafricani selezionati; Componente 2. Trasferimento tecnologico ad una azienda sudafricana a partecipazione pubblica per la creazione di una struttura per la produzione di vaccini in ottemperanza alla normativa GMP (Good Manufacturing Practice); Componente 3. Sperimentazione del vaccino contro l'HIV/AIDS basato sulla proteina Tat di HIV-1, sviluppato dal Centro Nazionale AIDS: preparazione e conduzione del trial vaccinale di fase II denominato ISS T-003.

Componente 1: L' intervento, a supporto dei piani strategici nazionali e provinciali, prevede il coinvolgimento dei "Department of Health" provinciali e delle Comunità locali nelle seguenti Provincie: i) Gauteng, Distretto Sanitario "Tswane 1"; ii) Eastern Cape, Distretto Sanitario "OR Thambo"; iii) Mpumalanga, Distretto Sanitario "Ehlanzeni", Distretto Sanitario "Gert Sibande", Distretto Sanitario "Nkangala"; iv) Kwazulu Natal (KZN), Distretto Sanitario "Umzinyathi".

L'intervento è stato attuato mediante l'implementazione di 3 direttrici:

A. Fornitura di equipaggiamento volto a:

Rafforzare l'assistenza medica quotidiana attraverso fornitura di piccole attrezzature cliniche.

Favorire il raggiungimento degli Standard Nazionali (National Core Standards).

Potenziare l'archiviazione e la gestione delle cartelle cliniche e dei "registri ART".



Potenziare l'informatizzazione dei dati, tramite la fornitura di computer, hard-driver e software.

B. Mobilizzazione di risorse umane: personale medico e paramedico.

Il Programma ha provveduto al reclutamento e alla dislocazione presso le cliniche pubbliche di personale locale specializzato in supporto al Sistema Sanitario Distrettuale, ed in particolare:

4 medici e 2 assistenti sociali nei distretti sanitari delle Province di Mpumalanga e dell'Eastern Cape; il personale è stato organizzato in "team mobili" per il supporto alle Health Facility più disagiate.

10 "Data Capturers" nel distretto OR Thambo (Eastern Cape) con l'obiettivo di potenziare la raccolta dei dati nel quadro del Sistema Informativo Sanitario Distrettuale (DHIS).

C. Addestramento e Formazione Professionale mediante l'organizzazione di corsi volti a:

Qualificare il personale infermieristico per la somministrazione della terapia anti-retrovirale (corsi NIMART – Nurse Initiated Management of ART).

Aggiornare e formare personale medico ed infermieristico nei seguenti settori: management dell'infezione da HIV; management della terapia antiretrovirale e dell'aderenza alla terapia; controllo della Tuberculosis e delle malattie sessualmente trasmesse; qualificare e certificare il personale medico e infermieristico nella dispensazione dei farmaci.

La Componente 1 del Programma prevedeva inoltre la creazione di una piattaforma clinica e laboratoristica per la conduzione di ricerca clinica nel settore pubblico. In questo contesto, è stata potenziata una Unità di Ricerca Clinica (MeCRU, Università di Limpopo Medunsa Campus) nella provincia del Gauteng ed è stata sviluppata una nuova Unità di Ricerca Clinica (WSUHVRU; Università di Walter Sisulu) nella regione di Mthatha (Provincia dell'Eastern Cape). Le Unità di Ricerca Clinica sono state fornite di laboratori attrezzati e Farmacia ed il personale formato secondo *Good Clinical Practice* (GCP) e *Good Clinical Laboratory Practice* (GCLP). La piattaforma clinico-laboratoristica è stata realizzata mediante l'integrazione con le Cliniche pubbliche, i laboratori diagnostici pubblici, ed i laboratori centralizzati (ISS, IFO, S. Orsola) in Italia. La piattaforma è stata validata con la conduzione di uno studio osservazionale (ISS OBS T-004) conclusosi con l'arrolamento di 534 volontari a MeCRU e WSUHVRU.

Nel corso del 2016, è stato completato l'intervento volto al raggiungimento degli standard di qualità nazionali per quanto concerne le sale di attesa e le farmacie delle cliniche pubbliche nelle aree di progetto ed al rafforzamento del sistema informativo sanitario distrettuale.

Componente 2. L'intervento, volto a generare e sedimentare nel paese capacità per la produzione di vaccini ricombinanti per uso umano, prevede la fornitura di risorse, formazione e trasferimento tecnologico in supporto allo sviluppo della struttura GMP presso "BIOVAC", a Città del Capo (Provincia del Western Cape). L'intervento si è concluso con la realizzazione della struttura GMP ed il completo trasferimento della tecnologia per la produzione della proteina Tat, il cui processo produttivo è stato riprodotto con successo presso BIOVAC. Nel 2014 sono proseguite le attività volte alla certificazione della struttura produttiva GMP di vaccini BIOVAC da parte del Medicines Control Council (MCC). In particolare, è stata eseguita una visita di valutazione presso BIOVAC da parte di un esperto WHO in preparazione alla ispezione MCC. La visita di valutazione MCC si è conclusa con la relazione valutativa inviata a BIOVAC per l'implementazione di alcune raccomandazioni. BIOVAC è ora impegnata nella produzione di lotti riproducibili di vaccini per la certificazione GMP da parte di MCC.

Componente 3. L'intervento prevede la conduzione del trial vaccinale terapeutico di fase II basato sulla proteina Tat (ISS T-003) presso l'Unità di Ricerca MeCRU (Gauteng Province, South Africa), l'analisi dei dati e la diffusione dei risultati conseguiti. A questo scopo, sono state espletate tutte le attività preparatorie (formazione, attività regolatorie - ivi incluse la sottomissione dei protocolli ai comitati etici e ad MCC - potenziamento delle strutture, finalizzazione delle "standard operational procedures" (SOP), simulazione di tutte le attività, importazione, stoccaggio e distribuzione del vaccino a MeCRU, rilascio dell'autorizzazione per l'invio di campioni biologici in Italia presso il "Core Lab ISS/IFO Joint Unit" per le analisi di laboratorio durante la fase di screening dei volontari e le determinazioni di prima e seconda linea durante le fasi successive dello studio. Il trial vaccinale ISS T-003 (in doppio cieco controllato da placebo) ha avuto inizio nel febbraio 2012 in 200 pazienti HIV+ in trattamento con HAART ed è stato completato nel 2014. Nel 2015 è stato inviato alle autorità competenti il report finale dello studio. La "Contract Research Organization" locale "Triclinium" è stata ingaggiata per il monitoraggio delle procedure di esecuzione, nonché per il supporto allo sponsor nella conduzione del trial. L'analisi dei dati conferma che il vaccino è sicuro ed immunogenico e promuove la ricostituzione del sistema immune anche in pazienti con differente background genetico ed infettati da un virus di sottotipo diverso.