

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 8 centri clinici italiani (Brescia, Prato, Firenze, Latina, Napoli, Bari, Cosenza, 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 2019. 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 utilizzando linee cellulari infettate latentemente e campioni di sangue di pazienti naïve al trattamento o in trattamento con antiretrovirali. Questi studi si avvalgono 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. Nel 2018 è inoltre iniziata la messa a punta di una metodica di *Single-Genome Amplification* abbinata a *Next Generation Sequencing* per la determinazione dei genomi competenti e defettivi nei serbatoi di virus HIV latente. Questi studi continuano con l'obiettivo di determinare il grado ed i meccanismi di decadimento dei serbatoi di virus latente nei soggetti immunizzati con il vaccino Tat. A questo scopo, sono disponibili le biobanche che archiviano i campioni di sangue dei pazienti arruolati negli studi vaccinali in Italia ed in Sudafrica.

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

Progetto privo di finanziamento per il 2019. 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. Esistono test sierologici in grado di stabilire una 'datazione dell'infezione al fine di poter stimare l'incidenza di HIV in modo rapido e semplice come l'Indice di Avidità anticorpale anti-HIV (in inglese, Avidity Index = AI). L'AI permette 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.

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).

Nel 2019, nell'ambito di questo progetto, il COA ha svolto uno studio in collaborazione con il Consortium for the Evaluation and Performance of HIV Incidence Assays (CEPHIA) per la stima del tempo di infezione attraverso modelli matematici. I risultati di questo lavoro sono stati pubblicati in BMC Infect Dis. 2019.

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

Progetto privo 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, ma non dispone dell'aggiornamento dei decessi dei casi di AIDS e per questo collabora con l'ISTAT e il Centro di Riferimento Oncologico di Aviano (CRO). Ogni anno effettua il linkage tra i dati individuali sulle cause di morte e i casi di AIDS notificati al RAIDS analizzando la mortalità, la sopravvivenza e le cause multiple di morte delle persone con AIDS.

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 con il medesimo metodo anche la mortalità dei pazienti con HIV, le cause multiple di morte e la sotto notifica del sistema di sorveglianza.

Nell'ambito di questi progetti è in corso uno studio sull'analisi del profilo di mortalità delle persone decedute per cause HIV/AIDS, ma, non segnalate al Registro Nazionale AIDS. In particolare vengono analizzati i decessi in cui tra le cause di morte vi è menzionato uno dei codici ICD10 B20-B24 – Malattia da HIV (secondo le regole dell'ICD10). Tra i decessi per AIDS vengono anche annoverati quei casi che, pur non avendo un codice B20-B24, presentano il codice R75 accompagnato da una malattia AIDS-defining.

In tale ambito nel 2019 il COA, insieme all' ISTAT e al CRO di Aviano, ha effettuato uno studio di cross-linkage tra dati del RAIDS e quelli del registro di mortalità dell'ISTAT relativo ai dati 2006-2012 allo scopo di individuare le incongruenze tra i due registri e fornire criteri aggiornati per l'identificazione dei casi di AIDS dai certificati di morte. A tal fine sono state analizzate le principali problematiche legate ai decessi per AIDS riscontrati nei certificati di morte e sono state confrontate le definizioni adottate dal sistema di sorveglianza AIDS con quelle adottate per il registro di mortalità basato sul sistema di classificazione ICD10.

I progetti effettuati sulle cause multiple di morte hanno come obiettivo l'analisi del profilo di mortalità per causa delle persone con AIDS in Italia. Essi si basano 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 vengono 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.

In tale ambito nel 2019 il COA, insieme all' ISTAT e al CRO di Aviano, ha effettuato uno studio retrospettivo per gli anni 2006-2015 con lo scopo di valutare l'eccesso di mortalità per malattie epatiche nelle persone con AIDS rispetto alla popolazione generale utilizzando i dati sulle cause multiple di morte. I risultati dello studio sono in corso di pubblicazione.

Progetto “Testa o Cuore”.

Progetto finanziato dall'Associazione Volontari Italiani del Sangue (AVIS). Dipartimento Di Malattie Infettive.

Il progetto “Testa o Cuore” nato dalla collaborazione tra AVIS e il Centro Operativo AIDS dell'Istituto superiore di Sanità è iniziato nel 2017 i cui obiettivi sono:

- indagare i comportamenti e le conoscenze in tema di HIV e IST nei donatori di sangue e nelle persone sensibili alla donazione;
- individuare le aree di informazione errata o assente in tema di HIV e IST;
- aumentare la consapevolezza sul rischio di infezione da HIV e altre IST attraverso l'utilizzo di strumenti informativi che erogano contenuti scientifici.

Per il raggiungimento degli obiettivi è stato costruito un questionario suddiviso in due sezioni.

La prima parte dedicata alla raccolta dei dati anagrafici e dei comportamenti a rischio di HIV/IST e alla raccolta di informazioni idonee a stabilire il livello di conoscenza dell'HIV e delle altre IST.

La seconda sezione interattiva, finalizzata a mettere alla prova le conoscenze dei partecipanti sulle IST e al contempo fornire loro degli strumenti educativi al fine di ridurre i comportamenti a rischio.

Il questionario è stato diffuso attraverso il sito web e i canali social dell'AVIS ed è stato, altresì, divulgato dal Servizio Civile Nazionale, dal Forum Nazionale Giovani, Anlaids e dai Centri di Servizio per il Volontariato.

La diffusione del questionario ha permesso ai partecipanti, attraverso una modalità agile e divertente, di poter verificare le proprie conoscenze e di acquisire un'informazione corretta e comprensibile mirata a prevenire queste infezioni, specialmente tra i giovani e tra i donatori di sangue.

Hanno partecipato all'indagine 11.257 persone di cui l'80% è risultata donatore di sangue con una età mediana di 34 anni. Quasi la metà dei partecipanti non si è mai informata sulle infezioni da HIV/IST e il 13% dei partecipanti riferisce di non essersi mai sottoposto al test HIV.

Nel 2019 è stato fatto uno studio sul sottogruppo donatori di sangue (N=9.021) che ha partecipato all'indagine allo scopo di indagare l'esistenza e la diffusione di comportamenti a rischio di infezione a trasmissione sessuale, nonché, il livello di conoscenza di queste infezioni nel campione di donatori di sangue.

Progetto “Studio di fattibilità per l'unificazione dei due sistemi di sorveglianza HIV e AIDS, attraverso l'implementazione di una scheda unica di segnalazione e la costruzione di una piattaforma centralizzata nazionale di inserimento dati”.

Progetto finanziato dal Ministero della Salute 2018-2020. Dipartimento Di Malattie Infettive.

Il progetto è iniziato a marzo del 2018, il gruppo di studio è costituito dal Centro Operativo AIDS, dal Servizio Informatico dell'ISS, dal Ministero della Salute, dai rappresentanti delle Sorveglianze HIV regionali selezionate nelle tre aree geografiche del paese, dai rappresentanti delle principali associazioni non governative e da clinici esperti nella cura dell'HIV. Tale studio è nato dall'evidenza che in Italia sono presenti due sistemi di sorveglianza che raccolgono dati sull'infezione da HIV e di AIDS.

La sorveglianza HIV, istituita con Decreto nel 2008, raccoglie informazioni al momento della prima diagnosi di infezione da HIV e il Registro Nazionale AIDS, raccoglie informazioni al momento della diagnosi di AIDS. Allo stato dell'arte, come emerge dalle indagini condotte dal COA co-esistono 22 differenti sistemi di sorveglianza di cui uno per le nuove diagnosi di AIDS e 21 per le nuove diagnosi di infezione da HIV. Tutto ciò comporta variabilità e disomogeneità tra i vari sistemi regionali con conseguenti difficoltà nell'unificazione e nell'analisi dei dati epidemiologici, nonché, l'impossibilità di linkare i dati notificati al RAIDS con quelli notificati alla Sorveglianza HIV in quanto il flusso informativo, la scheda di raccolta dati e l'identificativo individuale sono diversi.

Gli obiettivi del progetto sono quelli di: valutare la fattibilità dell'implementazione di una piattaforma unica nazionale per la sorveglianza HIV/AIDS; costruire una scheda unica di segnalazione, uniforme per tutte le regioni da utilizzare sia per la prima diagnosi di HIV che per la prima diagnosi di AIDS; e individuare il codice identificativo univoco da utilizzare per la notifica delle nuove diagnosi di HIV e AIDS. Nell'ambito dello studio sono stati esaminati e approfonditi i risultati di un'indagine condotta che aveva come obiettivo quello di descrivere i 21 sistemi regionali di sorveglianza HIV. I risultati della suddetta indagine sono stati fondamentali per definire il contenuto della scheda unificata HIV/AIDS. Nel corso del 2019 è stato elaborato il formato elettronico della nuova scheda unificata. Sono state individuate, sia dal punto di vista informatico che normativo per la tutela della privacy dei dati personali e personali particolari, le soluzioni per il nuovo codice identificativo. È stato, altresì, definito il flusso dei dati, le applicazioni software per la raccolta degli stessi e il formato per garantire

la crittografia dei dati, secondo la certificazione ISO 27001 per la sicurezza delle informazioni e la certificazione ISO per la protezione dei dati personali.

Progetto "Percorso diagnostico-assistenziale delle IST: individuazione di criticità ed inapproprietezze nei percorsi; proposte operative di implementazione del sistema territoriale per un corretto inquadramento diagnostico assistenziale".

Progetto finanziato dal Ministero della Salute - fondi capitolo 4310, 2017-2019. Dipartimento di Malattie Infettive.

I soggetti con Infezioni Sessualmente Trasmesse (IST) costituiscono una popolazione estremamente eterogenea che, diversamente da altre patologie, non si concentra in centri specifici di assistenza ma piuttosto si rivolge a una molteplicità di specialisti e strutture sanitarie, pubbliche e private (medico di medicina generale, dermatologo, ginecologo, urologo, andrologo, farmacista, infettivologo, consultorio, laboratorio di microbiologia). Questa dispersione dei pazienti con IST sul territorio rende difficile descrivere il loro percorso, dal sintomo alla guarigione, e standardizzare le procedure sanitarie per ottimizzare tempi, costi ed efficacia dell'intervento medico.

Alla luce di queste evidenze è risultato urgente poter migliorare il controllo delle IST e dell'HIV, ridurre la loro incidenza e limitarne la diffusione conducendo un'analisi dettagliata dei percorsi e dei flussi delle persone con un sospetto di IST, evidenziando le inapproprietezze del sistema ed individuando soluzioni adeguate.

Per questo motivo, a marzo 2017 è nato il presente progetto coordinato dall'ISS (Unità Operativa 1, UO1) in collaborazione con l'Università Sapienza di Roma (Unità Operativa 2, UO2), che ha avuto l'obiettivo di analizzare il percorso diagnostico-assistenziale delle persone con una diagnosi di IST al fine di migliorare l'assistenza sanitaria in questo settore secondo i bisogni assistenziali del cittadino, di garantire la qualità delle cure, di migliorare l'appropriatezza diagnostico-terapeutica e di ottimizzare le risorse economiche.

Il progetto ha previsto due fasi.

- I fase: è stato condotto uno studio retrospettivo che ha coinvolto 4 Unità Operative (UO) di riferimento per la diagnosi delle IST delle strutture universitarie di Torino (UO3), Firenze (UO4), Napoli (UO5) e Palermo (UO6). Ogni UO ha prodotto, utilizzando i dati archiviati di richieste di analisi, un elenco di specialisti infra-struttura, che avevano richiesto accertamenti di laboratorio per le IST nei 12 mesi precedenti l'inizio dello studio.
- II fase: è stato condotto uno studio prospettico che ha portato alla realizzazione di una rete di specialisti infrastruttura (a cui, ciascuna UO di riferimento, ha fatto una formazione ad hoc per partecipare al Progetto). Questi specialisti hanno arruolato persone con una diagnosi confermata di IST e, per ciascun paziente, hanno raccolto (anonimamente) dati socio-

demografici e clinici essenziali e ricostruito, sulla base dell'anamnesi patologica prossima, il percorso già effettuato da ciascuno in termini di visite, indagini microbiologiche e/o sierologiche e terapia per quella particolare IST. Gli specialisti hanno quindi riportato l'esito degli eventuali ulteriori accertamenti diagnostici e dei trattamenti prescritti al paziente, nonché l'efficacia della terapia valutata attraverso il follow-up. Inoltre, a tutti i pazienti inclusi nello studio è stato proposto il test HIV e, in caso di esito positivo, il test di avidità anticorpale per valutare se si trattasse di un'infezione da HIV recente. Tutti i dati sono stati inseriti dagli specialisti in una piattaforma online appositamente creata per il progetto. L'ISS si è occupato del management e dell'analisi dei dati. L'ISS, l'Università Sapienza di Roma e tutte le UO hanno partecipato all'interpretazione e alla discussione dei dati.

I risultati preliminari del progetto sono stati presentati durante l'evento finale, organizzato a Roma il 19 febbraio 2019 dalle UO1 e UO2, che ha visto coinvolte tutte le UO ed è stato aperto all'esterno. L'evento dal titolo: "Infezioni Sessualmente Trasmesse (IST) Scenari attuali e prospettive future: proposte operative per un corretto inquadramento diagnostico e assistenziale" ha promosso le conoscenze e la ricerca relativa ai vari aspetti delle IST, ha presentato i risultati preliminari di un'analisi dettagliata dei percorsi e dei flussi delle persone con un sospetto di IST in Italia, evidenziando alcune criticità del sistema, individuando soluzioni adeguate per monitorare la diffusione di queste infezioni (compreso l'HIV) e proponendo percorsi diagnostico-terapeutici adeguati.

L'UO1 ha lavorato alla preparazione di un Rapporto Istisan con i contributi apportati da tutte le relazioni del suddetto evento, al fine di raccogliere in un documento finale le idee, i suggerimenti e le proposte emerse durante la giornata. Il rapporto sarà pubblicato nel 2020.

Il progetto si è concluso ufficialmente il 5 marzo 2019, le UO partecipanti hanno completato l'inserimento dei dati nella piattaforma web, così come stabilito nel cronoprogramma del progetto al fine di avere 12 mesi di raccolta dati. L'UO1 si è occupata del management e dell'aggiornamento dei dati, nonché della presentazione dei risultati definitivi nella Relazione scientifica finale inviata al Ministero della Salute.

Progetto "“Sperimentazione di nuovi modelli organizzativi integrati ospedale-territorio per la prevenzione e il controllo delle IST: percorsi diagnostico-assistenziali agevolati ed offerta di screening gratuiti mirati”

Progetto realizzato con il supporto tecnico e finanziario del Ministero della Salute – CCM 2019. Dipartimento di Malattie Infettive.

Il progetto, coordinato dall'ISS, è iniziato il 23 novembre 2019 e si propone di: 1) Sviluppare modelli innovativi per la creazione di reti basate su centri ospedalieri/universitari multidisciplinari ad alta qualità di cura per le IST (hub) integrati con le strutture del territorio (spoke), che riducano le barriere all'accesso ai servizi e che siano potenzialmente flessibili secondo le diverse realtà sociodemografiche e regionali. 2) Individuare i requisiti minimi essenziali, sia strutturali che organizzativi, che definiscano un centro IST ad alta qualità diagnostico-assistenziale ad impronta multidisciplinare. 3) Pianificare e sperimentare l'attivazione di percorsi diagnostico-assistenziali agevolati per le IST. 4) Valutare la priorità, la fattibilità e la sostenibilità di interventi di prevenzione, quali: campagne gratuite di screening (dirette in particolare a popolazioni chiave quali giovani, MSM, migranti, donne, persone a rischio per infezione da HIV, ecc.), offerta gratuita di specifiche prestazioni diagnostiche ad alto impatto clinico-preventivo, interventi di informazione mirata a popolazioni target.

Oltre al centro coordinatore, l'ISS (UO1) e all'Università Sapienza di Roma (UO2), sono stati coinvolti 6 centri pubblici di riferimento per le IST situati in strutture ospedaliere/universitarie di grandi città: 3 al nord, 1 al centro e 2 nelle isole. Tali centri sono stati selezionati non solo per rispondere a criteri di rappresentatività geografica, ma principalmente perché posizionati a diversi livelli di avanzamento logistico-organizzativo relativamente all'attivazione di reti per le IST: alcuni infatti hanno pianificato o stanno pianificando dei programmi mirati alle IST a livello regionale, provinciale o comunale, mentre altri non hanno ancora predisposto nulla in questo settore.

L'obiettivo generale è lo sviluppo di nuove reti multidisciplinari integrate ospedale-territorio (hub-spoke), finalizzate all'attuazione di percorsi diagnostico-assistenziali agevolati e all'offerta di screening gratuiti mirati per le IST. Gli obiettivi specifici sono cinque:

1. Studiare e analizzare lo stato dell'arte sulle strategie di controllo e prevenzione delle IST esistenti nelle regioni coinvolte.
2. Individuare i requisiti minimi essenziali, sia strutturali che organizzativi, che definiscano un centro IST ad alta qualità di cura ad impronta multidisciplinare.
3. Pianificare e sperimentare, almeno in due siti tra quelli partecipanti, l'attivazione di percorsi diagnostico-assistenziali che riducano le barriere all'accesso ai servizi per le IST.
4. Valutare la priorità, la fattibilità e la sostenibilità dei seguenti interventi di prevenzione: campagne gratuite di screening (dirette in particolare a popolazioni chiave quali giovani, MSM, migranti, donne, persone a rischio per HIV, ecc.), offerta gratuita di specifiche prestazioni diagnostiche ad alto impatto clinico-preventivo, interventi di informazione mirata a popolazioni target.
5. Elaborare un documento tecnico di riferimento che definisca i nuovi modelli organizzativi integrati per la prevenzione e il controllo delle IST, di facile trasferibilità ad altre realtà

geografiche. Divulgare i risultati sia attraverso pubblicazioni scientifiche nazionali ed internazionali che tramite l'organizzazione di un evento finale con la partecipazione di tutte le UO coinvolte nel progetto.

Sono stati organizzati alcuni incontri di lavoro tra l'UO1-ISS e l'UO2-Sapienza, necessari per pianificare il raggiungimento dell'obiettivo specifico 1, come da cronoprogramma.

“Sviluppo di strumenti tecnici e pratici per lo svolgimento di attività educative e formative in ambito di sessualità, relazioni affettive e prevenzione delle IST nel contesto scolastico”

Progetto realizzato con il supporto tecnico e finanziario del Ministero della Salute – Direzione Generale della prevenzione sanitaria”, 2019. Università di Pisa (Dipartimento di Malattie Infettive e unità operativa).

Il progetto, coordinato dall'Università di Pisa è iniziato il 22 novembre 2019, ha come obiettivo generale lo sviluppo di un documento tecnico di riferimento atto a promuovere lo sviluppo e lo svolgimento di attività educative e formative in ambito di affettività, sessualità e prevenzione delle infezioni sessualmente trasmesse (IST) nel contesto scolastico, attraverso lo sviluppo di linee di indirizzo e di strumenti didattici che possano coadiuvare le attività di operatrici/operatori scolastici, educatrici/educatori e altri professionisti che intervengono sul territorio nazionale.

Quattro sono gli obiettivi specifici:

1. Identificazione di opportuni riferimenti documentali nazionali ed internazionali e identificare buone pratiche nel territorio.
2. Elaborazione di un documento di riferimento per lo sviluppo di interventi educativi da attuare nelle scuole.
3. Sviluppo di un pacchetto di strumenti per l'implementazione degli interventi educativi da attuare nelle scuole.
4. Divulgazione dei risultati sul territorio nazionale

In particolare, l'ISS-Dipartimento Malattie Infettive collaborerà al progetto contribuendo all'obiettivo specifico 1, attraverso lo svolgimento di una situational analysis che prevede la raccolta e la valutazione di linee guida e documenti normativi, sia nazionali che internazionali e all'obiettivo specifico 4, attraverso l'organizzazione di un evento conclusivo multidisciplinare a livello nazionale per la condivisione e divulgazione dei risultati.

Sono state avviate le procedure per l'espletamento delle necessarie pratiche burocratiche come da cronoprogramma.

Progetto “Definizione di strategie di controllo della tubercolosi associata ad HIV in Italia nel contesto di una strategia di eliminazione della malattia tubercolare”.

Progetto finanziato dal Ministero della Salute - Dipartimento di Malattie Infettive.

La tubercolosi (TB) resta a livello globale la principale complicanza clinica e la più frequente causa di morte per le persone con infezione da HIV. L'OMS stima che nel 2017 si siano verificati 900.000 casi di TB associata ad HIV pari al 9% del numero globale di casi con circa 300.000 morti che rappresentano il 18% di tutti i decessi dovuti alla TB. Nella regione europea OMS si stimano per il 2016 25.844 casi di TB con positività per HIV, pari al 13.4 % di casi testati, mentre nei soli paesi EU-EEA sui 19.988 casi di TB testati per HIV (69.0% del totale), 895, pari al 4.5% risultavano positivi. In Italia non esistono dati raccolti sistematicamente sull'infezione da HIV tra i pazienti con TB. I dati del registro AIDS mostrano una diminuzione nel tempo del numero assoluto di casi di AIDS con TB alla diagnosi, che passano da 325 nel 1993 a 79 nel 2010. D'altra parte la diminuzione del numero di casi di TB-AIDS è meno spiccata di quella del numero totale di casi di AIDS, e quindi i casi di TB-AIDS passano dal 6.8% del totale nel 1993 all' 11.0% nel 2010. Per migliorare la qualità delle informazioni su questo fenomeno è stato suggerito di sperimentare sistemi basati sul crosslinkage di diversi sistemi di sorveglianza. L'implementazione di strategie efficaci in questo ambito richiede una conoscenza delle caratteristiche della coinfezione HIV-TB nei diversi contesti epidemiologici. In Italia attualmente i dati disponibili sono molto carenti. In primo luogo non esiste una stima affidabile a livello nazionale della prevalenza di infezione da HIV tra le persone con TB e di incidenza della malattia TB tra pazienti con infezione da HIV. La carenza di questi dati rende difficile definire la necessità e la programmazione di eventuali interventi formativi. Questo studio è finalizzato a migliorare la comprensione delle caratteristiche epidemiologiche della TB associata ad HIV tramite il cross linkage di registri esistenti come suggerito nell'ambito di strategie di eliminazione della tubercolosi per paesi a bassa incidenza. A livello nazionale verrà eseguito l'incrocio dei registri delle notifiche di TB, AIDS e infezione da HIV. Tale incrocio permetterà di stimare con buona accuratezza il numero e la proporzione di casi di TB che si verificano in persone con HIV e viceversa, le sue variazioni nel tempo e la tempistica del verificarsi della TB rispetto alla diagnosi di HIV/AIDS, ed all'inizio della terapia anti-HIV. A livello regionale questa analisi potrà essere integrata da un cross-linkage del registro delle notifiche di TB e HIV/AIDS con quello delle SDO che riportano gli ICD di TB, HIV e AIDS, ottenendo così anche informazioni su una possibile sottonotifica della TB-HIV associata. Le attività di cross-linkage dei registri avverranno su basi dati esistenti ed accessibili da parte delle UO del progetto. La principale criticità riguarda il rispetto dei principi di privacy per i quali andranno sviluppati protocolli specifici di anonimizzazione dati ed analisi. Inoltre si ritiene che l'avvio di questa attività, in particolare per quanto riguarda il livello centrale, debba avvenire dopo aver acquisito il parere dell'Autorità Garante per la Protezione dei Dati Personali.

Il Progetto ha avuto inizio nel 2019, è coordinato dall'Istituto Nazionale per le Malattie Infettive Lazzaro Spallanzani e ha coinvolto il COA come unità operativa per migliorare la comprensione delle

caratteristiche epidemiologiche della TB associata ad HIV tramite un cross linkage di tre registri: il registro delle notifiche di TB, il Registro Nazionale AIDS e il database nazionale delle nuove infezioni da HIV.

Obiettivo di tale incrocio è stimare con buona accuratezza il numero e la proporzione di casi di TB che si verificano in persone con HIV e viceversa, valutando le sue variazioni nel tempo e la tempistica del verificarsi della TB rispetto alla diagnosi di HIV/AIDS ed all'inizio della terapia anti-HIV.

Durante il 2019, il COA ha affrontato l'aspetto di legittimità del cross linkage tra i suddetti registri. L'Autorità Garante per la Protezione dei Dati Personali ha stabilito che, alla luce della normativa vigente in tema di Privacy (Regolamento Generale di Protezione dei Dati Personali (RGPD) UE 2016/679 e Decreto Legislativo 30/6/2003, n. 196), il predetto linkage, ovvero il confronto tra dati personali di categorie particolari, quali quelli relativi allo stato di salute (ex art. 9 RGPD) non è possibile fintanto che non intervenga un Atto Legislativo che ne stabilisca la liceità. Il COA ha elaborato i dati del Registro Nazionale AIDS al fine di studiare l'andamento dei casi di Tuberculosis nelle persone con diagnosi di AIDS in Italia negli ultimi 10 anni (2009-2018). Tale lavoro è stato presentato al XVIII Congresso Nazionale SIMIT 2019.

Progetto “Definizione di una metodologia standardizzata per il monitoraggio del Continuum of Care di HIV e Italia”

Progetto finanziato dal Ministero della Salute 2019-2021. Dipartimento di Malattie Infettive.

Questo progetto si propone di mettere a punto metodologie standardizzate per l'analisi del Continuum of Care delle persone con HIV a diversi livelli, utilizzando diverse fonti di dati, applicando metodologie che siano periodicamente replicabili con un basso impegno di tempo-lavoro e di costi economici. A livello nazionale si propone di utilizzare la metodologia standardizzata basata sull'utilizzo combinato di dati correnti di sorveglianza e di coorti cliniche. A livello regionale alcune regioni hanno provato ad estrarre ed utilizzare i dati dei propri flussi informativi con esiti diversi e in assenza di una metodologia condivisa; si valuterà la possibilità di replicare la metodologia applicata a livello nazionale utilizzando e valorizzando i dati regionali di sorveglianza e delle coorti cliniche locali. Verrà in particolare valutata la retention in care. Inoltre, verrà studiata la possibilità di effettuare stime del CoC in popolazioni chiave che restano solitamente “invisibili” nei sistemi/coorti, così come sono strutturati ad oggi (es: sex-workers, transgender, IDU attivi).

Impiego di composti immunomodulatori stimolanti la riattivazione della replicazione di HIV-1 in modelli cellulari di latenza.

Progetto privo di finanziamento nel 2019. Dipartimento di Malattie Infettive, Centro Nazionale per la Ricerca su HIV/AIDS.

La terapia antiretrovirale di combinazione (cART) è efficace nel contrastare la replicazione del virus HIV-1 e nell'impedire la progressione della malattia. Essa però non è in grado di eradicare il virus, il quale persiste latente nei "reservoir" cellulari, costituiti prevalentemente da linfociti T CD4⁺ della memoria. Per tentare l'eliminazione dei "reservoir" è stata proposta la strategia "Shock and kill" che prevede una fase iniziale, consistente nell'induzione della replicazione del virus latente in presenza di cART, seguita da una fase successiva volta all'eliminazione delle cellule nelle quali il virus è stato indotto a replicare, mediante l'impiego di farmaci *ad hoc* o ad opera del sistema immunitario. In questo progetto viene valutata la capacità riattivante di composti immunomodulatori e l'effetto sinergico che deriva dalla combinazione degli stessi. La replicazione di HIV-1 dipende infatti dall'attivazione di fattori di trascrizione cellulari prima che il trans-attivatore virale Tat venga sintetizzato. Il progetto ha analizzato il ruolo dei fattori cellulari potenzialmente responsabili della replicazione del genoma virale come AP1, NFAT e NF-κB. Il razionale alla base della scelta è rappresentato da quanto già noto in letteratura circa le vie di trasduzione del segnale coinvolte nella riattivazione dalla latenza del virus nelle cellule T CD4⁺ central memory (T_{CM}) che rappresentano uno dei maggiori reservoir nei soggetti infetti. È stato quindi sviluppato un modello cellulare di latenza, basato sulla linea cellulare JLat 10.6, in grado di mimare una caratteristica delle cellule T_{CM} che è quella di mantenere il fattore cellulare NF-κB, in uno stato di inibizione quasi completa, essendo questo fattore cruciale per la replicazione del virus in cellule T CD4⁺ in attiva proliferazione. Le cellule JLat 10.6 sono state ingegnerizzate ad esprimere un super repressore di NF-κB (IκBα 2NΔ4). Trattamenti convenzionali con composti come la briostatina-1 e l'esametilenbisacetamide (HMBA) o la ionomicina hanno riattivato sinergicamente l'HIV-1 dalla latenza, anche in condizioni in cui l'attivazione di NF-κB è stata repressa. Utilizzando inibitori della fosfatasi calcineurina, e delle chinasi p38 e MEK1/ MEK2 o shRNA specifici, il fattore di trascrizione c-Jun, componente del fattore dimerico Ap1, è stato identificato come un fattore essenziale che media l'effetto di riattivazione sinergica combinata. Inoltre, l'acido acetilsalicilico (ASA), che è un potente inibitore della chinasi IKK-β, responsabile dell'attivazione di NF-κB, non ha diminuito significativamente la riattivazione in un modello di latenza di cellule CD4⁺ T_{CM}. Questi risultati hanno dimostrato che la fase di shock dell'approccio shock-and-kill, può essere raggiunta in assenza di NF-κB, evitando così effetti collaterali indesiderati, essendo NF-κB uno dei principali mediatori cellulari dell'infiammazione. **IMPORTANZA** Un'attivazione sistemica di NF-κB in pazienti con infezione da HIV-1 derivante dalla somministrazione combinata di diversi composti slatentizzanti potrebbe rappresentare un rischio potenziale, specialmente nel caso di un trattamento prolungato. Il nostro studio fornisce un razionale per l'uso di farmaci antinfiammatori, come l'aspirina, in grado di inibire NF-κB in pazienti sottoposti a terapia cART durante l'approccio shock-and-kill, per

evitare potenziali disturbi autoimmuni e infiammatori che possono derivare dalla somministrazione di combinazioni di composti slatentizzanti.

Finanziamenti internazionali

Long-term persistence of IDLV vectored HIV-Env for induction of protective antiviral antibodies.

Progetto finanziato dal National Institute of Health (USA) tramite la Simian Vaccine Evaluation Units (SVEU). Centro Nazionale Salute Globale.

Il progetto, coordinato dalla SVEU e gestito dal Centro Nazionale per la Salute Globale, prevede lo sviluppo di un vaccino basato su un nuovo e sicuro sistema di veicolazione dell'antigene di HIV. Nell'ambito dello studio dei vaccini preventivi è importante sviluppare nuove strategie in grado di indurre una risposta immunologica forte e persistente nel tempo. È stato ampiamente dimostrato che i vettori lentivirali sono ottimi candidati vaccinali in quanto sono in grado di esprimere in maniera efficiente l'antigene di interesse, generando una forte risposta immunitaria antigene-specifica in seguito a immunizzazione. La limitazione dell'uso di questo vettore nell'uomo è legata alla capacità di integrazione nel genoma dell'ospite e quindi al rischio di mutazioni. Per ovviare a questa limitazione abbiamo generato un vettore lentivirale incapace di integrarsi nel genoma, pur mantenendo la capacità di esprimere efficientemente l'antigene di interesse. Tale vettore lentivirale integrasi-difettivo (IDLV) esprimente antigeni di HIV è in grado di stimolare una forte risposta immunologica antigene-specifica in diversi modelli preclinici. Inoltre, cellule dendritiche umane trasdotte con IDLV sono molto efficienti nell'espandere linfociti T antigene-specifici in esperimenti in vitro, dimostrando una potenzialità di sviluppo e di utilizzo nell'uomo. Questo progetto prevede di immunizzare primati non umani con IDLV esprimenti antigeni di HIV e di valutare la risposta immunologica sia cellulare che anticorpale.

Nell'ambito di questo progetto, in collaborazione con la Duke University (Durham, North Carolina, USA), abbiamo effettuato l'analisi delle risposte immunologiche in seguito a prime-boost con IDLV esprimente Env su 8 scimmie (*Macaca rhesus*). Il dosaggio degli anticorpi mediante saggio ELISA sui sieri raccolti mensilmente dopo la vaccinazione ha evidenziato l'induzione di elevati livelli di IgG anti-Env in tutte le scimmie. I livelli anticorpali hanno raggiunto un picco a 2 settimane dall'immunizzazione e sono diminuiti lentamente in quattro scimmie mentre hanno raggiunto il picco a 4-6 settimane dopo l'immunizzazione in quattro scimmie, dove sono rimasti a livelli più alti. Il boost con IDLV-Env ha aumentato i titoli di IgG anti-Env in tutte le scimmie. La risposta di picco è risultata rilevabile a due settimane dopo il boost e successivamente i livelli anticorpali sono diminuiti lentamente, ma sono rimasti stabili a livelli più alti rispetto al pre-boost (0,5-1 log) ed erano rilevabili

fino a 52 settimane dopo la prima vaccinazione (ultimo punto temporale testato). La presenza degli anticorpi neutralizzanti (NAbs) è stata effettuata utilizzando il ceppo di HIV-1 wild type clade C Tier 1 MW965.26. I risultati indicano che i NAbs contro il virus HIV MW965.26 virus sono stati indotti dopo il boost con IDLV-Env, indicando che l'induzione di NAbs è correlata alla quantità totale di Abs.

EAVI2020.

Progetto finanziato dalla Comunità Europea nell'ambito di H2020. Centro Nazionale Salute Globale. Studi recenti hanno messo in luce come i classici approcci vaccinali che utilizzano la semplice immunizzazione con proteine virali non siano sufficienti per indurre una risposta immunitaria protettiva contro l'HIV. Al contrario, nuove tecnologie legate allo sviluppo razionale di immunogeni di ultima generazione hanno messo in evidenza come la combinazione di due approcci indipendenti, cioè la produzione di anticorpi neutralizzanti (bNAb) nei confronti della proteina Env e la stimolazione di una efficace risposta citotossica nei confronti di geni strutturali di HIV-1 quali Gag e Pol, possono essere in grado di proteggere dall'infezione o favorirne il contenimento. In questo contesto si inserisce il progetto collaborativo di ricerca EAVI2020 (European AIDS Vaccine Initiative 2020). Il consorzio EAVI2020 è composto da un team di 22 partners appartenenti a università, istituti di ricerca e aziende biotech provenienti da tutta Europa, ma anche dall'Australia, dal Canada e dagli Stati Uniti, altamente competitivi per quanto riguarda la biologia dell'HIV-1 e gli approcci vaccinali, uniti in uno sforzo mirato a sviluppare vaccini protettivi e terapeutici contro HIV-1. Lo scopo del progetto, iniziato nel novembre del 2015, è quello di validare nuove ed innovative formulazioni vaccinali basate sullo sviluppo razionale degli antigeni Env e Gag-Pol di HIV-1. In particolare, nel corso del 2019 abbiamo continuato la valutazione degli anticorpi anti-Env. In particolare dopo l'immunizzazione con IDLV, gli animali sono stati immunizzati due volte con la proteina HIV-Env ConM SOSIP in adiuvante MPLA e successivamente due volte con la proteina HIV-Env UFO664 SOSIP in MPLA. Dopo i due boost aggiuntivi con la proteina adiuvata con MPLA ConM SOSIP e i due boost aggiuntivi con la proteina adiuvata con MPLA UFO664 SOSIP, abbiamo valutato la presenza di anticorpi neutralizzanti (nAb) contro lo pseudo-virus MW965.26 Clade C di livello 1A e contro lo pseudo-virus di livello 2 ConS (autologo) e Ce1176_A3 (eterologo) (in collaborazione con Celia LaBranche, Duke University, Durham). Anche l'attività neutralizzante contro il virus pseudo-tipizzato MLV è stata testata come controllo negativo per l'attività inibitoria non specifica dell'HIV nel test. Dopo l'immunizzazione con la proteina ConM SOSIP abbiamo rilevato un'attività nAb di livello 1 a partire dalla sesta settimana che è aumentata dopo ogni boost. Abbiamo rilevato un'attività nAb autologa di livello 2 in due dei cinque animali alla settimana 64 (due settimane dopo il primo boost proteico) che è scesa a livelli non rilevabili prima della seconda immunizzazione con la proteina,

ma è poi aumentata a titoli sostanzialmente più alti entro due settimane dopo la seconda immunizzazione con la proteina (settimana 76). L'attività neutralizzante è poi nuovamente diminuita a un livello non rilevabile alla settimana 80 in questi due animali. Non abbiamo rilevato attività neutralizzante di livello 2 eterologa (Fig. 1). Poiché è molto raro vedere l'attività nAb dopo la prima somministrazione di proteine, questi dati suggeriscono che il priming per la produzione di nAb si è verificato in questi due animali con le precedenti immunizzazioni da IDLV. Dopo l'immunizzazione con la proteina SOSIP UFO664, abbiamo rilevato la neutralizzazione del ceppo immunogeno, CON-S, in quattro dei cinque animali che sono apparsi e poi scomparsi intorno alle settimane 96 e/o 108. I titoli di neutralizzazione erano molto deboli in 3 animali mentre più alti in un animale, in particolare alla settimana 96. Non abbiamo rilevato la neutralizzazione di Ce1176 (virus eterologo di livello 2 con clade C) in nessuno dei campioni.

SIALON II.

Progetto finanziato dalla Commissione Europea, privo di finanziamento per il 2019. Dipartimento di Malattie Infettive.

Nel 2019 è proseguito il progetto SIALON II – “Capacity building in combining targeted prevention with meaningful HIV surveillance among MSM” che è un progetto Europeo, finanziato dalla Comunità Europea nell’ambito del programma d’azione comunitaria in tema di sanità pubblica (2008-2013), ha avuto come obiettivo l’implementazione e la promozione di sistemi di prevenzione innovativi di sorveglianza dell’infezione da HIV nella popolazione dei maschi che fanno sesso con maschi (MSM). Ha partecipato al progetto un network di istituzioni, rappresentative di 13 Paesi europei, operanti nel settore della sanità pubblica, con esperienza in ambito epidemiologico dell’infezione da HIV; hanno aderito allo studio, inoltre, 18 Organizzazioni non Governative (ONG). Il progetto SIALON II ha visto il coinvolgimento del Centro Operativo AIDS (COA), del Dipartimento di Malattie Infettive, dell'Istituto Superiore di Sanità, in misura maggiore, in veste di divulgatore del progetto e dei suoi risultati.

Nel corso del 2019 si è lavorato sui dati del progetto per indagare i fattori legati alla pratica dei rapporti sessuali anali senza preservativo tra MSM.

Studio su co-infezione HIV-TB in Mozambico.

Progetto privo di finanziamento per il 2019. Centro Nazionale Salute Globale.

La tubercolosi (TB) ha caratteristiche endemiche in numerosi paesi dell’Africa sub-sahariana, e rappresenta la principale causa di morte nelle persone con HIV. La diagnosi di TB può essere difficile per la frequente falsa negatività dei test sull’espettorato o per la presenza di forme latenti, non identificabili con le metodiche diagnostiche tradizionali, che inoltre richiedono lunghi tempi tecnici.

La recente introduzione di nuovi test molecolari (test Xpert) ha introdotto la possibilità di una diagnosi rapida dell'infezione tubercolare con la simultanea determinazione della sensibilità del micobatterio tubercolare al farmaco rifampicina. Il test Xpert è stato riconosciuto come altamente sensibile e specifico, con evidenti vantaggi rispetto alle tecniche microscopiche e colturali, ed è stato raccomandato dall'Organizzazione Mondiale della Sanità come metodica di scelta in contesti a risorse limitate poiché permette il trattamento quasi immediato dei casi positivi, con importanti benefici clinici a livello individuale e di popolazione. È stato svolto fra il 2015 ed il 2018 in Mozambico dall'Istituto Superiore di Sanità in collaborazione con la Comunità di S. Egidio uno studio di valutazione del test Xpert nello screening per infezione tubercolare di soggetti con HIV candidati al trattamento antiretrovirale. Il protocollo diagnostico iniziale, a cui sono sottoposti tutti i soggetti, si basa su questionario sintomatologico, due esecuzioni ravvicinate del test Xpert sull'espettorato, ed un test diagnostico urinario rapido (LAM) per la ricerca di antigeni del micobatterio, con trattamento immediato dei casi positivi ad uno o a entrambi i test diagnostici. Lo studio ha concluso nel 2016 gli arruolamenti (con 1000 pazienti seguiti in tre centri Mozambicani) e nel 2018 il follow up a due anni per la sopravvivenza. L'analisi sui dati diagnostici raccolti, pubblicata nel 2017 sulla rivista *Clinical Infectious Diseases*, ha chiarito i benefici di un approccio alla diagnosi di TB in soggetti con HIV che non si basi sul solo screening per la presenza di sintomi (in quanto quasi un quarto dei soggetti risultati positivi per TB non aveva alcun sintomo), ma che preveda l'adozione di tests diagnostici combinati. Lo studio ha infatti dimostrato il valore aggiunto di una seconda determinazione del test Xpert sull'espettorato dopo un primo test negativo (che porta ad un aumento del numero di casi diagnosticati del 21%) e dell'uso concomitante del test LAM urinario (aumento del numero dei casi diagnosticati del 13.5% se utilizzato da solo e del 32.4% se impiegato insieme ad una strategia di doppio test Xpert). La resistenza alla rifampicina è risultata fortunatamente rara (2.5%). Nel 2018 si è chiuso il follow up dello studio.

È stato pubblicato nel 2018 uno studio di carattere socioeconomico che ha mostrato come l'adozione del test Xpert può incrementare la quantità di casi diagnosticati e ridurre i costi rispetto a protocolli diagnostici alternativi. Nel 2019 è stato pubblicato uno studio sulla valutazione del potenziale ruolo di marcatori di infiammazione (PCR, neopterin, Ip-10) negli algoritmi diagnostici. Nel 2020 è prevista la pubblicazione dell'analisi dell'impatto della applicazione del protocollo diagnostico combinato sulla sopravvivenza, con particolare attenzione alla presenza ed all'effettivo svolgimento del trattamento antitubercolare.

PROGRAMMI DI PREVENZIONE E MONITORAGGIO

Studio multicentrico delle caratteristiche epidemiologico/molecolari dei virus epatitici HBV e HCV nella popolazione carceraria HIV positiva, ad alto rischio di infezione.