

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 2018. 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. È 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 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 Makhatho 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 2018. 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 punto di una metodica di *Single-Genome Amplification* abbinata a *Next Generation Sequencing* per la determinazione dei genomi competenti e difettivi nei serbatoi di virus HIV latente.

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

Progetto privo di finanziamento per il 2018. Dipartimento Di Malattie Infettive.

Lo 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), ossia 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. Per valutare e aggiornare i tre outcome dell'HIV "continuum of care" per l'anno 2014 e misurare i cambiamenti rispetto al 2012, negli anni 2015/2016 è stato fatto un secondo censimento.

I risultati del secondo censimento, pubblicati nel 2018, hanno evidenziato che nel 2014, 100.049 (0,16 per 100 residenti) persone con diagnosi di HIV risultano in cura presso i centri clinici, pari ad un aumento del 6,3% rispetto all'indagine condotta nel 2012. Tra le persone diagnosticate e seguite presso i centri di malattie infettive, il 91,9% era in terapia antiretrovirale (aumento dell'11,4% rispetto al 2012) e tra questi l'87,7% aveva la carica virale soppressa. Complessivamente, la maggior parte erano maschi (72,1%), italiani (82,7%), di età compresa tra i 25 e i 49 anni (45,6%); le modalità di trasmissione più frequenti erano i contatti eterosessuali (37,9%) e i contatti MSM (31,3%); l'82,4% aveva una carica virale inferiore a 50 copie e il 22,9% era in stadio clinico C. I risultati integrali dello studio sono stati pubblicati nel 2018 sulla rivista AIDS Care 2018.

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

Progetto privo di finanziamento per il 2018. Dipartimento Di Malattie Infettive.

Progetto nato nel 2016 e proseguito fino al 2018 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.

Nel 2018 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 hanno evidenziato che tra il 2012 e il 2014 circa 6.000 persone sieropositive non erano ancora diagnosticate e avevano urgente bisogno di sottoporsi alla 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. I risultati integrali del lavoro sono stati pubblicati sulla rivista *Eurosurveillance* 2018.

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

Progetto privo di finanziamento per il 2018. 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).

Nell'ambito di questo progetto il COA ha svolto nel 2018 uno studio per valutare l'applicazione del test di avidità sulle nuove diagnosi HIV notificate al Sistema di Sorveglianza 2010-2017.

Tra le nuove diagnosi valutate per identificare le infezioni recenti nel periodo di studio, il 18% presenta un'infezione recente. Tale proporzione è risultata più alta negli MSM (25%) e più bassa

nelle femmine eterosessuali (11%). Differenze notevoli si evidenziano tra italiani e stranieri (22% italiani vs 10% stranieri; p-value <0,05). I risultati evidenziano come la proporzione di infezioni recenti sia alquanto bassa, in particolare tra le persone che hanno acquisito l'infezione attraverso contatti eterosessuali e tra gli stranieri suggerendo un accesso precoce al test piuttosto ridotto.

Vari fattori possono in parte influenzare tali risultati, quali: una diversa offerta del test HIV sul territorio, campagne di sensibilizzazione insufficienti per alcuni gruppi di popolazione e una scarsa percezione del rischio del singolo individuo. I risultati di questo lavoro sono stati presentati nel Notiziario dell'Istituto Superiore di Sanità, vol 31 n. 9, supplemento 1, 2018.

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.

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 2018 il COA, insieme all' ISTAT e al CRO di Aviano, ha effettuato uno studio retrospettivo per gli anni 2006-2011 con lo scopo di valutare l'eccesso di mortalità per diabete o malattie del sistema circolatorio nelle persone con AIDS rispetto alla popolazione generale. Tra le 1.229 persone con AIDS decedute nel periodo in studio, i certificati di morte riportavano una malattia del sistema circolatorio (MSC) in 201 casi (16,4%) e il diabete mellito (DM) in 46 (3,7%) casi. Questi valori corrispondevano a una mortalità 13 volte superiore per MSC (intervalli di confidenza (IC) al 95%: 10,8-14,4) e DM (IC 95%: 9,5-17,4) rispetto alle persone senza AIDS.

Tra le MSC, le cause con un eccesso di mortalità statisticamente significativo erano: l'ipertensione (23 decessi; SMR = 6,3; IC 95%: 4,0-9,4), la cardiopatia ischemica (39 decessi; SMR = 6,1; IC 95%: 4,4-8,4), altre forme di malattie cardiache (88 decessi; SMR = 13,4; IC 95%: 10,8-16,5) e le malattie cerebrovascolari (42 decessi; SMR = 13,4; IC 95%: 9,7-18,2). Un eccesso particolarmente elevato di mortalità è stato osservato tra le persone con AIDS più giovani (<50 anni) e tra coloro che facevano uso iniettivo di sostanze.

I risultati integrali dello studio sono stati presentati nella sezione Approfondimenti del Notiziario dell'Istituto Superiore di Sanità vol 31 n. 9, supplemento 1, 2018 e pubblicati sulla rivista BMC Infectious Disease 2018.

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 per rispondere ai seguenti obiettivi:

- 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.

Dall'indagine sono emersi luoghi comuni errati e false credenze in tema di HIV e/o IST.

Nel 2018 sono stati pubblicati i primi risultati nel Notiziario dell'Istituto Superiore di Sanità volume 31 n. 3 Marzo 2018 e successivamente sono stati presentati al 10° Italian Conference on AIDS and Antiviral Research, Roma.

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 dal COA nel 2017 e che aveva come obiettivo quello di descrivere i 21 sistemi regionali di sorveglianza HIV. I risultati dell'indagine sono stati pubblicati sulla rivista *Epidemiologia e Prevenzione* 2018.

Nel corso del 2018, con la partecipazione dell'intero gruppo di lavoro è stato definito il contenuto della scheda unificata HIV/AIDS.

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 studio che ha previsto due fasi.

1) Studio retrospettivo (marzo-maggio 2017): sono state coinvolte 4 Unità Operative (UO) di riferimento per la diagnosi delle IST, situate in grandi strutture universitarie (Torino, Firenze, Napoli, Palermo), in stretta contiguità con specialisti infrastruttura che vedono pazienti con sospetta IST; ogni Centro ha prodotto, utilizzando i dati archiviati di richieste di analisi, un elenco di specialisti infrastruttura che hanno richiesto accertamenti di laboratorio per IST nei 12 mesi precedenti.

2) Studio prospettico (giugno-dicembre 2017): è stata realizzata una rete di specialisti infrastruttura identificati tramite lo studio retrospettivo che sono stati formati per l'effettuazione dello studio; questi specialisti dovranno arruolare in modo prospettico persone con un sospetto di IST. L'Istituto Superiore di Sanità in qualità di coordinatore dello studio, insieme al Dipartimento di Sanità Pubblica e Malattie Infettive, dell'Università Sapienza di Roma ha riunito i partecipanti allo studio e sono state stabilite le IST da considerare, le relative definizioni di caso e la scheda raccolta dati relativa ad ogni paziente (dati individuali socio-demografici-clinici per ogni paziente arruolato; il percorso già effettuato dal paziente in termini di visite, indagini microbiologiche e/o sierologiche e terapia, ricostruito, sulla base dell'anamnesi patologica prossima; l'esito delle eventuali ulteriori indagini diagnostiche e trattamenti che lo specialista ha prescritto al paziente, nonché l'efficacia della terapia valutata attraverso il follow-up). Inoltre, con il supporto di una ditta informatica, è stata messa appunto una piattaforma elettronica disegnata specificamente per lo studio, che permette l'inserimento dei dati raccolti.

L'obiettivo primario dello studio è analizzare e migliorare l'assistenza sanitaria destinata alle persone con IST e HIV secondo i bisogni assistenziali del cittadino, al fine di garantire la qualità delle cure, migliorare l'appropriatezza diagnostico-terapeutica e ottimizzare le risorse economiche.

Gli obiettivi secondari sono i seguenti:

Descrivere i percorsi e i flussi delle persone con un sospetto di IST.

Stimare la quota di diagnosi IST/HIV ritardate o mancate e le inapproprietezze del sistema in termini di tempi di attesa per un corretto percorso diagnostico-terapeutico.

Valutare l'accesso al test HIV e la coinfezione da HIV nelle persone con IST.

Attivare e formare una rete di specialisti infrastruttura che vedono persone con sospetta IST.

L'analisi dei percorsi diagnostico-assistenziali delle persone con IST/HIV costituirà un modello trasferibile ad altre realtà regionali per ampliare la raccolta di dati ed uniformare il percorso a livello nazionale. Inoltre, il trasferimento ad altre aree consentirà di esplorare le differenze per zona geografica, tipo di struttura e dimensione abitativa dell'area interessata.

Durante il 2018, le UO partecipanti al progetto hanno inserito le informazioni raccolte dagli specialisti infra-struttura nella piattaforma web, ricevendo il supporto necessario a garantire la qualità dei dati inseriti e la congruità delle schede con le finalità del progetto da parte delle due UO coordinatrici, l'ISS e l'Università Sapienza di Roma.

Periodicamente, l'ISS e l'Università Sapienza di Roma hanno organizzato una videoconferenza con tutte le UO partecipanti allo studio e gli specialisti segnalatori coinvolti, al fine di confrontarsi sul funzionamento della piattaforma e sul raggiungimento degli obiettivi come da protocollo di studio.

Inoltre, è stato concordato di organizzare un evento finale con tutte le UO rivolto all'esterno, con la presentazione dei risultati del progetto, entro marzo 2019.

L'UO1 e l'UO2 hanno avviato le procedure per l'organizzazione dell'evento finale che vedrà coinvolte tutte le UO e sarà rivolto all'esterno. L'evento dal titolo: "Infezioni Sessualmente Trasmesse (IST) Scenari attuali e prospettive future: proposte operative per un corretto inquadramento diagnostico e assistenziale" si terrà il 19 e il 20 febbraio 2019 presso il Dipartimento di Sanità Pubblica e Malattie Infettive, Sezione Microbiologia dell'Università Sapienza di Roma. Si articolerà in due giornate, la prima che, oltre a promuovere le conoscenze e la ricerca relativa ai vari aspetti delle IST, prevede la presentazione dei risultati del Progetto, la seconda che sarà dedicata ai giovani con l'obiettivo di spiegare con un linguaggio semplice e diretto cosa sono le IST e quali sono gli strumenti a disposizione per poterle prevenire.

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) esprime 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, nel 2018 abbiamo 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 (bNAbs) 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 2018 abbiamo selezionato due immunogeni HIV-Env: la forma HIV-ENV tronca (HIV-ENV-T) e la forma legata alla membrana (full lenght, HIV-ENV-FL). Entrambi si basano su una sequenza di consenso del gruppo M HIV-1 Env (ConM) che è stata modificata per produrre trimeri di Env nativi con maggiore stabilità ed esposizione di epitopi capaci di indurre bNAbs. HIV-ENV-T produce un'alta proporzione di trimeri di Env solubili, mentre HIV-ENV-FL produce una versione del medesimo trimero che si lega alla membrana. Le sequenze codificanti HIV-ENV-T e HIV-ENV-FL sono state clonate nel vettore di trasferimento pGAE basato su SIV, ottenendo pGAE-ENV-T e pGAE-ENV-FL. Abbiamo quindi utilizzato i due vettori di trasferimento per la produzione di IDLV-ENV-T e IDLV-ENV-FL. Poiché HIV-ENV-FL è presente sulla superficie delle particelle IDLV, abbiamo ipotizzato che l'utilizzo di IDLV-ENV-FL per l'immunizzazione induca una risposta anticorpale immunitarie più elevata rispetto a IDLV- ENV-T a causa della pseudotipizzazione di Env trimerica sulle particelle IDLV da parte di HIV-ENV-FL espresso come transgene dal genoma di IDLV. Pertanto, per confrontare le risposte immunitarie indotte dagli IDLV con l'Envelope legato alla membrana o l'Envelope secreto, abbiamo immunizzato gruppi di BALB/c (n=5) per via intramuscolare con dosi scalari di IDLV-ENV-T o IDLV-ENV-FL (10×10^6 - 2×10^6 - 0.4×10^6 RT units/topo). I campioni di siero sono stati prelevati da sangue raccolto mensilmente in diversi momenti a partire da 2 settimane fino a un anno dopo l'inoculo. Il test ELISA è stato eseguito per studiare l'induzione della risposta immunitaria umorale contro Env. I risultati hanno mostrato che una singola immunizzazione con gli IDLV esprimenti ENV ha indotto anticorpi anti-Env persistenti, ancora rilevabili a 53 settimane dopo l'immunizzazione. È importante notare che IDLV-ENV-FL ha ottenuto livelli anticorpali più alti rispetto a IDLV-ENV-T, soprattutto all'inizio della fase sperimentale. Queste differenze sono state

particolarmente evidenti alle dosi più bassa degli IDLV. I dati ottenuti in questo studio sottolineano e confermano la capacità di IDLV di indurre risposte durature in seguito a una singola immunizzazione.

SIALON II.

Progetto finanziato dalla Commissione Europea, privo di finanziamento per il 2018. Dipartimento di Malattie Infettive.

Nel 2018 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 Parassitarie ed Immunomediate, dell’Istituto Superiore di Sanità, in misura maggiore, in veste di divulgatore del progetto e dei suoi risultati.

Nel corso del 2018 sono stati elaborati i dati per la pubblicazione di due articoli scientifici.

Il primo lavoro, pubblicato sulla rivista *Eurosurveillance* 2018 ha indagato la correlazione tra le campagne di prevenzione e gli indicatori Global AIDS Monitoring indicators (GAM) nelle 13 città europee coinvolte. I risultati evidenziano che le campagne di prevenzione sono significativamente correlate con i livelli di utilizzo del preservativo e il ricorso al test HIV tra gli MSM.

Il secondo articolo, pubblicato sulla rivista *BMC Infectious Disease* 2018, ha indagato i fattori demografici e comportamentali associati all’infezione da HIV non diagnosticata tra gli MSM. Tra i 497 MSM risultati HIV positivi, 234 (47,1%) erano stati già precedentemente diagnosticati e 106 (21,3%) hanno ricevuto una nuova diagnosi. Gli MSM con nuova diagnosi di HIV avevano una probabilità doppia (odds ratio (OR) = 2,22, 95% CI 1,17-4,21) di aver consumato sostanze ricreative durante l'ultimo incontro anale e una probabilità quadrupla (OR = 3.94, IC 95%: 2.14-7.27) di non aver riferito il proprio siero stato all'ultimo partner in un rapporto anale. Gli MSM con infezione da HIV non nota avevano una probabilità 3,6 più alta (OR = 3,61, IC 95%: 1,74-7,50) di aver avuto un'infezione a trasmissione sessuale negli ultimi 12 mesi. Circa un terzo dei partecipanti allo studio che avevano l'HIV non era a conoscenza della loro infezione. Quasi due terzi (65%) di

quelli con HIV non diagnosticato sembra aver acquisito l'infezione di recente, sottolineando la necessità di test più frequenti.

Studio su co-infezione HIV-TB in Mozambico.

Progetto privo di finanziamento per il 2018. Centro Nazionale Salute Globale.

La tubercolosi (TB) ha caratteristiche endemiche in numerosi paesi dell'Africa sub-sahariana, ed è causa nei pazienti con infezione da HIV di elevata morbilità, spesso rappresentando 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 ai farmaci (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 avviato nel 2015 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 tutti i soggetti con HIV candidati al trattamento antiretrovirale. Obiettivo dello studio è la definizione di un protocollo di diagnosi rapida e la valutazione dei benefici clinici (soprattutto sopravvivenza) apportati da una precoce diagnosi ed un trattamento immediato dei casi identificati di TB. Il protocollo diagnostico iniziale, a cui sono sottoposti tutti i soggetti, prevede 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 l'analisi sui dati diagnostici raccolti è stata pubblicata nel 2017 sulla prestigiosa rivista *Clinical Infectious Diseases*, ricevendo particolare attenzione, in quanto ha chiarito la necessità di un approccio multilaterale 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), e che preveda l'adozione di tests diagnostici combinati.