

europeo, con oltre 20 pubblicazioni su riviste scientifiche internazionali e varie collaborazioni internazionali per la valutazione di aspetti di sicurezza e teratogenicità.

I risultati della sorveglianza sono stati periodicamente presentati alla Commissione Nazionale AIDS ed a numerose conferenze nazionali ed internazionali, ed i referenti del progetto costituiscono membri stabili del panel per la definizione delle linee guida per la gestione dell'infezione da HIV.

Si segnala però che nonostante questi aspetti lo studio è attualmente privo di finanziamenti. In passato si sono ottenuti fondi attraverso programmi di finanziamento (Programma Nazionale di Ricerca sull'AIDS e bandi AIFA per la Ricerca Indipendente sui Farmaci), che attualmente non sono disponibili in quanto il Programma Nazionale di Ricerca sull'AIDS non ha emesso bandi recenti e il bando AIFA per la Ricerca Indipendente sui Farmaci 2012 non ha permesso di riproporre ricerche già finanziate.

2.4. ATTIVITÀ DI SERVIZIO: HIV/AIDS/IST COUNSELLING TELEFONICO SVOLTO DAL TELEFONO VERDE AIDS E INFEZIONI SESSUALMENTE TRASMESSE DELL'UNITÀ OPERATIVA RICERCA PSICO-SOCIO-COMPORTAMENTALE, COMUNICAZIONE, FORMAZIONE (UO RCF)

L'Unità Operativa RCF opera all'interno del Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate dell'Istituto Superiore di Sanità svolgendo attività di:

counselling telefonico sull'Infezione da HIV/AIDS (da giugno 2010 anche sulle altre Infezioni a Trasmissione Sessuale);

ricerca in campo psico-socio-comportamentale;

formazione intra ed extra murale su aspetti riguardanti la comunicazione efficace e il counselling vis à vis e telefonico in ambito sanitario;

consulenza scientifica su tematiche relative alla prevenzione delle Malattie Infettive nella popolazione generale e in target specifici (popolazioni migranti);

coordinamento di Reti (National Focal Point- Infectious Diseases and Migrant)

Per quanto riguarda l'attività di Counselling Telefonico sull'Infezione da HIV/AIDS e sulle Infezioni a Trasmissione Sessuale (IST) il Servizio Telefono Verde AIDS e IST (800.861061)

istituito nel 1987 dalla Commissione Nazionale per la lotta contro l'AIDS e co-finanziato dal Ministero della Salute e dall'Istituto Superiore di Sanità ha rappresentato la prima esperienza di "AIDS helpline" pubblica, a copertura nazionale, impegnata nella prevenzione primaria e secondaria dell'infezione da HIV rivolta alla popolazione generale italiana e straniera.

Il gruppo di esperti del TVAIDS e IST anche nel 2012 si è avvalso della collaborazione di ricercatori e consulenti con diverse professionalità (medici, psicologi, esperti in comunicazione e legali), nonché di collaboratori tecnici di ricerca e, periodicamente, di un supervisore esterno.

L'impatto positivo di tale impostazione è da ricercare nell'opportunità di erogare alla persona/utente, attraverso un colloquio specialistico mirato e non direttivo, informazioni scientifiche trasformate in messaggi personalizzati, utili per facilitare la messa in atto di modifiche comportamentali e decisionali necessarie per la diminuzione del disagio, nonché per permettere l'attuazione di *life skills* finalizzate ad evitare comportamenti a rischio. L'HIV/AIDS/IST counselling telefonico è svolto in anonimato e gratuitamente, dal lunedì al venerdì, dalle ore 13.00 alle ore 18.00. Gli esperti rispondono anche in lingua inglese, francese, portoghese. Tale intervento, permette all'utente di esprimere dubbi, perplessità, paure, ma anche di ricevere informazioni conformi ai suoi reali bisogni rappresentando una vera e propria relazione professionale tra un operatore, con competenze tecnico-scientifiche e comunicativo-relazionali specifiche, e una persona/utente che esprime una richiesta, un bisogno, una necessità.

Da giugno 1987 a dicembre 2012, il TVA e IST ha ricevuto un totale di 707.059 telefonate, di queste il 74,4% è pervenuto da utenti di sesso maschile.

La distribuzione per classi di età evidenzia che 549.842 (77,8%) telefonate sono state effettuate da persone di età compresa tra i 20 e i 39 anni (il 46,5% ha un'età tra i 20 e i 29 anni e il 31,3% tra i 30 e i 39 anni).

Per quanto riguarda la distribuzione geografica delle telefonate, dal Nord ne sono giunte 329.148 (46,6%), dal Centro 201.290 (28,5%), dal Sud 126.857 (17,9%), dalle Isole 44.481 (6,3%) e in 5.283 (0,7%) telefonate, l'informazione è mancante. Il calcolo dei tassi delle telefonate (per 100.000 abitanti) per aree geografiche evidenzia che dalle regioni del Centro Italia sono pervenute la maggior parte delle telefonate. I gruppi di utenti più rappresentati sono persone, non tossicodipendenti, che hanno avuto contatti eterosessuali 394.777 (55,8% del totale delle telefonate). In tale numero sono inclusi anche i clienti di prostitute - il 29,0% - e persone che non hanno avuto fattori di rischio (NFDR) - il 30,2% -.

La restante proporzione riguarda persone che dichiarano di essere:

- omo-bisessuali 42.574 (6,0%)
- sieropositivi 24.935 (3,5%)
- tossicodipendenti 4.847 (0,7%)
- volontari vaccino anti TAT 2.659 (0,4%)
- emotrasfusi 2.091 (0,3%)
- altro/non indicato 21.948 (3,1%)

Il numero totale dei quesiti formulati agli esperti del TVA e IST è di 1.875.678 e riguarda in particolar modo (53,1%) due argomenti specifici:

- modalità di trasmissione 524.100 (27,8%)
- informazioni sul test 474.682 (25,3%)

I dati relativi alle telefonate pervenute nell'anno 2012 sono riportati nella tabella 1.

Tabella 1. Sintesi dei dati relativi all'attività di HIV/AIDS/IST counselling telefonico svolta nell'anno 2012

		Numero	Percentuale (%)
TOTALE TELEFONATE		17.090	
TOTALE QUESITI		52.016	
SESSO	Maschi	14.781	86,5
	Femmine	2.303	13,5
	Transessuale	5	0,0
	Transgender	1	0,0
CLASSE D'ETA' PIU' RAPPRESENTATA	20-39 anni	12.381	72,4
DISTRIBUZIONE PERCENTUALE PER AREE GEOGRAFICHE	Nord	7.478	43,7
	Centro	5.072	29,7
	Sud	3.362	19,7
	Isole	1.177	6,9
	Non Indicato	1	0,0
DISTRIBUZIONE PERCENTUALE PER GRUPPI DI UTENTI	Eterosessuali	10.274	60,0
	NFDR	5.020	29,4
	Omo-bisessuali	1.284	7,5
	Sieropositivi	421	2,5
	Volontari vaccino anti TAT	30	0,2
	Tossicodipendenti	31	0,2
	Emotrasfusi	19	0,1
	Altro/Non Indicato	11	0,1
DISTRIBUZIONE PERCENTUALE PER GRUPPI DI QUESITI	Modalità trasmissione	20.167	38,8
	Informazioni sul test	13.700	26,3
	Disinformazione	7.765	14,9
	Virus	2.490	4,8
	Prevenzione	2.310	4,4
	Sintomi	2.035	3,9
	Aspetti psicosociali	1.900	3,7
	Terapia e Ricerca	757	1,5
	Vaccino TAT	212	0,4
	Altro	680	1,3

Come già riportato, da giugno 2010, gli esperti del TVA e IST forniscono informazioni scientifiche e personalizzate alle persone/utenti che pongono quesiti in merito alle Infezioni Sessualmente Trasmesse (IST).

L'analisi delle frequenze assolute e percentuali dei dati raccolti durante l'attività di IST counselling telefonico si riferisce al periodo 21 giugno 2010 – 31 dicembre 2012. In tale arco temporale sono pervenute al TVA e IST, 6.899 telefonate durante le quali è stata

focalizzata l'attenzione, in modo specifico e preminente sulle IST, attraverso i 30.404 quesiti.

Il 76,7% delle persone che telefonano per chiedere informazioni su tali infezioni hanno un'età non superiore ai 39 anni. Si tratta di una fascia di popolazione di giovani-adulti, infatti il 41,2% ha un'età tra i 30-39 anni, il 33,9% tra i 20 e i 29 anni; 65 telefonate pari all'1,6% sono pervenute da adolescenti di età compresa tra i 10 e i 19 anni. Poco meno di un quinto (il 18,1%) delle telefonate riguarda adulti tra i 40 e i 59 anni. Questi dati, sembrano suggerire la necessità di intervenire con azioni di prevenzione delle IST mirate a fasce di popolazione giovanile.

Il maggior numero di telefonate proviene dalle regioni del Nord Italia (3.075), seguono le regioni del Centro (2.036), del Sud (1.321) e infine le Isole (467).

La raccolta di informazioni, svolta nel più assoluto anonimato, consente di tracciare un profilo tipologico di quanti si avvalgono di un intervento di counselling telefonico sulle IST. Dall'analisi dei dati delle telefonate è possibile distinguere tre principali gruppi di persone/utenti: eterosessuali, omo-bisessuali, persone con nessun fattore di rischio - NFDR.

I quesiti posti dalle persone/utenti e gli argomenti maggiormente affrontati nell'intervento di IST counselling telefonico hanno riguardato le seguenti aree:

Modalità trasmissione	(n. 17.335 telefonate)
Informazioni su esami diagnostico-clinici	(n. 5.656 telefonate)
Disinformazione	(n. 1.834 telefonate)
Prevenzione	(n. 1.572 telefonate)
Sintomi	(n. 1.539 telefonate)
Aspetti psico-sociali	(n. 1.027 telefonate)
Agente eziologico	(n. 683 telefonate)
Altro	(n. 758 telefonate)

L'analisi dei dati assoluti e percentuali rileva che l'area informativa di maggiore interesse per le persone/utenti, riguarda *le modalità di trasmissione degli agenti infettivi delle IST* (57,0%). Informazioni queste indispensabili per la persona al fine di potersi avvalere di strumenti utili per evitare comportamenti a rischio ed attivare processi di *empowerment* mirati alla tutela della propria salute e di quella dell'intera collettività.

L'interesse conoscitivo delle persone/utenti è rivolto anche all'area concernente gli esami diagnostico-clinici necessari per rilevare una IST, quindi, informazioni inerenti a quando effettuare un test diagnostico, a quali strutture pubbliche rivolgersi, con quali modalità accedere ai Centri diagnostico-clinici (impegnativa del medico di medicina generale, eventuale appuntamento, tickets, ecc.) presenti nella propria provincia (tabella 2).

Tabella 2. Sintesi dei dati relativi all'attività di IST counselling telefonico svolta dal 21 giugno 2010 al 31 dicembre 2012

		2010	(%)	2011	(%)	2012	(%)	Totale	%
TOTALE TELEFONATE		1.1 53		3.1 43		2.6 03		6.8 99	
TOTALE QUESITI		3.7 67		14. 601		12. 036		30. 404	
SESSO	Maschi	1.0 64	92, 3	2.8 69	91, 3	2.3 53	90, 4	6.2 86	91, 1
	Femmine	89	7,7	272	8,7	249	9,6	610	8,8
	Transessuali	0	0,0	1	0,0	1	0,0	2	0,0
	Transgender	0	0,0	1	0,0	0	0,0	1	0,0
CLASSI D'ETA'	10-19	17	1,5	49	0,2	46	1,8	112	1,6
	20-29	375	32,5	1.075	34,2	891	34,2	2.341	33,9
	30-39	504	43,7	1.288	41,0	1.052	40,4	2.844	41,2
	40-49	210	18,2	564	17,9	476	18,3	1.250	18,1
	50-59	37	3,2	109	3,5	96	3,7	242	3,5
	>59	10	0,9	48	1,5	29	1,1	87	1,3
	Non Indicato	0	0,0	10	0,3	13	0,5	23	0,3
DISTRIBUZIONE PERCENTUALE PER AREE GEOGRAFICHE	Nord	527	45,	1.3	43,	1.1	45,	3.0	44,
	Centro	347	7	76	8	72	0	75	6
	Sud	206	30,1	954	30,3	735	28,2	2.036	29,5
	Isole	73	17,9	609	19,4	506	19,4	1.321	19,1
			6,3	204	6,5	190	7,3	467	6,8
DISTRIBUZIONE PERCENTUALE PER GRUPPI DI PERSONE-UTENTI	Eterosessuali	917	79,	256	81,	1.9	74,	5.4	78,
	Non Fattori Di Rischio	133	6	3	6	45	7	25	6
	Omo-bisessuali	97	11,5	277	8,8	415	15,9	825	12,0
	Altro	6	8,4	270	8,6	219	8,4	586	8,5
			0,5	33	1,0	24	0,9	63	0,9
DISTRIBUZIONE PERCENTUALE PER GRUPPI DI QUESITI	Modalità trasmissione	2.6	69,	8.0	55,	6.6	55,	17.	57,
	Esami diagnostico-clinici	14	5	83	4	38	2	335	0
	Aspetti psicosociali	520	13,8	2.844	19,5	2.292	19,0	5.656	18,6
	Prevenzione	177	4,7	526	3,6	324	2,7	1.027	3,4
	Disinformazione	152	4,0	752	5,2	668	5,6	1.572	5,2
	Sintomi	126	3,3	938	6,4	770	6,4	1.834	6,0
	Agente eziologico	122	3,2	787	5,4	630	5,2	1.539	5,1
	Altro	41	1,1	357	2,4	285	2,4	683	2,2
		15	0,4	314	2,1	429	3,6	758	2,5

*Tutti i dati sopra riportati sono stati estrapolati dal "Rapporto Attività di HIV/AIDS/IST Counselling telefonico, Giugno 1987 – Dicembre 2012". Tale Rapporto può essere richiesto al seguente indirizzo email: tvaid@iss.it o scaricato dal sito Internet <http://www.iss.it/urcf/index.php?lang=1>

ATTIVITA' DI RICERCA

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

3.1. RICERCA BIOMEDICA

La ricerca biomedica in ISS, nel campo dell'HIV/AIDS, comprende progetti finanziati dal Programma Nazionale AIDS e Progetti finanziati da altri programmi nazionali ed internazionali.

3.1.1. Programma Nazionale di ricerca sull'AIDS

Il Programma Nazionale di Ricerca sull'AIDS ha consentito all'Italia di acquisire un ruolo d'assoluta preminenza nel panorama scientifico internazionale, come dimostrato dai numerosi riconoscimenti in ambito internazionale ottenuti dai ricercatori italiani. Grazie anche al Programma Nazionale di Ricerca sull'AIDS si è selezionata, nel corso degli anni, una popolazione di ricercatori d'alta qualità, molto attivi ed inseriti nei circuiti internazionali, i quali hanno realizzato laboratori di ricerca d'elevato livello.

Il Programma Nazionale di Ricerca sull'AIDS, avviato alla fine degli anni '80 dalle autorità politiche del Paese, ha usufruito, all'inizio, di investimenti di significativa entità, mantenuti allo stesso livello, con periodicità annuale, fino alla metà degli anni '90. Purtroppo, dalla fine degli anni '90, l'entità del finanziamento si è costantemente ridotta e, soprattutto, ha perso la periodicità annuale. Gli effetti dello scarso finanziamento del Programma Nazionale AIDS portano inevitabilmente, ad una più bassa qualità della ricerca italiana sull'AIDS e, potenzialmente, ad un ruolo di secondo piano dell'Italia nella scienza biomedica in campo internazionale. Si aggiunga, inoltre che, nel periodo 2006-2008, non sono stati stanziati nuovi fondi, mentre nel 2009 è stato indetto un call for proposal per

nuovi progetti o per la continuazione di progetti in corso, con fondi limitati. Tuttavia, la decisione in merito ai progetti da finanziare, presentati regolarmente, è arrivata solo nel 2010. Il 2010 è stato anche l'ultimo anno in cui sono stati stanziati dei fondi, seppur limitati nella loro entità, per la ricerca sull'AIDS all'interno del Programma.

Dal 2009, l'ISS non è più coordinatore del Programma Nazionale di Ricerca sull'AIDS. Il coordinamento è stato gestito dalla Direzione Generale della Ricerca del Ministero della Salute. All'ISS è rimasta la gestione dei fondi. La possibilità di utilizzare i fondi assegnati ai singoli gruppi di ricerca continuerà fino a circa la metà del 2013.

La struttura del Programma, in macro aree, è la seguente:

1. Epidemiologia
2. Eziologia, patogenesi e sviluppo di vaccini
3. Clinica e terapia
4. Infezioni opportunistiche

Nonostante l'assenza di finanziamenti, alcuni progetti del Programma Nazionale AIDS sono proseguiti grazie all'abnegazione e all'impegno personale dei ricercatori ISS. Tra gli argomenti più rilevanti si segnalano:

Epidemiologia

HIV incidence estimate among individuals with sexually transmitted infections using the HIV avidity index

Il progetto, condotto dal Centro Operativo AIDS (COA) del Dipartimento di Malattie Infettive dell'Istituto Superiore di Sanità è uno studio cross-sectional e multicentrico con durata biennale (2011-2012). L'obiettivo è quello di identificare le infezioni recenti da HIV tra gli individui con una IST diagnosticata e stimarne l'incidenza, studiare i determinanti dell'infezione recente da HIV tra i pazienti con una IST, analizzare i sottotipi virali dell'HIV e i pattern della resistenza ai farmaci attraverso tecniche di biologia molecolare.

I centri partecipanti sono il Centro Operativo AIDS (COA) dell'Istituto Superiore di Sanità, che funge da centro di coordinamento dello studio, e 6 centri clinici IST, facenti parte della sorveglianza sentinella delle infezioni sessualmente trasmesse (IST), coordinata dal COA, e 5 laboratori di virologia. Nel periodo di attività gli 11 centri/ laboratori, arruolati nello studio, hanno raccolto i dati sull'Indice di Avidità (AI) anticorpale anti-HIV per i pazienti con diagnosi accertata di IST e con una nuova diagnosi di infezione da HIV.

I sieri dei soggetti HIV positivi con nuova diagnosi sono stati raccolti dai centri clinici ed inviati presso i laboratori di riferimento al fine di analizzarli per il test di misurazione dell'AI. Successivamente, i laboratori che hanno effettuato le analisi sui sieri, hanno inviato il risultato ai centri clinici, che a loro volta hanno segnalato al COA il nuovo paziente con il relativo risultato AI attraverso il sistema di segnalazione on-line della sorveglianza sentinella delle IST basata su una rete di centri clinici.

I campioni di siero che hanno presentano un valore dell'indice di avidità (AI) anticorpale $\leq 0,80$ sono stati classificati come 'infezioni recenti da HIV (sieroconversione ≤ 6 mesi).

I dati sono stati raccolti in un unico database, presso il COA, che contiene informazioni socio-demografiche, comportamentali e cliniche del paziente con nuova diagnosi di IST e HIV, quali: età, sesso, nazionalità, residenza, luogo di contagio, numero di partner ultimi sei mesi, uso di contraccettivi ultimi sei mesi, uso droghe nella vita, pregresse IST, tipo di contatto sessuale (eterosessuale e maschi che fanno sesso con altri maschi), IST diagnosticata, metodo di diagnosi della IST, positività pregressa ed attuale all'infezione da HIV e Indice di avidità anticorpale per le nuove diagnosi di HIV.

Eziologia, patogenesi e sviluppo di vaccini

Nel corso del 2012 sono proseguiti gli studi per analizzare le modificazioni del tropismo virale, il ruolo patogenetico di mutazioni/delezioni nei geni regolatori o strutturali, presenti in pazienti infettati con HIV e l'interazione tra proteine strutturali e regolatrici di HIV, nell'ambito delle strategie di indagine mirate a comprendere i meccanismi patogenetici dell'infezione da HIV. Inoltre sono stati effettuati diversi studi preclinici atti a valutare e disegnare nuove strategie vaccinali preventive. Gli studi inseriti in questo sottoprogetto sono ritenuti di basilare importanza per sviluppare approcci vaccinali preventivi e

terapeutici e per lo sviluppo di nuovi farmaci antiretrovirali. Alcuni dei progetti finanziati in questo sottoprogetto sono di seguito elencati.

Study on the characteristics of the Env protein from HIV-1 clade C isolates in virus infectivity and resistance to neutralisation

Il progetto, coordinato dal Reparto “Infezioni da Retrovirus nei paesi in via di sviluppo” del Centro Nazionale AIDS, mira a studiare la variabilità della proteina Env di varianti virali appartenenti a diversi sottotipi di HIV-1, ottenute da pazienti a diversi stadi della malattia, in Sudafrica ed in Swaziland, con lo scopo di capire se varianti con particolari caratteristiche della proteina Env, che conferiscono resistenza all'azione degli anticorpi neutralizzanti, vengano preferenzialmente selezionate nel corso della malattia.

Nell'ambito del progetto sono stati arruolati, in Sudafrica ed in Swaziland, 72 individui infettati da HIV a differenti stadi della malattia (24 individui con infezione recente, 24 con malattia cronica e 24 allo stadio tardivo), naïve per la terapia antiretrovirale. L'analisi filogenetica dei virus di HIV ha rivelato che tutti gli individui in studio erano infettati da varianti del sottotipo C di HIV-1, in accordo ai dati di letteratura. Nel corso del 2011 e 2012 sono state valutate le caratteristiche di sequenza delle 5 regioni variabili e di 3 regioni costanti della proteina Env gp120, ottenuta da ciascuna variante. I risultati hanno messo in evidenza che la lunghezza della sequenza aminoacidica delle regioni V1 e V4 aumenta in modo statisticamente significativo durante la fase cronica della malattia, se paragonata a quella della fase iniziale. Inoltre i dati hanno mostrato un aumento statisticamente significativo del numero dei siti potenziali di N-glicosilazione (PNGS), durante la fase cronica, nella porzione C-terminale della regione V1 e una tendenza di questo numero ad aumentare nelle regioni V4 e V2, sempre durante la fase cronica e nella regione costante C3 in fase cronica. E' stato inoltre evidenziato che la regione V5 acquisisce una maggiore carica positiva nel passaggio dallo stadio cronico allo stadio tardivo della malattia e che questa variazione è statisticamente significativa. Infine, è stato evidenziato l'accumulo di siti sottoposti a pressione selettiva nella regione C3 durante lo stadio cronico della malattia. I dati hanno portato ad ipotizzare che questi cambiamenti possano correlare allo

sviluppo di varianti in grado di resistere alla risposta immune dell'ospite, in particolare all'azione degli anticorpi neutralizzanti.

Questi studi sono stati pubblicati, o sono in corso di revisione, su riviste internazionali ad alto impact factor. Essi potranno fornire preziose indicazioni per lo sviluppo di un vaccino preventivo, in grado di bloccare l'infezione della cellula da parte del virus.

Virological, immunological and genetic studies on HIV-positive Italian citizens and migrant population in Italy

Il progetto, coordinato dal Reparto "Infezioni da Retrovirus nei paesi in via di sviluppo", del Centro Nazionale AIDS, prevede la caratterizzazione dei sottotipi di HIV circolanti nelle popolazioni di migranti in Italia, nonché un'indagine sul numero delle infezioni da HIV recenti e sulle caratteristiche della risposta immunitaria all'infezione da HIV e ad altre malattie infettive in queste popolazioni. Tutto questo allo scopo di studiare le caratteristiche immunopatogenetiche dell'infezione da HIV nelle popolazioni di migranti e di monitorare le possibili dinamiche di introduzione di nuovi sottotipi di HIV nella popolazione generale italiana.

Nel completo anonimato, sono stati arruolati attualmente (dati aggiornati al 2012) 171 pazienti HIV-positivi, afferenti a diversi Centri clinici italiani. La maggior parte dei pazienti proveniva dal Brasile, Nigeria e Marocco. In misura minore erano presenti pazienti dalla Thailandia, Togo, Ucraina, Burkina Faso, Camerun, Cuba ed Etiopia. L'analisi filogenetica dei virus HIV infettanti, effettuata su coloro che avevano una carica rilevabile di HIV nel plasma, ha rivelato che erano presenti i sottotipi di HIV-1 A, B, C, F, G e J ed una percentuale di sottotipi ricombinanti, non presenti sul territorio nazionale. In particolare, il sottotipo B, comune nella popolazione italiana, era scarsamente rappresentato nelle popolazioni di migranti analizzate.

Lo studio contribuirà a comprendere le dinamiche e l'evoluzione dell'infezione da HIV non solo nella popolazione dei migranti in Italia, ma anche nella popolazione italiana.

Evaluation of the HIV-1 Tat protein at physiologically hypoxic conditions

Scopo del progetto, coordinato dal Reparto “Interazione Virus-Ospite e Core Lab. di Immunologia”, del Centro Nazionale AIDS, è la determinazione degli effetti della tensione di ossigeno sulle attività biologiche esercitate dalla proteina Tat di HIV-1, in particolare, sulle cellule dendritiche generate a partire dai monociti del sangue periferico e pertanto denominate MDDC. L'importanza di questi studi nasce dall'osservazione che numerose attività biologiche, comprese quelle della proteina Tat, variano a seconda della tensione di ossigeno presente nell'ambiente circostante. Poiché la proteina Tat può essere utilizzata nell'uomo come vaccino preventivo o terapeutico contro l'HIV/AIDS, è essenziale, per gli studi in vitro volti a chiarire i suoi effetti ed il suo meccanismo di azione, mettersi quanto più possibile nelle condizioni degli studi in vivo, dove è noto che la tensione di ossigeno è di molto inferiore a quella utilizzata nei comuni incubatori. I risultati preliminari ottenuti nel 2012 indicano che l'esposizione di MDDC a tensioni di ossigeno fisiologiche (3-5%) modula ma non abroga la risposta delle cellule alla proteina Tat. Studi sono in corso per espandere e dettagliare meglio le differenze rilevate al fine di determinare l'effettiva rilevanza biologica.

The Env/Tat HIV entry complex: role in HIV infection and impact for vaccine development

Gli studi, coordinati dal Reparto “Interazione Virus-Ospite e Core Lab. di Immunologia” del Centro Nazionale AIDS, hanno evidenziato che le proteine Tat ed Env di HIV-1 (Env è il costituente dell'involucro virale responsabile del legame e dell'internalizzazione del virus nella cellula) formano un complesso stabile che modifica sostanzialmente i) le modalità con le quali il virus entra nella cellula bersaglio, ii) il tipo di cellula preferenzialmente colpita, iii) e la suscettibilità del virus all'attività neutralizzante degli anticorpi. Scopo del progetto è la determinazione del ruolo del complesso Tat/Env nella patogenesi dell'infezione da HIV e le implicazioni di queste nuove acquisizioni sullo sviluppo di vaccini contro l'HIV/AIDS. I risultati di questi studi hanno evidenziato che Tat e l'Env presente sulla membrana del virus formano un complesso che lega le integrine espresse dalle cellule dendritiche e porta all'infezione produttiva delle cellule dendritiche stesse oltreché favorire la trasmissione ai linfociti CD4+. Inoltre, il legame di Tat ad Env impedisce il riconoscimento di Env da parte degli anticorpi neutralizzanti, consentendo al virus di evadere la risposta immunitaria. Al

contrario, anticorpi diretti contro Tat sono in grado di neutralizzare il virus e di ristabilire la suscettibilità dell'Env all'azione degli anticorpi neutralizzanti Env. Questi risultati, sono stati confermati in studi di vaccinazione preventiva in animali e terapeutica nell'uomo con la proteina Tat, dimostrando la validità del vaccino Tat come candidato vaccinale contro l'HIV/AIDS, vaccino attualmente in sperimentazione clinica in Italia ed in Sudafrica. I risultati degli studi sul complesso Tat/Env sono stati oggetto di pubblicazione.

Development of Genetic Antibodies against HIV/AIDS in the Non Human Primate Model

Nel corso dell'infezione con HIV, nonostante vengano prodotti anticorpi neutralizzanti, il virus continua a replicare evadendo con diversi meccanismi le risposte immuni a causa anche della elevata variabilità di Env. I progressi nella patogenesi dell'infezione da HIV, hanno messo in luce che i geni non strutturali possono essere attori fondamentali nel controllo e nella diffusione dell'infezione. Infatti, anticorpi contro le proteine non strutturali Tat e Nef sono stati associati con la fase asintomatica della malattia e con un ritardo nella progressione clinica. Nell'ambito del presente progetto si è ipotizzato che una combinazione di anticorpi (IgG, IgM) contro le proteine strutturali e non strutturali di HIV, abbia la potenzialità di bloccare l'infezione o di eradicare il virus nei santuari del virus. A tale proposito, il progetto, coordinato dal reparto di "Retrovirologia Sperimentale e Modelli di Primati non Umani", del Centro Nazionale AIDS, ha due obiettivi principali: 1) lo studio delle risposte anticorpali in scimmie vaccinate con Tat e $\Delta V2$ -Env (una proteina Env recante una delezione nella sua regione V2) di HIV con particolare riguardo al profilo delle IgG e sottoclassi di IgG e 2) la generazione di anticorpi ricombinanti a catena singola (scFV) per interventi terapeutici (adulti, età pediatrica, gravidanza) a sostituzione o ad ausilio delle correnti terapie antiretrovirali che seppur efficaci, si caratterizzano per la loro potenziale tossicità nei pazienti trattati. Partendo da RNA estratto da cellule di scimmia stabilizzate in vitro e producendo anticorpi abbiamo sviluppato una metodologia molecolare per l'amplificazione dei frammenti anticorpali (VH/VL) e l'inserimento di VH_VL in vettori plasmidici per l'espressione in vitro di scFV. Abbiamo creato una libreria e la prosecuzione del lavoro prevede il clonaggio, e la selezione di cloni acon metodiche immunoenzimatiche per la selezione dei cloni mostranti attività di binding verso le proteine Tat e Env di HIV.

From semen to mucosal infection: an open window for preventative and therapeutic interventions against HIV/AIDS

L'esposizione vaginale/rettale allo sperma di individui infetti con HIV è ad oggi il maggior rischio di contrarre l'infezione con questo virus. E' pertanto importante espandere ed approfondire le conoscenze dei meccanismi patogenetici conseguenti all'esposizione vaginale o rettale con sperma infettato da HIV, al fine di approntare interventi preventivi o terapeutici per bloccare la trasmissione mucosale dell'infezione. Il tratto genitale maschile (GT), un compartimento immunologicamente separato dal sangue, alberga HIV e rappresenta un potenziale serbatoio virale. A questo proposito nell'ambito del progetto coordinato dal reparto di "Retrovirologia Sperimentale e Modelli di Primati non Umani", del Centro Nazionale AIDS sono stati prelevati alla necropsia tessuti (tratto genitale, milza, linfonodi, intestino) di scimmia cynomolgus vaccinate e non dopo infezione con SHIV 89.68 cresciuto su scimmia. Parte dei tessuti sono stati inclusi in formalina e parte conservati a -80°C per futuri lavori previsti nel progetto. Ci si vuole focalizzare su 1) studio dello stato del genoma virale (integrato non integrato); 2) quantizzazione e caratterizzazione biologico-molecolare del virus presente nel tratto genitale maschile rispetto a quello presente in altri tessuti o sangue. Le nuove conoscenze acquisite da questo lavoro saranno importanti per lo sviluppo di nuove classi di microbicidi, l'identificazione dei fattori con effetti adiuvanti nei confronti microbicidi noti e lo sviluppo di interventi efficaci contro l'HIV/AIDS.

Cellular transcription factors of the Interferon Regulatory Factors family in HIV-1 pathogenesis and reactivation from latency: mechanisms and development of therapeutic tools

Il progetto si svolge all'interno del Reparto "Patogenesi Molecolare" del Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie ed immunomediate ed ha come principale obiettivo lo sviluppo di strumenti e strategie terapeutiche da utilizzare per limitare o impedire la fase di infezione latente ed eliminare le cellule in cui la replicazione virale sia stata riattivata, attraverso l'utilizzo di target cellulari ed in particolare fattori di trascrizione cellulari

appartenenti alla famiglia IRF (Interferon Regulatory Factors). I fattori cellulari IRF sono fondamentali per la replicazione virale prima della sintesi del transattivatore virale e sono bersagli delle strategie virali di escape dalla risposta immune dell'ospite.

L'attività e i risultati ottenuti nel 2012 hanno riguardato la capacità del fattore IRF-1 di stimolare assieme ad attivatori di NF- κ B la riattivazione del virus HIV-1 dalla latenza in sistemi modello di cellule latentemente infettate. In particolare sono stati testati composti già in uso in terapia umana, anche se per altre patologie non correlate e tra questi l'acido retinoico si è dimostrato in grado di stimolare in maniera significativa e specifica, l'espressione di IRF-1 e di stimolare in maniera significativa la riattivazione virale.

Per quanto riguarda lo studio dei meccanismi di "viral escape" dalla risposta immune è stato dimostrato che le interazioni fisiche e funzionali tra il transattivatore virale Tat e IRF-1 oltre a determinare un silenziamento dell'attività trascrizionale di IRF-1 sui suoi geni target che includono importanti geni antivirali e immunomodulatori, portano ad un sequestro di IRF-1 in compartimenti cellulari che favoriscono il blocco della sua attività. Inoltre, è possibile che l'interazione con Tat favorisca il legame ad una E3 ligasi da noi identificata, HDM2, che determina la degradazione proteasoma-dipendente di IRF-1. Inibitori specifici di tale ligasi, o più genericamente dell'attività del proteosoma, possono pertanto essere utilizzati per ripristinare l'espressione e l'attività di IRF-1 nelle cellule infettate.

Per quanto riguarda la seconda parte del progetto sono stati costruiti vettori lentivirali commerciali che esprimono IRF-1, IRF-8 e IRF-3 ad un buon livello, e per ora costitutivamente, in cellule modello. Si stanno modificando tali vettori per l'inserimento di un promotore Tat-inducibile già presente in laboratorio.

Gli studi finora condotti hanno definito pertanto il ruolo chiave di alcuni fattori della famiglia IRFs nella replicazione virale in stretta relazione funzionale con NF- κ B e hanno validato questi fattori come "target" per interventi terapeutici mirati a componenti cellulari. Il vantaggio dell'uso di target cellulari in alternativa od in aggiunta a componenti virali, consiste oltre che nella grande stabilità genetica dei prodotti cellulari rispetto a quelli virali, nella possibilità di intervenire anche sui "reservoirs" e di potenziare la risposta immune dell'ospite normalmente evasa dal virus, necessaria per il killing delle cellule riattivate.