

6. “Studio prospettico multicentrico nazionale di valutazione di Prevalenza, Incidenza, fattori di rischio e definizione di Sottotipi di HIV in Migranti ed analisi della Avidità anticorpale” (progetto Pr.I.S.H.M.A). Il progetto si propone di valutare il profilo epidemiologico e virologico dell’infezione da HIV in una popolazione semi-aperta di immigrati prevalentemente clandestini, afferenti a centri clinici territoriali di primo livello e ospedalieri di secondo livello, che abbiano esperienza in campo nazionale nella Medicina delle Migrazioni e nella gestione dell’infezione da HIV. Il Progetto è terminato nel marzo 2008.

Altre attività di ricerca in ISS finanziate dall’ISS o da altri enti (nazionali ed internazionali)

Queste attività si riferiscono a progetti finanziati dall’ISS o da altre Istituzioni, nazionali o internazionali nel 2008 al di fuori del Programma Nazionale AIDS, nei quali l’ISS è leader e promotore, o collaboratore. Tali programmi si prefissano di incentivare lo sviluppo industriale dei risultati e delle innovazioni derivanti dagli stessi programmi, nonché fornire indicazioni sugli aspetti psico-socio-comportamentali presenti nell’infezione da HIV e nell’AIDS e, quindi, di promuovere la coesione europea sia nell’ambito della ricerca scientifica che industriale. Le attività di ricerca sono, di seguito, sommariamente descritte.

Progetti Europei (VI Programma Quadro)

Alcuni progetti europei, finanziati nell’ambito del VI Programma Quadro, vedono l’ISS come coordinatore o come partner.

Progetto europeo AVIP (AIDS Vaccine Integrated Project). L’AVIP è un progetto quinquennale, che comprende gruppi di ricerca di 6 paesi europei (Germania, Francia, Inghilterra, Finlandia, Svezia ed Italia), del Sudafrica e dello Swaziland. L’ISS, in particolare il Centro Nazionale AIDS, ne è il coordinatore. Gli obiettivi dell’AVIP consistono nello sviluppo di nuovi approcci vaccinali preventivi e terapeutici che saranno sperimentati in fase I nell’uomo in Europa e nel potenziamento di siti clinici sudafricani e dello Swaziland tramite studi epidemiologici, immunologici e virologici ed attività di formazione e trasferimento delle tecnologie, preliminari a futuri trial di fase II/III in Sudafrica ed in Swaziland con vaccini contro l’HIV/AIDS, sviluppati nel contesto dell’AVIP. Le attività svolte nel 2008 (quinto ed ultimo anno di attività del progetto) sono in linea con quanto specificato nel programma all’atto della presentazione del progetto. Nel 2008 sono entrate a pieno regime le attività di due nuovi partner, del Sudafrica e dello Swaziland, iniziate nel 2007, per rafforzare gli studi di background preliminari alla sperimentazione con vaccini contro l’HIV/AIDS in Africa. L’AVIP ha quindi preso un indirizzo più mirato verso il “capacity building” e la formazione

di personale locale in Sudafrica e Swaziland per la futura sperimentazione clinica vaccinale avanzata in Africa (AVIP/TTC, “AVIP Targeted Third Countries”).

MUVAPRED (*Mucosal Vaccines for Poverty Related Diseases*). Il MUVAPRED è coordinato da Novartis, l’ISS è uno degli istituti collaboratori. Il progetto è volto allo sviluppo di vaccini innovativi contro l’HIV e la tubercolosi somministrabili per via mucosale. L’obiettivo del progetto è quello di effettuare sperimentazioni di fase I nell’uomo di nuovi approcci vaccinali contro l’HIV e la tubercolosi per indurre immunità a livello mucosale, la via di trasmissione più comune, sia per l’HIV sia per il micobatterio della tubercolosi. La parte sperimentale preclinica sul modello dei primati non umani si è conclusa nel 2008. Tuttavia, l’ISS continuerà nel corso del 2009 con ricerche sulla caratterizzazione di anticorpi antivirali prodotti da linee cellulari B derivate da scimmie immunizzate, al fine di verificare in vitro ed in vivo l’efficacia antivirale (immunoprofilassi/microbicidi) di questi anticorpi.

EUROPRISE. L’Euoprise è un Network of Excellence (NoE) finanziato dalla Comunità Europea. L’obiettivo principale del progetto è quello di riunire insieme i maggiori scienziati europei nel campo dei vaccini contro l’HIV/AIDS e dei microbicidi allo scopo di coordinare le attività di prevenzione contro l’infezione da HIV. I partners nel consorzio Europrise, tra i quali il Centro Nazionale AIDS, sono coordinatori di 14 progetti finanziati dalla Comunità Europea nell’ambito del 6° Programma Quadro e rappresentano ben 122 Istituzioni di 22 paesi diversi. Il Centro Nazionale AIDS incluso come partner nel progetto EUROPRISE, continuerà le proprie attività di questo progetto (piattaforma dei modelli animali e standardizzazione di protocolli immunologici e virologici).

NEAT (*European AIDS Treatment Network*). Il NEAT è un progetto europeo proposto e coordinato dal Dipartimento del Farmaco dell’ISS. Il progetto rappresenta la risposta italiana all’esigenza di costruire una piattaforma comune per le strategie terapeutiche nell’infezione da HIV in Europa. La ricerca europea in questo campo si avvale, infatti, di centri di eccellenza, che negli ultimi 25 anni hanno conseguito risultati di alto valore scientifico e hanno contribuito in maniera sostanziale ai grandi successi che hanno cambiato la storia di questa malattia. Si sentiva, però, l’esigenza di un progetto globale che intraprendesse un programma di integrazione e armonizzazione di queste risorse ed energie, “capitalizzandole” nel contesto di un network permanente. La costruzione di una rete stabile rappresenta, infatti, il presupposto per condurre grandi studi clinici indipendenti che possano rispondere alle principali e sempre attuali domande della terapia antiretrovirale: quando e come iniziare il trattamento, quando e come cambiarlo.

Un obiettivo essenziale del NEAT è il coinvolgimento di paesi, in particolare quelli dell'ex Unione Sovietica, con minore esperienza e risorse più limitate, che devono essere messi nelle condizioni di raggiungere rapidamente gli standard di qualità di nazioni con più antica tradizione scientifica e di ricerca.

Per tutta la durata del progetto (5 anni) 16 paesi europei costituiranno un network formato da circa 40 istituzioni partners, rappresentative della ricerca su HIV/AIDS in Europa. Queste istituzioni possono a loro volta coinvolgerne altre, di minore rilevanza internazionale ma comunque importanti a livello nazionale. Ne deriva una struttura complessa ma funzionale, articolata in “workpackages” (aree di interesse generale: dal “trial management” all’ “education and training” all’ “immunology”, ecc) ai quali partecipano oltre 450 ricercatori e 350 centri affiliati, rappresentativi di agenzie pubbliche, università, organizzazioni non-governative, istituzioni. La “governance” di questa complessa struttura è affidata a uno Steering Committee europeo e ad altri due comitati, l’uno più prettamente scientifico e l’altro più prettamente di “governance”, costituiti da esperti mondiali nel settore. Uno staff all’Istituto Superiore di Sanità, costituito da personale tecnico-scientifico e amministrativo e coordinato dal Dipartimento del Farmaco, è preposto al coordinamento di tutto il progetto e delle sue attività.

Coerentemente con la sua missione, il NEAT opera in 3 principali campi di attività:

- 1) Integrazione e armonizzazione: basandosi sui principi informatori dell’Unione Europea, quest’area prevede un processo di omogeneizzazione e armonizzazione sia delle procedure che delle risorse, con un’attenzione particolare al raggiungimento di standard qualitativi elevati.
- 2) Ricerca clinica: appartengono, a quest’area, tutti gli aspetti relativi a clinica e terapia dell’infezione da HIV, compresa la co-infezione HIV/HCV e la conduzione di trial clinici innovativi e “strategici”, che rispondano ai principali quesiti terapeutici, includendo anche le problematiche dell’immunoterapia e delle complicazioni dell’infezione da HIV, sia note che emergenti.
- 3) Diffusione dell’eccellenza: più che un’area operativa, questo tema rappresenta un obiettivo irrinunciabile del NEAT: l’estensione a tutto il territorio europeo delle conoscenze e della cultura scientifica attraverso riunioni e attività educazionali, e la promozione della mobilità delle risorse umane e degli scambi tra nazioni.

Il primo anno di vita del NEAT ha visto nascere iniziative in tutte e 3 le principali aree di interesse, ma è soprattutto l’area della Ricerca Clinica quella che ha attratto la maggior quantità di risorse ed energie. Nell’ambito della ricerca clinica, le due tematiche che sono state individuate come quelle di maggiore interesse sono state: la terapia antiretrovirale nel paziente mai trattato e la condotta terapeutica in soggetti con co-infezione HIV/HCV. La scelta di questi temi si è basata su concetti precisi: la necessità di coinvolgere tutti i paesi europei, compresi quelli dell’est; il focus su studi da

condurre a livello plurinazionale; la fattibilità, un valore aggiunto rispetto agli studi sponsorizzati dall'industria farmaceutica, sia dal punto di vista scientifico che strettamente clinico; l'impatto potenziale sulla pratica clinica; un disegno innovativo.

AIDS & Mobility - National Focal Point. Il Progetto, in cui è inserito il gruppo di lavoro del Telefono Verde AIDS dell'ISS, è coordinato dall'Olanda (Netherlands Institute for Health Promotion and Disease Prevention - NIGZ) e ha, come obiettivo generale, quello di realizzare campagne di prevenzione e di informazione sull'infezione da HIV/AIDS per le popolazioni "mobili", nei paesi dell'Unione Europea, attraverso la costituzione, all'interno di ogni Stato, di un National Focal Point (NFP), che ha il compito di:

- costituire una Rete in ogni Stato Membro per ottenere una visione completa della situazione nazionale, che consenta il confronto tra differenti esperienze europee;
- rispondere in maniera specifica ai bisogni delle popolazioni migranti nelle nazioni dell'Unione Europea;
- realizzare interventi di prevenzione sull'infezione da HIV/AIDS rivolti a cittadini stranieri.

Studi Finanziati dalla ricerca corrente ISS

Studio di coorte NIA (Nuovi Inibitori Anti-HIV). Nell'ultimo anno sono stati introdotti nella pratica clinica nuovi farmaci per il trattamento dell'infezione da HIV che, rispetto alle classi di farmaci fin qui disponibili, si basano su meccanismi alternativi di inibizione della replicazione dell'HIV. Questi farmaci (inibitori della fusione, inibitori dell'integrasi, antagonisti del co-recettore CCR5), attualmente destinati soprattutto ai pazienti nei quali le comuni terapie hanno perso efficacia terapeutica, rappresentano terapie di salvataggio con ottimi presupposti di risposta terapeutica. Peraltra, le informazioni disponibili sulla efficacia e sulla tossicità a lungo termine di questi nuovi farmaci nella reale pratica clinica, al di fuori del contesto degli studi clinici, sono tuttora limitate, ed è quindi importante valutarne l'uso attraverso studi osservazionali svolti in centri clinici di riferimento. A questo scopo è stato sviluppato uno specifico studio di coorte, della durata minima prevista di 3 anni, coordinato dall'ISS, che ha come obiettivi la valutazione della risposta immunologica, clinica e virologica ai nuovi regimi di trattamento antiretrovirale, l'identificazione di indici predittivi e dei motivi di interruzione della terapia con i farmaci di nuova generazione, e la potenziale identificazione delle migliori modalità di utilizzo e di associazione di questi farmaci. Allo studio partecipano numerosi centri clinici distribuiti sul territorio nazionale, e nell'ultimo anno sono stati arruolati oltre 150 pazienti. Alcuni risultati preliminari sono previsti per la fine del 2009.

Studio NIAQoL. E' stato quest'anno intrapreso uno studio pilota per valutare l'efficacia dei nuovi regimi terapeutici antiretrovirali nel modificare gli elementi che influenzano la qualità della vita delle persone con infezione da HIV (Studio NIAQoL).

Nello studio, inserito all'interno dello studio di coorte NIA (descritto precedentemente), saranno analizzate in modo specifico informazioni derivanti da valutazioni espresse dello stesso paziente (misure paziente-centrate), attraverso misurazioni della qualità della vita correlata alla salute (HRQoL). Particolare attenzione è stata dedicata all'effetto di specifici quadri patologici, come la lipodistrofia, correlabili all'uso dei farmaci. Le informazioni paziente-centrate verranno inoltre integrate con dati clinici, immunologici e virologici raccolti nell'ambito dello studio di coorte principale NIA. In tal modo, sarà possibile una valutazione completa e più approfondita dell'impatto delle nuove terapie antiretrovirali sui pazienti con infezione da HIV nel corso della comune pratica clinica.

Gli obiettivi saranno perseguiti attraverso l'uso di tre questionari autosomministrati e validati: due questionari per la valutazione della HRQoL (denominati EQ-5D e ISSQoL) ed un questionario per valutare la relazione tra sindrome lipodistrofica e qualità della vita (ABCD). Lo studio NIAQoL si inserisce nel più ampio proposito di realizzare una rete stabile rivolta a monitorare la qualità della vita delle persone con infezione da HIV ed intervenire sul territorio per modificare eventuali fattori (sanitari, socio-assistenziali, ecc.) che possano verosimilmente condizionarne il livello.

Progetti finanziati con altri fondi

Individuazione e sperimentazione di modelli di intervento atti a migliorare l'adesione al test di screening HIV attraverso il contributo delle Associazioni facenti parte della Consulta di Lotta all'AIDS. Il progetto ha come obiettivo quello di individuare strategie efficaci per facilitare l'accesso ai servizi di screening HIV e sperimentare modelli di intervento specifici rivolti a target esposti a comportamenti a rischio in relazione al trend epidemiologico dell'infezione da HIV. Il Progetto promosso e finanziato dal Ministero del Lavoro, della Salute e delle Politiche Sociali, è coordinato dall'Istituto Superiore di Sanità.

Promozione e tutela della salute della persona straniera attraverso l'individuazione, la sperimentazione e la valutazione di percorsi di salute nell'ambito delle malattie infettive. Il progetto si propone di identificare, sperimentare e promuovere una metodologia di intervento rivolta a persone straniere con problematiche sanitarie legate alle malattie infettive. Il Progetto

promosso e finanziato dal Ministero del Lavoro, della Salute e delle Politiche Sociali, è coordinato dall'Istituto Superiore di Sanità.

Migrazione: sistema di accoglienza verso la popolazione immigrata dei servizi sanitari e verifica dell'osservanza del diritto alla salute di queste popolazioni. L'obiettivo del progetto è quello di descrivere lo stato di salute della popolazione straniera e di specifici target, fornire una panoramica della legislazione nazionale e delle politiche regionali, nonché individuare buone prassi assistenziali con particolare attenzione alla fruibilità dei servizi, infine valutare i percorsi formativi attivati sui temi sanitari. Il Progetto promosso e finanziato dal Ministero del Lavoro, della Salute e delle Politiche Sociali, è coordinato dall'Istituto Superiore di Sanità.

Creazione e coordinamento di una Rete tra i Servizi telefonici italiani governativi e non, impegnati nella prevenzione dell'infezione da HIV e dell'AIDS. L'obiettivo del progetto è quello di costituire una Rete tra servizi telefonici italiani governativi e non, impegnati in attività di prevenzione primaria e secondaria dell'infezione da HIV e dell'AIDS, coordinata dal Telefono Verde AIDS dell'Istituto Superiore di Sanità, promosso e finanziato dal Ministero del Lavoro, della Salute e delle Politiche Sociali, è stato coordinato dall'Istituto Superiore di Sanità fino al Dicembre 2008.

Valutazione di un intervento di HIV/AIDS counselling rivolto a cittadini stranieri. Il progetto si propone di individuare gli indicatori di un intervento di HIV/AIDS counselling efficace nella relazione tra operatore e persona straniera al fine di standardizzare tale intervento. Ciò attraverso la collaborazione integrata di tre sedi regionali dell'ANLAIDS presenti al Nord, al Centro e al Sud Italia. Il Progetto promosso e finanziato dal Ministero del Lavoro, della Salute e delle Politiche Sociali, è stato coordinato dall'Istituto Superiore di Sanità fino al Dicembre 2008.

Counselling Telefonico Transculturale. Progetto di intervento volto alla prevenzione dell'infezione da HIV nella popolazione non italiana. L'obiettivo del progetto è quello di attivare all'interno del TVA un intervento di counselling telefonico transculturale nelle sette lingue straniere prescelte (inglese, francese, russo, rumeno, arabo, cinese, spagnolo) per i depliant previsti dalla Campagna Informativo-Educativa (2005-2006). Ciò al fine di soddisfare i bisogni informativi dei gruppi etnici maggiormente presenti sul territorio nazionale, consentendo loro di esprimere dubbi, perplessità, paure nella propria lingua e ad un interlocutore appartenente alla stessa cultura. Il Progetto, promosso e finanziato dal Ministero della Salute è terminato nel dicembre 2008.

Studi propedeutici alla sperimentazione clinica di Fase II del vaccino basato sulla proteina Tat in Italia. In studi preclinici nelle scimmie, condotti presso il Centro Nazionale AIDS dell'ISS da circa 10 anni, si è dimostrato che la proteina Tat, nella sua forma biologicamente attiva, è innocua ed induce una risposta immune specifica ed efficace, in quanto in grado di controllare la replicazione del virus e di bloccare lo sviluppo della malattia.

Sulla base di questi incoraggianti risultati, l'ISS in qualità di Sponsor ha condotto e concluso, nel 2005, la sperimentazione clinica di Fase I (verifica dell'assenza di tossicità) in Italia, in individui sieronegativi (approccio preventivo, *ISS P-001*) e sieropositivi (approccio terapeutico, *ISS T-001*), del vaccino anti-HIV/AIDS basato sulla proteina Tat. I risultati hanno dimostrato la sicurezza della preparazione vaccinale a differenti dosi e l'elevata capacità di questo vaccino di indurre un'ampia risposta immunitaria (sia anticorpale, sia cellulo-mediata).

Nel 2008 è proseguito il follow-up dei volontari della fase I all'interno dei due studi non interventistici, ISS OBS P-001 ed ISS OBS T-001, il cui scopo principale è il monitoraggio nel tempo della risposta immune indotta dalla vaccinazione. Hanno avuto, inoltre, seguito due studi osservazionali (attivati nel 2007) di fondamentale importanza per lo sviluppo degli studi di Fase II sul vaccino Tat. Uno studio (*ISS OBS T-002*) è basato su soggetti sieropositivi in terapia HAART efficace, l'altro (*ISS OBS T-003*) su soggetti sieropositivi asintomatici. Entrambi gli studi sono stati concepiti al fine di ampliare le conoscenze sul ruolo protettivo della risposta immunitaria naturale al Tat nella progressione della malattia.

Nel corso del 2008 è stata attivata la sperimentazione clinica terapeutica di fase II basata sulla proteina Tat al fine di valutare l'immunogenicità e la sicurezza del candidato vaccinale in un numero più ampio di soggetti in trattamento antiretrovirale. Inoltre è continuato il lavoro organizzativo per la conduzione delle fasi successive della sperimentazione (fasi II e III) in paesi ad alta prevalenza ed incidenza di infezione da HIV, quali il Sudafrica e lo Swaziland. È fondamentale ricordare che l'ISS ha iniziato da tempo collaborazioni con il Sudafrica, l'Uganda e lo Swaziland, paesi con alta prevalenza ed incidenza di infezione da HIV per la preparazione di siti in grado di ospitare e condurre trial clinici con vaccini contro l'HIV/AIDS. Queste collaborazioni sono andate rinforzandosi nel tempo a seguito di progetti in comune sia di intervento nei programmi di lotta contro l'HIV/AIDS stabiliti dai rispettivi governi africani, sia di ricerca.

Si preme sottolineare che il vaccino che l'ISS sta sviluppando è stato totalmente finanziato dall'Istituto fino alla conclusione della fase I, a partire dagli studi di base e passando per le sperimentazioni precliniche (topi, scimmie).

Accordo ISS-Chiron (Novartis). Nel 2002 è stato ratificato tra l'ISS e Chiron Corporation (recentemente acquisita dalla Novartis) un accordo scientifico finalizzato allo sviluppo di vaccini di seconda generazione contro l'HIV/AIDS, comprendenti Tat in associazione ad altri antigeni di HIV. Obiettivo dell'accordo, finanziato pariteticamente dal Ministero della Salute e da Chiron/Novartis, è la creazione di una task force accademico-industriale, competitiva a livello internazionale, volta a sviluppare ricerche innovative nel campo dei vaccini contro l'AIDS. L'accordo è fondato su risultati ottenuti indipendentemente da Chiron/Novartis e ISS con i rispettivi vaccini. Il contributo dell'ISS è legato all'esperienza pluriennale nel vaccino basato sulla proteina Tat, di cui nel 2005 si è conclusa con successo la sperimentazione clinica preventiva e terapeutica di fase I in Italia, per valutarne l'innocuità e l'immunogenicità. Chiron/Novartis ha concluso la fase I della sperimentazione clinica di un vaccino preventivo basato sulla molecola trimerica ΔV2 Env, un immunogeno di nuova concezione in grado di indurre anticorpi neutralizzanti cross-clade grazie ad una migliorata esposizione del dominio responsabile del riconoscimento dei co-recettori per HIV (Env V3 loop). L'accordo ISS-Chiron/Novartis prevede studi di tipo traslazionale, dalla ricerca di base alla sperimentazione clinica, e include quindi anche studi preclinici in primati non-umani per valutare l'efficacia della combinazione degli approcci vaccinali ISS e Chiron/Novartis. Il programma di ricerca e sperimentazione è organizzato in 6 fasi distinte e consecutive:

- 1) produzione di antigeni e di sistemi di delivery;
- 2) sfruttamento di Tat come adiuvante per Env ed identificazione delle formulazioni appropriate per gli antigeni combinati;
- 3) studi vaccinali preclinici parenterali e mucosali nel modello murino;
- 4) trial preclinici di efficacia mucosali e sistemici nei primati non umani;
- 5) produzione in condizioni GLP del candidato vaccinale selezionato per i trial clinici di fase I;
- 6) studi di tollerabilità ed immunogenicità del candidato vaccinale prodotto in condizioni GLP per il futuro sviluppo GMP e per l'approvazione dell'uso nell'uomo.

Gli obiettivi sono stati tutti raggiunti. L'ISS ha prodotto e validato la proteina Tat di HIV-1 (biologicamente attiva) ed un mutante di Tat (Tatcys22), privo di attività transattivante. Chiron/Novartis ha prodotto antigeni strutturali virali, tra cui la proteina Gag di HIV-1 ed il DNA di HIV-1 esprimente Gag, il DNA e la proteina ΔV2 Env, peptidi di HIV -1 Env, la proteina Gag di SIV mac239, ed adiuvanti mucosali (MF59, LT-K63). Grazie all'accordo, sono stati compiuti nel Centro Nazionale AIDS esperimenti di immunizzazione combinando Tat di HIV-1 e Gag di SIV o Tat e ΔV2-Env, nel topo e nella scimmia. Gli studi vaccinali condotti nel topo hanno evidenziato che l'associazione Tat/Env è superiore alla combinazione di Tat con Gag o di Tat con Env e Gag nell'indurre risposte immuni umorali e cellulari specifiche. Questi studi hanno indicato che la

proteina Tat ha la capacità di polarizzare in senso Th1 la risposta immune cellulare, confermando dati recenti emersi dalle ricerche del Centro Nazionale AIDS.

Per quanto concerne la sperimentazione nella scimmia, sono stati conclusi due protocolli di vaccinazione con Tat ed Env: nel primo è stata valutata la combinazione di un'immunizzazione iniziale (priming) mucosale per via intranasale (con l'adiuvante LT-K63), seguita da richiamo (boosting) sistemico, per via sottocutanea (con l'adiuvante Alum); nel secondo sono state associati due approcci sistematici: al priming per via intradermica è seguito un boosting per via sottocutanea. Quest'ultimo protocollo è di particolare importanza perché uno studio identico verrà condotto nell'uomo (trial di fase I, non compreso nell'accordo ISS-Chiron/Novartis) e permetterà di stabilire la bontà del modello preclinico ai fini di questa sperimentazione. I risultati di questi studi hanno dimostrato che la vaccinazione con Tat associato ad Env è sicura ed immunogenica, escludendo l'eventualità di interferenze fra questi antigeni. Inoltre, rispetto agli animali vaccinati con il solo $\Delta V2$ -Env si è osservata negli animali vaccinati con entrambi gli antigeni un'induzione più precoce di anticorpi anti-Env con funzione neutralizzante, suggerendo un ruolo adiuvante di Tat, in accordo con gli effetti da noi dimostrati di questa proteina sulla maturazione di cellule dendritiche, processamento dell'antigene e polarizzazione della risposta T helper. Per quanto concerne l'efficacia la vaccinazione con Tat/ $\Delta V2$ -Env è risultata superiore od uguale a quella conferita dal solo Env o Tat. In particolare, la protezione è consistita o nella negatività dei parametri di infezione (viremia plasmatica e DNA provirale non misurabili, assenza di calo dei linfociti CD4), od in una riduzione statisticamente significativa dei parametri virali (viremia plasmatica e DNA provirale) rispetto ai gruppi di controllo con contenimento dell'infezione nel sito di inoculo (rilevazione del provirus solo nel sito di inoculo e linfonodi regionali).

Sulla base di questi risultati, si è deciso di effettuare uno studio clinico di sicurezza del vaccino combinato Tat/ $\Delta V2$ Env. Pertanto, nel corso del 2008 sono iniziate le attività preparatorie per la sottomissione del dossier autorizzativo per uno studio di fase I in Italia in cui il vaccino Tat sarà utilizzato in combinazione con la proteina $\Delta V2$ Env in soggetti sani ad alto rischio di infezione.

Sviluppo di nuove formulazioni e sistemi di "delivery" per vaccini e farmaci. Il progetto, in cooperazione con Università, Enti di ricerca ed Industria, ha implementato strategie innovative, preventive e terapeutiche, basate su nuovi sistemi di delivery per aumentare l'efficacia di vaccini e farmaci contro malattie infettive e tumori. In tale ambito in collaborazione con l'università del Piemonte Orientale e INSTM e con L'Università di Padova abbiamo condotto nel modello del primate non umano uno studio di immunogenicità ed efficacia di delivery della proteina Tat di HIV adsorbita sulla superficie di micro particelle anioniche (H1D). I risultati hanno dimostrato che la proteina Tat adsorbita sulle microparticelle H1D non induce effetti tossici e mantiene il proprio

potenziale biologico ed immunogenico. Il complesso Tat/H1D è stato capace di indurre un'immunità protettiva capace di controllare significativamente la replicazione virale nelle scimmie dopo infezione con virus chimerici SHI89.6P_{cy}²⁴³.

Collaborazione Italia-USA. Gli studi in ISS sul vaccino basato su Tat hanno permesso accordi per studi in collaborazione i National Institutes of Health (NIH, USA) per lo sviluppo di base e preclinico di nuove strategie vaccinali contro l'HIV/AIDS, realizzati nell'ambito di una collaborazione bilaterale Italia/USA firmata nel Maggio 1998 dall'allora Primo Ministro Italiano, Romano Prodi, e dall'ex Presidente degli Stati Uniti, Bill Clinton, che è stata recentemente rinnovata.

Questi studi, proseguiti per tutto il 2008, rappresentano anche la base per accordi con le industrie, per l'applicazione a progetti europei e per collaborazioni scientifiche con prestigiosi Istituti ed Istituzioni internazionali. In particolare, nel 2008 si sono investigati i correlati di protezione di un vaccino, sperimentato nell'ambito di questa collaborazione, basato sugli antigeni virali Tat ed Env e dimostratosi efficace nelle scimmie, come indicato dal forte controllo dell'infezione sperimentale con un virus altamente patogeno per le scimmie. I risultati di questi studi hanno dimostrato che la protezione correlava con attività antivirale di tipo non neutralizzante di anticorpi diretti contro Tat ed Env.

Program to support the Ministry of Health of South Africa in the implementation of a national program of global response to HIV & AIDS. All'inizio della terza decade dell'epidemia dell'infezione da HIV, l'evidenza dell'impatto sanitario, economico, sociale e politico di questa malattia è sotto gli occhi di tutti. Dati dell'OMS/UNAIDS indicano che alla fine del 2007 era di circa 36 milioni il numero degli individui con infezione da HIV nel mondo, con circa 4 milioni di nuove infezioni l'anno (<http://www.unaids.org>). Oltre l'80% di questi individui vive in paesi in via di sviluppo, in Asia, America Latina ed Africa, in particolare nella regione sub-sahariana.

Soprattutto in Africa, dove l'epidemia ha potuto diffondersi con facilità, senza essere contrastata, l'impatto dell'infezione ha causato l'indebolimento economico e sociale di molti paesi, oltre a richiedere un pesante pedaggio in termini di vite umane. Le più accurate proiezioni suggeriscono che saranno oltre 45 milioni le persone che si infetteranno entro il 2010, senza un'adeguata politica di prevenzione mondiale. Questo significa da un lato adottare strategie atte a prevenire l'infezione, tramite un'adeguata informazione alla popolazione sulle modalità di trasmissione del contagio e sui comportamenti da tenere per evitare l'infezione e, dall'altro, appoggiare lo sviluppo di un vaccino contro l'HIV e l'AIDS, l'unica strategia che garantirebbe il controllo della diffusione dell'infezione.

In linea con questi obiettivi, il Programma, finanziato dal Ministero degli Affari Esteri, prevede attività di supporto ai programmi del Ministero della Salute del Sudafrica mirati a contenere la diffusione dell'infezione da HIV nel territorio nazionale. In particolare, è previsto lo sviluppo di competenze di "governance" nelle istituzioni governative nazionali e nei relativi staff centrali e periferici responsabili del programma nazionale di risposta globale all'HIV/AIDS, lo sviluppo di siti in Sudafrica per future sperimentazioni vaccinali, la conduzione di trial clinici terapeutici di fase IIA e IIB con il vaccino Tat in Sudafrica e lo sviluppo di strutture e competenze per la produzione di vaccini in condizioni GMP (Good Manufacturing Practice), somministrabili all'uomo.

Il Progetto è stato avviato nel Gennaio 2008. Il Centro Nazionale AIDS dell'ISS ha implementato le attività del Progetto con diverse missioni in Sudafrica ed in Swaziland da parte di personale esperto nelle tematiche sviluppate nel progetto.

Studi in Africa per la conduzione di trial di fase II/III con il vaccino anti-Tat e con vaccini combinati di nuova generazione. Lo sviluppo di un vaccino efficace in differenti popolazioni geografiche è una sfida impegnativa. Esso è, infatti, ostacolato dalla presenza di differenti sottotipi virali di HIV-1, che sono presenti contemporaneamente in alcune regioni dell'Africa sub-sahariana. Il vaccino basato sulla proteina Tat, che è stato sviluppato in Istituto e che ha superato già con successo la fase I di sperimentazione clinica in Italia, su soggetti sia sieropositivi sia sieronegativi, ed ora utilizzato nel corso di una sperimentazione terapeutica di fase II in Italia, è pronto per la sperimentazione di fase II e III in paesi ad alta prevalenza ed incidenza di infezione da HIV, quali quelli dell'Africa sub-sahariana. In particolare, l'Istituto è presente da anni in progetti di collaborazione con gruppi di ricerca del Sudafrica e dello Swaziland allo scopo di effettuare studi preliminari a trial vaccinali di fase II/III con il vaccino basato sulla proteina Tat. Questi studi sono proseguiti nel corso del 2008.

Nel corso del 2008 sono anche proseguiti gli studi sulle nuove generazioni vaccinali basate su una combinazione di antigeni di HIV insieme alla proteina Tat. Questi vaccini di "seconda generazione" potranno essere testati in sperimentazioni cliniche per valutazioni di sicurezza ed immunogenicità in Italia ed in Africa e, a tal proposito, il Centro Nazionale AIDS dell'ISS ha da tempo avviato collaborazioni con paesi africani (in Sud Africa con il Chris Hani Baragwanath Hospital in Johannesburg, il Medical Research Council in Durban e la Stellenbosch University in Tygerberg (Città del Capo); in Uganda, con il Joint Clinical Research Centre [JCRC] di Kampala; in Swaziland con l'Ospedale Governativo di Mbabane) ad alta incidenza e prevalenza di infezione da HIV, sotto l'egida del WHO/UNAIDS, del SAAVI (South African AIDS Vaccine Initiative) e del Ministero degli Affari Esteri italiano.

Azione Concertata “Sarcoma di Kaposi”. L’Azione Concertata è costituita da un network di centri clinici e di gruppi di ricerca extramurali ed intramurali altamente specializzati nel campo dei tumori associati all’AIDS, della virologia oncologica o dei tumori dermatologici, che si propone di sperimentare nuove terapie anti-tumorali basate sull’uso degli inibitori delle proteasi di HIV. Studi di base e pre-clinici compiuti presso il Centro Nazionale AIDS dell’ISS hanno, infatti, dimostrato che questi farmaci antivirali hanno attività anti-angiogenica ed anti-tumorale. Scopo dell’Azione Concertata, è determinare l’attività antitumorale di questi farmaci in pazienti con sarcoma di Kaposi non infettati da HIV, con una sperimentazione clinica multicentrica di fase II condotta in collaborazione con l’Industria del Farmaco. La sperimentazione clinica ha ricevuto l’approvazione dei Comitati Etici di ISS e dei Centri Clinici coinvolti. Il reclutamento dei pazienti in 10 centri clinici nazionali è diventato operativo nel Giugno 2003. Nell’Aprile del 2004 e nell’Aprile del 2005 sono state completate due analisi ad interim della sperimentazione. I risultati, comunicati ai Comitati Etici, hanno indicato che Indinavir induce un’elevata frequenza di risposta clinica negli stadi iniziali di malattia e un prolungato arresto della progressione neoplastica negli stadi avanzati, con effetti sull’angiogenesi e sull’invasione tumorale. Il follow-up è stato completato nel 2007 e l’analisi finale del trial è in corso. I dati preliminari confermano che Indinavir ha effetti terapeutici nei stadi iniziali di malattia e effetti terapeutici transienti negli stadi avanzati.

Studi clinici di fase II per il trattamento dei tumori con gli inibitori della proteasi di HIV. Questi dati hanno suggerito che nei tumori avanzati potrebbe essere indicato associare una chemioterapia debulking al fine di ridurre la massa tumorale e l’edema e migliorare la perfusione tissutale. È stato perciò avviato uno studio di fase II volto a valutare il trattamento del CKS avanzato con IND in associazione a chemioterapia convenzionale con vinblastina e bleomicina. Lo studio si propone di determinare il numero e la tipologia delle risposte ottenute al termine della terapia, la tossicità ed il profilo farmacocinetico dei farmaci in studio, la modulazione dei più importanti marcatori biologici di risposta alla terapia ed i marcatori biologici predittivi della risposta. Lo studio ha ricevuto un finanziamento AIFA nell’ambito della ricerca indipendente sui farmaci ed il reclutamento e la fase di trattamento sono in corso.

Nel quadro del Programma per la Ricerca Oncologica del Ministero della salute è stato inoltre avviato un progetto volto a determinare l’effetto degli HIV-PI nell’insorgenza, progressione e recidiva del CIN, o nell’induzione della regressione di CIN in donne non infettate da HIV. Il progetto si propone di valutare gli effetti degli HIV-PI in vitro ed in modelli animali per l’avvio di studi nell’uomo. Sono in corso studi preparatori alla sperimentazione clinica per valutare l’incidenza, il rischio di progressione/recidiva e la frequenza di regressione spontanea del CIN nei bacini di utenza dei siti ove verrà avviata la sperimentazione clinica (Lombardia ed Emilia

Romagna). La sperimentazione clinica è volta a determinare gli effetti del trattamento sul rischio e sul tempo di progressione del CIN.

ALTRÉ ATTIVITÀ ISS NEL CAMPO DELL'HIV/AIDS

1. Attività di Formazione e Consulenza

Alcuni ricercatori dell'Unità Operativa “ Telefono verde AIDS” dal 1991 svolgono attività di formazione/aggiornamento e consulenza, intra- ed extra-murale, su tematiche riguardanti la comunicazione efficace e il counselling “vis à vis” e telefonico per operatori psico-socio-sanitari del Servizio Sanitario Nazionale, di ONG e di Associazioni di Volontariato impegnati in differenti ambiti. Nel tempo sono stati formati e aggiornati un totale di oltre 8.000 operatori. In particolare, nel 2008 sono stati organizzati e condotti otto percorsi formativi intramurali, tra i quali il corso “Buone Prassi per lo sviluppo del benessere nell’ambito della salute della famiglia non italiana”, svolto dal 18 al 20 novembre. A livello extramurale sono stati realizzati 11 corsi in differenti regioni italiane.

Inoltre, nell’ambito di tale attività, sono stati avviati interventi di educazione alla salute, intra- ed extra-murale, rivolti a studenti di Scuole Medie Inferiori e Superiori in collaborazione con Istituti Scolastici e Servizi Territoriali, svolti attraverso incontri seminariali e interventi di peer education.

Nell’anno 2008 l’attività di consulenza è stata svolta con il Ministero del Lavoro, della Salute e delle Politiche, con l’Unicef e trasversalmente con altri Dipartimenti dell’Istituto Superiore di Sanità.

2. Attività di supporto ad altri centri ed istituti

Il Reparto “Infezioni da Retrovirus nei Paesi in via di Sviluppo”, del Centro Nazionale AIDS dell’ISS, svolge da anni attività di supporto ad Istituti italiani sulla diagnosi di laboratorio dell’infezione da HIV.

Produzione bibliografica più rilevante

Nel corso del 2008, le attività dei ricercatori dell’ISS, nei campi descritti in questa relazione, hanno prodotto lavori pubblicati su riviste nazionali ed internazionali, riportate in Pub-Med, molte delle quali con alto “impact factor”, a testimonianza della qualità della ricerca e dell’intervento condotti in ISS. Alcune tra le più significative pubblicazioni sono riportate di seguito.

1. Galli C, Bossi V, Regine V, Rodella A, Manca N, Camoni L, Suligoi B. Accuratezza di differenti soglie per l’indice di avidità anti-HIV. *Microb Med* 2008, 33: 59-63.
2. Laura Camoni, Vincenza Regine, Maria Cristina Salfa, Giovanni Nicoletti, Pietro Canuzzi, Natalia Magliocchetti, Giovanni Rezza, Barbara Suligoi e Gruppo di Studio sui Sert. Prevalenza e determinanti dell’infezione da HIV in tossicodipendenti iniettivi e non iniettivi in trattamento presso i Sert. *Bollettino delle Dipendenze* 2008, 3: 161-170.
3. Antiretroviral Therapy Cohort Collaboration (ART-CC), Mugavero MJ, May M, Harris R, Saag MS, Costagliola D, Egger M, Phillips A, Günthard HF, Dabis F, Hogg R, de Wolf F, Fatkenheuer G, Gill MJ, Justice A, D’Arminio Monforte A, Lampe F, Miró JM, Staszewski S, Sterne JA. Does short-term virologic failure translate to clinical events in antiretroviral-naïve patients initiating antiretroviral therapy in clinical practice? *AIDS*. 2008, 22: 2481-92.
4. Pantazis N, Touloumi G, Vanhems P, Gill J, Bucher HC, Porter K; CASCADE Collaboration The effect of antiretroviral treatment of different durations in primary HIV infection. *AIDS*. 2008, 22: 2441-50.
5. Touloumi G, Pantazis N, Stirnadel HA, Walker AS, Boufassa F, Vanhems P, Porter K; CASCADE Collaboration Rates and determinants of virologic and immunological response to HAART resumption after treatment interruption in HIV-1 clinical practice. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2008, 49: 492-8.
6. Santoro MM, Ciccozzi M, Alteri C, Montieri S, Alexiev I, Dimova I, Ceccherini-Silberstein F, Beshkov D, Rezza G, Perno CF. Characterization of drug-resistance mutations in HIV type 1 isolates from drug-naïve and ARV-treated patients in Bulgaria. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2008, 24: 1133-8.
7. Jarrin I, Geskus R, Bhaskaran K, Prins M, Perez-Hoyos S, Muga R, Hernández-Aguado I, Meyer L, Porter K, del Amo J; CASCADE Collaboration. Gender differences in HIV progression to AIDS and death in industrialized countries: slower disease progression following HIV seroconversion in women. *Am J Epidemiol*. 2008, 168:532-40. Epub 2008 Jul 28.
8. Bhaskaran K, Hamouda O, Sannes M, Boufassa F, Johnson AM, Lambert PC, Porter K; CASCADE Collaboration. Changes in the risk of death after HIV seroconversion compared with mortality in the general population. *JAMA*. 2008, 300: 51-9.
9. Salemi M, Goodenow MM; Montieri S, de Oliveira T, Santoro MM, Beshkov D, Alexiev I, Elenkov I, Elenkov I, Yakimova T, Varleva T, Rezza G, Ciccozzi M. The HIV type 1 epidemic in Bulgaria involves multiple subtypes and is sustained by continuous viral inflow from West and East European countries. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2008, 24: 771-9.

10. Cicconi P, Cozzi-lepri A, Orlando G, Matteelli A, Girardi E, Degli Esposti A, Moioli C, Rizzardini G, Chiodera A, Ballardini G, Tincati C, d'Arminio Monforte A; I.Co.N.A. Study Group. Recent acquired STD and the use of HAART in the Italian Cohort of Naive for Antiretrovirals (I.Co.N.A): analysis of the incidence of newly acquired hepatitis B infection and syphilis. *Infection*. 2008, 36: 46-53. Epub 2008 Jan 29.
11. Salemi M, de Oliveira T, Ciccozzi M, Rezza G, Goodenow MM. High-resolution molecular epidemiology and evolutionary history of HIV-1 subtypes in Albania. *PLoS ONE*. 2008, 3: e1390.
12. Starnino S, Suligoi B, Regine V, Bilek N, Stefanelli P; Neisseria gonorrhoeae Italian Study Group, Dal Conte I, Flanchino B, Delmonte S, Robbiano F, D'Antuono A, Mirone E, Matteelli A, De Francesco MA, Cusini M, Sciacchitano L, Di Carlo A, Prignano G, Salfa MC. Phenotypic and genotypic characterization of Neisseria gonorrhoeae in parts of Italy: detection of a multiresistant cluster circulating in a heterosexual network. *Clin Microbiol Infect*. 2008, 14: 949-54. Erratum in: *Clin Microbiol Infect*. 2008, Oct; 14: 949-54. Erratum in: *Clin Microbiol Infect*. 2008, 14 10.1111/j.1469-0691.2008.02128.x. Fianchino, B [corrected to Fianchino, B].
13. Sutton AJ, Hope VD, Mathei C, Mravcik V, Sebakova H, Vallejo F, Suligoi B, Brugal MT, Ncube F, Wiessing L, Kretzschmar M. A comparison between the force of infection estimates for blood-borne viruses in injecting drug user populations across the European Union: a modelling study. *J Viral Hepat*. 2008, 15: 809-16. Epub 2008 Aug 28.
14. Longo B, Novati S, Montieri S, Pontali E, Taglia F, Leo G, Babudieri S, Starnini G, Monarca R, Suligoi B, Rezza G, Ciccozzi M; Italian Study Group on HIV in Prison. HIV-1 diversity among inmates of Italian prisons. *J Med Virol*. 2008, 80: 1689-94.
15. Longo B, Camoni L, Boros S, Suligoi B: Increasing proportion of AIDS diagnoses among older adults in Italy. *AIDS Patient Care STDS*. 2008, 22: 365-71.
16. Suligoi B, Buttò S, Galli C, Bernasconi D, Salata RA, Tavoschi L, Chiappi M, Mugyenyi P, Pimpinelli F, Kityo C, Regine V, Rezza G. Detection of recent HIV infections in African individuals infected by HIV-1 non-B subtypes using HIV antibody avidity. *J Clin Virol*. 2008, 41: 288-92. Epub 2008 Jan 8.
17. Raimondo M, Salfa MC, Regine V, Camoni L, Suligoi. HIV: l'epidemia nascosta. Il servizio trasfusionale. 2008 n. 6
18. Suligoi B, Camoni L, Regine V, Salfa MC, Raimondo M, Arlotti M, Borghi V, Carboni A, Gallo L, Icardi G, Mura MS, Pasqualini C, Piovesan C, Pristerà R, Rossetti G. Sistema di sorveglianza delle nuove diagnosi di infezione da HIV. *Osservasalute* 2008: 163-65
19. Cacciani L, Camoni L, Rosano A, Boros S, Colucci A, Suligoi B, Rezza G, Loghi M, Baglio G. Incidenza di AIDS e di HIV tra gli stranieri. *Osservasalute* 2008: 293-97.
20. Cassone A. Fungal Vaccines: Real Progress from Real Challenge. *Lancet Infectious Diseases* 2008, 8: 114-124.
21. Angioletta L., Stringaro A.R., De Bernardis F., Posteraro B., Bonito M., Toccacieli L., Torosantucci A., Colone M., Sanguinetti M., Cassone A., Palamara A.T Increase of

- Virulence and Ist Phenotypic Traits in Drug-Resistant Strains of *Candida albicans*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2008, 52: 927-936.
22. Iorio E., Torosantucci A., Bromuro C., Chiani P., Ferretti A., Giannini M., Cassone A., Podo F. *Candida albicans* cell wall comprises a branched β -D-(1-6)-glucan with β -D-(1-3)-side chains. Carbohydr Res 2008, 343: 1050-61.
23. Iacono M., Villa L., Fortini D., Bordoni R., Imperi F., Bonnal Raul JP., Sicheritz-Ponten T., De Bellis G., Visca P., Cassone A., Carattoli A. Whole Genome pyrosequencing of an epidemic multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* strain belonging to the European clone II. Antimicrob Agents Chemother. 2008, 52: 2616-25.
24. Palma C., Iona E., Riccomi A., Fattorini L., Pardini E., Giannoni F., Brunori L., Orefici G., Cassone A. The adjuvant LTK63 enhances anti-Mycobacterium tuberculosis protection in mice by antibody-associated, dual modulation of T-helper type 1 response. Vaccine 2008, 26: 4237-43.
25. Arancia S., Sandini S., Cassone A., De Bernardis F. Use of 65kDa Mannoprotein Gene Primers for Real-Time Identification of *Candida albicans*. Current Fungal Infection 2008, 2: 214-220.
26. Putignani L., Possenti A., Cherchi S., Pozio E., Crisanti A., Spano F. The thrombospondin-related protein CpMIC1 (CpTSP8) belongs to the repertoire of micronemal proteins of Cryptosporidium parvum. Molecular and biochemical parasitology. 2008, 157: 98-101.
27. Colucci A., Gallo P., El Hamad I., Pezzoli M.C., Carosi G., Speranza T., Petrosillo N., Prestileo T., Ceccarelli C., Lichtner M., Vullo V., Cassarà G., Affronti M., Donisi A., Ortolani P., Arlotti M., Chiriotto M., Dal Conte I., Busso M., Tallarico M., Guadagnino V., Negri C., Moroni M., Miccolis S., Scalzini A., Franklyn E. E., Raise E., Brindicci G., Monno L., Calamaro I., Vito A., Abrescia N., Poli M., Mazzotta F., Rezza G., Luzi A.-M.. Caratteristiche socio-demografiche e comportamentali di un campione di persone straniere con infezione da HIV in Università Cattolica del Sacro Cuore Rapporto Osserva Salute. Stato di salute e qualità dell'assistenza nelle regioni italiane, Prex Ed. 2008.
28. Floridia M., Ravizza M., Bucceri A., Lazier L., Viganò A., Alberico S., Guaraldi G., Anzidei G., Guerra B., Citernesi A., Sansone M., Baroncelli S., Tamburrini E.; Italian Group on Surveillance on Antiretroviral Treatment in Pregnancy. Factors influencing gestational age-adjusted birthweight in a national series of 600 newborns from mothers with HIV. HIV Clin Trials 2008, 9: 287-97.
29. Guaraldi G., Cocchi S., Motta A., Ciaffi S., Codeluppi M., Bonora S., Di Bendetto F., Masetti M., Floridia M., Baroncelli S., Pinetti D., D'Avolio A., Bertolini A., Esposito R. A pilot study on the efficacy, pharmacokinetics and safety of atazanavir in patients with end-stage liver disease. J Antimicrob Chemother 2008, 62: 1356-64.
30. Baroncelli S., Villani P., Floridia M., Pirillo MF., Galluzzo CM., Cusato M., Amici R., Pinnetti C., Sabbatini F., Molinari A., Tamburrini E., Regazzi M. Trough concentrations of lopinavir, nelfinavir, and nevirapine with standard dosing in human immunodeficiency virus-infected pregnant women receiving 3-drug combination regimens Ther Drug Monit 2008, 30: 604-10.

31. Floridia M, Giuliano M, Palmisano L, Vella S. Gender differences in the treatment of HIV infection. *Pharmacol Res* 2008, 58: 173-82.
32. Tamburini E, Ravizza M, Floridia M, Tibaldi C, Alberico S, Anzidei G, Maccabruni A, Meloni A, Antoni AD, Mori F, Dalzero S, Conservan V, Pinnetti C, Ferrazzi E; Italian Group on Surveillance on Antiretroviral Treatment in Pregnancy. HIV RNA viral load and CD4+ T-cell counts in HIV-infected pregnant women with and without treatment discontinuation in early pregnancy. *Antivir Ther* 2008, 13: 519-27.
33. Martinelli P, Agangi A, Sansone M, Maruotti GM, Buffolano W, Paladini D, Pizzuti R, Floridia M. Epidemiological and clinical features of pregnant women with HIV : a 21-year perspective from a highly specialized regional center in southern Italy. *HIV Clin Trials* 2008, 9: 38-42.
34. Baroncelli S, Negri DR, Michelini Z, Cara A. Macaca mulatta, fascicularis and nemestrina in AIDS vaccine development. *Expert Rev Vaccines* 2008, 7: 1419-34.
35. Terrazas-Aranda K, Van Herwege Y, Hazuda D, Lewi P, Costi R, Di Santo R, Cara A, Vanham G. Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) integration: a potential target for microbicides to prevent cell-free or cell-associated HIV-1 infection *Antimicrob Agents Chemother* 2008, 52: 2544-54.
36. Di Santo R, Costi R, Roux A, Miele G, Crucitti GC, Iacovo A, Rosi F, Lavecchia A, Marinelli L, Di Giovanni C, Novellino E, Palmisano L, Andreotti M, Amici R, Galluzzo CM, Nencioni L, Palamara AT, Pommier Y, Machand C. Novel quinolinonyl diketo acid derivatives as HIV-1 integrase inhibitors : design, synthesis, and biological activities. *J Med Chem* 2008, 51: 4744-50.
37. Nicastri E, Palmisano L, Sarmati L, D'Ettorre G, Parisi S, Andreotti M, Buonomini A, Pirillo FM, Narciso P, Bellagamba R, Vullo V, Montano M, Di Perri G, Andreoni M. HIV-1 residual viremia and proviral DNA in patients with suppressed plasma viral load (< 400 HIV-RNA cp/ml) during different antiretroviral regimens. *Curr HIV Res* 2008, 6: 261-6.
38. Palmisano L, Giuliano M, Chiarotti F, Zanchetta M, Andreotti M, Pirillo MF, Riva E, Antonelli G, D Rossi A, Vella S. Modifications of HIV-1 DNA and provirus-infected cells during 24 months of intermittent highly active antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2008, 48: 68-71.
39. Baroncelli S, Andreotti M, Guidotti G, Pirillo MF, Ceffa S, Mancini MG, Germano P, Marazzi MC, Vella S, Palombi L, Giuliano M. Tumor necrosis factor-alpha, interleukin-10, and alpha-defensins in plasma and breast milk of HIV-infected highly active antiretroviral therapy-treated and untreated pregnant women in Mozambique. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2008, 47: 647-9.
40. Baroncelli S, Ricci E, Andreotti M, Guidotti G, Germano P, Marazzi MC, Vella S, Palombi L, De Rossi A, Giuliano M. Single-nucleotide polymorphisms in human beta-defensin-1 gene in Mozambican HIV-1-infected women and correlation with virologic parameters. *AIDS* 2008, 22: 1515-7.
41. Gavioli R., Cellini S., Castaldello A., Voltan R., Gallerani E., Gagliardoni F., Fortini C., Brocca-Cofano E., Triulzi C., Cafaro A., Srivastava I., Barnett S., Caputo A., and Ensoli B. The Tat protein broadens T cell responses directed to the HIV-1 antigens Gag and Env:

- Implications for the design of new vaccination strategies against AIDS. *Vaccine* 2008, 26: 727-737.
42. Caputo A., Brocca-Cofano E., Castaldello A., Voltan R., Gavioli R., Srivastava I.K., Barnett S.W., Cafaro A., and Ensoli B. Characterization of immune responses elicited in mice by intranasal co-immunization with HIV-1 Tat, gp140 ΔV2Env and/or SIV Gag proteins and the nontoxicogenic heat-labile Escherichia coli enterotoxin. *Vaccine* 2008, 26: 1214-1227.
43. Dehò L., Walwema R., Cappelletti A., Sukati H., Nsibandze D., Almaviva M., Buttò S., Ensoli B., Galli M., and Balotta C. Characterization of human immunodeficiency virus type 1 from antiretroviral drug-naïve population in Swaziland. *AIDS Res. Hum. Retrovir.* 2008, 24:323-325.
44. Ridolfi B., Genovese D., Argentini C., Maggiorella M.T., Sernicola L., Buttò S., Titti F., Borsetti A., and Ensoli B. Tat protein vaccination of cynomolgus macaques influences SHIV-89.6P_{cy243} epitope variability. *Virus Genes* 2008, 36: 105-115.
45. Borsetti A., Baroncelli S., Maggiorella M.T., Bellino S., Moretti S., Sernicola L., Belli R., Ridolfi B., Farcomeni S., Negri D.R.M., Cafaro A., Ensoli B., and Titti F. Viral outcome of simian-human immunodeficiency virus SHIV-89.6P adapted to cynomolgus monkeys. *Arch. Virol.* 2008, 153: 463-472.
46. Sgarbanti M., Remoli A.L., Marsili G., Ridolfi B., Borsetti A., Perrotti E., Orsetti R., Ilari R., Sernicola R., Stellacci E., Ensoli B., Battistini A. IRF-1 is required for full NF-κB transcriptional activity at the HIV-1 LTR enhancer. *J. Virol.* 2008, 82: 3632-3641.
47. Florese R.H., Wiseman R.W., Venzon D., Karl J.A., Demberg T., Larsen K., Flanary L., Kalyanaraman V.S., Pal R., Titti F., Patterson L.J., Heath M.J., o'Connor D.H., Cafaro A., Ensoli B., and Robert-Guroff M. Comparative study of Tat vaccine regimens in Mauritian Cynomolgus and Indian Rhesus macaques: influence of maritian MHC haplotypes on susceptibility/resistance to SHIV896P infection. *Vaccine* 2008, 26: 3312-3321.
48. Ensoli B., Fiorelli V., Ensoli F., Lazzarin A., Visintini R., Narciso P., Di Carlo A., Monini P., Magnani M., Garaci E. The therapeutic phase I trial of the recombinant native HIV-1 Tat protein. *Aids* 2008, 22: 2207-2209.
49. Caputo A., Sparmacci K., Ensoli B., And Tondelli L. Functional polymeric nano/microparticles for surface adsorption and delivery of protein and DNA vaccines. *Curr. Drug delivery* 2008, 5: 229-242.
50. Gudmundsdotter L., Bernasconi D., Hejdeman B., Sandstrom E., Alaeus A., Lidman K., Ensoli B., Wahren B., and Butto' S. Cross clade immune responses to Gag p24 in patients infected with different HIV-1 subtypes and correlation with HLA class I and II alleles. *Vaccine* 2008, 26: 5182-5187.
51. Ensoli B., Nappi F., Ferrantelli F. and Buttò S. Meccanismo di infezione dei virus dell'immunodeficienza acquisita (HIV-1, HIV-2, SIV). *Encyclopedia Medica Italiana* (Third Update, II Edition), UTET-Scienze mediche Eds, Milan, Italy, pp. 3556-3561, 2008.
52. Tinari A., Superti F., Ammendolia G., Chiozzini C., Hohenadl C., Leone P., Nappi F., Nicoletti M., Borsetti A., Marchetti M., Ensoli B., and Monini P. Primary effusion lymphoma cells undergoing human herpes virus type 8 (HHV8) productive infection produce C-type retroviral particles. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 2008, 21: 999-1006.