

termini di salute siano correlate alle disuguaglianze in termini di sviluppo e al divario di povertà (o *poverty gap*).

L'ISS, primario istituto di ricerca biomedica italiano e principale strumento scientifico e tecnico dell'SSN non può non occuparsi di salute anche a livello globale, mettendo al servizio di un obiettivo alto come la lotta alle disuguaglianze che sussistono nel nostro Paese e nel mondo, le proprie capacità e competenze di ricerca. Le principali aree nelle quali il Dipartimento del Farmaco ha operato nel 2014 sono state soprattutto HIV/AIDS, TBC, epatite, malattie trasmissibili pandemiche, le malattie neglette, le iniziative di *capacity building* dei sistemi sanitari e la ricerca operativa, nel Nord e nel Sud del mondo.

Fin dalla sua istituzione nel 1934, quando fu fondato soprattutto per combattere la malaria, l'ISS ha sviluppato una grande vocazione internazionale, non soltanto per riguarda in generale la ricerca biomedica, ma anche per quanto riguarda le attività di cooperazione allo sviluppo in tema sanitario.

Questa strategia si concretizza in diverse linee di azione: 1. collaborazione e assistenza tecnica alle Agenzie delle Nazioni Unite (UN) e con gli uffici specializzati dell'UE; 2. ricerca collaborativa con Paesi occidentali e Stati membri dell'UE e partecipazione a commissioni di studio comunitarie e globali in sede OECD, G8, Banca Mondiale, WHO; 3. assistenza tecnica a Paesi in transizione economico-sociale; e infine, 4. assistenza e trasferimento culturale, scientifico e tecnologico nei Paesi in via di sviluppo, con progetti che ricevono finanziamenti da enti multilaterali (Banca Mondiale, UE, WHO, OECD, UNICEF, Banche di Sviluppo Regionali) o dal Governo italiano, dal Ministero della Salute e dal MAE.

Alcune aree sono state nel tempo prioritarie per l'ISS. Tra queste emerge la lotta all'AIDS dove si è particolarmente distinta la capacità dell'ISS di lavorare sia sulla ricerca avanzata, (con il grande contributo importante che l'ISS ha avuto nella messa a punto di terapie che hanno cambiato la storia naturale di questa malattia nei Paesi occidentali) ma anche con l'impegno operativo per trasferire questi progressi anche nei Paesi più poveri del mondo. Ricordiamo soltanto l'opera dell'ISS nell'organizzare per la prima volta la conferenza mondiale sull'AIDS in Africa, a Durban nell'anno 2000, da dove è partita la grande battaglia per l'accesso universale alle cure per l'HIV. Tra l'altro, l'ISS, nel 2013 ha guidato la stesura delle nuove Linee guida mondiali WHO sull'AIDS.

Ma l'impegno dell'ISS in questi settori ha riguardato anche i difficili studi per mettere a punto un vaccino contro l'AIDS e una notevole mole di programmi di intervento e di ricerca operativa (quella che si occupa del "come fare") in diversi Paesi africani, tra cui il Sud Africa, il Mozambico e il Malawi (due Paesi nei quali l'ISS collabora strettamente con il Progetto *Dream*) l'Uganda, il Mali, l'Etiopia. Va infine ricordato che l'ISS ha anche partecipato in modo molto attivo alle attività italiane nel Fondo Globale, del quale il nostro Paese è stato uno dei fondatori e uno dei più importanti "contributori" finanziari ed è direttamente coinvolto nella stesura delle nuove linee guida mondiali sull'HIV/AIDS. Ma anche altre aree critiche delle malattie infettive (che costituiscono tuttora un grande *killer* a livello soprattutto del Sud del Mondo) sono correntemente affrontate dall'ISS (es. la lotta alla tubercolosi e alla malaria – tra l'altro l'ISS ha anche "vinto" due importanti progetti della *Bill & Melinda Gates Foundation* – e la ricerca sulle malattie neglette). La visione di sviluppo dei prossimi anni intende anche rafforzare ed espandere le collaborazioni con i Paesi dell'area del Mediterraneo, dei Balcani e dell'Europa dell'Est riconoscendo e valorizzando il ruolo di snodo culturale, scientifico ed economico che l'Italia riveste. Gli scopi e le tematiche di queste collaborazioni riguardano problematiche di interesse condiviso come per esempio il controllo di patologie infettive emergenti, le attività di prevenzione e promozione di stili di vita salutari anche nel campo dell'alimentazione, le tematiche relative alla relazione salute e ambiente, la formazione di alta specializzazione destinata ai quadri apicali dei servizi di sanità pubblica.

Il nuovo concetto di salute globale e il ruolo dell'ISS

Dalla Dichiarazione Universale dei Diritti dell'Uomo di Helsinki (1964) sono passati 50 anni. Da quella data la salute è divenuta il diritto fondamentale di ogni individuo che pone le Nazioni e gli organismi internazionali di fronte al perseguimento della salute dei propri cittadini intesa come lo stato di completo benessere psichico, fisico e sociale dell'uomo dinamicamente integrato nel suo ambiente naturale e sociale. La Costituzione Italiana indica la salute quale diritto fondamentale dell'individuo, garanzia per la collettività e strumento necessario di convivenza e civiltà.

Soprattutto in questo particolare momento storico caratterizzato da una complessa contingenza internazionale, scosso da un articolato contesto economico-finanziario, da mai risolte questioni geopolitiche e da processi migratori di enorme portata, i sistemi sanitari nazionali mantengono l'obiettivo del massimo livello di salute della popolazione da raggiungere, comunque, con risorse limitate e in contesti sociali e urbani assai diversi dove la multiculturalità, con la ricchezza di valori e esperienze che porta con sé, è realtà e fattore di equilibrio imprescindibile. In questo quadro così articolato e quotidianamente nuovo e complesso, i sistemi sanitari nazionali promuovono gli interventi in grado di contrastare i fattori di rischio sociali e ambientali, per garantire la promozione della salute e la prevenzione delle malattie, fornire le cure, l'assistenza e la riabilitazione e per tutelare il benessere psicofisico della popolazione con progetti adeguati alle aspettative di un sistema sociale in rapida evoluzione.

Nelle ultime decadi si è verificato un miglioramento complessivo del quadro della salute globale, ma i successi non sono stati uniformi. In particolare, la riduzione della mortalità materna, neonatale e infantile non è in linea con le mete stabilite dagli MDG, mentre nell'Africa subsahariana la lotta all'AIDS, alla tubercolosi e alla malaria ha ottenuto risultati inferiori alle attese. Le disuguaglianze socioeconomiche nella salute sono in crescita sia tra Paesi a diverso livello di sviluppo che in quelli dove le differenze sono meno marcate; i cambiamenti climatici globali, l'instabilità politica e i conflitti armati costituiscono gravi minacce per la salute. I sistemi sanitari dei Paesi a basso reddito non riescono a far fronte ai bisogni essenziali delle popolazioni mentre risulta critica la situazione del personale sanitario, come medici e infermieri, decimato da crisi sociali di lunga data, dalla situazione igienico-sanitaria e dalle violenze interetniche, da impegnare nelle emergenze.

L'azione congiunta di Associazioni, Organizzazioni e Enti Internazionali ha portato al miglioramento complessivo dello scenario sanitario mondiale ma in maniera non uniforme. Il costante impegno delle principali organizzazioni internazionali in ambito sanitario (WHO, UNICEF, UNAIDS, UNFPA, UNIFEM, UNRWA, UNHCR, CICR, FICROSS, UNDP), ha sempre garantito il controllo e il mantenimento di una situazione sanitaria mondiale a volte complessa e dai difficili contorni geopolitici.

A partire dal 2000, in questo contesto di partnership internazionali cementate anche da gravi crisi ed emergenze epidemiche globali, l'Italia, impegnata nel contempo a sostenere, anche con il proprio contributo finanziario, le attività delle organizzazioni internazionali, ha considerevolmente incrementato gli interventi e l'impegno finanziario nel settore e ha partecipato a numerose Iniziative Globali per la Sanità Internazionale. Si segnalano in particolare: i maggiori contributi a favore dell'Iniziativa Globale per l'Eradicazione della Poliomielite (GPEI); la partecipazione alla creazione, amministrazione e finanziamento del Fondo Globale per la lotta all'AIDS, Tubercolosi e Malaria (GFATM) malgrado la progressiva riduzione del nostro contributo, che però è tornato nel 2013; il sostegno ai Partenariati globali denominati *Roll Back Malaria e Stop TB*; l'adesione all'*International Financing Facility for Immunizations* (IFFIm) che finanzia l'attività della *Global Alliance for Vaccine and Immunizations* (GAVI); l'adozione di uno strumento innovativo per finanziare la ricerca e lo

sviluppo di nuovi farmaci e vaccini denominato *Advanced Market Commitment* (AMC); la partecipazione alla fondazione dell'International Health Partnership e la successiva concessione di contributi a bilancio a favore di due Paesi cofirmatari del Partenariato (Etiopia e Mozambico) per la realizzazione dei rispettivi piani sanitari nazionali.

La promozione della salute nell'equità, la protezione sociale e la sostenibilità sono gli *highlight* della Dichiarazione di Alma-Ata, ancora attualissima nel suo trascorso trentennale. La sanità, quindi, resta un ambito di lavoro ampio e articolato inserito nell'organizzazione sociale delle Nazioni in grado di interagire strettamente con altri settori strategici per il mantenimento, la promozione della salute e per garantire uno standard elevato nella qualità dei servizi sanitari, necessari agli equilibri interni delle singole Nazioni.

Partendo da questi concetti, è evidente che la filosofia che dovrà guidare in futuro le attività dell'ISS in tema di salute globale, parte dal concetto che in un mondo globalizzato, il diritto alla salute e all'accesso universale alle cure debba rappresentare una priorità, alla quale il nostro Paese e il nostro Istituto non può sottrarsi: perché è evidente che non ci può essere sviluppo senza salute, e i problemi della salute globale non possono che trascendere i confini dei singoli stati.

È per questo motivo che le attività in questo settore si espanderanno per coprire aree della salute globale che riguardano l'accesso e la qualità delle cure alle cure per diverse malattie, anche nel nostro Paese e in Europa.

Resoconto attività 2014

Gli obiettivi prioritari dell'impegno del Dipartimento del Farmaco nell'area della salute globale sono stati:

- portare innovazione nella ricerca di base e nella ricerca clinica per favorire il progresso nell'assistenza sanitaria e nel trattamento medico delle popolazioni interessate;
- rafforzare i sistemi sanitari locali e promuovere lo sviluppo sanitario attraverso la ricerca operativa.

Nel corso del 2014 sono stati portati avanti o conclusi i numerosi progetti che il Dipartimento ha in corso. In particolare, il Dipartimento ha ultimato la sua opera di coordinamento del grande progetto Europeo NEAT sulla ricerca clinica nel settore dell'HIV/AIDS; la *partnership* con diversi centri di ricerca africani su aspetti relativi all'accesso alle cure per l'HIV/AIDS nel Sud del Mondo (in particolare in Uganda, partecipando allo studio Europeo Earnest; in Malawi, studiando la prevenzione della trasmissione materno-fetale dell'HIV, e in Etiopia, costruendo un grande studio di coorte sul trattamento antiretrovirale, CASA). Il Dipartimento ha anche attivamente contribuito alla sua pluriennale presenza in due grandi iniziative europee: il Progetto Esther e, soprattutto, l'EDCTP.

Attività programmata 2015

Le attività previste per il 2015 si articoleranno soprattutto, nell'ottica sovraesposta di lavorare in modo trasversale, nel Nord e nel Sud del mondo, con l'obiettivo di migliorare la qualità e l'accesso alle cure e alle terapie disponibili per le malattie (sia infettive che non infettive) a maggiore impatto sulla salute delle popolazioni, attraverso:

- la ricerca di base per mirare all'eradicazione del virus HIV, anche attraverso la partecipazione al Consorzio Europeo CURAIDS;
- la prosecuzione del Progetto Esther-Italia, finanziato dal Ministero della Salute, al quale partecipano diverse Università e Ospedali italiani, che vede come principale risultato la

messa a punto di un grande studio di coorte in Etiopia (CASA), ora finanziato anche dalla Cooperazione italiana;

- la collaborazione con le organizzazioni internazionali che si occupano di salute globale, e in particolare con UNAIDS, WHO e *Global Fund*.

Nel corso del 2015 verranno anche implementati e portati avanti nuovi progetti che riguardano l'accesso universale alle cure e importanti temi di salute globale:

- Un progetto europeo su *Health Foresight*, la previsione della situazione della salute in Europa in un arco temporale che arriva al 2050: progetto europeo Fresher, finanziato su Horizon 2020.
- Il coordinamento della Piattaforma italiana per lo studio delle nuove terapie per le epatiti virali (PITER), con la partenza di un grande studio di coorte prospettico sull'uso dei nuovi farmaci *direct acting*, al quale partecipano oltre 100 centri epatologici e infettivologici italiani.
- La conclusione del grande studio che riguarda la polimorbilità negli anziani, finanziato dal Ministero della Salute.
- La partecipazione ad un ERANET europeo sui sistemi sanitari.

Sistema Epidemiologico Integrato dell'Epatite Virale Acuta (SEIEVA)

Le epatiti virali sono le malattie del fegato più diffuse e continuano ad essere un serio problema di sanità pubblica in tutto il mondo, anche se negli ultimi anni la loro incidenza, grazie soprattutto alle migliorate condizioni igienico-sanitarie e ambientali, ha subito sostanziali modifiche e il trend è in notevole diminuzione.

Al fine di descrivere l'epidemiologia dell'epatite acuta in Italia, promuoverne l'indagine e il controllo e affiancare e integrare il "Sistema informativo delle malattie infettive e diffusive" SIMID, nel 1985 il Reparto Epidemiologia clinica e linee guida del CNESPS ha istituito il Sistema Epidemiologico Integrato dell'Epatite Virale Acuta (SEIEVA) e da allora lo coordina e promuove a livello nazionale, locale e sovranazionale. Infatti, dal 2011 il SEIEVA partecipa alla *enhanced surveillance for hepatitis B and C* gestita dall'ECDC.

Attraverso una rete di ASL, distribuite su tutto il territorio nazionale e partecipanti su base volontaria, vengono raccolte le segnalazioni dei casi di epatite acuta differenziata per tipo. L'integrazione delle informazioni provenienti dai questionari epidemiologici SEIEVA con i risultati di laboratorio consente quindi una migliore conoscenza dell'epidemiologia dell'epatite a livello nazionale, attraverso il monitoraggio dell'andamento e della diffusione di ciascuna infezione del fegato, la caratterizzazione dei patogeni che le causano, nonché la comprensione e la stima del contributo relativo dei diversi fattori di rischio associati. Ciò permette inoltre la precoce individuazione di focolai epidemici, la definizione di misure preventive alle quali dare priorità e il monitoraggio degli effetti dei diversi programmi di prevenzione.

La segnalazione al SEIEVA di ogni nuovo caso di epatite acuta è pertinenza della ASL di diagnosi che, dopo aver ricevuto le segnalazioni attraverso il medico, che sia esso ospedaliero o di base, che ha diagnosticato la malattia infettiva, avvia le procedure di verifica e indagine, attraverso un questionario standardizzato, già prima che sia noto il tipo di epatite. Vengono in particolare raccolti dati demografici e informazioni sul rischio di trasmissione parenterale e oro-fecale. Una volta ottenuta la conferma diagnostica del caso di epatite virale acuta e gli esiti della ricerca dell'antigene di superficie del virus B (HBsAg), delle IgM anti-HBc, delle IgM anti-HAV, delle IgM anti-HEV, dell'anti-HCV, dell'HCV-RNA e delle IgM anti-Delta, i markers

sierologici disponibili, risultati dei test di laboratorio, vengono registrati sul questionario. Tutti i dati raccolti confluiscono in un database attraverso una piattaforma web che consente un flusso continuo di inserimento on-line da parte degli utenti.

Nell'ambito del SEIEVA, utilizzando i dati raccolti o reclutando la popolazione oggetto di studio avvalendosi della rete delle ASL partecipanti, vengono inoltre promossi e condotti progetti di ricerca e studi specifici sulle epatiti virali. Scopo di queste attività possono essere la valutazione degli esiti conseguenti alle infezioni acute da virus epatitici, la valutazione d'impatto delle strategie di prevenzione o lo studio di specifici fattori di rischio.

Resoconto attività 2014

Nel corso del 2014 è proseguita l'attività di routine del SEIEVA, in particolare in termini di networking con le ASL, le Regioni e i referenti della sorveglianza. La promozione del SEIEVA alle ASL che al momento non aderiscono è stata portata avanti attraverso riunioni di lavoro con i referenti regionali e di ASL della sorveglianza delle malattie infettive. Ad oggi partecipano al SEIEVA 150 ASL cui afferisce circa il 76% della popolazione nazionale, un campione che pur non essendo esaustivo dell'intera realtà, offre un dato soddisfacente in termini di completezza, accuratezza e tempestività di diffusione.

Lo sviluppo del sistema informativo SEIEVA e la promozione dell'utilizzo della piattaforma di inserimento web è continuata e attualmente 130 delle 150 (86,7%) ASL partecipanti trasmettono regolarmente attraverso questo strumento.

Nel corso dell'anno è proseguita la raccolta, il controllo e l'analisi delle segnalazioni dei casi di epatite acuta differenziata per tipo, con particolare riferimento all'incidenza per data e luogo di insorgenza dei sintomi, età e sesso dei casi e la valutazione della proporzione dei casi di ciascun tipo di epatite acuta esposti a fattori di rischio noti.

I principali risultati della sorveglianza, in termini di tassi annuali di incidenza e analisi dei fattori di rischio, per l'anno 2013 e relativi al periodo 1985-2013, sono stati pubblicati sul sito web della sorveglianza SEIEVA, per il quale, peraltro, è iniziato un importante processo di riprogettazione e aggiornamento, alla luce anche del fatto che il protocollo SEIEVA è stato revisionato nel dettaglio nel corso del 2014.

I dati sono stati inoltre estratti e trasmessi attraverso la piattaforma ECDC/Tessy per contribuire alla *enhanced surveillance for hepatitis B and C* gestita dall'ECDC.

Nel corso del 2014 è continuata la sorveglianza rafforzata dell'epidemia di epatite A associata al consumo di frutti di bosco congelati, che si è verificata in Italia a partire da gennaio 2013, da parte della task force attivata dal Ministero della Salute in cui erano coinvolti esperti dello stesso Ministero, dell'ISS (tra cui il gruppo SEIEVA) e dell'Istituto zooprofilattico sperimentale della Lombardia e dell'Emilia-Romagna. Attraverso i dati del SEIEVA, in Italia era stato osservato un eccesso di casi di epatite A già a partire della fine del 2012 e pertanto identificato il focolaio epidemico.

Per quanto riguarda progetti di ricerca e studi specifici sulle epatiti virali, nel corso del 2014 è continuata l'attività del Progetto di sorveglianza integrata epidemiologica, virologica, ambientale dell'epatite E in Italia. È un progetto triennale approvato dal CCM in collaborazione con i dipartimenti MIPI e AMPP dell'ISS e con il Dipartimento di Sanità Pubblica-Microbiologia-Virologia dell'Università di Milano. In particolare nel corso del 2014 è proseguito l'arruolamento dei casi di epatite E nei centri che hanno aderito al progetto.

Attività programmata 2015

Nel corso del 2015 proseguirà l'attività di routine del SEIEVA; attività di *networking* fra le ASL partecipanti e relativi referenti regionali; raccolta informatizzata delle informazioni epidemiologiche relative ai casi di epatite virale acuta; per i diversi tipi di epatite, analisi dei tassi di incidenza e del contributo dei diversi fattori di rischio; estrazione dati, produzione database e trasmissione a ECDC/Tessy. In particolare è auspicabile arruolare le ASL che al momento non aderiscono, e facilitare e rafforzare l'integrazione dei dati epidemiologici con quelli virologici, attraverso una caratterizzazione virologica dei casi. A tal fine è stato approvato un finanziamento *ad hoc* nell'ambito delle Azioni Centrali CCM 2015.

Saranno organizzati incontri di coordinamento e workshop specifici con i referenti regionali e di ASL per promuovere il progetto.

Nel 2015 proseguirà la sorveglianza rafforzata dell'Epatite A con particolare attenzione al consumo di frutti di bosco come fattore di rischio.

Proseguirà inoltre la sorveglianza delle epatiti E in Italia e il progetto finanziato dal CCM si concluderà. I dati sui casi di epatite E o di epatite NonA-NonC (non testati per epatite E), saranno analizzati e i risultati saranno presentati ai referenti che hanno partecipato al progetto.

Nello stesso tempo verranno portati avanti specifiche linee di ricerca in particolare:

- Studio di casi di epatite B in soggetti vaccinati. Verranno analizzati i dati SEIEVA relativi a casi di epatite B insorti in soggetti precedente vaccinati, varranno inoltre studiati i casi di epatite B prevenibili da vaccinazione, ossia che si sono verificati in soggetti che avrebbero dovuti essere vaccinati o in base alla Legge 165/1991, o perché appartenenti a gruppi a rischio per i quali la vaccinazione è fortemente consigliata e offerta gratuitamente.
- Studio del rischio di epatite nelle popolazioni immigrate: per ogni tipo di epatite verrà fatto il confronto tra i tassi di incidenza registrati nella popolazione italiana con quelli registrati nella popolazione immigrata.

Tra le attività programmate rientra l'organizzazione di un convegno dedicato ai primi 30 anni di produzione dati da parte della sorveglianza SEIEVA; l'incontro si svolgerà a dicembre presso l'ISS e sarà destinato, principalmente, a tutti i referenti SEIEVA che operano nelle Regioni e aSL che contribuiscono alla sorveglianza, ma anche ad esperti di settore e portatori di interesse.

Sistema Informativo dei Servizi Trasfusionali (SISTRA)

Il Sistema Informativo dei Servizi Trasfusionali (SISTRA) è stato istituito con Decreto del Ministro della Salute del 21/12/2007 quale strumento strategico di supporto per il conseguimento degli obiettivi stabiliti dalla Legge 21 ottobre 2005, n. 219 ("Nuova disciplina delle attività trasfusionali e della produzione nazionale di emoderivati"): autosufficienza del sangue e dei suoi prodotti, sicurezza trasfusionale, Livelli Essenziali di Assistenza (LEA) uniformi e sviluppo della medicina trasfusionale. Il progetto si articola in tre macroaree: 1) Attività e programmazione, 2) Compensazione emocomponenti e plasmaderivati, 3) Emovigilanza.

La macroarea 1) Attività e programmazione include l'anagrafica delle Strutture Regionali di Coordinamento per le attività trasfusionali (SRC), dei Servizi Trasfusionali (ST) e delle Unità di Raccolta (UdR) e, dal 2014, delle articolazioni organizzative pubbliche e private. Accoglie informazioni sulla raccolta e utilizzo del sangue e dei suoi componenti (raccolta, produzione, lavorazione, trattamento, assegnazione, distribuzione e utilizzo degli emocomponenti omologhi

e autologhi), sulla qualità dei processi, dei prodotti e dei servizi, e per la programmazione del fabbisogno di sangue e dei suoi componenti. La macroarea 2) Compensazione emocomponenti e plasmaderivati comprende il censimento e la gestione delle convenzioni tra regioni, una bacheca elettronica nazionale per le situazioni di emergenza e per i gruppi rari, la gestione e il monitoraggio degli scambi. La macroarea 3) Emovigilanza si articola nella sorveglianza epidemiologica dei donatori e reazioni indesiderate gravi alla donazione, negli effetti indesiderati gravi alla trasfusione, errori trasfusionali e incidenti gravi.

Il progetto di implementazione del sistema informativo SISTRA è stato affidato al CNS, coordinatore della rete trasfusionale e dei flussi informativi (art. 12, comma 4, lettera i), Legge 219/2005) con la collaborazione del Gruppo di lavoro per lo sviluppo di SISTRA, definito dalla Consulta Tecnica permanente per il sistema trasfusionale.

SISTRA è sviluppato nel rispetto delle regole tecniche e delle politiche di sicurezza dei sistemi informativi del sistema pubblico di connettività, utilizza il linguaggio di *markup* aperto (*eXtensible Markup Language*, XML) ed è predisposto per collegare soggetti pubblici e privati che conferiscono e condividono i dati relativi alle macroaree di attività individuate. Le informazioni sono codificate secondo lo standard UNI 10529, relativo allo scambio di informazioni tra le strutture del sistema trasfusionale, che permette l'identificazione univoca e la tracciabilità delle unità di sangue e emocomponenti. SISTRA accoglie le informazioni secondo un formato elettronico predefinito generabile dai sistemi informativi regionali o direttamente mediante accesso on-line e inserimento delle informazioni nel sistema.

SISTRA è uno strumento fondamentale per la governance del complesso sistema trasfusionale italiano. L'analisi delle informazioni sulle attività trasfusionali e sull'emovigilanza costituisce un requisito essenziale per il raggiungimento dell'autosufficienza nazionale di sangue e emocomponenti e per mantenere costantemente alti i livelli di qualità e sicurezza della medicina trasfusionale.

Resoconto attività 2014

Nel 2014 sono state sottoposte a manutenzione evolutiva alcune sezioni di SISTRA.

Sono state trasferite le informazioni raccolte con il progetto "Ricognizione nazionale dello stato dell'arte dell'applicazione dei requisiti di tracciabilità delle informazioni e di identificazione univoca del donatore e delle unità di sangue ed emocomponenti presso le unità di raccolta associative e presso le articolazioni organizzative dei ST, e delle dotazioni tecnologiche esistenti presso le stesse e dell'implementazione dei nuovi requisiti strutturali, tecnologici e organizzativi delle ST (ex art.19 e 20 della Legge n. 219 del 21 ottobre 2005) e con riferimento ai DD.Lvi 207 e 208 del 6 novembre 2007" relative alle anagrafiche delle articolazioni organizzative dei ST e delle UdR associative. Inoltre, le anagrafiche dei ST, delle UdR e di tutte le relative articolazioni organizzative sono state integrate con informazioni relative a autorizzazioni e accreditamenti.

La sezione "Produzione e consumo" è stata utilizzata per la gestione del monitoraggio trimestrale degli emocomponenti strategici ai fini dell'autosufficienza nazionale. Le SRC hanno inserito i dati regionali di programmazione annuale relativamente alla previsione del fabbisogno regionale di emocomponenti per l'anno 2014 e hanno utilizzato le funzioni di SISTRA per la verifica degli scostamenti della produzione e del consumo reale rispetto a quanto programmato. La funzionalità monitorizza il grado di appropriatezza delle previsioni rispetto ai dati raccolti a consuntivo, con la finalità di promuovere il miglioramento continuo delle attività di programmazione. Nell'ambito dei compiti istituzionali del CNS, è stato predisposto il Programma nazionale per l'autosufficienza del sangue e dei suoi prodotti per l'anno 2014.

Anche nel 2014, in SISTRA sono stati gestiti programmi di VEQ, a cui hanno partecipato laboratori italiani e internazionali, per l'esecuzione dei test sierologici e molecolari di qualificazione biologica del sangue e degli emocomponenti, strategici per il sistema trasfusionale.

Sono state realizzate e rese disponibili in SISTRA le funzioni per la gestione dei flussi informativi relativi alle attività della rete delle Banche di sangue cordonale e per le funzioni di coordinamento affidate al CNS dal Decreto del 18 novembre 2009 "Istituzione di una rete nazionale di banche per la conservazione di sangue da cordone ombelicale". La rete nazionale delle banche di sangue da cordone ombelicale è denominata *Italian Cord Blood Network* (ITCBN) ed è finalizzata alla creazione dei necessari collegamenti fra le banche esistenti sul territorio nazionale e tra queste e i network internazionali, proponendosi quali obiettivi la standardizzazione delle attività di raccolta, conservazione, distribuzione del sangue cordonale a fini di trapianto ematopoietico. È stata effettuata una attività di progettazione per la realizzazione di una scheda informatica di raccolta dei dati di emovigilanza relativi alle CSE.

Sono state realizzate ulteriori interazioni tra i dati di attività e quelli di emovigilanza e pubblicati report istituzionali relativi alla sorveglianza delle malattie trasmissibili e all'emovigilanza anno 2012.

È stata utilizzata da tutte le regioni la bacheca elettronica nazionale per le compensazioni in situazioni di urgenza ed emergenza e per la ricerca di unità di sangue o donatori con fenotipi rari.

Attività programmata 2015

Nel 2015, nell'ambito dei dati di attività, sarà disponibile un nuovo aggiornamento di SISTRA per soddisfare i debiti informativi previsti a livello europeo e internazionale.

Sarà realizzata una sezione a supporto delle singole regioni per la realizzazione del progetto "Metodi e strumenti per la gestione della compensazione intraregionale di emocomponenti e plasmaderivati". Il progetto coinvolge tutte le regioni e ha come regione capofila e di coordinamento la Lombardia, in accordo con il CNS. L'obiettivo generale è quello di pervenire all'adozione omogenea di metodi e strumenti per la gestione della compensazione intraregionale di emocomponenti e plasmaderivati. Sarà effettuata un'analisi degli attuali processi e procedure e saranno presentate proposte di miglioramento per la definizione di una procedura implementabile in tutte le regioni mediante la definizione di un format in SISTRA. Inoltre sarà creata un'emoteca virtuale per ogni emocomponente e per ogni ST con le disponibilità dichiarate da ogni ST per singolo gruppo sanguigno e il monitoraggio delle eventuali emoteche strategiche e di gruppi rari presenti sul territorio regionale.

Sarà realizzata e resa disponibile in SISTRA ITCBN la funzione per la elaborazione e la stampa dei rapporti annuali degli indicatori dell'andamento dell'inventario nazionale di unità di sangue cordonale disponibili per il trapianto.

Sarà realizzato uno strumento informatico che consenta la ricerca dei punti di raccolta dove è possibile effettuare la donazione di sangue ed emocomponenti con l'indicazione dei giorni e degli orari di apertura al pubblico consultabile sul sito del Ministero della Salute e del CNS.

Saranno definiti e realizzati nuovi flussi per l'acquisizione dei dati sulla raccolta e utilizzo delle cellule staminali emopoietiche e di altri prodotti per terapie cellulari.

Sperimentazione cliniche di vaccini contro l'HIV/AIDS

L'inesorabile diffusione dell'infezione da HIV che conta oltre 35 milioni di infettati nel mondo (*UNAIDS Report on the global AIDS epidemics*, 2013) e il numero sempre maggiore di decessi per AIDS soprattutto nei Paesi in via di sviluppo evidenziano l'urgenza della messa a punto di un vaccino sicuro ed efficace. Gli approcci vaccinali studiati negli ultimi 30 anni al fine di bloccare l'infezione da HIV-1 hanno, o hanno avuto, come principale bersaglio, le proteine strutturali di HIV-1 e, quasi esclusivamente, quelle del rivestimento esterno (*envelope*, ENV), con l'obiettivo di indurre un'immunità sterilizzante in grado di impedire l'entrata del virus nella cellula bersaglio. Tuttavia, l'estrema variabilità degli antigeni di superficie del virus non solo nelle differenti aree geografiche, ma anche da individuo ad individuo e nello stesso individuo nel tempo, è alla base del sostanziale insuccesso di questi approcci. Di qui la crescente considerazione di strategie volte non ad impedire l'infezione ma a controllare la replicazione del virus bloccando così la progressione dell'infezione e lo sviluppo della malattia conclamata (AIDS).

Il Centro Nazionale AIDS (CNAIDS) ha basato i propri studi su quest'ultimo razionale, indirizzando la ricerca su un componente virale che rispondesse ai seguenti criteri: essere prodotto subito dopo l'entrata del virus nella cellula, avere un ruolo vitale nella replicazione del virus, essere immunogenico ed essere conservato nei suoi domini funzionali tra i vari sottotipi di HIV-1. Questi requisiti corrispondevano a quelli posseduti dalla proteina regolatoria Tat di HIV-1. In studi preclinici nelle scimmie è stato dimostrato che la proteina Tat del sottotipo B, somministrata come vaccino nella sua forma biologicamente attiva, era innocua, immunogenica, in grado cioè di indurre una risposta immune specifica, ed efficace, perchè la risposta immune indotta era in grado di controllare la replicazione del virus e di bloccare lo sviluppo della malattia.

Sulla base di questi risultati l'ISS ha sponsorizzato la sperimentazione clinica di Fase I del vaccino anti-HIV/AIDS basato sulla proteina ricombinante Tat per un approccio di tipo sia preventivo (nell'individuo sano) che terapeutico (nell'individuo sieropositivo).

I trial clinici di Fase I multicentrici, controllati con placebo e randomizzati in doppio cieco, sono stati condotti in quattro centri clinici italiani allo scopo di valutare l'innocuità (obiettivo primario) e l'immunogenicità (obiettivo secondario) del vaccino basato sulla proteina Tat, in 20 volontari HIV-1 negativi non appartenenti a categorie ad alto rischio (protocollo preventivo) e in 27 volontari HIV-1 positivi (protocollo terapeutico). Il vaccino (ai dosaggi di 7,5, 15 o 30 µg) o il placebo è stato somministrato per via sottocutanea in associazione con l'adiuvante Alum, o per via intradermica senza adiuvante, alle settimane 0, 4, 8, 12, e 16 dello studio. I risultati ottenuti hanno indicato che il vaccino è innocuo e immunogenico, in quanto capace di indurre sia anticorpi che risposte cellulari specifiche, confermando il pieno raggiungimento degli obiettivi (primario e secondario) prefissati. Sulla base dei risultati positivi ottenuti è stata recentemente completata con successo una sperimentazione clinica terapeutica di fase II, randomizzata e *open label*, (ISS T-002) su 168 soggetti HIV+ in trattamento HAART, arruolati in 11 centri clinici in Italia. I risultati di questo studio non solo hanno confermato l'immunogenicità e la sicurezza del vaccino basato sulla proteina Tat, ma hanno fornito anche importanti indicazioni sulla capacità di Tat di promuovere l'immunoricostituzione che la terapia antiretrovirale da sola non è in grado di ristabilire, nonché di ridurre il DNA provirale di HIV, agendo quindi sui cosiddetti serbatoi virali.

Un analogo studio clinico di fase II, questa volta randomizzato, in doppio cieco e controllato da placebo, è stato condotto in 200 pazienti HIV+ in trattamento HAART efficace in Sudafrica (ISS T-003). I risultati dello studio, appena concluso e ancora in corso di analisi, hanno confermato l'innocuità e immunogenicità del vaccino in una popolazione, quella sudafricana,

molto diversa da quella italiana per background genetico, fattori ambientali, sottotipo di virus circolante.

Il programma di sviluppo clinico inoltre è proseguito parallelamente con la sperimentazione preventiva di Fase I in del vaccino basato sulla combinazione della proteina Tat e della proteina Env privata del dominio V2 per consentire l'esposizione di epitopi conservati e bersaglio di anticorpi neutralizzanti. Tali combinazioni vaccinali sono state sviluppate nell'ambito dei progetti AVIP, VIAV e iSS/Chiron.

Nuove strategie di formulazione vaccinali, quali l'utilizzo di micro/nanoparticelle per la veicolazione dell'immunogeno sono allo studio con l'obiettivo di ottenere la stabilità del vaccino a temperatura ambiente, che permetterebbero il trasporto, la conservazione e l'utilizzo del vaccino in aree in via di sviluppo prive di sistemi di refrigerazione e una sostanziale riduzione dei costi, ampliandone quindi di molto l'accessibilità e le potenzialità applicative in tutto il mondo.

Resoconto attività 2014

Nell'ambito dello studio di nuovi approcci vaccinali terapeutici basato sulla proteina Tat, nel corso del 2014 è proseguito uno studio osservazionale presso otto centri clinici italiani per l'estensione del follow-up dei pazienti HIV+ in terapia HAART arruolati nello studio ISS T-002 (ISS T-002 EF-UP), avente l'obiettivo di monitorare le risposte immuno-virologiche osservate dopo l'immunizzazione con Tat per ulteriori 3 anni. Inoltre, sono proseguite le valutazioni immuno-virologiche degli studi osservazionali condotti in soggetti HIV+ in trattamento HAART o naive alla terapia (studi ISS OBS T-002 e ISS OBS T-003, rispettivamente), attivati nel 2007 e completati nel 2012.

Nell'ambito del progetto finanziato dal MAE "Programma per sostenere il Ministero della Salute del Sudafrica nello sviluppo di un "Programma nazionale di risposta globale all'HIV e AIDS", il CNAIDS sta portando avanti un programma triennale costituito da 3 componenti: 1) rafforzamento del servizio sanitario sudafricano in siti selezionati; 2) rafforzamento delle competenze e miglioramento delle infrastrutture di una azienda biotecnologica per la produzione vaccinale, in accordo alle GMP; e 3) conduzione di una sperimentazione clinica terapeutica di fase II con il vaccino Tat in siti sudafricani selezionati. In particolare, sono proseguite le valutazioni immuno-virologiche dello studio osservazionale (ISS OBS T-004), attivato nel 2010 e completato nel 2013, avente l'obiettivo di valutare la sieroprevalenza di risposte anticorpali anti-Tat in individui sudafricani HIV+, in HAART o *naïve* alla terapia, e per valutare lo status immunologico, virologico e clinico dei soggetti con anticorpi naturali anti-Tat. Inoltre, sempre nel 2014 è stato completato lo studio clinico di fase II randomizzato, in doppio cieco, controllato da placebo, del vaccino Tat in 200 pazienti HIV+ in HAART (ISS T-003), e volto alla valutazione dell'immunogenicità e della sicurezza del vaccino nella popolazione sudafricana. Subito dopo la chiusura dello studio è stata richiesta alle autorità competenti l'autorizzazione alla conduzione di uno studio osservazionale (ISS T-003 EF-UP) per poter estendere di ulteriori sei mesi il monitoraggio dei pazienti che avevano preso parte allo studio ISS T-003, con l'obiettivo di valutare la persistenza degli effetti immuno-virologici indotti dall'immunizzazione con la proteina Tat.

Nel progetto di sviluppo di nuove strategie vaccinali basate sulla combinazione di proteine regolatorie e strutturali di HIV è stato completato in tre siti clinici italiani lo studio clinico preventivo di Fase I del vaccino basato sulla combinazione della proteina Tat alla proteina oligomerica Env di HIV deleta del dominio V2 (ISS P-002).

Attività programmata 2015

Nell'ambito del progetto di sviluppo di un vaccino innovativo contro l'HIV/AIDS basato sulla proteina Tat, nel corso del 2015 il CNAIDS proseguirà lo studio osservazionale di estensione del follow-up dei pazienti dello studio ISS T-002 (ISS T-002 EF-UP), al fine di valutare la persistenza degli effetti immunologici e virologici indotti dall'immunizzazione per ulteriori tre anni.

Nel corso del 2015 verrà infine attivato lo studio osservazionale per l'estensione del monitoraggio dei pazienti che avevano preso parte allo studio ISS T-003 (ISS T-003 EF-UP), con l'obiettivo di valutare la persistenza degli effetti immuno-virologici indotti dall'immunizzazione con la proteina Tat.

Sarà inoltre completata la valutazione dei risultati dello studio di fase I del vaccino preventivo basato sulla combinazione delle proteine di HIV-1 Tat e Env, e verrà inviato il report finale dello studio alle autorità competenti.

Le sperimentazioni cliniche condotte in Italia sono finanziate dal Ministero della Salute.

Sperimentazione del flusso informativo per l'istituzione del Registro Italiano delle ArtroProtesi (RIAP)

L'esigenza dell'istituzione di registri degli impianti protesici, testimoniata anche a livello internazionale (*Proposal for a regulation of the European Parliament and of the Council on medical devices*, Ar. 83 – Bruxelles, 26/9/2012), emerge a fronte di richieste legate alla valutazione dell'esito dell'intervento, alla sorveglianza e vigilanza post-marketing, al technology assessment e alla valutazione costo-efficacia. In Italia si effettuano ogni anno più di 160.000 interventi di sostituzione protesica articolare.

Dal 2002 l'ISS (ISS) è stato coinvolto in progetti inerenti a questa tematica. In assenza di un Registro Nazionale delle artroprotesi e di iniziative di Enti pubblici in questo ambito, l'ISS è stato sollecitato dai rappresentanti regionali ad assumere la responsabilità del coordinamento di un'iniziativa nazionale, ritenendolo più idoneo di enti privati a ricoprire tale ruolo. Dal 2006 il Ministero della Salute (DG dei dispositivi medici e del servizio farmaceutico) ha supportato il progetto Registro Italiano ArtroProtesi (RIAP) attraverso una serie di accordi di collaborazione con l'ISS su protesi di anca, ginocchio e spalla, studi che hanno permesso di definire gli strumenti per implementare la raccolta dati e di testarli in differenti contesti regionali.

Il RIAP si propone di organizzare il Registro nazionale come federazione di registri regionali, con il coordinamento del CNESPS in collaborazione con il Settore Informatico dell'ISS. Le attività sono condivise dal Comitato Scientifico, sotto la direzione dell'ISS. Comprende rappresentanti di ISS, Ministero della Salute, CUD, regioni coinvolte, registri regionali esistenti, Società Italiana di Ortopedia e Traumatologia, fabbricanti (Assobiomedica), pazienti (Apmar). Si riunisce mediamente due volte all'anno e viene aggiornato periodicamente.

Obiettivo del registro è effettuare valutazioni della performance dei dispositivi impiantati attraverso analisi di sopravvivenza e tracciare tempestivamente i pazienti a cui sia stato impiantato un dispositivo per il quale sia stato necessario avviare una procedura di richiamo. Tali obiettivi sono pienamente raggiungibili solo se la copertura sfiora il 100%. Per tale motivo il RIAP ha implementato procedure che comportano un minimo onere aggiuntivo per gli operatori sanitari preposti alla registrazione e permettono di identificare i dispositivi impiantati in modo preciso e puntuale. Altro elemento dirimente per un completo funzionamento del registro è, infatti, la corretta identificazione del dispositivo impiantato. Grazie al supporto di

Assobiomedica, è stato possibile avvalersi della collaborazione dei fabbricanti per costruire il Dizionario RIAP-DM dei codici e delle descrizioni dei dispositivi medici impiantati, strumento indispensabile per la loro corretta identificazione, disponibile anche come webservice (RiDi, Ricerca Dispositivi). La realizzazione del Dizionario si inserisce come un'attività complementare a quella svolta dalla Banca nazionale dei dispositivi medici del Ministero della Salute dove, in taluni casi, i dispositivi sono stati registrati come famiglia e non come singoli elementi. Attraverso un minuzioso controllo di qualità dei dati ricevuti e l'invio di un feedback ai fabbricanti, il Dizionario supporta il miglioramento della qualità delle informazioni presenti nella Banca dati ministeriale. La raccolta dati utilizza informazioni già raccolte dai flussi informativi correnti (SDO) integrate da un minimum data set di informazioni di tipo clinico e relative al dispositivo. Il nuovo flusso informativo è stato testato in 14 regioni italiane (Lombardia, PA di Bolzano, Emilia-Romagna, Puglia – che già dispongono di un registro –, Valle d'Aosta, Piemonte, PA di Trento, Veneto, Toscana, Marche, Lazio, Basilicata, Calabria, Sicilia). Tuttavia, la partecipazione al progetto è ancora su base volontaria e, nel corso del tempo, alcune regioni si sono ritirate, anche in conseguenza di modifiche politiche e tecniche dell'organizzazione manageriale a livello locale e, quindi, delle strategie sanitarie. Attualmente partecipano dieci regioni (Lombardia, PA di Bolzano, Puglia, PA di Trento, Toscana, Marche, Lazio, Basilicata, Calabria, Sicilia) e la Fondazione Livio Sciutto di Pietra Ligure (SV), centro di eccellenza per la chirurgia protesica articolare. Dal 1° luglio 2013 è disponibile, per le regioni che non possiedano un proprio registro, un'applicazione web che permette l'inserimento dei dati aggiuntivi alla SDO e identifica il dispositivo attraverso interrogazione del dizionario RIAP-DM (applicazione RaDaR, Raccolta Dati Ricoveri). Le Regioni e PA sono responsabili del linkage tra le SDO e i dati aggiuntivi. I record linkati vengono inviati periodicamente all'ISS attraverso una trasmissione sicura (applicazione SOnAR, Sincronizzazione Online Automatica Ricoveri). Sono stati studiati in maniera approfondita gli aspetti relativi alla privacy elaborando uno specifico consenso informato; il 21 giugno 2013 il progetto RIAP è stato approvato dal Comitato Etico dell'ISS. È importante sottolineare che, a seguito della partecipazione al progetto RIAP, la PA di Bolzano ha istituito il registro provinciale e la Regione Puglia lo ha reso obbligatorio con LR n. 4 del 25 febbraio 2010 (art. 40) che subordina il pagamento del DRG alla registrazione dei dati arrivando, in tal modo, a sfiorare il 100% della copertura. È evidente che la stabilità della raccolta dati verrà raggiunta solo nel momento in cui la partecipazione verrà resa obbligatoria. Risulterà pertanto cruciale per la funzionalità del Registro l'approvazione del DPCM attuativo della Legge 221/2012 che all'art. 12 comma 10 fa riferimento all'istituzione dei registri degli impianti protesici e la definizione dei relativi regolamenti attuativi.

Resoconto attività 2014

Il Dizionario RIAP-DM è stato costantemente aggiornato includendo nuovi listini e fornendo ai fabbricanti un ritorno informativo sulla qualità dei dati trasmessi controllati attraverso un apposito algoritmo che ne ha permesso il confronto con le analoghe informazioni presenti nella Banca dati ministeriale dei dispositivi. La problematica della tracciabilità mediante codice a barre è stata attentamente analizzata. Nella situazione attuale l'utilizzo dei codici a barre può essere considerato solo in contesti circoscritti. La procedura per l'interrogazione del Dizionario RIAP-DM attraverso webservice è stata resa disponibile alle regioni partecipanti. Il sito web del progetto è stato aggiornato. I tracciati record per l'anca e per il ginocchio sono stati aggiornati includendo la modalità fissazione e una descrizione più puntuale degli interventi. È stato impostato il tracciato record per la spalla. Si è in attesa della predisposizione del protocollo di intesa tra ISS e Ministero della Salute per l'accesso alla banca dati dei dispositivi medici e

consultazione delle schede per l'inclusione nel Dizionario RIAP-DM di informazioni tecniche utili per la caratterizzazione del dispositivo medico impiantato. Lo studio per la misura della qualità della vita in Regione Puglia è stato concluso e i risultati sono stati presentati in congressi nazionali e internazionali. È stata avviata la predisposizione dell'interoperabilità dei sistemi tra sistema informativo regionale delle SDO e monitoraggio del flusso dei consumi in Regione Lazio e regione Toscana. Il Comitato scientifico del progetto è stato aggiornato con l'inclusione del rappresentante per la Regione Abruzzo (che, tuttavia, per motivi organizzativi non ha potuto ancora avviare la raccolta dati) e si è riunito due volte. Il gruppo di lavoro RIAP ha partecipato in vari eventi congressuali nazionali e internazionali tra cui il 99° Congresso nazionale SIOT e la VII Conferenza Nazionale sui Dispositivi Medici. Il RIAP è stato presentato in seno al gruppo di lavoro *Competent Authorities on Medical Devices* (CAMD) ed è stato invitato a partecipare a una riunione tra l'Agenzia dei farmaci e dispositivi medici spagnola e la Società spagnola dell'anca in quanto modello di riferimento per la futura organizzazione del Registro nazionale spagnolo. È stata avviata la collaborazione con l'*International Consortium of Orthopaedic Registries* (ICOR), un'iniziativa dell'FDA. È stato pubblicato il volume "Progetto Registro Italiano Artroprotesi. Idea, sviluppo, avvio. Primo Report" che, attualmente, costituisce l'unico documento di riferimento nazionale sull'attività di chirurgia protesica articolare riporta la storia dei dieci anni di lavoro che hanno portato all'attuale contesto, descrive la metodologia e i protocolli, include le testimonianze delle regioni che hanno partecipato attivamente al progetto, illustra le analisi effettuate a livello nazionale sul database SDO e sui dati raccolti dal RIAP.

Attività programmata 2015

Aggiornamento e ampliamento della banca dati dispositivi. Definizione collaborazione con ICOR e condivisione delle banche dati dei dispositivi in accordo con Assobiomedica e con i fabbricanti al fine dell'integrazione delle informazioni tecniche necessarie alla caratterizzazione. Organizzazione di moduli formativi nelle regioni per l'utilizzo dell'applicativo Riap e/o la trasmissione dei dati e incontri con le strutture informatiche per predisporre l'inclusione del *webservice* per l'identificazione del dispositivo nei sistemi informativi regionali. Consolidamento della raccolta dati e studio di procedure per il miglioramento della qualità dei dati raccolti. Finalizzazione del tracciato record e avvio della raccolta dati interventi protesi di spalla. Implementazione nell'applicativo web del modulo relativo alla spalla. Finalizzazione analisi dati studio di validazione del questionario KOOS per l'articolazione del ginocchio (*responsiveness*). Organizzazione delle riunioni del Comitato scientifico e suo aggiornamento con l'inclusione di nuove regioni. Collaborazione con la SIOT anche al fine di stabilire contatti con le regioni non ancora coinvolte per la loro inclusione nello studio. Partecipazione a convegni nazionali e internazionali. Collaborazione alla predisposizione dei regolamenti attuativi a seguito dell'emanazione del DPCM in attuazione della Legge 221 del 17/12/2012.

Sviluppo di modelli murini speciali (SCID, KNOCK-OUT e Transgenici) per lo svolgimento di progetti di ricerca di interesse sanitario

In campo oncologico, i modelli sperimentali murini sono uno strumento insostituibile per la loro facilità d'utilizzo e riproducibilità a fronte di costi contenuti. Essi offrono l'opportunità di studiare i complessi meccanismi associati al processo di carcinogenesi e alla risposta

antitumorale dell'ospite così come di identificare e validare marcatori/bersagli molecolari e il potenziale terapeutico di immuno-, bio- e chemio-terapie. A sostegno dell'importanza e della necessità dell'utilizzo di modelli murini nella sperimentazione oncologica è la buona correlazione tra agenti che causano tumori nell'uomo e quelli che causano tumori nel topo, stimata nell'84%.

I modelli murini per esperimenti nel campo della biomedicina si distinguono in due grandi gruppi: naturali e indotti. I modelli murini naturali sono rappresentati da animali selezionati, con mutazioni spontanee a livello di particolari geni che riproducono in maniera più o meno fedele situazioni patologiche umane. Alcuni esempi di animali che fanno parte di questa categoria sono: topi NOD/LtJ, che sono un modello naturale di iperglicemia associata a diabete di tipo I, e i topi nudi e gli SCID, che riproducono forme diverse di immunodeficienza. L'uso dei modelli con immunodeficienze gravi del sistema immunitario è particolarmente utile in campo oncologico perché permette la generazione di "modelli murini umanizzati" definiti *xenografts*, cioè topi portatori di cellule primarie tumorali umane o piccoli frammenti di tumori primari, particolarmente utili per lo studio di efficacia di farmaci anti-neoplastici.

I modelli murini indotti sono, invece, rappresentati da un numero considerevole di animali in cui la patologia umana è ricreata con mezzi di impianto, chirurgia, farmacologia e, più recentemente, attraverso l'implementazione *in vivo* della biologia molecolare e dell'ingegneria genetica. Queste ultime hanno permesso, ad esempio, la generazione di topi *knock out* (KO) ottenuti eliminando un gene specifico per il processo biologico che si vuole studiare, e topi transgenici, caratterizzati dall'inserzione all'interno del genoma di uno o più geni (transgeni) funzionalmente attivi che normalmente non gli appartengono.

La stabulazione e l'uso dei modelli sopra descritti richiede conoscenza, esperienza e un lavoro accurato e scrupoloso in una struttura qualificata in grado di assicurare condizioni stringenti di sterilità ma nel contempo maneggevolezza per effettuare tutti gli esperimenti in condizioni di rigoroso controllo di potenziali infezioni. In ISS, lo stabulario/laboratorio speciale per il mantenimento e la sperimentazione in topi con elevato grado di immunodeficienza, afferente al Dipartimento EOMM, è dotato di sistemi di barriera P3 ed ha caratteristiche uniche che permettono di utilizzare agenti patogeni per l'uomo e di effettuare sperimentazioni in modelli *xenograft* anche su larga scala. Altrettanto controllata è la stabulazione e l'allevamento di colonie speciali di topi KO e di topi transgenici, che assicura la conservazione della purezza delle caratteristiche genetiche del ceppo, condizioni necessarie per lo svolgimento degli esperimenti.

I livelli di eccellenza che caratterizzano la struttura sono stati raggiunti attraverso l'attuazione di un programma che prevede una rigorosa formazione del personale tecnico, addetto alla manutenzione degli stabulari, alla cura degli animali e alla conduzione della sperimentazione, per acquisire le competenze necessarie ad operare in condizioni di estrema sicurezza in un ambiente ad elevato rischio microbiologico. Inoltre, tutto il personale addetto alla gestione degli stabulari e alla sperimentazione con i modelli murini è rigorosamente formato per seguire le linee guida europee e internazionali per gli aspetti etici e normativi della sperimentazione animale. Le caratteristiche uniche dello stabulario/laboratorio speciale EOMM e dei molti ceppi in esso presenti, difficilmente reperibili al di fuori dell'ISS, hanno permesso la realizzazione di molti progetti scientifici in campo biomedico. Infatti, negli ultimi anni questo stabulario/laboratorio è stato utilizzato da diversi gruppi di ricerca, interni ed esterni all'ISS, consentendo lo svolgimento di importanti progetti scientifici.

Principali aree di ricerca recentemente sviluppate nello stabulario/laboratorio speciale EOMM:

- valutazione delle componenti della risposta immune, con particolare attenzione a cellule dendritiche (DC), in modelli vaccinali per HPV (Hu-PBL-SCID);

- valutazione del potenziale antitumorale di vaccini basati sull'utilizzo di IFN-DC in modelli di linfomi indolenti (Hu-PBL-SCID);
- valutazione del potenziale antitumorale anti-miR-21 in modelli di Mieloma Multiplo (SCID);
- valutazione del ruolo di IFN-I nello sviluppo spontaneo di carcinoma mammario in topi 129 transgenici per l'oncogene HER-2/Neu (129-NeuT/IFNAR-I KO);
- valutazione del ruolo di IRF-8 nell'attività funzionale di DC e nel processo di cancerogenesi del melanoma e del carcinoma del colon (CRC) (IRF-8 KO);
- valutazione del ruolo dei fattori IRF-8 e IRF-1 nell'attività funzionale di popolazioni del sistema immune quali DC e linfociti T regolatori in modelli oncologici (IRF-8/IRF-1-2KO);
- valutazione dell'efficacia antitumorale di terapie combinate di IFN e farmaci epigenetici in modelli di CRC e melanoma (Balb-c57/Bl);
- valutazione del ruolo dell'IL-33 nel melanoma (C57/Bl-ST2KO).

Nel complesso, il lavoro svolto attesta la competenza raggiunta nella gestione di colonie di topi di qualsiasi genere e costituisce la garanzia per l'acquisizione di nuovi modelli murini per lo sviluppo di attività di ricerca di interesse dell'ISS e/o in collaborazione con gruppi di ricerca esterni.

Resoconto attività 2014

Nel corso del 2014, lo stabulario/laboratorio speciale EOMM ha svolto attività di mantenimento ed espansione delle seguenti colonie di topi in esso stabulate: a) topi KO (IFNAR1 KO; IRF-8 KO, IRF-1 KO, IRF-8-IRF-1 2KO); b) topi immunocompetenti (BALB/c, 129/Sv, C57BL/6, DBA/2, CD1); c) topi speciali (rHER-2.BALB-neuT, 129-rHER-2.neuT IFNAR1 KO); d) topi con immunodeficit severo (SCID, nude e NOD-SCID):

- sviluppo di una strategia vaccinale basata sull'utilizzo di IFN-DC in Linfomi Mantellari (LM) e Follicolari (FL). Gli studi sono stati condotti in collaborazione con Cancer Bio-Immunotherapy - National Cancer Institute di Aviano, per la caratterizzazione della risposta immune cellulare umana verso antigeni LM, nel modello Hu-PBL-SCID. Sono stati inoltre condotti esperimenti con topi SCID ricostituiti con IFN-DC/Lisati di linea cellulare di LM trattati con RA (9-cis-retinoic acid) +IFN-alpha o lisati della stessa linea non trattati. L'analisi dei dati ex-vivo hanno evidenziato l'induzione di linfociti produttori Granzyme B e perforina verso il tumore.
- sulla base di evidenze sperimentali che l'espressione dell'oncomiR miR-21, aumenta in presenza di EBV in linee di MM rispetto alla linea parentale EBV negativa, si è valutato nel modello SCID il potenziale tumorigenico di cellule MM infettate con EBV rispetto alle parentali e il loro controllo con trattamenti anti-miR-21.
- analisi del cross-talk tra cellule tumorali e immuni nel microambiente tumorale nel modello murino di melanoma B16 trapiantato in topi IRF-8 KO. Questo studio ha dimostrato che IRF-8, considerato un tumor suppressor gene e allo stesso tempo un fattore chiave che regola componenti specifiche della risposta immune, svolge un ruolo cruciale nel determinare la risposta antitumorale controllando sia segnali intracellulari della cellula tumorale sia il network delle componenti innate e adattative della risposta immune verso il tumore (Modello IRF-8 KO).
- analisi del ruolo dell'IFN di tipo I (IFN-I) nello sviluppo spontaneo di carcinoma mammario in topi 129 transgenici per l'oncogene HER-2/Neu (Modello 129-NeuT/IFNAR-I KO).

- analisi del ruolo di IL-33 nel melanoma. Gli studi preliminari condotti hanno dimostrato che l'IL-33 svolge un'attività anti-tumorale contro il melanoma, determinando sia un rallentamento della crescita di melanomi primari trapiantati sia una diminuzione delle metastasi indotte sperimentalmente (Modello C57/Bl).
- analisi del ruolo di IRF-8 nella crescita di carcinoma del colon, in modelli murini trapiantati con linee di carcinoma del colon CMT-93 e MC38.
- studi sul ruolo combinato di IRF-1/IRF-8 nella generazione della risposta antitumorale nel melanoma e nel CRC (Modello IRF-8-IRF-1 2KO).
- studio sull'efficacia terapeutica della terapia antitumorale combinata di farmaci epigenetici e IFN-I in modelli di carcinoma del colon e melanoma trapiantati in modelli singenici e xenografts (C57BL/6, Balb/c, SCID).

Attività programmata 2015

Per il 2015 è prevista la prosecuzione e l'implementazione degli studi in corso descritti nel resoconto attività 2014; in particolare verranno svolti i seguenti progetti:

- uso del modello Hu-PBL-SCID per valutare l'efficacia di vaccini terapeutici basati sull'uso delle IFN-DC caricate con antigeni tumorali, corpi apoptotici e lisati cellulari, contro diverse tipologie di neoplasie, tra cui LM, FL, carcinoma della cervice uterina, melanoma e mesotelioma;
- valutazione del *cross-talk* tra cellule tumorali-immuni nel microambiente tumorale in topi IRF-8 KO trapiantati con cellule B16.F10 e CMT-93. Proseguimento della valutazione dell'efficacia di terapie combinate, quali Azacitidina, HDACi e IFN-I. Verranno sviluppati nuovi modelli murini, quali topi IRF8KO-B16-CXCR4, IRF-8/IRF-1-2KO-B16 e IRF-8/IRF-1-2KO-B16-CXCR4, che consentiranno un ulteriore livello di analisi del ruolo di IRF-8 e IRF-1 nel processo di carcinogenesi;
- allestimento di modelli oncologici *xenografts*, incluso melanoma e carcinoma del colon, con topi NSG, per la valutazione degli effetti terapeutici di terapie antineoplastiche, avvalendosi della collaborazione del Policlinico Gemelli di Roma, che metterà a disposizione campioni di pazienti;
- studio dell'attività antitumorale di IL-33 nel melanoma murino B16.F10. Verranno a questo scopo effettuati esperimenti anche nel modello ST-2 KO (deficiente per il recettore specifico per IL-33) al fine di valutare il ruolo di IL-33 endogena nella risposta anti-tumorale nel melanoma. Inoltre, verrà utilizzato un modello murino di insorgenza spontanea di melanoma (topi MT/ret-tg) che verrà incrociato con i topi ST2 KO, al fine di ottenere un ceppo ST-2/MT/ret-tg da poter utilizzare per studi sul ruolo di IL-33 in modelli di melanoma simili a quello umano (Progetto AIRC 14297; PI: Schiavoni);
- studio del ruolo dell'IFN-I nell'immunosorveglianza tumorale in topi 129-NeuT/IFNAR-I KO; sviluppo di nuovi modelli murini, inclusi topi IRF8KO/ApcMin/+DSS e IRF8KO/MT/ret-tg per lo studio della risposta immune antitumorale nel CRC e nel melanoma, in collaborazione con il Policlinico Gemelli di Roma e il *German Cancer Research Center* di Heidelberg, Germania.

Lo stabulario/laboratorio speciale EOMM ha un forte interesse a condividere protocolli ed esperienze tecnico-scientifiche con la rete nazionale mediante divulgazione e confronto sia via web che attraverso incontri/stages delle persone coinvolte in questa area di ricerca per lo sviluppo di progetti scientifici innovativi. È atteso che l'attività condotta nel triennio 2013-2015 porti alla generazione di modelli murini di dimostrata rilevanza nella ricerca biomedica che favoriscano la fruibilità dello stabulario/laboratorio speciale EOMM da parte di utenti interni ed