

inferiori al 2%, in linea con altri paesi europei, senza un apparente aumento del numero di difetti congeniti.

La sorveglianza ha peraltro identificato alcuni punti che si vogliono portare all'attenzione:

- Permane un elevato tasso di diagnosi di infezione da HIV in gravidanza (in circa un quarto dei casi delle gravidanze con HIV la diagnosi di HIV avviene in gravidanza). Questo riscontro, se da una parte indica una buona "cattura" di casi di HIV non precedentemente diagnosticati attraverso lo screening per HIV in gravidanza, d'altro canto indica la necessità di strategie più efficaci di screening fra le donne in età fertile non ancora gravide per una diagnosi più precoce dell'infezione e per evitare che la diagnosi di infezione da HIV avvenga in una fase così sensibile per la donna.
- Il tasso di gravidanze non pianificate rimane elevato fra le donne con HIV, pari a non meno della metà delle gravidanze, e si associa frequentemente alla esposizione in epoca periconcezionale a farmaci controindicati o non ottimali per l'uso in gravidanza ed a successivi aggiustamenti terapeutici. Sarebbe quindi necessario implementare procedure che favoriscano una migliore assistenza alla pianificazione della gravidanza, alle visite e al counselling preconcezionali.
- Nuovi antiretrovirali sono stati recentemente introdotti nella pratica clinica per il trattamento dell'HIV, ma non esistono informazioni sufficienti sulla loro sicurezza d'uso in gravidanza. Per alcuni importanti farmaci anti-HIV, recentemente diventati di comune uso nel trattamento dell'HIV, come etravirina e rilpivirina (inibitori non nucleosidici della trascrittasi inversa), raltegravir, elvitegravir, dolutegravir (inibitori dell'integrasi) e il maraviroc (inibitore del corecettore CCR5), è quindi importante raccogliere ulteriori informazioni.
- Rimangono anche nel nostro Paese, sia pure in misura limitata, casi di trasmissione dell'HIV da madre a neonato, attribuibili a vari motivi, per lo più prevenibili, fra cui prevale il mancato svolgimento del test per tutta la gravidanza. Questo fenomeno indica fortemente la necessità di assicurare una più ampia copertura applicativa del test HIV in gravidanza, con particolare riferimento alle popolazioni con maggiore difficoltà di accesso alle strutture ed alle prestazioni sanitarie.

In breve, i dati raccolti nell'ultimo anno da questo progetto confermano l'andamento già osservato negli anni passati, con un buon controllo della trasmissione verticale dell'HIV nel nostro Paese e limitati eventi avversi della terapia sia nelle madri che nei neonati. Peraltro, si confermano alcuni punti di auspicabile miglioramento già segnalati nelle precedenti relazioni: appare necessario da una parte insistere sulla comunicazione, assicurare una puntuale informazione su HIV e gravidanza a tutte le donne in età fertile, nonché ad incoraggiare ed implementare una più diffusa e tempestiva applicazione del test HIV non solo fra le donne in gravidanza, ma, in generale, in tutta la popolazione sessualmente attiva. Parallelamente, per le donne con infezione da HIV già nota, è importante incrementare le strategie di counselling per ridurre il numero di gravidanze non pianificate e consentire alle donne con HIV una gestione più sicura della propria salute riproduttiva.

Dal punto di vista della produzione scientifica ed impatto, lo studio rappresenta la principale casistica nazionale su HIV e gravidanza, ed una fra le maggiori in abito europeo, con oltre 25 pubblicazioni su riviste scientifiche internazionali e varie collaborazioni internazionali per la valutazione di aspetti di sicurezza e teratogenicità.

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

Si segnala però che nonostante questi aspetti di visibilità e rilevanza, lo studio è attualmente privo di finanziamenti. In passato si sono ottenuti fondi attraverso programmi di finanziamento (Programma Nazionale di Ricerca sull'AIDS e bandi AIFA per la Ricerca Indipendente sui Farmaci), che attualmente non sono disponibili in quanto il Programma Nazionale di Ricerca sull'AIDS non ha emesso bandi recenti e il bando AIFA per la Ricerca Indipendente sui Farmaci non permette di riproporre ricerche già finanziate. Si segnala inoltre che una proposta di progetto per valutare con l'infrastruttura esistente e quindi a costo limitato la sicurezza ed efficacia di antiretrovirali e nuovi inibitori dell'HCV (DAA) in gravidanza è stato presentato al bando per la ricerca finalizzata con esito negativo (respinto in quanto considerato non prioritario). La prosecuzione dell'attività di sorveglianza in assenza di finanziamenti è quindi incerta e sarebbe opportuno assicurare al progetto fondi stabili e non dipendenti da bandi di ricerca a carattere temporaneo.

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

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

- counselling telefonico sull'Infezione da HIV/AIDS e da giugno 2010 anche sulle altre Infezioni Sessualmente Trasmesse (IST);
- ricerca in campo psico-socio-comportamentale;
- formazione intra ed extra murale su aspetti riguardanti la comunicazione efficace e il counselling vis à vis e telefonico in ambito sanitario;
- consulenza scientifica su tematiche relative alla prevenzione delle Malattie Infettive nella popolazione generale e in target specifici (popolazioni migranti, giovani);
- coordinamento di Reti (National Focal Point-Infectious Diseases and Migrant, ReTe AIDS).

Per quanto riguarda l'attività di Counselling Telefonico sull'Infezione da HIV, sull'AIDS e sulle Infezioni a Trasmissione Sessuale (IST) il Servizio Telefono Verde AIDS e IST (800.861061) istituito nel 1987 dalla Commissione Nazionale per la lotta contro l'AIDS e co-finanziato dal Ministero della Salute e dall'Istituto Superiore di Sanità, ha rappresentato la prima esperienza di "AIDS Help-line" pubblica, a copertura nazionale, impegnata nella prevenzione primaria e secondaria dell'infezione da HIV e delle IST rivolta alla popolazione generale italiana e straniera. Il Servizio di counselling telefonico dell'Istituto Superiore di Sanità continua ancora oggi a rappresentare una delle risposte più efficaci, a carattere nazionale, nelle strategie di prevenzione dell'infezione da HIV e delle IST, promosse dal Ministero della Salute.

Il gruppo di esperti del TV AIDS e IST è costituito da ricercatori e consulenti con diverse professionalità (medici, psicologi, statistici, esperti in comunicazione e legali), nonché di collaboratori tecnici di ricerca. L'HIV/AIDS/IST counselling telefonico è svolto in anonimato e gratuitamente, dal lunedì al venerdì, dalle ore 13.00 alle ore 18.00. Gli esperti rispondono anche in lingua inglese, francese, portoghese. Tale intervento, permette all'utente di esprimere dubbi, perplessità, paure, ma anche di ricevere informazioni conformi ai suoi reali bisogni, rappresentando una vera e propria relazione professionale tra un operatore, con competenze tecnico-scientifiche e comunicativo-relazionali specifiche e una persona/utente che esprime una richiesta, un bisogno, una

necessità. Inoltre, il lunedì e il giovedì dalle ore 14.00 alle ore 18.00 è presente un esperto in materia legale.

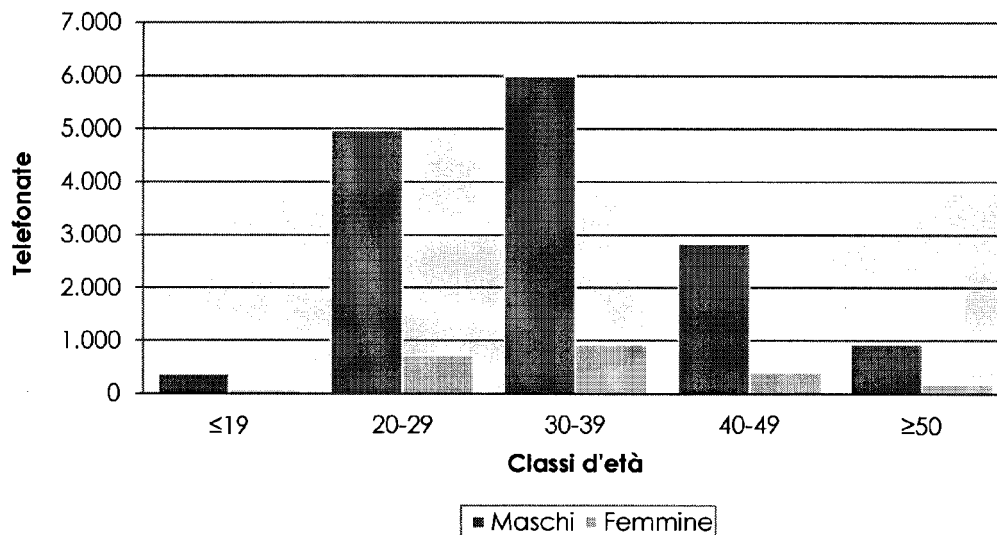
L'impatto positivo di tale impostazione è da ricercare nell'opportunità di erogare alla persona/utente, attraverso un colloquio specialistico mirato e non direttivo, informazioni scientifiche trasformate in messaggi personalizzati, utili per facilitare la messa in atto di modifiche comportamentali e decisionali necessarie per la diminuzione del disagio, nonché per permettere l'attuazione di *life skills* finalizzate ad evitare comportamenti a rischio.

Da giugno 1987 a dicembre 2013, il TV AIDS e IST ha ricevuto un totale di 724.639 telefonate, provenienti prevalentemente da persone di sesso maschile (74,7%), di età compresa tra i 20 e i 39 anni (77,6%). Gli utenti hanno telefonato per lo più dalle regioni del Centro Italia ed il gruppo maggiormente rappresentato è costituito da persone non tossicodipendenti che hanno avuto rapporti eterosessuali (56,0%). Il numero totale dei quesiti formulati è di 1.932.391 riguardanti in massima parte modalità di trasmissione dell'HIV (28,2%), informazioni sul test dell'HIV (25,4%) ed aspetti psicosociali (14,0%).

In merito alle persone straniere che accedono al Servizio, dal 1995 (anno a partire dal quale è stata rilevata la nazionalità) a dicembre 2013 sono pervenute al TV AIDS e IST 4.235 telefonate, le quali per il 65,0% sono state effettuate da persone di sesso maschile. La classe di età maggiormente rappresentata è quella che va dai 20 ai 29 anni (80,0%). Le aree geografiche di provenienza sono nell'ordine: Africa (28,1%), America (23,6%), Europa non UE (22,5%), Unione Europea (17,0%), Asia (8,5%), Oceania (0,2%). Per 14 (0,3%) utenti non è stato possibile individuare la provenienza.

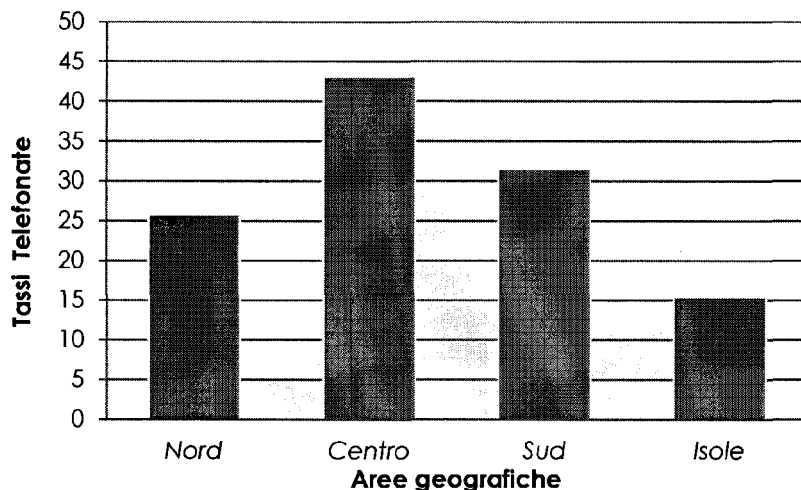
Nello specifico, nell'anno 2013, il TV AIDS e IST ha ricevuto un totale di 17.580 telefonate, delle quali 15.248 (86,8%) provenienti da persone di sesso maschile, 2.326 (13,2%) da persone di sesso femminile e 6 (0,0%) da persone transessuali.

La distribuzione per classi di età evidenzia come siano soprattutto le persone di età compresa fra i 20 e i 39 anni (71,9%) a rivolgersi al Servizio. L'età mediana degli utenti è di 32 anni (range interquartile 27-40). Nella Figura 1 sono rappresentate le frequenze assolute delle telefonate ricevute per sesso e classi d'età.

Figura 1. Distribuzione delle telefonate ricevute per sesso e classi di età - Frequenze assolute

Per quanto riguarda la distribuzione geografica, dal Nord sono giunte 7.091 telefonate (40,3%), dal Centro 5.042 (28,7%), dal Sud 4.418 (25,2%), dalle Isole 1.027 (5,8%). Sulla base dei tassi per 100.000 abitanti¹ si evince che il numero maggiore di telefonate è pervenuto dalle regioni del Centro Italia (Figura 2).

¹ Calcolati sulla Popolazione residente al 1 gennaio 2013 – dati ISTAT

Figura 2. Distribuzione delle telefonate per aree geografiche – Tassi per 100.000 abitanti

Nel corso del 2013, i due terzi delle telefonate giunte al TV AIDS e IST è da attribuirsi a persone non tossicodipendenti, che hanno avuto contatti eterosessuali (66,0%). Fra questi sono inclusi anche i clienti di prostitute e di transessuali, i quali ne rappresentano circa il 27%. Per quanto riguarda gli altri gruppi di utenti che più spesso si sono rivolti al Servizio, troviamo, nel 24,2% dei casi, persone che pur non avendo messo in atto comportamenti a rischio (non fattori di rischio - NFDR) temono di essersi esposti al contagio da HIV.

Dai dati del Telefono Verde si può ricavare un'ulteriore significativa informazione circa la proporzione di utenti che ha effettuato, almeno una volta nella vita, il test per la ricerca di anticorpi anti-HIV. Nel 2013 tale quota è stata pari al 52,9%, mentre restringendo il target ai soli utenti che si sono rivolti al Servizio per la prima volta, essa scende al 40,4% .

Dal 1 gennaio al 31 dicembre 2013 i quesiti formulati al TV AIDS e IST sono stati complessivamente 56.713 e hanno riguardato principalmente:

- modalità di trasmissione dell'HIV e delle altre Infezioni Sessualmente Trasmesse (35,7%);
- informazioni sul test dell'HIV (dove effettuarlo, dopo quanto tempo da una situazione a rischio e con quali modalità) (28,8%)
- dubbi derivanti dalla disinformazione (14,6%).

Sono, inoltre, emerse differenze statisticamente significative per quanto riguarda la distribuzione dei quesiti per sesso (Test chi-quadro, p -value <0,001): considerando esclusivamente i tre argomenti più

richiesti, gli uomini sono più interessati a conoscere le modalità di trasmissione del virus, mentre le donne sembrerebbero essere più disinformate e, al tempo stesso, più interessate ad ottenere indicazioni circa il test dell'HIV.

In questa Relazione si vuole porre attenzione ad un aspetto della più ampia attività di counselling del TV AIDS e IST che riguarda le tematiche in materia legale. Infatti, da febbraio 2012 è attivo all'interno del TV AIDS e IST il servizio di counselling telefonico in materia legale, disponibile per due giorni a settimana (lunedì e giovedì) per un totale di 8 ore.

Dalla data di attivazione ad oggi sono giunte 161 richieste di consulenza, per un totale di 187 quesiti formulati. Nel solo anno 2013 sono pervenute 76 telefonate. Gli utenti che richiedono l'intervento di counselling in materia legale, in linea con quanto già rilevato dalla panoramica totale delle telefonate pervenute, sono in larga maggioranza persone di sesso maschile (68,4%), la classe d'età maggiormente rappresentata è quella tra i 40 e i 49 anni (43,4%). La percentuale di persone sieropositive che hanno richiesto una consulenza legale è pari al 67,1%; risulta anche significativa la percentuale (29,0%) di persone/utenti "non fattori di rischio", che si sono rivolti al TV AIDS e IST in quanto parenti di persone con HIV. Il Nord Italia è l'area del Paese da cui proviene la più alta percentuale di richieste di consulenza legale (42,1%).

I quesiti hanno per lo più riguardato questioni di legislazione in materia di HIV/AIDS, specie con riferimento alle implicazioni dell'infezione in ambito lavorativo (30,7%), seguono i quesiti riguardanti la violazione della privacy (30,7%), che tuttavia è un tema trasversale alla maggior parte dei colloqui, nonché quelle di previdenza e assistenza, invalidità civile, pensioni, permessi ex legge 5.02.1992 n. 104 (26,1%).

L'attività di counselling telefonico, dal 1 dicembre 2013 è stata integrata con l'apertura del Sito www.unicontrolaids.it, promosso e finanziato dal Ministero della Salute e realizzato dall'Unità Operativa Ricerca psico-socio-comportamentale, Comunicazione, Formazione. La finalità principale è quella di soddisfare il bisogno di salute del cittadino e al tempo stesso riuscire a motivare più persone possibili ad assumere comportamenti responsabili e rispettosi della salute. Si è attivato in tal modo un circolo virtuoso che ha consentito di favorire un processo di completamento tra un'informazione di tipo personalizzato (intervento di counselling), quale è quella fornita, quotidianamente, dagli esperti del Telefono Verde AIDS e IST con un'informazione erogata

attraverso il Sito, mirata a rafforzare le conoscenze scientifiche mediante un messaggio trasmesso in un linguaggio diretto, immediato, di facile comprensione.

*Tutti i dati sopra riportati sono stati estrapolati dal "Rapporto Attività di HIV/AIDS/IST Counselling telefonico, Giugno 1987 – Dicembre 2013". Tale Rapporto può essere richiesto al seguente indirizzo email: tvaid@iss.it o scaricato dal sito Internet http://www.iss.it/binary/urcf/cont/Rapporto_Activit_HIV_AIDS_IST_Counselling_telefonico_2013.pdf

ATTIVITA' DI RICERCA

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

3.1. RICERCA BIOMEDICA

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

3.1.1. Programma Nazionale di ricerca sull'AIDS

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

Il Programma Nazionale di Ricerca sull'AIDS, avviato alla fine degli anni '80 dalle autorità politiche del Paese, ha usufruito, all'inizio, di investimenti di significativa entità, mantenuti allo stesso livello, con periodicità annuale, fino alla metà degli anni '90. Purtroppo, dalla fine degli anni '90, l'entità del finanziamento si è costantemente ridotta e, soprattutto, ha perso la periodicità annuale. Gli effetti dello scarso finanziamento del Programma Nazionale AIDS portano inevitabilmente, ad una più bassa qualità della ricerca italiana sull'AIDS e, potenzialmente, ad un ruolo di secondo piano dell'Italia nella scienza biomedica in campo internazionale. Si aggiunga, inoltre che, nel periodo 2006-2008, non sono stati stanziati nuovi fondi, mentre nel 2009 è stato indetto un "Call for proposal" per nuovi progetti o per la continuazione di progetti in corso, con fondi limitati. Tuttavia, la decisione in merito ai progetti da finanziare, presentati regolarmente, è arrivata solo nel 2010. Il 2010 è stato anche l'ultimo anno in cui sono stati stanziati dei fondi, seppur limitati nella loro entità, per la ricerca sull'AIDS all'interno del Programma.

Dal 2009, l'ISS non è più coordinatore del Programma Nazionale di Ricerca sull'AIDS. Il coordinamento è stato gestito dalla Direzione Generale della Ricerca del Ministero della Salute. All'ISS è rimasta la gestione dei fondi. Purtroppo, il Programma Nazionale non ha più indetto "Calls for proposals" dopo l'ultimo del 2009. La possibilità di utilizzare i fondi assegnati ai singoli gruppi di ricerca con l'ultimo finanziamento si è protratta fino alla metà del 2013.

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

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

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

Epidemiologia

Tutti i progetti si sono conclusi.

Eziologia, patogenesi e sviluppo di vaccini

Nel corso del 2013 sono proseguiti e si sono conclusi gli studi per identificare le modificazioni del tropismo virale, il ruolo patogenetico di mutazioni/delezioni nei geni regolatori o strutturali, presenti in pazienti infettati con HIV e l'interazione tra proteine strutturali e regolatrici di HIV, nell'ambito delle strategie di indagine mirate a comprendere i meccanismi patogenetici dell'infezione da HIV. Inoltre sono stati effettuati diversi studi preclinici atti a valutare e disegnare nuove strategie vaccinali preventive. Gli studi inseriti in questo sottoprogetto sono ritenuti di basilare importanza per sviluppare approcci vaccinali preventivi e terapeutici e per lo sviluppo di nuovi farmaci antiretrovirali. Alcuni dei progetti finanziati in questo sottoprogetto sono di seguito elencati.

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

Il progetto, coordinato dal Reparto "Infezioni da Retrovirus nei paesi in via di sviluppo" del Centro Nazionale AIDS, è mirato a studiare la variabilità della proteina Env di varianti virali appartenenti al sottotipo C di HIV-1 (il più rappresentato a livello globale), ottenute da pazienti a diversi stadi della malattia, in Sudafrica ed in Swaziland (dove la prevalenza di questo sottotipo è estremamente elevata), con lo scopo di capire se varianti con particolari caratteristiche della proteina Env, che conferiscono resistenza all'azione degli anticorpi neutralizzanti, vengano preferenzialmente selezionate nel corso della malattia.

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

I dati hanno portato ad ipotizzare che questi cambiamenti possano correlare allo sviluppo di varianti del virus, che si selezionano durante la fase cronica, in grado di resistere alla risposta immune dell'ospite, in particolare all'azione degli anticorpi neutralizzanti.

Questi studi sono stati pubblicati su due riviste internazionali ad alto impact factor. L'evoluzione naturale del progetto è quella di valutare da un lato se varianti isolate negli stadi dell'infezione successivi a quello iniziale siano in grado di acquisire una resistenza all'azione degli anticorpi neutralizzanti e, dall'altro, se le caratteristiche molecolari ed antigeniche riscontrate nelle varianti di

tipo C, siano comuni anche ad altri sottotipi e forme ricombinanti. Nel caso esse lo siano, potremmo trovarci di fronte a uno o più meccanismi di resistenza di carattere universale per tutti i sottotipi di HIV e questa informazione potrebbe essere chiave per lo sviluppo di un immunogeno che stimoli una risposta immune ampia in grado di fornire protezione contro l'infezione da parte di più sottotipi virali. Inoltre, le informazioni potrebbero essere utilizzate per la generazione di nuovi farmaci antiretrovirali.

Purtroppo il progetto non potrà avere la sua naturale evoluzione nell'ambito del Programma Nazionale AIDS, poiché le risorse sono terminate ed il Programma non è stato ulteriormente finanziato dal 2009.

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

Il progetto, coordinato dal Reparto "Infezioni da Retrovirus nei paesi in via di sviluppo", del Centro Nazionale AIDS, prevede la caratterizzazione dei sottotipi di HIV circolanti nelle popolazioni di migranti in Italia, che include la definizione del sottotipo, o della forma ricombinante e la determinazione della presenza di varianti portatrici di mutazioni di resistenza verso i farmaci antiretrovirali.

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

I sottotipi più comuni sono risultati essere il sottotipo G e la forma ricombinante CRF 02_AG. La maggioranza delle persone infettate da virus appartenenti a queste due forme proveniva dall'Africa occidentale. Analisi di filodinamica hanno indicato una tendenza ad una rapida diffusione di questo tipo di varianti.

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

come sa necessario istituire e sviluppare una continua attività di sorveglianza e di controllo delle varianti circolanti in Italia, in popolazioni selezionate e nella popolazione generale italiana.

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

Scopo del progetto, coordinato dal Reparto "Interazione Virus-Ospite e Core Lab. di Immunologia", del Centro Nazionale AIDS, è la determinazione degli effetti della tensione di ossigeno sulle attività biologiche esercitate dalla proteina Tat di HIV-1, in particolare, sulle cellule dendritiche generate a partire dai monociti del sangue periferico e pertanto denominate MDDC. L'importanza di questi studi nasce dall'osservazione che numerose attività biologiche, comprese quelle della proteina Tat, variano a seconda della tensione di ossigeno presente nell'ambiente circostante. Poiché la proteina Tat può essere utilizzata nell'uomo come vaccino preventivo o terapeutico contro l'HIV/AIDS, è essenziale, per gli studi in vitro volti a chiarire i suoi effetti ed il suo meccanismo di azione, mettersi quanto più possibile nelle condizioni degli studi in vivo, dove è noto che la tensione di ossigeno è di molto inferiore a quella utilizzata nei comuni incubatori. I risultati ottenuti nel 2013 indicano che l'esposizione di MDDC a tensioni di ossigeno fisiologiche (3-5%) modula ma non abroga la risposta delle cellule alla proteina Tat. Pertanto i risultati ottenuti nelle due diverse condizioni sperimentali sono nel complesso paragonabili, confermando la validità dei risultati ottenuti nelle usuali condizioni di tensione di ossigeno atmosferica.

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

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

risposta immunitaria. Al contrario, anticorpi diretti contro Tat sono in grado di neutralizzare il virus e di ristabilire la suscettibilità dell'Env all'azione degli anticorpi neutralizzanti Env. Questi risultati, sono stati confermati in studi di vaccinazione preventiva in animali e terapeutica nell'uomo con la proteina Tat, dimostrando la validità del vaccino Tat come candidato vaccinale contro l'HIV/AIDS, vaccino attualmente in sperimentazione clinica in Italia ed in Sudafrica. Infatti abbiamo dimostrato che la neutralizzazione del complesso correla con il miglioramento di parametri immuno-virologici ed in particolare con la riduzione del DNA provirale nel sangue periferico. I nuovi risultati degli studi sul complesso Tat/Env ottenuto nel 2013 sono stati sottomessi di recente per la pubblicazione.

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

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

vettore di espressione pOPE101-215Yol e la valutazione delle attività di binding e biologiche di questi due scFV. Al tempo stesso, da RNA estratto da linee cellulare B di scimmia vaccinata con Tat e Δ V2Env, abbiamo creato una libreria e la prosecuzione del lavoro prevede il clonaggio, e la selezione di cloni positivi con metodiche immunoenzimatiche per la selezione dei cloni mostranti attività di binding verso le proteine Tat e Env di HIV.

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

L'esposizione vaginale/rettale allo sperma di individui infetti con HIV è ad oggi il maggior rischio di contrarre l'infezione con questo virus. E' pertanto importante espandere ed approfondire le conoscenze dei meccanismi patogenetici conseguenti all'esposizione vaginale o rettale con sperma infettato da HIV, al fine di approntare interventi preventivi o terapeutici per bloccare la trasmissione mucosale dell'infezione. Il tratto genitale maschile (GT), un compartimento immunologicamente separato dal sangue, alberga HIV e rappresenta un potenziale serbatoio virale. A questo proposito nell'ambito del progetto, coordinato dal Reparto di "Retrovirologia Sperimentale e Modelli di Primati non Umani", del Centro Nazionale AIDS sono stati prelevati, alla necropsopia, tessuti (tratto genitale, milza, linfonodi, intestino) di scimmie cynomolgus, vaccinate e non, dopo infezione con SHIV 89.68 cresciuto su scimmia. Parte dei tessuti sono stati inclusi in formalina e parte conservati a -80°C. Il lavoro si è focalizzato su: 1) valutazione della presenza del genoma virale tramite Real Time DNA PCR quantitativa; 2) caratterizzazione tramite sequenziamento delle regioni V1-V2 di Env al fine di identificare o possibili varianti nei diversi tessuti (linfonodo, milza, intestino, prostata); 3) studio immunistoichimico dei diversi tessuti (CD20, CD8, Fascin, CD60, S100), al fine di identificare marcatori associati alla eventuale presenza di virus nei diversi tessuti. Le nuove conoscenze acquisite da questo lavoro saranno importanti per lo sviluppo di nuove classi di microbicidi, l'identificazione dei fattori con effetti adiuvanti nei confronti microbicidi noti e lo sviluppo di interventi efficaci contro l'HIV/AIDS.

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

Il progetto si svolge all'interno del Reparto di "Patogenesi Molecolare" del Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie ed immunomediate ed ha come principale obiettivo lo sviluppo di tools e strategie terapeutiche da utilizzare per limitare o impedire la fase di infezione latente ed eliminare

poi le cellule in cui la replicazione virale sia stata riattivata, attraverso l'utilizzo di target cellulari ed in particolare fattori di trascrizione cellulari appartenenti alla famiglia IRF (interferon regulatory factors). I fattori cellulari IRF sono fondamentali per la replicazione virale prima della sintesi del transattivatore virale e sono bersagli delle strategie virali di escape dalla risposta immune dell'ospite.

A conclusione del progetto, nel Giugno 2013, sono stati ottenuti dati sulla inattivazione del fattore IRF-1 nelle cellule CD4+ attivate che sono il target dell'infezione da HIV-1 ed il maggior reservoir del virus. A seguito dell'attivazione da TCR, nelle cellule T si attiva la chinasi IKK- ϵ che mentre in altri tipi cellulari a seguito di infezione virale attiva IRF-3 e IRF-7 i maggiori responsabili della sintesi di IFN di tipo I e quindi dell'attività antivirale, nelle cellule T stimola una isoforma inattiva di IRF-3 e allo stesso tempo fosforila IRF-1 disattivandolo. Abbiamo infatti dimostrato che la forma fosforilata di IRF-1 non è più in grado di favorire il "recruitment" dell'acetilasi pCAF sul promotore dell'Interferon di tipo I e la conseguente acetilazione della subunità transattivatoria di NF- κ B RelA, portando quindi ad un blocco della sintesi dell'interferon in seguito ad infezione virale.

Per quanto riguarda lo studio della riattivazione dalla latenza sono state selezionate linee cellulari esprimenti un dominante negativo di NF- κ B, sulle quali verranno testate sostanze farmacologicamente attive in grado di riattivare la replicazione virale anche in assenza di sostanze che vadano a stimolare NF- κ B finora dimostratesi particolarmente tossiche anche in vitro e non utilizzabili nella pratica clinica.

Tali risultati costituiscono la base scientifica per lo sviluppo di farmaci in grado da un lato di ristimolare la replicazione virale in cellule latentemente infettate e dall'altro di potenziare la risposta immune innata ed adattativa dell'ospite quale requisito necessario per la risoluzione e/o il controllo dell'infezione.

Development and use of non-integrating lentiviral vectors as a novel and safe delivery system for a vaccine against HIV-1

Il progetto, coordinato dal Reparto di "Farmacologia e Terapia delle malattie da virus" del Dipartimento del Farmaco, prevede lo sviluppo di un vaccino basato su un nuovo e sicuro sistema di veicolazione dell'antigene di HIV. Nell'ambito dello studio dei vaccini preventivi è importante sviluppare nuove strategie in grado di indurre una risposta immunologica forte e persistente nel tempo. E' stato ampiamente dimostrato che i vettori lentivirali sono ottimi candidati vaccinali in quanto sono in grado di esprimere in maniera efficiente l'antigene di interesse, generando una forte