

**Progetto CASA** (progetto di ricerca operativa)*Progetto finanziato dal Ministero della Salute.*

Nella terza decade della pandemia da HIV, l'Africa subsahariana rimane la regione maggiormente colpita, nonostante le numerose iniziative internazionali dirette a contrastare la diffusione dell'infezione. La fragilità dei sistemi sanitari dell'Africa subsahariana, la scarsa integrazione dei servizi e la mancanza di finanziamenti adeguati sono i principali ostacoli alla possibilità di garantire all'intera popolazione l'accesso ai servizi di prevenzione e cura e assicurare gli stessi standard di cura dei paesi economicamente più sviluppati. In un contesto di estrema fragilità e povertà, come quello subsahariano, è centrale il ruolo assunto dalla ricerca operativa, il cui obiettivo è l'ottimale utilizzo delle risorse disponibili per una maggiore efficacia degli interventi. Il progetto denominato CASA (Cohort of African people Starting Antiretroviral therapy) è un progetto di ricerca operativa per il miglioramento della cura delle persone con infezione da HIV. Coordinato dall'Istituto Superiore di Sanità e finanziato dal Ministero della Salute, il progetto si sviluppa attraverso un approccio olistico che prevede la formazione del personale sanitario, il potenziamento delle strutture laboratoristiche, il coinvolgimento delle Associazioni di persone con HIV e dei singoli pazienti, oltre ad altri interventi mirati ad ottimizzare la terapia antiretrovirale. Il primo paese coinvolto nel progetto è l'Etiopia. Il contributo italiano alla lotta alla povertà è stato, in Etiopia, di notevole rilevanza, con interventi in settori di cruciale importanza, come l'istruzione, l'energia e l'organizzazione dei servizi sanitari. La lotta all'epidemia HIV/AIDS in Etiopia rientra negli obiettivi prioritari che il nostro paese intende perseguire. Il progetto CASA è in linea con le priorità sanitarie stabilite dal Governo Etiope, che riconosce una stretta correlazione tra i miglioramenti in campo sanitario e lo sviluppo economico del paese. Esso è svolto in partenariato tra Istituto Superiore di Sanità, Makelle University e Tigray Health Bureau (THB). Quest'ultimo ha la piena ownership del progetto. Il progetto CASA ha l'obiettivo generale di arrestare e invertire, in Etiopia, la diffusione dell'infezione da HIV e delle principali malattie ad essa associate. Obiettivo specifico del progetto è quello di migliorare la qualità della cura dei pazienti con infezione da HIV (e patologie ad essa associate) presso le strutture sanitarie partecipanti allo studio. Sono attesi risultati in termini di maggiore competenza del personale sanitario, aumento della retention in cure del paziente e maggiore abilità del personale sanitario nella raccolta dei dati epidemiologici nel corso della comune pratica clinica. Nel 2014 è proseguita l'attività formativa svolta in loco dal personale ISS nel corso delle periodiche missioni. E' stato inoltre attuato il previsto affiancamento di medici infettivologi italiani al personale sanitario etiope. Al programma formativo svolto in loco dal

personale ISS, è stato associato un piano di formazione a distanza, realizzato attraverso l'impiego di una piattaforma e-learning (gestita dall'ISS) e l'utilizzo di altro materiale tecnologico (DVD). Nel corso del 2014, l'ISS ha continuato a fornire apparecchiature, materiali di consumo e supporto tecnico adeguati allo sviluppo del progetto. L'Istituto ha inoltre proseguito l'attività di coordinamento relativa alla raccolta multicentrica di dati epidemiologici (Tigray, Etiopia) su pazienti con HIV che hanno intrapreso il trattamento antiretrovirale. Ai preesistenti centri clinici sono state aggiunti tre ospedali, per un totale di sette strutture sanitarie partecipanti allo studio. I nuovi pazienti, arruolati nel corso del 2014, sono stati oltre 800, per un totale di circa 1700 pazienti registrato alla fine dello stesso anno.

### **Studio sulla prevenzione della trasmissione materno-fetale dell'infezione da HIV nei paesi con risorse limitate**

*Progetto finanziato dal Ministero della Salute.*

Il Progetto ha l'obiettivo di valutare la sicurezza e l'efficacia della nuova strategia preventiva per la trasmissione materno-infantile dell'HIV nei paesi con risorse limitate, la cosiddetta Opzione B-Plus. Con questa strategia, raccomandata dalle ultime linee guida dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (2013), tutte le donne HIV-positive in gravidanza iniziano un terapia antiretrovirale e la continuano non solo dopo il parto, durante l'allattamento, ma anche successivamente per tutta la vita. Questa strategia ha degli indubbi vantaggi: ha effetti benefici sulla salute della madre che inizia il trattamento in una fase precoce della malattia, evita ripetute interruzioni e riprese della terapia in contesti con alti tassi di fertilità, assicura massima efficacia protettiva nelle gravidanze successive e riduce la trasmissione sessuale.

In Malawi questa strategia è stata implementata dal Luglio 2011 con un regime basato su tenofovir, lamivudina ed efavirenz con una raccomandazione di allattare fino a 2 anni. Questo regime antiretrovirale ha molti vantaggi: contiene 2 farmaci attivi contro l'HBV, può essere usato con i farmaci anti-tubercolari, ha una potenza elevata ed è combinato in una singola pillola. Tuttavia esistono preoccupazioni relative all'esposizione all'efavirenz nel primo trimestre di gravidanza e soprattutto sui potenziali effetti renali e sul metabolismo osseo nei bambini esposti al tenofovir. Inoltre l'accettabilità e l'aderenza al trattamento associate con questa strategia non sono note.

Il progetto prevede quindi di valutare in una coorte di 1000 donne e bambini:

- Tasso di difetti congeniti
- Accrescimento dei bambini

- Sviluppo neuromotorio dei bambini
- Marcatori di formazione e riassorbimento osseo nei bambini nel corso dell'allattamento
- Incidenza di eventi avversi nelle madri e nei bambini
- Tassi di aborto
- Tassi di prematurità
- Tassi di trasmissione dell'infezione da HIV
- Mortalità neonatale ed infantile
- Mortalità materna

Nel corso del 2013 e del 2014 si è provveduto all'arruolamento delle donne in gravidanza in Malawi che hanno iniziato la terapia antiretrovirale secondo la Opzione B-Plus e dei loro bambini.

Sono stati inoltre raccolti campioni di plasma e latte materno a diversi momenti del follow-up per valutare le concentrazioni dei farmaci nei 2 compartimenti e il loro impatto sulla risposta virologica, e campioni di plasma dei bambini per la valutazione dei markers del metabolismo osseo e per la determinazione delle concentrazioni dei farmaci che tramite l'allattamento materno si raggiungono nella circolazione del bambino e la loro possibile correlazione con l'acquisizione dell'infezione o l'insorgenza di eventi avversi. Lo studio, viene effettuato in collaborazione con il progetto DREAM (Drug Resource Enhancement against AIDS and Malnutrition) della Comunità di S. Egidio.

Nel corso del 2014 sono state effettuate le determinazioni dei marcatori di formazione e riassorbimento osseo nei campioni dei bambini esposti durante la gravidanza e l'allattamento al tenofovir. I risultati non hanno dimostrato un significativo impatto dell'esposizione al tenofovir relativamente ai marcatori, che presentano livelli simili a quelli della popolazione dei bambini normali non esposti al tenofovir.

Inoltre le prime indicazioni degli studi di farmacocinetica, anche essi effettuati nel 2014, hanno dimostrato che mentre la lamivudina e l'efavirenz raggiungono concentrazioni significative nel latte materno questo non si verifica con il tenofovir suggerendo una minor probabilità di esposizione dei bambini a concentrazioni elevate.

**Progetto: Valore predittivo della proteina CXCL-10 (IP-10) nella progressione dell'infezione da HCV in pazienti co-infetti HIV-1/HCV**

*Progetto finanziato nell'ambito del "Fellowship Program" - Gilead Sciences Srl – Italia*

HCV è la principale causa di morbidità e mortalità tra le persone infette con l'HIV-1. I pazienti co-infetti HIV/HCV presentano un grado più veloce di progressione della malattia da HCV, una più alta

carica virale ed un maggiore rischio di sviluppare danni epatici. Inoltre, è stata riportata una diminuzione della risposta virologica sostenuta (SRV) in pazienti co-infetti sottoposti a terapia antiretrovirale con interferone/ribavirina (IFN $\gamma$ -RBV). È noto che l'infezione da HCV genera l'instaurarsi di uno stato cronico di attivazione del sistema immunitario e che l'infiammazione è associata al danno epatico. Il processo di migrazione inizia con il rilascio da parte degli epatociti di chemochine che legano recettori specifici sulle cellule infiammatorie inducendone lo spostamento nel fegato. Molti studi hanno dimostrato che la chemochina IP-10 ed il suo recettore CXCR3 hanno un ruolo rilevante nel "trafficking" di linfociti T. Elevati livelli di IP-10 sono stati associati ad un decorso sfavorevole dell'infezione da HCV in pazienti cronicamente infetti, poiché alti livelli correlano con un'elevata viremia, un aumentato danno epatico e sono predittivi di fallimento terapeutico. D'altro canto è stato dimostrato che IP-10 è un miglior fattore predittivo di progressione della malattia nelle prime fasi dell'infezione da HIV-1 rispetto alla plasmaviremia ed al numero dei CD4+. Da studi su coorti di pazienti co-infetti è emerso che i livelli di IP-10 plasmatico, prima dell'inizio della terapia anti-HCV, sono significativamente maggiori nei non-responder se confrontati ai responder e che IP-10 correla positivamente con lo stadio di fibrosi epatica. Il paradosso del perché IP-10, una chemochina pro-infiammatoria responsabile del reclutamento dei linfociti nel fegato, sia un fattore prognostico negativo per l'acquisizione dell'SVR non è noto. Recentemente è stata identificata nel plasma di pazienti cronicamente infetti da HCV una forma trunca antagonista di IP-10, dovuta al taglio proteolitico di due aminoacidi all'estremità amino terminale da parte della dipeptidil-peptidasi IV (DPP4 o CD26). La forma troncata agirebbe come dominante negativa essendo in grado di legare il recettore CXCR3 ma incapace di indurre la cascata del segnale che permette la migrazione dei linfociti T. Infatti, i pazienti mostrano una diminuzione del numero di linfociti reclutati nel fegato e conseguentemente il fallimento della risposta immunitaria e l'incapacità di eliminare l'infezione. E' stato quindi proposto che l'immuno regolazione della forma lunga e troncata dell'IP-10, possa contribuire all'inabilità di raggiungere la clearance dell'HCV nei pazienti cronicamente infetti. Ad oggi, non esistono studi in cui siano stati valutati i livelli di IP-10 e della dell'attività della DDP4 in pazienti co-infetti. E' noto invece che in pazienti co-infetti, i livelli di IP-10 prima del trattamento potrebbero essere predittivi di una SVR. In ultimo è stato dimostrato che in cellule derivate da epatocarcinoma e infettate con HCV la stimolazione con la proteina Tat di HIV-1 aumenta i livelli di mRNA di IP-10 e la replicazione di HCV (Qu, 2012).

L'obiettivo di questo progetto è valutare se IP-10 e la forma troncata di IP-10 siano presenti nel plasma di pazienti co-infetti HIV/HCV ed utilizzare le due forme delle proteine come biomarker plasmatico in grado di predire e monitorare la co-infezione. Gli obiettivi specifici sono:

Valutare quale forma di IP-10 sia prevalente nei pazienti coinfetti in relazione alla fase clinica dell'infezione;

Determinare l'attività proteolitica di DPP4 nei pazienti coinfetti;

Determinare se Tat sia in grado di aumentare l'attività di DPP4;

Studiare i meccanismi, se esistenti, che correlano IP-10 con la SVR in pazienti co-infetti HIV/HCV.

**Studio del tratto genitale maschile e dei centri follicolari delle cellule B come santuari virali ed identificazione di biomarcatori predittivi della progressione dell'infezione da SHIV.**

*Progetto finanziato nell'ambito del "Fellowship Program" - Gilead Sciences Srl – Italia*

Il tratto genitale maschile è considerato un santuario farmacologico e riserva di virus e ancora oggi, l'esposizione genitale al seme di individui infetti rimane il maggiore rischio di acquisizione dell'infezione. La mancanza di accesso ai tessuti provenienti dagli organi genitali maschili di individui infetti così come la difficoltà nel rilevare l'infezione degli organi genitali maschili in vivo dovuto al basso livello d'infezione e alla natura localizzata dell'infezione hanno impedito la sperimentazione in questo sito. Obiettivo del progetto è stato quello di stabilire quali organi genitali maschili costituiscono una riserva di virus e se essi possano essere responsabili del persistente rilascio di virus nel seme. A tale scopo abbiamo analizzato tessuti del tratto genito-urinario (retto, prostata, epididimo, testicoli) ma anche milza, digiuno, PBMC, linfonodi ascellari ed inguinali di macachi infetti, macachi non infetti e macachi di controllo inclusi in protocolli vaccinali durante le fasi precoci e tardive dell'infezione da SHIV.

I nostri dati indicano che le principali riserve di virus sono rappresentate dalla milza e dal digiuno (20%), a seguire dalla prostata (18%), dai PBMC (16%), dai linfonodi ascellari ed inguinali (11%), del retto (9%), dell'epididimo (8%), e dei testicoli (1%). Inoltre i risultati confermano che i linfonodi ed il tratto genitale maschile sono compartimenti fisiologicamente diversi.

Scopo della nostra ricerca era quello di determinare se il virus presente nel tessuto genitale, a causa della compartimentalizzazione, fosse geneticamente distinto da quello presente nel sangue. Nel tessuto genitale abbiamo evidenziato tre clusters di cloni tra loro correlati ma numericamente differenti e distanti dai quelli presenti nel sangue. In particolare in una scimmia l'analisi filogenetica neighbour-joined tree ha mostrato una popolazione virale eterogenea nel sangue rispetto a quella presente nei tessuti genitali separabili in quattro cluster correlati. Le varianti riscontrate nelle fasi precoci d'infezione sono distribuite tra i tessuti genitali mentre quelle insorte tardivamente si localizzano principalmente nei tessuti linfoidi.

L'analisi del tropismo di alcune varianti virali ha rilevato una diversa efficienza d'infezione sia rispetto al virus d'inoculo che tra varianti virali, a causa di una diversa dipendenza recettoriale da parte dei virus testati, e che merita un ulteriore approfondimento. L'analisi dell'immuno-architettura tissutale effettuata su digiuno, milza e prostata non evidenzia significative variazioni della struttura. In considerazione dei dati virologici che hanno evidenziato una bassa carica virale, abbiamo utilizzato marcatori che ci hanno fornito informazioni sullo stato generale del tessuto quali CD20, CD8, CD4, CD68, Fascina, S-100, KI67. In particolare abbiamo osservato che il tessuto prostatico presenta una struttura ancora ben organizzata (tessuto ghiandolare, stroma connettivale). Le cellule epiteliali fascina positivi mostrano una reattività costante e ben definita all'interno della ghiandola. Questa reattività sembra essere diversa da quella osservata in linfonodi prelevati a quattro settimane dall'infezione. In questo caso infatti le cellule dendritiche interstiziali Fascina+ sono in numero inferiore e disperse nel tessuto indicando una disorganizzazione probabilmente indotta dalla elevata replicazione di virus nei tessuti linfoidi.

**Fattori virali e marcatori di infiammazione identificati in pazienti sottoposti a ART e correlati ad una prognosi favorevole della malattia: la popolazione sensibile dei migranti.**

*Progetto finanziato nell'ambito del "Fellowship Program" - Gilead Sciences Srl – Italia*

Dati recenti mostrano che la proporzione di stranieri tra le nuove diagnosi di infezione da HIV è aumentata dall'11% nel 1992 al 32% nel 2007 (Rapporto COA, 2008). Questo quadro ha un notevole impatto sullo stato della propagazione del virus, poiché favorisce sia la diffusione dell'infezione, sia la generazione di varianti virali finora sconosciute nel nostro Paese. L'ampia variabilità dei sottotipi di HIV può inoltre influenzare la risposta alle terapie antiretrovirali. La difficoltà di monitorare la persona migrante trattata con cART e la scarsa aderenza al trattamento determinano un potenziale pericolo per l'introduzione di varianti virali resistenti alla terapia. Numerosi marcatori di immunoattivazione sono stati associati alla morbosità e mortalità nelle persone infette. Le chemochine giocano un ruolo centrale nella risposta immune all'infezione da HIV. L'IP-10, ad esempio, è una chemochina indotta dall'interferone  $\gamma$  e la sua espressione, insieme a quella del ligando, è stimolata durante l'infezione da HIV. Alti livelli di IP-10 sono stati rilevati nel plasma di individui infetti durante l'infezione primaria, suggerendo che i livelli di IP-10 possano essere predittivi di rapida progressione della malattia. È stato recentemente riportato che durante l'infezione primaria essa costituisca un determinante predittivo di rapida progressione verso l'AIDS ancor più che l'RNA virale e la conta delle cellule CD4+.

L'obiettivo del progetto, iniziato alla fine del 2014, è quello di rilevare biomarcatori infiammatori e virali in grado di predire, monitorare e valutare l'efficacia della terapia antiretrovirale in soggetti migranti e autoctoni con un diverso background genetico, immunologico e virologico.

Lo studio è longitudinale e randomizzato su una coorte di migranti HIV-positivi ed una coorte di individui HIV-positivi autoctoni.

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

*Progetto finanziato dalla Ricerca finalizzata 2009*

Diverse tipologie di indagini epidemiologiche contribuiscono a delineare la dinamica dell'epidemia da HIV nel nostro Paese: la sorveglianza dei casi di AIDS, che fornisce informazioni sulle persone con la malattia conclamata e sui decessi ad essa correlati; la sorveglianza delle nuove diagnosi di infezione da HIV (1), che provvede a dare indicazioni sulle caratteristiche delle persone che contraggono attualmente l'infezione e, infine, studi di prevalenza su particolari gruppi di popolazione che forniscono una fotografia sulla diffusione dell'infezione da HIV in sottogruppi (donne in gravidanza, consumatori di sostanze per via iniettiva, donatori di sangue, maschi che fanno sesso con maschi, persone con una diagnosi di infezione sessualmente trasmessa, stranieri, carcerati) a diverso rischio di contagio.

Con l'introduzione, nel 1996, delle nuove terapie antiretrovirali (ART) è aumentata la sopravvivenza delle persone che vivono con l'HIV ed è diminuito il numero dei decessi correlati all'AIDS, trasformando così l'infezione da HIV in un'infezione cronica. Tuttavia, in Italia non sono disponibili informazioni in merito a quante sono le persone che vivono con l'infezione da HIV, quante di queste sono in trattamento antiretrovirale e quali sono le loro caratteristiche cliniche, immunologiche, virologiche e comportamentali.

Per questo motivo è stato progettato uno studio trasversale (*Characteristics of persons with HIV and AIDS in Italy: a cross-sectional study*) mirato a stimare il numero delle persone viventi infette con l'HIV (sia persone HIV positive che persone affette da AIDS) e a descrivere il loro profilo epidemiologico, socio-demografico, comportamentale, clinico, viro-immunologico e terapeutico.

Lo studio è gestito dal Centro Operativo AIDS del Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate. In una prima fase è stata condotta un'indagine a livello nazionale per conoscere il numero dei centri clinici di Malattie Infettive, presenti in Italia che hanno in cura le persone HIV positive o in AIDS e che prescrivono e somministrano terapia antiretrovirale. I risultati di questa prima fase sono stati pubblicati nel Notiziario dell'ISS n. 26 vol 7-8. 2013.



Nel 2014 si è conclusa la seconda fase dello studio. Attraverso un campionamento stratificato per aree geografiche, per Aree Funzionali Regionali (FUR) e per genere, età, nazionalità, modalità di trasmissione sono stati selezionati 12 Centri Clinici Italiani per un totale di circa 12.000 pazienti. Lo scopo di questa seconda fase è quello di ottenere un profilo epidemiologico, socio-demografico, comportamentale, clinico, viro-immunologico, terapeutico delle persone che vivono con l'infezione da HIV; di stimare il numero minimo e la prevalenza delle persone che vivono con l'HIV e di indirizzare i programmi di prevenzione verso popolazioni che risultano maggiormente colpite e ottimizzare così l'impiego delle risorse economiche per la prevenzione e per la cura. I dati provenienti da questi 12 centri clinici sono in corso di elaborazione.

#### **Diagnosi e prevenzione delle infezioni droga-correlate (DTPI).**

*Progetto finanziato dal Dipartimento per le Politiche Antidroga – Presidenza del Consiglio dei Ministri*

Il progetto, gestito dal Centro Operativo AIDS del Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate, è mirato a promuovere ed incentivare lo screening, la diagnosi precoce delle principali patologie infettive correlate all'uso di sostanze stupefacenti e l'accesso precoce alle terapie nei Dipartimenti delle Dipendenze.

Nel corso degli ultimi anni si è osservata una progressiva diminuzione del testing per le patologie correlate alla tossicodipendenza sui soggetti in trattamento presso i Ser.T. Nella Relazione annuale al Parlamento 2010 (su dati 2009) si è osservato che per il 37,3% dei soggetti è disponibile l'esito di test per HIV, il 40% per HBV e il 46% per HCV. Se si considerano i test eseguiti sui soggetti che avrebbero dovuto essere testati nel periodo di riferimento (anno 2009) tali percentuali si riducono ulteriormente; questo indica che l'esecuzione di test per patologie infettive correlate alla tossicodipendenza è di gran lunga basso rispetto al numero di soggetti testabili che risultano essere noti come negativi (da ritestare) e di cui non si è a conoscenza del dato sierologico (soggetti con test mai eseguito).

Questo ha comportato un ragguardevole ritardo nella diagnosi precoce relativamente a tali infezioni, con una riduzione dell'accesso anche alle terapie antiretrovirali e una maggior probabilità di trasmissione inconsapevole.

Generalmente i soggetti da sottoporre a test sono proprio quelli che, in relazione allo stato della loro negatività nota e pregressa, hanno necessità di essere monitorati sia per confermare lo stato di sieronegatività, che per identificare in fase precoce una eventuale e possibile siero conversione.

A supporto del miglioramento del tasso di testing, il Dipartimento Politiche Antidroga ha definito delle specifiche linee di indirizzo orientate all'applicazione di modalità proattive per incentivare l'offerta del testing per HIV, HBV e HCV e l'adesione volontaria a tali accertamenti.

L'obiettivo di questo studio, svolto dal Centro Operativo AIDS in collaborazione con il Dipartimento per le Politiche Antidroga, è la diffusione e promozione delle linee di indirizzo messe a punto dal DPA in collaborazione con il Ministero della Salute e il successivo monitoraggio dell'applicazione territoriale di dette linee di indirizzo e del numero delle persone tossicodipendenti testate, l'incremento della diagnosi precoce delle principali patologie infettive correlate all'uso di sostanze stupefacenti e l'accesso precoce alle terapie antivirali.

Nel 2012 si è proceduto alla definizione della scheda raccolta dati e al tracciato record per l'invio on-line dei dati, alla organizzazione del flusso per l'invio dei dati e alla definizione dei Sert che prendono parte allo studio.

Nel 2014 si è svolta la raccolta dei dati da parte di 11 Sert. I dati ottenuti sono in corso di elaborazione.

### **Studio prospettico tra i donatori di sangue in Italia: comportamenti a rischio di infezione da HIV e qualità delle informazioni fornite dal donatore durante la fase di selezione**

*Progetto finanziato dal Ministero della Salute - Progetto CCM 2012*

I dati annuali della sorveglianza epidemiologica dei donatori di sangue ed emocomponenti, raccolti ed aggregati a livello nazionale dal Centro Nazionale Sangue (CNS), mostrano l'esistenza di un numero di donatori confermati positivi all'infezione da HIV sia tra i donatori aspiranti o donatori alla prima donazione non differita, sia tra i donatori periodici o donatori alla prima donazione differita. In Italia, nel 2011, la prevalenza HIV tra i donatori nuovi è stata pari a 13,4 per 100.000 donatori, mentre l'incidenza HIV tra i donatori periodici è stata pari a 4,8 per 100.000 donatori. Dalla sorveglianza epidemiologica dei donatori di sangue ed emocomponenti è emerso che i rapporti sessuali occasionali rappresentano circa il 70% dei fattori di rischio dichiarati dai donatori HIV positivi. Pertanto, seppur in presenza di accurate procedure di selezione pre-donazione, appare evidente che una quota di donatori supera la selezione non fornendo informazioni veritiere sui comportamenti a rischio. Le motivazioni della mancata dichiarazione del comportamento a rischio

sono riconducibili a differenti ragioni: a) nessuna consapevolezza del rischio assunto; b) non corretta comprensione delle specifiche domande; c) timore di mancanza di riservatezza o di stigmatizzazione di un determinato comportamento. E' possibile, quindi, ipotizzare che l'elevata prevalenza e incidenza dell'infezione da HIV tra i donatori di sangue sia in gran parte da attribuire ad una mancata o insufficiente percezione del rischio da parte di alcuni donatori o ad una loro erronea o insufficiente comprensione del materiale informativo e/o del questionario di pre-selezione. Questo studio osservazionale, coordinato dal Centro Operativo AIDS (COA) del Dipartimento di Malattie Infettive dell'Istituto Superiore di Sanità, sui comportamenti a rischio di infezione dei donatori di sangue ha l'obiettivo di stimolare un miglioramento delle procedure di selezione del donatore di sangue, con particolare riferimento all'efficacia del materiale informativo e del questionario anamnestico come strumenti di intercettazione di donatori con comportamenti a rischio o ad alto rischio di contrarre l'infezione da HIV. In particolare gli obiettivi specifici dello studio sono quelli di migliorare la procedura di selezione dei donatori di sangue attraverso una più efficace identificazione dei comportamenti sessuali a rischio di infezione da HIV ed identificare i comportamenti sessuali a rischio di infezione da HIV assunti dai donatori nei 4 mesi precedenti la donazione e valutare la percezione del rischio da parte dei donatori stessi.

Nel 2014 sono iniziate le attività operative ed organizzative per l'inizio da parte di ogni unità operativa. A partire dal mese di giugno 2014 è iniziato l'arruolamento dei donatori da parte di ogni Unità Operativa e l'inserimento dei dati nel database on-line dedicato al progetto ([www.studiodonatori.it](http://www.studiodonatori.it)). Fino a dicembre 2014 sono stati raccolti i dati di circa 4500 donatori di sangue e circa l'80% è stato classificato come donatore periodico ( Il termine della raccolta dati è previsto per febbraio 2015). Il COA ed il CNS hanno provveduto al monitoraggio dell'avvenuto inizio dello studio e dell'arruolamento dei donatori di sangue, come previsto dal protocollo di studio, dell'accuratezza dell'arruolamento dei donatori, dell'inserimento dei dati raccolti sul database on-line (QAR, QAS, Modulo di Rifiuto, Modulo Test).

### **Studi clinici sull'immunità naturale anti-Tat e sul vaccino basato sulla proteina Tat in Italia**

*Progetto finanziato dal Ministero della Salute ed AIFA*

In studi preclinici nelle scimmie, condotti dal Centro Nazionale AIDS dell'ISS, si è dimostrato che la proteina Tat, nella sua forma biologicamente attiva, è innocua ed induce una risposta immune specifica ed efficace, in quanto in grado di controllare la replicazione del virus e di bloccare lo

sviluppo della malattia. Sulla base di questi risultati, l'ISS ha sponsorizzato una sperimentazione clinica multicentrica di Fase I del vaccino anti-HIV/AIDS basato sulla proteina Tat di HIV-1 in individui sieronegativi (approccio preventivo, *ISS P-001*) e sieropositivi (approccio terapeutico, *ISS T-001*), arruolati in 3 centri clinici in Italia. I risultati ottenuti hanno dimostrato sia la sicurezza del candidato vaccinale somministrato a differenti dosi, che la capacità di questo vaccino di indurre un'ampia risposta immunitaria (sia anticorpale che cellulo-mediata). Questo programma di sviluppo clinico del vaccino Tat, finanziato dal Ministero della Salute, è proseguito con una sperimentazione clinica terapeutica di fase II, randomizzata ed *open label*, (*ISS T-002*) condotta su 168 soggetti HIV-infetti in trattamento HAART, arruolati in 11 centri clinici in Italia. I risultati finali dello studio non solo hanno confermato l'immunogenicità e la sicurezza dell'immunizzazione terapeutica con la proteina Tat, ma hanno indicato anche che questa vaccinazione è in grado di ridurre significativamente la disregolazione immunologica e l'immunoattivazione che persistono nonostante il trattamento antiretrovirale, promuovendo il ritorno del sistema immunitario all'omeostasi. Inoltre, l'immunizzazione con Tat ha indotto nel sangue periferico una riduzione significativa dei livelli di DNA provirale di HIV. Tale riduzione è associata alla presenza di anticorpi anti-Tat capaci di neutralizzare l'entrata di Env mediata da Tat in cellule bersaglio. Questi risultati sembrerebbero confermare un ruolo della proteina Tat nella patogenesi dell'infezione, della riattivazione cellulare, della trasmissione da cellula-cellula e nella formazione dei reservoir virali, e la possibile utilizzabilità di questo candidato vaccinale nell'immunizzazione terapeutica. Al fine di valutare la persistenza nel tempo degli effetti immuno-virologici indotti dall'immunizzazione terapeutica con la proteina Tat, nel 2013 è stato attivato uno studio osservazionale (*ISS T-002 EF-UP*) in 8 centri clinici, con l'obiettivo di estendere il follow-up dei pazienti che hanno preso parte allo studio di fase II per ulteriori 2.5 anni. In particolare tale studio consentirà di acquisire informazioni sulla persistenza delle risposte anticorpali indotte dalla vaccinazione e sugli effetti nel tempo sul DNA provirale.

Sempre nell'ambito di questo programma, sono proseguite le valutazioni immuno-virologiche previste nell'ambito degli studi osservazionali condotti per valutare la frequenza intensità e persistenza delle risposte immuni naturali dirette contro la proteina Tat ed il loro impatto sulla malattia 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.

Nel 2014 infine è stata completata la sperimentazione clinica preventiva di fase I basata sul vaccino costituito dall'associazione della proteina Tat alla proteina Env deleta del dominio V2 in 11

volontari sani (studio ISS P-002, ClinicalTrials.gov NCT01441193) in tre centri clinici italiani (Azienda Universitaria Policlinico di Modena, Modena; Ospedale San Gerardo, Monza; IRCSS San Gallicano, Roma). Il report finale dello studio è stato trasmesso all'Autorità Competente, in accordo alla vigente normativa di riferimento.

**Program to support the Ministry of Health of South Africa in the implementation of a national program of global response to HIV & AIDS**

*Progetto finanziato dal Ministero degli Affari Esteri*

Il Programma prevede attività di supporto ai programmi del Ministero della Salute del Sudafrica (National Department of Health, NDOH) mirati a contenere la diffusione dell'infezione da HIV nel territorio nazionale. E' implementato dall'Istituto Superiore di Sanità, tramite il Centro Nazionale AIDS, in cooperazione con il Department of Health del Sudafrica, in associazione con il South African AIDS Vaccine Initiative (SAAVI) del Medical Research Council sudafricano.

Il Programma è organizzato in tre componenti: Componente 1. Rafforzamento del Servizio Sanitario del Sudafrica in siti sudafricani selezionati; Componente 2. Trasferimento tecnologico ad una azienda sudafricana a partecipazione pubblica per la creazione di una struttura per la produzione di vaccini in ottemperanza alla normativa GMP (Good Manufacturing Practice); Componente 3. Sperimentazione del vaccino contro l'HIV/AIDS basato sulla proteina Tat di HIV-1, sviluppato dal Centro Nazionale AIDS: conduzione del trial vaccinale di fase II denominato ISS T-003.

Componente 1: L' intervento, a supporto dei piani strategici nazionali e provinciali, prevede il coinvolgimento delle "Health Facilities" e delle Comunità locali nelle seguenti Province: i) Gauteng, Distretto Sanitario "Tswane 1"; ii) Eastern Cape, Distretto Sanitario "OR Thambo"; iii) Mpumalanga, Distretto Sanitario "Ehlanzeni", Distretto Sanitario "Gert Sibande", Distretto Sanitario "Nkangala"; iv) Kwazulu Natal (KZN), Distretto Sanitario "Umzinyathi".

L'intervento è stato attuato mediante l'implementazione di 3 direttrici:

A. Fornitura di equipaggiamento volto a:

- Rafforzare l'assistenza medica quotidiana attraverso fornitura di piccole attrezzature cliniche.
- Favorire il raggiungimento degli Standard Nazionali (National Core Standards)

- Potenziare l'archiviazione e la gestione delle cartelle cliniche e dei "registri ART".
- Potenziare l'informatizzazione dei dati, tramite la fornitura di computer, hard-driver e software.

B. Mobilitazione di risorse umane: personale medico e paramedico.

Il Programma ha provveduto al reclutamento e alla dislocazione presso le cliniche pubbliche di personale specializzato locale in supporto al Sistema Sanitario Distrettuale, ed in particolare:

- 4 medici e 2 assistenti sociali nei distretti sanitari delle Province di Mpumalanga e dell'Eastern Cape; il personale è stato organizzato in "team mobili" per il supporto alle Health Facility più disagiate.
- 10 "Data Capturers" nel distretto OR Thambo (Eastern Cape) con l'obiettivo di potenziare la raccolta dei dati nel quadro del Sistema Informativo Sanitario Distrettuale (DHIS).

C. Addestramento e Formazione Professionale mediante l'organizzazione di corsi volti a:

- Qualificare il personale infermieristico per la somministrazione della terapia anti-retrovirale (corsi NIMART – Nurse Initiated Management of ART).
- Aggiornare e formare personale medico ed infermieristico nei seguenti settori: management dell'infezione da HIV; management della terapia antiretrovirale e dell'aderenza alla terapia; controllo della Tubercolosi e delle malattie sessualmente trasmesse; qualificare e certificare il personale medico e infermieristico nella dispensazione dei farmaci.

La Componente 1 del Programma prevede inoltre la creazione di una piattaforma clinica e laboratoristica per la conduzione di ricerca clinica nel settore pubblico. In questo contesto, è stata potenziata una Unità di Ricerca Clinica (MeCRU, Università di Limpopo Medunsa Campus) nella provincia del Gauteng ed è stata sviluppata una nuova Unità di Ricerca Clinica (WSUHVRU; Università di Walter Sisulu) nella regione di Mthatha (Provincia dell'Eastern Cape). Le Unità di Ricerca Clinica sono state fornite di laboratori attrezzati e Farmacia ed il personale formato secondo Good Clinical Practice (GCP) e Good Clinical Laboratory Practice (GCLP). La piattaforma clinico-laboratoristica è stata realizzata mediante l'integrazione con le Cliniche pubbliche, i laboratori diagnostici pubblici, ed i laboratori centralizzati (ISS, IFO, S. Orsola) in Italia. La piattaforma è stata

validata con la conduzione di uno studio osservazionale (ISS OBS T-004) conclusosi con l'arrolamento di 534 volontari a MeCRU e WSUHVURU.

Le attività in questo settore hanno visto il coinvolgimento delle comunità locali, con la creazione di Community Advisory Boards presso le due Unità di Ricerca Clinica. Nel corso del 2014, l'intervento è in particolare proseguito nei Distretti e sub-distretti delle Province del Gauteng, Eastern Cape e Mpumalanga. L'intervento, implementato mediante la fornitura di equipaggiamento, era volto al raggiungimento degli standard di qualità nazionali per quanto concerne le sale di attesa e le farmacie delle cliniche pubbliche nelle aree di progetto, nonché al rafforzamento del sistema informativo sanitario distrettuale.

Componente 2. L'intervento, volto a generare e sedimentare nel paese capacità per la produzione di vaccini ricombinanti per uso umano, prevede la fornitura di risorse, formazione e trasferimento tecnologico in supporto allo sviluppo della struttura GMP presso "BIOVAC", a Città del Capo (Provincia del Western Cape). L'intervento si è concluso con la realizzazione della struttura GMP ed il completo trasferimento della tecnologia per la produzione della proteina Tat, il cui processo produttivo è stato riprodotto con successo presso BIOVAC. Nel 2014 sono proseguite le attività volte alla certificazione della struttura produttiva GMP di vaccini BIOVAC da parte del Medicines Control Council (MCC). In particolare, è stata eseguita una visita di valutazione presso BIOVAC da parte di un esperto WHO in preparazione alla ispezione MCC. La visita di valutazione MCC si è conclusa con la relazione valutativa inviata a BIOVAC per l'implementazione di alcune raccomandazioni. Si è ora in attesa della certificazione GMP da parte di MCC.

Componente 3. L'intervento prevede la conduzione del trial vaccinale terapeutico ISS T-003 presso l'Unità di Ricerca MeCRU, l'analisi dei dati e la diffusione dei risultati conseguiti. A questo scopo, sono state espletate tutte le attività preparatorie (formazione, attività regolatorie - ivi incluse la sottomissione dei protocolli ai comitati etici e ad MCC – potenziamento delle strutture, finalizzazione delle "standard operational procedures" (SOP), simulazione di tutte le attività, importazione, stoccaggio e distribuzione del vaccino a MeCRU, ottenimento dell'autorizzazione ad inviare campioni biologici per le analisi di seconda linea in Italia presso ISS. Il trial vaccinale ha avuto inizio nel Marzo 2013. La "Contract Research Organization" locale "Triclinium" è stata contrattata per il monitoraggio delle procedure di esecuzione, nonché per il supporto allo sponsor nella conduzione del trial. Nel 2014 è stato completato lo studio clinico di fase II randomizzato, in

doppio cieco, con placebo, del vaccino Tat in 200 pazienti HIV+ in HAART (ISS T-003). E' inoltre iniziata l'analisi dei dati per la valutazione degli obiettivi primari (sicurezza, immunogenicità) e secondari (valutazione del recupero immunologico).

### **Studi clinici di fase II per il trattamento dei tumori con gli inibitori della proteasi di HIV**

*Progetto finanziato dal Ministero della Salute e da AIFA*

Il Progetto è volto ad implementare una piattaforma preclinica e clinica per valutare la sicurezza e l'efficacia degli inibitori della proteasi di HIV (HIV-PI) nella terapia dei tumori. Dopo l'introduzione delle nuove terapie anti-retrovirali combinate (HAART) contenenti gli inibitori della proteasi di HIV (HIV-PI) è stata osservata una riduzione dell'incidenza dei tumori associati ad HIV, incluso il sarcoma di Kaposi (KS), i linfomi non-Hodgkin e le neoplasie intraepiteliali della cervice uterina (CIN) come anche una regressione dei tumori nei soggetti che ne erano già affetti. Con l'avvento dell'HAART è stata inoltre registrata una significativa riduzione di ricorrenza di CIN dopo asportazione chirurgica nelle donne sieropositive. Questi effetti della terapia HAART non sono interamente spiegabili con la ricostituzione immunologica promossa con il trattamento antiretrovirale, ed è oggi ampiamente documentato che la HAART esercita effetti anti-tumoriali indipendenti dalla soppressione della replicazione di HIV. Gli studi condotti dal Centro Nazionale AIDS hanno dimostrato che gli HIV-PI esercitano azioni anti-angiogeniche e anti-tumoriali mediate da un blocco della migrazione e dell'invasione cellulare, e dell'attività delle metalloproteasi della matrice (MMP)-2.

Sulla base di questi studi è stato avviato e concluso uno studio clinico di fase II per valutare l'attività dell'HIV-PI indinavir (IND) in pazienti con sarcoma di Kaposi classico (CKS) non infettati da HIV. I risultati della sperimentazione hanno indicato che il trattamento con IND è ben tollerato ed è associato ad una evoluzione clinica favorevole, particolarmente nei soggetti con tumore iniziale. Questi dati hanno suggerito che nei tumori avanzati potrebbe essere indicato associare una chemioterapia debulking al fine di ridurre la massa tumorale e l'edema e migliorare la perfusione tissutale. E' stato perciò avviato uno studio di fase II volto a valutare il trattamento del CKS avanzato con IND in associazione a chemioterapia convenzionale con vinblastina e bleomicina. Lo studio si propone di determinare il numero e la tipologia delle risposte ottenute al termine della terapia, la tossicità ed il profilo farmacocinetico dei farmaci in studio, la modulazione dei più importanti marcatori biologici di risposta alla terapia ed i marcatori biologici predittivi della risposta. Lo studio, tuttora in corso, ha ricevuto un finanziamento nell'ambito della ricerca