

Programma strategico nazionale “Ambiente e Salute” del Ministero del Lavoro, della Salute e delle Politiche Sociali. In particolare, è stato avviato l’arruolamento delle coorti di gemelli a Milano, Roma e Palermo.

— *Malattie rare*

In fase di completamento uno studio multicentrico per la stima della concordanza ed ereditabilità della SLA in coorti di gemelli identificate su base di popolazione e per la collezione di materiale biologico; hanno partecipato 23 centri clinici per la diagnosi e terapia della SLA con l’identificazione di 49 coppie di gemelli. È stato avviato lo studio su assunzione di acido folico e rischio di gravidanza gemellare: sono state arruolate circa 200 mamme di gemelli e 400 mamme di non gemelli e sono stati raccolti 173 campioni di saliva per l’estrazione del DNA.

— *Oncologia*

Nell’ambito del Progetto strategico sull’oncologia del Ministero del Lavoro, della Salute e delle Politiche Sociali, è stata individuata la popolazione gemellare su cui stimare la ereditabilità della sensibilità individuale a differenti agenti mutageni ambientali noti.

— *Neonatologia*

Sono state formulate le procedure operative relative all’arruolamento di una coorte di nuovi nati da gravidanze gemellari, e sono stati individuati i due centri pilota in cui verrà messo a punto lo studio.

— *Etica*

È stata svolta una indagine su: “comprensione degli obiettivi degli studi e sulla volontà di donare campioni (sangue e/o saliva) per la ricerca”, tra gli iscritti al Registro. L’obiettivo principale era quello di evidenziare i fattori che influenzano la volontà e l’attitudine dei soggetti nei confronti della partecipazione/donazione per la ricerca scientifica.

Attività programmata 2009

— *Salute mentale*

Nell’ambito del Progetto “Un approccio epidemiologico ai disturbi dello spettro autistico”, coordinato dal Reparto di Salute mentale del CNESPS e facente parte del Programma strategico per la Ricerca Sanitaria 2007, verrà avviato uno studio su popolazione gemellare con l’obiettivo di stimare la componente genetica e ambientale di endofenotipi dell’autismo e di identificare fattori ambientali in grado di modificare la suscettibilità genetica individuale. Si tratta di conoscenze che potrebbero contribuire a chiarire i meccanismi che regolano il processo patogenetico, ad aprire la strada a successive indagini di tipo genetico-molecolare, a delineare nuove strategie di screening e diagnosi precoce basate su precisi criteri per definire gruppi di popolazione a maggiore rischio di malattia, e a formulare strategie di prevenzione di esposizioni ambientali che risultino in grado di amplificare la suscettibilità genetica individuale.

Nel corso del 2009 si prevede di avviare nuovi studi su alessitimia e ipomania, e su tratti di tipo schizofrenico. Inoltre, si lavorerà ad un nuovo progetto riguardante i correlati biologici del benessere psicologico.

— *Malattie autoimmuni*

Verrà ultimato l’arruolamento e la raccolta dei campioni relativi allo studio sulla ereditabilità del diabete di tipo 1 e avviato uno studio, sempre in popolazione gemellare, sulla comorbidità tra diabete di tipo 1 e celiachia.

Continua l'arruolamento di gemelli con malattie infiammatorie croniche dell'intestino in collaborazione con l'IG-IBD col fine di stimare l'ereditabilità dei queste patologie e di loro sottofenotipi.

– *Disturbi respiratori e allergie*

Asma e rinite allergica verranno studiate in una indagine che coinvolge circa 1.500 coppie di gemelli MZ e DZ sugli effetti a lungo termine dell'inquinamento atmosferico, per la valutazione dell'impatto sanitario associato alla esposizione ad inquinamento atmosferico in aree urbane. Lo studio fa parte di un progetto strategico del Ministero del Lavoro, della Salute e delle Politiche Sociali sui temi ambientali.

– *Malattie rare*

Verranno ultimati gli studi sulla SLA e sull'assunzione di acido folico e rischio di gravidanza gemellare. Verrà avviata una collaborazione con il Registro olandese per studiare gemelli MZ discordanti per alcune malformazioni congenite cardiache, allo scopo di valutare la eventuale componente epigenetica di queste patologie rare.

– *Oncologia*

Verrà misurata la sensibilità individuale a differenti agenti mutageni ambientali utilizzando linfociti di sangue periferico di coppie di gemelli MZ e DZ in tre fasce di età (giovani adulti, adulti e anziani, circa 300 coppie dello stesso sesso). Su questi modelli sperimentali si procederà alla determinazione del profilo delle principali modificazioni epigenetiche del DNA (metilazione, acetilazione, rimodellamento e riparazione del DNA), nonché del *pattern* di espressione genica.

– *Neonatologia*

Dal primo febbraio 2009 inizia l'arruolamento di neonati da parti gemellari nei due centri pilota di Roma (Policlinico Umberto I) e Pisa (Azienda Ospedaliera Universitaria Pisana). Il 2009 vedrà inoltre la stesura dei questionari di follow-up e alcune analisi di dati preliminari.

– *Etica*

Continuerà il filone di attività che intende valutare la comprensione delle finalità e degli obiettivi degli studi genetici, al fine di migliorare le capacità esplicative del nostro stesso gruppo di ricerca e la sensibilità nei confronti delle esigenze dei partecipanti/donatori.

Registro nazionale malattie rare

Il Registro Nazionale Malattie Rare (RNMR) è stato istituito presso l'ISS nel 2001 (in attuazione dell'articolo 3 del DM 279/2001 "Regolamento di istituzione della rete nazionale delle malattie rare e di esenzione dalla partecipazione al costo delle relative prestazioni sanitarie, ai sensi dell'articolo 5, comma 1, lettera b), del DL.vo 29 aprile 1998, n. 124").

Il Registro ha come obiettivo generale di effettuare la sorveglianza delle malattie rare e di supportare la programmazione nazionale e regionale degli interventi per i soggetti affetti da malattie rare (art. 3). Il Registro mira infatti a ottenere informazioni epidemiologiche (in primo luogo il numero di casi di una determinata malattia rara e la relativa distribuzione sul territorio nazionale), utili a definire le dimensioni del problema; si tratta, inoltre, di uno strumento utile per stimare il ritardo diagnostico e la migrazione sanitaria dei pazienti, per supportare la ricerca clinica e promuovere il confronto tra operatori sanitari per la definizione di criteri diagnostici.

L'attività dell'RNMR è iniziata nel 2001 e, per aumentare la copertura e l'efficienza della raccolta dei dati epidemiologici, il Centro Nazionale Malattie Rare (CNMR), a partire dall'inizio del 2006, ha messo in atto una nuova modalità di raccolta dati che include un nuovo software; uno strumento che può essere utilizzato sia dai singoli presidi/centri abilitati alla diagnosi e al trattamento dei pazienti affetti da malattie rare, sia dai Responsabili dei Centri di Coordinamento Regionale che si occupano del monitoraggio e del coordinamento delle attività relative al Registro e fanno da tramite tra il CNMR e i singoli presidi/centri.

Il software è sviluppato su piattaforma web, di semplice utilizzo, realizzato rispettando gli standard di sicurezza e di riservatezza per il trattamento dei dati sensibili.

Il CNMR mette a disposizione il software gratuitamente sia alle Regioni che non hanno ancora attivato un proprio Registro regionale, sia a quelle che ne sono già in possesso.

Il software permette all'RNMR di ricevere i dati da ciascun Responsabile del Centro di Coordinamento per la raccolta dei dati epidemiologici.

Con tutte le Regioni è stato condiviso e concordato, all'interno dell'Accordo Stato-Regioni del 10 maggio 2007, un elenco di variabili obbligatorie (data set minimo) da inviare all'RNMR. Il data set minimo prevede campi obbligatori sia per la parte anagrafica di arruolamento del paziente, sia per la parte relativa alla patologia.

L'Accordo Stato-Regioni del 10 maggio 2007 ha stabilito anche che le Regioni avevano l'impegno di attivare Registri regionali o interregionali sulle malattie rare entro il 31 marzo 2008 e di garantire il collegamento con l'RNMR.

Infine, il Registro ha permesso la realizzazione e lo sviluppo di una rete di collaborazione per iniziative multidisciplinari che vede coinvolte le differenti realtà che operano nel campo delle malattie rare e che comprendono oltre alla comunità scientifica, gli operatori socio-sanitari, le associazioni dei pazienti e dei familiari. In particolare sono state sviluppate collaborazioni con i Registri dei difetti congeniti regionali e con le Associazioni di Pazienti e loro familiari.

Resoconto attività 2008

Il CNMR è impegnato in un'intensa attività di contatto con i referenti regionali e con il Tavolo Tecnico Interregionale, al fine di migliorare la copertura spazio-temporale della raccolta dati.

Il 9 ottobre 2008 è stato organizzato un incontro "tecnico" per la condivisione delle modalità per l'invio dei dati all'RNMR da parte delle Regioni in possesso di un proprio Registro regionale per le Malattie Rare (Lombardia, Piemonte, Toscana, Veneto).

A oggi i Responsabili dei Centri di Coordinamento per la raccolta dei dati epidemiologici che hanno inviato i moduli di adesione all'RNMR sono relativi alle seguenti Regioni: Abruzzo, Basilicata, Calabria, Lazio, Marche, Molise, Puglia, Sardegna, Valle d'Aosta, Provincia autonoma di Trento.

Tutte le Regioni sopra citate hanno inviato la mappatura completa dei Presidi accreditati per l'inserimento dei dati all'RNMR.

La Lombardia, il Piemonte, la Valle d'Aosta e la Toscana hanno inviato all'RNMR i dati presenti nel loro Registro regionale.

Al 15 febbraio 2009 risultano presenti nell'RNMR 26.592 schede suddivise per Regione come segue: : Abruzzo (64), Basilicata (37), Calabria (1.007), Lazio (5.896), Lombardia (2.016), Marche (517), Molise (97), Piemonte-Valle d'Aosta (5.240), Puglia (2.229), Toscana (9.331), Sardegna (7), Provincia autonoma di Trento (151).

In seguito alle richieste ricevute durante i corsi di formazione per l'utilizzo dell'RNMR sono state realizzate alcune funzionalità aggiuntive al software (possibilità di ricercare il paziente anche tramite nome e cognome; ricezione dell'informazione della presa visione da parte del Referente Regionale delle schede convalidate da ogni singolo medico; possibilità di segnalare la

data di diagnosi precedente alla data di nascita; possibilità di eliminare pazienti erroneamente arruolati e/o patologie non convalidate).

Sono state inoltre recepite le richieste del Tavolo Tecnico Interregionale per le Malattie Rare. La popolazione di riferimento per l'RNMR è la popolazione in cura presso i Presidi della Rete nazionale per le malattie rare; pertanto, devono essere registrate e inviate le schede relative a tutti i pazienti seguiti dai Presidi della Rete, indipendentemente dalla loro residenza.

Gli invii dei dati avranno cadenza semestrale.

Pur riconoscendo l'indiscutibile valore di un Registro dinamico che periodicamente aggiorni lo stato in vita del paziente, è stato deciso di attivare nell'immediato un Registro statico. A oggi è possibile segnalare il decesso del paziente, e di conseguenza indicare la data del decesso, ma non è una variabile obbligatoria.

Fino a tutto il 2009 si è deciso di accettare il valore "Non conosciuto" per la data di esordio clinico (primi sintomi e/o segni della malattia).

Il CNMR ha riservato un numero telefonico dedicato (06/49904368) attivo tutti i giorni dalle 9 alle 12 per rispondere alle richieste o a eventuali problemi nella compilazione dell'RNMR.

Il CNMR realizza, inoltre, nelle Regioni che ne fanno richiesta, corsi di formazione gratuiti finalizzati alla raccolta dei dati e all'utilizzo specifico dell'RNMR.

Attività programmata 2009

L'attività programmata nel 2009 prevede l'ampliamento del monitoraggio della Rete nazionale malattie rare anche attraverso il Registro nazionale Malattie Rare.

Queste attività si articolano come segue:

- implementazione della collaborazione con i Registri regionali delle malattie rare esistenti al fine di continuare a migliorare la copertura nella raccolta dei dati epidemiologici;
- supporto alla realizzazione di Registri regionali anche attraverso la condivisione di strumenti informatici laddove questi non sono stati ancora realizzati;
- realizzazione di statistiche online accessibili ai referenti regionali dei diversi Registri per effettuare il monitoraggio delle malattie rare e per programmare l'attività regionale attraverso l'analisi della migrazione sanitaria e il ritardo diagnostico specifici di ogni realtà;
- proseguimento dell'attività formativa nelle singole Regioni;
- realizzazione di seminari, congressi, workshop per migliorare la quantità e la qualità dei flussi epidemiologici e valutare i dati raccolti. Attraverso questi incontri potranno essere identificate le criticità nella raccolta dei dati con la proposta di possibili soluzioni;
- partecipazione ai gruppi di studio a livello nazionale e internazionale per la nomenclatura e la codifica delle malattie rare che rappresentano una criticità anche in relazione alla raccolta epidemiologica di questi dati;
- confronto con esperti su singole malattie rare o su gruppi di esse al fine di contribuire alla definizione di percorsi diagnostico-terapeutici condivisi nell'ambito della Rete nazionale malattie rare. Questa attività avrà come ricaduta l'elaborazione e diffusione di protocolli diagnostico-terapeutici e/o di linee guida per malattie rare.

Progetto SARS

Il progetto di ricerca "Lotta alla SARS" (Sindrome Acuta Respiratoria Severa, *Severe Acute Respiratory Syndrome*), finanziato dal Ministero della Salute attraverso fondi assegnati dalla Commissione per la Ricerca Sanitaria per l'anno 2003-2004, è stato proposto dall'ISS in riconoscimento non solo della necessità di prepararsi ad un eventuale riemergenza di questa

grave sindrome ma anche e soprattutto per la consapevolezza dell'importanza di studiare in maniera approfondita un gruppo di virus, i Coronavirus, francamente trascurato nel nostro Paese (e anche altrove) nonché per avviare studi più generali sulle infezioni virali respiratorie, in particolare per una loro rapida ed efficiente diagnosi, premessa quanto mai fondamentale per contrastare dette malattie. Sulla base di questi ragionamenti, sono state scelte ricerche proposte da Unità Operative che collettivamente e in maniera il più possibile integrata potessero affrontare la tematica in oggetto. Le proposte di ricerca includevano sia aspetti prettamente virologici e di patogenesi virale che finalità epidemiologiche, diagnostiche e terapeutiche, con condivisione di obiettivi di ricerca nei settori umani e veterinari, cosa di ovvia importanza per una malattia come la SARS, e più in generale per molte virosi respiratorie.

Resoconto attività 2008

Il Progetto è stato sospeso per mancanza di finanziamenti fino all'estate del 2008. Sulla base di un accordo con la Novartis il Progetto è stato rifinanziato a fine 2008.

Attività programmata 2009

Il progetto rifinanziato si focalizzerà soprattutto sullo studio di antigeni vaccinali del coronavirus della SARS.

Sistema Epidemiologico Integrato dell'Epatite Virale Acuta (SEIEVA)

Lo scopo principale del SEIEVA è di promuovere a livello locale e nazionale l'indagine e il controllo sull'Epatite Virale Acuta (EVA). Attraverso l'integrazione di questionari epidemiologici con i risultati di laboratorio, i dati provenienti dalla sorveglianza possono essere utilizzati per la stima del contributo relativo dei diversi fattori di rischio. Ciò permette anche la definizione di misure preventive alle quali dare priorità e il monitoraggio degli effetti dei diversi programmi di prevenzione. Attraverso l'aggregazione dei dati è possibile una migliore conoscenza dell'epidemiologia dell'epatite a livello nazionale.

— Obiettivi specifici

- Notifica dei casi differenziata per tipo specifico di epatite virale acuta.
- Epidemiologia descrittiva dell'epatite virale acuta tipo specifico, con particolare riferimento all'incidenza per data di insorgenza, luogo, età e sesso.
- Precoce individuazione di focolai epidemici.
- Valutare la proporzione dei casi di ciascun tipo di epatite acuta esposti a fattori di rischio noti.
- Per ciascun tipo di epatite virale, studiare nel tempo le variazioni dei rischi relativo e attribuibile associati a particolari esposizioni.
- Definire appropriate strategie di controllo basate sull'importanza relativa, a livello locale, dei diversi fattori di rischio.

— Metodo generale

- Intervista dei casi usando un questionario standardizzato di raccolta dei dati (Scheda SEIEVA) contenente informazioni demografiche e sui fattori di rischio; l'intervista ha luogo prima che sia noto il tipo di epatite.

- Registrazione dei *marker* sierologici disponibili.
 - Invio al centro trasfusionale della Scheda Trasfusioni quando il caso riferisce di essere stato trasfuso nei sei mesi precedenti la malattia.
 - Ove necessario, soprattutto in caso di epidemie, verranno condotti studi analitici per valutare il ruolo dei diversi fattori di rischio, utilizzando l'approccio caso-controllo e, quando possibile, l'approccio di coorte.
- *Metodo dettagliato*
- Tutto il sistema di sorveglianza si basa sulla collaborazione tra l'Istituto e le ASL che decidono volontariamente di aderire al SEIEVA. Attualmente, le ASL che partecipano coprono approssimativamente il 57% della popolazione italiana. Quando un caso di EVA viene notificato, il responsabile della sorveglianza della ASL contatta l'ospedale o il medico curante (nel caso di pazienti non ospedalizzati) per ottenere informazioni circa la conferma diagnostica e gli esiti della ricerca dell'antigene di superficie del virus B (*Hepatitis B surface antigen*, HBsAg), delle immunoglobuline M (IgM) anti-HBc (emoglobina C), delle IgM anti-HAV (Virus dell'Epatite A), dell'anti-HCV e dell'anti-Delta. Successivamente alla notifica di una epatite virale, ciascun caso è intervistato da un assistente sanitario o da un medico. Per raccogliere i risultati dell'intervista viene usato un questionario standardizzato oltre alle informazioni demografiche, il questionario comprende domande sui fattori di rischio parenterali, nei sei mesi precedenti l'insorgenza della malattia, e sui fattori di rischio oro-fecali nelle sei settimane precedenti. Una volta completata l'intervista, vengono registrati sul questionario i risultati dei test di laboratorio. Se l'intervistato riferisce di essere stato trasfuso, verranno richieste informazioni al Centro Trasfusionale mediante una apposita scheda. Tutti i questionari compilati sono alla fine inviati al Centro di coordinamento per essere immessi nell'apposito database per l'elaborazione. Quando si verificano focolai epidemici viene intrapresa un'indagine *ad hoc* per identificare le possibili fonti di rischio e, usando uno studio appositamente disegnato, per testare le ipotesi sul modo di trasmissione dell'infezione. Per la distribuzione dei fattori di rischio si è utilizzata una definizione di caso che tiene conto delle IgM anti-HBc e della positività per anti-HCV. Per il calcolo dei tassi di incidenza, il denominatore utilizzato è costituito dalla somma delle popolazioni delle singole ASL che aderiscono al SEIEVA; la popolazione divisa per fasce di età viene segnalata da ogni ASL al CNESPS presso il Reparto di Epidemiologia clinica e linee guida al momento dell'adesione.

Resoconto attività 2008

Nel corso del 2008 è proseguita l'attività di routine della SEIEVA. Alla fine del 2008 il numero delle ASL che inviano dati al SEIEVA è di 154, ASL che coprono più del 60% della popolazione italiana.

Nel corso del 2008 è entrato a regime il Sistema Informativo SEIEVA che consente alle ASL che hanno richiesto l'accesso di notificare i casi di epatite virale acuta direttamente attraverso web. Questo sistema ha permesso di velocizzare il processo di notifica e di migliorare la qualità dei dati raccolti, grazie ai sistemi di controllo introdotti nella pagina web di inserimento dati. Attualmente 106 delle 152 ASL partecipanti alla sorveglianza SEIEVA hanno anche aderito al Sistema Informativo SEIEVA, hanno ricevuto dall'ISS una "Username" e una "Password" per accedere al Sistema e, attualmente, immettono regolarmente dati attraverso il sito web.

Nel corso dello stesso 2008 sono state apportate, alla scheda epidemiologica di raccolta dati, le modifiche previste e approvate durante l'VIII workshop SEIEVA, che si è svolto a Bagno Vignoni (SI) nel dicembre 2007. Le modifiche apportate sono nell'ottica di avere un numero

maggiore di informazioni cliniche sui casi di epatite notificati: sono stati quindi introdotti parametri quali le transaminasi (ALT e AST), la bilirubina (totale e diretta) e l'INR (*International Normalised Ratio*, indicatore del Tempo di protrombina). Nello stesso frangente è stato aggiunto un nuovo marcatore di epatite virale, l'IgM anti-Epatite E. La segnalazione, nel corso del 2007, di alcuni casi di epatite E ha portato alla scelta di introdurre questo ulteriore *marker*, con lo scopo di ridurre la quota di casi di epatite, notificati al SEIEVA, che risultano di eziologia non nota.

Qui di seguito sono elencati i principali studi epidemiologici che sono stati iniziati nel corso del 2008:

- *Epatite A*
Aggiornamento sull'epidemiologia dell'epatite A.
- *Epatite B*
A settembre 2008 è iniziato uno studio sulla prevalenza di HBsAg nelle gestanti. Grazie alla collaborazione di 43 ospedali collocati in 29 ASL diverse, si stanno raccogliendo schede epidemiologiche su tutte le gestanti che si recano a partorire negli ospedali aderenti allo studio. Alla fine di gennaio 2009 erano state raccolte 7.471 schede epidemiologiche derivanti da gestanti sia italiane sia straniere.
Sono stati, inoltre, analizzati i dati sui portatori cronici di epatite B in Italia.
- *Immunogenicità vaccino Epatite B*
Nel corso del 2008 ha avuto inizio un nuovo studio che permetterà di valutare la persistenza degli anticorpi anti-epatite B, a 16 anni dalla somministrazione del vaccino, in una coorte di bambini nati nel 1992 e vaccinati alla nascita. Questo lavoro ha preso spunto da uno studio analogo condotto nel 2003 sulla stessa coorte di ragazzi che sono stati o verranno richiamati per lo studio attuale.
- *Epatite acuta B (Studio GISEBA)*
Sono stati raccolti sieri sequenziali di 111 pazienti con epatite acuta B per la caratterizzazione molecolare del virus. Sono state condotte analisi preliminari sui 99 soggetti dei quali eravamo già in possesso dei sieri relativi al follow-up.

Attività programmata 2009

Nel corso del 2009 proseguirà la raccolta di casi di epatite virale acuta.

A partire dal mese di maggio verranno sistemati e assemblati i dati relativi al 2008 che sono ancora stati inviati attraverso scheda cartacea; questi dati verranno poi riversati sul Sistema informativo SEIEVA ed elaborati. Subito dopo verranno pubblicati sul sito dell'ISS i dati aggiornati di incidenza e frequenza dei fattori di rischio per i diversi tipi di epatite.

- *Epatite parenterale a seguito di procedure diagnostico-terapeutiche invasive*
Utilizzando l'archivio SEIEVA, verrà fatto un aggiornamento sul rischio di epatite B e C a seguito di interventi chirurgici o altre procedure diagnostiche.
- *Vaccino anti-epatite B*
Un altro argomento che verrà affrontato nel corso del 2009 riguarda tutte le problematiche inerenti il vaccino anti-epatite B: dall'archivio SEIEVA verranno studiati tutti i casi che si sono verificati in soggetti vaccinati e in quei soggetti che non sono stati vaccinati nonostante lo avrebbero dovuto essere o per età (in base alla Legge n. 165/1991) o perché appartenenti a gruppi a rischio per i quali la vaccinazione è fortemente raccomandata.

– *Epatite B*

Nel corso del 2009 proseguirà la raccolta dati relativa allo studio sulla prevalenza di HBsAg nelle gestanti. Il termine della rilevazione è previsto alla fine di febbraio. Partirà, a quel punto, una fase durante la quale verranno controllate e informatizzate le informazioni raccolte attraverso la scheda epidemiologica; si potrà quindi procedere all'analisi dei dati e alla stesura del corrispondente lavoro scientifico.

– *Epatite B acuta*

Nel corso del 2009 terminerà lo studio GISEBA con le elaborazioni finali e la stesura di comunicazioni per l'esterno.

– *Immunogenicità vaccino Epatite B*

Proseguirà lo studio sull'immunogenicità, a lungo termine, del vaccino per l'epatite B. La rilevazione dati, che nel corso del 2008 era già partita in tre dei dieci centri partecipanti allo studio, inizierà anche nei restanti sette centri. Per la fine del 2009 si prevede di avere raccolte tutte le informazioni previste, compreso il completamento del follow-up e dell'eventuale vaccinazione aggiuntiva per quei soggetti che dovessero risultare non protetti.

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 che la legge 219 del 21/10/2005 si prefigge: autosufficienza in sangue e derivati, sicurezza trasfusionale, livelli essenziali di assistenza (LEA) uniformi e sviluppo della Medicina trasfusionale. Il progetto si articola su tre macroaree: i) attività e programmazione, ii) compensazione emocomponenti e plasmaderivati, iii) emovigilanza.

La prima macroarea include la realizzazione di una anagrafica delle strutture trasfusionali (comprendenti i centri regionali sangue, i servizi trasfusionali e le unità di raccolta), una sezione relativa alla raccolta e all'utilizzo del sangue e dei suoi componenti, (comprendente la raccolta dei dati relativi alle modalità di raccolta, di produzione, di lavorazione, trattamento, assegnazione, distribuzione e utilizzo degli emocomponenti sia omologhi che autologhi), i dati gestionali comprensivi delle informazioni concernenti la qualità dei processi, dei prodotti e dei servizi, e infine la programmazione del fabbisogno di sangue e dei suoi componenti.

La seconda macroarea comprende il censimento e la gestione delle convenzioni tra Regioni, la costituzione di una bacheca nazionale per le situazioni di emergenza e per i gruppi rari e la gestione e il monitoraggio degli scambi.

La macroarea relativa all'emovigilanza si articola nella sorveglianza epidemiologica e nelle reazioni indesiderate gravi nei donatori, nella notifica degli effetti indesiderati sui riceventi ed errori trasfusionali e infine, nelle notifiche relative agli incidenti gravi.

Il progetto è stato affidato al CNS che provvede al coordinamento dei flussi informativi dei servizi trasfusionali (art. 12, comma 4, lettera i) legge 219 del 21/10/2005) e che si è avvalso per la sua realizzazione della collaborazione del gruppo di lavoro per lo sviluppo del SISTRA definito dalla consulta tecnica permanente per il sistema trasfusionale (CTPPST).

Il SISTRA viene 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 XML (*eXtensible Markup Language*) 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, che permette l'identificazione univoca e la tracciabilità delle unità. Il sistema consente due impianti di accoglienza per la trasmissione delle informazioni: i) attraverso il sistema informativo regionale dei servizi trasfusionali della Regione nel cui ambito l'utente svolge l'attività, ii) direttamente attraverso il sistema SISTRA qualora la Regione non disponga ancora di un proprio sistema di accoglienza.

La realizzazione del progetto è stata affidata dal Ministero del Lavoro, della Salute e delle Politiche Sociali alla ditta Al maviva aggiudicatrice dell'appalto.

Il SISTRA è uno strumento fondamentale per la *governance* del complesso sistema trasfusionale italiano che offre al cittadino sia prestazioni di diagnosi e cura di medicina trasfusionale sia attività di produzione volte a garantire la costante disponibilità del sangue e dei suoi prodotti. L'analisi e la gestione dei flussi informativi sull'attività trasfusionale costituiscono i requisiti essenziali per un sistema di pianificazione della raccolta e della compensazione che sia flessibile, dinamico e in grado di consentire l'erogazione di LEA uniformi e il conseguimento dell'autosufficienza di sangue ed emoderivati, quale obiettivo sovra aziendale sovra regionale e sovra nazionale.

Resoconto attività 2008

Il gruppo tecnico per lo sviluppo del progetto SISTRA, coordinato dal CNS, si è riunito tre volte in sessione plenaria e ha discusso, condiviso e sviluppato le sezioni relative alla prima macroarea dedicata alle attività trasfusionali e alla programmazione del fabbisogno di emocomponenti. Le sezioni del SISTRA relative alle anagrafiche e ai dati di attività sono state approvate nella seduta della CTPPST del 2 luglio 2008. Il sistema è stato sviluppato e sottoposto ad una fase di beta-test che ha coinvolto cinque Regioni con caratteristiche organizzative e informatiche diverse. La fase di beta-test, è iniziata il 15 ottobre 2008 e ha evidenziato la necessità di apportare alcune modifiche sia sulla struttura applicativa che su alcune funzioni.

Le modalità di condivisione delle informazioni, relativamente alle macroaree sviluppate (anagrafiche delle strutture, donatori, dati di attività), sono state rese disponibili a tutti gli utenti abilitati. Sono stati preparati i documenti per l'utilizzo di questa parte del sistema comprendenti: un manuale per l'utente, un glossario per i termini tecnici, i tracciati per la produzione dei file XML con i relativi file XSD. Tutta la documentazione è stata resa disponibile online agli utenti abilitati.

L'avvio del sistema ha incontrato il favore delle strutture regionali di coordinamento partecipanti al beta-test che hanno iniziato l'attività di completamento delle anagrafiche e in alcuni casi hanno provveduto a caricare elettronicamente i dati relativi ai donatori per l'anno 2008.

Attività programmata 2009

L'attività programmata per il 2009 prevede lo sviluppo e la conclusione della fase di beta-test per le sezioni relative alle anagrafiche e ai dati di attività. Questo permetterà il rilascio delle utenze e delle password a tutti i responsabili del coordinamento trasfusionale delle Regioni, Province autonome e strutture militari trasfusionali affinché possano utilizzare SISTRA. Il numero e la tipologia delle utenze all'interno dei vari coordinamenti saranno decisi dai singoli responsabili.

Sarà completata la macroarea emovigilanza che comprende le sezioni relative alla sorveglianza epidemiologica dei donatori, alle reazioni indesiderate gravi nei donatori e nei riceventi, agli errori trasfusionali e alle notifiche degli incidenti gravi. Il gruppo di esperti presenterà il documento tecnico sull'emovigilanza, sviluppato secondo le direttive nazionali ed

europee e gli standard internazionali, per essere approvato dal gruppo di lavoro SISTRA nella sessione plenaria del 14 gennaio 2009. La parte relativa alla sorveglianza epidemiologica dei donatori sarà realizzata e resa disponibile online agli utenti abilitati nel mese di marzo 2009.

Sarà realizzata la parte relativa alla macroarea dedicata alla compensazione di emocomponenti e plasmaderivati che comprende il censimento e la gestione delle convenzioni tra Regioni, la costituzione di una bacheca nazionale per le situazioni di emergenza e per i gruppi rari e la gestione e il monitoraggio degli scambi. Entro il 2009 verrà realizzata anche la sezione relativa alla programmazione utilizzando modelli matematici studiati *ad hoc*.

Solidarietà contro l'AIDS nei Paesi in via di sviluppo

Il programma denominato ESTHER (*Ensemble pour una Solidarité Therapeutique Hospitalière En Reseau contre le SIDA*), attraverso programmi di *partnership* tra strutture italiane impegnate nella lotta all'AIDS e ospedali africani, vuole favorire il trasferimento di conoscenze, professionalità, *know how* specifici nel campo dell'AIDS.

Resoconto attività 2008

Nel 2008 sono state finanziate, grazie ad una convenzione con il Ministero del Lavoro, della Salute e delle Politiche Sociali, otto unità operative per la realizzazione degli obiettivi suddetti mediante acquisizione di beni e servizi relativi alla cura dell'AIDS, corsi di formazione per personale sanitario, interventi per migliorare l'accesso alla terapia, del *Voluntary Counselling and Testing for HIV* (VCT), e della diagnostica.

Il compito svolto finora dall'ISS, in qualità di coordinatore del programma, è stato quello di reperire informazioni necessarie ai fini della selezione dei centri, soprattutto attraverso missioni nei Paesi oggetto di intervento. Ciò al fine di verificare sul campo l'attendibilità delle attività proposte dai centri. Sono state realizzate missioni *in loco* che hanno evidenziato la necessità di focalizzare gli interventi soprattutto in ambito formativo e assistenziale. In effetti, le precarie condizioni delle strutture sanitarie necessitano di un supporto costante per implementare i rifornimenti farmacologici, incrementare le campagne di prevenzione e di sensibilizzazione della popolazione locale alle maggiori problematiche sanitarie.

Attività programmata 2009

Alla fine del 2008, circa tre milioni di persone affette da infezione da HIV nel mondo erano sottoposte a terapia antiretrovirale (HAART). Tale valore rappresenta un significativo progresso rispetto agli anni precedenti, reso possibile essenzialmente grazie allo sforzo senza precedenti della comunità internazionale. Tuttavia, tale valore rappresenta solo il 31% delle persone affette da infezione da HIV che avrebbero necessità di ricevere la HAART secondo i criteri internazionalmente accettati. Le Nazioni Unite (UNAIDS) e la WHO hanno dunque promosso l'obiettivo dell'accesso universale alla terapia antiretrovirale per il 2010. Il concetto di accesso deve essere considerato in termini ampi, non solamente riferito alla terapia farmacologica ma esteso a comprendere la sensibilizzazione della popolazione, i servizi diagnostici, di monitoraggio della efficacia e della tossicità e i servizi di assistenza sociale all'individuo e al nucleo familiare. Purtroppo l'accessibilità completa allo spettro completo di servizi alla persona non è garantito in un gran numero di Paesi a risorse limitate a causa di: i) inadeguatezza delle risorse economiche individuali e collettive, ii) inadeguatezza delle risorse umane qualificate, iii) inadeguatezza delle risorse strutturali, iv) inadeguatezza in generale del sistema sanitario nel suo complesso e, non da

ultimo, v) sistema di autofinanziamento dei sistemi sanitari governativi basati sulla contribuzione individuale spesso inaccessibile da parte del singolo cittadino bisognoso.

Tali limitazioni appaiono oggi il principale ostacolo alla lotta contro l'infezione da HIV/AIDS, così come contro tutte le cause di morbidità e mortalità evitabili, nei Paesi a risorse limitate.

— *Obiettivi del programma*

Il contributo italiano al progetto ESTHER intende, per il 2009, andare oltre all'aiuto puntuale di singole realtà progettuali specifiche, seppure queste rappresentino certamente un punto qualificante dell'intervento, per tentare una sintesi conoscitiva dell'approccio di sanità pubblica in essere nelle differenti realtà nazionali dove i singoli interventi sono localizzati:

- Obiettivo 1
Descrivere il sistema sanitario del Paese in cui l'intervento si localizza, con la definizione dei livelli di assistenza, le previdenze sociali eventualmente in essere e l'entità della contribuzione individuale secondo la strategia del *cost recovery*.
- Obiettivo 2
Descrivere l'epidemia di infezione da HIV/AIDS nel Paese oggetto dell'intervento, contestualizzandola nell'ambito dei principali indicatori sanitari e socio-economici.
- Obiettivo 3
Descrivere le modalità di lotta contro l'infezione da HIV nel Paese oggetto dell'intervento: 3a – Descrivere le modalità di erogazione dei servizi di screening, presa in carico terapeutica, monitoraggio laboratoristico e assistenza sociale dei soggetti affetti da infezione da HIV in età adulta e pediatrica; 3b – Descrivere le modalità di approvvigionamento in termini di farmaci antiretrovirali e la loro disponibilità a livello delle strutture centrali e periferiche; 3c – Descrivere le linee guida nazionali di trattamento antiretrovirale di prima e seconda linea.
- Obiettivo 4
Descrivere le modalità di inserimento del progetto ESTHER finanziato dall'Italia nel quadro più generale della lotta all'AIDS a livello locale, regionale e nazionale.
- Obiettivo 5
Contribuire alla lotta alla infezione da HIV/AIDS con interventi tangibili finalizzati: i) alla formazione del personale locale, ii) al miglioramento della diagnosi precoce e alla presa in carico delle persone affette da infezione da HIV/AIDS, iii) alla definizione di modelli pilota di intervento

— *Risultati attesi dell'intervento*

Il complesso dei dati desunti dai differenti progetti finanziati da ESTHER Italia potrà consentire una ricognizione del ventaglio di strategie poste in essere dai singoli Governi dei Paesi a risorse limitate per fronteggiare l'epidemia di HIV.

L'analisi della situazione potrà suggerire modalità innovative di supporto alla lotta contro l'HIV/AIDS in questi Paesi, sia in termini di progettualità sanitarie che di assistenza tecnica all'approccio di sanità pubblica che di formazione, realizzando al contempo un potenziale beneficio per il sistema sanitario nel suo complesso.

Per raggiungere tali risultati, appare tuttavia necessario che i differenti interventi ESTHER Italia siano ufficialmente riconosciuti dai Governi dei Paesi ospiti e che siano possibilmente integrati con gli interventi ESTHER finanziati da altre nazioni europee eventualmente esistenti sullo stesso territorio.

Sperimentazioni cliniche di vaccini contro l'HIV/AIDS

L'inesorabile diffusione dell'infezione da HIV che conta 45 milioni di infettati nel mondo 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 20 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 proteggere dall'entrata del virus la cellula bersaglio. Tuttavia, l'estrema variabilità del virus proprio in questi antigeni di superficie nelle differenti aree geografiche, ma anche da individuo ad individuo e nello stesso individuo nel tempo, è alla base degli insuccessi finora conseguiti. Più recentemente, si è fatta strada l'ipotesi secondo la quale se, allo stato attuale delle conoscenze, è impossibile prevenire l'infezione della cellula da parte dell'HIV-1, potrebbe comunque essere possibile controllare la replicazione del virus dopo la sua entrata nelle cellule e, pertanto, bloccare l'evoluzione dell'infezione e, conseguentemente, lo sviluppo di malattia.

Il CNAIDS ha basato i propri studi su quest'ultimo razionale, indirizzando la ricerca su una componente virale che fosse prodotta subito dopo l'entrata del virus nella cellula, che avesse un ruolo fondamentale nella replicazione del virus, che fosse immunogenica e che fosse conservata 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, nella sua forma biologicamente attiva, è innocua e induce una risposta immune specifica 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, sia per l'approccio preventivo (nell'individuo sano) che per quello terapeutico (nell'individuo sieropositivo) del vaccino anti-HIV/AIDS basato sulla proteina ricombinante Tat.

I trial clinici di fase I multicentrici, controllati con placebo e randomizzati in doppio cieco, sono stati condotti in quattro centri clinici italiani (Ospedale San Raffaele di Milano, Ospedale San Gallicano di Roma, Policlinico Umberto I di Roma e Istituto Nazionale per le Malattie Infettive "L. Spallanzani" di Roma), 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, appartenenti alla categoria clinica A (secondo la classificazione CDC di Atlanta) con un valore di linfociti T CD4+ $\geq$ 400/mL e un livello di viremia plasmatica $\leq$ 50.000 copie/mL (protocollo terapeutico). Il vaccino (ai dosaggi di 7,5, 15 e 30 mg) o il placebo è stato somministrato per via sottocutea in associazione con l'adiuvante Alum, o per via intradermica senza adiuvante, nelle settimane 0, 4, 8, 12, e 16.

I risultati ottenuti indicano che il vaccino è sicuro e immunogenico avendo indotto sia anticorpi che risposte cellulari specifiche, confermando il pieno raggiungimento degli obiettivi (primario e secondario) prefissati. È pertanto necessario proseguire rapidamente nella realizzazione di trial clinici di fase IIA e IIB del vaccino Tat, che verranno condotte su migliaia di volontari sieronegativi ad alto rischio di infezione e volontari infettati in differenti stadi di progressione della malattia, sottoposti a differenti regimi terapeutici. Nell'ambito di tali sperimentazioni saranno realizzate ulteriori valutazioni di innocuità e di immunogenicità dei candidati vaccinali. In particolare, la risposta immune specifica indotta dalla vaccinazione sarà valutata come segue:

- Immunità umorale: determinazione e titolazione di immunoglobuline G (IgG), immunoglobuline A (IgA) e IgM specifiche; mappatura degli epitopi B-cellulari; valutazione dell'attività neutralizzante degli anticorpi identificati; *cloning* e caratterizzazione di cellule B specifiche; *microarray*.

- Immunità cellulo-mediata: risposta linfoproliferativa; determinazione della risposta Linfociti T Citotossici (CTL); mappatura degli epitopi T- cellulari; *cloning* e caratterizzazione di cellule T specifiche; *microarray*.
- Immunità naturale: analisi della produzione di chemochine e alpha-defensine; determinazione dell'attività NK.

Il programma di sviluppo clinico prevede inoltre la sperimentazione (fase I) di vaccini innovativi basati sulla combinazione di Tat ed Env, con particolare riferimento ad una modificazione di quest'ultima che ne comporta l'esposizione di epitopi conservati (deltaV2 Env). Tali combinazioni vaccinali sono state sviluppate nell'ambito dei progetti AVIP, VIAV e ISS/Chiron. In parallelo, si intende ottimizzare le formulazioni vaccinali tramite l'utilizzo di micro/nanoparticelle per la veicolazione dell'immunogeno, al fine di ottenere una maggiore stabilità del vaccino, ampliandone quindi le potenzialità applicative. Saranno condotte, pertanto, sperimentazioni cliniche con il vaccino Tat legato a questi nuovi sistemi di *delivery*, che sono stati sviluppati nell'ambito del programma ICAV.

Resoconto attività 2008

Il CNAIDS ha sviluppato nuovi approcci vaccinali, mirati alla induzione di un'immunità capace di controllare la replicazione virale e a impedire l'insorgenza e la progressione della malattia. L'approccio utilizza la proteina Tat di HIV-1, una proteina del virus che svolge un ruolo chiave nella trasmissione cellula-cellula e nella regolazione della replicazione virale.

Sulla base di questo razionale e dai promettenti risultati ottenuti dagli studi preclinici, l'ISS ha sponsorizzato e condotto la sperimentazione clinica di fase I, sia per l'approccio preventivo (nell'individuo sano), sia per quello terapeutico (nell'individuo sieropositivo) del vaccino anti-HIV/AIDS basato sulla proteina ricombinante Tat biologicamente attiva. La sperimentazione, conclusasi con il pieno raggiungimento degli obiettivi primari e secondari, ha dimostrato la sicurezza e l'immunogenicità del vaccino (Ensoli *et al.* *AIDS* 2006; Ensoli *et al.* *AIDS* 2008).

Allo scopo di valutare il perdurare della risposta immunitaria umorale e cellulare specifica nei volontari che hanno partecipato ai trial clinici di fase I del vaccino basato sulla proteina Tat di HIV-1 sono in corso due studi osservazionali (ISS OBS P-001 e ISS OBS T-001) presso tre centri clinici italiani (Ospedale San Raffaele di Milano, Ospedale San Gallicano e Istituto Nazionale per le Malattie Infettive "L. Spallanzani" di Roma). I volontari della fase I che hanno aderito all'estensione del periodo di osservazione effettueranno visite di controllo ogni sei mesi per ulteriori tre anni.

Al fine di approfondire le conoscenze sul ruolo della risposta immunitaria naturale a Tat nella progressione della malattia da HIV, sono stati avviati due studi osservazionali prospettici, della durata di cinque anni con possibilità di estensione in soggetti HIV+ sia in trattamento con HAART (ISS OBS T-002), sia asintomatici (ISS OBS T-003). L'obiettivo è valutare la frequenza, l'intensità e la persistenza della risposta immune umorale e cellulare a Tat, e di confrontare l'esito clinico, immunologico e virologico dei soggetti anti-Tat positivi rispetto ai soggetti anti-Tat negativi, in terapia antiretrovirale efficace, al fine di definire nuovi marcatori immunologici per la gestione clinica della malattia.

Sulla base degli incoraggianti risultati ottenuti nei trial clinici di fase I, si è proceduto alla preparazione e all'attivazione nel luglio 2008 dello studio clinico di fase II, il cui scopo è quello di valutare in 128 soggetti sieropositivi in trattamento HAART, l'induzione della risposta immune specifica indotta dalla vaccinazione con la proteina Tat. L'arruolamento è iniziato in Italia durante il 2008.

Nel corso del 2008 è stata effettuata anche la produzione in GMP e il *batch release* delle fiale di vaccino Tat da utilizzare in uno studio clinico di fase I in combinazione con la proteina oligomerica Env di HIV ingegnerizzata al fine di eliminare il dominio variabile V2 (V2 Env,

Novartis). Lo studio rientra nel progetto di sviluppo di nuove strategie vaccinali basate sulla combinazione di proteine regolatorie e strutturali di HIV.

Attività programmata 2009

Nell'ambito del progetto di sviluppo di un vaccino innovativo contro l'HIV/AIDS basato sulla proteina Tat biologicamente attiva, il CNAIDS continuerà gli arruolamenti dei volontari HIV-positivi in trattamento HAART che partecipano alla fase II della sperimentazione clinica con il vaccino basato sulla proteina Tat di HIV-1 in Italia. Il programma di sviluppo clinico per il 2009 prevede inoltre la sperimentazione di vaccini innovativi basati sulla combinazione della proteina Tat con proteine virali strutturali, con particolare riferimento ad una modificazione della proteina dell'*envelope* virale che ne comporta l'esposizione di epitopi conservati [Env V2 delecto (deltaV2 Env)], precedentemente sviluppata nell'ambito dei progetti AVIP, VIAV e ISS/Novartis.

Nel 2009 si ottimizzeranno, inoltre, le formulazioni vaccinali tramite l'utilizzo di micro/nanoparticelle, sviluppate nell'ambito del programma ICAV, per la veicolazione dell'immunogeno, al fine di ottenere una maggiore stabilità del vaccino. Le sperimentazioni cliniche condotte in Italia sono finanziate dal Ministero del Lavoro, della Salute e delle Politiche Sociali.

Infine, per il 2009 sono previste attività preparatorie per la sperimentazione clinica di fase II in Sudafrica con il vaccino basato sul Tat in volontari sieropositivi in stadio asintomatico. Queste attività fanno parte del progetto *Program to support the Ministry of Health of South Africa in the implementation of a national program of global response to HIV and AIDS*, finanziato dal MAE.

Studio sull'efficacia, sulla sicurezza e sugli esiti delle tecniche di procreazione medicalmente assistita

Valutazione, dell'efficacia, sicurezza ed esiti delle tecniche di PMA in dieci centri rappresentativi del panorama italiano e creazione di un database per condurre analisi epidemiologiche sulla efficacia e sicurezza ed esiti delle tecniche stesse.

Resoconto attività 2008

Utilizzo per ogni singolo centro del software elaborato dall'ISS per l'immissione dei dati dei trattamenti di riproduzione assistita svolti dai centri nel 2003 e nel 2005:

- Recupero totale del follow-up dei nati a seguito dei trattamenti effettuati presso i centri nell'anno 2003.
- Invio da totale dei centri all'ISS dei dati parziali richiesti dal protocollo.
- Controllo ed elaborazione da parte dell'ISS dei dati totali ricevuti dai centri.
- Comparazione e analisi dei dati relativi all'anno 2005 con quelli relativi all'anno 2003.
- Valutazioni e conclusioni.

Attività programmata 2009

Progetto concluso il 31/12/2008.

Sviluppo di modelli murini speciali (SCID, *knock-out* e transgenici) per lo svolgimento di progetti di ricerca di interesse sanitario

La sperimentazione in modelli animali, oltre a consentire lo studio di sistemi biologici complessi, costituisce il *trait d'union* tra ricerca di base e traslazionale ed è spesso richiesta come complemento insostituibile nei dossier sottoposti alle autorità regolatorie per l'approvazione di nuovi protocolli clinici.

I modelli sperimentali murini offrono particolari vantaggi per la maggiore disponibilità di reagenti, la facilità di stabulazione, i costi ridotti e la possibilità di utilizzare un maggiore numero di animali per ottenere risultati statisticamente significativi. Infine, la disponibilità di ceppi di topi immunodeficienti, *knock-out* (KO) e transgenici rappresenta un ulteriore importante vantaggio. Infatti, questi ceppi, frutto dell'applicazione delle più avanzate tecniche di ingegneria genetica alla eliminazione o all'introduzione di geni, costituiscono uno strumento ormai irrinunciabile per lo studio *in vivo* del ruolo di specifici geni nella regolazione o nella disfunzione di determinate attività fisiologiche. I topi affetti da una severa immunodeficienza combinata (topi SCID), e i più avanzati modelli NOD/SCID/IL2r-gamma^{null} (Ishikawa *et al.* *Nature Biot* 2007;25:1315) consentono il trapianto di tessuti e cellule umani, fornendo l'opportunità di creare xenochimere uomo-topo utili per eseguire *in vivo* studi di fisio-patologia e farmacodinamica umana. Inoltre, questi modelli xenochimerici offrono la possibilità di ricostituire, parzialmente ma con sufficiente approssimazione particolarmente se realizzati in topi NOD/SCID/IL2r-gamma^{null}, il sistema immunitario umano per valutare la risposta immune a vaccini dedicati all'uomo. La stabulazione di questi ceppi di topi, così come di molti ceppi di topi KO, richiede condizioni stringenti di sterilità e controlli particolari poiché i difetti del sistema immunitario di questi animali li rendono particolarmente suscettibili ad infezioni batteriche o virali.

In ISS, lo stabulario/laboratorio speciale per il mantenimento e la sperimentazione su topi SCID, e altri ceppi immunosoppressi, è stato utilizzato in questi anni da diversi gruppi, interni ed esterni all'Istituto, per progetti di ricerca in settori differenti, che vanno dall'AIDS all'oncologia sperimentale, dalle neuroscienze all'immunologia, dalla ricerca sui vaccini a quella su nuovi farmaci. Questa struttura ha infatti caratteristiche peculiari per la possibilità di avviare sperimentazioni in modelli chimerici uomo/topo utilizzando, se necessario, anche agenti patogeni per l'uomo, grazie alla presenza di speciali laboratori P3 dotati di sistemi di barriera microbiologico sia verso l'ambiente interno che verso quello esterno. Per ottenere i livelli di eccellenza che caratterizzano la struttura, il personale tecnico, afferente al Dipartimento di BCN, addetto alla manutenzione degli stabulari, alla cura degli animali e alla conduzione della sperimentazione *in vivo* è stato sottoposto ad un *training* di lunga durata per acquisire le competenze necessarie ad operare in condizioni di sicurezza in un ambiente microbiologico ad elevato rischio e suscettibile di contaminazioni ambientali. Altrettanto delicato il compito di stabulazione e allevamento di colonie speciali di topi transgenici e KO, svolto nella struttura gemella, dotata anch'essa di sistemi di barriera microbiologico che garantisce al suo interno condizioni di sterilità superiori a quelle di una camera operatoria. I topi transgenici e KO costituiscono uno strumento avanzato per una ricerca moderna in campo biologico e molte delle colonie stabulate nella nostra struttura rappresentano un *unicum* non altrimenti reperibile al di fuori dell'ISS. Le colonie ospitate sono state allevate con particolare attenzione alla purezza del ceppo, alla conservazione delle caratteristiche genetiche e all'assenza di agenti infettivi. Questo lavoro ha consentito di mantenere in ottime condizioni sia gli animali destinati al mantenimento della linea sia quelli utilizzati per le sperimentazioni. Grazie a questo

lavoro è stato possibile condurre diversi studi, gran parte dei quali non eseguibili altrove a causa della unicità dei ceppi murini utilizzati.

Studi in topi SCID sono stati condotti per:

- valutare la risposta immune umana ad antigeni virali;
- valutare la capacità di cellule dendritiche (*Dendritic Cell*, DC) infettate *in vitro* con HIV-1 di trasferire l'infezione *in vivo* nel modello Hu-PBL-SCID;
- saggiare *in vivo* l'attività antivirale di inibitori dell'ingresso e della replicazione di HIV in cellule umane;
- valutare l'attività antitumorale di cellule immuni umane e la loro capacità di *homing* a livello del tessuto tumorale;
- valutare il potenziale tumorigenico di diverse linee linfoblastoidi umane trasformate da EBV e l'attività antitumorale e i meccanismi di azione di farmaci antineoplastici;
- valutare l'efficacia di vaccini basati su DC umane e specifici per antigeni di EBV nell'indurre in topi Hu-PBL-SCID una risposta immune umana specifica e nel proteggere contro lo sviluppo di linfomi.

Colonie di topi SCID mantenute nell'ambito della *facility* speciale dell'ISS sono state anche utilizzate per progetti nel settore delle neuroscienze.

I seguenti studi sono stati svolti utilizzando topi transgenici e KO:

- valutazione del ruolo dell'IFN di tipo I endogeno nello sviluppo spontaneo di carcinoma mammario in topi BALB transgenici per l'oncogene HER-2/Neu (BALB-NeuT), mediante studi in ceppi BALB-NeuT *wild type* (WT) o KO per il recettore di IFN di tipo I (IFNAR-I);
- valutazione del ruolo di IFN di tipo I endogeno nella infezione da gamma-herpes virus MHV-68 (analogo murino dell'EBV) e nella risposta ad un vaccino ricombinante, in topi 129 sv WT o KO per IFNAR-I;
- valutazione dell'effetto di IFN di tipo I come adiuvante della vaccinazione intranasale in un modello di influenza murina, in topi C3H/HeN WT e KO per IFNAR-I;
- valutazione del ruolo del fattore di trascrizione IRF-1 nel differenziamento e nell'attività funzionale di popolazioni del sistema immune quali DC e linfociti T regolatori;
- valutazione del ruolo di IRF-8 nel differenziamento e nell'attività funzionale di DC e nel processo di cancerogenesi del melanoma.

Nel complesso, il lavoro svolto testimonia l'esperienza raggiunta e costituisce la garanzia per l'uso di modelli murini speciali in attività di ricerca di interesse dell'ISS anche in collaborazione con gruppi di ricerca esterni.

Resoconto attività 2008

Nell'anno in corso è stata svolta l'attività principale di mantenimento ed espansione delle colonie di topi KO e transgenici già elencate nella relazione del precedente anno. Grazie alla presenza di queste colonie e al mantenimento in condizioni di barrieramento microbiologico dei topi SCID, è stato possibile svolgere i seguenti progetti di ricerca:

- valutazione in topi SCID dell'effetto dell'omeprazolo sulla crescita tumorale nei modelli di melanoma umano Me501 e leucemia pre-B (continuazione della sperimentazione dell'anno precedente);
- valutazione in topi SCID dell'effetto di *New Glutathione S-Transferase Inhibitors NBD-HEX*e di Pyrimethamine, molecole con attività pro-apoptotica, sulla crescita tumorale nel modello Me501;