

Per quanto sopra è stato necessario garantire tra i centri le stesse impostazioni di lavoro, attraverso un sistema informatico collegato e controllato, attraverso la formazione di personale amministrativo che funzioni da interfaccia con le strutture generali di direzione, in modo da assicurare per ogni centro personale idoneo e preparato, anche mediante la realizzazione di manuali di procedura.

Con la definizione della struttura organizzativa hanno trovato definitiva collocazione – ai sensi del regolamento di struttura – i profili dell'attività fiscale di quest'ultimo.

Ciò ha comportato il riesame di una serie di attività, al fine di attribuire alle stesse la giusta natura di attività commerciale o istituzionale.

Nel corso del 2005 si è, inoltre, rivisto il processo di analisi dei servizi a pagamento modificando il tariffario adottato con decreto del Presidente del 30/04/2004, sempre nell'impostazione dei principi di carattere economico generale.

Tutto ciò premesso si ritiene di evidenziare come uno degli aspetti più qualificanti della già ricordata riforma dell'Istituto investisse la disciplina amministrativo-contabile. La nuova normativa regolamentare mirava – tra l'altro – ad adeguare la stessa alla mutata veste giuridica dell'Istituto stesso, recependo le più recenti previsioni normative sulla contabilità analitica per centri di costo.

Com'è noto, l'adozione della contabilità generale consente di evidenziare non solo le spese (aspetto finanziario) ma anche i costi (aspetto economico) dell'attività svolta dall'Ente; rilevandosi, pertanto, come uno strumento fondamentale per realizzare una gestione ispirata a criteri di economicità.

Nel corso del 2005 è stato predisposto il bilancio dell'Istituto redatto conformemente a quanto previsto dal DL.vo n. 97/2003.

Tale dato è estremamente significativo in quanto ha comportato la contestuale elaborazione del Rendiconto finanziario dell'esercizio finanziario 2004, oltre alla predisposizione del Bilancio Economico-Patrimoniale.

Il DPR n. 70/2001, infatti, ha riconosciuto all'Istituto autonomo potere regolamentare. Nel corso dell'esercizio 2003, l'Istituto ha provveduto ad emanare, tramite il Decreto Presidenziale del 24/01/2003, il "Regolamento concernente la disciplina amministrativa contabile dell'Istituto Superiore di Sanità", che regola, come disposto dall'art. 13 del DPR 70/2001, le modalità per la gestione patrimoniale, economica, finanziaria e contabile dell'Istituto, le modalità per l'acquisto di beni, servizi o forniture, le modalità per la stipula di convenzioni, contratti e accordi di collaborazione con amministrazioni, enti, organismi nazionali, esteri e internazionali.

La disciplina amministrativa e contabile contenuta nel Regolamento di contabilità sopra richiamato sancisce, al capo VI, "Rendiconto generale", che le risultanze della gestione dell'esercizio sono riassunte e dimostrate nel rendiconto generale, costituito dal conto consuntivo del bilancio (contabilità finanziaria) e dallo stato patrimoniale, dal conto economico e dalla nota integrativa (bilancio economico-patrimoniale).

L'obbligo della "doppia" rendicontazione, finanziaria ed economico-patrimoniale, è ribadito anche nelle disposizioni contenute nel DPR 97/2003, con cui è stato emanato il "Regolamento concernente l'amministrazione e la contabilità degli enti pubblici di cui alla L. 20/03/1975 n. 70".

Le disposizioni sopra richiamate hanno comportato un poderoso sforzo organizzativo e finanziario al fine di ottemperare contemporaneamente alla tenuta di una contabilità di tipo finanziario e di una contabilità di tipo economico patrimoniale. Per far fronte alla nuova impostazione amministrativo-contabile, l'Istituto da una parte si è dotato di uno strumento capace di gestire il sistema di contabilità integrato, dall'altra ha effettuato un'analisi e rielaborazione dei dati di natura finanziaria e dei dati contenuti nelle contabilità settoriali (Cespiti e Magazzini), e di tutte le ulteriori informazioni salienti, al fine di addivenire

all'elaborazione dello Stato patrimoniale iniziale. Inoltre, l'Istituto ha intrapreso un percorso formativo, rivolto alle risorse dell'area amministrativa, che ha l'obiettivo di trasferire i principi e le tecniche che governano la contabilità di tipo economico-patrimoniale, al fine di aumentare la consapevolezza delle strutture tecnico-scientifiche della necessità di una gestione che non si sviluppi solo secondo una logica finanziaria, ma che tenga conto anche dei principi della contabilità generale.

A tale proposito verrà continuata la formazione dei componenti il “nucleo amministrativo” esistente presso ciascun Centro di Responsabilità, al fine di realizzare al meglio la fase di programmazione dell'attività di ciascun Centro e la stesura delle relazioni periodiche sullo stato di avanzamento dell'attività propria di ciascun Dipartimento/Centro.

Sulla scorta dell'esperienza maturata nel corso degli esercizi finanziari 2004 e 2005, si ritiene indispensabile consolidare le conoscenze per la corretta e puntuale tenuta della contabilità finanziaria, economico-patrimoniale e relative contabilità settoriali.

La natura di ente dell'Istituto determina, infatti, che la realtà amministrativo-contabile si snodi attraverso l'adozione e la gestione di un bilancio articolato in finanziario, economico e analitico. In tale prospettiva, l'Amministrazione è chiamata a una gestione articolata secondo un sistema di costi e ricavi, che è già stato individuato come uno dei principi di redazione del bilancio di previsione per l'anno 2006.

Tra le altre attività di rilievo svolte dalla predetta Direzione, si annovera l'attività istruttoria che ha determinato la pubblicazione del DPCM del 17 ottobre 2005 (pubblicato in GU n. 283 del 5 dicembre 2005), con il quale è stato disposto il passaggio dell'Istituto Superiore di Sanità dalla tabella A alla tabella B della legge 29 ottobre 1984, n. 720.

Tale passaggio ha rappresentato senza dubbio una evidente opportunità amministrativo-contabile. Infatti, l'applicazione della citata legge ha consentito l'apertura di conti correnti all'estero intestati all'Istituto Superiore di Sanità, nei Paesi extra-europei nei quali questo Istituto svolge la propria attività istituzionale, nell'ambito di progetti e accordi con Istituzioni e Paesi esteri (es: “Programma regionale di lotta all'AIDS in Uganda, Ruanda, e Burundi”, “Programma di sostegno al Ministero della Sanità in Sud Africa” Progetto ISS-MAE, sostegno al Centro Chantal Biya in Camerun).

Nel corso del 2005 si è poi avviata l'informatizzazione dei pagamenti relativi ai corsi, convegni, in generale per i servizi resi a terzi. L'Ufficio di Ragioneria e Bilancio ha proposto all'Istituto Tesoriere (BNL) l'applicazione e lo sviluppo di quanto contenuto nell'allegato B della convenzione a suo tempo sottoscritta. Si è proceduto, inoltre, con la collaborazione del Servizio Elaborazione Dati, all'installazione sul sito dell'ISS del *link* interattivo della BNL che consente, una volta scelto il corso, convegno e/o qualsiasi altro servizio, di effettuare pagamenti a mezzo carta di credito.

Inoltre, si è operato per la realizzazione di *software* che consentano di far dialogare le varie piattaforme gestionali afferenti a “Sistemi Informativi” e a BNL, per una ottimizzazione della gestione del Bilancio Economico-Patrimoniale.

Nell'ottica, poi, di questa politica di informatizzazione, si sta procedendo, per applicare la firma digitale per l'emissione e l'inoltro – all'Ufficio di Ragioneria prima e al Tesoriere poi – dei mandati di pagamento.

Si intende, inoltre, dar corso al disposto della legge n. 289 (finanziaria 2003) del 27 dicembre 2002, alla luce di quanto previsto dalla circolare del Ministero dell'Economia e delle Finanze n. 9 del novembre 2005 n. 35, recante “il nuovo sistema informativo di gestione dei pagamenti e delle riscossioni degli enti pubblici SIOPE”.

Durante l'anno 2005, si è innovata la gestione contabile-amministrativa dei finanziamenti derivanti dalla stipula di convenzioni al fine di conciliare il rispetto dei principi della

competenza finanziaria e di contabilità economica (così come sanciti dal DPR n. 97/2003) e il rispetto degli obblighi contrattuali imposti all'Ente dalla firma della convenzione.

Tale innovazione proseguirà anche per il prossimo anno, soprattutto per ciò che riguarda alcuni aspetti specifici.

In questo ambito rientra, in primo luogo, la realizzazione di una gestione degli acquisti di beni durevoli che consenta il rispetto del principio dell'ammortamento che, pur avendo principalmente valenza economica, ha delle forti ripercussioni sulla contabilità finanziaria.

Gli acquisti di beni durevoli effettuati con i contributi derivanti da convenzioni ricade ormai in tale disciplina, in quanto l'ente finanziatore rimborsa all'Istituto solo la quota di costo del bene che può essere riferita al periodo di utilizzo dello stesso nell'ambito del progetto commissionato.

Questo determina una "differenza" tra la spesa effettivamente sostenuta dall'Istituto e l'importo effettivamente rimborsato dall'Ente. Per evitare che ciò avvenga sarà necessaria una attenta gestione degli acquisti di tali beni da parte del Centri di Responsabilità insieme alla capacità di poter recuperare gli scostamenti che eventualmente dovessero verificarsi.

Relativamente all'anno 2006, la competente struttura ha, poi, intenzione di predisporre le procedure per coprire l'eventuale divario tra spesa ed entrata attraverso l'utilizzo di una quota dell'*overhead* generato dal progetto stesso.

Altro principio scaturito dalla particolarità delle convenzioni, riguarda la necessità di introdurre la quota di costo generato dall'impegno del personale strutturato nei progetti che dovrà essere quantificato dal ricercatore nel momento in cui presenta la proposta di richiesta di finanziamento ad un ente esterno.

L'innovazione operata nel corso dell'anno 2005 in materia di convenzioni, ha riguardato sia l'aspetto contabile (con l'introduzione della gestione pluriennale dei contributi previsti dalla convenzione firmata, per cercare di rispettare il principio di competenza finanziaria ed economica), sia l'aspetto amministrativo attraverso la presentazione di proposte al Consiglio di Amministrazione di documenti costituenti linee guida per essere di supporto ai ricercatori dell'Ente nella partecipazione ad importanti programmi di finanziamento, come il VI Programma Quadro della Commissione Europea.

Tra gli obiettivi per il 2006 rientra quello di continuare ad innovare la suddetta gestione per cercare di:

- realizzare la piena rispondenza della gestione delle convenzioni alla normativa contabile di riferimento;
- potenziare gli strumenti operativi che consentano di adempiere a tutti gli obblighi cui l'Istituto viene assoggettato con la firma della convenzione;
- acquisire i dati contabili organizzati in modo tale da consentire lo sviluppo di una contabilità anche analitica che sia di supporto a tutta la struttura dell'Ente.

Nel corso dell'anno 2005 è proseguita, inoltre, l'attivazione di rapporti di collaborazione coordinata e continuativa e, nei ristretti limiti imposti dalla normativa vigente, di lavoro autonomo occasionale e professionale.

Particolare cura è stata rivolta al relativo profilo fiscale e previdenziale, con l'applicazione di alcune novità che vengono compiutamente in appresso indicate.

- Deduzione fiscale per oneri familiari (art. 12 DPR n. 917/1986): il nuovo sistema degli "sconti" familiari, correlato al livello reddituale, non riduce più l'Irpef lorda come nel sistema precedentemente in vigore, ma abbatte direttamente l'imponibile; l'applicazione di tale novità ha richiesto una non lieve modifica del sistema contabile informatizzato, con numerosi controlli manuali *random* per testarne la correttezza e affidabilità;
- Applicazione della deduzione per assicurare la progressività dell'imposta (c.d. *no tax area*): negli ultimi mesi dell'anno 2005 è stata completata una importante modifica al

sistema informatico di pagamento, permettendo l'applicazione mirata e graduata di tale istituto fiscale mese per mese ed escludendo in tal modo la necessità di ricorrere, come in passato, ad operazioni di conguaglio di fine anno particolarmente onerose per il collaboratore;

- Mensilizzazione delle denunce contributive: l'art. 44 della L. n. 326/2003 dispone che i dati retributivi e le informazioni che implementano le posizioni assicurative individuali siano trasmesse all'Inps con periodicità mensile e con effetto dalle retribuzioni del mese di gennaio 2005. La "messa in opera" di tale trasmissione, da effettuarsi in via telematica, ha comportato un impegno lavorativo di non poco momento, in considerazione delle difficoltà tecniche insite e della assoluta importanza di tale attività, a mente della considerazione che, a fare data dal 2006 (redditi anno 2005) le risultanze, per ciascun collaboratore, della mensilizzazione dei dati previdenziali debbono essere analiticamente indicate nelle certificazioni (CUD) rilasciate a fini fiscali;
- Certificazioni uniche reddituali (CUD): l'Ufficio competente, ottenute dalla Società di gestione del sistema informativo le opportune modifiche del *software* applicativo, ha proceduto all'emissione delle varie certificazioni nel rispetto delle scadenze di legge;
- Redditi derivanti da attività lavorativa occasionale e contributi assicurativi: previsto dall'art. 44, comma 2, L. n. 326/2003, il relativo obbligo di trattenuta e successivo versamento dei contributi a fronte degli emolumenti superiori a € 5.000 ha pure costituito impegno non indifferente per l'Ufficio preposto: e questo non tanto per il numero, relativamente esiguo, dei compensi "trattati", quanto per le procedure connesse a tale compito, quale redazione di particolare modulistica, inserimento di appositi codici ai fini dell'invio dei dati previdenziali all'Inps ecc.

Più in generale, e come indispensabile presupposto della cospicua attività espletata nei termini riassuntivi sopra indicati, si evidenzia come nel corso dell'anno 2005 l'Ufficio medesimo abbia conseguito un notevole grado di autonomia nella gestione dei diversi e complessi sistemi informativi utilizzati con il risultato di rendere sempre più celere ed efficace il compito affidato di trattamento economico, fiscale e previdenziale delle categorie lavorative sopra indicate.

Con specifico riferimento all'attività contrattuale, si fa presente che le procedure di aggiudicazione di contratti di appalto vengono disciplinate dall'Amministrazione conformemente alla vigente normativa in materia di appalti di lavori, servizi e forniture, integrata, per le parti attinenti, dal DPR 27 febbraio 2003, n. 97 "Regolamento concernente l'amministrazione e la contabilità degli enti pubblici di cui alla Legge 20 marzo 1975, n. 70", nonché dal Decreto 24 gennaio 2003, "Regolamento concernente la disciplina amministrativa contabile dell'Istituto Superiore di Sanità", con particolare riguardo a quanto previsto dal Capo IX - attività contrattuale.

Trovano applicazione, altresì, i RR.DD. 18/11/1923 n. 2440 e 23/05/1924 n. 827.

Relativamente all'attività contrattuale da svolgere nel corso dell'anno 2006, si procederà alla predisposizione delle procedure, relativamente ai contratti che nel corso di tale anno, avranno scadenza, ove l'Amministrazione non eserciti (nel caso in cui la relativa facoltà sia contrattualmente prevista) la facoltà di procedere al rinnovo del contratto in scadenza.

Si procederà, altresì, alla indizione di nuove procedure di gara laddove se ne ravvisi la necessità, al fine di assicurare la esecuzione di lavori o servizi ovvero di garantire l'approvvigionamento di beni necessari per il funzionamento dell'Ente.

Va segnalato che, proprio con riferimento all'attività contrattuale da svolgersi nel corso dell'anno 2006, significative e rilevanti modifiche saranno verosimilmente prodotte per effetto della recente emanazione del D.L.vo 12 aprile 2006, n. 163 (Codice dei contratti pubblici relativi

a lavori, servizi e forniture in attuazione delle direttive 2004/17/CE e 2004/18/CE, pubblicato sulla GU n. 100 del 02/05/2006 - Suppl. Ordinario n. 107).

Tale normativa comporterà indubbie ripercussioni sullo svolgimento della attività contrattuale dell'Ente, nella sua qualità di "stazione appaltante", intervenendo sugli istituti di maggiore rilevanza in materia di appalti, realizzando l'accorpamento (di cui *ictu oculi* non può non individuarsi la portata innovativa), in un unico *corpus* normativo, della disciplina contrattuale afferente ai servizi, forniture e lavori.

Con riferimento allo svolgimento dei c.d. acquisti "in economia", la stessa attività risulta disciplinata dal DPR n. 384/2001, nonché da quanto previsto dal Capo X del Decreto 30 gennaio 2003 recante il "regolamento concernente la disciplina amministrativa contabile dell'Istituto Superiore di Sanità".

A tal proposito si segnala come il competente Ufficio Amministrativo abbia proceduto, nel corso dell'anno 2005, e, provvederà anche per l'anno 2006, ad assicurare, nel rispetto dei limiti di spesa individuati dalla normativa sopra citata (Euro 130.000,00, IVA esclusa) l'approvvigionamento dei beni nonché l'espletamento dei servizi necessari per il funzionamento dell'Istituto.

Occorre segnalare, per completezza di informazione, come nella materia *de qua* l'Amministrazione abbia, da tempo, fatto ricorso alle convenzioni stipulate dalla CONSIP SpA, in ossequio alla iniziale vincolatività, e, successivamente, opportunità, di acquisire beni e servizi mediante l'adesione a convenzioni stipulate dalla stessa CONSIP.

A tal riguardo si segnala come l'adesione alle citate convenzioni abbia consentito a titolo di esempio il noleggio dei fotocopiatori per l'Istituto, la fornitura di buoni pasto per il personale dipendente, il noleggio ovvero l'acquisto di *Personal Computer*.

A ciò si aggiunga che – conformemente a quanto disposto dal DPR n. 101/2002 – l'Amministrazione ha proceduto a dare un significativo impulso al c.d. "mercato elettronico" della P.A., garantendo – attraverso l'utilizzo di tale innovativo strumento di approvvigionamento di beni e servizi – il fabbisogno della carta da fotocopie per l'anno 2006, con un significativo risparmio di spesa rispetto ai prezzi praticati dall'Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato, abituale fornitore dell'ente per tale specifica tipologia di prodotto.

Analoga iniziativa è stata assunta in ordine all'acquisto di materiale informatico di varia natura (stampanti, cartucce e *toner* per stampanti già in dotazione, *Personal Computer*, *monitor* ecc.), rispetto al quale la relativa acquisizione tramite il mercato elettronico consente almeno due significativi vantaggi:

- il prezzo di vendita sicuramente più basso, rispetto al normale prezzo di mercato (soprattutto allorquando il richiedente decida di procedere con quella che tecnicamente viene definita "richiesta di offerta");
- uno snellimento delle procedure amministrative deputate all'acquisto di tali prodotti, che rinviengono, nello strumento informatico, un mezzo in grado di ridurre i tempi di attesa e le procedure volte alla esecuzione dell'ordine del prodotto richiesto.

Tanto premesso, e anche alla luce del buon esito del ricorso allo strumento del mercato elettronico, rispetto al quale, a rigore, può dirsi conclusa la fase di "sperimentazione" si conta, nel corso del 2006, di dare una ulteriore implementazione nel ricorso a tale procedura di acquisto, garantendone la fruizione anche ai Dipartimenti, nella loro qualità di CRA e di soggetti in grado di procedere in autonomia all'acquisto di beni e servizi.

A tal fine si è già proceduto, e si procederà nei prossimi mesi, a realizzare specifici incontri tra i rappresentati CONSIP, gli Uffici Amministrativi centralizzati competenti e il personale amministrativo dei Dipartimenti, al fine di fornire, nel dettaglio, tutte le informazioni e le istruzioni necessarie per lo svolgimento della corretta procedura volta all'acquisto del bene sul mercato elettronico della P.A.

PAGINA BIANCA

PARTE 3
Progetti speciali

Accordo di collaborazione Italia-USA

Nel marzo 2003 l'Italia e gli Stati Uniti hanno firmato un accordo (Sirchia-Thompson) che prevede la collaborazione tra i ricercatori dei due paesi nei seguenti campi:

- malattie rare;
- oncologia;
- malattie infettive di grande rilievo sociale e di possibile utilizzo con armi non convenzionali. Problemi di salute pubblica.

Gli Istituti Nazionali di Sanità degli Stati Uniti d'America (NIH) e l'Istituto Superiore di Sanità (ISS) della Repubblica Italiana, desiderando rafforzare la collaborazione in essere, confermata nel *Memorandum* di Intesa firmato il 17 aprile 2003 dal Dipartimento per la Salute e i Servizi Umani degli Stati Uniti d'America e dal Ministero della Salute della Repubblica Italiana, hanno incrementato la cooperazione nella ricerca e nella formazione nel campo delle scienze biomediche e comportamentali.

Da questo accordo sono derivate azioni molto importanti che hanno fatto scaturire collaborazioni di altissimo contenuto professionale e di ricerca.

Entrambe le parti intendono collaborare negli ambiti del proprio mandato istituzionale per promuovere la riduzione delle disuguaglianze nella salute a livello globale.

Le attività previste includono:

- l'organizzazione e l'attuazione congiunta di workshop;
- l'identificazione di opportunità di formazione congiunta per ricercatori, inclusi i ricercatori provenienti da paesi in Via di sviluppo e da Economie in Transizione;
- lo scambio di ricercatori;
- lo scambio di informazioni;
- lo scambio di materiali;
- la realizzazione di progetti di ricerca congiunti che includono la ricerca traslazionale e clinica;
- la conduzione di progetti di ricerca congiunti in paesi terzi in Via di sviluppo e in Transizione;
- altre forme di cooperazione che comprendano il sostegno a ricercatori provenienti dai paesi in Via di Sviluppo e in Transizione.

Malattie rare

Nell'ambito delle attività Italia – USA sulle Malattie Rare, numerose istituzioni italiane quali l'Istituto Superiore di Sanità, i principali IRCCS e altre istituzioni notoriamente coinvolte in questo settore hanno presentato progetti di ricerca (in totale 74) inerenti specifiche malattie rare proprie sia dell'infanzia che dell'adulto.

Tutti i progetti sono stati inviati a un Gruppo di *Referee* (esperti nazionali) e dopo valutazione scientifica sono stati finanziati 51 progetti.

In particolare, i progetti riguardano

- la messa a punto di strategie di prevenzione primaria di alcuni difetti congeniti rari (anencefalia, spina bifida, ecc.) mediante somministrazione di acido folico nel periodo periconcezionale;
- l'eziopatogenesi e quindi lo studio delle basi molecolari di varie malattie rare quali ad esempio le sindromi di Axenfeld-Rieger, Cornelia de Lange, DiGeorge, Noonan, la malattia di Marfan, il morbo di Whipple, le amiloidosi sistemiche primarie, tumori rari;

- lo sviluppo di nuove strategie diagnostiche (es. la porfiria variegata e la protoporfiria eritropoietica, distrofia facio-scapolo-omerale, tumori rari). In questo ambito, particolare attenzione è stata riservata alle patologie rare caratterizzate da segni e sintomi a tutt'oggi senza una esatta definizione diagnostica. Dati recenti di letteratura rilevano che a questo gruppo afferiscono circa il 30-35% di tutte le malattie rare; pertanto, esso costituisce non solo un'importante sfida per la ricerca scientifica di base ma anche per la sanità pubblica: infatti, diagnosticare con esattezza una malattia pone le basi per effettuare la corretta terapia (laddove disponibile) e migliore qualità di vita per la persona affetta;
- lo sviluppo di strategie terapeutiche innovative (es. terapia nell'emoglobinuria parossistica notturna, ceroidolipofuscinosi, malattia di Niemann-Pick, sindrome di Waldenstrom, malattia di Pompe, malattie da deficit di sulfatasi, malattia di Fabry, distrofia muscolare di Duchenne);
- il miglioramento della gestione clinica del paziente affetto da malattia rara (es. sviluppo di linee guide diagnostico-clinico-terapeutiche per specifiche malattie rare, sviluppo di modelli per realizzare un approccio sanitario integrato).

Resoconto attività 2005

Nell'ambito dell'Accordo di collaborazione Italia-USA, nell'autunno 2005 sono state avviate le attività sperimentali dei progetti di ricerca inerenti l'eziopatogenesi, la diagnosi e trattamento di specifiche malattie rare proprie dell'infanzia e dell'adulto.

Attualmente, le specifiche attività scientifiche descritte in dettaglio nei singoli progetti sono in fase di sviluppo.

Attività programmata 2006

Nel corso del 2006 verranno continuate e sviluppate le attività di ricerca inerenti i progetti sulle malattie rare previsti nell'accordo di collaborazione Italia – USA.

Oncologia

- *La sieroproteomica per la diagnosi precoce delle neoplasie*
Lo studio dell'insieme delle proteine e delle loro reciproche interazioni ("proteomica") ha acquistato in questi anni un ruolo fondamentale nella ricerca oncologica. L'analisi proteomica è oggi possibile mediante nuove metodiche di spettrometria di massa, messe a punto dal gruppo statunitense di L. Liotta ed E. Petricoin presso l'NIH e utilizzate con successo per valutare le modifiche del corredo proteico nel siero di pazienti affetti da neoplasie, specificamente nei tumori dell'ovaio. Questo corredo proteico, confrontato con quello di soggetti sani, ha rivelato interessanti differenze che hanno aperto la strada all'identificazione di nuovi marcatori precoci di malignità oncologica ed eventualmente nuovi bersagli terapeutici. Le informazioni derivate dalla sieroproteomica applicata ai tumori umani può consentire di individuare dei *pattern* predittivi per la diagnosi precoce e il trattamento personalizzato dei tumori. Il programma Italia-USA di Oncoproteomica si propone di applicare tali metodiche ad alcune neoplasie molto diffuse, mettendo in stretta collaborazione il gruppo statunitense di Liotta-Petricoin e i principali IRCCS e Centri Oncologici di ricerca italiani, coordinati dall'Istituto Superiore di Sanità.
Il programma prevede la raccolta di circa 11.000 sieri corredati da schede anamnestiche e di informazioni emato-chimiche provenienti da pazienti affetti da tumori della mammella, colon, ovaio, polmone, prostata, fegato, leucemie e da soggetti sani.

– *I microRNA: la nuova frontiera dell'oncologia*

I micro RNA (miR) sono dei piccoli RNA (21-25 nucleotidi) non codificanti capaci di inibire la sintesi di specifiche proteine attraverso una modulazione della stabilità e della efficienza traslazionale di specifici RNA messaggeri. I miR sono prodotti come trascritti primari (*long pri-miR*) processati successivamente da complessi enzimatici nucleari (Drosha) e citoplasmatici (Dicer) fino a produrre i maturi miR. È stato dimostrato che l'espressione dei miR è specifica per tessuti e per stadi di sviluppo, sia in modelli animali che nell'uomo, ma i meccanismi di produzione/maturazione dei miR e soprattutto le loro funzioni e specificità di azione su specifici bersagli sono attualmente oggetto di approfondito studio e di grande interesse, soprattutto nel campo oncologico.

– *Progetto cellule staminali e terapie cellulari rigenerative*

La terapia cellulare rappresenta l'ultima frontiera terapeutica per la cura di patologie degenerative, ad esempio di quelle causate da una riduzione del numero di cardiomiociti a seguito di infarto del miocardio, o da un alterato funzionamento degli stessi, come nel caso delle cardiomiopatie primarie. Queste malattie possono essere curate con la sostituzione delle cellule mancanti o alterate con altre ottenute da donatori sani istocompatibili o dallo stesso paziente. La terapia cellulare è quindi basata sul trapianto di cellule differenziate o in grado di differenziare in tipi e sottotipi diversi all'interno di specifici tessuti o organi bersaglio, contribuendo così a rigenerare la struttura degenerata. Negli ultimi anni, la terapia cellulare è stata oggetto di un enorme interesse, a seguito della possibilità di indurre *in vitro* la proliferazione e il differenziamento di cellule staminali embrionali-fetali, perinatali e di adulto. L'uso di queste cellule potrà consentire l'allestimento di cloni di cellule utili per i trapianti e la rigenerazione dei tessuti, la messa a punto di tecniche diagnostiche preventive per alcune malattie ereditarie, oltre che contribuire allo sviluppo di farmaci, di vaccini e di molecole di interesse terapeutico.

Resoconto attività 2005

– *Oncoproteomica: sieroproteomica per la diagnosi precoce dei tumori solidi (in particolare, cancro della mammella, del polmone e dell'ovaio).*

Sono state sviluppate due linee di ricerca. La prima, svolta in collaborazione tra l'NCI, l'ISS e l'Università di Padova, è stata focalizzata sulla sieroproteomica del carcinoma della mammella di stadio I. Mediante spettrometria di massa Seldi-Tof/Q-Star Plus sono stati individuati cinque picchi proteici differenziali rispetto ai controlli normali. In un successivo studio *blind* su > 100 pazienti, la sensibilità e la specificità del *pattern* proteico individuato è stata >80-90%, e quindi migliore di quella ottenuta mediante mammografia. La seconda linea di ricerca ha consentito la raccolta, in meno di un anno, di >2200 sieri da parte dei principali IRCCS e di altri Centri oncologici, relativamente alle neoplasie prescelte (mammella, colon, polmone, ovaio, epatocarcinoma, leucemie acute). La raccolta è stata effettuata secondo modalità rigorosamente controllate, validate mediante controllo di qualità da parte di enti non partecipanti al Programma. Entro la fine del '05 si prevede la raccolta di ~ 6000-9000 sieri, ciascuno corredato da schede dettagliate dei relativi dati clinici-laboratoristici. Questi dati sono raccolti in un *database* allestito presso l'ISS, accessibile ai Centri partecipanti.

Nel mese di aprile 2005, un primo gruppo di sieri, sono stati inviati dai Centri alla Biobanca di Milano, e quindi all'NCI. In particolare, sono stati inviati i sieri di cancri della mammella, per completare lo studio su dettagliato.

Inoltre, per favorire lo sviluppo del Programma Oncoproteomica, sono state varate le *fellowship* di otto ricercatori italiani, indicati dai Centri Oncologici partecipanti, da utilizzare per il primo anno presso l'NCI e per il secondo presso l'Istituto di appartenenza.

- *Micro-RNA (miR) e sequenze antisense: la nuova frontiera oncologica della diagnostica e della bioterapia molecolare.*

Gli studi sinora effettuati hanno confermato appieno l'ipotesi della straordinaria importanza di questa area di ricerca, sia a livello di indagini di base sia di prospettive cliniche oncologiche, a carattere diagnostico e terapeutico.

In questa sede, è solo possibile selezionare taluni dei risultati ottenuti.

Vanno segnalati gli studi di C. Croce *et coll.* sulla presenza di un *pattern* di espressione dei miR specifico della leucemia linfoide cronica, in particolare dei casi a prognosi sfavorevole. Questi risultati sono di potenziale utilizzo diagnostico e prognostico nel breve-medio termine.

Le indagini presso l'ISS hanno individuato due miR (221 e 222) che interagiscono specificamente con l'RNA del recettore *kit* (il principale recettore ematopoietico staminale, stimolato dallo "*stem cell factor*"), bloccando la traduzione dell'RNA stesso. L'overespressione di 221 e 222 determina un blocco della proliferazione staminale ed eritropoietica, associato ad una downmodulazione di *kit*. Fenomeni simili si osservano in diverse cellule tumorali, ad esempio nelle eritroleucemie *kit+* e nel GIST (*gastro-intestinal stromal tumor*, determinato da un'attivazione costitutiva di *kit*). All'inverso, il trattamento con inibitori del miR 221 e 222 (ad esempio, mediante sequenze *target* "*decoy*") determina una upmodulazione di *kit*. È quindi aperta la prospettiva di un utilizzo terapeutico di questi miR, tra l'altro assai maneggevoli e pressoché sprovvisti di tossicità. Ovviamente, i risultati ottenuti presso l'ISS sono oggetto di brevetto.

- *Progetto Cellule Staminali e Terapie Cellulari Rigenerative.*
Questo Progetto è ancora in fase preliminare.

Attività programmata 2006

- *La sieroproteomica per la diagnosi precoce delle neoplasie.*

Nel corso del 2006 si procederà all'ulteriore raccolta di sieri e di schede da parte dei Centri, con relativo stoccaggio e spedizione dei sieri alla Biobanca dell'Ospedale Maggiore di Milano e immissione delle schede nel *database* da parte del Coordinamento. Verranno inoltre curate le spedizioni di campioni in USA dove verranno analizzate nel centro di spettrometria di massa del NCI di Bethesda. Presso tale centro verranno continuate le analisi di spettrometria di massa dei sieri del Progetto Pilota, confrontati con i sieri da soggetti sani, per identificare un *pattern* di proteine che differenziano i soggetti neoplastici da quelli sani.

- *I microRNA: la nuova frontiera dell'oncologia.*

Nel corso del 2006 si cercherà di raggiungere gli obiettivi specifici di questo programma di ricerca che sono: i) la caratterizzazione del *pattern* di espressione di miRNA e RNA antisense nelle cellule normali e nelle neoplasie; ii) la definizione del loro ruolo nella trasformazione e nella progressione neoplastica. Il programma è basato su una solida ed efficace collaborazione tra gruppi di ricerca negli USA (laboratori TJU ed NCI) e in Italia (ISS, laboratori afferenti al *network* di IRCCS oncologici definito come "Alleanza contro il Cancro").

Malattie infettive di grande rilievo sociale e di possibile utilizzo con armi non convenzionali. Problemi di salute pubblica

Al contrario di pochi anni fa, quando un atto di bioterrorismo era ritenuto piuttosto remoto, gli eventi recenti e la situazione internazionale complessiva, inducono oggi a ritenere che un attacco bioterroristico anche su larga scala sia di fatto possibile. In questo contesto, tutte le istituzioni di ricerca internazionali sono impegnate da un lato nella validazione puntuale degli strumenti di lotta ai vari agenti di classe A ora esistenti, e contemporaneamente alla individuazione delle deficienze e alla programmazione di ricerche atte a colmare queste deficienze il più rapidamente possibile. Strumento da tutti ritenuto comunque essenziale per la riuscita di questa strategia è una forte collaborazione internazionale che integri e sinergizzi le forze in campo, come anche riconosciute da tutte le istituzioni finanziatrici di grandi progetti internazionali nel settore (NIH, Programmi Quadro Europei, ecc.).

Brillante esempio di questo approccio è stato il successo goduto dai laboratori del *network* WHO per la lotta alla SARS, certamente non un attacco bioterroristico ma con in più tutte le caratteristiche di un nuovo e inaspettato evento epidemico su scala globale.

Fra tutti i possibili agenti di attacco bioterroristico, *Bacillus anthracis* e precisamente le sue forme sporali, è unanimemente riconosciuto come uno dei più probabili per un attacco su larga scala in futuro per quasi tutte le caratteristiche che un buon agente bioterroristico “deve” avere e cioè :

- indurre una patologia grave a basso dosaggio per via inalatoria;
- avere caratteristiche di elevata resistenza ambientale;
- non essere prevenibile da un efficace e sicuro vaccino esistente;
- poter essere preparato in grandi quantità;
- poter essere conservato e disseminato con facilità;
- avere un corto periodo di incubazione (nella forma inalatoria).

Inoltre, è da considerare che un attacco bioterroristico con antrace è già avvenuto con successo (lettere all’antrace negli Stati Uniti) sia pure non nelle forme e negli scenari catastrofici più comunemente immaginati.

Quantunque molte siano le conoscenze già possedute sull’agente della malattia e sulla malattia stessa, esistono molti *gap* di conoscenze che è necessario affrontare organicamente per poter disporre di strumenti efficaci e sicuri di prevenzione e controllo di un eventuale attacco bioterroristico.

Oltre a nuove ricerche di base, è soprattutto necessario traslare l’ampia mole di ricerche già in corso in utili strumenti di lotta, attraverso progetti di ricerca applicata e operativa, in particolare mirati a generare:

- Test diagnostici sicuri e affidabili sul campo e in laboratorio;
- Farmaci innovativi;
- La preparazione laboratoristica a un eventuale attacco.

La sinergia fra i migliori gruppi di ricerca italiana e americana impegnati nel settore o reclutati *ex novo* potrà costituire il valore aggiunto per la rapida generazione di nuovi strumenti. La collaborazione pubblico-privato con meccanismi di cofinanziamento è anche da ritenersi fondamentale, con l’individuazione e la generazione di piattaforme e reti integrate di validazione diagnostica e *high-throughput screening* di nuovi prodotti terapeutici nonché per la generazione di vaccini e anticorpi terapeutici.

Resoconto attività 2005

Il Progetto Antrace è organizzato in otto linee di ricerca dirette ognuna da ricercatori italiani che appartengono sia all’ISS e altri Istituti di ricerca sanitaria, sia a varie università italiane.

Le linee di ricerca sono:

- antrace umano: diagnosi e tipizzazione molecolare;
- tossine, anticorpi antigenizzati e vaccini;
- diagnosi dell'antrace veterinaria in modelli sperimentali;
- sorveglianza dell'antrace veterinario;
- antrace e ricerca nel campo biomilitare;
- anticorpi antitossine e peptidi per immunoterapia dell'antrace;
- peptidi mimetici per la terapia dell'antrace;
- tossine dell'antrace: meccanismi d'azione.

Nel primo anno di attività, il Progetto ha cominciato con la pianificazione, l'integrazione e ogni specifica attività di ricerca in ognuna delle quali ci sono stati progressi significativi, esemplificati dalle pubblicazioni scientifiche in riviste qualificate, partecipazioni e incontri nazionali e internazionali e attività di formazione.

In particolare è stato messo a punto un complesso sistema di tipizzazione degli isolati italiani di *Bacillus anthracis* confrontato con *database* internazionale.

Inoltre sono state validate tecniche qualitative in *real time* PCR e sono stati fatti notevoli progressi nella conoscenza dell'attività delle tossine di antrace e della possibilità di neutralizzarne l'azione attraverso anticorpi e frammenti anticorpali (alcuni dei quali brevettati).

Attività programmata 2006

La ricerca proseguirà lungo tutte le linee e gli obiettivi del Programma, mirando in particolare all'ottenimento dei seguenti prodotti:

- la generazione di tecnologie per la tipizzazione molecolare di ceppi italiani e internazionali di antrace proveniente da varie regioni europee con la formulazione di un possibile albero genealogico;
- un raffinamento delle ricerche di diagnosi rapida di *Bacillus anthracis* da campioni biologici, soprattutto con lo scopo di ottenere metodologie *user-friendly* per il laboratorio microbiologico di 1° e 2° livello;
- la generazione di peptidi e frammenti anticorpali capaci di neutralizzare il complesso tossico dell'antrace. In quest'ottica, sono assai promettenti e da sviluppare alcuni prodotti tetramerici neutralizzanti già ottenuti nel primo periodo di ricerca;
- uso di anticorpi e frammenti neutralizzanti, le tossine dell'antrace in modelli animali.

La riapprovazione e il rifinanziamento del Progetto Antrace nell'ambito dei progetti Italia-Usa costituisce un'ottima base per il raggiungimento degli obiettivi attesi.

Progetti tra Istituto Superiore di Sanità e National Institutes of Health

L'accordo con gli NIH rappresenta un importante traguardo per l'ISS per la straordinarietà e la peculiarità del rapporto di collaborazione tra i due gemelli NIH americani e ISS poiché si tratta di un accordo che per la prima volta viene coperto finanziariamente da entrambi i paesi. Una nuova intesa che promuove progetti di ricerca su numerosi e importanti settori della biomedicina quali: le neoplasie, le malattie cardiovascolari, le malattie respiratorie, la salute della donna, le neuroscienze (che includono le malattie neurodegenerative), la ricerca sulla riabilitazione in campo medico, le malattie infettive (tra cui l'infezione da HIV/AIDS) e il tabagismo. L'accordo riserva, inoltre, una parte delle risorse per la creazione di *partnership* in paesi terzi finalizzate a ridurre le disuguaglianze nella salute a livello globale. Attraverso questa azione, poi, oltre a valorizzare le eccellenze, si creano sinergie in modo nuovo con la mobilità dei ricercatori e lo scambio delle competenze, che sono parte essenziale di quest'accordo,

formano una nuova importante rete per l'avanzamento della conoscenza e costituiscono un investimento importante e sistematico sui nuovi talenti in base a una visione comune della politica della ricerca.

Nell'ambito di tale collaborazione è stato individuato, valutato e deliberato, da parte del Comitato Scientifico dell'ISS, il finanziamento di circa 70 progetti che verranno portati avanti nelle varie strutture dipartimentali di Ambiente e connessa prevenzione primaria, Biologia cellulare e neuroscienze, Ematologia, oncologia e medicina molecolare, Farmaco, Malattie infettive, parassitarie ed immunomediata, Sanità alimentare ed animale, Tecnologie e salute e nel Centro nazionale di epidemiologia, sorveglianza e promozione della salute insieme agli Istituti degli NIH di seguito elencati: *National Cancer Institute; National Institute of Allergy and Infectious Diseases; National Institute of Environmental Health Sciences; National Institute for Alcohol abuse and Alcoholism; National Institute of Neurological Disorders and Stroke; National Institute on Drug Abuse; National Institute of Mental Health; National Institute of Child Health and Human Development; Department of Transfusion Medicine; National Heart, Lung and Blood Institute; National Eye Institute; National Human Genome Research Institute; National Institute of Aging; National Center for Complementary and Alternative Medicine; National Center for Medical Rehabilitation Research.*

Altri progetti sono stati avviati tra l'ISS e istituzioni americane finanziate dagli NIH quali: *John Hopkins University; Public Health Research Institute; Washington University School of Medicine; Rockefeller University; University of Illinois at Chicago; University School of Medicine Boston; Vanderbilt University Medical Center.*

Nel corso del 2006 è programmato un convegno per analizzare i risultati conseguiti nell'ambito della collaborazione Italia/USA e più in particolare tra l'Istituto Superiore di Sanità e i National Institutes of Health, al fine anche di una sua possibile prosecuzione; a tale convegno parteciperanno anche i *partner* americani.

Accordo ISS-Chiron per lo sviluppo di un vaccino combinato contro l'HIV/AIDS

Nel 2002 è stato ratificato tra l'ISS e Chiron Corporation un accordo scientifico finalizzato allo sviluppo di vaccini di seconda generazione contro l'HIV/AIDS comprendenti Tat in associazione ad altri antigeni di HIV. Obiettivo dell'accordo, finanziato pariteticamente dal Ministero della Salute e da Chiron, è la creazione di una *task force* accademico-industriale, competitiva a livello internazionale, volta a sviluppare ricerche innovative nel campo dei vaccini contro l'AIDS. L'accordo è fondato su risultati ottenuti indipendentemente da Chiron e ISS con i rispettivi vaccini. Il contributo di ISS è basato sull'esperienza pluriennale nel vaccino basato sulla proteina Tat, di cui si è recentemente conclusa con successo la fase I di sperimentazione clinica preventiva e terapeutica di fase I in Italia, per valutarne l'innocuità e l'immunogenicità. Chiron sta concludendo la fase I della sperimentazione clinica di un vaccino preventivo basato sulla molecola trimerica $\Delta V2$ Env, un immunogeno di nuova concezione in grado di indurre anticorpi neutralizzanti *cross-clade* grazie a una migliorata esposizione del dominio responsabile del riconoscimento dei co-recettori per HIV (Env V3 loop).

L'accordo prevede studi preclinici, condotti in primati non-umani, volti a valutare l'efficacia della combinazione degli approcci vaccinali ISS e Chiron. Il programma di ricerca e sperimentazione è organizzato in sei fasi distinte e consecutive: 1) produzione di antigeni e di sistemi di *delivery*; 2) sfruttamento di Tat come adiuvante per Env e identificazione delle formulazioni appropriate per gli antigeni combinati; 3) studi vaccinali preclinici parenterali e

mucosali nel modello murino; 4) *trial* preclinici di efficacia mucosali e sistemici nei primati non umani; 5) produzione in condizioni GLP del candidato vaccinale selezionato per i *trial* clinici di fase I; 6) studi di tollerabilità e immunogenicità del candidato vaccinale prodotto in condizioni GLP per il futuro sviluppo GMP e per l'approvazione dell'uso nell'uomo.

Parte di questi obiettivi è già stata raggiunta. In particolare, nel biennio 2003-2005 l'ISS ha prodotto e validato la proteina Tat di HIV -1 (biologicamente attiva) e un mutante di Tat (Tatcys22), privo di attività transattivante. Chiron ha prodotto antigeni strutturali virali, tra cui la proteina Gag di HIV-1 e il DNA di HIV-1 esprimente Gag, il DNA e la proteina ΔV2 Env, peptidi di HIV -1 Env, la proteina Gag di SIV mac239, e adiuvanti mucosali (MF59, LT-K63). Grazie all'accordo, sono stati compiuti nel Dipartimento di Malattie infettive, parassitarie e immunomediate esperimenti di immunizzazione combinando Tat di HIV-1 e Gag di SIV o Tat e ΔV2-Env, nel topo e nella scimmia. Gli studi vaccinali condotti nel topo hanno evidenziato che l'associazione Tat/Env è superiore alla combinazione di Tat con Gag o di Tat con Env e Gag nell'indurre risposte immuni umorali e cellulari specifiche. Questi studi hanno indicato che la proteina Tat ha la capacità di polarizzare in senso Th1 la risposta immune cellulare, confermando dati recenti emersi dalle ricerche del Centro Nazionale AIDS.

È attualmente in corso un protocollo di vaccinazione con Tat ed Env nella scimmia in cui viene valutata la combinazione di una fase di immunizzazione sistemica con Tat/Env a una successiva fase di *boosting* mucosale.

Resoconto attività 2005

Scopo dell'accordo ratificato nel 2002 tra l'ISS e Chiron *Corporation* è lo sviluppo di un vaccino innovativo rappresentato dall'associazione del vaccino ISS (Tat), con il vaccino Chiron (ΔV2 Env), entrambi in fase avanzata di sperimentazione clinica. Il programma scientifico è articolato nei seguenti obiettivi.

1) Produzione di antigeni e di sistemi di veicolazione.

L'ISS ha prodotto e validato la proteina Tat di HIV -1 (biologicamente attiva) e un suo mutante (Tatcys22), privo di attività transattivante. Chiron ha prodotto antigeni strutturali virali, tra cui la proteina Gag di HIV-1 ed il DNA di HIV-1 esprimente Gag, il DNA e la proteina ΔV2 Env, peptidi di HIV -1 Env, la proteina Gag di SIV mac239, e adiuvanti mucosali (MF59, LT-K63).

2) Sfruttamento di Tat come adiuvante per Env e/o Gag ed identificazione delle formulazioni appropriate per gli antigeni combinati.

Cellule dendritiche derivate da monociti del sangue periferico (MDDC) sono state utilizzate per studiare l'*uptake* di Tat da solo o in combinazione con Env o Gag e la loro attivazione in risposta a Tat. I risultati indicano che non c'è interferenza quando Tat è associato a Gag o ad Env, né in termini di *uptake*, né per quanto concerne l'attivazione delle MDDC da Tat.

3) Studi preclinici sul vaccino somministrato nel modello murino per via parenterale e mucosale.

Nel 2005 sono stati condotti due studi, nel primo gli animali sono stati immunizzati sottocute, con l'adiuvante Alum, nel secondo, nel quale è stata valutata anche l'associazione con il Gag di SIV, l'immunizzazione è stata per via intranasale, con l'adiuvante LT-K63. Queste associazioni sono risultate sicure per entrambe le vie di somministrazione. Il primo studio ha dimostrato che Tat aumenta la produzione di anticorpi contro ΔV2 Env ed espande il repertorio epitopico ristretto dagli antigeni di istocompatibilità di classe I.

Il secondo protocollo ha confermato l'adiuvanza di Tat e indicato che l'associazione tripla è immunogenica e genera risposte più ampie (cioè un numero maggiore di epitopi è riconosciuto) che sono sia del tipo Th-0 (Env) che del tipo Th-1 (Tat e Gag).

4) *Sperimentazioni precliniche sull'efficacia del vaccino somministrato per via sistemica e mucosale in primati non umani.*

È stata valutata la combinazione di Tat di HIV-1 con Gag di SIV, e di Tat con Env di HIV-1. Alum è stato utilizzato come adiuvante. Il primo studio ha rivelato che Gag, quando associato a Tat, è scarsamente immunogenico e interferisce con la risposta immune diretta contro Tat. Si è pertanto deciso di concludere il protocollo e di concentrarsi sulla combinazione di Tat e ΔV2 Env.

Quest'ultima ha indotto una forte risposta immunitaria sia a Tat che ad Env. L'associazione di Tat e ΔV2 Env è risultata superiore a ΔV2 Env da solo o associato al mutante Tatcys22 nell'induzione di anticorpi anti-Env, sia in termini quantitativi che qualitativi (attività neutralizzante). Nel 2006 si procederà a un *boost* finale prima del *challenge* per via intrarettale per valutare l'efficacia.

5) *Produzione GLP del candidato vaccinale selezionato per le sperimentazioni cliniche di fase I.*

La Chiron ha preparato entrambi i sottotipi B e C delle proteine di Env (ΔV2 Env) in condizioni di GMP e sono disponibili per test preclinici insieme con il candidato vaccinale Tat prodotto in condizioni di GLP dall'ISS.

Attività programmata 2006

Per l'anno 2006 il programma continuerà, secondo gli obiettivi indicati nell'accordo, al fine di raggiungere lo scopo dell'identificazione di un vaccino combinato contro l'HIV-1/AIDS. In particolare sono previsti, in collaborazione con Chiron, nuovi studi sia di base che preclinici in topi, conigli e scimmie, volti a caratterizzare numerosi aspetti di questa associazione di antigeni, da quelli biochimici e molecolari alla rilevanza nella patogenesi (infezione primaria e cronica), con l'obiettivo di ottenere informazioni rilevanti allo sviluppo di un vaccino preventivo e terapeutico. In particolare, verranno pertanto condotti studi preclinici tossicologici su piccoli animali e protocolli di vaccinazione nei vari modelli animali menzionati con lo scopo di valutare l'innocuità, l'immunogenicità e l'efficacia di varie formulazioni vaccinali basate sulla combinazione di Tat e Env di HIV-1 somministrati per via sistemica insieme ad adiuvanti sistemici e mucosali (quali Alum o MF59), o per via mucosale insieme ad adiuvanti mucosali (LT-K63). A questo riguardo sarà necessario sviluppare e standardizzare metodiche atte a misurare parametri di immunità naturale ed acquisita sia a livello sistemico che mucosale. In particolare verrà valutata l'attività di adiuvanza di Tat su cellule monocitarie, dendritiche, endoteliali, NK, B, e T. I meccanismi dell'adiuvanza Tat-dipendente verranno valutati a livello di immunità adattativa e nell'impatto sulla risposta umorale (tipologia delle classi e sottoclassi di Ig indotte, fine specificità epitopica, attività neutralizzante, ADCC, aumento della sopravvivenza e quindi della memoria di linfociti B antigene specifici) e cellulare (fenotipo T *helper* indotto, induzione di cellule T regolatorie, induzione e mantenimento della memoria di cellule citotossiche, modificazioni della quantità e qualità del repertorio epitopico ristretto dagli antigeni di istocompatibilità di classe I) in risposta a Tat ed Env.

Verrà inoltre effettuata la caratterizzazione di ceppi virali atti a valutare l'efficacia dei vaccini nel modello della scimmia. Lo scopo di questa sperimentazione è l'identificazione di risposte innate e/o adattative che correlino con un buon controllo dell'infezione, al fine di poterle riprodurre in corso di vaccinazione e dopo *challenge*.