- **Modelli chimerici in topi SCID per la ricerca sul vaccino contro HIV/AIDS. Valutazione del ruolo di citochine (in particolare ifn di tipo 1) come adiuvanti per lo sviluppo di strategie vaccinali anti-HIV-1**

Responsabile scientifico

Filippo Belardelli (Laboratorio di Virologia)

Sintesi dell'attività svolta

Gli studi recenti, svolti nell'ambito di questo progetto, hanno evidenziato che cellule dendritiche generate da monociti CD14+ in tre giorni, in presenza di IFN di tipo I e GM-CSF esprimono alti livelli di HLA-DR, molecole co-stimolatorie (CD40, CD80, CD86), e molecole specifiche del differenziamento di cellule dendritiche (CD83). Inoltre, queste cellule sono particolarmente efficaci nell'induzione di reazioni MLR allogene, con produzione di alti livelli di IFN- γ . Queste cellule sono state, quindi, utilizzate in esperimenti di immunizzazione di topi SCID ricostituiti con linfociti umani autologhi (topi hu-PBL-SCID), dopo *pulsing* con HIV-1 inattivato con Aldrithiol-2 (AT-2). La generazione di una risposta anti-HIV è stata dimostrata dalla comparsa di Ig umane nel siero delle xenochimere verso la gp41 di HIV, verificata in test ELISA. Inoltre, saggi di Western blotting hanno evidenziato una risposta anticorpale verso un ampio spettro di proteine di HIV, al contrario di quanto avveniva in xenochimere immunizzate con la stessa procedura, ma con cellule dendritiche preparate secondo la metodologia classica (GM-CSF e IL-4). L'analisi isotipica degli anticorpi ha dimostrato una polarizzazione della risposta verso il tipo Th-1. Nel complesso, i risultati suggeriscono che IFN di tipo I è in grado di indurre in tre giorni la maturazione di monociti in cellule dendritiche altamente efficaci nella capacità di generare risposte immuni.

- **Strategie vaccinali preventive e terapeutiche contro l'AIDS nel modello di *Macaca fascicularis***

Responsabile scientifico

Barbara Ensoli (Laboratorio di Virologia)

Sintesi dell'attività svolta

Sono state completate:

- la vaccinazione con proteina o DNA di HIV-Tat. Nove delle dodici scimmie vaccinate sono risultate protette dopo challenge;
- la fase di immunizzazione di due nuovi protocolli di vaccinazione: proteina Tat per via intradermica, e DNA di Tat wild-type o mutato in cys22 o il vettore pCV contenente sequenze CpG non metilate o metilate per via intramuscolare;
- la vaccinazione intramuscolare con DNA di HIV-Tat da solo o con SIV-Gag e HIV-Env;
- la vaccinazione con vettori virali (MVA) o combinazioni di vettori plasmidici e virali esprimenti geni regolatori e strutturali di SIV;
- la vaccinazione con virus attenuato (SIV/C8);
- la vaccinazione con Tat e adiuvanti mucosali (LT);
- la preparazione di vettori adenovirali esprimenti Gag, Env, e Tat per vaccinazione mucosale;
- la generazione di cellule dendritiche per scopi vaccinali;
- la preparazione e caratterizzazione funzionale di un vettore erpetico apatogeno contenente il gene Tat di HIV;
- la preparazione di nanoparticelle;
- la preparazione e immunogenicità nei topi di vettori contenenti Nef, Gag e Rev.

PROGETTO DI RICERCA DI LOTTA ALL'HIV/AIDS IN UGANDA

Responsabile scientifico

Silvia Declich (Laboratorio di Epidemiologia e Biostatistica)

Sintesi dell'attività svolta

Il progetto, avviato dal 1993, consiste in un sito italiano per la ricerca epidemiologica, virologica e immunologica dell'infezione da HIV in Uganda, paese ad alta incidenza per l'HIV, e si avvale anche di

una componente di sanità pubblica, sostenuta da un finanziamento del Ministero degli Esteri, che ha reso l'iniziativa unica nel suo genere.

L'attività condotta nel 2000 ha prodotto risultati significativi nei vari settori di azione. La fase di *HIV vaccine preparedness* è continuata nel 2000 con:

- uno stage di due ricercatori ugandesi presso l'Istituto;
- la stesura di protocolli per studi epidemiologici diretti alla identificazione di coorti appropriate per una sperimentazione vaccinale;
- la prosecuzione degli studi di prevalenza in vari gruppi di popolazione;
- il rafforzamento del sistema di sorveglianza sentinella tra le donne che accedono al Servizio prenatale dell'Ospedale Lacor (riconoscimento ufficiale del sito, ampliamento della sorveglianza a zone rurali del Distretto di Gulu, stima della prevalenza dell'HIV nella popolazione generale);
- studi preparatori a carattere virologico e immunologico.

Sul tema di una possibile associazione tra HIV e malaria, che recentemente ha assunto grande interesse internazionale, è stato condotto uno studio caso-controllo che sostiene una interazione tra le due infezioni.

Una particolare enfasi è stata posta negli studi di valutazione, in particolare sono stati condotti:

- uno studio per la valutazione degli interventi preventivi (educazione sanitaria e *voluntary counselling and testing*) realizzati tra gli studenti;
- uno studio per valutare gli effetti collaterali dei farmaci anti-TB in soggetti HIV;
- l'avvio, presso l'Ospedale Lacor (uno dei cinque siti selezionati dal Ministero della Sanità), di un intervento pilota per la prevenzione della trasmissione verticale al fine di verificare l'efficacia e la fattibilità di un intervento globale per la prevenzione della trasmissione materno-fetale dell'HIV, inserito in un servizio prenatale ospedaliero.

TRASMISSIONE MATERNO-FETALE E ALTRI STUDI CLINICI SULL'INFEZIONE DA HIV - STUDIO PETRA

Responsabile scientifico

Marina Giuliano (Laboratorio di Virologia)

Sintesi dell'attività svolta

Nel corso del 2000 sono state ultimate le attività relative allo studio PETRA, uno studio clinico, multicentrico, randomizzato per la valutazione di tre regimi terapeutici per la prevenzione della trasmissione materno-fetale dell'HIV. È stata effettuata la verifica di tutte le informazioni cliniche e di laboratorio per permettere l'analisi dei dati. I dati sono stati presentati nel corso della XIII International AIDS Conference di Durban, Sudafrica, 9-14 luglio 2000. Sono state effettuate due riunioni del Trial Management Committee dello studio per la discussione dei dati.

Sono iniziate le attività per la realizzazione di un nuovo studio per la valutazione della profilassi postnatale per la prevenzione della trasmissione verticale durante il periodo dell'allattamento nei Paesi in via di sviluppo. È stato finalizzato il protocollo per questo nuovo studio che è stato denominato SIMBA (*Stopping Infection from Mother-to-child via Breastfeeding in Africa*).

PROGETTI DI INTERVENTO PER LA LOTTA ALLA DROGA

Si riportano, qui di seguito, alcuni dei progetti afferenti al Programma di ricerca ISS/Presidenza del Consiglio dei Ministri-Dipartimento Affari Sociali, finanziati sul Fondo nazionale di intervento per la lotta alla droga (articolo di spesa 513 “Spese per l’attuazione di programmi e di interventi mirati per la lotta e la prevenzione dell’uso di sostanze stupefacenti e psicotrope” del bilancio dell’Istituto) di cui al DPR 309 del 9 ottobre 1990 e successive modifiche:

- **Monitoraggio droghe sintetiche e risk assessment: proposta di un riferimento centrale con specifiche competenze di ricerca integrata a supporto delle amministrazioni e del territorio**

Responsabile scientifico

Teodora Macchia (Laboratorio di Biochimica Clinica)

Sintesi dell’attività svolta

Il Progetto è parte del Programma di ricerca dell’Istituto sul Fondo Nazionale di intervento per la lotta alla droga. I primi risultati si riconducono a una ricognizione su 25 punti analitici del territorio (tossicologie forensi, PMP, laboratori delle Forze dell’ordine; dogane, unità analitiche presso strutture sanitarie) dalla quale è emerso che solo il 70% del circolante come ecstasy risponde all’atteso con uno o più principi attivi e che il LOGO non è più identificativo di una sola sostanza o relativa purezza. Altro dato acquisito è che non poche compresse risultano contraffatte. Si pone di conseguenza ancora più pressante la necessità di un monitoraggio del territorio. A tale riguardo sono stati identificati gli impedimenti normativo-procedurali attualmente in atto. La problematica e il progetto rientrano nell’accordo europeo “Joint Action sulle droghe sintetiche”, siglato anche dall’Italia, che è il fulcro dell’attività Early Warning System sostenuto dall’Osservatorio Europeo sulle Droghe e le Tossicodipendenze (EMCDDA) di Lisbona. Il Punto Focale Italiano (presso il Dipartimento degli Affari Sociali della Presidenza del Consiglio dei Ministri), riferimento italiano dell’EMCDDA, ha affidato il coordinamento nazionale della Joint Action sulle droghe sintetiche alla responsabile del presente Progetto.

- **Progetto nazionale per la formazione del personale delle discoteche ai fini della prevenzione dell’uso di sostanze psicotrope tra i giovani**

Responsabile scientifico

Teodora Macchia (Laboratorio di Biochimica Clinica)

Sintesi dell’attività svolta

Il progetto, che è parte del Programma di ricerca ISS sul Fondo Nazionale di intervento per la lotta alla droga, è stato richiesto all’Istituto a seguito della realizzazione di un Protocollo di intesa tra Governo e SILB per la costruzione di interventi mirati alla salute e alla sicurezza. Sono stati realizzati due incontri di studio sulle diverse realtà territoriali.

- **Realizzazione di un sistema pilota di monitoraggio analitico e osservazionale sulle droghe sintetiche, le loro caratteristiche, le modalità di consumo, l’impatto sui servizi sanitari e sociali, le conseguenze sulla salute e sulla sicurezza**

Responsabile scientifico

Teodora Macchia (Laboratorio di Biochimica Clinica)

Sintesi dell’attività svolta

Il progetto di ricerca, finanziato sul Fondo Nazionale di lotta alla droga. Nel corso del 2000 sono stati affrontati molteplici aspetti sanitari, sociali, di ricerca e intervento nel campo delle droghe sintetiche. Tra le attività svolte: messa a punto e utilizzo di modelli in uno studio pilota sulla rilevazione clinica dei casi afferenti a Ser.T di nove regioni (dati raccolti in fase di elaborazione finale); realizzazione di uno studio pilota in quattro regioni sui disturbi sessuali come cofattori di rischio della tossicodipendenza (su 228 soggetti studiati, la prevalenza dei disturbi considerati è stata del 25% contro il 2,1% della popolazione generale); avvio di studi nelle principali discoteche del territorio nazionale.

PROGETTI EFFETTUATI SU BASE DI CONVENZIONE

Larga parte della ricerca condotta in Istituto si svolge in cooperazione con enti nazionali e internazionali aventi analoghi fini (ai sensi dell'art. 2 della Legge n. 519/1973). Tale attività si concretizza nello sviluppo di progetti svolti con tali enti su base di convenzione, approvati e finanziati nel 2000 o in anni precedenti e rifinanziati negli anni successivi.

Di ciascun progetto si riportano le linee di ricerca di cui siano responsabili ricercatori dell'Istituto, corredate da una sintesi, ove disponibile, dell'attività svolta nell'anno di riferimento, sia per i progetti operativi anteriormente al 2000 che per quelli in fase di avvio nel 2000.

Per alcuni progetti approvati nel 2000, ma non attivati, non è stata riportata alcuna sintesi.

AMMINISTRAZIONI CENTRALI

Ministero degli Affari Esteri

- **Appoggio al programma nazionale di lotta all'AIDS in Uganda**

Responsabile scientifico

Donato Greco e Silvia Declich (Laboratorio di Epidemiologia e Biostatistica)

Sintesi dell'attività svolta

Il programma di intervento di sanità pubblica, che dall'ospedale Lacor si è esteso al distretto di Gulu e ad altri distretti del Nord Uganda, ha condotto le attività in tre direzioni principali:

- il rafforzamento dei servizi per la diagnosi dell'HIV/MST, per la gestione clinica dei pazienti HIV e con MST e per la loro assistenza nella comunità;
- gli interventi preventivi con attività di informazione, mobilitazione e educazione sanitaria sull'HIV/MST per i pazienti dell'ospedale, per gli studenti e gli insegnanti delle scuole del distretto di Gulu, e per altri gruppi di popolazione; la promozione del Voluntary Counselling and Testing (VCT); il supporto alla diagnosi e cura delle MST; la prevenzione della trasmissione verticale dell'HIV.
- il monitoraggio delle infezioni da HIV nel distretto di Gulu e in altri distretti del Nord Uganda (sistemi informativi, sorveglianza sentinella e notifica).

Infine, si è posta particolare attenzione alle attività di formazione del personale sia con la partecipazione a corsi, seminari e convegni, che con la formazione in servizio, che infine con l'accesso all'informazione biomedica internazionale.

- **Centro di Formazione Internazionale di Management Sanitario (International Course for Health Management - ICHM)**

Responsabile scientifico

Giuliano D'Agnolo (Laboratorio di Biologia Cellulare)

Responsabile esecutivo

Ranieri Guerra (Segreteria per le Attività Culturali)

Sintesi dell'attività svolta

Sin dal 1986, su raccomandazione del Gruppo Consultivo Sanitario e su analogo stimolo proveniente dalla World Health Organization, l'allora Dipartimento per la Cooperazione allo Sviluppo indicò a livello prioritario la creazione in Italia di un polo tecnico-scientifico di livello internazionale ad orientamento sanitario pubblico che, coerentemente con il cotevole e sempre crescente impegno finanziario, umano e tecnico della cooperazione italiana nell'ambito specifico, potesse attuare e condurre attività di ricerca e formazione avanzate. In tal senso, la Direzione Generale per la Cooperazione allo Sviluppo affidò all'Istituto Superiore di Sanità il mandato per la costituzione di un

Corso Internazionale per Managers di Sanità Pubblica a livello di distretto nei Paesi in Via di Sviluppo (PVS).

Nell'anno 2000 il corso è stato ridenominato come Master Internazionale per il Management dei Servizi Sanitari includendo tra i partecipanti professionisti che provengono dai PVS, da Paesi Emergenti (Cina, Viet-Nam) e in via di transizione (Paesi dell'Est Europeo), nonché dai professionisti italiani della cooperazione tecnica.

L'attività consiste nella costruzione di un percorso formativo ampio e differenziabile, basato su moduli didattici fruibili parzialmente in aula e parzialmente a distanza, organizzato sull'uso sperimentale di metodologie e tecnologie disponibili in ambiti non sanitari o in collaudo in sede di servizio sanitario nazionale italiano a cura dell'ISS.

Il Centro si articola, oltre al Corso Master, su due ulteriori componenti fondamentali: la ricerca applicata in loco e la collaborazione tecnico-scientifica con entità di formazione in sanità pubblica e gestione dei servizi sanitari.

La durata dell'iniziativa è stata di 12 mesi a partire dal perfezionamento amministrativo della convenzione, anche se l'ISS ne prevede la gestione per un arco temporale più lungo a valere sulle proprie risorse interne, per garantire la completa fruibilità a distanza dei moduli didattici prodotti.

- **Programma di supporto tecnico-scientifico alla funzione di shepherdship della sanità pubblica nell'ambito del processo di pace arabo-israeliano**

Responsabile scientifico

Giuseppe Benagiano (già Direttore Istituto Superiore di Sanità)

Responsabile tecnico

Ranieri Guerra (Segreteria per le Attività Culturali)

Sintesi dell'attività svolta

La durata dell'iniziativa, inizialmente prevista per due anni e avviata nel 1997, è stata prorogata, soprattutto a causa delle condizioni locali di interruzione episodica delle attività oggetto del sostegno tecnico-scientifico, fino alla fine dell'anno 2000.

Sono stati realizzati seminari e riunioni tecniche sia in loco che in Italia ed è stato redatto un testo in fase di stampa che riassume e analizza l'intera storia della collaborazione italo-palestinese in ambito sanitario. È stato inoltre approntato il materiale per la pubblicazione elettronica su supporto ottico di tutta la documentazione settoriale normativa e tecnica per cui l'ISS ha fornito il proprio contributo all'autorità nazionale palestinese. Si è infine fornita consulenza alla costruzione del sito web del sector working group in sanità pubblica, che riassume le attività delle cooperazioni sanitarie internazionali, della Banca Mondiale e delle agenzie internazionali specializzate. Il costo complessivo dell'iniziativa era quantificato in lire 528.000.000, totalmente a carico della DGCS del Ministero degli Affari Esteri.

Ministero dell'Ambiente e Tutela del Territorio

- **Aspetti igienico-sanitari dell'inquinamento atmosferico nelle aree urbane**

Responsabile scientifico

Angelo Carere (Laboratorio di Tossicologia Comparata ed Ecotossicologia)

Il progetto si articola nei seguenti sottoprogetti:

- **Valutazione dei livelli di esposizione a microinquinanti ad alta rilevanza tossicologica nelle aree urbane: studio-pilota per la individuazione delle proprietà e definizione dell'approccio metodologico**

Responsabile scientifico

Alessandro di Domenico (Laboratorio di Tossicologia comparata ed Ecotossicologia)

- **Effetti sulla salute dell'inquinamento atmosferico nelle aree urbane**

Responsabile scientifico

Riccardo Crebelli (Laboratorio di Tossicologia comparata ed Ecotossicologia)

– **Caratterizzazione chimica e tossicologica delle emissioni da carburanti alternativi per il trasporto pubblico nelle aree urbane**

Responsabile scientifico

Luigi Turrio Baldassarri (Laboratorio di Tossicologia comparata ed Ecotossicologia)

Sintesi dell'attività svolta

Nell'anno 2000, a circa un anno dalla sua conclusione, il Progetto, articolato in tre Sottoprogetti, ha portato avanti le ricerche previste nel programma. In particolare, nell'ambito del primo Sottoprogetto sono proseguiti gli studi di monitoraggio del particolato (PM10 e PM2,5) "indoor" e "outdoor" e di metalli pesanti selezionati. Sono proseguiti gli studi relativi a microinquinanti tossici (IPA, PCB, PCDD e PCDF) in un sito aereo urbano e in uno "di fondo", gli studi di monitoraggio del benzene e del butadiene, gli studi sull'ozono e sui fotoinquinanti, compresi studi sul rischio neurocomportamentale e gli studi sul radon negli ambienti chiusi.

Nell'ambito del secondo Sottoprogetto sono proseguiti gli studi epidemiologici su gruppi di popolazione con alti livelli di esposizione ad inquinanti atmosferici; tali studi riguardavano la valutazione del rischio di tumori e di malattie neurologiche in una coorte di benzinai e gli effetti dell'inquinamento atmosferico sulla funzionalità cardiaca e respiratoria in individui suscettibili. Sono altresì proseguite le indagini di biomonitoraggio dei vigili urbani di Roma, con la valutazione di indicatori di esposizione e di effetti biologici precoci. Sempre nell'ambito di questo Sottoprogetto è proseguita anche l'indagine relativa alla valutazione di parametri allergologici sui vigili urbani. Nell'ambito del terzo Sottoprogetto sono infine avanzate le ricerche relative alla caratterizzazione delle emissioni del motore a metano in confronto con il gasolio e quelle relative alla caratterizzazione delle emissioni da metilesteri e oli vegetali.

• **Implicazioni igienico-sanitarie nella gestione dei rifiuti**

Responsabile scientifico

Loredana Musmeci (Laboratorio di Igiene Ambientale)

Sintesi dell'attività svolta

Durante una prima fase è stata creata una banca dati delle risultanze analitiche chimico-fisiche e microbiologiche inerenti il monitoraggio di impianti di discariche per Rifiuti Solidi Urbani (RSU) e Rifiuti Pericolosi ubicati su tutto il territorio nazionale. Tale archivio informatico ha consentito una elaborazione statistica e grafica che ha portato all'identificazione di bioindicatori significativi da utilizzare come traccianti di contaminazione ambientale. È stata redatta la rassegna bibliografica "Ricognizione sui dati a carattere tossicologico, epidemiologico e di rischio occupazionale per gli addetti alle operazioni di raccolta, selezione e riciclaggio di RSU". Sono state sviluppate e messe a punto metodiche riguardo la caratterizzazione microbiologica di aerosol e percolati provenienti da discariche di RSU. A tale scopo è stato caratterizzato, sia quantitativamente che qualitativamente, il percolato e il bioaerosol emessi da discariche costruite in scala di laboratorio per specifiche frazioni differenziate di RSU. È stato avviato anche uno studio sulla caratterizzazione microbiologica del bioaerosol emesso da contenitori per la raccolta di flussi differenziati di rifiuti municipali.

• **Indagine microbiologica su reflui di origine domestica (depurati e non) per valutazioni di efficienza di trattamento negli impianti di depurazione e valutazioni dell'influenza, su corpi idrici recettori, di contaminanti biologici, tra cui i virus enterici**

Responsabile scientifico

Francesca Anna Aulicino (Laboratorio di Igiene Ambientale)

Sintesi dell'attività svolta

Lo studio, condotto in Lombardia, Sardegna, Campania e Sicilia, ha riguardato la verifica dell'abbattimento microbico in impianti di depurazione di liquami domestici, la verifica dell'efficacia di biocidi come cloro, acido peracetico e raggi ultravioletti. Sono state evidenziate differenze nelle efficienze di rimozione dei gruppi microbici analizzati in funzione delle fasi di trattamento. Il trattamento di sedimentazione secondaria, successivo a quello in vasca di aerazione a fanghi attivi, mostra la maggiore efficacia di abbattimento sui parametri microbiologici analizzati. L'adsorbimento a

materiale particolato e la successiva precipitazione dei microrganismi, che vanno ad arricchire la matrice solida dei liquami, impoverisce molto efficacemente la matrice acquosa da noi analizzata. Il trattamento secondario agisce in maniera differenziale sull'abbattimento dei diversi gruppi microbici. Anche il trattamento terziario (filtrazione) ha efficacia differenziale sui microrganismi.

I risultati del trattamento di disinfezione con acido peracetico sono incoraggianti e paragonabili a quelli ottenuti con i trattamenti convenzionali condotti mediante clorazione.

- **Laguna veneta: scenari di rischio per la salute umana associati alla introduzione e alla presenza di microinquinanti chimici ad alto rischio potenziale tossico**

Responsabile scientifico

Alessandro di Domenico (Laboratorio di Tossicologia Comparata ed Ecotossicologia)

Sintesi dell'attività svolta

Nell'ambito del Programma PR-27/IS (e del suo programma integrativo) sono state eseguite elaborazioni di risultati analitici già disponibili da indagini pregresse sulla laguna veneta. Per conseguire una più affidabile valutazione del rischio tossicologico conseguente l'esposizione umana ai tossici in questione, nel 2000 sono proseguiti i campionamenti e le analisi di campioni di biota e sedimento di fondo, mentre si è conclusa la campagna inerente la raccolta di reperti di latte materno. Attualmente, diverse attività di rilevamento analitico risultano ultimate e i relativi risultati sono in attesa di valutazione. Un'indagine *ad hoc* per la verifica dei fenomeni di bioaccumulo in bivalvi lagunari e della relativa chemiobiocinetica di clearance è in corso d'esecuzione, disponendo al momento solo di dati preliminari.

- **Modello animale di rischio neurocomportamentale in seguito a esposizione ontogenetica a inquinanti ambientali gassosi**

Responsabile scientifico

Enrico Alleva (Laboratorio di Fisiopatologia di Organo e di Sistema)

Sintesi dell'attività svolta

Nella sua fase conclusiva, sono proseguite le ricerche sull'esposizione cronica a dosi di ozono simili a quelle riscontrate in area urbana e periurbana, utilizzando un modello animale messo a punto dal nostro gruppo già alcuni anni orsono. Tali ricerche sono mirate a evidenziare fasi di particolare vulnerabilità ontogenetica che possano produrre danni neurotossici rivelati da alterazioni comportamentali. Nel corso del 2000 sono stati separati gli effetti a breve da quelli a lungo termine, che si ripercuotono sulla strutturazione adulta del comportamento. Utilizzando dosi fino a 0,6 ppm, sono state evidenziate alterazioni in alcuni test di apprendimento (labirinto acquatico di Morris ed evitamento attivo) e in elementi critici del comportamento esplorativo. Inoltre, sono stati condotti alcuni studi comparativi sui determinanti genetici e temporali legati all'esposizione a pesticidi.

- **Mortalità degli addetti alla produzione di manufatti in plastica esposti a radiofrequenze generate da termosaldatrici**

Responsabile scientifico

Pietro Comba (Laboratorio di Igiene Ambientale)

- **Il problema ambientale e sanitario posto dalla presenza dei prodotti di degradazione dei fitofarmaci nelle acque sotterranee**

Responsabile scientifico

Enzo Funari (Laboratorio di Igiene Ambientale)

Sintesi dell'attività svolta

L'analisi dei dati relativi a 54 metaboliti ha permesso di individuare 18 di essi con caratteristiche chimico fisiche di contaminanti delle acque sotterranee.

Dagli studi di laboratorio relativi a 30 metaboliti, i seguenti composti hanno mostrato elevati potenziali di lisciviazione (combinazione di persistenza e mobilità): aldicarb solfossido, aldicarb solfone, carbofuran (dal benfuracarb), 3-chetocarbofuran, desetilatrazina (DEA), deisopropilatrazina (DIA),

desetilterbutila-zina (DET), monuron (dal diuron), 1-(4-clorofenil)urea (CPU), 1-(3,4-diclorofenil)-3-metilurea (DCPMU), 2,6-acido diclorobenzoico, endosulfan solfato.

Coerenti con i risultati degli studi di laboratorio sono stati quelli di campo, ottenuti su triazine e feniluree nei percolati esaminati. I metaboliti delle cloroacetanilidi non sono mai stati riscontrati nei percolati, anche in questo caso in modo coerente ai risultati di laboratorio.

Una preliminare analisi chimica delle acque sotterranee ha permesso di evidenziare una presenza piuttosto diffusa dei metaboliti delle triazine e dei composti parentali.

L'identificazione degli altri metaboliti nelle acque sotterranee appare alquanto complessa e richiede indagini mirate.

- **Studi di epidemiologia analitica nelle aree ad elevato rischio di crisi ambientale**

Responsabile scientifico

Pietro Comba (Laboratorio di Igiene Ambientale)

- **Valutazione dei parametri allergologici su gruppi di popolazione con alti livelli di esposizione ad inquinanti atmosferici**

Responsabile scientifico

Carlo Pini (Laboratorio di Immunologia)

Sintesi dell'attività svolta

La linea di ricerca prevede la realizzazione di una indagine per acquisire una serie di informazioni dal punto di vista allergologico su soggetti esposti professionalmente ad inquinanti atmosferici.

Sono state completate le visite specialistiche allergologiche, con somministrazione di questionario anamnestico ed esecuzione dei test di cutireazione (Skin Prick Test, SPT) su un totale di 196 vigili, ripartiti nei gruppi selezionati in base alla mansione (viabilisti addetti al controllo del traffico o amministrativi) e al Gruppo circoscrizionale di appartenenza, operante in zone ad alto e medio-basso traffico veicolare.

L'esito degli SPT ha confermato una prevalenza di sensibilizzazione allergica del 67,0%. Nei parametri allergologici non si riscontrano differenze significative fra i tre gruppi; particolarmente interessanti in questo senso sono i dati sulla presenza di sintomatologia allergica (raffreddore/rinite, asma) prima e dopo l'assunzione. Sui prelievi di sangue è stata completata la determinazione quantitativa delle IgE totali con risultati sostanzialmente concordanti con quelli delle cutireazioni.

Ministero dei Lavori Pubblici

- **Alcol, sostanze d'abuso e sicurezza stradale**

Responsabile scientifico

Teodora Macchia (Laboratorio di Biochimica Clinica)

Sintesi dell'attività svolta

Sono state allestite le procedure per la selezione dei casi e per la raccolta - stoccaggio dei campioni biologici, sono state selezionate e messe punto le metodiche per l'accertamento della presenza di sostanze psicotrope nei campioni biologici (tradizionali e non tradizionali) di soggetti incorsi in incidenti stradali con esito letale (casi studiati nei due obitori comunali) e non letale (casi studiati presso i pronti soccorso).

I limiti legati alla privacy e dettati dalla magistratura hanno richiesto specifiche ricerche mirate alla praticabilità e fattibilità dei prelievi nei diversi ambiti.

Alcuni problemi permangono e rappresentano un ostacolo per la conoscenza sulla prevalenza d'uso e dei rischi associati: si pensi all'impossibilità, con la attuale normativa, di effettuare alcolemie casuali.

La procedura studiata e validata ci ha consentito di procedere nella ricerca. Sono state avviate le indagini biochimico-tossicologiche in soggetti deceduti.

- **CASCO2000**

Responsabile scientifico

Franco Taggi (Laboratorio di Epidemiologia e Biostatistica)

Sintesi dell'attività svolta

Il progetto ha consentito una valutazione dell'efficacia della Legge 7/12/99 n. 472, che ha generalizzato l'uso del casco. Allo scopo sono stati effettuati un monitoraggio dell'uso del casco prima e dopo l'entrata in vigore della legge (30 marzo 2000) e una sorveglianza presso i pronti soccorso.

- **DATIS**

Responsabile scientifico

Franco Taggi (Laboratorio di Epidemiologia e Biostatistica)

Sintesi dell'attività svolta

Il progetto verte in particolare sull'acquisizione di dati epidemiologici utili nella quantificazione dell'incidentalità stradale. I principali obiettivi del progetto sono:

- miglioramento della qualità delle schede di morte;
- utilizzazione dell'informazione contenuta nelle schede di dimissione ospedaliera (SDO);
- sorveglianza dei pronti soccorso per i soggetti ricoverati (nonché delle prestazioni non seguite da ricovero);
- sorveglianza dei centri di riabilitazione per trauma cranico e trauma spinale;
- sorveglianza dei traumi di particolare interesse (es. traumi del maxillo-facciale);
- sorveglianza, in relazione alla guida, dell'uso di alcol e sostanze e di altri comportamenti a rischio, con particolare riferimento ai giovani;
- sorveglianza dell'uso dei dispositivi di sicurezza (sistema ULISSE).

Ministero del Lavoro e della Previdenza Sociale

- **Aborto spontaneo ed esposizioni materne a fattori di rischio di tipo occupazionale**

Responsabile scientifico

Laura Settimi (Laboratorio di Igiene Ambientale)

- **Effetti sulla salute dell'esposizione ad antiparassitari**

Responsabile scientifico

Laura Settimi (Laboratorio di Igiene Ambientale)

Ministero per le Politiche Agricole e Forestali

- **Monitoraggio del tenore in ocratossina A di vini del commercio italiano ed estero**

Responsabile scientifico

Paolo Aureli (Laboratorio di Alimenti)

Sintesi dell'attività svolta

Il progetto ha avuto come obiettivo la valutazione dello stato di contaminazione da ocratossina A in campioni di vino nazionale ed estero.

Circa l'individuazione di questa tipologia di prodotto come uno dei possibili nuovi contributori alla esposizione da ocratossina A, l'indagine ha interessato un numero di campioni pari a 500, rappresentativi della realtà produttiva nazionale ed estera.

Per la determinazione della ocratossina A nei campioni di vino, si è reso necessario mettere a punto una metodologia per HPLC completamente automatizzata in modo da svolgere lo studio in tempi più ristretti e nel pieno rispetto dei parametri statistici necessari per garantire la validazione in house del metodo usato.

Ministero della Sanità

- **Progetto integrato di prevenzione dell'alcoldipendenza. Identificazione precoce, intervento breve e valutazione di efficacia delle strategie di intervento preventivo in primary health care finalizzato alla riduzione del rischio socio-sanitario da alcol nella popolazione**

Responsabile scientifico

Emanuele Scafato (Laboratorio di Epidemiologia e Biostatistica)

Sintesi dell'attività svolta

Il presente progetto fornisce l'opportunità di sviluppare una strategia integrata per la prevenzione dell'alcoldipendenza basata sull'evidenza scientifica e finalizzata alla riduzione del rischio e del danno sociale e sanitario da alcol nella popolazione.

L'azione coordinata consente di attivare in Italia un intervento ad elevata valenza sociale e sanitaria articolato nelle sue attività chiave: formazione degli operatori sanitari, identificazione precoce del rischio, intervento preventivo e valutazione dell'efficacia dell'intervento.

Il modello, sperimentato per convenienza organizzativa e gestionale attraverso la rete costituita dalle strutture sanitarie territoriali esistenti, potrà essere utilizzato in futuro anche attraverso la rete delle strutture di assistenza sociale territoriali essendo basato su attività di counselling comuni a quelle degli operatori socio-sanitari. I destinatari delle attività del progetto sono tutti gli individui appartenenti alla popolazione generale. In virtù della estrema flessibilità è inoltre possibile sin da ora prevedere una sua applicazione in target di popolazione selezionata e/o sensibile quale quello giovanile.

- **Programma speciale di ricerca in farmacoepidemiologia**

Responsabile scientifico

Roberto Raschetti (Laboratorio di Epidemiologia e Biostatistica)

Sintesi dell'attività svolta

Nel corso del 2000 sono state avviate tutte le attività relative alle aree previste dal programma. È in corso l'analisi della prevalenza delle complicanze macroangiopatiche nella coorte dei pazienti diabetici di tipo 2 (Studio DAI). Complessivamente hanno aderito allo studio 201 servizi di diabetologia, distribuiti in tutte le regioni. Sono stati arruolati 24.094 pazienti diabetici e dopo le procedure di verifica della correttezza dei dati, sono stati inclusi nell'analisi 19.570 pazienti.

È stata avviata l'indagine multicentrica sul profilo d'uso della Ribavirina (studio IMPROVE) con il coinvolgimento, a dicembre 2000, di 440 ospedali distribuiti in tutte le regioni italiane.

Per quanto riguarda il progetto CRONOS (Valutazione dell'assistenza e del trattamento della malattia di Alzheimer) i primi mesi sono stati dedicati a una campagna di informazione con l'obiettivo di ottenere una maggiore attenzione nei riguardi del problema e un maggiore coinvolgimento dei medici di medicina generale. Circa 470 unità di valutazione sono già operative su tutto il territorio nazionale.

- **Standardizzazione di metodologie di rilevamento e attuazione di una indagine conoscitiva relativa alla diffusione di prodotti transgenici impiegati in alimentazione umana e animale**

Responsabile scientifico

Marina Miraglia (Laboratorio di Alimenti)

Sintesi dell'attività svolta

Il progetto, eseguito per incarico del Ministero della Sanità, ha riguardato il monitoraggio del flusso di importazione degli Organismi Geneticamente Modificati (OGM) e dei loro derivati sul territorio nazionale. Le funzioni di coordinamento del monitoraggio stesso sono state effettuate tramite le seguenti attività:

- individuazione delle strutture operanti nell'ambito del Servizio Sanitario Nazionale, con l'esperienza e la strumentazione necessarie allo svolgimento delle analisi per l'esecuzione del monitoraggio oggetto del programma;
- effettuazione di un circuito interlaboratorio per la verifica della assicurazione di qualità del dato analitico prodotto dai laboratori interessati allo svolgimento delle analisi. Al circuito interlaboratorio, che ha riguardato campioni di farine di mais e soia, hanno partecipato otto

laboratori. La metodica impiegata è stata effettuata tramite l'individuazione delle sequenze di regolazione del terminatore nos e del promotore 35S mediante tecnica PCR. Lo studio ha avuto come obiettivo la valutazione della efficienza dei laboratori incaricati alla esecuzione delle analisi;

- individuazione di piani di campionamento idonei al prelievo dei campioni per l'analisi di OGM. L'individuazione di tali piani di campionamento *ad hoc* si è resa necessaria in considerazione della distribuzione eterogenea degli OGM nelle grosse partite di importazione.

- **Studio del profilo di mortalità del personale aereonavigante dell'aviazione civile italiana, in relazione ad esposizione a radiazione cosmica ionizzante**

Responsabile scientifico

Arduino Verdecchia (Laboratorio di Epidemiologia e Biostatistica)

Sintesi dell'attività svolta

Il progetto, membro del corrispondente progetto Europeo, mira a studiare il possibile effetto cancerogeno della esposizione a radiazione cosmica ionizzante assorbito dal personale navigante durante l'attività di volo. La coorte in studio è costituita da tutto il personale navigante dell'Alitalia ed ex ATI, in servizio dal 1965 al 1996 (10000 tra piloti, tecnici, assistenti). Per la coorte è stato accertato lo stato in vita e la eventuale causa di decesso. L'attività principale nel 2000 è stata rivolta al controllo e alla preparazione per il progetto Europeo della grande mole di dati rilevati, nonché allo sviluppo e all'applicazione dei necessari metodi di stima della dose di radiazione assorbita su ciascun volo in relazione al velivolo, alla rotta, alla quota di navigazione, al giorno, mese e anno del volo. Sono in corso ricerche presso il centro NASA di Langley, VA, per collaborare alla messa a punto di metodi molto sofisticati di valutazione della dose biologica equivalente in relazione alla composizione (gamma, protoni, neutroni) della radiazione cosmica. È stato pianificato e avviato uno studio sulla salute delle assistenti di volo in relazione ad aspetti riproduttivi e di patologie legate allo stress.

ENTI E ISTITUZIONI

Agenzia Spaziale Italiana

- **Alterazioni nell'ambiente gravitazionale: effetti sullo sviluppo neurocomportamentale in roditori**

Responsabile scientifico

Enrico Alleva (Laboratorio di Fisiopatologia di Organo e di Sistema)

Sintesi dell'attività svolta

Sono proseguite nel 2000 le ricerche sulle risposte neurocomportamentali in seguito ad esposizione a campi ipergravitazionali di lieve entità. Sono stati messi a punto un test per la valutazione della motion sickness (mediante assunzione di caulino) e alcune griglie etologiche per la valutazione dei cambiamenti comportamentali di breve, media e lunga durata. Sono stati inoltre valutati i livelli di fattori di crescita (NGF e BDNF) in varie aree del sistema nervoso centrale in roditori esposti a ipergravità. Tali studi sono mirati a ottimizzare le condizioni di sopravvivenza e benessere per soggetti animali nell'ambito delle attività della International Space Station e rientrano negli accordi di collaborazione Italia-USA nel settore della biomedicina spaziale.

Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro

- **Ciclo cellulare, controllo dell'apoptosi e del differenziamento**

Responsabile scientifico

Marco Crescenzi (Laboratorio Tossicologia Comparata ed Ecotossicologia)

Sintesi dell'attività svolta

È in corso un'indagine collaborativa sul ruolo dei fattori trascrizionali NFY nel differenziamento muscolare. Appare chiaro che le proteine NFY sono in grado di potenziare tale differenziamento,

presumibilmente tramite interazione con i fattori della famiglia di MEF2. Lo studio del ruolo della proteina del retinoblastoma nel mantenimento dello stato postmitotico delle cellule terminalmente differenziate ha mostrato che essa non è indispensabile, contrariamente a quanto generalmente ritenuto. È stato messo in evidenza un loop autoregolatore formato dalla ciclina E e dai prodotti della famiglia di E2F. Questi ultimi stabilizzano la ciclina E prevenendone l'ubiquitinazione e contribuendo alla loro stessa attivazione per tramite della fosforilazione di pRb mediata da ciclina E (6,7,10,11).

- **HOXB7: a link between development and cancer throughout neo-angiogenesis and cell proliferation**

Responsabile scientifico

Alessandra Carè (Laboratorio di Ematologia ed Oncologia)

Sintesi dell'attività svolta

Sulla base dei dati da noi ottenuti in precedenza (attivazione del fattore di crescita "basic fibroblast growth factor" da parte dell'omeogene HOXB7 in cellule tumorali e correlazione diretta tra tale attivazione e proliferazione/progressione neoplastica) gli studi sono proseguiti allo scopo di individuare altri geni regolati da HOXB7 nel microambiente tumorale. Abbiamo quindi confrontato la linea di carcinoma della mammella SkBr3, negativa sia per HOXB7 che per bFGF, con la stessa linea trsdotta con HOXB7.

Studi di espressione per fattori di crescita e di invasività e corrispondenti recettori hanno messo in evidenza un aumento di espressione dei fattori e una parallela diminuzione dei recettori. La nostra ipotesi è che in questo modo la cellula tumorale eviti strategicamente qualsiasi forma di autocrinia e favorisca invece la secrezione di questi fattori a favore dei recettori presenti sulle cellule endoteliali. In esperimenti di co-cultura di cellule tumorali e cellule endoteliali effettuati *in vitro* in una matrice tridimensionale è stato infatti osservato un notevole aumento sia nel numero che nella stabilità dei nuovi vasi in presenza di HOXB7 e dei fattori da esso indotti. Tale dato è sostenuto anche dai risultati ottenuti *in vivo* in un modello di topi nudi. Per concludere, HOXB7 sembra rappresentare un fattore chiave nell'angiogenesi tumorale, nonché un possibile bersaglio per una forma di terapia genica.

Parallelamente è stato concluso il clonaggio e l'analisi del promotore umano di HOXB7 individuando una serie di fattori transattivanti, quali Sp1, NFY, USF1, attraverso i quali esso stesso viene modulato.

- **Establishing a pre-clinical *in vivo* model of immunotherapy in SCID mice**

Responsabile scientifico

Stefano Fais (Laboratorio di Immunologia)

Sintesi dell'attività svolta

Ci si è occupati della messa a punto di modelli xenochimerici uomo/topo SCID per la verifica *in vivo* di nuovi approcci di immunoterapia adottiva nei confronti di tumori umani. In topi SCID inoculati con melanomi umani è stata verificata l'importanza della reazione granulocitaria murina nel limitare l'attecchimento di cellule umane.

Nella seconda fase è in corso la verifica dell'efficacia dei vari trattamenti nell'inibire la crescita tumorale. I risultati preliminari hanno mostrato un significativo effetto della terapia a base di cloni T antigene-specifici che dipende dalla relativa espressione dell'antigene verso cui i CTL sono diretti. Inoltre, sia le cellule T gd che le cellule NK hanno mostrato notevole efficacia in schemi di terapia della durata superiore a due mesi. Le cellule immuni umane hanno mostrato diversi tempi di permanenza nello SCID e soprattutto nel tumore. In particolare le cellule NK hanno mostrato una maggiore durata di attecchimento rispetto ai linfociti.

- **IFN as T cell adjuvant and tumor suppressor gene: studies on the mechanisms and definition of new antitumor therapies**

Responsabile scientifico

Filippo Belardelli (Laboratorio di Virologia)

Sintesi dell'attività svolta

È stata studiata l'efficacia antitumorale di IFN- α in diversi modelli tumorali *in vitro* e *in vivo*.

I risultati più significativi indicano che:

- un singolo inoculo di adenovirus esprimenti IFN- α in topi DBA/2 immunocompetenti trapiantati sottocute o intravena con cellule leucemiche di Friend (FLC), metastatiche e resistenti *in vitro* ad IFN di tipo I, causava una marcata risposta antitumorale che non si osservava in topi inoculati con adenovirus di controllo; al contrario, un effetto terapeutico comparabile richiedeva somministrazioni ripetute di alte dosi della citochina. Tali risultati suggeriscono che la terapia genica con IFN- α mediata da adenovirus può rappresentare una potenziale alternativa all'uso clinico convenzionale di questa citochina, che richiede generalmente iniezioni multiple di dosi elevate di IFN per periodi di tempo prolungati;
 - cellule leucemiche K562 transfettate con IFN- α mostrano una mancanza di espressione del gene anti apoptotico Bfl-1, al contrario della linea non transfettata che la rende più suscettibile a stimoli apoptotici;
 - cellule leucemiche ESKOL producenti IFN- α mostrano una aumentata suscettibilità all'apoptosi indotta da anticorpi anti-FAS;
 - nelle cellule K562 e ESKOL IFN- α modula geni coinvolti nei segnali di regolazione dell'apoptosi e del differenziamento, come verificato attraverso la tecnologia del "DNA-microarray".
- **The role of human dna mismatch repair in DNA damage recognition and in tumor avoidance**
Responsabile scientifico
Margherita Bignami (Laboratorio Tossicologia Comparata ed Ecotossicologia)

Sintesi dell'attività svolta

L'obiettivo del progetto è stato quello di verificare come difetti nei sistemi di riparazione del DNA possano influenzare la risposta alla chemioterapia. Una serie di farmaci chemioterapici (agenti metilanti, cisplatino, mitomicina C, cloroetilnitrosouree) sono stati studiati ed è stato identificato il peso relativo di difetti nella riparazione del DNA e di mutazioni nella proteina p53 nella sensibilità e/o resistenza ai farmaci stessi.

In particolare è stato dimostrato che:

- la sensibilità ad agenti chemioterapici appartenenti alla classe degli alchilanti semplici (dacarbazina e procarbazina) dipende in maniera determinante da un mismatch repair attivo. Di conseguenza, tumori con difetti in questa via di riparazione del DNA sono totalmente resistenti a terapie basate su questo tipo di farmaci;
- tumori con difetti nel mismatch repair mostrano ipersensibilità a farmaci in grado di produrre crosslinks interelica. Evidenze in questo senso sono state ottenute utilizzando sia modelli *in vitro* che *in vivo*. I risultati di questi studi gettano le basi per una terapia che tenga conto delle diverse alterazioni molecolari in geni della riparazione del DNA o in geni che controllano la segnalazione del danno stesso e che modificano la sensibilità/resistenza del tumore stesso ai farmaci.
- Il completamento del programma di ricerca prevede di studiare:
 - se un difetto nel mismatch repair conferisca un'aumentata suscettibilità alla tumorigenesi indotta da cancerogeni metilanti (studio a lungo termine in topi knockout per il gene del mismatch repair msh2);
 - se un difetto nel mismatch repair presenti in carcinomi dell'endometrio modifichi la prognosi di questo tipo di tumore.

Consiglio Nazionale delle Ricerche

- **Antigeni protettivi di *B. pertussis*: pressione selettiva della vaccinazione nell'insorgenza di varianti alleliche dei relativi geni**

Responsabile scientifico

Paola Mastrantonio (Laboratorio di Batteriologia e Micologia Medica)

Sintesi dell'attività svolta

Lo studio ha esaminato la capacità opsonizzante, verso ceppi di *B. pertussis*, di sieri prelevati da bambini vaccinati con vaccini antipertosse acellulari e con vaccini a cellule intere. È stato recentemente proposto

che la comparsa di varianti antigeniche, che riguardano soprattutto l'antigene pertactina (Prn), nei ceppi di *B. pertussis* isolati da casi sia dovuta ad una pressione selettiva in seguito alla vaccinazione. Questa ipotesi ha indotto ad analizzare l'influenza sulla fagocitosi da parte di monociti di ceppi con varianti antigeniche nella sequenza RGD della pertactina. Per lo studio sono stati utilizzati il ceppo vaccinale *B. pertussis* 338, quattro ceppi clinici rappresentativi delle varianti della pertactina rilevate durante il trial clinico italiano sull'efficacia dei vaccini antipertosse acellulari e un ceppo clinico privo di pertactina. I sieri provenienti da bambini vaccinati con i vaccini antipertosse acellulari sono risultati significativamente più opsonizzanti di quelli di bambini vaccinati con il vaccino a cellule intere. I risultati ottenuti con i ceppi di *B. pertussis* che presentano varianti nella sequenza RGD della pertactina erano simili a quelli ottenuti con il ceppo vaccinale 338 e indicano che le differenze nella sequenza della pertactina non influiscono sulla capacità di invadere le cellule fagocitiche. Al contrario l'assenza dell'antigene pertactina sembra aver influenzato negativamente l'abilità del batterio di invadere i monociti umani sottolineando il ruolo che questa proteina svolge nell'adesione alla membrana cellulare. Questi risultati sottolineano come alti titoli anticorpali specifici nei sieri immuni possono promuovere l'attività dei macrofagi contro *B. pertussis*.

- **Associazioni tra patologia gastroenterica, prodotti ittici e balneazione**

Responsabile scientifico

Ida Luzzi (Laboratorio di Batteriologia e Micologia Medica)

Sintesi dell'attività svolta

In relazione agli obiettivi previsti dal progetto che consistevano nel descrivere la frequenza delle gastroenteriti acute nella popolazione abitante sulla costa adriatica e verificare l'ipotesi di associazione tra alcuni fattori di rischio e l'insorgenza di gastroenterite, è stata effettuata una sorveglianza attiva dei casi di gastroenterite nel territorio di Bari e Brindisi.

Un questionario specifico è stato utilizzato per individuare i potenziali fattori di rischio nel contrarre l'infezione, in particolare il consumo di alimenti e le attività di balneazione. La distribuzione dei casi notificati per data di inizio della sintomatologia include un periodo compreso tra l'inizio di agosto 1999 e la fine di dicembre 2000.

I principali fattori di rischio di contrarre gastroenterite sono risultati il consumo di uova (52,0%), di frutti di mare crudi (32,0%) o cotti (16,0%) e di verdura cruda (32,0%). Nei casi di gastroenterite è stata effettuata una indagine microbiologica completa. Un agente eziologico è stato identificato nel 61% dei casi di gastroenterite, in particolare *Salmonella*, *Clostridium perfringens*, *Campylobacter* e *Cryptosporidium*. Virus del gruppo Norwalk, la cui epidemiologia nel nostro Paese è ancora sconosciuta, è stato identificato nel 20,8% dei casi e in un episodio epidemico di gastroenterite avvenuto durante il periodo estivo.

- **Caratterizzazione di immunosensori elettrochimici per la determinazione di agenti patogeni negli alimenti e loro applicazione per il controllo della filiera produttiva dei prodotti alimentari**

Responsabile scientifico

Luciana Croci (Laboratorio di Alimenti)

Sintesi dell'attività svolta

Sono stati condotti studi per lo sviluppo di saggi ELISA con rivelazione elettrochimica per la determinazione delle salmonelle negli alimenti. Utilizzando anticorpi monoclonali e policlonali anti-*Salmonella*, sono stati ottimizzati e confrontati due saggi ELISA elettrochimici: uno di tipo competitivo, l'altro di tipo "sandwich". L'attività della perossidasi, enzima usato come marcatore, è stata misurata utilizzando il substrato 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina il cui prodotto di reazione si riduce alla superficie di un elettrodo di carbone vetroso polarizzato ad un potenziale di + 100 mV vs. Ag/AgCl. L'efficacia dei saggi sviluppati è stata verificata utilizzando diversi sierotipi di salmonelle ed è stata valutata l'eventuale interferenza da parte di altri batteri, quali *Klebsiella*, *Proteus*, *Citrobacter* e *Yersinia* comunemente presenti negli alimenti. Tali saggi che consistono nell'accoppiare la tecnica immunoenzimatica con un rivelatore elettrochimico e con un sistema a flusso FIA (flow injection analysis) rappresentano il primo step per la realizzazione di un immunosensore in cui la reazione antigene-anticorpo avviene direttamente sulla superficie del trasduttore di segnale elettrochimico.

- **Caratterizzazione delle interferenze elettromagnetiche in laboratorio e in ambito ospedaliero**

Responsabile scientifico

Vincenzo Barbaro (Laboratorio di Ingegneria Biomedica)

- **Caratterizzazione molecolare di ceppi di *N. meningitidis* resistenti alla rifampicina**

Responsabile scientifico

Paola Mastrantonio (Laboratorio di Batteriologia e Micologia Medica)

Sintesi dell'attività svolta

Sono stati studiati i primi otto ceppi di *Neisseria meningitidis*, sierogruppo B e C, isolati in Italia, che risultavano essere resistenti alla rifampicina. Oltre allo studio di mutazioni presenti sul gene *rpoB*, sono state analizzate le sequenze del gene *mtr* efflux pump. Mutazioni in questo gene sono state correlate nel passato a diminuita sensibilità a rifampicina in ceppi di *Neisseria gonorrhoeae*. I risultati hanno indicato la presenza di mutazioni nel gene *rpoB* con cambio di due aminoacidi in tutti gli otto ceppi resistenti. La sostituzione Asp542 → Val è stata trovata in quattro degli otto ceppi analizzati ed è descritta per la prima volta in *N. meningitidis* mentre gli altri 4 ceppi presentavano la sostituzione His552 → Tyr già nota in *N. meningitidis*.

Mutazioni nel gene *mtr* non sembrano essere coinvolti nella resistenza a rifampicina in *N. meningitidis* in quanto le stesse mutazioni sono state riscontrate sia in ceppi resistenti che in quelli sensibili. Due diversi cluster sono stati identificati, mediante tipizzazione molecolare con PFGE, nei ceppi resistenti senza alcuna correlazione con le specifiche mutazioni riscontrate nel gene *rpoB*.

- **Identificazione nei prodotti ittici di microrganismi associati alle patologie umane**

Responsabile scientifico

Luciana Croci (Laboratorio di Alimenti)

Sintesi dell'attività svolta

L'indagine sui campioni provenienti dagli allevamenti di molluschi situati presso Ascoli Piceno, ha evidenziato che la maggior parte di questi contenevano un numero basso di *E. coli* e fagi somatici ed erano negativi per presenza dei fagi F+ e B40-8, mentre la presenza di virus enterici, quali enterovirus e HAV, era rinvenuta nel 41,7% dei campioni. Viene quindi evidenziata l'inadeguatezza sia dell'*E. coli* che dei batteriofagi come indicatori di una contaminazione virale.

Gli isolamenti effettuati da molluschi e acqua di mare hanno evidenziato che i batteri autoctoni per la maggior parte sono costituiti da batteri del genere *Vibrio* (46,86%) e del genere *Aeromonas* (29,75%). Tra i *Vibrio* il più frequente era il *V. alginolyticus* (67,95%) e altre specie patogene quali *V. parahaemolyticus* (10%), *V. vulnificus* (10%) e *Ph. damsela* (10,88%).

I ceppi isolati appartenenti ai generi *Vibrio* and *Aeromonas* risultavano per la maggior parte produttori di tossine, ad eccezione del *V. cholerae* non-O1.

Gli isolamenti di tali batteri dimostrano come sia facile riscontrare tra la flora autoctona germi con caratteristiche di patogenicità che, una volta accumulati nei molluschi, possono rivestire un importante ruolo nelle patologie umane, soprattutto nelle gastroenteriti di origine sconosciuta.

- **Ruolo dell'ectoenzima CD38 nella trasduzione di segnali. Induzione di citochine regolatorie in condizioni fisiologiche e durante stati infettivi**

Responsabile scientifico

Clara Maria Ausiello (Laboratorio di Batteriologia e Micologia Medica)

Sintesi dell'attività svolta

Tra le sue funzioni pleiotropiche il CD38 umano trasduce segnali di rilevanza biologica, dove le citochine giocano un ruolo chiave. Nel corso degli anni è stato dimostrato che la via CD38 induce in PBMC messaggi specifici per citochine.

Nel 2000 è stata studiata l'attivazione via CD38 nell'immunità naturale, in particolare nelle cellule NK. È stato dimostrato come in questa popolazione cellulare l'attivazione via CD38 induce rilevanti eventi cellulari, tra cui il rilascio di citochine quali l'IFN- γ e GM-CSF.

È stata individuata la via di attivazione CD38 in linfociti T residenti nella lamina propria intestinale (LPT) ed è stata confrontata con quella dei T circolanti. Anche nel caso delle LPT si ha l'induzione di un vasto spettro di citochine mentre non si ha mobilitazione del calcio.

L'obiettivo ultimo è quello di capire l'eventuale ruolo del CD38 durante gli stati infettivi ed eventualmente utilizzare la via di attivazione CD38 per indurre una risposta immune protettiva.

- **Sperimentazione di un metodo per la comunicazione del rischio di incidente rilevante in due aree industriali**

Responsabile scientifico

Caterina Vollono (Laboratorio di Igiene Ambientale)

Sintesi dell'attività svolta

Nell'ambito del progetto è stata valutata l'efficacia delle iniziative informative indirizzate alla popolazione generale residente in aree industriali esposte al rischio di incidente rilevante. Allo scopo sono state condotte indagini campionarie, con interviste domiciliari con questionario volto a rilevare:

- la percezione del rischio di incidente rilevante rispetto ad altri rischi presenti sul territorio;
- la fiducia negli organismi preposti alla gestione della sicurezza dei cittadini;
- la fiducia nelle fonti informative sui rischi industriali;
- l'acquisizione delle conoscenze sul rischio e dei comportamenti sicuri da adottare in caso di emergenza.

I risultati mettono in luce i limiti del modello informativo adottato nelle realtà di rischio sulla base delle disposizioni della Legge n. 137/1997, evidenziando la necessità di attivare procedure atte a promuovere la partecipazione dei cittadini al processo di gestione di rischi industriali.

- **Test di un modello operativo per la pianificazione dell'emergenza esterna in aree ad alta concentrazione di attività industriali a rischio**

Responsabile scientifico

Giovanni Marsili (Laboratorio di Igiene Ambientale)

Sintesi dell'attività svolta

Lo studio ha previsto la verifica sul campo di un modello per la pianificazione dell'emergenza esterna in due aree industriali italiane. Il modello ha verificato la fattibilità di approcci integrati tra pianificazione territoriale, pianificazione dell'emergenza, informazione della popolazione e gestione locale dei rischi industriali. I risultati hanno messo in evidenza che un'efficace gestione richiede:

- la valutazione degli aspetti tecnici del rischio finalizzati alla previsione, rapidità decisionale e capacità di raccogliere, gestire ed elaborare informazioni;
- l'importanza della qualità e affidabilità degli strumenti di gestione della pianificazione dell'emergenza.

ENEL

- **Progetto VELE (Valorizzazione Ecologica delle Linee Elettriche)**

Responsabile scientifico

Enrico Alleva (Laboratorio di Fisiopatologia di Organo e di Sistema)

Sintesi dell'attività svolta

La fase conclusiva del progetto ha riguardato essenzialmente aspetti bioetici e normativi relativi all'utilizzo di popolazioni "sentinella" di vertebrati, con particolare riguardo a specie ornitiche. Sono stati messi a punto alcune tipologie di modello relative alla migliore possibilità per i siti di nidificazione, prendendo spunto da materiale pubblicato relativamente a nest-boxes prodotte all'estero, soprattutto in Spagna. Nel corso dell'anno è proseguita l'attività di screening bibliografico relativa ad altre specie vertebrate, anche esse potenziali indicatrici di effetti neurotossici ambientali. Da tale attività è conseguita la partecipazione alla "International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection"