

*Prospettive future***ISTITUTO
SUPERIORE
di SANITÀ**

Tempi di esecuzione del programma. - 2-5 anni a seconda dei casi.

Risultati ottenuti e attesi. - Sono stati individuati correlati funzionali importanti della attivazione delle cellule microgliali. E' stato chiarito il ruolo delle cellule gliali (astrociti e microglia) nella presentazione dell'antigene. E' stata dimostrata una infiltrazione di cellule dendritiche nel cervello in corso di encefalomyelite allergica sperimentale (un modello di sclerosi multipla). Sono stati misurati parametri umorali indicativi di infiammazione e stress ossidativo nel liquor di pazienti di sclerosi multipla e di malattia di Creutzfeldt-Jakob. Questi risultati possono suggerire nuove prospettive terapeutiche che potranno essere messe alla prova in adeguati modelli sperimentali.

Sono state studiate le sindromi di Williams, Down e Rett, relativamente al ruolo eziopatogenetico di alterati livelli costituzionali di neurotrofine. E' proseguita l'analisi delle basi neurobiologiche dei processi di apprendimento, stress e coping, con particolare riguardo: 1) al ruolo regolatore del NGF, anche nei confronti di altre citochine, mediante indici etologici socio-affiliativi e agonistici (anche al fine di provvedere standard di benessere psicofisico in primati e roditori); 2) alla sensibilità neuronale in fasi critiche dell'ontogenesi a farmaci, tossici ambientali e stimoli naturalistici. Tali risultati, estesi a pazienti schizofrenici, prevedono un'integrazione dei modelli sperimentali con attività di ricerca preclinica, soprattutto in età evolutiva.

Costo del programma. - Non valutabile per assenza di contabilità analitica (centri di costo).

Fonti di finanziamento. - Intramurali, Ministero della sanità fondi c.d. 1%, progetto sull'AIDS, Human Frontier Science Program, ENEL, Agenzia spaziale, Comune di Roma.

Quantità e qualità del personale. - 23 unità di personale (2 dirigenti di ricerca; 3 primi ricercatori; 9 ricercatori; 4 collaboratori tecnici; 5 operatori tecnici). Un concorso in atto per 2 ricercatori.

Assunzioni previste. - 12 unità di personale come da piano approvato dal Consiglio dei direttori di laboratorio del 5 ottobre 1999, nell'arco di 2-3 anni.

Partnership e collaborazioni internazionali consolidate. - Wellesley College, Boston, USA; Università di Zurigo, Svizzera; Stanford University, San Francisco, USA; Institut de Transgénose, CNRS, Orléans, Francia; Université de Lille, Francia; University of Southampton, UK; McGill University, Montreal, Canada.

Laboratorio di igiene ambientale

Tipologia, contenuti scientifici e obiettivi del programma. - Studi epidemiologici ed ambientali sul rischio per la salute da fonti puntiformi del territorio, identificazione di popolazioni e condizioni di rischio, analisi di "cluster" di

patologia con possibile eziologia ambientale, ricerca dei fattori di rischio e dei criteri per tenerli sotto controllo. Valutazione epidemiologica, in collaborazione con i Centri antiveleno, le ASL e gruppi di ricerca universitari, delle intossicazioni acute da pesticidi sul territorio, esaminando le procedure di uso, conservazione, trasporto delle sostanze coinvolte, ai fini dell'ottimizzazione dei criteri di prevenzione e di informazione degli esposti. Studi sull'esposizione inalatoria in aree industriali, urbane, ed in ambiente indoor, a fattori di rischio selezionati (PM10, PM2.5, benzene, metalli pesanti, IPA, ecc.), stime della distribuzione spazio-temporale dei fattori di rischio, predisposizione di criteri di gestione del rischio. Caratterizzazione dei rischi per la salute e l'ambiente associati alla gestione dei rifiuti urbani, industriali e tossici e nocivi attraverso indagini ambientali ed epidemiologiche nel territorio.

Studio dell'inquinamento delle acque da sostanze "endocrine disrupting" considerando varie origini, e da sostanze prioritarie rilasciate da materiali a contatto con le acque potabili. Valutazione di problematiche connesse con la ricrescita batterica e con patogeni ambientali emergenti. Studio e verifica dell'efficienza di selezionati indicatori di contaminazione chimica, microbiologica ed ecotossicologica. In accordo alle nuove linee guida della WHO, studio e messa a punto di una procedura integrata di valutazione e gestione dei fattori di rischio per la balneazione nell'ambito della pianificazione del territorio. Studio di un sistema di sorveglianza nazionale che raccolga ed elabori i vari dati disponibili sulla qualità delle acque marino-costiere relativamente a contaminanti microbiologici, chimici e tossine algali, in collaborazione con le strutture nazionali e territoriali (Ministero della sanità, Ministero dell'ambiente, ANPA, ARPA, Osservatori epidemiologici, regionali, ASL). Caratterizzazione dei fattori chimici e fisici di maggior rilievo in relazione alle fioriture algali tossiche. Identificazione, mediante diagnostica molecolare, di microrganismi mediante PCR e sequenziamento di acidi nucleici, aggiornamento e potenziamento di una banca di dati in questo ambito, anche in supporto a strategie di pronto intervento nel caso di epidemie riconducibili a contaminazione virologica delle acque e di altri substrati ambientali.

Risultati già ottenuti. - Sono stati effettuati studi epidemiologici ed ambientali ed interventi sul campo in relazione ad esposizione ad amianto, metalli pesanti, idrocarburi policiclici aromatici ed altri inquinanti, campi elettromagnetici ed altri fattori di rischio, a fini di ricerca ed in risposta a richieste di Enti pubblici centrali e regionali.

Tempi di esecuzione del programma. - 3-5 anni.

Costo del programma. - Non è possibile rispondere in modo preciso, per l'assenza della contabilità analitica (centri di costo); stima di massima: 1-2 miliardi. Le fonti di finanziamento includono il bilancio dell'Istituto, i fondi destinati alla ricerca del Servizio sanitario nazionale, il Ministero dell'ambiente, alcune Regioni, l'Unione europea, l'ANPA, alcuni Comuni.

*Prospettive future***ISTITUTO
SUPERIORE
di SANITÀ**

Investimenti promossi o promovibili. - Non è al momento possibile rispondere non essendo completata la riforma che prevede il passaggio dell'Istituto ad Ente Pubblico.

Quantità e qualità del personale. - 6 dirigenti di ricerca, 20 primi ricercatori, 5 ricercatori, 10 collaboratori tecnici, 18 operatori tecnici, a cui si aggiunge personale a contratto di entità variabile (dell'ordine di 20 unità).

Valutazione ex ante dell'efficienza e dell'efficacia del programma. - L'attività proposta costituisce il proseguimento di consolidata attività di ricerca finalizzata e corrente, attestata anche da pubblicazioni scientifiche prodotte negli ultimi anni, oltre che da una costante presenza nel territorio in relazione a compiti istituzionali. E' comunque da sottolineare l'esigenza di un'adeguata integrazione di personale, come ripetutamente sottolineato.

Partnership e collaborazioni internazionali consolidate. - J. Coglianò, US EPA Risk Assessment Group, Washington D.C.; WHO IPCS, Geneva; WHO Environmental Health Centers, Bilthoven e Roma; E.U. Steering Committee for the Indoor Air Quality, Ispra; E.U. Working Group for Air Quality Directives, Bruxelles e Ispra.

Laboratorio di immunologia***Progetto: Eziopatogenesi, diagnosi e terapia delle patologie immunomediate***

Presentazione del programma. - Il presente progetto si propone come obiettivo principale lo studio e la conseguente manipolazione a scopo terapeutico delle componenti della risposta immune rilevanti nella patogenesi di alcune malattie croniche e della risposta ai trapianti. Il progetto, in linea con gli attuali compiti dell'Istituto superiore di sanità, si rivolge anche alla ottimizzazione delle procedure diagnostiche e terapeutiche da utilizzare nell'ambito delle patologie in esame, e intende interessarsi anche della qualità di tali procedure e dei prodotti (kit diagnostici, farmaci biologici e biotecnologici) impiegati. Le patologie incluse nel progetto rappresentano condizioni nelle quali alterazioni della risposta immune determinano la loro insorgenza e/o la loro cronicizzazione, quali le sindromi da immunodeficienza acquisita e congenita, la tubercolosi, l'echinococcosi, i tumori, e quelle caratterizzate da eccessiva e/o indesiderata risposta immunitaria, quali le allergie, le malattie infiammatorie croniche intestinali, le malattie autoimmuni, il rigetto dei trapianti.

In quest'ottica si intende studiare la risposta immune nelle sue varie fasi utilizzando sia modelli già convalidati e utilizzati nel Laboratorio di immunologia che modelli innovativi, al fine di identificare gli eventi più importanti nella genesi delle varie patologie studiate e di valutare il ruolo e la qualità dei vari presidi diagnostici e terapeutici già disponibili o, eventualmente, da sviluppare.

Il progetto è articolato in tre sottoprogetti, che rappresentano tre differenti aspetti della tematica. Essi sono: 1) identificazione e caratterizzazione di antigeni importanti nelle patologie immunomediate; 2) sviluppo di nuovi approcci di

immunoterapia; 3) induzione e/o mantenimento della tolleranza in trapianti, nelle malattie autoimmuni, allergiche e infiammatorie croniche intestinali.

Obiettivi. - Le patologie causate da un comportamento improprio del sistema immunitario possono essere sostanzialmente identificate in due grosse categorie, quelle associate ad una risposta insufficiente e quelle causate da una iperreattività o da una risposta verso molecole prive di ogni patogenicità. In alcuni casi, infatti, è presente una risposta immunitaria contro molecole "self", alcune volte facilmente identificabili mentre in altri completamente ignote. In altri casi, alcune molecole antigeniche riescono a polarizzare il sistema immunitario verso un tipo di risposta piuttosto che un altro (Th1 - Th2). In altri casi ancora, la molecola antigenica è del tutto innocua e tuttavia diventa causa di una determinata patologia. Infine, antigeni ben identificati associati alla trasformazione neoplastica non riescono ad indurre una significativa risposta immunitaria e richiedono idonee manipolazioni per raggiungere questo scopo.

Nell'ambito del primo sottoprogetto, verranno studiate, identificate, purificate e clonate molecole rilevanti per l'interazione con il sistema immunitario nel contesto delle varie patologie menzionate. I risultati conseguiti nell'ambito di questo sottoprogetto contribuiranno alla conoscenza dei meccanismi di induzione delle varie patologie e consentiranno la produzione di molecole importanti per un impiego inizialmente *in vitro* e successivamente anche *in vivo*. Tali studi forniranno inoltre elementi idonei allo sviluppo di moderne procedure diagnostiche e terapeutiche, mediante produzione di reagenti quali molecole ricombinanti, molecole naturali purificate, anticorpi monoclonali e preparazioni standard di riferimento.

Nell'ambito del secondo sottoprogetto, verranno perseguiti obiettivi relativi alle patologie associate a mancata o scarsa (inefficace) risposta immunitaria. Obiettivo di questo secondo sottoprogetto è, tra l'altro, la valutazione dell'impiego di molecole naturali e/o sintetiche, inclusi i prodotti biologici/biotecnologici per il ripristino di una corretta risposta immunitaria. Questo secondo progetto, a livello metodologico, è anche caratterizzato dalla produzione di anticorpi monoclonali della forma scFv da librerie fagiche. Si prevede pertanto di isolare frammenti immunoglobulinici diretti verso tutta una serie di antigeni, incluse proteine tossiche e determinanti self con varia ricaduta dal punto di vista clinico. Tra le patologie del sistema immunitario, le deficienze di varia natura e le patologie causate da tumori costituiscono un settore di grande interesse. In tale settore il progetto prevede lo sviluppo di una serie di interventi focalizzati essenzialmente su due aspetti, uno relativo alla valutazione della qualità e sicurezza dei farmaci biologici/biotecnologici con attività sul sistema immunitario (interleuchine, anticorpi monoclonali, immunoglobuline umane policlonali, ecc.) e l'altro incentrato sullo sviluppo di terapie innovative mirate e sull'impiego di particolari metodiche di immunizzazione che utilizzano la presentazione dell'antigene da parte di cellule dendritiche.

Infine, nell'ambito del terzo sottoprogetto, si affronteranno gli obiettivi relativi ad una eccessiva risposta immunitaria, valutando l'efficacia della somministrazione di sostanze attive quali farmaci chimici, farmaci biologici o biotecnologici in grado di indurre tolleranza, e successiva modulazione di tale

*Prospettive future***ISTITUTO
SUPERIORE
di SANITÀ**

toleranza attraverso opportuno dosaggio dei farmaci utilizzati. Alla luce di un programma di fattibilità, nell'ambito delle numerose possibilità, il sottoprogetto si focalizza sugli aspetti relativi ai trapianti, alle malattie allergiche e alle malattie associate a disfunzioni a livello di Gut Associated Lymphoid Tissues (GALT).

Obiettivo finale del progetto. - Gli sforzi combinati nell'ambito dei tre sottoprogetti consentiranno lo sviluppo di approcci globali migliori rispetto a quelli esistenti per la diagnosi e la terapia immunologica delle patologie a carico del sistema immunitario, siano esse caratterizzate da un'abnorme attività del sistema stesso siano esse dovute ad un deficit parziale o totale, permanente o transitorio della risposta immunitaria.

Tempi di esecuzione del programma. - Il programma prevede uno sviluppo quinquennale. I tre sottoprogetti hanno numerosi punti di contatto, ma non contengono reciproci punti nodali che influenzano in maniera determinante lo stato di avanzamento di ciascuno di essi.

Risultati già ottenuti. - A livello del primo sottoprogetto, sono state caratterizzate e/o studiate varie molecole antigenicamente rilevanti nell'ambito delle patologie immunomediate che sono utilizzabili sia come strumenti diagnostici e terapeutici che nello studio dei meccanismi eziopatogenetici. Risultati di un certo rilievo sono stati ottenuti nel settore delle patologie immunomediate associate ad agenti infettivi, quali l'HIV e l'*Echinococcus granulosus*, per i quali sono stati studiati vari aspetti legati, rispettivamente, alla attività immunomodulante della proteina Nef e alla caratteristica di indurre una risposta di tipo Th1 o Th2 in funzione dello stadio della malattia. Nell'ambito delle patologie da allergia, invece, sono state caratterizzate e clonate molecole allergeniche di grande interesse pratico, utilizzate per il momento a livello diagnostico *in vitro*.

Nell'ambito del secondo sottoprogetto, sono stati effettuati studi volti al chiarimento dei meccanismi di azione di varie citochine ad attività stimolante, e sono state investigate alcune proprietà di membrana delle cellule tumorali che potrebbero essere sfruttate per aumentare l'efficacia dell'azione del sistema immunitario e di farmaci sul tumore stesso. Inoltre, nell'ambito delle patologie da deficit del sistema immunitario, di notevole interesse sono i risultati ottenuti relativamente alla qualità della terapia immunologica basata sull'uso delle immunoglobuline umane, che sottolineano come la sicurezza di questi farmaci sia ormai elevatissima, ma che tuttavia importanti sono anche tutti i tentativi fatti per sostituire questi farmaci con molecole chimicamente meglio definite, ottenute mediante ingegneria genetica da fonti sicure.

Infine, attività svolte nell'ambito del terzo sottoprogetto hanno consentito di studiare i meccanismi che hanno condotto ad una aberrante risposta immunitaria nei confronti di molecole "self", o molecole presenti nell'ambiente e normalmente non patogene. Questi meccanismi rappresentano il target per un intervento mirato di modulazione attraverso l'utilizzo, ad esempio, di tossine o antigeni (allergeni) modificati. I risultati ottenuti indicano che tale approccio è realmente perseguibile e in grado di produrre risultati molto incoraggianti come

nel caso degli studi effettuati sulle malattie infiammatorie croniche, dove l'individuazione delle alterazioni rilevanti nella loro patogenesi e lo sviluppo di adeguati modelli animali hanno permesso, nel modello murino del morbo di Crohn, l'utilizzazione della subunità B della tossina colerica come nuovo approccio terapeutico. Parallelamente, recenti studi condotti nel Laboratorio sui meccanismi che regolano l'apoptosi, unitamente a quanto di recente dimostrato circa il ruolo di Fas nella mancata apoptosi in assenza di mutazione dello stesso Fas, costituiscono una ulteriore interessante base di lavoro per lo studio delle patologie autoimmuni.

Costo del programma. - Il programma intende unificare e organizzare alcune importanti attività del Laboratorio di immunologia sotto un filo logico conduttore comune, costituito dallo studio dei fattori che regolano il bilanciamento tra risposta immune appropriata e inappropriata, affrontando però aspetti inclusi solo in parte nelle altre forme di progettualità attualmente disponibili. Per lo sviluppo di tale progetto si prevede una richiesta annua per circa 1,5 miliardi di lire.

Investimenti promossi. - La produzione di reagenti per uso *in vitro* rappresenta un primo aspetto fondamentale per quanto riguarda eventuali investimenti produttivi che possono essere fatti. Tali reagenti, costituiti prevalentemente da molecole ricombinanti (allergeni, anticorpi monoclonali, altri antigeni utili a scopo diagnostico) potranno essere ulteriormente sviluppati in futuro anche valutando per alcuni di essi un potenziale ruolo terapeutico. Inoltre, la conoscenza e la disponibilità di tali molecole nonché dei vari meccanismi coinvolti consentirà l'analisi approfondita dei meccanismi operanti nel corso delle varie patologie, consentendo approcci terapeutici innovativi con potenziale ritorno per la salute pubblica.

Quantità e qualità del personale. - La massa critica del progetto così come è articolato in tre sottoprogetti richiede, per essere raggiunta, l'inserimento di quattro ricercatori e quattro tecnici ad integrazione della dotazione di organico attualmente dedicata ad attività afferenti a quelle progettuali.

Valutazione ex ante dell'efficienza e dell'efficacia del programma. - La problematica dell'alterazione del rapporto Th1-Th2 rappresenta un aspetto fondamentale della immunologia degli anni recenti. Poiché tale alterazione è di fatto in gran parte causa di una risposta immunitaria impropria, sia in senso difettivo che iperreattivo, il suo studio giustifica un approccio globale e diversificato in funzione delle varie competenze del laboratorio. Dallo studio così condotto emergeranno risultati anche di applicabilità immediata, cioè altamente efficaci, sia a livello diagnostico che terapeutico.

Collaborazioni internazionali consolidate. - I tre sottoprogetti hanno tutti in essere una serie di collaborazioni consolidate a livello internazionale. Le principali sono di seguito elencate:

Sottoprogetto 1: R. Valenta, I. Wilson, Università di Vienna, Austria; B. Gottstein, Università di Berna, Svizzera; A. Nieto, Università di Montevideo, Uruguay.

*Prospettive future***ISTITUTO
SUPERIORE
di SANITÀ**

Sottoprogetto 2: D. Neri, Politecnico di Zurigo, Svizzera; J. Saldanha, NIBSC, Londra, UK; R. Pine, Public Health Research Institute, New York, USA.

Sottoprogetto 3: W. Strober, NIH, Bethesda, USA.

Laboratorio di ingegneria biomedica

Progetto: Tecnologie biomediche per l'efficacia e la sicurezza dell'assistenza sanitaria

Il programma di lavoro si colloca nell'ambito della tipologia 1: Azioni di natura strutturale, con ritorni sul medio-lungo periodo.

Il programma è finalizzato alla tutela ed alla promozione della salute, attraverso l'innovazione, lo sviluppo e la valutazione di dispositivi e di tecnologie biomediche nei settori cardiovascolari, neuro-muscolo-scheletrico (NMS), dei biomateriali, della telemedicina e delle patologie della visione. In particolare la ricerca sarà articolata nei seguenti obiettivi: individuazione di parametri descrittivi e modelli funzionali di dispositivi di assistenza o di sostituzione nel sistema cardiovascolare; valutazione della sicurezza e della efficacia di dispositivi medici di supporto vitale, in presenza di interferenze elettromagnetiche; sviluppo e valutazione di metodi ed algoritmi per la prevenzione ed il trattamento di aritmie cardiache; sviluppo e valutazione di dispositivi per la valutazione funzionale del sistema NMS con particolare riferimento alle patologie dell'età evolutiva e dell'anziano; sviluppo e valutazione di dispositivi per la riabilitazione motoria di pazienti ortopedici e neurologici; sviluppo di metodi per la valutazione di caratteristiche biomeccaniche dei biomateriali da impianto e dei materiali biologici con particolare riferimento all'ingegneria dei tessuti, cellulare e proteica; sviluppo di tecnologie informatiche e strumentali per la promozione della telemedicina, con speciale riguardo all'assistenza domiciliare di pazienti affetti da patologie croniche e dell'anziano; studio multifunzionale della retina, basato sullo sviluppo e l'integrazione di differenti metodi diagnostici, basati a loro volta sulle immagini, sull'elettrofisiologia e sulla psicofisica; lo studio verrà applicato alle più gravi patologie degenerative della retina, di grande interesse sociale e per le quali è essenziale disporre di una accurata selezione dei pazienti, in relazione alle nuove terapie farmacologiche e chirurgiche che si stanno sviluppando.

Elemento caratterizzante del programma è l'applicazione di conoscenze e metodologie ingegneristiche per la soluzione di problematiche di interesse sanitario, con una ricaduta consistente, nel medio periodo, sulla qualità dell'assistenza sanitaria.

Il programma si articolerà in una fase di studio, di analisi della letteratura e di stesura delle specifiche di sistema (durata 8-12 mesi); una seconda fase di sviluppo degli strumenti, verifiche di funzionamento e di sicurezza ed utilizzo pilota (durata 10-12 mesi); una fase conclusiva di validazione clinica, con raccolta di dati e valutazione del rapporto costo/beneficio delle soluzioni implementate (12-14 mesi).

Il Laboratorio di ingegneria biomedica ha, da diversi anni, condotto ricerche su temi analoghi a quelli proposti. In particolare in campo cardiovascolare sono

stati realizzati banchi di prova per studi velocimetrici (laser e US) che hanno permesso di determinare nuovi limiti per gli sforzi di taglio indicativi di danno emolitico, nel caso di protesi valvolari; per quanto riguarda la valutazione della affidabilità e della sicurezza degli stimolatori cardiaci impiantabili in presenza di interferenze da telefoni cellulari, sono stati definiti limiti di sicurezza, in termini di distanza sorgente/dispositivo; sono stati elaborati algoritmi per la classificazione automatica di aritmie atriali, con particolare attenzione al livello di organizzazione dell'attività elettrica cardiaca durante fibrillazione.

Nel settore neuro-muscolo-scheletrico l'attività prevalente è consistita nello sviluppo di strumentazione innovativa per l'analisi del movimento umano nelle sue componenti cinematiche e dinamiche: tra l'altro, sono state realizzate pedane per la misura puntuale delle forze di interazione piede-suolo; una particolare integrazione di diverse tecnologie ha permesso di realizzare uno strumento in grado di misurare per la prima volta, nel piede diabetico, le forze tangenziali che si ipotizza possano avere un ruolo importante nei processi ulcerativi. Un dispositivo di allevio del peso, di concezione originale si è rivelato efficace nella riabilitazione al cammino di pazienti ortopedici e neuropatici.

In campo implantologico sono state valutate le prestazioni biomeccaniche di impianti dentali inseriti in animale, sia con tecniche standard che con quelle stimolanti la rigenerazione del tessuto osseo (GTR). Inoltre sono state studiate le caratteristiche biomeccaniche *in vitro* dei compositi e delle amalgame e, su denti umani, delle interfacce dentina/adesivo/perno in carbonio per il miglioramento della ritenzione endocanalare.

E' stato condotto uno studio biomeccanico dei legamenti articolari e dei segmenti tendinei e delle principali tecniche di ricostruzione chirurgica. Sono state condotte valutazioni dell'epidermide ricostruita *in vitro* e del tessuto osseo ricostruito caricando cellule stromali di midollo osseo espanse *in vitro* su un supporto di bioceramica porosa destinato alla ricostruzione di lunghi segmenti ossei.

Nel settore delle patologie della visione sono stati eseguiti gli studi di fattibilità per la realizzazione di uno strumento di diagnosi precoce mediante immagini delle lesioni del fondo retinico (retinopatia diabetica). Inoltre sono stati realizzati un sistema completo per lo studio elettrofisiologico della funzione maculare, con procedure di acquisizione ed elaborazione del segnale originali e realizzazione di stimolatori luminosi innovativi ed un sistema computerizzato per l'adattometria dinamica dei coni.

Risultati attesi. - Trasferimento, con opportune soluzioni tecnologiche, di risultati già acquisiti sia in ambito clinico che in ambito industriale al fine di aumentare l'efficacia diagnostica/terapeutica e di ridurre il rischio associato ai dispositivi e biomateriali valutati/sviluppati.

Costo del programma. - I costi diretti possono essere così suddivisi:

acquisto di strumentazione specifica	£ 2 000 000 000
personale a contratto (8 ricercatori per 3 anni)	£ 1 200 000 000
funzionamento	£ 800 000 000

*Prospettive future***ISTITUTO
SUPERIORE
di SANITÀ**

Spese indirette attribuibili:

overhead £ 500 000 000

Spese indirette non attribuibili:

spese funzionamento del laboratorio £ 1 000 000 000

Fondi:

finanziamento: 40% ISS

co-finanziamento: 60% SSN (1%), MURST, ENEA, CNR, INAIL

Il personale diretto di ricerca disponibile: 5 dirigenti di ricerca, 6 primi ricercatori, 6 ricercatori.

Si prevede un turnover per dirigente di ricerca nei prossimi 3 anni.

Assunzioni previste: un dirigente di ricerca, 2 primi ricercatori, 4 ricercatori, 3 collaboratori tecnici.

La massa critica per lo svolgimento del programma di ricerca sarà raggiunta con personale a contratto.

Partnership e collaborazioni internazionali consolidate. - J. O'Connor, Nuffield Orthopaedic Centre, Oxford, UK; H. Reul, Helmholtz-Institute, Aachen, Germania; P. Verdonck, Institute of Biomedical Technology, University of Gent, Belgio; R. Rieu, Institute of Mechanical Engineering, Marseilles, Francia. H. Schima, Center for Biomedical Research, University of Vienna, Austria; H. Baumgartner, Department of Cardiology, Vienna General Hospital, University of Vienna, Austria.

Laboratorio di medicina veterinaria

Tipologia, contenuti scientifici e obiettivi del programma. - Le attività di ricerca sono indirizzate allo studio dei fattori di rischio ed allo sviluppo di sistemi per la sorveglianza delle zoonosi e della filiera produttiva zootecnica e si articolano nelle seguenti aree tematiche:

- metodologie diagnostiche innovative per la definizione rapida di misure di prevenzione e procedure per il controllo di prodotti immunologici veterinari, di fondamentale importanza per la salute animale e con ricadute sulla salute umana;
- studio dei fattori di rischio nella filiera produttiva zootecnica, sia in relazione a sostanze farmacologicamente attive e a contaminanti chimici e biologici, sia ad agenti infettivi a carattere zoonosico. Le ricerche si basano, in particolare, sull'acquisizione di conoscenze nei settori della biologia molecolare e della bioelettrochimica, e si articolano nelle seguenti linee: 1) studio delle caratteristiche e delle funzioni di alcune proteine coinvolte nella patogenesi di zoonosi emergenti in sanità pubblica veterinaria, quali, in particolare, encefalopatie spongiformi trasmissibili (EST), valutando i diversi tessuti animali sperimentalmente infettati, i meccanismi di trasformazione e le basi molecolari della trasmissione interspecifica (animale-uomo); 2) progettare, sviluppare, realizzare e validare micro-sistemi innovativi e dispositivi sensoristici ad elevato contenuto

tecnologico e bassi costi di utilizzo, quali biosensori a DNA ed immunosensori elettrochimici per lo studio di fattori di rischio chimico e biologico nel contesto di filiera alimentare e per la tutela degli alimenti, ai fini della salute pubblica.

Tempi di esecuzione del programma. - Il tempo di esecuzione medio del progetto è da 3 a 5 anni.

Risultati attesi ed ottenuti. - I risultati attesi dal programma riguardano lo sviluppo dei seguenti punti, su cui sono già stati ottenuti risultati parziali.

Area tematica A: 1) standardizzazione e controllo di materiali e metodologie diagnostiche da utilizzare per il monitoraggio della rabbia e per l'eradicazione dell'influenza aviaria; 2) standardizzazione e controllo dei materiali e delle metodologie diagnostiche nella sorveglianza istituzionale dei piani di eradicazione della brucellosi e tubercolosi bovina.

Area tematica B: 1) comprensione delle funzioni di proteine prioniche cellulari e dei fattori che ne determinano la trasformazione; 2) comprensione dei meccanismi di trasmissione interspecifica delle EST; 3) progettazione, sviluppo, realizzazione e validazione mediante LC-MS-MS di micro-sistemi innovativi e dispositivi sensoristici brevettabili, quali biosensori a DNA ed immunosensori elettrochimici di elevato contenuto tecnologico, alta sensibilità, specificità ed affidabilità, bassi tempi di risposta e costi contenuti, per lo studio di fattori di rischio chimico e biologico a livello di filiera alimentare; 4) elaborazione di Procedure Operative Standard per l'esecuzione dei saggi di sensibilità agli antibiotici di batteri responsabili di patologie nei pesci d'allevamento; 5) validazione e standardizzazione di metodologie per la ricerca di farine animali nei mangimi destinati ai ruminanti; 6) validazione e standardizzazione di metodi molecolari per la conferma dell'identificazione di *E. coli* 0157; 7) produzione di materiali di riferimento e protocolli per la sorveglianza dei residui di sostanze farmacologicamente attive e contaminanti chimici e biologici.

Costo del programma. - Il costo complessivo dell'attività di ricerca del laboratorio può essere stimato nell'ordine di 1 miliardo annuo. Oltre al finanziamento istituzionale dall'ISS, l'attività è supportata da fondi ottenuti dal MURST, dal Ministero della sanità, dal Ministero per le politiche agricole e dalla Commissione europea per lo sviluppo di programmi inerenti le stesse tematiche e da fondi provenienti da convenzioni stipulate con gli Istituti zooprofilattici sperimentali.

Quantità e qualità del personale. - Il personale attualmente coinvolto comprende 6 dirigenti di ricerca, 4 primi ricercatori, 9 ricercatori, 15 collaboratori tecnici, 16 operatori tecnici. Si ritiene che per raggiungere la massa critica necessaria per il completamento del programma nei tempi previsti sia necessario un ulteriore contributo di almeno 5 ricercatori e 7 tecnici.

Valutazione ex ante dell'efficienza e dell'efficacia del programma. - L'attività di ricerca proposta, di notevole contenuto innovativo e fondata sul contributo di

*Prospettive future***ISTITUTO
SUPERIORE
di SANITÀ**

tecnologie avanzate, si inquadra nell'attività di ricerca finalizzata e corrente consolidata negli anni dal Laboratorio di medicina veterinaria, con ricaduta diretta sulle attività delle strutture di produzione e di controllo di alimenti di origine animale, ai fini della tutela della salute.

Partnership e collaborazioni internazionali consolidate. - Helge Karch, Università di Wurzburg, Germania; Eric Oswald, Università di Tolosa, Francia; T. Yasumoto, Faculty of Agriculture, Tohoku University, Sendai, Giappone.

Laboratorio di metabolismo e biochimica patologica

Progetto: Meccanismi biochimici e molecolari di malattie metaboliche, genetiche e rare

Contenuti scientifici e obiettivi. - Il laboratorio svolge attività di ricerca sorveglianza e diagnostica nell'ambito delle malattie metaboliche, genetiche e rare. Attraverso i Registri nazionali (Ipotiroidei congeniti, Assuntori dell'ormone della crescita, Complicanze della malattia celiaca, Malattia di Gaucher) è stata assicurata la sorveglianza degli eventi patologici sul territorio e la individuazione di alcuni fattori di rischio ambientali e/o familiari.

Inoltre il laboratorio svolge un ruolo di centro di riferimento per la diagnosi delle seguenti patologie: a) enzimi lisosomiali correlati a specifiche sfingolipidosi; b) ricerca di mutazioni in geni associati a craniosinostosi sindromiche; c) dosaggio degli acidi grassi a lunga catena nel plasma per la diagnosi delle malattie perossisomiali quali l'adrenoleucodistrofia; d) ricerca di mutazioni in geni coinvolti nel metabolismo lipidico e lipoproteico.

Obiettivo della ricerca è quello di aumentare le conoscenze sulla eziopatogenesi di tali malattie mediante l'approfondimento dei meccanismi biochimici, la identificazione dei marcatori genetici e l'elaborazione di protocolli avanzati per la diagnosi precoce. Il progetto è articolato in sottoprogetti che approfondiscono i seguenti aspetti della tematica:

Dislipidemie e loro sequele cronico-degenerative. Vengono effettuati studi cellulari e molecolari delle alterazioni del metabolismo lipidico e lipoproteico, con particolare riguardo per la omeostasi cellulare e circolatoria del colesterolo. E' stata stabilita una rete di collaborazioni che include, oltre all'ISS, centri clinici specializzati nello studio delle dislipidemie e delle loro sequele cardiovascolari mediante la quale viene arruolata la casistica necessaria a definire le basi genetico-molecolari di queste patologie nel nostro Paese. Il risultato atteso è la definizione della mappa delle mutazioni e dei difetti molecolari che danno luogo alle dislipidemie e loro sequele in Italia, il miglioramento delle tecniche diagnostiche e dell'eziopatogenesi di queste patologie.

Malattie lisosomiali. a) E' stato definitivamente chiarito il processo di degradazione enzimatica del glucosilceramide, lo sfingolipide il cui accumulo è alla base della patologia riscontrata nella malattia di Gaucher; b) E' stato dimostrato che le saposine hanno una grande affinità per superfici lipidiche e sono in grado di modificare profondamente la struttura delle membrane lisosomiali; c) E' stata determinata la struttura delle saposine; d) E' stata

determinata l'importanza dello "splicing" per il destino finale della prosaposina, il precursore delle 4 saposine, nella cellula; e) E' diventato operante il Registro nazionale Gaucher. L'obiettivo finale del programma è la caratterizzazione funzionale delle mutazioni delle idrolasi lisosomiali o delle saposine, che è un passaggio indispensabile sia per lo studio di correlazione tra genotipo e fenotipo, sia per nuovi approcci terapeutici.

Meccanismi patogenetici dell'adrenoleucodistrofia. Sono già state caratterizzate nei pazienti i processi di attivazione immunitaria (spostati verso una risposta di tipo Th1) e il pattern di citochine prodotte da linfociti di pazienti con differente espressione fenotipica della malattia. Inoltre è stata dimostrata l'efficacia di lipidi esogeni, ricchi in acidi grassi a catena dispari di atomi di carbonio, nel promuovere il processo di "repair" della mielina. Obiettivo della ricerca in corso e futura è l'individuazione dei meccanismi coinvolti nella differente espressione fenotipica della adrenoleucodistrofia e dei meccanismi modulati dagli acidi grassi, coinvolti nell'espressione dei geni della mielina.

Proteine coinvolte nell'ontogenesi e nella neurodegenerazione di tipo Alzheimer. E' stato studiato il ruolo funzionale di proteine associate allo sviluppo del sistema nervoso e coinvolte nell'anziano in fenomeni neurodegenerativi. I risultati complessivi suggeriscono come i neuroni esercitino un controllo attivo nel processo di traduzione di tali proteine, associato ad un aumento della loro espressione. Obiettivo della ricerca è l'utilizzazione di un sistema *in vitro* (colture primarie di ippocampo) per verificare le condizioni di danno ossidativo e tentare di indurre condizioni immunoprotettive nelle colture, modificando o prevenendo il danno neuronale mediante l'uso di sostanze antiossidanti.

Complicanze della malattia celiaca. E' stato evidenziato su cellule CaCo-2, come il bilancio redox basale dell'enterocita rappresenti un fattore critico ai fini delle loro suscettibilità, e di conseguenza, per lo sviluppo e la progressione della lesione mucosale del celiaco. Inoltre è stata confermata l'attività protettiva di un peptide di 10aa, pm 1156, nei confronti di cellule CaCo-2 trattate con cereali tossici per i celiaci. Ci proponiamo di verificare la tipologia radicalica coinvolta nel danno prodotto dai peptidi gliadinici al fine di una più chiara definizione del ruolo che questi radicali eserciterebbero nella malattia celiaca.

Biochimica endocrina. Vengono svolti studi nell'ambito di: a) malattie endocrino-metaboliche su base autoimmune, con particolare attenzione all'associazione tra patologia tiroidea e diabete; b) meccanismi patogenetici delle complicanze vascolari del diabete; c) valutazione dei fattori di rischio familiari e ambientali per l'insorgenza dell'ipotiroidismo congenito. Obiettivo della ricerca è: a) la relazione esistente tra autoimmunità organo specifica (anti-pancreas e anti-tiroide) e citochine immunomodulanti b) il ruolo svolto dal background genetico e dal complesso recettoriale per le proteine modificate dal glucosio nella patogenesi delle complicanze vascolari del diabete; c) le basi molecolari dell'ipotiroidismo congenito e l'associazione tra ipotiroidismo congenito e altri difetti dello sviluppo.

Tempi di esecuzione del programma. - Il conseguimento di risultati originali e di qualità scientifica elevata richiede almeno un triennio.

*Prospettive future***ISTITUTO
SUPERIORE
di SANITÀ**

Risultati ottenuti. - Il programma proposto deriva da attività di ricerca pregressa o in corso i cui principali risultati sono elencati di seguito. La competenza acquisita è inoltre dimostrata dall'attività di consulenza in atto nella diagnostica delle patologie oggetto dello studio.

Costo del programma. - La spesa complessiva per la realizzazione del progetto in un arco di tre anni viene stimata nell'ordine dei 5 miliardi. Le fonti di finanziamento previste sono i fondi ISS per la ricerca e la ricerca finalizzata 1% del Ministero della sanità. Risultano già disponibili 870 milioni da art. 505 ISS e 830 milioni da finanziamento 1%.

Quantità e qualità del personale. - I ricercatori del laboratorio coinvolti nella realizzazione del programma sono 12, cui probabilmente dovranno aggiungersi 4 altre unità di nuova assunzione. Parteciperanno inoltre 17 collaboratori tecnici.

Valutazione ex ante dell'efficienza e dell'efficacia del programma. - Questo progetto affronta con un approccio diversificato un gruppo piuttosto eterogeneo di patologie la cui rilevanza risulta dal PSN. Ciò richiede che siano rispettate le richieste di finanziamento e di immissione in ruolo di nuovo personale. E' però prevedibile, in conseguenza dell'interesse delle tematiche affrontate e dell'approccio innovativo al loro studio, che si possano ottenere risultati di applicabilità immediata in ambito diagnostico e clinico e ricadute a più lungo termine in ambito eziopatogenetico e terapeutico.

Collaborazioni internazionali consolidate. - K.M. Botham, Royal Veterinary College, London University, UK; T. Gilat, Medical School, Tel-Aviv University, Israele; M. Horowitz, Tel-Aviv University, Israele; K. Suzuki, University of North Carolina, USA; M. Vanier, Centre Hospital Lyon, Francia; D. Wenger, Jefferson Medical College, Philadelphia, USA; A. Zimran, Department of Medicine, Jerusalem, Israele; R.J. Desnick, Human Genetic Department, New York, USA.

Laboratorio di parassitologia

Tra le parassitosi enteriche emergenti, la criptosporidiosi è oggetto di particolare interesse clinico-epidemiologico.

Contenuti scientifici e obiettivi del programma. - Il laboratorio ha sempre promosso attività di ricerca applicata alla soluzione di problemi di diagnostica, terapia e profilassi delle malattie parassitarie e delle infezioni trasmesse da vettori. Le importanti eccezioni di ricerca di base hanno dato negli anni maggior forza ed impulso all'azione programmata a livello nazionale ed internazionale. Le patologie di importazione, le patologie emergenti e riemergenti e le problematiche di farmacoresistenza sono state costantemente affrontate in passato e costituiscono i temi correnti di interesse del laboratorio. In particolare le attività hanno come obiettivi specifici: 1) identificazione di molecole bersaglio della risposta immune nella criptosporidiosi umana e studio della variabilità genetica in *Cryptosporidium*

parvum e sviluppo di protocolli per la ricerca delle oocisti nelle acque; 2) sorveglianza della malaria in Italia e biologia molecolare di *Plasmodium spp.*; 3) epidemiologia e diagnostica molecolare di altre parassitosi enteriche e sistemiche (amebiasi, giardiasi e toxoplasmosi, e trichinellosi con particolare riferimento alla toxoplasmosi congenita); 4) biologia molecolare ed epidemiologia e controllo delle leishmaniosi, con particolare interesse per la diagnosi molecolare, la produzione di antigene di *Leishmania* per uso intradermico, e lo sviluppo di prodotti per la immunoterapia delle leishmaniosi; 5) bio-ecologia e studio del ruolo vettore di artropodi di interesse sanitario (con particolare riferimento alla rickettsiosi, borreliosi e arbovirosi). L'approccio genomico-molecolare e l'ampia trattazione dei temi a livello bio-geografico garantisce il conseguimento di obiettivi di ricerca di base e di elaborazione di strategie di controllo.

Tempi di esecuzione del programma. - Le attività previste nel progetto sono collocate in un arco di 3 anni.

Risultati ottenuti dalle ricerche in corso e risultati attesi. - 1) Caratterizzazione di antigeni (tre antigeni proteici, SA20, SA35 e SA40) specifici dello stadio di sporozoitia sono stati purificati e saggiati per valutarne la immunogenicità. Tutti e tre sono riconosciuti dal siero di animali immunizzati.

Sono stati, inoltre, effettuati studi del cariotipo di *Cryptosporidium parvum* e sono stati caratterizzati isolati e generati cloni di cellule T umane *Cryptosporidium*-specifiche. E' stata effettuata la caratterizzazione del gene codificante per l'antigene P49 di *Trichinella*.

Lo studio della struttura ha messo in evidenza la presenza di 5 esoni e 4 introni. 2) Valutazione del rischio di reintroduzione della malaria in Italia e diagnosi molecolare di specie del complesso *Anopheles maculipennis*, che comprende i più importanti potenziali vettori di malaria della regione europea, tipizzazione molecolare degli isolati di *Plasmodium vivax* e completamento degli studi sul timing di espressione e sulla sesso-specificità della proteina Pfg377 di *Plasmodium falciparum*. 3) Valutazione della tecnica di PCR e Nested PCR specifica per *Entamoeba histolytica* e *E. dispar*, messa a punto utilizzando come target il gene codificante per l'emolisina. E' stata terminata inoltre la sequenza codificante per la cisteina proteinasi di *Toxoplasma gondii*. 4) Proseguimento dello studio del polimorfismo delle diverse specie di *Leishmania* e sorveglianza per la LV umana e controllo del serbatoio canino nei focolai a rischio. 5) Completamento dello studio della variabilità intraspecifica in *P. perniciosus* e *P. ariasi* e infezione naturale di *Ixodes ricinus* con *Borrelia spp.* e *Ehrlichia phagocytophila*. 6) Distribuzione e ruolo vettore di *Aedes albopictus*.

Costo del programma. - Il costo diretto previsto del programma è di 1,5 miliardi di lire, con principali fonti di finanziamento intramurali e Art. 12 DL 502/92.

Partnership e collaborazioni internazionali consolidate. - Organizzazione mondiale della sanità, Ginevra Headquarters e Ufficio regionale per l'Europa; CDC, Atlanta; Commissione europea.

*Prospettive future***ISTITUTO
SUPERIORE
di SANITÀ****Laboratorio di tossicologia applicata*****Progetto: Accertamento delle diverse forme chimiche di elementi rilevanti per la salute umana in alimenti di origine animale***

Tipologia, contenuti scientifici e obiettivi del programma. - La sicurezza degli alimenti e la salute dei cittadini dell'Unione europea vengono oggi riconosciuti come obiettivi ad alta priorità. In conseguenza di ciò, assume una rilevanza sempre maggiore la costante verifica dei componenti in traccia presenti nell'ambiente e nei prodotti alimentari. Nel mercato unico i programmi di controllo predisposti a tal fine dipendono in maniera crescente dal reciproco riconoscimento dei dati sperimentali.

Va inoltre considerato che l'assunzione con la dieta di elementi chimici essenziali o potenzialmente tossici può comportare effetti benefici o indesiderabili a seconda non solo delle loro concentrazioni totali, ma anche in funzione delle specie chimiche sotto cui essi possono manifestarsi. La verifica di questi aspetti ha dunque rilevanza ai fini del mantenimento di condizioni di salute ottimali, nonché della elaborazione di norme maggiormente realistiche e coerenti con le attuali conoscenze che disciplinano la materia in modo più appropriato.

Il progetto prende in esame gli alimenti di origine animale perché oggetto di importanti iniziative comunitarie tramite il sistema di laboratori di riferimento della Commissione europea e degli Stati membri (Dir 96/23/CE del 29 aprile 1996) e mira a mettere a punto le necessarie metodologie sperimentali. Prevede la raccolta di campioni di carne bovina, pollame, pesci d'acquicoltura, latte, uova e miele da cinque aree prefissate del territorio nazionale italiano, e precisamente, da due regioni del Nord (Piemonte, Veneto), da due del Centro (Lazio, Marche) e da un'isola (Sardegna), in numero di venti per ciascun sito e tipologia alimentare, per un totale di 600 campioni. I prelievi, a cura di tutte le Unità operative partecipanti, avranno luogo in conformità ad una procedura preventivamente codificata e, in particolare, in modo tale da identificare univocamente i campioni e da preservarne l'integrità, fino alla effettuazione delle analisi, sotto ogni profilo, compreso quello del mantenimento dei rapporti originali tra le varie specie chimiche d'interesse presenti.

Le determinazioni delle concentrazioni in toto di arsenico, mercurio e selenio verranno condotte tramite tecniche di spettrometria di assorbimento atomico, di emissione atomica con plasma induttivo e di massa con plasma induttivo. Per quanto attiene alle analisi di speciazione, si farà ricorso alla combinazione su linea delle citate tecniche a plasma induttivo con cromatografia liquida ad alta efficienza. Il grado di attendibilità delle misure sperimentali condotte verrà parallelamente accertato tramite la organizzazione di esercizi multilaboratoriali per la verifica esterna di qualità e per mezzo dell'impiego costante di opportuni materiali di riferimento certificati. Nel corso del progetto verranno peraltro resi disponibili due materiali di riferimento multielementari, rispettivamente in matrice di carne bovina e di miele per la successiva caratterizzazione in termini di specie chimiche di arsenico, mercurio e selenio.

Tempi di esecuzione del programma. - Durata prevista per il progetto pari a 3 anni.

Risultati già ottenuti dalle ricerche in corso e risultati attesi dalle ricerche previste. - In riferimento ai risultati già ottenuti, particolare attenzione merita il conseguimento dei valori del parametro Z entro i limiti di accettabilità da parte delle Unità operative nel corso delle prove per l'accertamento delle prestazioni analitiche per le concentrazioni in toto di arsenico, mercurio e selenio e la verifica dell'affidabilità dei sistemi analitici per la speciazione tramite impiego di materiali di riferimento certificati per alcune specie chimiche.

I risultati attesi riguardano:

- l'ottimizzazione dei risultati analitici ottenibili con la spettrometria e di metodologie specifiche per le matrici di interesse delle specie chimiche considerate;
- l'approntamento di materiali di riferimento di lavoro in matrice di carne bovina e miele per la verifica interna della qualità delle misure effettuate in termini di accuratezza e precisione (da rendere successivamente disponibili ai laboratori interessati);
- l'organizzazione di circuiti interlaboratoriali per la verifica delle prestazioni offerte dai laboratori;
- l'esame dei risultati conseguiti e la loro interpretazione nell'ambito delle finalità del progetto con evidenziazione di eventuali situazioni di particolare rischio per arsenico, mercurio e selenio e di particolare carenza per selenio e formulazione di indicazioni per il possibile sviluppo di normative aggiornate.

Costo del programma. - Le spese complessive per il progetto tengono conto delle seguenti voci: personale, eventuali riunioni delle Unità operative, attrezzature, materiale di consumo, spese di pubblicazione dei risultati, eventuali contributi in conto capitale, spese generali delle strutture coinvolte e quant'altro. Il tutto per un ammontare complessivo di 1 253 600 000 di lire.

Quantità e qualità del personale. - L'impiego di personale prevede 2 dirigenti di ricerca, 8 ricercatori ed 1 tecnico per quanto riguarda il personale interno all'Istituto superiore di sanità, tra il Laboratorio di tossicologia applicata e quello di alimenti, e altri 7 dirigenti, 3 ricercatori e 9 tecnici appartenenti agli altri Istituti caratterizzanti le rimanenti Unità operative, per un totale di 256 mesi/persona di tempo dedicato al progetto nel triennio 2000-2002.

Valutazione ex ante dell'efficienza e dell'efficacia del programma. - Accertamento degli intervalli di concentrazione di specie chimiche di arsenico, mercurio e selenio in carni bovine, pollame, pesci d'acquicoltura, latte, uova e miele. Uso della informazione sperimentale così ottenuta per valutazioni tossicologiche e nutrizionali e per la formulazione di possibili indicazioni normative.

Partnership e collaborazioni internazionali consolidate. - Collaborazioni interne con il Laboratorio di alimenti ed esterne con gli Istituti zooprofilattici sperimentali con sedi a Brescia, Legnaro, Sassari, Teramo, Torino, nonché con l'Istituto nazionale di apicoltura di Bologna. A livello internazionale collaborano inoltre i Laboratori nazionali di riferimento per i residui presso gli Stati membri dell'Unione europea (uno per ciascuno Stato membro).