

VERBALE ASSEMBLEA ANNUALE DEI SOCI FIRMA

Milano Viale Monza 338 (IL) 3 MAGGIO 2013

ALLE ORE 14.00 INIZIA L'INCONTRO ANNUALE DEI SOCI FIRMA PRESSO L'AZIENDA
INSTRUMENTATION LABORATORY

Dopo il rinnovo delle iscrizioni alle ore 09.00 l'Assemblea viene aperta dal Presidente uscente Dott. R. Tozzoli.

Sono presenti: Rigon (delegata da Afeltra), Alpini, Amato, Bacarelli, Bistoni, Bizzaro, Brucato, Finazzi, Franceschini, Alunno (delegata da Gerli), Ghirardello, Giovannelli, Girardi, Lotzniker, Cauli (delegato da Mathieu), Meroni, Migliorini, Mondini, Morozzi, Pittoni, Radice, Riccieri, Calligaro (delegata da Ruffatti), Ruffelli, Sabatini, Sinico, Tampoa, Tincani, Tonello, Tozzoli, Trimarchi, Zabeo.

1. Si procede alla disamina dei punti dell'Agenda:

Comunicazioni del Presidente

Il Presidente uscente dr. Renato Tozzoli apre la seduta presentando il nuovo direttivo così composto:

- Presidente: Pierluigi Meroni
- Vicepresidenti: Angela Tincani, Milvia Lotzniker
- Tesoriere: Gabriella Morozzi
- Segretaria: Antonella Radice
- Revisori dei conti: Sebastiani, Mathieu, Gerli

2. Comunicazioni della Segreteria

Radice, in qualità di Segretaria del FIRMA, riassume le attività realizzate dal gruppo FIRMA durante l'anno passato:

- Riunione "Board Strategico" (14 gennaio)
- Riunione "Direttivo Ristretto" (3 agosto)
- Accettazione Proposta Phadia Thermofisher (12 ottobre)
- Corso intensivo metodologia EBM (21 novembre)
- Sessione congiunta SIR-FIRMA (23 novembre)
- Attivazione indirizzo mail segreteria@gruppo FIRMA.com
- Pubblicazioni:

Autoimm. Rev. (anti-vimentina mutata citrullinata, Gerli et al)

Arthritis Res & Ther (CCP, Bizzaro et al)

Plos One (in press) (anti-IFI 16, Landolfo et al)

Abstract a Granada (anti-IFI 16, Landolfo et al)

Abstract a Granada (MMP3, Bizzaro et al)

3. Stato avanzamento dei progetti in corso

Gerli prende la parola e presenta rapidamente i 2 studi pubblicati nell'ultimo anno:

1). Studio Diagnostic value of anti- mutated citrullinated vimentinin comparison to anti-cyclic citrullinated peptide and anti-viral citrullinated peptide 2 antibodies in rhemautoid arthrits: an italian multicentric study and review of the literature.

Lo studio si propone di valutare la *performance* diagnostica di anticorpi anti-MCV in un'ampia casistica di pazienti con artrite reumatoide (285) e di compararli con anti-CCP e anti VCP2. Gli anticorpi sono stati determinati anche in 91 controlli sani e 136 controlli patologici (pazienti con malattie autoimmuni/inflammatorie). Gli anticorpi anti-MCV avevano una sensibilità del 59% e una specificità del 92%. Gli anticorpi anti CCP e anti VCP2 avevano rispettivamente una sensibilità del 77% , 61% e una specificità del 96, 95%.

Questo studio su un'ampia popolazione di pazienti con AR mostra come con l'utilizzo del cut-off raccomandato di 20 U/ml gli anti-MCV sono stati trovati non solo nel 15% dei soggetti sani, ma anche in pazienti con infiammazione cronica, malattie autoimmuni e infiammatorie, riducendo quindi la specificità dell'anticorpo al 65%.

Nella popolazione considerata anticorpi anti-MCV non sembrano avere un sostanziale valore diagnostico come test aggiuntivo in pazienti con una sierologia negativa per AR.

2) *Studio Anti-cyclic citrullinated peptide antibody titer predicts time to rheumatoid arthritis onset in patients with undifferentiated arthritis: results from a 2 year prospective study*

Lo studio prevedeva il dosaggio di anticorpi anti-CCP in pazienti con artrite indifferenziata in quanto sono associati a un significativo rischio di sviluppare la malattia. I pazienti con artrite indifferenziata con presenza di anticorpi anti-CCP, mostravano un maggior rischio di sviluppare AR entro 2 anni. Questo è stato confermato sia per pazienti con basso titolo ma anche con alto titolo di anticorpi.

Tincani prende la parola e chiede consiglio per la pubblicazione del lavoro "Studio SSA/p200" in quanto rifiutato da diverse riviste.

Migliorini presenta l'attività del 2012 riguardo start-up Toscana Biomarkers

Dell'Oste prende la parola ed espone il lavoro "Clinical significance of the IFI16 protein and specific autoantibodies in the sera of patients with autoimmune diseases". Tra le varie attività di IFI16 (induzione dell'apoptosi, attivazione di molecole pro-infiammatorie, induzione della senescenza..), si ritiene che la proteina IFI16 sia responsabile anche dell'induzione di autoanticorpi nelle malattie autoimmuni. Anticorpi anti-IFI16 sono stati ricercati nel siero di 114 SSc (ACA e anti-Scl70 neg) tramite metodica ELISA (NoToPharm s.r.l.) e 144 controlli. Il cut-off era di 89U/ml, il 30% dei pazienti con SSc risultava positivo. Anti-IFI16 sono stati ricercati anche in una coorte di 168 SLE, 46 non SLE-GN e 182 HC. Ponendo il cut-off a 113 U/ml, il 63% dei pazienti con SLE risultava positivo. E' stata dimostrata un'associazione statisticamente significativa tra gli autoanticorpi anti-IFI16 e la proteinuria, in particolare elevati livelli di anti-IFI16 sono associati a bassi livelli di proteinuria, confermando il possibile ruolo protettivo svolto da questi autoanticorpi. Tale associazione non è invece statisticamente significativa nella popolazione di glomerulo nefriti non lupiche. Diversi stimoli di danno cellulare, come radiazioni UVB e infezione da citomegalovirus, inducono una localizzazione citoplasmatica della proteina. Un'alterata localizzazione della proteina è stata trovata anche in pazienti con patologie autoimmuni. In seguito al danno cellulare, è stata rilevata la localizzazione della proteina IFI16 nel citoplasma, qui si lega a un recettore presente sulla membrana delle cellule endoteliali con conseguente attivazione del sistema immunitario. La proteina circolante è stata ricercata tramite ELISA sandwich kit. Sono stati testati i sieri di pazienti affetti da patologie autoimmuni: 50 SSc, 100 SLE, 49 Sjs, 50 RA, 46 non-SLE GN e 116 controlli. Il cut-off era di 27 ng/ml. Sono risultati positivi il 34% di SSc, il 37% di SLE, il 47% di Sjs e il 56% di RA. Anticorpi anti-IFI16 e la proteina IFI16 sono stati ricercati in pazienti con UC e CD.

4.Report dell'incontro del board strategico: motivazioni, conclusioni e proposte

Sinico prende la parola ed illustra quanto emerso dalla riunione del board strategico. Ribadisce che una volta chiariti gli aspetti di criticità è emersa la caratteristica del FIRMA, ovvero la multidisciplinarietà. Sono stati infatti lanciati una serie di nuovi progetti di seguito illustrati.

LG

- E' stato presentato il calendario relativo agli incontri in cui si è discusso il progetto riguardante la realizzazione di linee guida per Presentazione protocollo preliminare (Montecucco, marzo '12)
 - discussione, formazione gruppi di lavoro, suggerimenti (apr-ago '12)
 - 2° protocollo preliminare (settembre '12)
 - corso intensivo di metodologia EBM (novembre '12)
 - **ridefinizione specificità anticorpali da includere nello studio (dic '12) CCP/RF/ANCA/anti-C1q/APL
 - revisione del protocollo con il contributo dei partecipanti al corso di metodologia EBM, in particolare della dr.sa Talarico (gen '13)
 - nuovo giro di *consensus* e pubblicazione del protocollo definitivo sul sito (febbraio '13)
- **LG EASI ANA/ENA/dsDNA in revisione (Delphi) da parte di IUIS/AF/WHO/CDC Committee

LG EBM in autoimmunità non ci sono, in un primo momento si era pensato di realizzare linee guida per tutte le specificità anticorpali, poi per anticorpi anti-ANA. dsDNA, ENA sono state rimandate in quanto già realizzate da EASI. Le LG EASI non sono però in modalità EBM, si è quindi presa in considerazione la possibilità di inserirle nel progetto. A dicembre 2012 le specificità anticorpali incluse nello studio erano le seguenti: CCP/RF/ANCA/anti-C1q/APL.

Ad oggi le domande sono pervenute da: Bizzaro, Gerli, Meroni, Migliorini, Montecucco, Morozzi, Radice, Riccieri, Ruffatti, Sebastiani, Tincani; Galeazzi e Afeltra non hanno re-inviato i quesiti

Le domande sono state sollecitate a: De Pità, Doria, Galeazzi, Mathieu, Sinico, Tozzoli, Villalta, Afeltra.

Le domande formulate devono rispondere ai criteri PICOS (P= Population, I=Intervention, C=Comparison O=Outcome S=Study Design). Si ricorda di mandare le domande entro maggio. A breve verrà fatto un corso per i fellow in modo che le domande siano formulate correttamente. I quesiti verranno poi sottoposti a votazione del board con tecnica Delphi.

✓ soltanto le domande formulate da Meroni e Tincani rispondono completamente ai criteri PICOS

✓ devono essere incrementate le domande, in particolare per anti-C1q

✓ le domande definitive dovranno pervenire entro la fine di maggio 2013

Sono state ricordati i termini preposti per la realizzazione del progetto.

giugno '13: incontro dei fellows x esercitazioni e riformulazione quesiti

luglio '13: selezione domande tramite votazione del *board* con tecnica Delphi

agosto '13: formulazione di un *collecting data form*

(criteri inclusione/esclusione, intervallo temporale ricerca, tipologia studi da considerare, dati specifici da estrarre, scelta motori ricerca, lingua, metodo valutativo qualità degli studi con attribuzione livelli di evidenza)

settembre 2013: i quesiti finali, ritenuti clinicamente rilevanti, saranno indagati mediante revisione sistematica (RS) della letteratura scientifica

ottobre '13: analisi preliminare dei risultati

La dr. Talarico prende la parola e ricorda i principi della metodologia EBM. Ciascun gruppo dovrà formulare almeno 6 domande nel proprio campo di interesse e ricerca, e circa 4/6 domande riguardo le altre classi anticorpali.

Nella formulazione delle domande si raccomanda l'attinenza ai criteri PICOS. Le domande non devono essere troppo generiche ma neanche troppo specifiche, una volta elaborate verranno sottoposte a valutazione Delphi.

E' possibile che per un quesito non ci sia abbastanza materiale da revisionare.

Il nuovo presidente in carica prende la parola e presenta lo studio PARE – progetto ANA reading- (protocollo presente sul sito FIRMA).

La segretaria Radice presenta i dettagli dello studio:

- Protocollo preliminare (Meroni, settembre '12)
- valutazione da parte dei componenti del “board strategico” e proposta alle Aziende (settembre-novembre '12)
- pubblicazione sul sito di protocollo definitivo + *database* (dicembre '12)

Le Aziende partecipanti al progetto sono: I.L. (NOVA Lite, Borghi-Milano Auxologico), Menarini (Zenit RA, Morozzi-Siena), Medipan (AKLIDES, Sede-Berlino).

I centri FIRMA partecipanti allo studio sono 17, di questi:

Amato → rinuncia x problemi organizzativi

Giudizi → rinuncia x problemi relativi all'autorizzazione del CE

Manetti → invia materiale in quantità insufficiente (≈ 300ul)

Afeltra e Mathieu → non inviano i campioni, non comunicano la rinuncia

Lo stato del lavoro attuale:

- I campioni sono stati rinominati, aliquotati ed etichettati, pronti per essere inviati ai Centri che effettueranno la valutazione strumentale
- ciascun Centro “fornitore” è stato identificato
- ciascun campione sarà ri-classificato secondo modalità prefissate (Lotzniker), processazione campioni: disponibile laboratorio Ospedale Civile Legnano
substrato: cellule HEp-2 da produttore non coinvolto nel progetto (acquista FIRMA)
valutazione: tre osservatori indipendenti (Lotzniker e Radice disponibili)

I prossimi passaggi del progetto sono i seguenti:

maggio '13: invio delle aliquote per processazione automatica

maggio '13: riclassificazione x *consensus* (sopra)

luglio '13: disponibilità risultati lettura/interpretazione automatizzata

settembre '13: analisi preliminare dei dati

I Centri che hanno dato la disponibilità proseguono nella raccolta dei campioni prospettici, che saranno successivamente inviati al Core-Lab (accordi con Radice).

Lotzniker prende la parola ed espone la “Rivalutazione centralizzata dei campioni”

Lo studio si prefigge i seguenti obiettivi:

-Lettura qualitativa (Pos/Neg)

-Identificazione del/dei pattern (come ci comportiamo per i pattern multipli?)

-Valutazione semiquantitativa

Viene riportato il punto sul problema di standardizzazione:

-Valutazione di 5 HEp-2 commerciali (*Inova, Bio-Rad, Zeus, Immunoconcept HEp-2000, Euroimmun 2010*)

-372 campioni: 50 LES, 45 AR, 35 SSc, 20 SS, 10 PM, 100 donatori, 100 sieri da routine, 12 sieri di riferimento CDC

-3 lettori esperti indipendenti: la concordanza della lettura e di + 1 titolo varia dal 96 al 99% per i vari substrati

-Concordanza dei 5 test = 78%

Inoltre vengono evidenziate discordanze sia nel titolo che nel pattern, a seconda della patologia:

a fronte del 93% di concordanza nel gruppo di controllo, la concordanza scende al 72% in LES e al 44% in SSc.

Vengono espone le proposte su come procedere:

-Caratterizzazione dei sieri con HEp-2 commerciali diverse da quelle che saranno testate per la lettura automatizzata

-Caratterizzazione univoca su 2 diverse linee cellulari HEp-2: *ad es mediante biochip Euroimmun*

-Lettura tradizionale con 3 lettori indipendenti: se il pattern non è univoco sulle 2 linee cellulari il campione verrà valutato solo come pos/neg.

In presenza di Ab anti Sc70 verrà usata per la descrizione del pattern pattern la sola dizione “diffuse grainy”

Per valutare il titolo di positività viene proposto il seguente criterio di classificazione: bassa, media, alta positività. Sarà definita così sulla diluizione 1/80

Il titolo già riferito rimane comunque a disposizione per confronto ed eventualmente si potrebbe rifare il titolo a posteriori solo se ci sono grosse discrepanze tra le letture automatizzate.

5. Progetto per il miglioramento delle conoscenze relative al processo diagnostico delle malattie autoimmuni sistemiche nei laboratori italiani (supporto Phadia Thermofisher)

Realizzazione questionario ed invio (segreteria@gruppofirma.com)

La segretaria Radice illustra il calendario delle attività relative alla realizzazione del questionario:

- proposta Phadia-ThermoFisher (fine luglio '12)
- definizione progetto (ago-set '12)
- accettazione proposta (direttivo ristretto, ottobre '12)
- formalizzazione (novembre '12)

Lo scopo dello studio è la raccolta informazioni sull'approccio del laboratorio di analisi nei confronti delle richieste di dosaggio ANA e anticorpi correlati. Il questionario è parte di un progetto promosso dall'“*European Autoimmunity Standardisation Initiative*” (E.A.S.I., www.easi-network.com), allo scopo di “fotografare” e confrontare le realtà nei diversi paesi Europei, con l'obiettivo di individuare i percorsi più adeguati per l'inquadramento e la gestione dei pazienti

- *Leader del progetto EASI*
- *Collaborator per FIRMA Meroni e Radice*
- *Coordinator: Tozzoli (Presidente FIRMA)*

Sono riportati i passaggi relativi alla creazione del questionario:

- traduzione e rielaborazione delle domande presenti nel questionario già utilizzato, per adeguarle alla realtà italiana, pur mantenendo l'assetto originale (dic '12)

- preparazione elenco destinatari (incrocio di diverse *mailing-list* e conoscenze personali, Bianchi-Radice, gen '13)

- elenco definitivo e costruzione *mailing-list* (> 600 destinatari, Direttori e/o Responsabili di Settore, eventuale “ripulitura” successiva (Bianchi-

Radice, feb '13)

- realizzazione del questionario “grezzo” (Sormani, Bianchi)

- prove di funzionalità (risposte obbligatorie, re-invio al paragrafo successivo, salvataggio dati inseriti e recupero degli stessi), aspetto grafico, modalità di recupero dati...) (Sormani-Bianchi-Radice, feb '13)

- prove di funzionalità sulla base delle modifiche apportate, definizione aspetto grafico e modalità di invio (Sormani-Radice-Glionna-Trezzi, marzo '13)

- invio mail con link al questionario (segreteria@gruppofirma.com, 30.04.13)

Il questionario è così composto:

- informativa sulla privacy
- 68 domande a risposta multipla
- 5 sezioni
- campi obbligatori
- invio automatico alla domanda/sezione successiva
- la compilazione può essere interrotta (i dati vengono salvati)
- necessità di continuare la compilazione dalla stessa postazione

Vengono presentati gli step successivi del progetto:

FASE 2

- Raccolta delle risposte al questionario tramite software online per la realizzazione di indagini www.surveymonkey.com
- analisi statistica per mezzo dello stesso strumento di indagine, con accesso dedicato e riservato a F.I.R.M.A
- presentazione risultati preliminari al congresso di Dresda (set '13)
- presentazione dati (modalità da definire) al congresso SIMEL (ott 13)
- presentazione in corso di altri eventi (da definire)
- pubblicazione dati su rivista di settore
- progetto realizzato con il contributo non condizionante di Thermo Fisher Scientific, ImmunoDiagnostics Division, Phadia S.r.l.

6. Strumentazione ad elevata automazione nella diagnostica delle malattie autoimmuni: proposta di valutazione comparativa e analisi delle correlazioni cliniche.

Le metodiche per la ricerca di autoanticorpi sono evolute rapidamente negli ultimi anni, L'immunodiffusione, l'immunofluorescenza e l'agglutinazione sono sostituite da nuove tecniche in fase solida con una maggiore sensibilità e possibilità di automazione.

ALLE ORE 16.30 L'INCONTRO HA TERMINE.

La segretaria

Dr.ssa Antonella Radice