

# SICUREZZA NEI LABORATORI BIOTECH DALLA TEORIA ALLA PRATICA

**INAIL**

## La valutazione dell'impiego confinato e la stesura delle notifiche

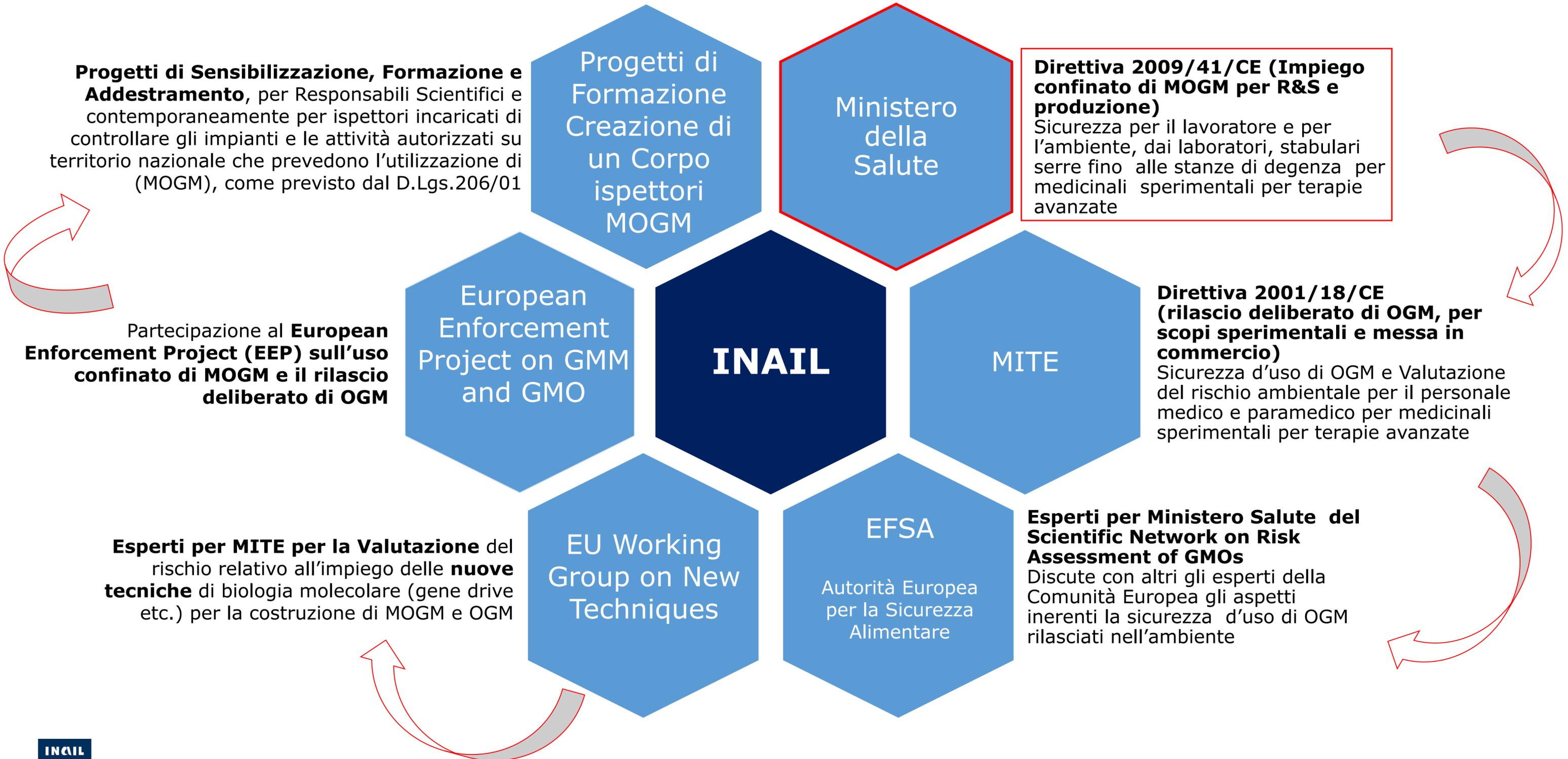
**Dott.ssa Elena Sturchio**  
Ricercatore Laboratorio Biotecnologie

**Milano 13 Dicembre 2022**



## INDICE

1. La Valutazione d'impiego confinato
2. La stesura della notifica di impiego
3. La sperimentazione clinica e normativa
4. Environmental Risk Assessment
5. Promozione della cultura della sicurezza



## Elementi per la Valutazione del Rischio secondo l'art.271 D.Lgs 81/08 e art.5 e All.III D.Lgs 206/01

- ❖ Informazioni disponibili sui microrganismi
- ❖ Applicazione dei principi di buona prassi microbiologica
- ❖ Aggiornamento periodico della valutazione del rischio, anche in caso di modifiche
- ❖ Verifica delle attività effettuate
- ❖ Descrizione delle fasi del procedimento lavorativo, numero dei lavoratori addetti, metodi e procedure adottate, entità dell'esposizione, misure preventive e protettive applicate, programma da attuare in caso di emergenza

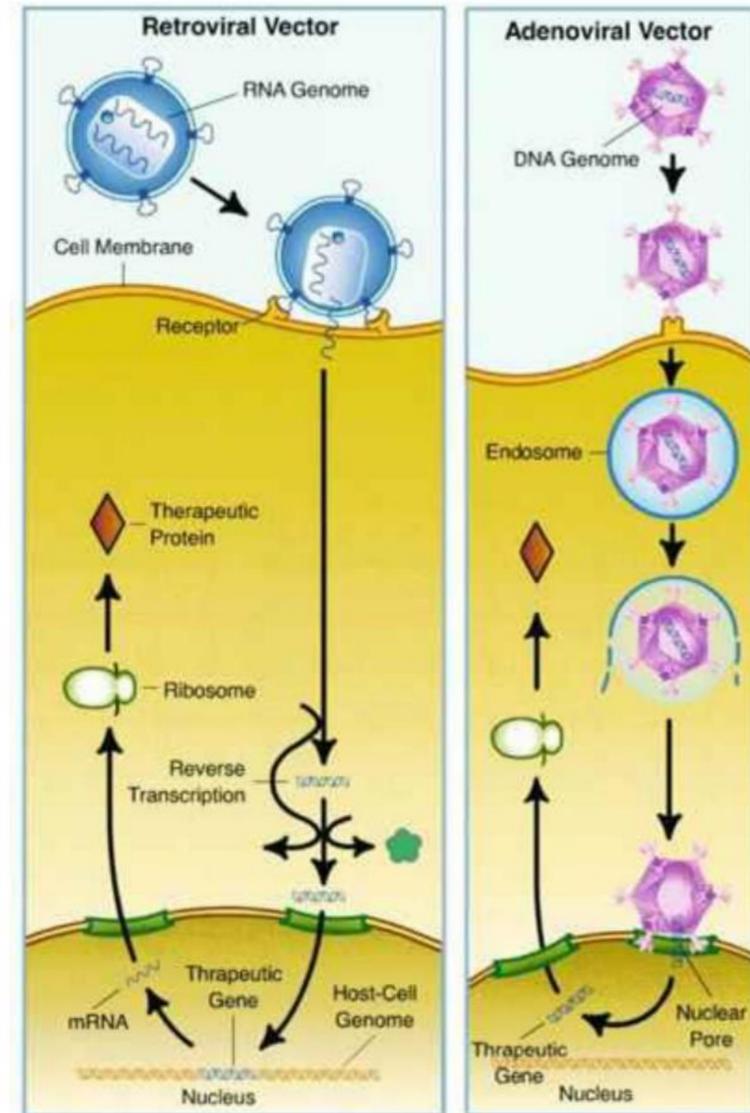
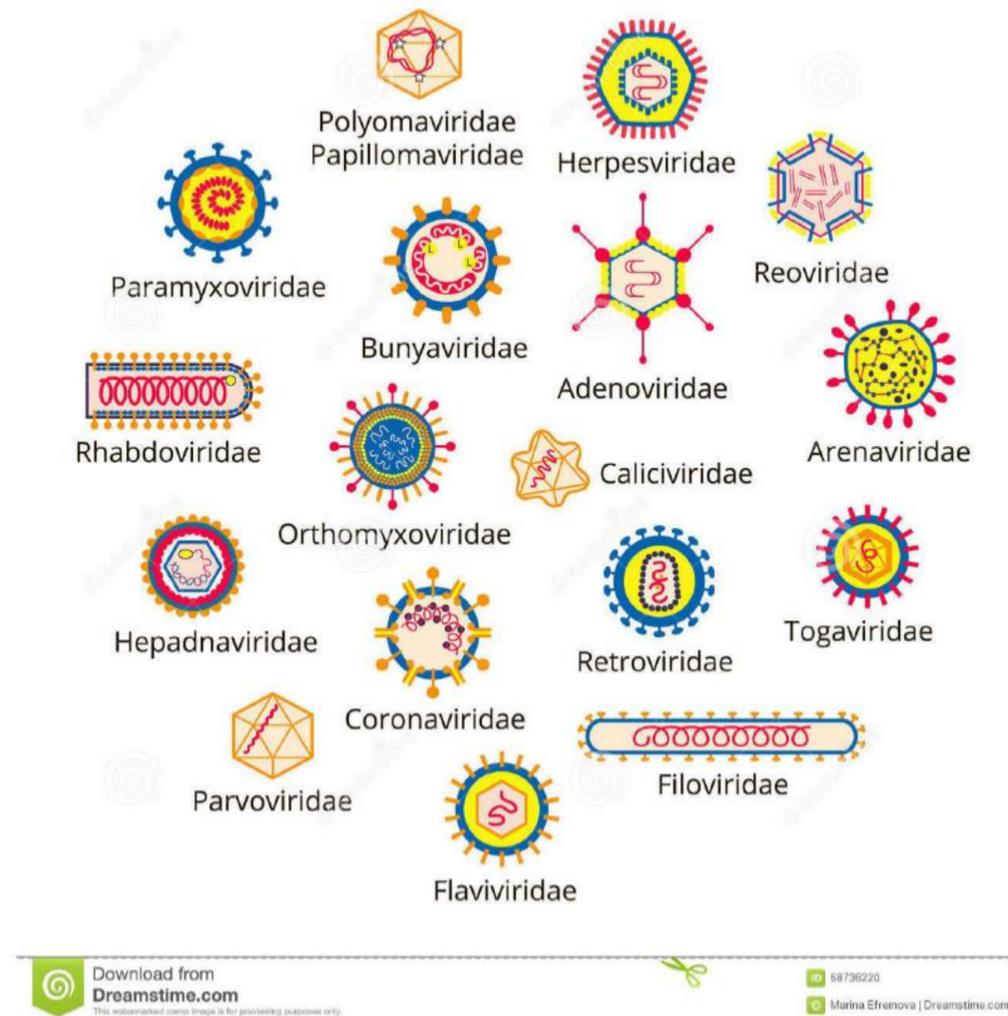
Quindi, nel caso di attività oltre che con microrganismi wild type anche con Mogm, gli utilizzatori devono effettuare una valutazione specifica di impiego confinato che deve essere **allegata al DVR dell'Ente**.

La stesura di questo documento implica che gli utilizzatori, nel corso delle loro attività, **verifichino l'idoneità e l'efficienza delle strutture, il corretto funzionamento delle apparecchiature ed il livello di contaminazione presente nelle diverse fasi di lavoro.**



# Vettori virali

Sono impiegati da lungo tempo per trasferire materiale genetico



<https://www.europeanmedical.info/>

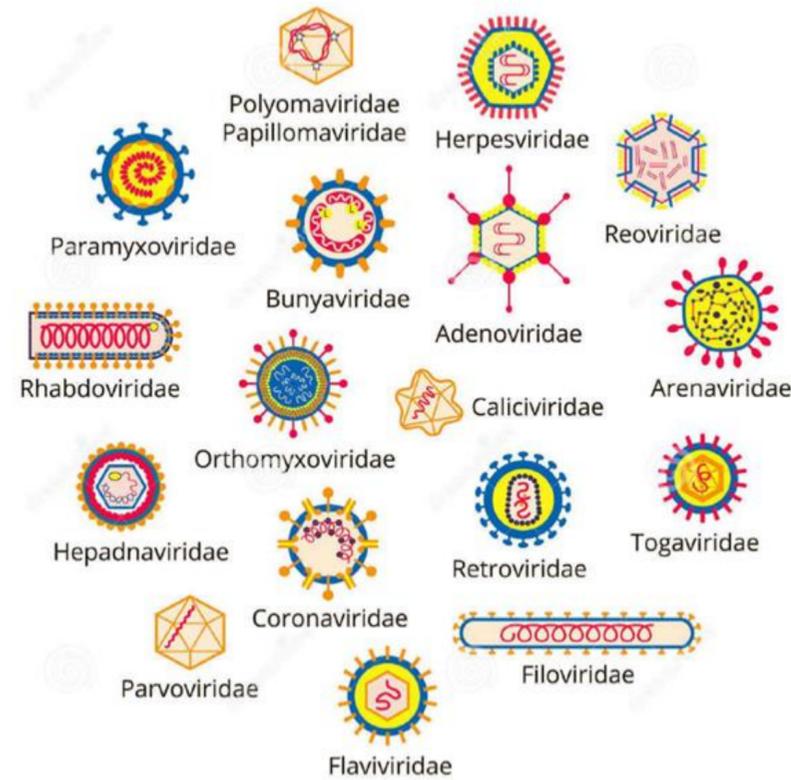
## Terminologia comunemente utilizzata per i vettori virali

---

|                                  |   |
|----------------------------------|---|
| <b>Amphotropic</b>               | Indicates that a pathogen (for example, a virus) has a wide host range and can infect multiple species or cell culture lines. This term is often used in reference to retroviruses.   |
| <b>ABSL(1-4)</b>                 | The biocontainment facilities and practices needed when working with animals inoculated with infectious agents described in <i>Biosafety in Microbiologic and Biomedical Laboratories</i> .   |
| <b>BL(1-4)-N</b>                 | The biocontainment facilities and practices needed when working with animals inoculated with viral vectors in RG1-4, as classified according to the NIH <i>Guidelines</i> .   |
| <b>Complementation</b>           | The interaction between 2 sets of viral genes within a cell to allow for viral replication. This interaction can be intentional, as in the production of viral vector stocks when elements essential for replication are provided by using specific genetically engineered cell lines. Complementation can also be accidental and potentially deleterious in host cells that are concurrently infected with a wild-type virus, such as in a contaminated cell culture contamination or due to natural infection of a susceptible population, thus allowing the replication of a viral vector where it is not desired. |
| <b>Ecotropic</b>                 | Indicates that a pathogen (for example, a virus) has a narrow host range and can infect only one or a small group of species or cell culture lines. This term is often used in reference to retroviruses.   |
| <b>Insertional mutagenesis</b>   | The alteration of chromosomal DNA by the insertion of nucleotides from another site within the genome (transposon or endogenous viral element) or from exogenous retroviruses. Insertional mutagenesis can occur naturally or be artificially created for research purposes and result in an innocuous or neoplastic or otherwise deleterious change in gene expression.  |
| <b>Pseudotyping</b>              | Refers the practice of coating viral vectors with foreign viral envelope proteins. Foreign viral envelope proteins can be used to alter host tropism or change the stability of the virus particles. A frequently used protein is glycoprotein G of vesicular stomatitis virus (VSVG), which allows viral entry into most cell types.   |
| <b>Self-inactivating vectors</b> | These lentiviral vectors lack viral enhancers or promoters in their 3' long terminal repeat and thus become unable to replicate after integration in the host genome.   |
| <b>Transduction</b>              | The introduction of foreign DNA into a cell by using a virus.   |

---

# Viral Vector Biosafety Reference



| Vector                                     | Risk Group | Containment Level |                   | Additional Requirements   | Disinfectant/s  |
|--|------------|-------------------|-------------------|---|---|
|  |            | Lab work          | Animal Work       |   |   |
| Adenovirus                                 | 2          | BSL-2             | ABSL-2*           | Adenoviral vector must be administered to animals under ABSL-2 containment.<br>*Animals must be housed under ABSL-2 containment for at least 7 days unless data is provided to justify a downgrade of containment in less than 7 days.  | Freshly prepared 1:10 household bleach solution.<br><b>Alcohol not effective disinfectant against adenovirus.</b> |
| Adeno-associated virus (AAV)               | 1          | BSL-1/BSL-2*      | ABSL-1 / ABSL-2** | *AAV must be packaged under BSL-2 due to use of HEK293 cells; once packaged, AAV may be handled at BSL-1. **Animals are housed under ABSL-1 containment; if helper virus is present, ABSL-2 containment is required   | Freshly prepared 1:10 household bleach solution.<br><b>Alcohol not effective disinfectant against AAV.</b>        |
| Retroviruses / Murine Leukemia virus (MLV) | 2          | BSL-2             | ABSL-2*           | Retrovirus vector must be administered to animals under ABSL-2 containment.<br>*Animals must be housed under ABSL-2 containment for at least 7 days unless data is provided to justify a downgrade of containment in less than 7 days.  | Freshly prepared 1:10 household bleach solution.<br>70% ethanol<br>Quaternary ammonium disinfectants              |
| Lentivirus                                 | 2          | BSL-2             | ABSL-2*           | Lentivirus vector must be administered to animals under ABSL-2 containment.<br>*Animals must be housed under ABSL-2 containment for at least 7 days unless data is provided to justify a downgrade of containment less than 7 days.<br>Containment procedures can be made more stringent if the transgene is an oncogene. | Freshly prepared 1:10 household bleach solution.<br>70% ethanol   |
| Baculovirus                                | 1          | BSL-1/BSL2*       | ABSL-1            | *Baculoviral vectors modified for mammalian cells must be handled at BSL-2  | Freshly prepared 1:10 household bleach solution or 70% ethanol  |
| Vesicular stomatitis virus (VSV)           | 2          | BSL-2             | ABSL-2*           | VSV vectors must be administered to animals and animals must be housed under ABSL-2 containment   | Freshly prepared 1:10 household bleach solution.<br>Alcohol not effective disinfectant against VSV                |

| Gene transfer vector(a)   | Host range (b)                                  | Insert or gene function ©                | Laboratory containment level (d)  |
|---|---|--|---|
| MMLV based-gag, pol, env deleted  | Ecotropic                                       | S, E, M, G, CC, T, MP, DR, R, TX, Ov, Oc | BSL-1   |
|   | Amphotropic                                     | S, E, M, T, MP, DR                       | BSL-2   |
|   | VSV-G pseudotyped                               | Ov, Oc, R, G, CC                         | BSL-2+/BSL3   |
|   |   | TX                                       | BSL-3   |
| Herpes virus Based-nonlytic   | Broad host range                                | S, E, M, MP, DR, T                       | BSL-2   |
|   |   | Ov, Oc R, G, CC                          | BSL-2+  |
|   |   | TX                                       | BSL-3   |
| Lentivirus based-HIV, SIV, EIAV, FIV, etc.; gag, pol, env, nef, vpr deleted | Ecotropic, amphotropic, VSV-G pseudotyped       | S, E, M, MP, DR, Ov, Oc R, G, CC, T      | BSL-2+/BSL-3, until safety issues resolved, then BLS-2/ BSL-2+ may be appropriate |
|   |   | TX                                       | BSL-3   |
| Adenovirus based-Serotype 2, 5, 7; E1 and E3 or E4 deleted                  | Broad host range, infective for many cell types | S, E, M, T, MP, DR                       | BSL-2   |
|   |   | Ov, Oc, R, G, CC,                        | BSL-2+  |
|   |   | TX                                       | BSL-3   |
| Alphavirus based-SFV, SIN   | Broad host range                                | S, E, M, T, MP, DR                       | BSL-2   |
|   |   | Ov, Oc, R, G, CC                         | BSL-2+  |
|   |   | TX                                       | BSL-3   |
| Baculovirus based   | Broad mammalian host cell range                 | S, E, M, T, MP, DR                       | BSL-1*  |
|   |   | Ov, Oc, R, G, CC                         | BSL-2   |
|   |   | TX                                       | BSL-2/BSL-3   |

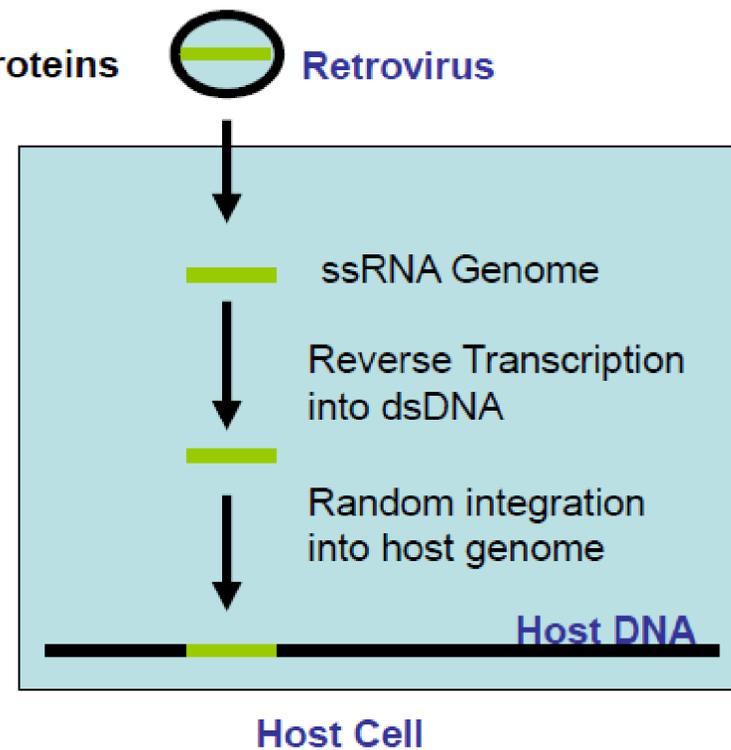
## Impiego confinato di vettori virali GM (risk assessment)

|                                     |   |                      |              |
|-------------------------------------|---|----------------------|--------------|
| Parvovirus, AAV based- (rep-, cap-) | Broad host range, infective for many cell types including neurons | S, E, M, T, MP, DR   | BSL-1*       |
|                                     |   | Ov, Oc, R, G, CC     | BSL-2        |
|                                     |   | TX                   | BSL-2/BSL-3  |
| Poxvirus Based -caarypox, vaccinia  | Broad host range  | S, E, M, T, DR, MP   | BSL-2        |
|                                     |   | Ov, Oc, R, G, CC, TX | BSL-2+/BSL-3 |

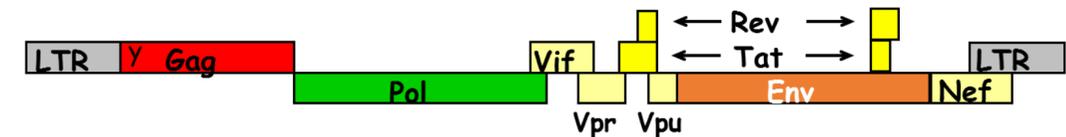
- S** – proteine strutturali
- E** – proteine enzimatiche
- M** - enzimi metabolici
- G** – crescita cellulare, housekeeping
- CC** – ciclo cellulare, divisione cellulare
- DR** – replicazione del DNA, segregazione cromosomica, mitosi, meiosi

## Come disegnare vettori Lentivirali Replicazione non Competenti? (di terza generazione)

- Single stranded RNA genome
- Lipid membrane enveloped
- Host range determined by envelope proteins



### The Retroviral Genome



**Long Terminal Repeat (LTR):** Necessary for integration into host genome

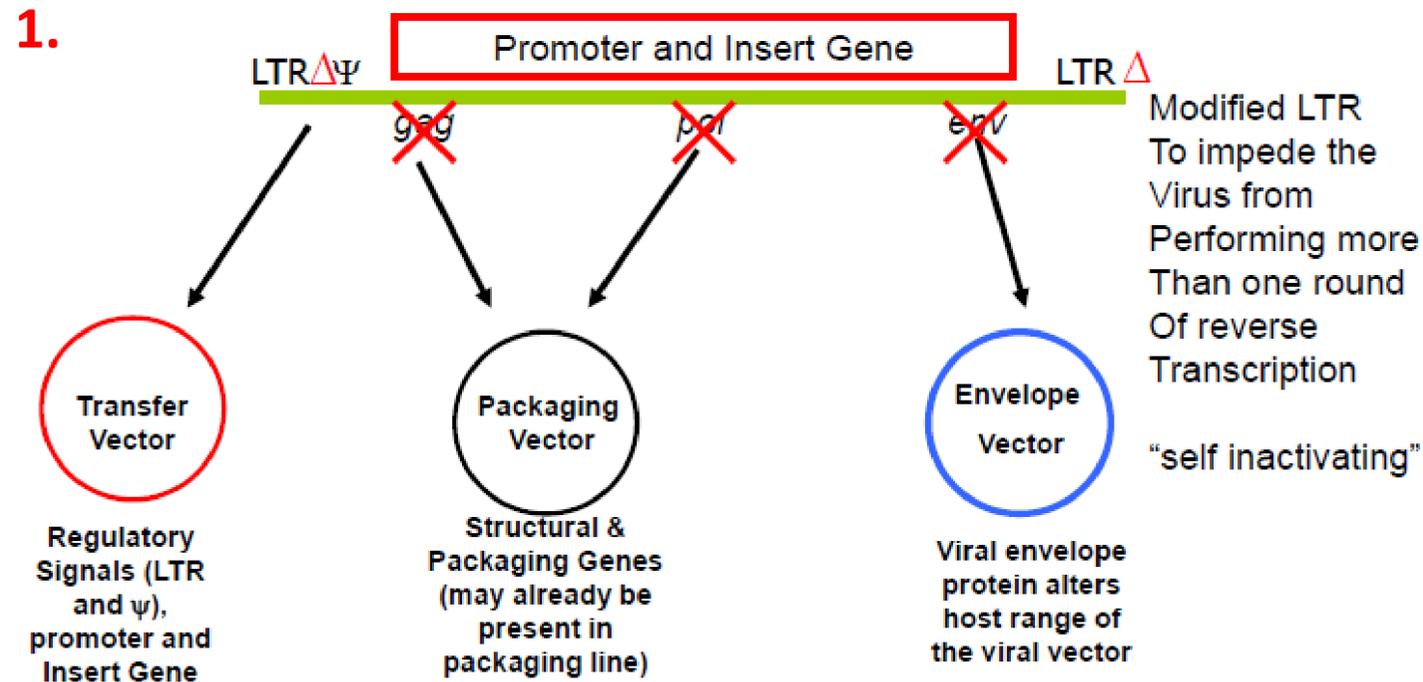
**ψ (Psi):** packaging signal

**gag:** Packages viral genome into viral particles

**pol:** viral polymerase necessary for viral replication

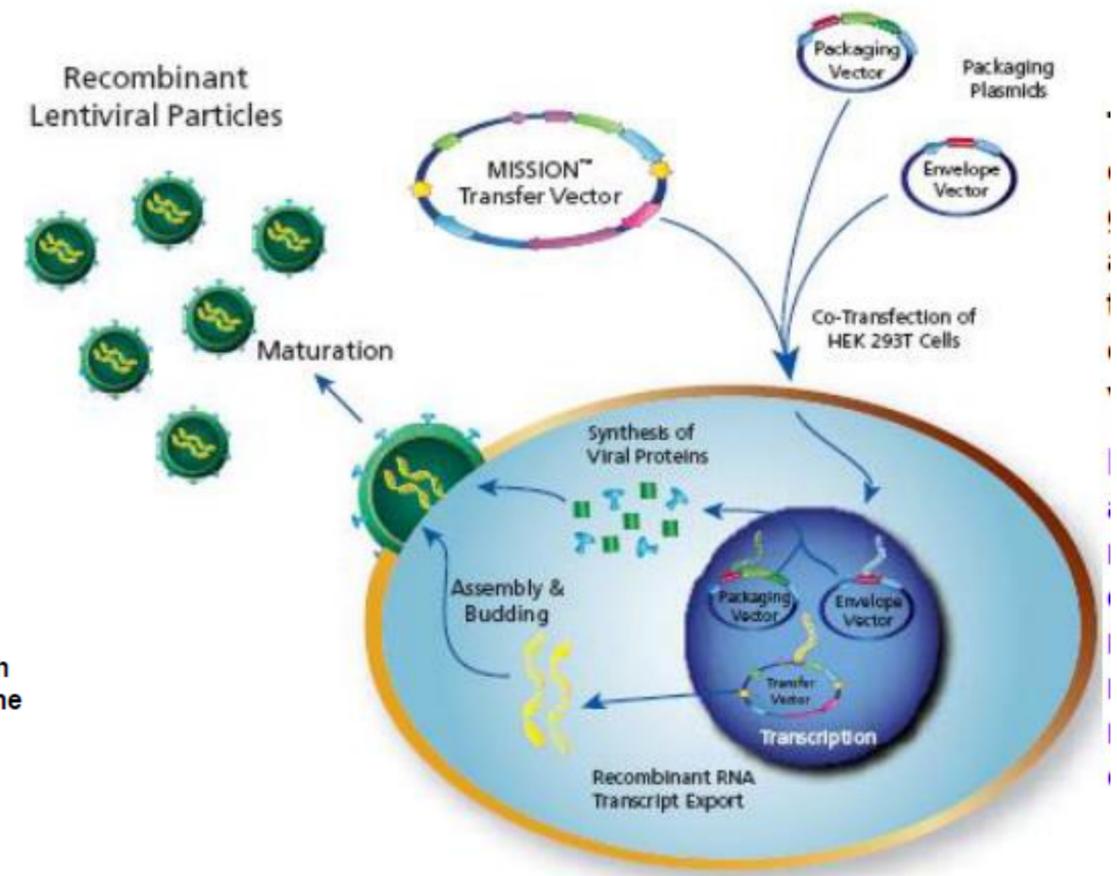
**env:** viral envelope proteins, necessary for entry into host cells, dictate host range

# Come disegnare vettori Lentivirali Replicazione non Competenti? (di terza generazione)

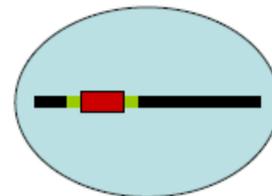


**Sono usati vettori multipli, così  
multipli eventi di ricombinazioni  
devono realizzarsi per ricostituire  
un virus competente per la  
replicazione**

## **2. Packaging Recombinant Lentiviral Particles**

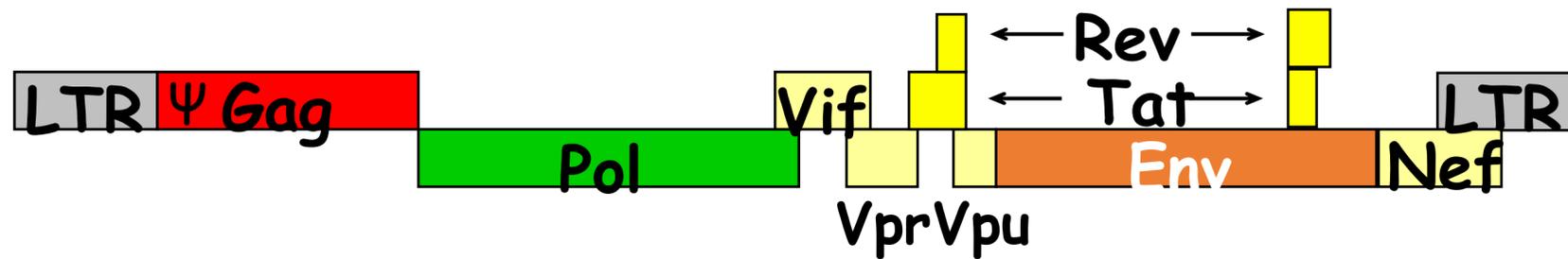


## **3. Target Cell Infected With Viral DNA Containing The Gene of Interest**

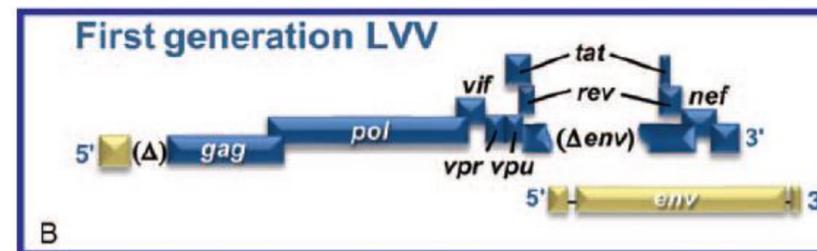


No New Viral Particles are Created  
Infection dose not spread

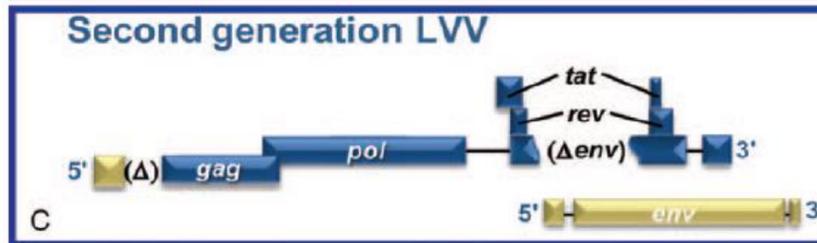
# Quattro generazioni di vettori lentivirali



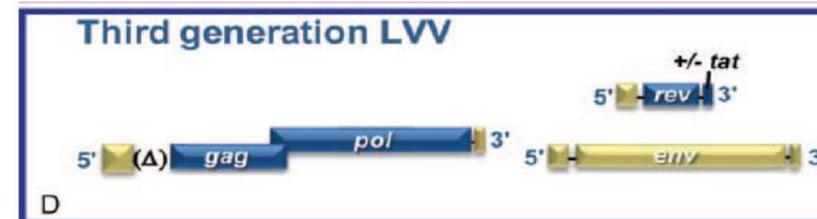
HIV genome



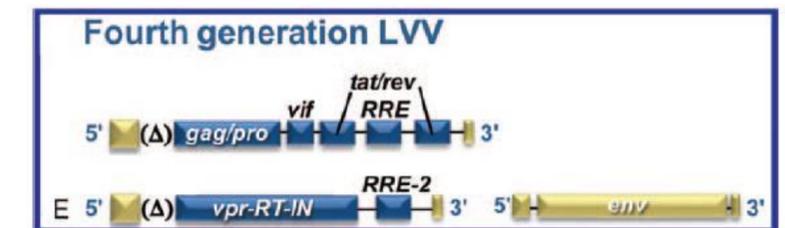
First-generation LVVs removed the envelope protein and the psi packaging signal and incorporated a heterologous promoter to reduce recombination potential.



Second generation of LVV removed accessory genes (*vif*, *vpr*, *vpu*, and *nef*) to reduce the virulence of any potential replication-competent retrovirus.



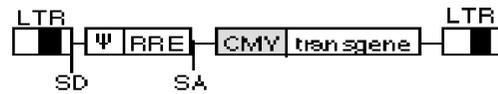
Third-generation LVV eliminated the transactivator gene, *tat*, and split the vector into three plasmids to reduce further recombination potential, retaining only the three genes necessary for transgene expression (*gag*, *pol*, *rev*).



Fourth-generation LVV split the *gag* and *pol* onto separate plasmids to reduce even further recombination potential. This generation added back some HIV genes to enhance transduction efficiency and transgene expression.

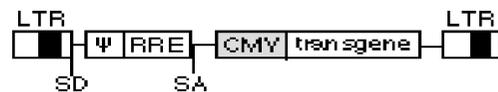
B

first generation HIV vector system



C

second generation HIV vector system



D

third generation HIV vector system



# Vettori di 4<sup>rd</sup> Generazione

## Self-inactivating (SIN) vectors

- Delezione nella regione enhancer region of the 3' U3 of the long terminal repeat (LTR)
- Vettore trascrizionalmente inattivo che non può essere convertito in un RNA full length
- Ridotta probabilità di Recupero della Competenza
- Ridotta mobilizzazione by HIV wild-type
- Può ridurre il rischio di tumorigenesi attraverso mutagenesi inserzionale

Attraverso tecniche di biologia molecolare è possibile lavorare con microrganismi/costrutti meno pericolosi per la salute dell'uomo e dell'ambiente, è possibile quindi ridurre il rischio di esposizione dell'operatore e utilizzare livelli di contenimento più bassi rispetto a quelli previsti per i rispettivi microrganismi *wild type*.

**TABLE 2.** Information to Help the Risk Assessments of Viral Vectors

| Information Provided to IBC  | Low-risk Examples  | Clinically Relevant Examples   |
|--|--|--|
| Transgene function   | Protein-based fluorescence (eg, GFP)   | Silence a tumor-suppressor or express an oncogene (ie, <i>Ras</i> , <i>Myc</i> , etc.) |
| Number of plasmids used to generate virions<br>Mutations within LVVs       | 3–4 plasmids<br>LVVs that use self-inactivating long terminal repeats (LTRs) and other deleterious mutations | 2 or less plasmids<br>Wild-type LTRs   |
| Expression control elements  | Weak promoters   | Strong promoters present (CMV, SV40, etc.)   |
| Host range   | Nonhuman tropism   | Expanded host range (ie, VSV-g)  |
| Concentration  | <1 x 10 <sup>9</sup> infectious units/ml   | >1 x 10 <sup>9</sup> infectious units/ml   |
| Production volume  | <100 mL  | >100 mL  |
| Percentage of genome deleted or substituted                                | >2/3   | <2/3   |
| Vector name  | pCI-VSVg, pRSV-Rev, pMD2.G, etc.   |  |
| Name and provider of the transgene or target sequence                      | Commercial (Addgene, etc.) or Academic (Scientific Collaborator or Core Facility)                            |  |
| Site of generation (eg, laboratory, core facility, or commercial provider) | PI's laboratory, institutional core facility, or commercial provider   |  |

## Pseudotipizzazione virale

**Tropismo:** la capacità di un virus di infettare un particolare tipo di cellula ospite

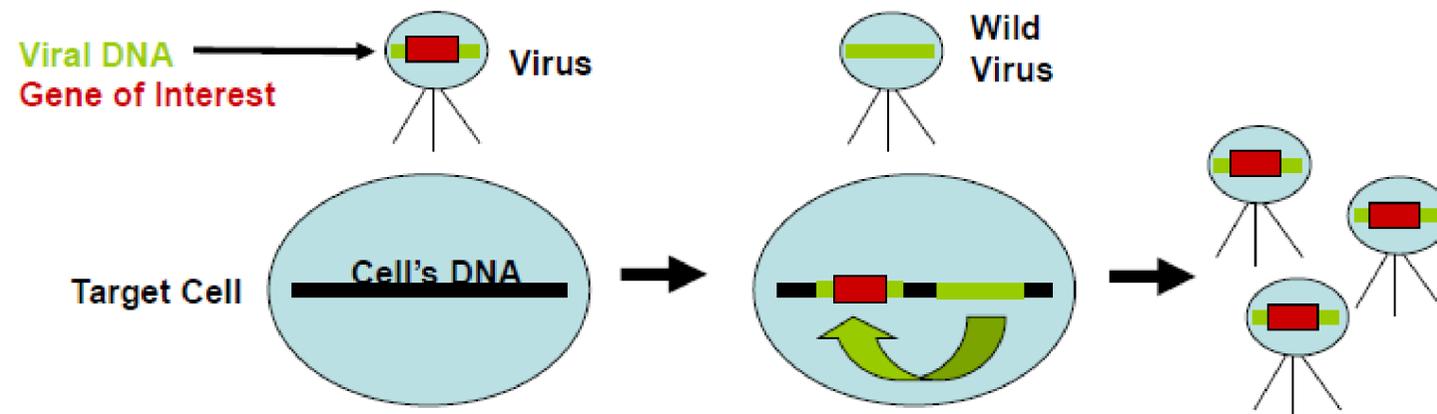
**Pseudotipizzazione:** alterare la proteina dell'involucro virale per modificare il tropismo, permettendo così al virus di infettare le cellule che originariamente non avrebbe potuto

| Tropism                  | Host Range  | Viral Envelope Protein | Receptor for Viral Envelope                                     |
|--------------------------|-------------|------------------------|---|
| Ecotropic                | Mouse / Rat | Gap70                  | mCAT-1  |
| Amphotropic / Dualtropic | Mammals     | 4070A / 10A1           | Ram-1 / GALV  |
| Pantropic                | All Animals | VSV-G                  | Phosphotidyl serine<br>Phosphotidyl inositol<br>GM3 ganglioside |

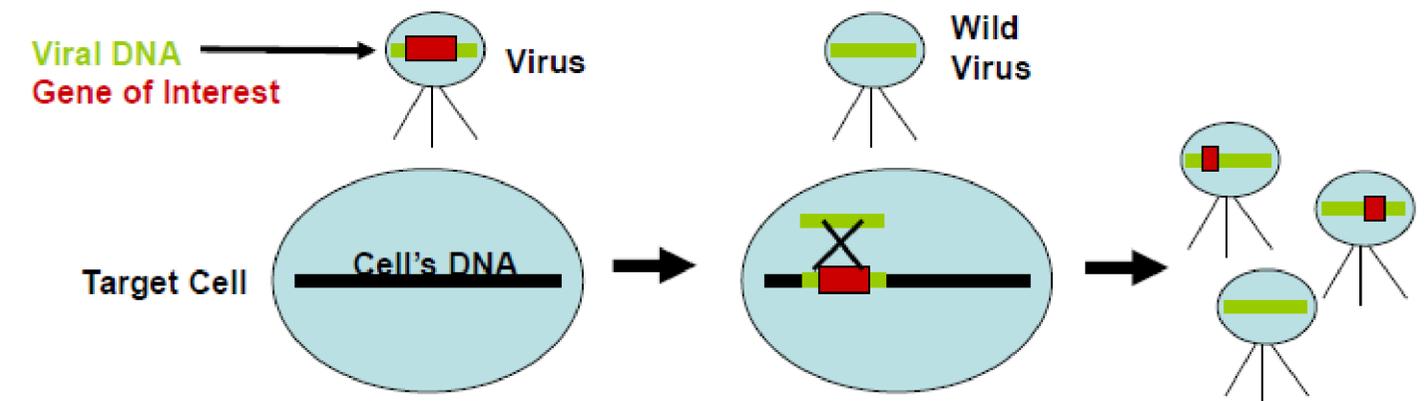
**Particolare attenzione deve essere utilizzata quando si lavora con virus pantropici o amphotropici che possono infettare l'uomo**

# Quando è possibile che si verifichi un recupero della competenza?

## Superinfezione con virus wild type



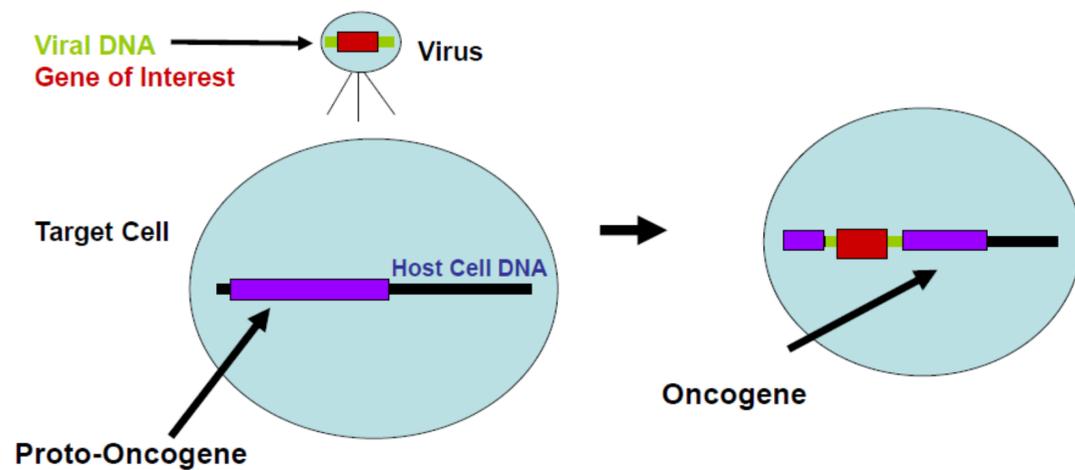
**Complementazione:** il genoma del virus wild type fornisce le proteine mancanti necessarie per la replicazione del vettore virale. la cellula superinfettata funziona in modo simile a una linea di packaging.



**Ricombinazione:** il genoma del virus wild type si ricombina casualmente con il vettore virale, fornendo materiale genetico sufficiente per la replicazione del vettore virale. Il virus risultante può possedere pezzi del gene dell'inserto originale. Il genoma virale è impossibile da prevedere a causa della ricombinazione casuale. Il virus può mostrare virulenza alterata.

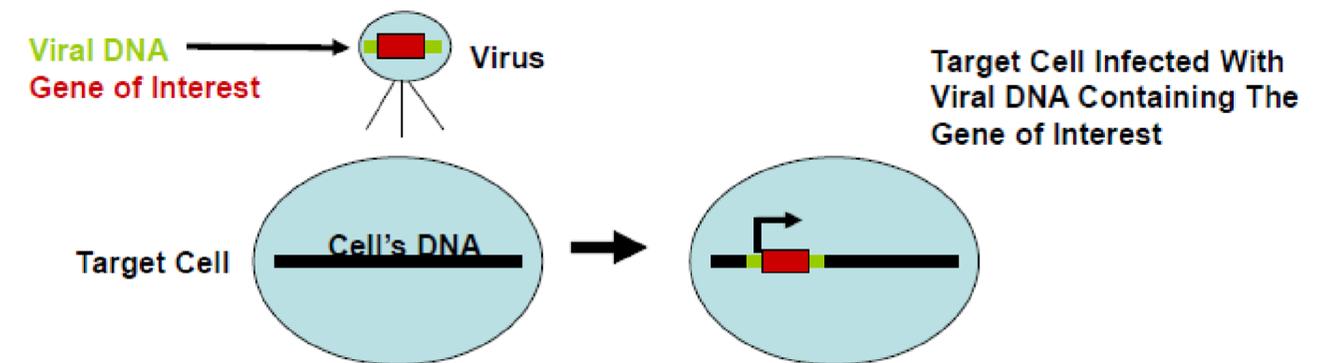
## Quali sono i rischi associati alla manipolazione di retrovirus?

### Mutagenesi inserzionale



L'integrazione casuale del genoma virale può distruggere i geni dell'ospite endogeno. Di particolare interesse è l'interruzione di proto oncogeni, che possono portare ad aumentare il rischio di cancro.

### Trasduzione virale



Gli individui infettati dal vettore virale possono esprimere il gene dell'inserto nel sito dell'infezione

## Probabili Sintomi di infezioni acquisite in laboratorio con vettori Retro/Lentivirali

- sintomi simili a febbre/influenza
- possibile infiammazione dei tessuti infetti
- integrazione casuale del genoma virale nel genoma dell'ospite può provocare mutagenesi inserzionale e oncogenesi
- espressione del gene inserito nei tessuti infettati (principali problemi sono legati a oncogenesi, mediatori dell'infiammazione e tossine)

## Fattori principali da considerare nella Valutazione del Rischio per vettori virali

**Vettore**

**Gene inserito**

**Procedure**

**Volumi**

### Esempi di lavoro con **vettori virali a basso rischio**

**Vettore:** Non competente per la replicazione e self inactivating vector, tropismo limitato (incapace di infettare l'uomo)

**Gene inserito:** Non è tossico, oncogenico, modulatore della risposta immune, e non incrementa il tropismo o la patogenicità

**Procedure:** lavoro con colture cellulari sotto cappa biologica, centrifugazione con tubi sigillati e coperchio di sicurezza o rotor sigillati

**Volumi:** 1-10mL (facili da contenere e trasportare)

### Esempi di lavoro con **vettori virali a alto rischio**

**Vettore:** Competente per la replicazione e capace di infettare l'uomo

**Gene inserito:** tossico, oncogenico, modulatore della risposta immune, incrementa il tropismo o la patogenicità

**Procedure:** lavoro che permette la produzione di aerosol (omogenizzazione, vortexing con tubi aperti, centrifugazione senza tubi sigillati e coperchio di sicurezza o rotor sigillati) inoculazione/somministrazione in animali

**Volumi:** Litri (contenimento più importante e carrello per il trasporto, maggiore probabilità di fuoriuscita)



Nella valutazione del rischio per la produzione dei vettori lentivirali devono essere considerate tutte le possibili combinazioni dei plasmidi utilizzati

| <i>Packaging vector</i>  | <i>Envelope vector</i>                         | <i>Transfer vector</i>   |
|--|--|--|
| <b>I-II- generazione</b>   | <b>Non in grado di trasdurre cellule umane</b> | Specificare promotore, geni e se si tratta di un costrutto SIN (self-inactivating)   |
| <b>III generazione</b> con integrasi difettiva per l'integrazione  | <b>In grado di trasdurre cellule umane</b>     | Contenente geni non patogenetici (geni marcatori, geni terapeutici, geni regolatori) |
| <b>III generazione</b> con integrasi competente per l'integrazione |  | Contenente geni con potenziale patogenetico (oncogeni o geni tossici)                |

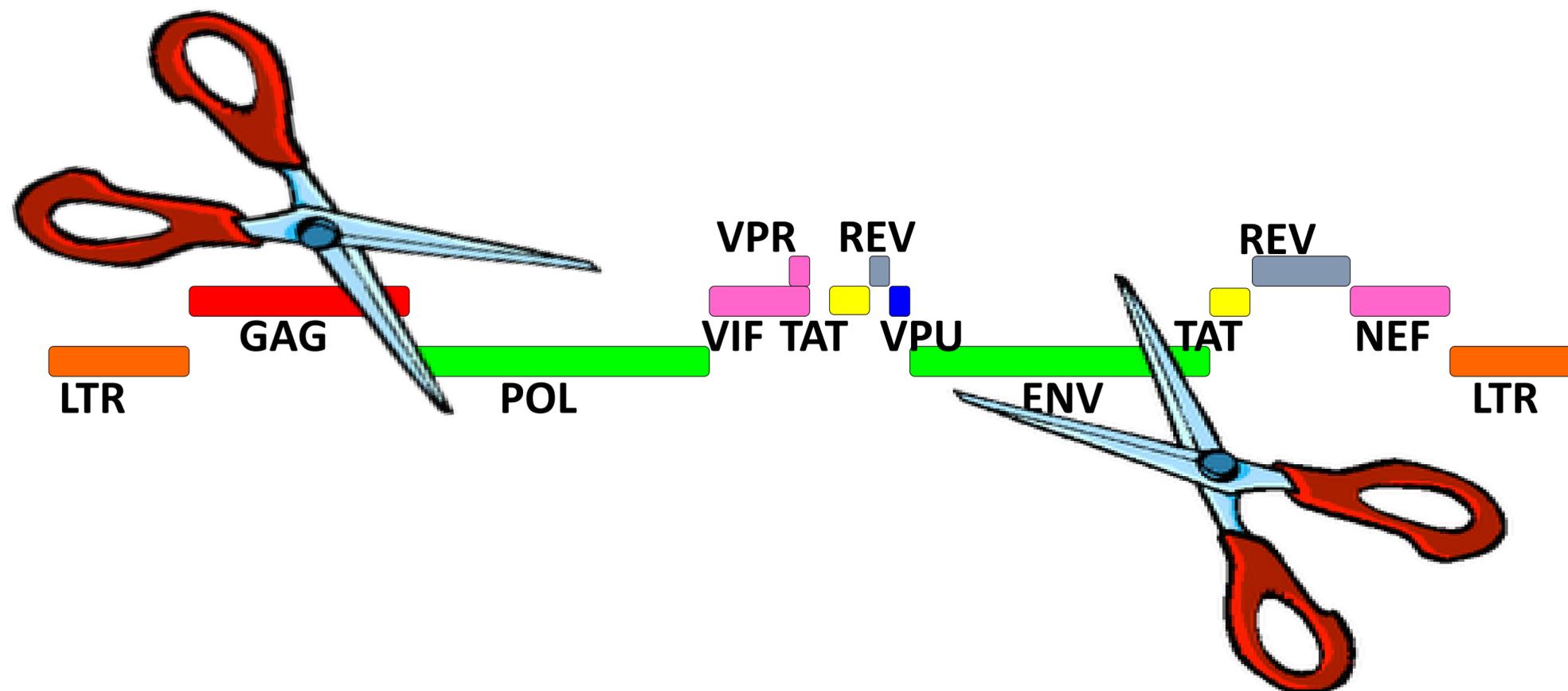
| <b>Elenco dei MOGM risultanti dalla combinazione dei vettori <i>transfer, envelope e packaging</i></b>   |  |  |  |
|--|--|--|--|
|  |  |  |  |
| Specificare se la trasfezione è transiente o stabile.  |  |  |  |
| Effettuare un valutazione del rischio in relazione ai singoli vettori che saranno utilizzati.  |  |  |  |
| Valutare i diversi profili di biosicurezza in seguito all'impiego delle diverse combinazioni di vettori che si intendono utilizzare all'interno dello stesso disegno sperimentale. |  |  |  |

A partire dal 1 Gennaio 2010, i moduli di notifica di impiego MOGM saranno modificati, è stata introdotta la tabella al punto X del modulo di notifica di impiego di classe 2 e al punto XI del modulo di notifica di impiego delle classi 3 e 4, che dovrà essere compilata dal notificante (responsabile scientifico e gestionale dell'impiego confinato) in modo che risultino i MOGM che intende utilizzare con riferimento al progetto scientifico di cui fanno parte.

**X) Tabella sinottica di riepilogo del/dei MOGM che si intende utilizzare:**

| <b>NOME DEL MOGM E PROGETTO</b> | <b>VETTORE</b> | <b>INSERTO</b> | <b>RICEVENTE</b> | <b>CLASSE DI RISCHIO</b> |
|---------------------------------|----------------|----------------|------------------|--------------------------|
| 1.                              |                |                |                  |                          |
| 2.                              |                |                |                  |                          |
| 3.                              |                |                |                  |                          |
| 4.                              |                |                |                  |                          |

# Miglioramento degli Standard di biosicurezza



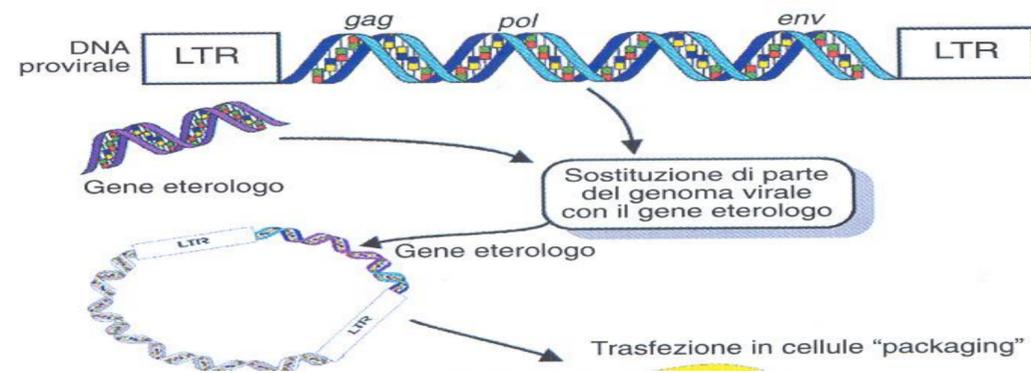
I vettori lentivirali, derivano dal virus HIV, opportunamente modificato (della versione originale viene mantenuto solo il 10 per cento e non c'è alcun rischio che si riformi il virus): questo virus, molto aggressivo ed efficace nei confronti delle cellule umane, una volta "addomesticato" a sufficienza in tanti anni di lavoro, risulta un veicolo molto efficiente di geni terapeutici.

*Eliminazione dal vettore delle proteine virali e separazione delle sequenze codificanti necessarie in più costrutti, per diminuire la probabilità di eventi ricombinativi che portano alla formazione di RCR (retrovirus competenti per la replicazione).*

# Miglioramento degli Standard di biosicurezza

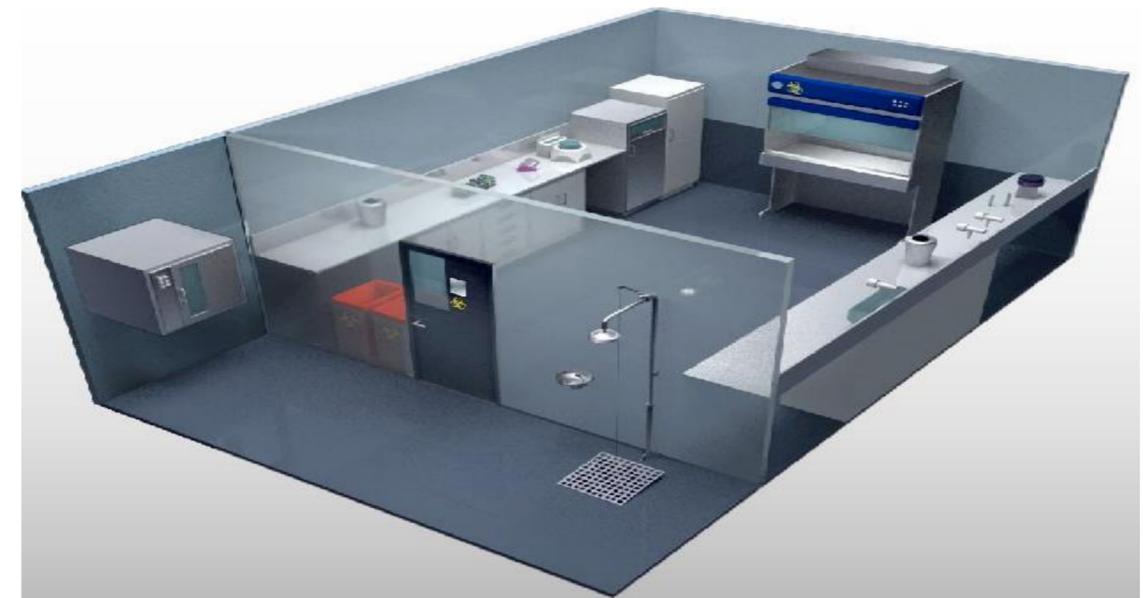
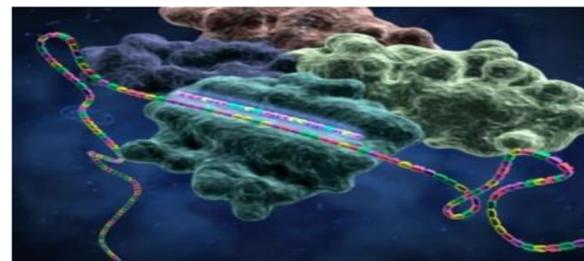
Attraverso tecniche di biologia molecolare è possibile lavorare con microrganismi/costrutti meno pericolosi per la salute dell'uomo e dell'ambiente, è possibile quindi ridurre il rischio di esposizione dell'operatore e utilizzare livelli di contenimenti più bassi rispetto a quelli previsti per i rispettivi microrganismi wild type.

## Costrutti retrovirali per Terapia genica I generazione



Livello di biosicurezza 3

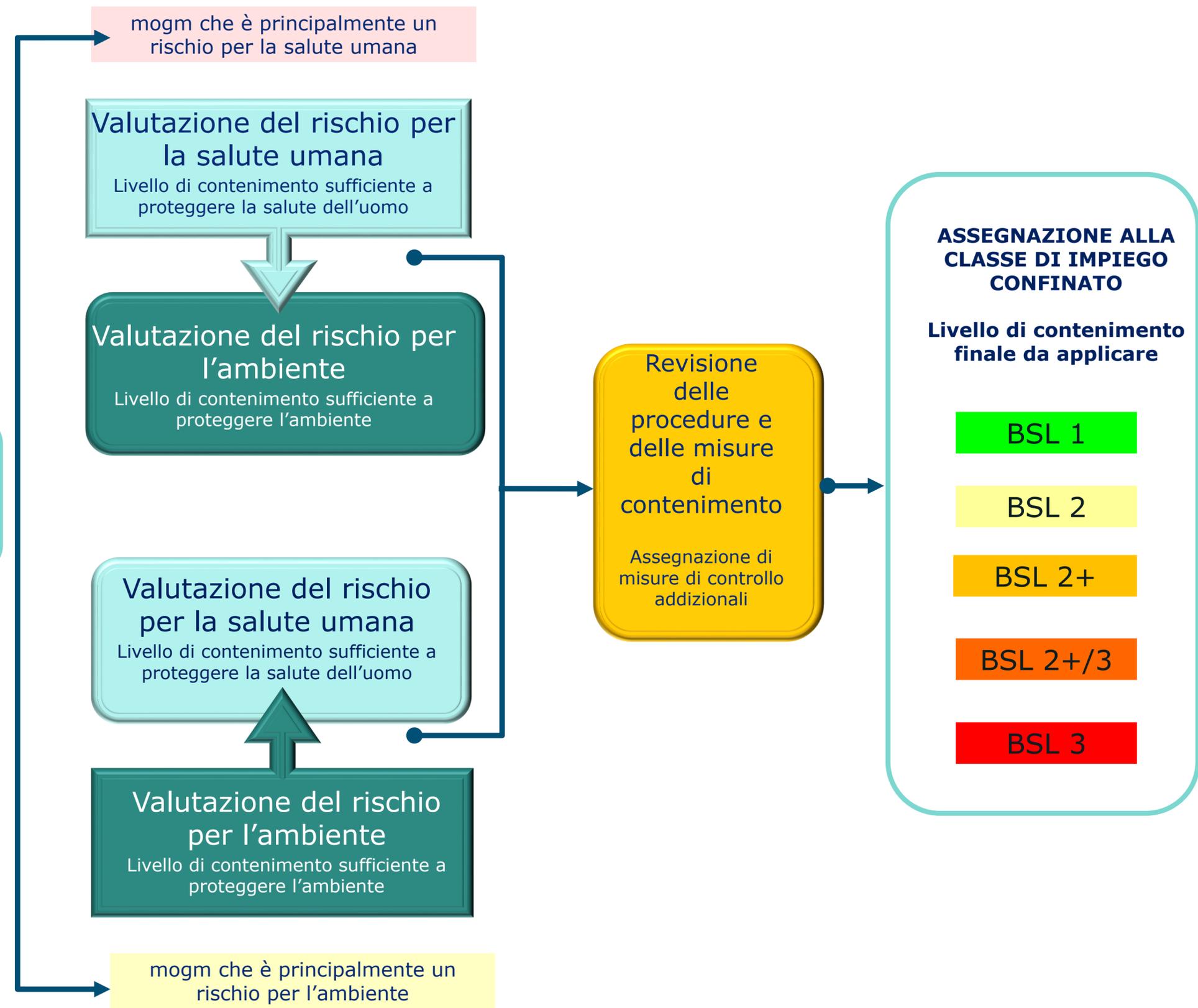
## Costrutti lentivirali o adenovirali di ultima generazione



Livello di biosicurezza 2

# Approccio raccomandato per la valutazione dell'impiego confinato

Natura complessiva del mogm

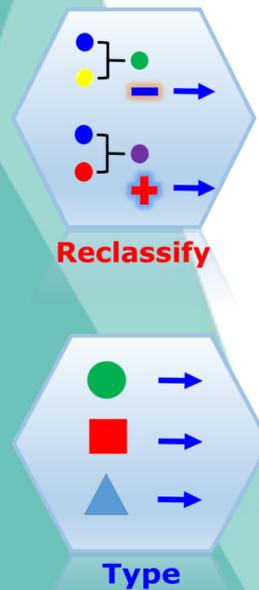


# Valutazione del rischio per la salute umana

## Valutazione dei meccanismi attraverso i quali il MOGM potrebbe rappresentare un rischio per la salute umana



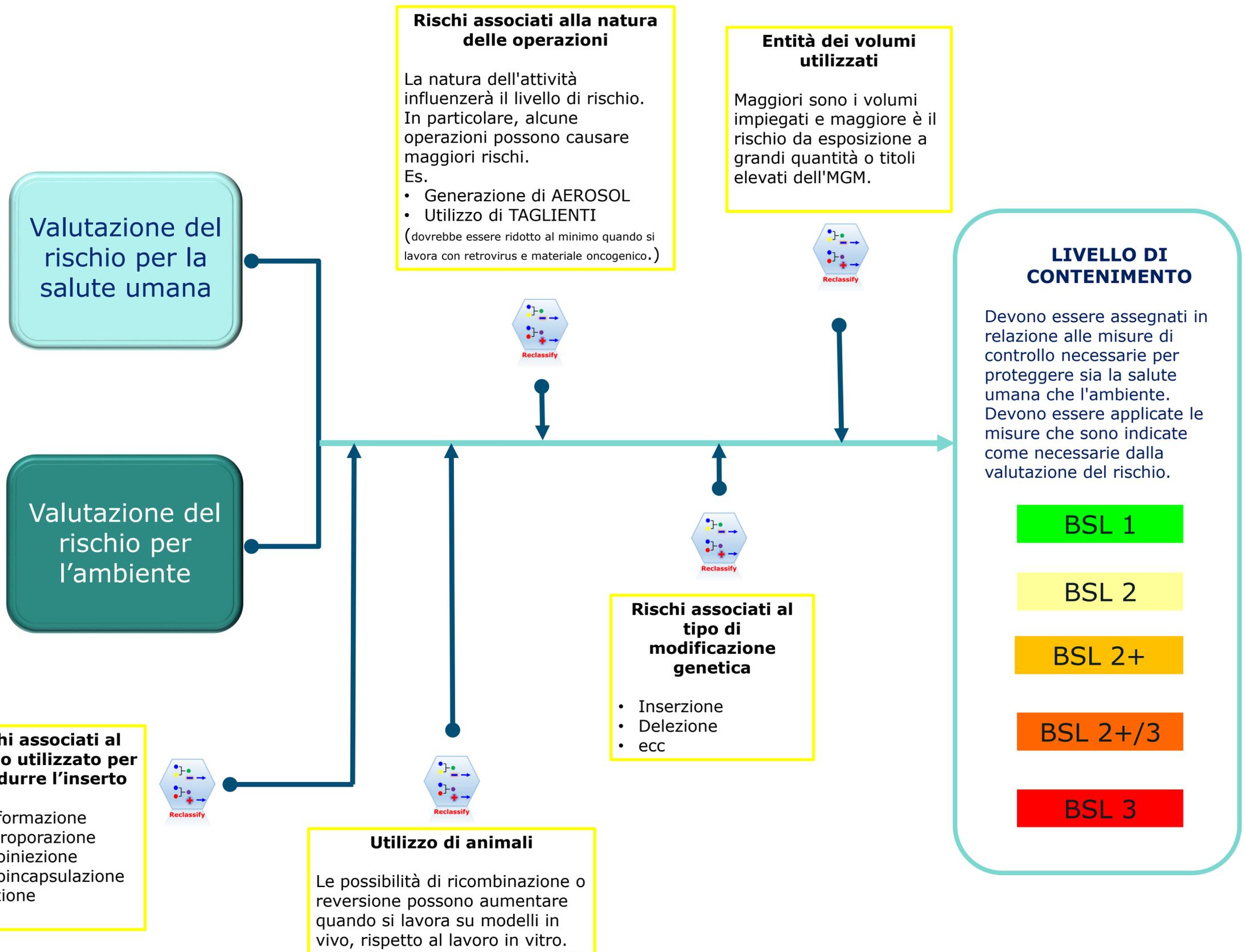
## Valutazione delle probabilità che il MOGM rappresenti un rischio per la salute umana





# Valutazione della natura e tipologia delle operazioni da svolgere

I livelli minimi di contenimento fissati per la valutazione del rischio sia per la salute umana che per la protezione dell'ambiente definiscono solo in senso lato le misure di contenimento necessarie in funzione delle proprietà del moggm. Pertanto, è importante tenere conto della natura dell'operazione o di eventuali operazioni non standard che potrebbero aumentare il rischio di esposizione o la probabilità di rilascio. Potrebbe essere necessario implementare misure di contenimento e controllo aggiuntive, che potrebbero avere un impatto sulla classe di attività GM finale e sul livello di contenimento.





## INDICE

1. La Valutazione d'impiego confinato
- 2. La stesura della notifica di impiego**
3. La sperimentazione clinica e normativa
4. Environmental Risk Assessment
5. Promozione della cultura della sicurezza

**Parte riservata al  
Notificante:**  
**N° notifica impianto**.....  
**Data**.....  
(come da punto IB)

**Parte riservata al  
Ministero della Sanità**  
**Data di ricevimento**.....  
**N° della notifica**.....

**Notifica di impiego confinato di microrganismi geneticamente modificati (MOGM) secondo  
il Decreto legislativo 12 Aprile 2001 n. 206**

**MODULO PER IMPIEGHI DI CLASSE 2**

**I) Informazioni generali**

**A) Notificante**

- 1) Nome e qualifica dell'utilizzatore(\*) (allegare curriculum vitae).....  
2) Istituzione o Società di appartenenza.....  
  
3) Indirizzo.....  
4) Persona da contattare.....  
Tel..... Fax.....  
E-mail ..... PEC .....

**B) Notifiche precedenti**

- 1) Sigla e data di autorizzazione della notifica dell'impianto in cui si svolge l'impiego  
confinato:  
Notifica n°.....  
Data.....  
2) Sigle e date di autorizzazione di precedenti notifiche di impiego confinato relative allo  
stesso impianto:  
a) notifica n°..... classe..... data.....  
b) notifica n°..... classe..... data.....  
c) notifica n°..... classe..... data.....

(\*) L'utilizzatore è il responsabile scientifico e gestionale dell'impiego confinato

## II) Informazioni sul microorganismo ricevente

Allo scopo di generare i MOGM verranno utilizzate linee cellulari che esprimono stabilmente la regione E1 dell'adenovirus umano e quindi permissive per la replicazione dei vettori adenovirali di interesse - cellule HEK-293 (in adesione e in sospensione)

1) Nome completo

a) Nome scientifico: **Cellule HEK-293**

2) Descrizione dei metodi di identificazione ed isolamento:

a) Tecniche di isolamento **Coltura cellulare.**

b) Tecniche di identificazione.....

c) Marcatori genetici e fenotipici **Regione E1A dell'adenovirus tipo 5 umano. Elevata suscettibilità all'infezione da parte di adenovirus**

d) Presenta instabilità genetica? **NO**

3) L'organismo è patogeno o comunque nocivo in qualche modo compresi i suoi prodotti extracellulari)? SI  NO  NON SO

In caso affermativo, specificare:

a) Verso quale organismo:

i) uomo  ii) animali  iii) piante

b) in quale modo esplica la sua patogenicità

i) infettività

ii) tossicità

iii) virulenza

iv) allergenicità

v) vettore per altri patogeni

vi) attivazione di virus latenti

vii) capacità di colonizzazione verso altri organismi

viii) Indicare a quale regione genetica è associabile la sua patogenicità

ix) altro (specificare).....

c) Se il MO ricevente è patogeno per l'uomo, specificare il gruppo di rischio secondo la lista in Allegato 46 al D. L.vo n. 81 del 9 aprile 2008

4) Nel caso di ceppi attenuati di specie patogene è possibile escludere la reversione alla patogenicità? SI  NO  NON SO

5) Esperienza acquisita circa la sicurezza dell'impiego del MO ricevente:  
Il MO ricevente è una linea cellulare eucariotica di comune impiego incapace di sopravvivere al di fuori del sistema di coltura. Il responsabile ha un'esperienza pluriennale con questa linea senza mai aver avuto alcun problema di sicurezza.

6) Informazioni riguardanti la capacità di sopravvivenza e di riproduzione nell'ambiente:

a) Il MO ricevente è capace di sopravvivere al di fuori delle condizioni di coltura? SI  NO

in caso affermativo:

b) Capacità di creare forme di resistenza o quiescenza quali spore, sclerozi altro:.....

c) Stima del tempo di sopravvivenza nell'ambiente e fattori che lo influenzano.....

d) Distribuzione geografica del microorganismo ricevente:

i) E' indigeno per il Paese della presente notifica?

SI  NO  NON SO

ii) E' indigeno in altri Paesi Europei? SI  NO  NON SO

iii) E' normalmente utilizzato nel Paese della presente notifica?

SI  NO

e) Habitat naturale del microorganismo ricevente:  
acqua  suolo  suolo in associazione con apparati radicali   
in associazione con piante  in associazione con animali   
commensale abituale  altro (specificare) **x**  
**linea cellulare ad esclusiva crescita in vitro**

7) Possibili effetti sull'ambiente:

- a) Coinvolgimento in processi ambientali (es. azoto fissazione) o in proprietà biogeochimiche (es. determinazione del pH del suolo): **NO**
- b) Interazioni con altri organismi (competitive o simbiotiche): **NO**

### III) Informazioni sulla modificazione genetica

1) tipo di modificazione genetica:

- a) Inserzione di materiale genetico **X**
- b) Delezione di materiale genetico
- c) Altro, specificare.....

2) Metodo utilizzato per introdurre l'inserito nella cellula ricevente/parentale:

- a) Trasformazione **X**
- b) Elettroporazione
- c) Microiniezione
- d) Microincapsulazione
- e) Infezione
- f) Altro, specificare **X Trasfezione**

### 3) Tipo di vettore impiegato:

#### a) Identità del vettore

Per la generazione dei MOGM oggetto di tale notifica verranno utilizzati dei **plasmidi pre-adenovirus**, contenenti l'intero genoma (backbone) di adenovirus ad eccezione delle regione E1 che viene sostituita dalla cassetta di espressione per il transgene di interesse.

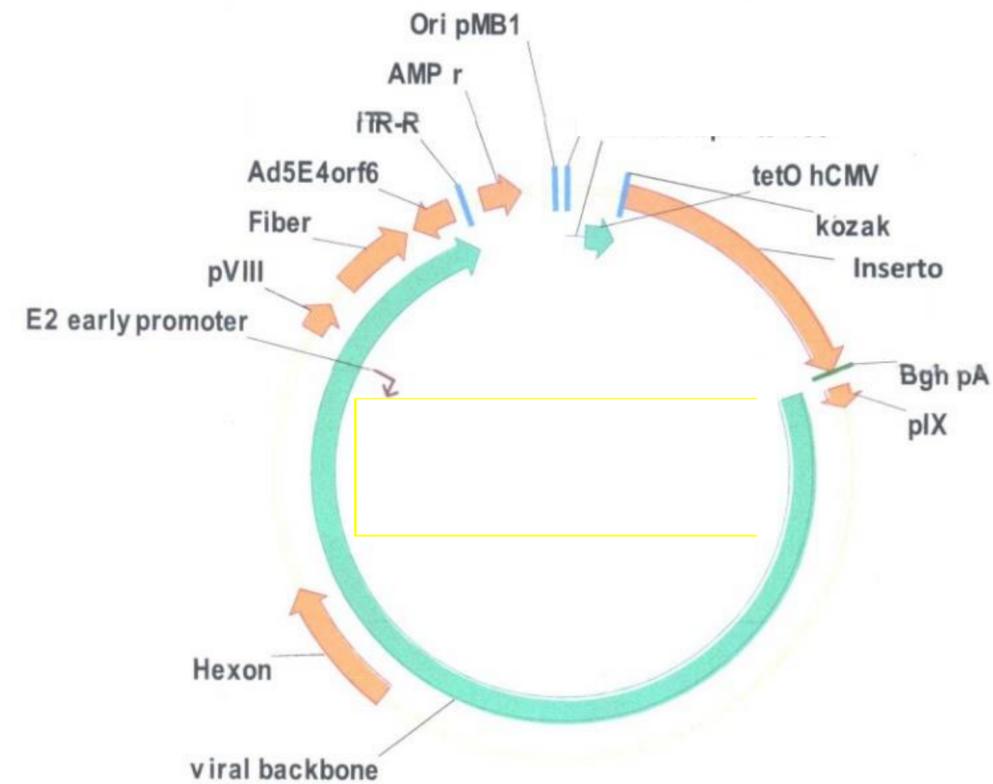
Es. plasmide pChAd3

## b) Identità del vettore con inserto

Un ulteriore elemento che può variare è l'inserto a seconda del patogeno contro cui si vuole indurre una risposta immune (proteine strutturali di HCV, proteina GAG di HIV, etc....).  
Tutti i vari inserti utilizzati saranno descritti dettagliatamente nella sezione V.

Es. : pChAd3/Inserto

c) Mappa funzionale del vettore completa di indicazioni su posizione di:



i) geni strutturali :

ii) geni marcatori di resistenza ad antibiotici **AMP**

iii) geni marcatori di resistenza a metalli pesanti **assenti**

iv) geni marcatori d'immunità ai fagi **assenti**

v) altri geni, specificare: **transgene protei**

vi) elementi regolatori : **HCMV promoter**;

vii) origine di replicazione : **Ori pMB1**.

d) Gamma di ospiti del vettore: **E. coli per trasformazione e cellule eucariotiche per trasfezione**

e) Caratteristiche di mobilità del vettore:.....

f) Il vettore è mobile?    SI     NO

In caso affermativo specificare:.....

#### **IV) Informazioni riguardanti l'organismo donatore dell'inserito:**

1) Nome scientifico **Plasmide**

2) L'organismo è patogeno o comunque nocivo in qualche modo (compresi i suoi prodotti extracellulari)?

SI     NO     NON SO

In caso affermativo, specificare:

a) Verso quale organismo:

i) uomo     ii) animali     iii) piante

b) in quale modo esplica la sua patogenicità?

i) infettività

ii) tossicità

iii) virulenza

iv) allergenicità

v) vettore per altri patogeni

vi) attivazione di virus latenti

vii) capacità di colonizzazione verso altri organismi ? SI  NO

viii) altro (specificare).....

c) Le sequenze clonate (inserto) sono in qualche modo coinvolte nella patogenicità e nocività dell'organismo donatore?

SI  NO  NON SO

d) Le sequenze clonate (inserto) sono sufficienti come determinanti di patogenicità

SI  NO  NON SO

3) Il donatore ed il ricevente possono scambiare naturalmente materiale genetico?

SI  NO  NON SO

4) Tipo di materiale genetico utilizzato per il clonaggio:

a) DNA totale.....

b) cDNA totale.....

c) cDNA da tessuti specifici.....

d) altro **DNA plasmidico**

## V) Informazioni sull'inserto

Funzione prevista per il materiale genetico utilizzato nella modificazione genetica

Produzione di vettori ricombinanti per l'espressione in vivo della proteina non patogena codificata dal transgene di interesse (vedi inserto) allo scopo di indurre una risposta immunitaria contro l'agente patogeno.

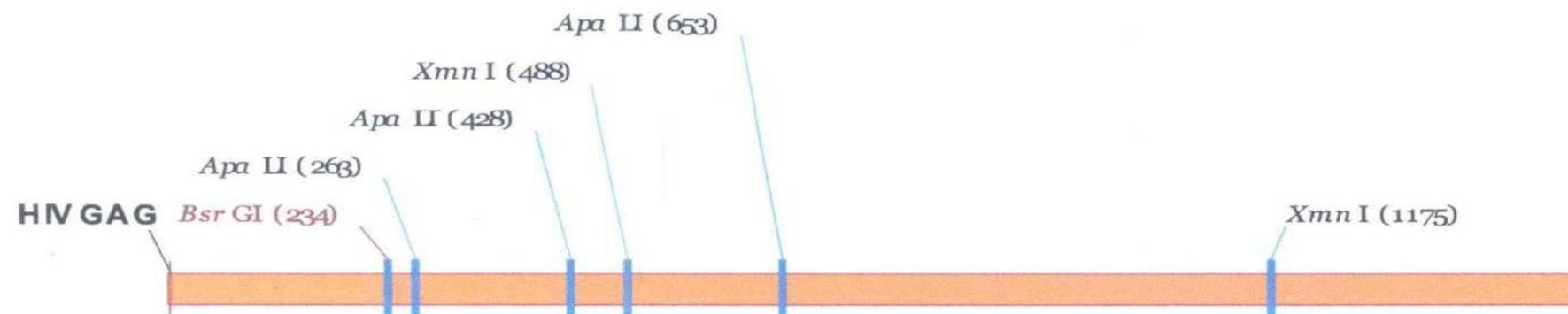
cassetta di espressione con il transgene d'interesse.

a) Dimensioni dell'inserto, mappa di restrizione e sequenza

Inserto 1: HIV GAG

- Dimensioni: 1500 bp

- mappa di restrizione:



b) Origine e funzione specifica di ciascuna parte dell'inserto proteina GAG di HIV. Insieme ad env, pol, gag è uno dei tre geni principali che si trovano in tutti i retrovirus.

c) L'inserto contiene sequenze che possono determinare patogenicità?

SI  NO  NON SO

In caso affermativo specificare .....

d) Metodo utilizzato per il clonaggio

Inserzione nel plasmide a valle del promotore HCMV;

e) Informazioni sui geni strutturali presenti nell'inserto

L'inserto contiene il gene GAG del virus HIV. GAG contiene circa 1500 nucleotidi e codifica per le seguenti proteine del core virale: p24, p17, p9, p6. p24 è una proteina del capsid, p17 una proteina della matrice (che ancora il core all'envelope virale), p9 è una proteina del nucleo capsid e p6 svolge un ruolo importante nella gemmazione della particella assemblata. La proteina suddetta di per sé non è patogena.

f) Informazioni sugli elementi regolatori presenti nell'inserito:

Non ci sono elementi regolatori

g) L'inserito è stato completamente sequenziato?      SI       NO

h) L'inserito contiene sequenze non necessarie alla funzione desiderata?

SI       NO

In caso affermativo specificare potenziali effetti negativi.....

i) L'inserito contiene parti la cui funzione è sconosciuta?

SI       NO

In caso affermativo, specificare.....

## VI) Informazioni relative al MOGM

### 1) Scopo della modificazione genetica

Generazione di vettori adenovirali allo scopo di ottenere un candidato vaccino per diversi agenti patogeni.

### 2) Stato ed espressione del materiale genetico introdotto:

a) Plasmide libero? SI  NO

in caso affermativo:

i) numero di copie: non noto

ii) il plasmide recuperato corrisponde al costrutto? SI  NO

b) Integrato nel cromosoma? SI  NO

in caso affermativo:

i) numero di copie..... in tandem..... intersperse.....

ii) Localizzazione cromosomica.....

iii) L'inserzione inattiva geni normalmente espressi? SI  NO

c) Dati molecolari riguardanti l'espressione del prodotto voluto:

i) Il trascritto corrisponde all'atteso? **Sì**

ii) Il prodotto di traduzione corrisponde all'atteso?

**Sì, verifica per western blot, ELISA**

iii) L'espressione è costitutiva o indotta in condizioni di coltura?

**Costitutiva in HEK293**

iv) Altre sostanze che potrebbero essere prodotte oltre al prodotto principale: **Nessuna**

3) Tratti genetici e caratteristiche fenotipiche del microrganismo ricevente o parentale che sono state cambiate come risultato della modificazione genetica:

a) Il MOGM è differente dal MO ricevente per quanto riguarda la patogenicità verso uomini, piante o animali? **SI X** **NO**

In caso affermativo, presenta differenze per:

In caso affermativo, presenta differenze per:

- spettro di ospiti? **Sì, il MOGM è un vettore capace di trasdurre numerose linee eucariotiche**
- trasmissibilità? **Il MOGM non può replicare in uomini o animali in quanto difettivo per la regione E1.**
- dose infettiva? **Non nota**
- disponibilità di terapie appropriate? **Non si richiedono terapie**

b) Il MOGM è differente dal microrganismo ricevente per quanto riguarda la sopravvivenza al di fuori delle condizioni di coltura?

SI  NO  NON SO

In caso affermativo, specificare.....

c) Il MOGM è differente dal microrganismo ricevente per quanto riguarda possibili effetti sull'ambiente? SI  NO

In caso affermativo, specificare: **Incapace di replicare in cellule**

3) Dati sperimentali sulla stabilità genetica del MOGM (indicare il numero di generazioni dopo il quale si è accertato che lo stato e la sequenza del materiale inserito non abbiano subito modificazioni): **il MOGM viene prodotto ogni volta ex novo e non amplificato per numero di generazioni. Il suo materiale genetico e' stabile. Il MOGM viene comunque controllato mediante analisi di restrizione e sequenziamento diretto.**

4) Presenza di piante o animali sensibili all'azione patogena nelle vicinanze dell'impianto: **Nessuna**

5) Possibilità di trasferire il materiale genetico ad altri organismi: **sì, le particelle virali trasducenti possono trasdurre altri organismi ma non possono replicare.**

6) Descrizione dei metodi di identificazione ed isolamento

a) Marcatori specifici del MOGM **sono proteine del capsido di adenovirus per il quale esistono anticorpi commerciali specifici.**

b) Tecniche impiegate per identificare e/o isolare il MOGM nello ambiente: **PCR per identificare il MOGM.**

## VII) Descrizione delle operazioni

1) Natura e entità delle singole operazioni:

|              |                                     |   |
|--------------|-------------------------------------|---|
| Insegnamento | <input type="checkbox"/>            | volume massimo di coltura.....  |
| Ricerca      | <input checked="" type="checkbox"/> | volume massimo di coltura <b>1 lt contenenti <math>5 \times 10^8</math> cellule</b> |
| Sviluppo     | <input type="checkbox"/>            | voiume massimo di coitura.....  |
| Produzione   | <input type="checkbox"/>            | volume massimo di coltura.....  |

2) Scopo dell'impiego confinato:

Produzione di biomassa..... SI  NO

Produzione di sostanze biologiche..... SI  NO

Clonare materiale genetico specifico... SI  NO

Altro (specificare): Produzione di vettori adenovirali per il trasferimento di geni terapeutici sopra specificati in vitro ed in vivo. Valutazione dell'efficienza di trasferimento e delle conseguenze fisiopatologiche

3) Descrizione delle fasi di coltura

- Trasfezione in cellule permissive (HEK-293) con costrutto pre-Adeno
- Raccolta cellule contenente il MOGM
- Lisi cellule contenenti MOGM e purificazione del MOGM per ultracentrifugazione su gradiente di Cesio
- Titolazione del vettore mediante Real-Time quantitative PCR

4) Concentrazione massima di MOGM nella coltura  $10^{11}$  particelle virali/ml

5) Descrizione dei metodi di trattamento dei microorganismi

Per la produzione dei vettori adenovirali, le cellule sono tenute in coltura sia in adesione che in sospensione. In adesione: si utilizzano piastre da 150 mm, flasks da 25 mm e cell factories. In sospensione: si utilizzano erlenmeyer flasks, in agitazione costante.

Le cellule sono riposte in un incubatore con CO<sub>2</sub> al 5%, alla temperatura di

37°C. Le manipolazioni sono eseguite in cappe biohazard di classe II a flusso laminare e le centrifugazioni in rotore con coperchio sigillante biohazard. Gli scarti liquidi sono inattivati in soluzione contenente ipoclorito di sodio e virkon, i solidi sono raccolti in contenitore biohazard e smaltiti come rifiuti biologici infetti

6) E' prevista l'inoculazione in animali? Sì

7) Periodo proposto per l'impiego oggetto della notifica: 5 anni

8) Risultati previsti: dimostrazione dell'efficacia dei vettori adenovirali come vaccini sperimentali

**VIII) Descrizione delle misure di contenimento e delle altre misure di protezione da adottare per tutta la durata dell'impiego confinato**

**Allegare la copia della descrizione data al punto D della notifica di impianto relativamente alla/e sezione/i in cui si svolge l'impiego oggetto della presente notifica, con indicazione del livello di contenimento previsto per ciascuno dei vani utilizzati (inclusi eventualmente stabulari, serre ecc.).**

1) Adozione di adeguate pratiche di laboratorio e norme di comportamento: le **B.P.L.** verranno adottate per tutte le operazioni. Le cellule producenti il vettore e le sospensioni saranno manipolate nell'impianto A da **personale addestrato** ed indossante camice di protezione e guanti di lattice (**d.p.i.**) I MOGM saranno mantenuti all'interno di un sistema chiuso (fiasca di coltura con tappo a vite e filtro, piastra di coltura, provetta con tappo a vite). Le preparazioni di vettore saranno trasportate presso l'impianto B tramite **contenitori a chiusura ermetica** contenenti ghiaccio umido per la preservazione dei campioni (vedi anche procedura allegata). **Gli animali saranno inoculati** e maneggiati per l'ispezione, la pulizia ed il sacrificio nello stabulario (impianto B) in **cappa Biohazard**, o, se richiesto dal tipo di manipolazione, al di fuori della cappa in un'area del laboratorio dedicata esclusivamente a tali operazioni **purché l'operatore indossi** **indumenti protettivi comprensivi di protezione oculare e mascherina respiratoria filtrante**. **Le deiezioni e la segatura saranno raccolti come materiale biologico infetto**. Gli organi prelevati in seguito a sacrificio degli animali saranno trasferiti per i successivi trattamenti presso XXX. A tale scopo saranno adoperati contenitori dedicati a chiusura ermetica contenenti ghiaccio umido o **azoto liquido** per il congelamento e la preservazione dei campioni.

2) Descrizione delle informazioni fornite al personale addetto:  
scritte SI  NO  corsi di aggiornamento periodici SI  NO

Il personale afferente agli impianti A e B viene informato sul rischio biologico attraverso linee guida di B. P. L. ed è formato mediante **continua informazione** dal RSPP e dal medico del lavoro competente.

3) Descrizione dei metodi per minimizzare la produzione di aerosol la manipolazione del MOGM: **Avverrà** all'interno di **cappe biohazard di tipo II a flusso laminare**. Se per particolari procedure sugli animali è richiesta manipolazione all'esterno della cappa, l'operatore indosserà una **mascherina respiratoria filtrante**.

4) Procedure e programmi di pulizia, disinfezione, decontaminazione dei locali e delle apparecchiature:

Impianto A: **disinfezione delle superfici di lavoro** prima e dopo ogni operazione e al termine della giornata.

Lavaggio e disinfezione quindicinale di cappe, rotori ed incubatori.

Impianto B: La possibilità di isolare le diverse stanze e laboratori dell'area convenzionale permette di procedere alla **sanitizzazione con varechina concentrata e/o Virkon (Virkon S 4%)**; lasciando agire il prodotto scelto su tutte le superfici per circa 30 minuti o effettuando la sterilizzazione mediante **fumigazione con perossido di idrogeno (35 %) nebulizzato nell'ambiente da apposito macchinario**.

5) Procedure e piani per la verifica dell'efficacia permanente delle misure di contenimento (specificare periodicità): da parte di staff tecnico secondo il programma di seguito riportato.

Impianto A: Controlli e interventi da parte di staff tecnico secondo il programma di seguito riportato.

**Cappe a flusso laminare:**

- Manutenzione annuale con verifica della **conta particellare**, **velocità del flusso** laminare verticale e frontale. **Smoke test** per efficienza barriera frontale, e dispositivi elettrici e illuminazione (ogni 12 mesi).

**Incubatori CO<sub>2</sub>:**

- manutenzione dell'apparecchiatura comprensiva di calibrazione della sonda CO<sub>2</sub> e della temperatura (ogni 6 mesi);  
- **sostituzione del filtro sterile** in accordo con le indicazioni del costruttore

Impianto B:

Giornalmente viene effettuato il **controllo pressione stanza** riportato su modulo controlli. Mensilmente si procede alla **sanitizzazione** stanza tramite l'uso di detergenti quali: Tego 1%, Quatesan 1% Varecchina 10% e Virkon 1% utilizzati a rotazione durante le pulizie giornaliere e settimanali.

A fine della sperimentazione con inoculo MOGM il rack di stabulazione verrà autoclavato.

La manutenzione e **ricambio dei filtri hepa** viene effettuata ogni due anni dal tecnico addetto.

Mensilmente si controllerà l'ambiente area convenzionale tramite **tamponi biologici** prelevati dalle mura, dal pavimento e dalla strumentazione; trimestralmente con l'uso del **Campionatore Biologico** si controllerà l'eventuale presenza nell'aria di batteri, virus e altro; annualmente saranno sostituiti i **filtri Hepa** di immissione ed emissione d'aria in BL2.

### 5) Gestione dei rifiuti:

#### a) rifiuti solidi:

descrizione del metodo di inattivazione degli MOGM

I rifiuti solidi vengono smaltiti in contenitori biohazard per rifiuti ospedalieri solidi (ROT) dopo aggiunta di ipoclorito di sodio.

destinazione finale: ditta autorizzata  altro (descrivere).....

#### b) rifiuti liquidi

descrizione del metodo di inattivazione degli MOGM

I rifiuti liquidi sono trattati con ipoclorito di sodio e smaltiti in contenitori per rifiuti ospedalieri liquidi.

destinazione finale: ditta autorizzata  altro (descrivere).....

7) Informazioni necessarie all'autorità competente per valutare i piani di intervento qualora il mancato funzionamento delle misure di contenimento possa comportare rischi per individui al di fuori dell'impianto e/o per l'ambiente:

In caso di spargimento del MOGM al di fuori della cappa Biohazard la procedura di emergenza sarà di abbandonare immediatamente il locale insieme agli altri lavoratori presenti e procedere al cambio degli indumenti protettivi e ad una decontaminazione accurata. Solo dopo aver indossato protezione adeguata, inclusa mascherina respiratoria filtrante e protezione oculare, un operatore addestrato rientrerà nel locale per l'inattivazione del MOGM che verrà effettuata con Na-Ipoclorito per la decontaminazione completa delle superfici interessate.

In caso di contatto del MOGM con la cute, si procederà alla disinfezione ed al lavaggio accurato e prolungato (15 minuti) con detergente ed acqua corrente. In caso di contatto con le mucose, si procederà a lavaggio prolungato con docce di emergenza o kit lavaocchi. In caso di inoculo parenterale, si provvederà ad accurata disinfezione cercando di promuovere la fuoriuscita di sangue. Se possibile, una aliquota del vettore contaminante verrà conservata per archivio a -80°C. Una notifica scritta verrà inviata all'RSPP che ottempererà alle vigenti prescrizioni di legge.

**IX) Sintesi della valutazione dei rischi per la salute dell'uomo, degli animali, delle piante e per l'ambiente in generale, conseguenti sia alle normali attività che ad eventi accidentali ipotizzabili (cfr. art. 5 del D. L.vo 206/01).**

In **condizioni normali**: si tratta di un impiego a basso rischio per la salute umana né per l'ambiente generale. Per animali/piante: è previsto l'inoculo di vettore in topi da laboratorio in condizione di impiego confinate. Il vettore è difettivo per la replicazione per cui non comporta il rischio di iniziare una infezione virale trasmissibile.

In **condizioni accidentali**: per la salute umana l'esposizione diretta del vettore non comporta rischi infettivi legati al vettore stesso perché il vettore è difettivo per la replicazione. L'unico potenziale rischio derivante da un'esposizione accidentale potrebbe essere la trasduzione di un tessuto con espressione della proteina ricombinante. Questa è senza conseguenze poiché l'espressione è di un marcatore o di una proteina non patogena. In caso di una proteina con possibili effetti collaterali, si consideri che le dosi di esposizione in maniera accidentale comportano livelli di espressione assolutamente sub- terapeutici.

Per animali/piante e per l'ambiente generale l'esposizione accidentale non è di per sé rischiosa.

Si dichiara contestualmente la conformità alla normativa vigente, sia a livello nazionale che regionale, relativa allo smaltimento dei rifiuti.

**X) Tabella sinottica di riepilogo del/dei MOGM che si intende utilizzare:**

**TITOLO DEL PROGETTO:** Produzione di adenovirus ricombinanti

**SCOPO DEL PROGETTO (breve descrizione):.**

Lo scopo del progetto è quello di produrre e caratterizzare gli adenovirus ricombinanti di origine umana esprimenti diversi antigeni tumorali. Verranno valutate la produttività delle linee cellulari e la potenza immunologica in modelli animali.

| NOME DEL MOGM | VETTORE | INSERTO | RICEVENTE | CLASSE DI RISCHIO |
|---------------|---------|---------|-----------|-------------------|
| 1.            |         |         | HEK-293   | 2                 |
| 2.            |         |         | HEK-293   | 2                 |
| ...           |         |         |           |                   |
| 5.            |         |         | HEK-293   | 2                 |
| ...           |         |         |           |                   |
| 13.           |         |         | HEK-293   | 2                 |

Il successo di ogni misura di tutela della salute e sicurezza nei luoghi di lavoro è il risultato degli sforzi congiunti dei datori di lavoro, dei vari attori della sicurezza negli ambienti di lavoro e dei lavoratori (D.Lgs 81/08).

E anche ogni **valutazione del rischio**, deve tenere in adeguata considerazione la **effettiva partecipazione dei lavoratori** attraverso un processo di coinvolgimento dei lavoratori e/o dei loro rappresentanti.

**E' stato realizzato un applicativo che sarà disponibile presto**  
**anche sul sito Biotech safety**

Questo semplice applicativo, ancora sotto forma di prototipo, vuole essere uno strumento utile:

- ai giovani ricercatori per la loro formazione prima dell'accesso in un lab biotech,
- a valutare e migliorare la sicurezza e salute dei lavoratori a partire dal lavoratore stesso,
- a migliorare la percezione del rischio del lavoratore,
- agli ispettori per valutare la conformità del lab notificati.

## INDICE

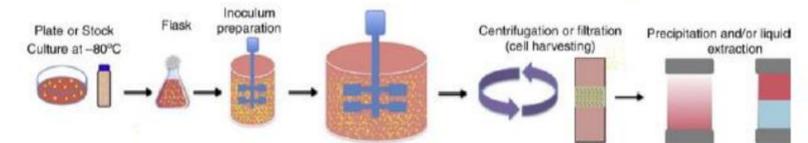
1. La Valutazione d'impiego confinato
2. La stesura della notifica di impiego
- 3. La sperimentazione clinica e normativa**
4. Environmental Risk Assessment
5. Promozione della cultura della sicurezza

## **Prodotti Medicinali per Terapie Avanzate (ATMPs)**

# Una farmacologia in continua evoluzione



## Produzione dei biologici



Con i **geni** introduciamo un farmaco biologico con il suo software di espressione, il gene, che porta le informazioni per fare quel farmaco dove serve, quando serve e quanto serve; quindi siamo molto più mirati o addirittura possiamo usare delle **cellule**, il farmaco cellulare che abbiamo modificato e che in qualche modo viene prodotto per il paziente stesso; un farmaco altamente personalizzato e molto potente.

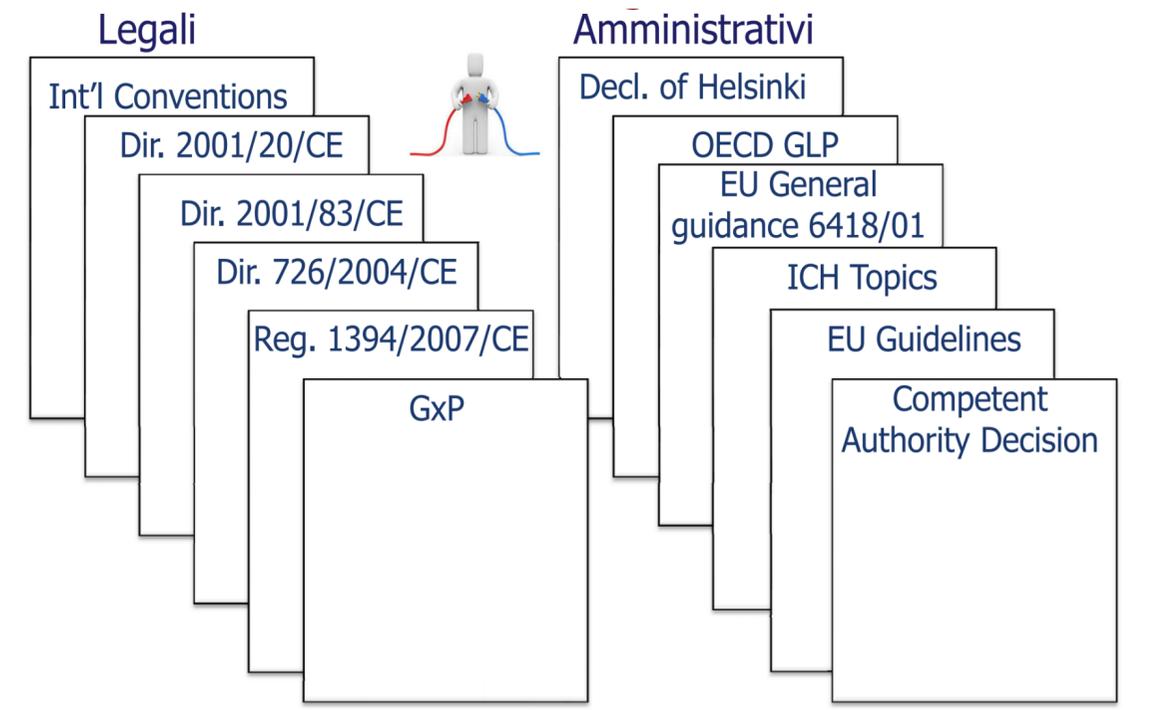
# Gli strumenti regolatori

I medicinali per terapie avanzate rappresentano un campo dove la ricerca italiana ha raggiunto risultati di assoluta eccellenza.

**L'Italia è infatti leader in Europa** per lo sviluppo di questa tipologia di farmaci che offrono nuove opportunità per il trattamento di patologie fino a oggi incurabili o invalidanti.

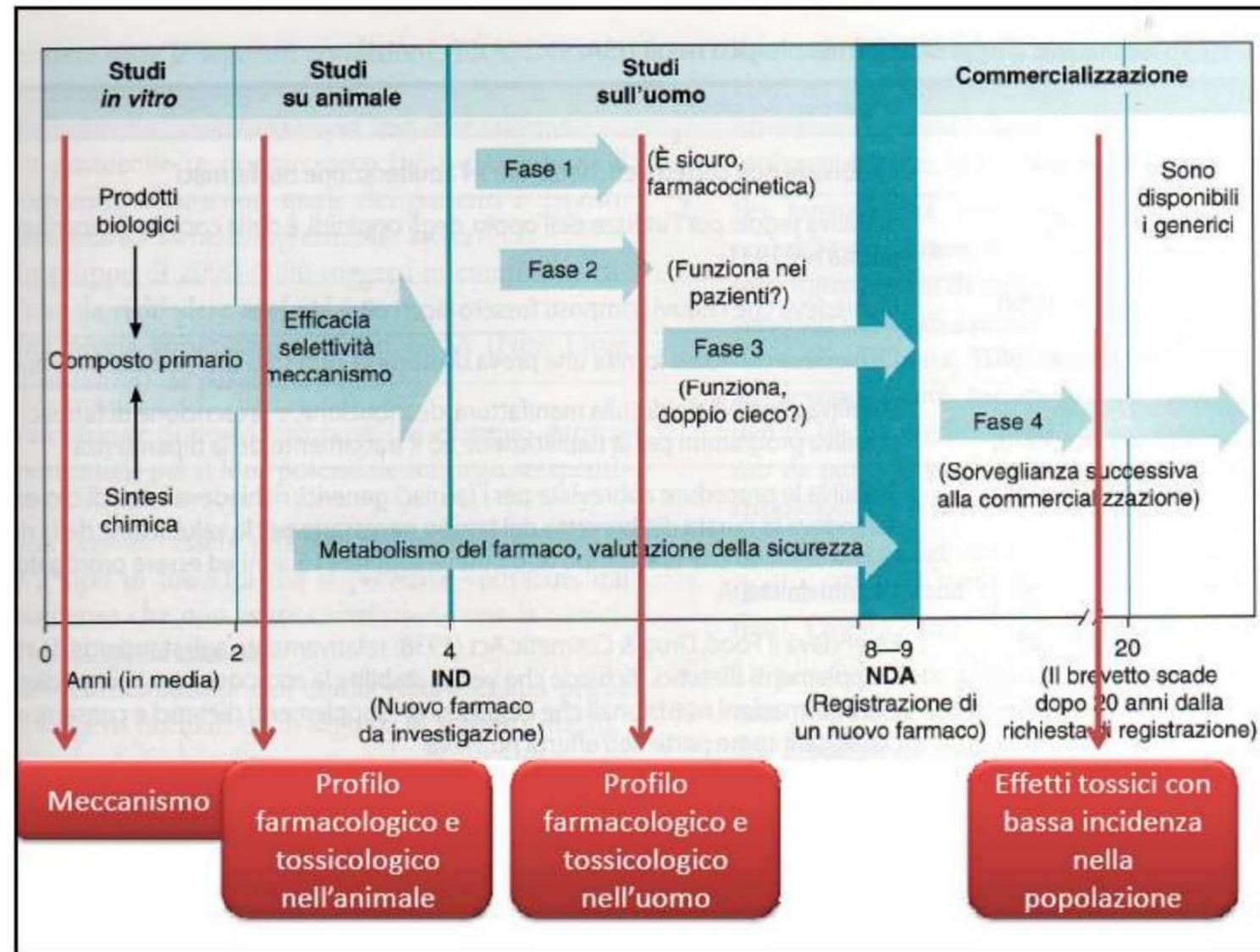
Tanto che la metà di quelle oggi utilizzate in Europa sono nate nel nostro Paese ed è italiano il primo farmaco a base di cellule staminali, la prima terapia genica e il primo farmaco di origine tissutale.

- ❑ Risulta **fondamentale** che i percorsi di sviluppo di questi farmaci siano condotti nel rispetto dei **requisiti normativi e regolatori**, che hanno reso disponibili nuove terapie destinate a compensare esigenze mediche ancora non soddisfatte.



Lo scopo primario della ricerca medica che coinvolge soggetti umani è quello di comprendere le cause, lo sviluppo e gli effetti delle malattie e migliorare gli interventi preventivi, diagnostici e terapeutici (metodi, procedure e trattamenti). Anche gli interventi di comprovata efficacia devono essere valutati continuamente attraverso la ricerca per la loro sicurezza, efficacia, efficienza, accessibilità e qualità.

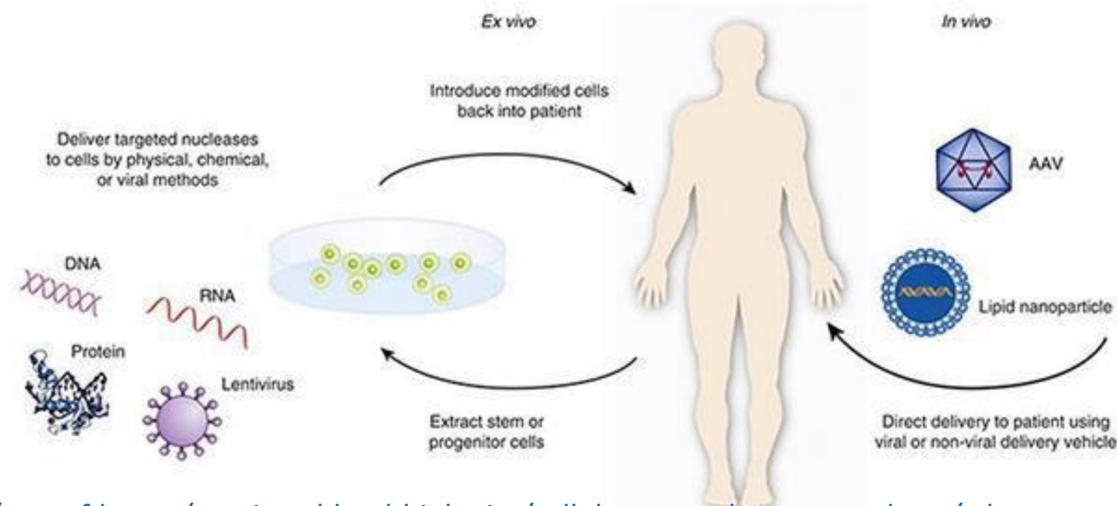
Dichiarazione di Helsinki



*Si tratta di un percorso lungo, che parte dalla ricerca di laboratorio e, dopo la fase preclinica in modelli animali, approda a quella della sperimentazione clinica nei pazienti, fino alla commercializzazione.*

# Prodotti Medicinali per Terapie Avanzate (ATMPs)

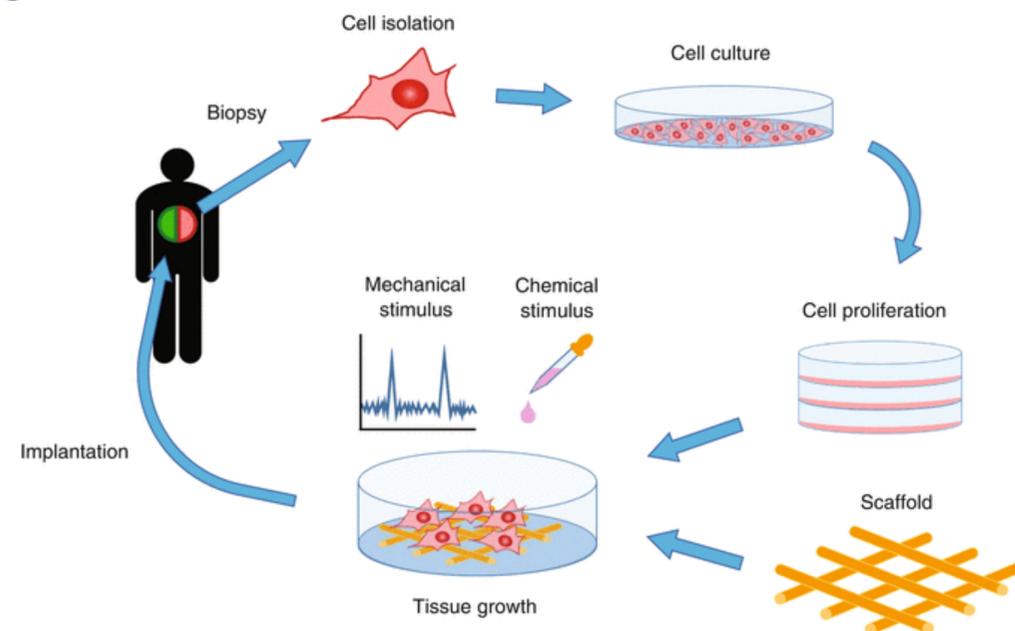
## Terapia genica



<https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/cellular-gene-therapy-products/what-gene-therapy>

Le terapie avanzate comprendono **terapie cellulari**, **terapie geniche** e **terapie di ingegneria dei tessuti** e **ATMP combinate** che offrono soluzioni paziente-specifiche o per nicchie di pazienti e sono in grado di ristabilire funzioni fisiologiche compromesse, a volte con la correzione di mutazioni acquisite su base genetica. Per la prima volta non si tratta più di mitigare i sintomi di una condizione, ma di curarne le cause.

## Ingegneria dei tessuti



Le ATMP rientrano nella definizione tecnica di farmaco e, devono sottostare alle stesse procedure e ai regolamenti previsti dagli enti preposti. A livello europeo l'ente di riferimento è l'European Medicines Agency (EMA), mentre l'Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA) si occupa delle procedure per l'autorizzazione di nuovi farmaci nel nostro Paese.

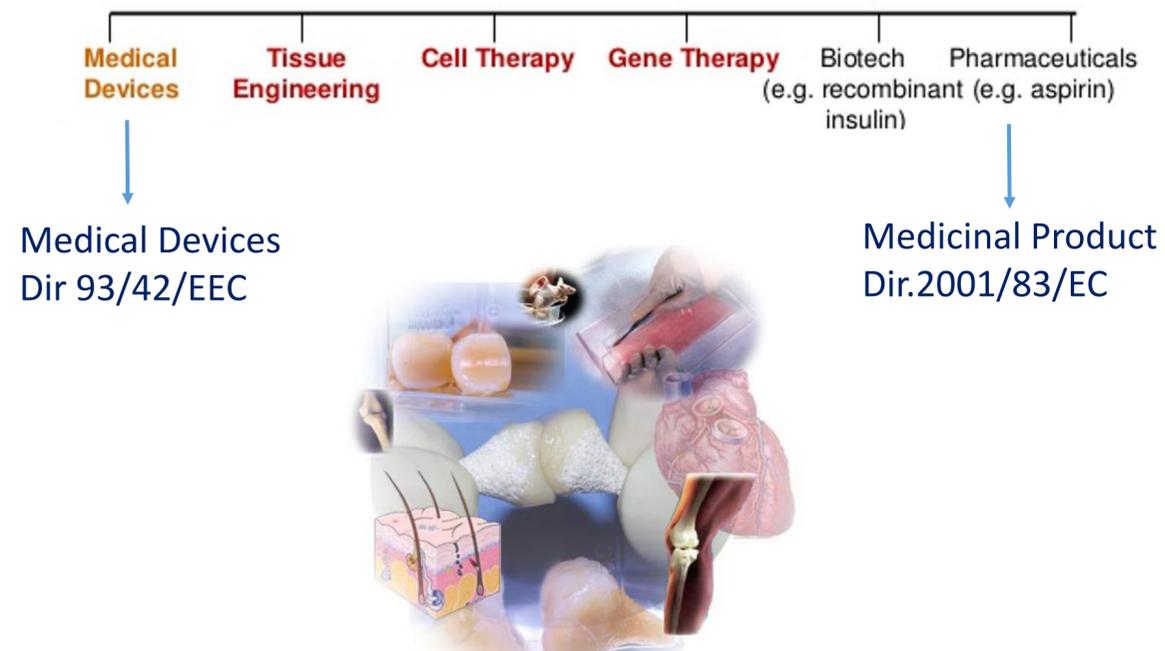
[https://doi.org/10.1007/978-981-10-2723-9\\_5](https://doi.org/10.1007/978-981-10-2723-9_5)

# Advanced Therapy Medicinal Products (ATMPs)

Regolamento n. 1394/2007 CE

In vigore dal 30 dic 2008

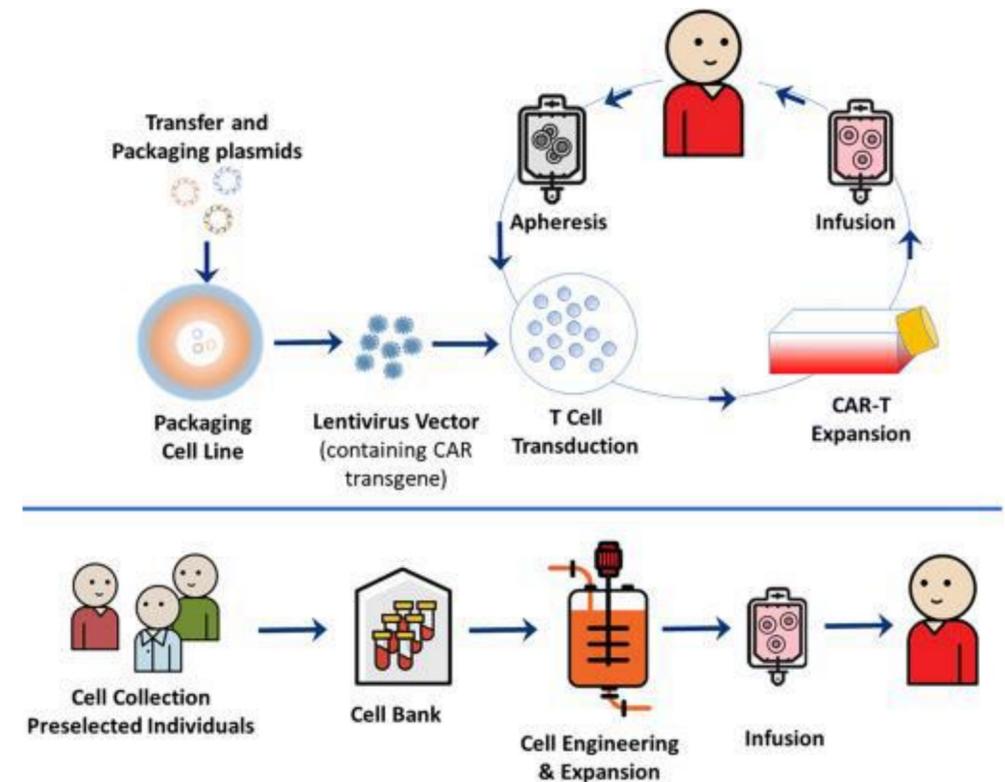
## Advanced Therapies



ATMP pongono numerose sfide, anche in ambito regolatorio e normativo.

## Medicina Personalizzata

Terapia cellulare  
CAR T  
Autologa



Terapia cellulare  
allogena

<https://doi.org/10.1007/s40883-019-00130-5>



|                | NOME COMMERCIALE  | INN*  | AZIENDA                    | INDICAZIONE   | APPROVAZIONE EUROPEA            | AIC* IN EUROPA       | AIC* IN ITALIA   |
|----------------|---|---|----------------------------|---|---------------------------------|----------------------|--|
| TERAPIA GENICA | Glybera®  | alipogene tiparvovec  | uniQure biopharma B.V.     | deficit familiare di lipasi lipoproteica con gravi o ripetuti attacchi di pancreatite                             | ottobre 2012<br>farmaco orfano  | ✗<br>da ottobre 2017 | ✗<br>da ottobre 2017                                       |
|                | Imlygic®  | talimogene laherparepvec  | Amgen Europe B.V.          | melanoma inoperabile con metastasi regionali o a distanza (Stadio IIIb, IIIC e IVM1a)                             | dicembre 2015                   | ✓                    | ✗<br>Classe C(nn)*<br>richiesta di rimborso non sottomessa |
|                |  Strimvelis® | Frazione cellulare arricchita di cellule autologhe CD34+ contenente cellule CD34+ geneticamente modificate con un vettore retrovirale contenente la sequenza di cDNA che codifica per l'ADA umana | Orchard Therapeutics BV    | ADA-SCID nei casi di assenza di donatore consanguineo   | maggio 2016<br>farmaco orfano   | ✓                    | ✓<br>Classe H*<br>luglio 2016                              |
|                | Kymriah®  | tisagenlecleucel  | Novartis Europharm Limited | leucemia linfoblastica acuta a cellule B e linfoma diffuso a grandi cellule B                                     | agosto 2018<br>farmaco orfano   | ✓                    | ✓<br>Classe H*<br>agosto 2019                              |
|                | Yescarta®   | axicabtagene ciloleucel   | Kite Pharma EU B.V.        | linfoma diffuso a grandi cellule B e linfoma primitivo del mediastino a grandi cellule B refrattari o recidivanti | agosto 2018<br>farmaco orfano   | ✓                    | ✓<br>Classe H*<br>novembre 2019                            |
|                | Luxturna™   | voretigene neparvovec   | Novartis Europharm Limited | distrofia retinica ereditaria   | novembre 2018<br>farmaco orfano | ✓                    | ✓<br>Classe H*<br>dicembre 2020                            |

|                | NOME COMMERCIALE  | INN*   | AZIENDA                            | INDICAZIONE  | APPROVAZIONE EUROPEA                    | AIC* IN EUROPA      | AIC* IN ITALIA                     |
|----------------|---|--|------------------------------------|--|---|---------------------|------------------------------------|
| TERAPIA GENICA | Zynteglo®   | Cellule autologhe CD34+ codificanti per il gene della $\beta$ A-T87Q globina | bluebird bio B.V.                  | beta talassemia trasfusione dipendente senza genotipo $\beta^0/\beta^0$ (sopra ai 12 anni)                     | maggio 2019<br>CMA*<br>farmaco orfano   | ✓                   | ✓<br>Classe C(nn)*<br>ottobre 2020 |
|                | Zolgensma®  | onasemnogene abeparvovec   | Novartis Gene Therapies EU Limited | atrofia muscolare spinale (SMA) di tipo 1: oppure di pazienti con SMA che hanno fino a tre copie del gene SMN2 | maggio 2020<br>CMA*<br>farmaco orfano   | ✓                   | ✓<br>Classe H*<br>marzo 2021       |
|                | Tecartus™   | brexucabtagene autoleucel  | Kite Pharma EU B.V.                | linfoma a cellule mantellari (MCL) recidivante o refrattario   | dicembre 2020<br>CMA*<br>farmaco orfano | ✓                   | ✓<br>Classe H*<br>marzo 2022       |
|                |  Libmeldy™ | cellule autologhe CD34+ che codificano il gene ARSA                          | Orchard Therapeutics BV            | leucodistrofia metacromatica   | dicembre 2020<br>farmaco orfano         | ✓                   | ✓<br>Classe C(nn)*<br>aprile 2021  |
|                | Skysona™  | elivaldogene autotemcel (Lenti-D™)   | bluebird bio, Inc.                 | adrenoleucodistrofia cerebrale precoce con una mutazione genetica ABCD1  | luglio 2021                             | ✗<br>da aprile 2022 | ✗                                  |
|                | Abecma®   | idecabtagene vicleucel   | Bristol-Myers Squibb / Celgene     | mieloma multiplo   | agosto 2021                             | ✓                   | ✗                                  |
|                | Breyanzi®   | lisocabtagene maraleucel   | Bristol-Myers Squibb / Celgene     | linfoma diffuso a grandi cellule B, linfoma primitivo del mediastino a grandi cellule B e linfoma follicolare  | aprile 2022                             | ✓                   | ✗                                  |

**Leadership dell'Italia, avendo sviluppato ben 4 delle 17 terapie avanzate attualmente in commercio in Europa.**



|                   | NOME COMMERCIALE  | INN*  | AZIENDA           | INDICAZIONE  | APPROVAZIONE EUROPEA         | AIC* IN EUROPA        | AIC* IN ITALIA                   |
|-------------------|---|---|-------------------|--|------------------------------|-----------------------|----------------------------------|
| TERAPIA CELLULARE | Chondro-Celect®   | Cellule cartilaginee autologhe vitali caratterizzate ex vivo ed esprimenti proteine specifiche  | TiGenix N.V.      | lesioni sintomatiche a carico della cartilagine del condilo femorale del ginocchio                           | ottobre 2009                 | ✗<br>da novembre 2016 | ✗<br>da novembre 2016            |
|                   | Provenge®   | sipuleucel-T  | Dendreon UK Ltd   | carcinoma della prostata asintomatico o lievemente sintomatico metastatico (non viscerale)                   | settembre 2013               | ✗<br>da maggio 2015   | ✗<br>da maggio 2015              |
|                   |  Zalmoxis® | Linfociti T allogenici geneticamente modificati con un vettore retrovirale codificante per una forma troncata del recettore umano a bassa affinità del fattore di crescita nervoso e la timidina chinasi del virus herpes simplex I | MolMed            | trattamento aggiuntivo nei casi di trapianto di staminali per neoplasie maligne ematologiche ad alto rischio | agosto 2016<br>CMA*          | ✗<br>da ottobre 2019  | ✗<br>da ottobre 2019             |
|                   | Alofisel®   | darvadstrocel   | Takeda Pharma A/S | fistole perianali complesse in pazienti adulti con malattia di Crohn luminale non attiva/lievemente attiva   | marzo 2018<br>farmaco orfano | ✓                     | ✓<br>Classe C*<br>settembre 2018 |

**Classe H:** medicinali erogabili a carico del SSN solo in ambito ospedaliero



INGEGNERIA  
TESSUTALE

| NOME COMMERCIALE   | INN*   | AZIENDA                          | INDICAZIONE   | APPROVAZIONE EUROPEA                    | AIC* IN EUROPA  | AIC* IN ITALIA  |
|--|--|----------------------------------|---|---|---|---|
| <b>Maci®</b>   | Condrociti autologhi vitali caratterizzati, espansi ex vivo esprimendo geni marker specifici per i condrociti, seminati su una membrana di collagene di tipo I/III di origine suina con marchio CE | Vericel Denmark ApS              | difetti sintomatici a tutto spessore della cartilagine del ginocchio  | giugno 2013                             | <br>da luglio 2018 | <br>da luglio 2018                 |
|  <b>Holoclar®</b> | Cellule epiteliali corneali umane autologhe espanse ex vivo e contenenti cellule staminali   | Holostem Terapie Avanzate S.r.l. | deficit di cellule staminali limbari da moderato a grave, causato da ustioni oculari da agenti fisici o chimici | febbraio 2015<br>CMA*<br>farmaco orfano |                    | <br>Classe H*<br>febbraio 2017     |
| <b>Spherox</b><br>(chondrosphere®)   | Sferoidi di condrociti umani autologhi associati a matrice per impianto sospesi in soluzione isotonica di cloruro di sodio   | CO.DON AG                        | difetti sintomatici della cartilagine articolare del condilo femorale e della rotula del ginocchio              | luglio 2017                             |                    | <br>Classe C(nn)*<br>febbraio 2021 |

## LEGENDA

**INN:** international non-proprietary name

**AIC:** autorizzazione all'immissione in commercio

**CMA:** conditional marketing authorisation

**Classe C(nn):** farmaci non ancora valutati ai fini della rimborsabilità

**Classe H:** medicinali erogabili a carico del SSN solo in ambito ospedaliero

**Classe C:** farmaci a carico del cittadino

**CPR:** Comitato Prezzi e Rimborso

**CTS:** Commissione Tecnico Scientifica

 : farmaco non in commercio

 : farmaco in commercio

 : richiesta di rimborso in valutazione AIFA

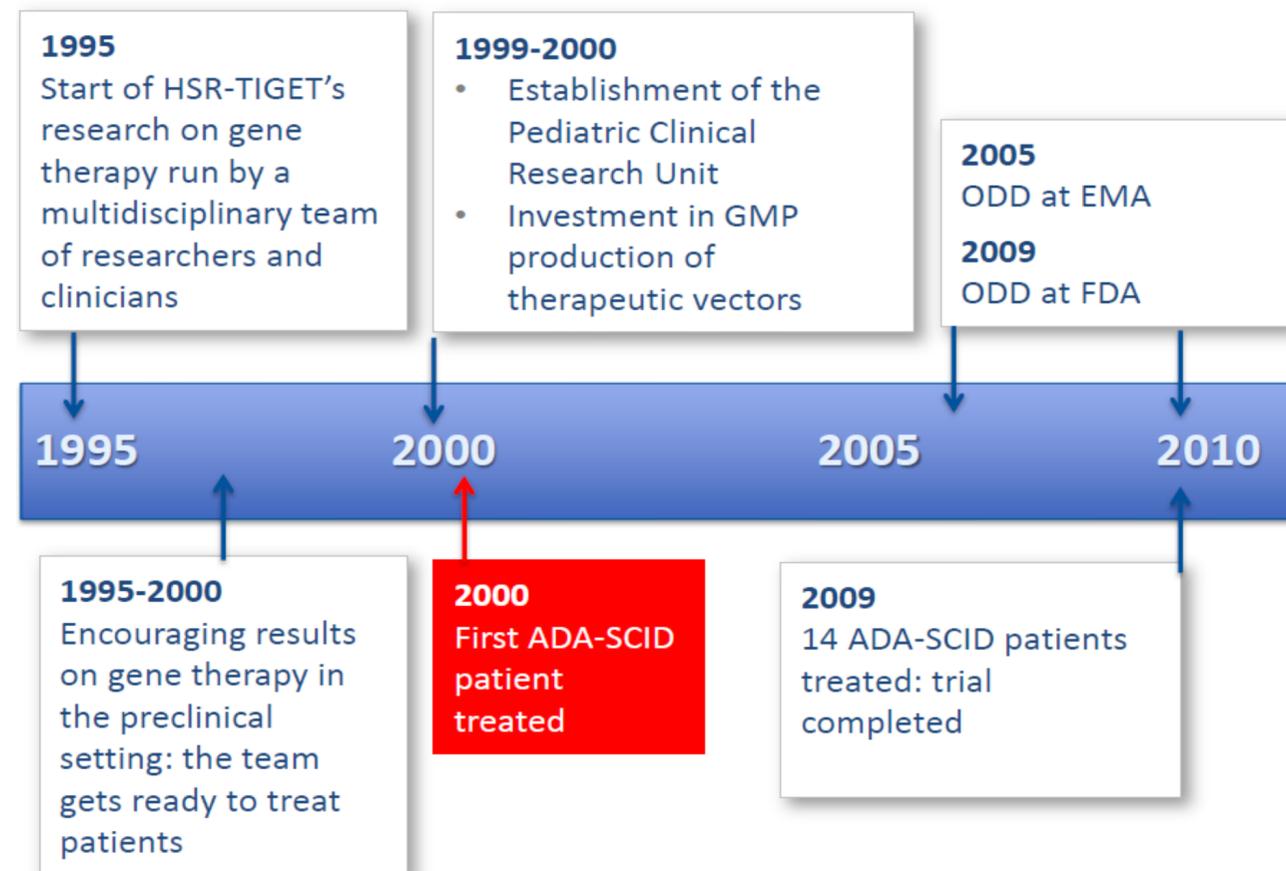
 : strategia terapeutica ideata in Italia

 : farmaco con innovatività AIFA

 : farmaco con innovatività AIFA scaduta

## 2016: Decisione EC e autorizzazione AIFA

Un esempio di successo: STRIMVELIS



Fonte: Telethon

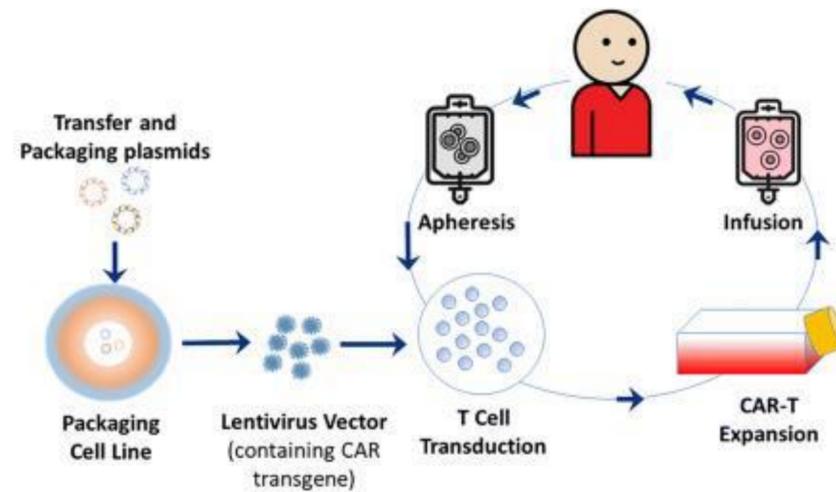
**1° generazione** ATMP: prodotti di terapia cellulare e terapia genica per malattie (genetiche) ultrarare (Holoclar, Strimvelis)

Terapia Genica con Cellule Staminali Ematopoietiche

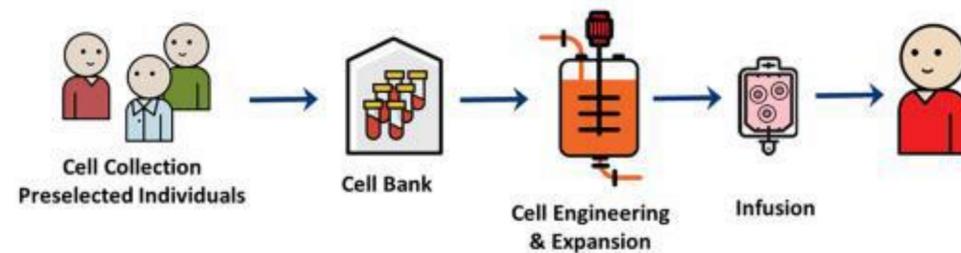
Dai primi studi su immunodeficienze è scaturita la prima terapia genica disponibile sul mercato: "**Strimvelis**"

Con i vettori lentivirali derivati da HIV:  
Beneficio clinico significativo e duraturo  
Risultati confermati in diversi altri studi nel mondo, con ~350 pazienti trattati

Terapia cellulare  
CAR T



Terapia cellulare  
allogenica



<https://doi.org/10.1007/s40883-019-00130-5>

I linfociti T sono modificati geneticamente per esprimere sulla loro superficie il recettore CAR capace di aumentare la risposta immunitaria, e reinfusi nel paziente stesso.

**2° generazione** ATMP: CAR-T per tumori del sangue, terapia genica per malattie rare (es. talassemia)

**3° generazione** ATMP: CAR-T per altri tumori ematologici e tumori solidi, terapia genica con bisturi molecolare (editing genomico CRISPR) anche per patologie degenerative

CRISPR/Cas9



*Editare sequenze di DNA per correggere in situ le mutazioni*

Le **sperimentazioni cliniche** con ATMP devono essere conformi alla legislazione che disciplina l'autorizzazione delle sperimentazioni cliniche:

- sperimentazione clinica (**Dir.2001/20/EC**)
- autorizzazione europea al commercio (EMA) (**EU Reg.1394/2007**) che può essere gestita tramite una procedura centralizzata dell'EMA che coinvolge tutti gli stati membri e a fronte della quale una sola autorizzazione alla commercializzazione è valida in tutta Europa
- Good Laboratory Practice, Good Manufacturing Practice, Good Clinical Practice
- farmacovigilanza (**EU Reg.1394/2007**)
- Farmacopea Europea per le metodiche analitiche

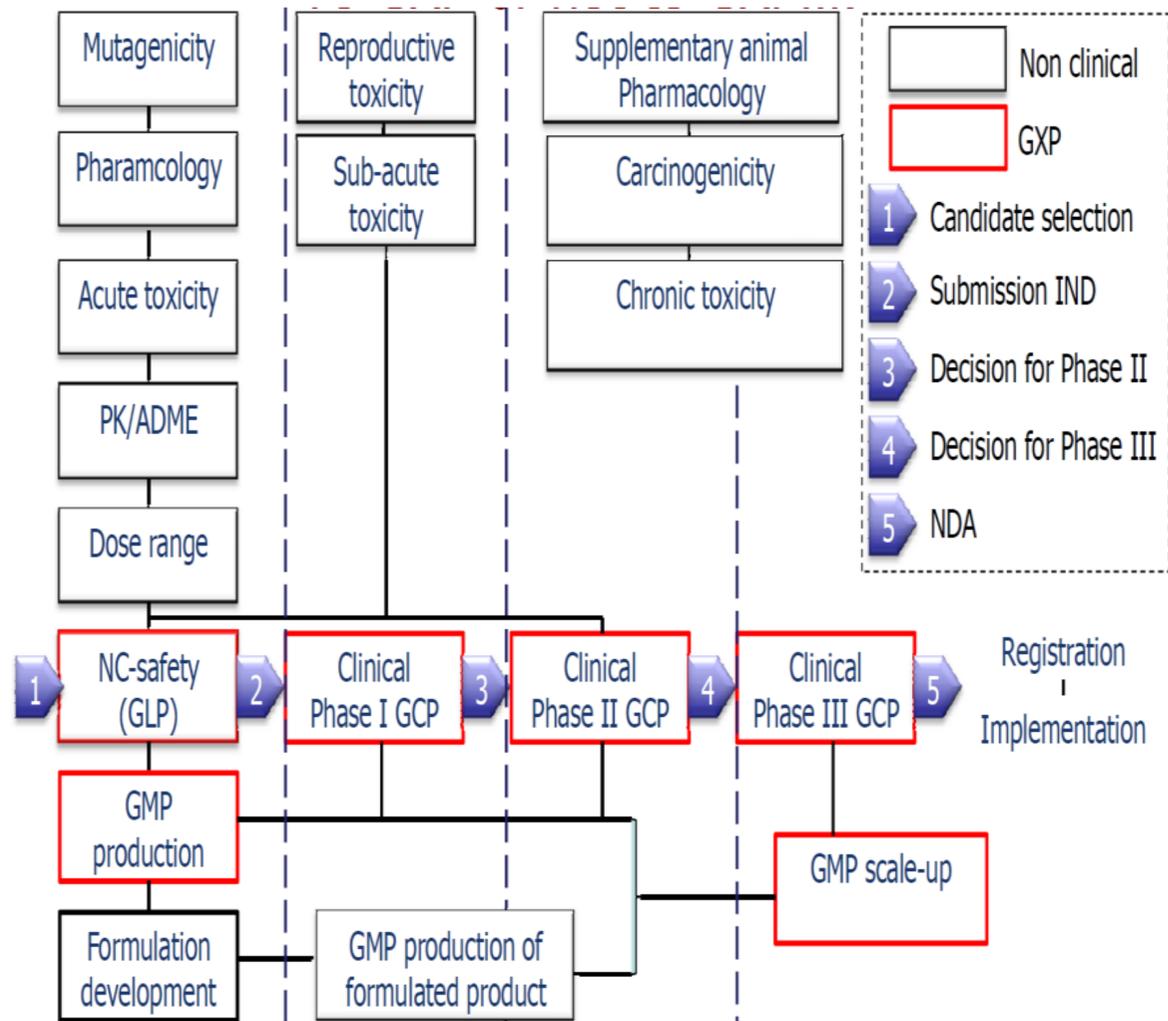
ATMPs: procedura centralizzata obbligatoria

- Procedura centralizzata europea obbligatoria: una singola **autorizzazione al mercato** valida per tutta Europa
- Procedura di 210 giorni (con clock-stop): coinvolgimento di BWP, CAT, CHMP e autorizzazione finale di EC
- Due team di valutazione indipendenti all'interno dei comitati EMA.

Le sperimentazioni cliniche con ATMP devono essere conformi ai requisiti applicabili previsti da:

(**Dir.2009/41/EC**) sull'impiego confinato di MOGM  
(**Dir.2001/18/EC**) sul rilascio deliberato di OGM

# Schema applicativo dell'iter regolatorio di un ATMP

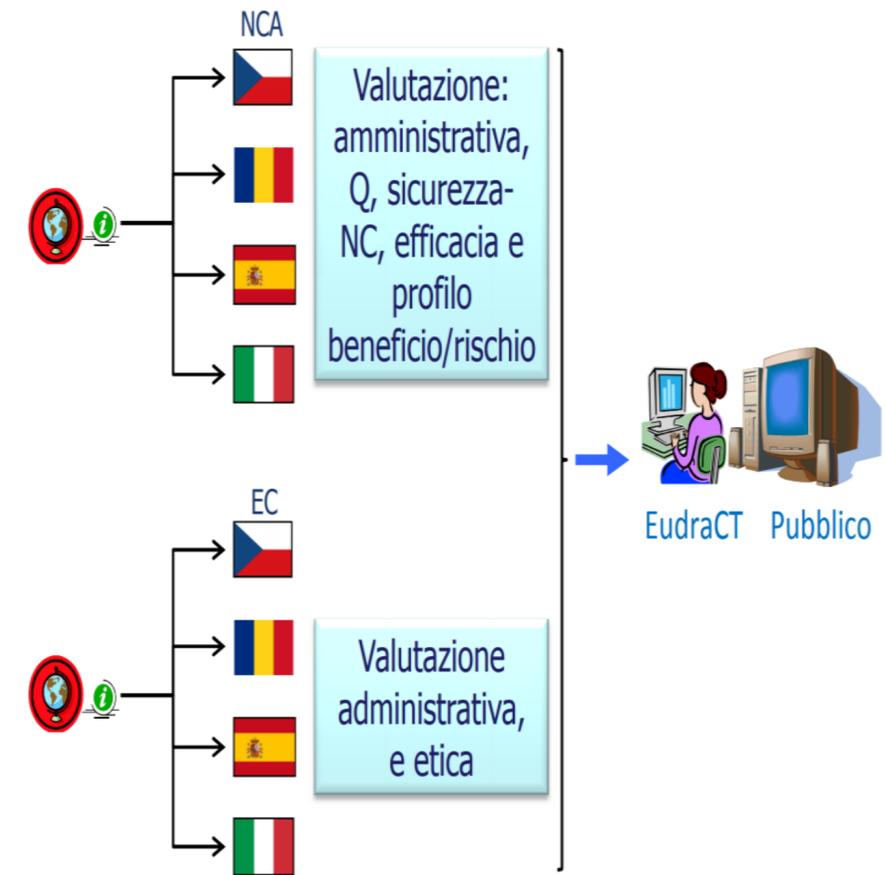


## Autorità Competenti coinvolte nell'iter:

- AC della nazione dove si svolge la sperimentazione clinica
  - AC di ogni Stato Membro anche nel caso di studi multinazionali
- In Italia:
- Fase I è autorizzata da AIFA (ISS)
  - Fasi II e III da AIFA

Dir. 2001/20/CE,  
D.Lgs. 211/2003

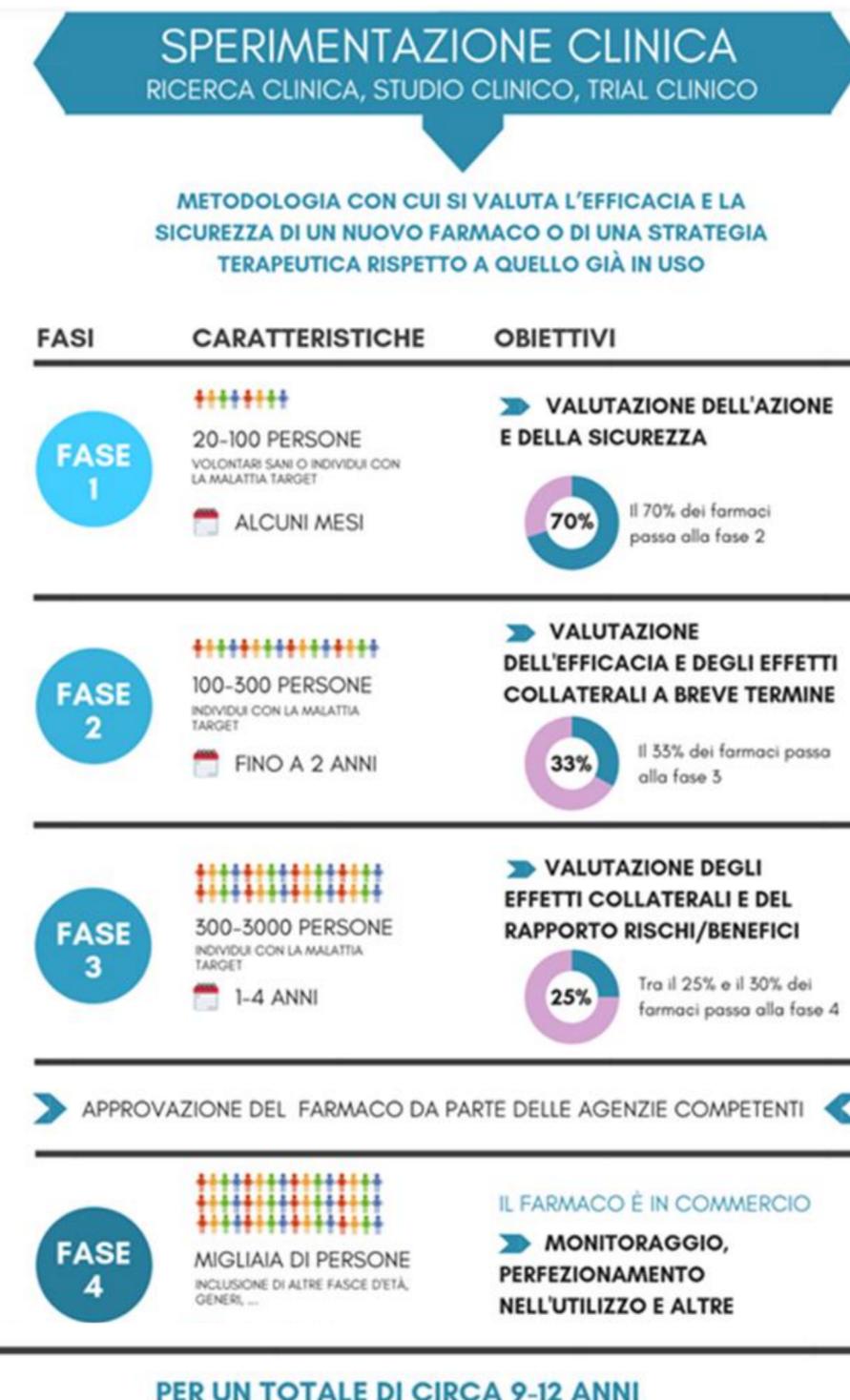
Produzione GMP,  
sicurezza GLP,  
Clin trial GCP



- GLP: studi di sicurezza pre-clinica
- GMP: Qualità nella produzione del medicinale da applicare anche negli studi di pre-clinica e non-clinica
- GCP: linee guida internazionali che stabiliscono uno standard di qualità etico e scientifico per il disegno, la conduzione, la raccolta dati e la divulgazione di tutte le fasi di sperimentazioni clinica

## Procedura centralizzata Europea per l'Autorizzazione alla commercializzazione

- Procedura centralizzata europea obbligatoria: una sola autorizzazione all'immissione sul mercato valida per tutta Europa
- Procedura di 210 giorni (con clock-stop): coinvolgimento di BWP, CAT, CHMP e autorizzazione finale di EC
- Due team di valutazione indipendenti all'interno dei comitati EMA
- È stato appositamente creato il Committee for Advanced Therapies (CAT, Comitato per le Terapie Avanzate), che ha il compito di valutare la qualità, sicurezza ed efficacia delle ATMP, per poi sottoporlo all'approvazione del Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP, Comitato per i medicinali ad uso umano).
- L'approvazione nell'Unione Europea è centralizzata: viene emessa un'unica licenza valida in tutti i Paesi appartenenti alla UE e, con essa, un nome e un documento contenente le informazioni riguardanti il farmaco (disponibile in tutte le lingue utili).
- Successivamente ciascun Paese proseguirà con le procedure per l'autorizzazione all'immissione in commercio a livello nazionale



Fonte: www.fda.gov

SPERIMENTAZIONICLINICHE.IT

# Requisiti Regolatori: applicazione del D.lvo 206/2001

Reg. (EC) 726/2004 sulla commercializzazione stabilisce che:

- **la Dir. 2001/18/CE (OGM) è applicabile ai farmaci ma solo per la valutazione del rischio ambientale (ERA)**
- nel modulo 2 del dossier (CTD) deve essere inserita la ERA
- per l'ERA, nella procedura centralizzata EMEA sono consultate le autorità nazionali competenti per la direttiva OGM

Direttiva 2001/20/EC sulla sperimentazione clinica non dà indicazioni su questa materia: perciò ciascuno stato membro è libero di applicare il rilascio deliberato oppure l'uso confinato

❖ **l'Italia applica l'impiego confinato di MOGM (D. l.vo 206/2001)**

# SPERIMENTAZIONE CLINICA CON ATMP: applicazione del D.lvo 206/2001

Lo sponsor della sperimentazione clinica che si svolgerà in Italia deve chiedere due tipi di autorizzazione per il suo medicinale sperimentale per TG:

- per la sperimentazione clinica (ISS/AIFA)
- per l'impiego confinato (Min. Salute / CIV)

Le due procedure sono parallele ed entrambe necessarie

L'autorizzazione alla sperimentazione clinica con impiego di ATMP deve essere autorizzata dall'Autorità Competente per il D.lvo 206/2001 attraverso l'invio della modulistica specifica, anche per l'impianto ove si intende svolgere la sperimentazione.

## Modulo unico di domanda per la ricerca clinica con cellule umane geneticamente modificate mediante vettori retro-lentivirali<sup>1</sup>

NOTA 1. Questo modulo di domanda può essere usato solo per cellule umane geneticamente modificate mediante vettori retro-lentivirali nei casi in cui il richiedente dimostri che:  
1) non vi è alcun rischio di formazione di virus competente per la replicazione;  
2) il prodotto finito è privo di particelle di vettori virali infettanti che possono essere emesse nell'ambiente.

### 1.2. Identificazione dello sponsor (se diverso dal richiedente)

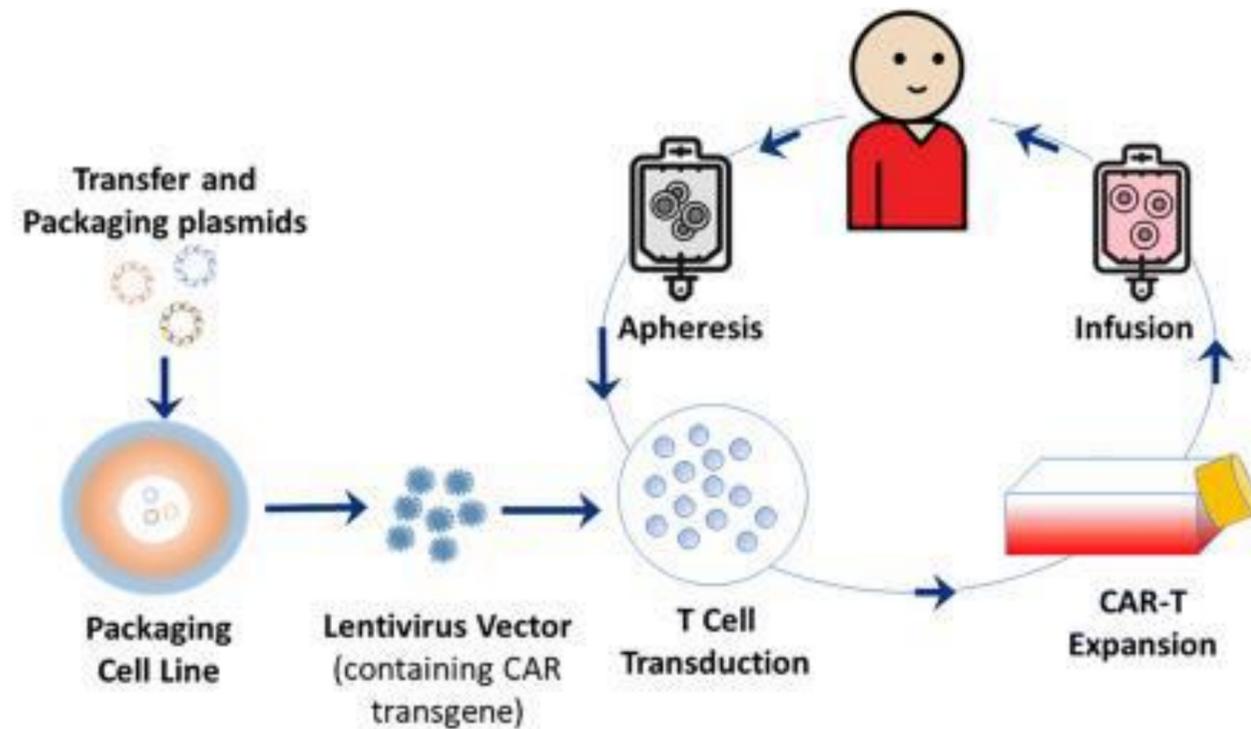
|                           |  |
|---------------------------|--|
| Nome dell'organizzazione: |  |
| Indirizzo:                |  |
| Persona da contattare:    |  |
| Numero di telefono:       |  |
| Indirizzo e-mail:         |  |

### 1.3. Informazioni sulla sperimentazione clinica

#### a) Informazioni generali sulla sperimentazione clinica

|   |  |
|---|--|
| Numero EudraCT (se disponibile):                      |  |
| Obiettivo dello studio:                               |  |
| Date previste di inizio e fine:                       |  |
| Numero di soggetti che prenderanno parte allo studio: |  |
| Indicare se è stata presentata o se è                 |  |

## Terapia cellulare CAR T: applicazione del D.lvo 206/2001



<https://doi.org/10.1007/s40883-019-00130-5>

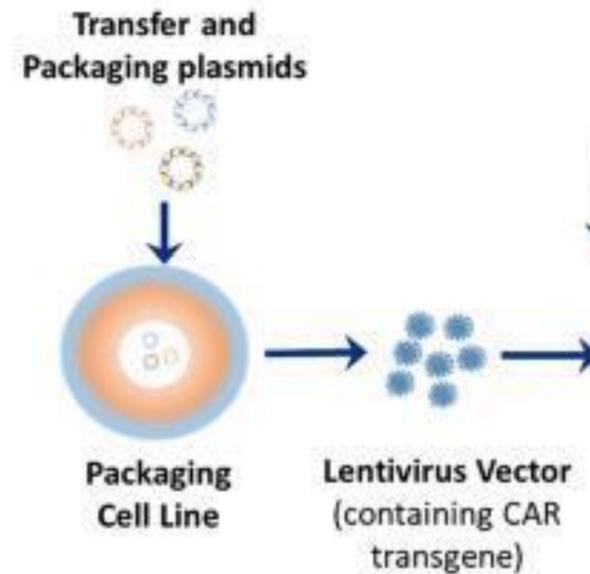
I linfociti T sono modificati geneticamente per esprimere sulla loro superficie il recettore CAR capace di aumentare la risposta immunitaria, e reinfusi nel paziente stesso.

La produzione di vettori virali e la trasduzione ex vivo di cellule umane con vettori virali devono essere regolate nell'ambito del quadro di **impiego confinato**.

Si ricorda che la produzione di medicinali sperimentali (comprese le cellule umane geneticamente modificate) deve essere conforme alle buone pratiche di produzione.

[https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/eudral\\_ex/vol-4/2017\\_11\\_22\\_guidelines\\_gmp\\_for\\_atmps.pdf](https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/eudral_ex/vol-4/2017_11_22_guidelines_gmp_for_atmps.pdf)

# Terapia cellulare CAR T: applicazione del D.lvo 206/2001



<https://doi.org/10.1007/s40883-019-00130-5>

Produzione di vettori lentivirali in impianti autorizzati secondo il 206/01 per l'impiego confinato di mogm

| Fase    | Pre-clinica |
|---------|-------------|
| Ricerca | Sviluppo    |

Parte riservata al  
Ministero della Sanità:  
Data di ricevimento.....  
N° della Notifica.....

**NOTIFICA DI IMPIANTO destinato ad impieghi confinati di microrganismi geneticamente modificati di classe I, secondo IL D. L.vo 12 Aprile 2001 n. 206**

**A) Notificante**

1) Nominativo e qualifica del titolare dell'impianto (\*).....  
 2) Nome dell'Istituzione o della Società.....  
 3) Indirizzo.....  
 4) Persona da contattare.....  
 Tel.....E-MAIL.....PEC.....

**B) Struttura del Servizio di prevenzione e protezione (\*\*)**

1) Nominativo del responsabile del Servizio di prevenzione e protezione; sua formazione e qualifica.....  
 2) presenza di eventuali comitati per il rischio biologico (allegarne composizione).....  
 3) eventuale presenza di un responsabile per la sicurezza biologica; sua formazione e qualifica.....

Parte riservata al  
Ministero della Salute:  
Data di ricevimento.....  
N° della notifica.....

**Notifica di impiego confinato di microrganismi geneticamente modificati (MOGM)<sup>1</sup> secondo il Decreto legislativo 12 Aprile 2001 n. 206**

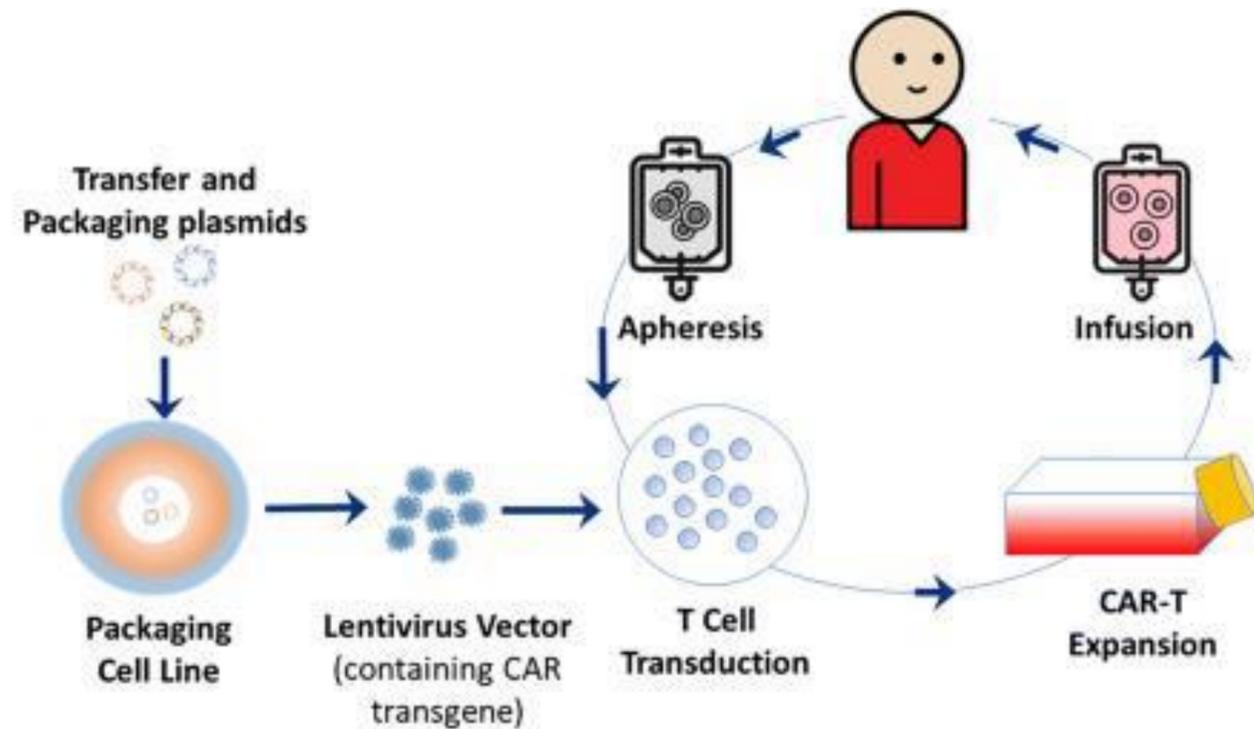
**MODULO PER IMPIEGHI DI CLASSE 2**

**I) Informazioni generali**

A) Notificante

1) Nome e qualifica dell'utilizzatore<sup>2</sup> (allegare curriculum vitae<sup>3</sup>).....  
 2) Istituzione o Società di appartenenza.....  
 3) Indirizzo.....  
 4) Persona da contattare.....  
 Tel.....E-mail.....PEC.....

# Terapia cellulare CAR T: applicazione del D.lvo 206/2001



<https://doi.org/10.1007/s40883-019-00130-5>

Produzione di vettori lentivirali e trasduzione delle cellule T ex vivo Normato dalla 206/01 per l'impiego confinato di mogm

| Fase    | Pre-clinica |
|---------|-------------|
| Ricerca | Sviluppo    |

Sperimentazione Clinica Normato dalla 206/01 solo per la **Valutazione del Rischio Ambientale**

| Trial clinici |        |        |
|---------------|--------|--------|
| Fase 1        | Fase 2 | Fase 3 |

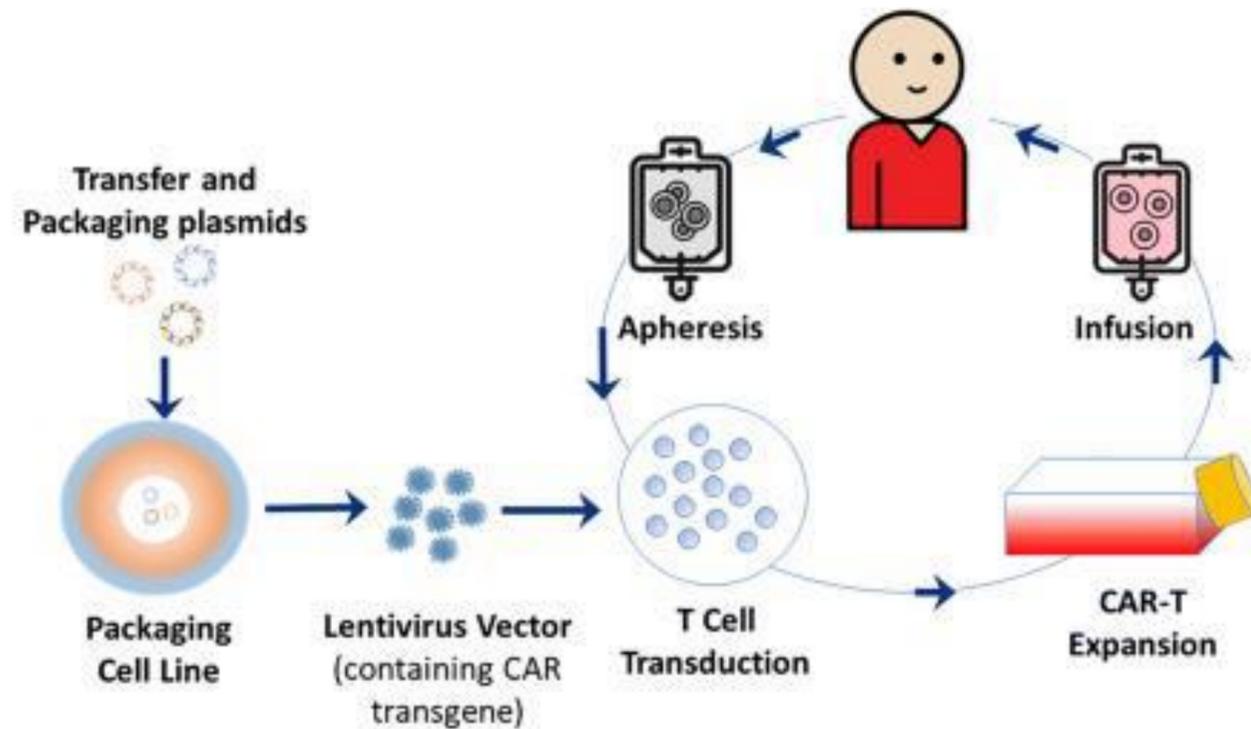
MODULO UNICO DI DOMANDA PER LA RICERCA CLINICA CON CELLULE UMANE GENETICAMENTE MODIFICATE MEDIANTE VETTORI RETRO-LENTIVIRALI

## SEZIONE 1 – INFORMAZIONI AMMINISTRATIVE

### 1.1. Identificazione del richiedente

|                           |  |
|---------------------------|--|
| Nome dell'organizzazione: |  |
| Indirizzo:                |  |
| Persona da contattare:    |  |
| Numero di telefono:       |  |
| Indirizzo e-mail:         |  |

## Terapia cellulare CAR T: applicazione del D.lvo 206/2001



<https://doi.org/10.1007/s40883-019-00130-5>

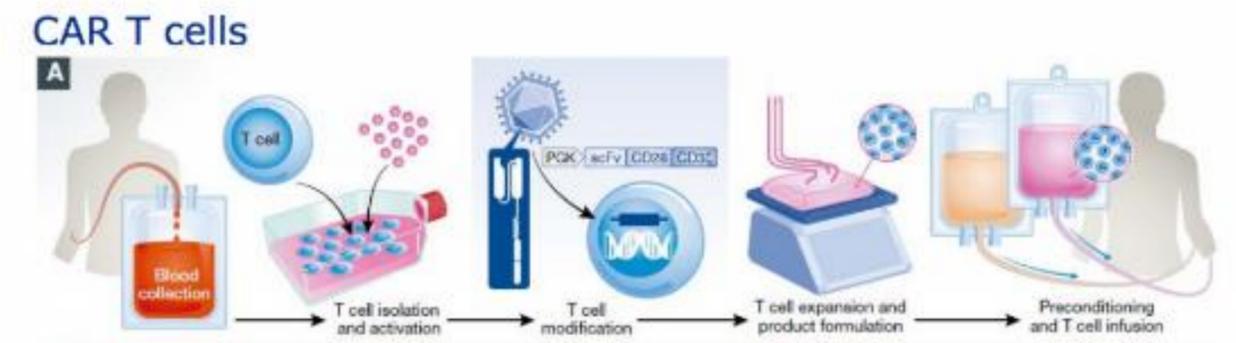
Produzione di vettori lentivirali e trasduzione delle cellule T ex vivo Normato dalla 206/01 per l'impiego confinato di mogm

Sperimentazione Clinica Normato dalla 206/01 solo per la valutazione del rischio ambientale

È necessario un **processo di produzione robusto** per assicurare la sterilità del prodotto finale

- ✓ Le cellule non possono essere sterilizzate
- ✓ I prodotti a base di cellule devono essere fatti in asepsi

**La qualità del prodotto è la qualità del processo**



# I Numeri delle notifiche di Sperimentazione Clinica

| Anno                      | Numero di sperimentazioni |
|---------------------------|---------------------------|
| 2016                      | 8                         |
| 2017                      | 13                        |
| 2018                      | 17                        |
| 2019                      | 20                        |
| 2020                      | 25                        |
| 2021                      | 21                        |
| <b>Totale complessivo</b> | <b>104</b>                |



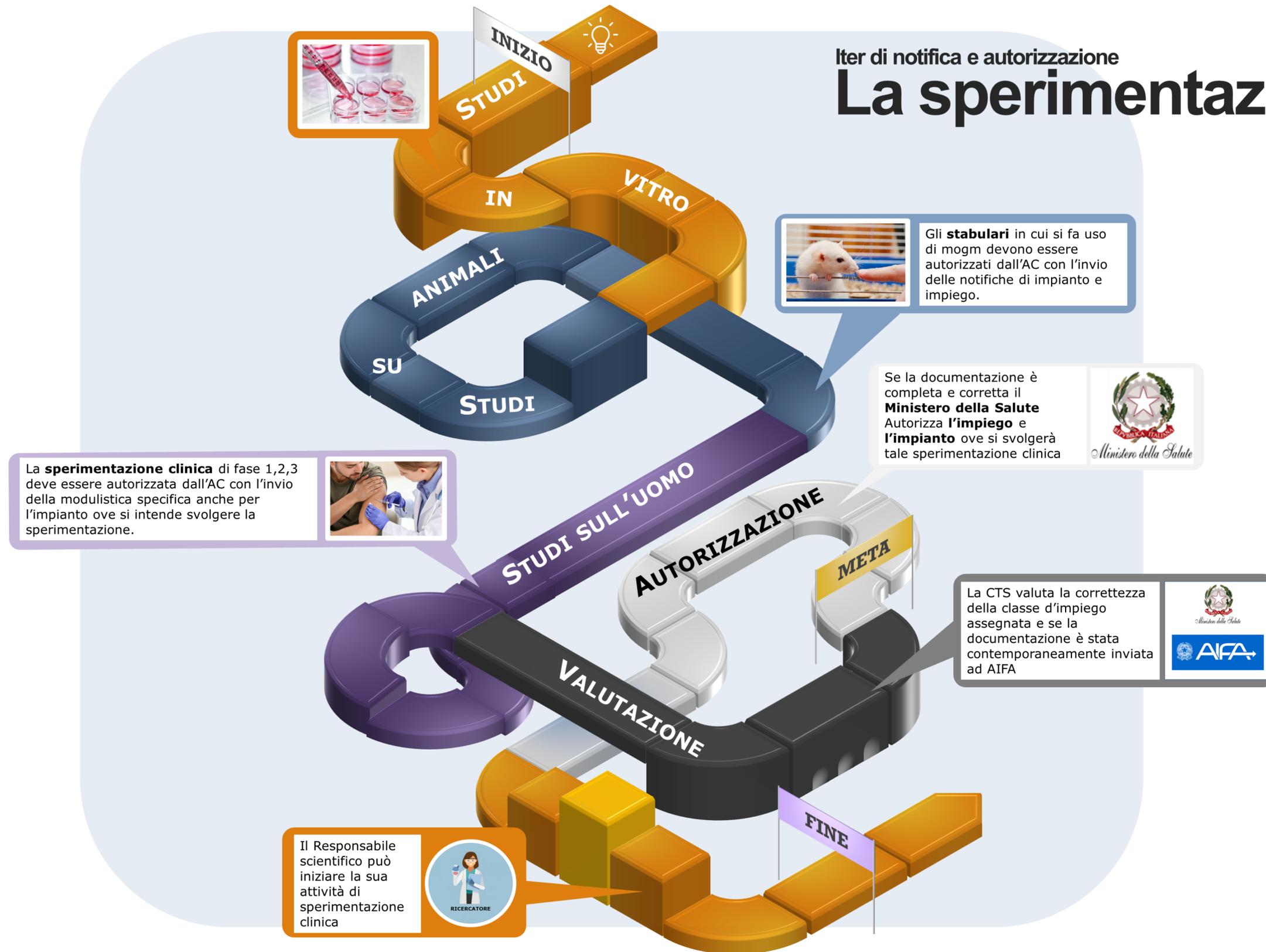
## Immissione In Commercio

*Environmental risk assessment* (ERA) fa parte del dossier per l' autorizzazione alla commercializzazione di GTMP (Regolamento 726/2004)

- ❖ CAT contatta l'Autorità Competente per la **Direttiva 2001/18** di uno Stato Membro europeo
- ❖ l'Autorità Competente valuta la ERA
- ❖ questa valutazione è parte della relazione finale e la conclusione sulla ERA è tenuta in considerazione nell'analisi generale del rapporto beneficio-rischio per l'immissione in commercio del medicinale

Iter di notifica e autorizzazione

# La sperimentazione



## INDICE

1. La Valutazione d'impiego confinato
2. La stesura della notifica di impiego
3. La sperimentazione clinica e normativa
- 4. Environmental Risk Assessment**

## 4. Environmental Risk Assessment (ERA)

## **Linee guida per l'Environmental Risk Assessment (ERA)** (per gli operatori, i familiari e per l'ambiente, non per il paziente)

GTWP/EMA ha emesso una linea guida che fornisce i principi scientifici per l' ERA:  
*"Guideline on scientific requirements for the environmental risk assessment of gene therapy medicinal products"*

(EMA/CHMP/GTWP/125491/2006)

**I principi scientifici sono sostanzialmente gli stessi che vengono presentati nelle notifiche per il d.lvo 206/2001 nella valutazione che porta alla scelta della classe di impiego confinato**

# Sperimentazione clinica con medicinale sperimentale

- Il rischio sarà determinato *caso per caso* in funzione del vettore, del materiale genetico trasferito, e della via di introduzione.
- **Classe 2 di impiego confinato**
  - Stanze di degenza in area protetta, con accesso controllato, simbolo di rischio biologico. Autoclave sul piano.....
- **Classe 3 di impiego confinato**
  - Stanze di degenza in depressione, filtri HEPA...Controllo per la presenza di virus ricombinanti nei liquidi biologici, autoclave passante. Percorsi in entrata e in uscita attraverso locali adibiti a spogliatoi e doccia ad ogni uscita.

## OGGETTO DELL' ERA

I) i potenziali effetti avversi per le persone esposte al MOGM:

- personale clinico (medici e infermiere)
- familiari del paziente
- altri in generale

II) i potenziali effetti avversi per animali, piante e micro-organismi, come conseguenza di produzione, uso, eliminazione del MOGM

ERA non riguarda la sicurezza del paziente trattato col medicinale

## OBIETTIVO DELL' ERA

1. Identificazione del rischio ambientale
2. Definizione delle misure per ridurlo
3. Conclusione sull'accettabilità del rischio ambientale residuo

La conclusione viene tenuta in considerazione quando viene effettuata l'analisi rischio/beneficio per l'autorizzazione all'immissione in commercio

# PRINCIPI PER ERA

## Dati scientifici, non solo teorie

ERA deve essere basata su presupposti, informazioni e dati scientificamente validi e robusti, inclusi dati sperimentali e clinici per quanto possibile quantitativi, ottenuti da varie fonti, incluse le parti di qualità, preclinica e clinica del dossier.

In mancanza di dati quantitativi, possono essere sufficienti quelli qualitativi.

Se non ci sono dati sufficienti a determinare il rischio reale o non si possono ottenere, si deve usare il caso peggiore: “worst case scenario”.

## Principio di precauzione

Principio di familiarità: caratteristiche del MOGM e suo uso messe a confronto con il corrispondente non-MOGM o stesso/simile agente infettivo, se presente nell’ambiente, e il suo uso in situazioni corrispondenti.

Informazioni su ERA sempre aggiornate: perciò è richiesto un piano di monitoraggio e possono essere necessarie variazioni dopo l’autorizzazione all’immissione in commercio.

ERA deve considerare tutti i potenziali usi o indicazioni del prodotto medicinale.

## METODOLOGIA PER ERA

- ❖ Identificazione delle **caratteristiche rilevanti** del MOGM che possono causare effetti dannosi sulla salute umana e/o sull'ambiente
- ❖ Identificazione dei **bersagli** di tali effetti (uomo, animali, piante, micro-organismi)
- ❖ Valutazione delle **conseguenze** dei potenziali effetti dannosi identificati: descrizione del *worst case-scenario*, delle sue conseguenze ed effetti dannosi
- ❖ Valutazione della **probabilità** che gli effetti dannosi identificati si realizzino
- ❖ **Stima del rischio**: somma del pericolo identificato e della sua probabilità
- ❖ **Valutazione del rischio risultante**
  - ❖ **Strategie di gestione del rischio**: descrizione riassuntiva dei rischi potenziali o identificati, delle strategie per gestirli oppure delle ragioni per non metterle in campo
  - ❖ Determinazione del rischio totale

## EFFETTI DANNOSI

- diretti (e.g. tossicità del prodotto genico)
- indiretti (e.g. ricombinazione)
- immediati
- ritardati (e.g. siero-conversione dei contatti)

L'infezione di un'altra persona o di animali o di micro-organismi → **effetti del MOGM nel nuovo ospite**

**Esempi di effetti diretti:**

tossicità del prodotto dei geni espressi  
risposte immunitarie contro il MOGM

**Esempi di effetti indiretti:**

un MOGM contenente geni per la resistenza ad antibiotici può compromettere misure profilattiche o terapeutiche; se viene disseminato ed è capace di trasmettere il transgene eventi di ricombinazione o complementazione con agenti presenti nel nuovo ospite possono portare allo sviluppo di nuovi agenti infettivi

**Dipendono dalla possibilità di rilascio o disseminazione del MOGM dal paziente trattato**

Per lo più correlati ai transgeni e ai loro prodotti, ma ci possono essere effetti aggiuntivi e.g. dovuti ad una alterazione non prevista della gamma di ospiti del MOGM

# CARATTERISTICHE DEL MOGM

- Transgeni, loro prodotti, sistemi di controllo (promotori)
- Infettività, gamma di specie o di cellule ospiti
- Meccanismi di entrata/infezione, recettori
- Virulenza, latenza, citotossicità
- Capacità replicativa, ciclo replicativo *in vitro* e *in vivo*
- Capacità di ricombinare con agenti simili
- Malattia o altri effetti indotti (nell'uomo, animali, piante)
- Modi e meccanismi di trasmissione
- Stabilità
- Suscettibilità a farmaci o sostanze chimiche

# STRATEGIE DI GESTIONE DEL RISCHIO

## Requisiti tecnici d.lvo 206/2001:

- ✓ misure di **contenimento** da applicare a strutture (**stanze cliniche**), attrezzature, attività, trattamento rifiuti, in relazione alla classe di rischio connesso con l'impiego dei MOGM

Strutture e vestiario conformi alla classe di rischio:

per classe 2:

es. normale laboratorio biologia molecolare

per classe 3:

ulteriori livelli di sicurezza e SOP relative

→ segregazione dei MOGM nelle aree autorizzate

- ✓ formazione del personale
- ✓ SOP per la sicurezza
- ✓ istruzioni di lavoro (es. divieto di usare vetro o oggetti taglienti, flusso entrata-uscita, vestizione)
- ✓ gestione della documentazione (es. registri delle giacenze nei frigoriferi)
- ✓ gestione delle apparecchiature (es. autoclave)
- ✓ gestione degli incidenti
- ✓ gestione dei rifiuti

**MEDICINALI PER USO UMANO CONTENENTI OGM O DA ESSI  
COSTITUITI: INTERAZIONE TRA LA LEGISLAZIONE DELL'UE IN  
MATERIA DI MEDICINALI E LA NORMATIVA DELL'UNIONE SUGLI OGM<sup>1</sup>**

**Buona pratica sulla valutazione degli aspetti relativi agli OGM nell'ambito di sperimentazioni cliniche con cellule umane geneticamente modificate mediante vettori retro-lentivirali<sup>1</sup>**

**Common Application form for clinical research with human cells genetically modified by means of viral vectors<sup>1</sup>**

**MEDICINALI PER USO UMANO CONTENENTI OGM O DA ESSI COSTITUITI: INTERAZIONE TRA LA LEGISLAZIONE DELL'UE IN MATERIA DI MEDICINALI E LA NORMATIVA DELL'UNIONE SUGLI OGM<sup>1</sup>**

**DOMANDE FREQUENTI**

**Good Practice on the assessment of GMO related aspects in the context of clinical trials with AAV clinical vectors<sup>1</sup>**

**Note 1: This document has been endorsed by Austria, Belgium, Croatia, Czech Republic, Denmark, Finland, France, Germany, Hungary, Ireland, Italy, Latvia, Lithuania, Luxembourg, the Netherlands, Portugal, Romania, Slovenia and Spain.**

**Oncolytic viruses:  
Considerations for the evaluation of Shedding<sup>1</sup>**

## Elenco degli impianti autorizzati all'impiego confinato di MOGM - data aggiornamento:01/12/2020

| Regione        | Data autorizzazione /ultima revisione | ID Notifica       | Prov. | Comune   | Denominazione Istituzione / Società                | Nominativo titolare         | Livello di contenimento |
|----------------|---------------------------------------|-------------------|-------|----------|--|-----------------------------|-------------------------|
| <b>Abruzzo</b> |                                       |                   |       |          |  |                             |                         |
|                | 05/03/2020                            | AQ/IC/Imp2/19/001 | AQ    | L'Aquila | DOMPE'   | Dr.ssa Annaletizia Baccante | 2                       |
|                | 27/03/2018                            | CH/IC/Imp2/18/001 | CH    | Chieti   | Università "G. D'Annunzio" - CeSiMeT               | Prof. Sergio Caputi         | 2                       |
|                | 09/12/2016                            | AQ/IC/Imp2/16/001 | AQ    | Coppito  | Università dell'Aquila                             | Prof.ssa Paola Inverardi    | 2                       |
|                | 25/09/2013                            | AQ/IC/Imp2/13/001 | AQ    | L'Aquila | DOMPE'   | Dr. Enrico Giaquinto        | 2                       |
|                | 13/03/2013                            | AQ/IC/Imp2/12/001 | AQ    | L'Aquila | DOMPE'   | Dr Enrico Giaquinto         | 2                       |
|                | 07/02/2013                            | AQ/IC/Imp2/01/001 | AQ    | Aquila   | DOMPE' S.PA.                                       | Dr Enrico Giaquinto         | 2                       |
|                | 05/08/2009                            | AQ/IC/Imp1/09/001 | AQ    | Avezzano | CONSORZIO RICERCHE APPLICATE ALLA BIOTECNOLOGIA    | Dr. Andrea Cleofe           | 1                       |
|                | 06/07/2007                            | CH/IC/Imp2/07/001 | CH    | Chieti   | UNIV. CHIETI E PESCARA - C.E.S.I.                  | Prof. Franco Cuccurullo     | 2                       |
|                | 01/06/2005                            | PE/IC/Imp2/05/001 | PE    | Pescara  | USL 105 - PRESIDIO OSPEDALE CIVILE                 | Dr Angelo Cordone           | 2                       |
|                | 25/10/2001                            | AQ/IC/Imp1/01/001 | AQ    | Avezzano | CONSORZIO DI RICERCHE APPLICATE ALLE BIOTECNOLOGIE | Dr. Andrea Cleofe           | 1                       |

[https://www.salute.gov.it/imgs/C\\_17\\_pagineAree\\_4243\\_0\\_file.pdf](https://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pagineAree_4243_0_file.pdf)

## Info utili per le Notifiche Impianti



### Ufficio responsabile del procedimento

Direzione Generale della Prevenzione sanitaria (DGPRES)

Ufficio 4 - Prevenzione rischio chimico, fisico e biologico e promozione della salute ambientale, tutela salute e sicurezza nei luoghi di lavoro



### MODULI

Modulo di impianto e impiego terapia genica con MOGM appartenenti alla classe di rischio 1

<https://www.salute.gov.it/portale/allegatoModulo?idMat=BIOT&idAmb=NIA&idSrv=A1&idFlag=P&idModulo=3>

Modulo di notifica di impianto destinato ad impieghi di MOGM di classe/i ...

<https://www.salute.gov.it/portale/allegatoModulo?idMat=BIOT&idAmb=NIA&idSrv=A1&idFlag=P&idModulo=5>



### Quanto costa

Tariffa: 1. impianti di ricerca e sviluppo: euro 1.316,96 ; 2. per scopi industriali: euro 2.917,98

Rilascio della certificazione d'autorizzazione: euro 51,65

Consulta anche il file TARIFFE.pdf nella sezione

# Info utili per le Notifiche Impieghi

<https://www.salute.gov.it/portale/moduliServizi/dettaglioSchedaModuliServizi.jsp?lingua=italiano&label=servizionline&idMat=BIOT&idAmb=NIE&idSrv=ACL2&flag=P#moduli>

## Moduli

- Modulo\_impiego\_classe\_2 ([formato odt](#))
- Buona pratica sulla valutazione degli aspetti relativi agli OGM nell'ambito di sperimentazioni cliniche con cellule umane geneticamente modificate mediante vettori retro-lentivirali ([formato pdf](#))
- Buona pratica sulla valutazione degli aspetti relativi agli OGM nell'ambito di sperimentazioni cliniche con vettori clinici AAV ([formato pdf](#))
- Medicinali per uso umano umano autorizzati contenenti OGM o da essi costituiti: interazione tra la legislazione dell'UE in materia di medicinali e la normativa dell'unione sugli OGM ([formato pdf](#))
- Modulo di presentazione della domanda da utilizzare in caso di sperimentazioni cliniche con medicinali autorizzati ([formato docx](#))
- Modulo unico di domanda per la ricerca clinica con cellule umane geneticamente modificate mediante vettori retro-lentivirali ([formato docx](#))
- Modulo unico di domanda per medicinali sperimentali per uso umano contenenti o che sono costituiti da vettori AAV ([formato docx](#))
- Modulo unico di domanda per vettori virali contenuti in medicinali sperimentali per uso umano ([formato docx](#))
- Modulo\_impiego\_classe\_2 ([formato doc](#))
- Modulo\_impiego\_classe\_3\_o\_4 ([formato doc](#), [formato odt](#))
- Modulo\_impiego\_terapia\_genica\_classe\_2\_o\_3\_o\_4 ([formato doc](#), [formato odt](#))

## Quanto costa

Tariffa: Notifiche: 1.per scopi di ricerca e sviluppo: euro 1.316,96 - 2. per scopi industriali: euro 2.375,70

Rilascio della certificazione d'autorizzazione: euro 51,65

Revisioni: 1.per scopi di ricerca e sviluppo: euro 1.316,96 - 2. per scopi industriali: euro 2.349,88



**Buona pratica sulla valutazione degli aspetti relativi agli OGM nell'ambito di sperimentazioni cliniche con cellule umane geneticamente modificate mediante vettori retro-lentivirali<sup>1</sup>**

Il documento di buona pratica deve essere usato insieme al modulo unico di domanda sviluppato specificamente per questo tipo di medicinali sperimentali



### **Modulo unico di domanda per la ricerca clinica con cellule umane geneticamente modificate mediante vettori retro-lentivirali**

**NOTA 1** Questo modulo di domanda può essere usato solo per cellule umane geneticamente modificate mediante vettori retro-lentivirali nei casi in cui il richiedente dimostri che:  
1) non vi è alcun rischio di formazione di virus competente per la replicazione;  
2) il prodotto finito è privo di particelle di vettori virali infettanti che possono essere emesse nell'ambiente.

**NOTA 2** Questo modulo può essere usato per la presentazione delle domande nelle giurisdizioni di: Austria, Belgio, Cipro, Danimarca, Francia, Germania, Grecia, Ungheria, Italia, Lussemburgo, Malta, Portogallo, Romania, Spagna e Norvegia.

**NOTA 3** Il modulo di domanda deve essere accompagnato dal modello per la sintesi delle notifiche (per le notifiche relative all'emissione deliberata nell'ambiente di organismi geneticamente modificati per scopi diversi dall'immissione in commercio) per le domande presentate a Cipro, in Francia, Germania, Grecia, Ungheria, Portogallo, Romania e Spagna.



# Buona pratica sulla valutazione degli aspetti relativi agli OGM nell'ambito di **sperimentazioni cliniche con cellule umane geneticamente modificate con retro-lentivirali**

## **AMBITO DI APPLICAZIONE**

Il presente documento fornisce orientamenti sull'attuazione dei requisiti normativi previsti dal quadro sugli OGM applicabile a sperimentazioni cliniche con **cellule umane geneticamente modificate mediante vettori retro-lentivirali** nei casi in cui il richiedente dimostri che:

- i) il rischio di formazione di **virus competenti per la replicazione è nullo o trascurabile**, conformemente alla sezione 3, punto 1;
- ii) il prodotto finito è **privo di particelle residue di vettori virali infettivi** che possono essere emesse nell'ambiente, conformemente alla sezione 3, punto 2.

Il medicinale sperimentale interessato contiene un costrutto stabilmente integrato che esprime uno o più geni donatori. I geni donatori possono essere di diversa origine (umana, virale, batterica, ecc.).

Ai fini del presente documento, per **vettore retrovirale** si intendono **vettori gamma-retrovirali murini**. Per quanto riguarda i **vettori lentivirali**, il presente documento è stato sviluppato sulla base delle conoscenze acquisite dalle cellule umane trasdotte con vettori lentivirali **derivati dal virus dell'HIV**.

In caso di vettori lentivirali derivati da altri virus, gli sviluppatori sono invitati a effettuare una valutazione del rischio e contattare la relativa autorità competente.

Alla luce di ciò e *dell'esperienza maturata con la valutazione delle cellule umane geneticamente modificate mediante vettori retrovirali e lentivirali*, **la valutazione delle notifiche** per la realizzazione di sperimentazioni cliniche con medicinali sperimentali che rientrano nell'ambito di applicazione di questo documento deve essere effettuata sulla base della descrizione del vettore virale usato, delle prove presentate per dimostrare l'assenza di formazione dei virus competenti per la replicazione e delle prove presentate per dimostrare l'assenza di particelle residue di vettori virali infettivi nel medicinale sperimentale.

A tal fine, le autorità competenti responsabili dell'applicazione del quadro sugli OGM in Austria, Belgio, Cipro, Danimarca, Francia, Germania, Grecia, Ungheria, Italia, Lussemburgo, Malta, Portogallo, Romania, Spagna e Norvegia hanno concordato un **modulo unico di domanda** che può essere usato per richiedere l'autorizzazione per lo svolgimento di sperimentazioni cliniche con medicinali sperimentali che rientrano nell'ambito di applicazione del presente documento.

#### **Modulo unico di domanda per la ricerca clinica con cellule umane geneticamente modificate mediante vettori retro-lentivirali**

**NOTA 1** Questo modulo di domanda può essere usato solo per cellule umane geneticamente modificate mediante vettori retro-lentivirali nei casi in cui il richiedente dimostri che:

- 1) non vi è alcun rischio di formazione di virus competente per la replicazione;
- 2) il prodotto finito è privo di particelle di vettori virali infettanti che possono essere emesse nell'ambiente.

**NOTA 2** Questo modulo può essere usato per la presentazione delle domande nelle giurisdizioni di: Austria, Belgio, Cipro, Danimarca, Francia, Germania, Grecia, Ungheria, Italia, Lussemburgo, Malta, Portogallo, Romania, Spagna e Norvegia.

**NOTA 3** Il modulo di domanda deve essere accompagnato dal modello per la sintesi delle notifiche (per le notifiche relative all'emissione deliberata nell'ambiente di organismi geneticamente modificati per scopi diversi dall'immissione in commercio) per le domande presentate a Cipro, in Francia, Germania, Grecia, Ungheria, Portogallo, Romania e Spagna.

## Buona pratica sulla valutazione degli aspetti relativi agli OGM nell'ambito di sperimentazioni cliniche con cellule umane geneticamente modificate con retro-lentivirali

Il **livello di biosicurezza** di queste attività deve essere determinato sulla base delle caratteristiche specifiche del sistema vettoriale.

Nel determinare il livello di biosicurezza applicabile ("livello BSL") valgono le seguenti considerazioni:

- i) la maggior parte delle attività di produzione con cellule che riguardano sistemi **lentivirali** (sistemi di seconda e terza generazione e sistemi translentivirali di quarta generazione) e retrovirali (gamma murini) può essere eseguita in condizioni **BSL-2**;
- ii) la **trasduzione** delle cellule deve essere eseguita in condizioni **BSL-2**;
- iii) altre attività di **produzione a valle (cioè dopo la trasduzione)** possono, tuttavia, essere declassate a **BSL-1** quando sono soddisfatte tutte le condizioni stabilite nella tabella seguente.

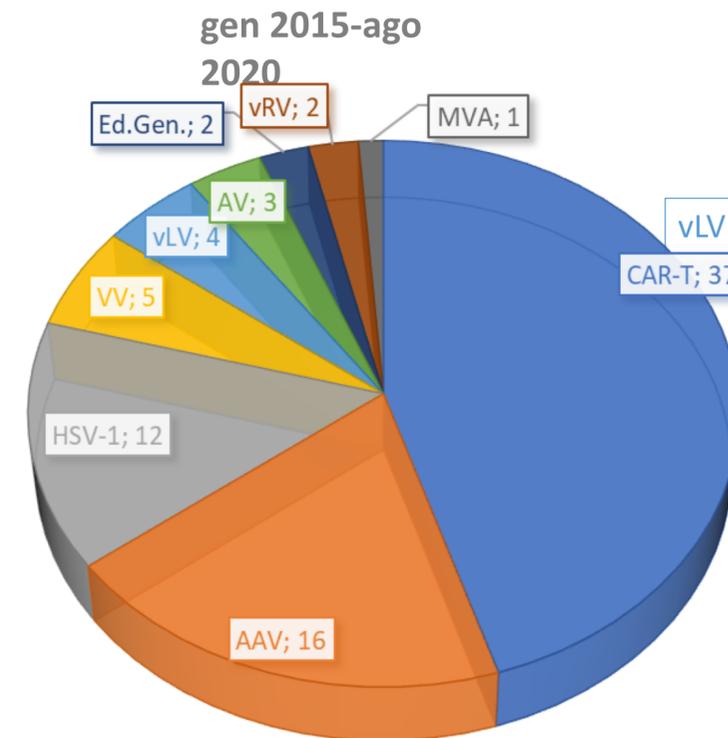
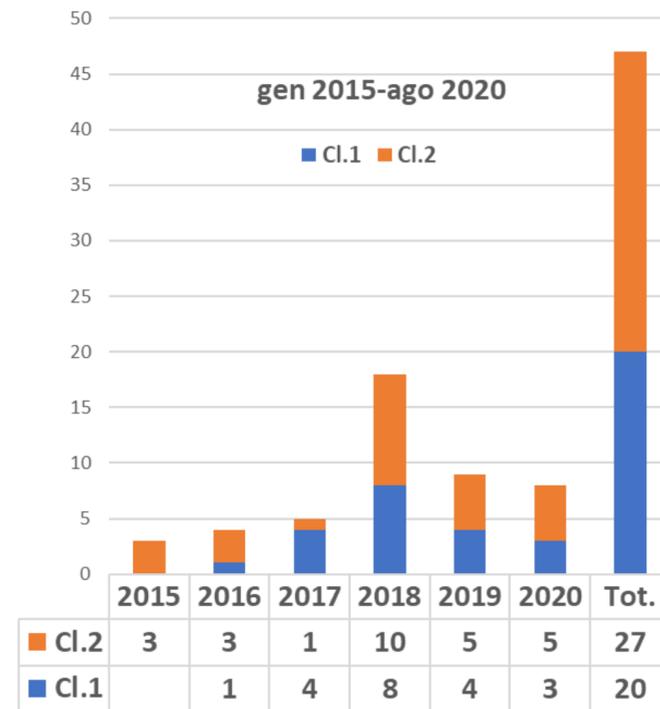
**Tabella 1 – Criteri per declassare il livello di biosicurezza a BSL-1**

| <b>Criteri</b>   | <b>Condizioni (cumulative)</b>   |
|--|--|
| Caratterizzazione molecolare dei vettori applicati   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Caratterizzazione completa (cioè sequenza completa) del vettore virale usato per la trasduzione cellulare e caratterizzazione degli elementi critici sui vettori helper/packaging.</li> <li>• È necessario dimostrare l'assenza di scostamenti dalle sequenze previste.</li> </ul>  |
| Assenza di formazione di virus competenti per la replicazione nel sistema di produzione virale | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Il sistema di produzione retro-lentivirale applicato deve essere un sistema retro-lentivirale privo di sequenze richieste per la formazione di RCR/RCL<sup>13</sup>.</li> <li>• La linea cellulare di produzione applicata non deve contenere HIV-1, HIV-2, HTLV-1, HTLV-2, SIV o altri retro-lentivirus rilevanti che potrebbero portare alla complementazione/ricombinazione del vettore retro-lentivirale.</li> <li>• Il lotto retro-lentivirale usato per la trasduzione viene testato per verificare la presenza di virus competenti per la replicazione con un test convalidato.</li> <li>• L'inserito (o gli inserti) applicato non deve portare alla complementazione del vettore retro-lentivirale.</li> </ul> |
| Assenza di virus competenti per la replicazione nelle cellule GM                               | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Sono escluse le cellule da pazienti/donatori positivi a HIV e HTLV.</li> <li>• Le cellule trasdotte sono state testate per verificare la presenza di retro-lentivirus competenti per la replicazione con un test convalidato, a meno che il richiedente non fornisca una giustificazione appropriata (ad esempio, l'assenza di formazione di virus competenti per la replicazione è stata dimostrata</li> </ul>   |

|   | a livello del sistema di produzione virale).   |
|---|--|
| Dopo la trasduzione, le cellule GM devono essere prive di particelle virali infettive residue           | <p>Le particelle residue retro-lentivirali infettive sono state ridotte a concentrazioni trascurabili. È possibile che esista più di un modo per dimostrarlo, inclusi metodi qualitativi o quantitativi.</p> <p>Ad esempio, è possibile utilizzare la seguente formula<sup>14</sup> per determinare il cosiddetto "rapporto di riduzione" per consentire il declassamento da BSL-2 a BSL-1 (possono essere accettabili anche altri calcoli alternativi presentati dal richiedente):</p> $\text{Rapporto di riduzione} = (20^W \times 200^I \times 2^{2.4T})/C^t$ <p>In questa formula:</p> <p><i>W</i> è il numero di fasi di lavaggio (assumendo che ogni fase di lavaggio riduca di 20 volte la quantità di particelle virali<sup>15</sup>),<br/> <i>I</i> è il numero di fasi di lavaggio inattivanti con tripsina o siero umano (supponendo che ogni fase di lavaggio inattivante riduca di 200 volte la quantità di particelle virali<sup>16</sup> e possa essere adattata quando viene applicata un'envelope diversa da VSV-G per la pseudotipizzazione)<br/> <i>T</i> è il tempo di cultura in giorni dopo la trasduzione.<br/> Il fattore 2,4 nella formula si basa sull'intervallo (10 ore) dei vettori lentivirali pseudotipizzati VSV-G alla temperatura di 37°C e deve essere adattato quando viene applicata un'envelope diversa da VSV-G per la pseudotipizzazione<sup>17</sup>.<br/> <i>C</i><sup>t</sup> è il titolo virale iniziale applicato nell'inoculo.</p> <p>Può essere accettato un rapporto di riduzione risultante di &gt; 100 (due log) per il declassamento di cellule trasdotte retro-lentiviralmente da BSL-2 a BSL-1.</p> |
| Le sequenze virali nelle cellule GM non possono essere ricostituite per formare nuove particelle virali | Le cellule sono coltivate in condizioni volte a prevenire la (re-)infezione da lentivirus o retrovirus da altre fonti durante la cultura.  |

# Impianti per Sperimentazioni cliniche autorizzate e vettori impiegati

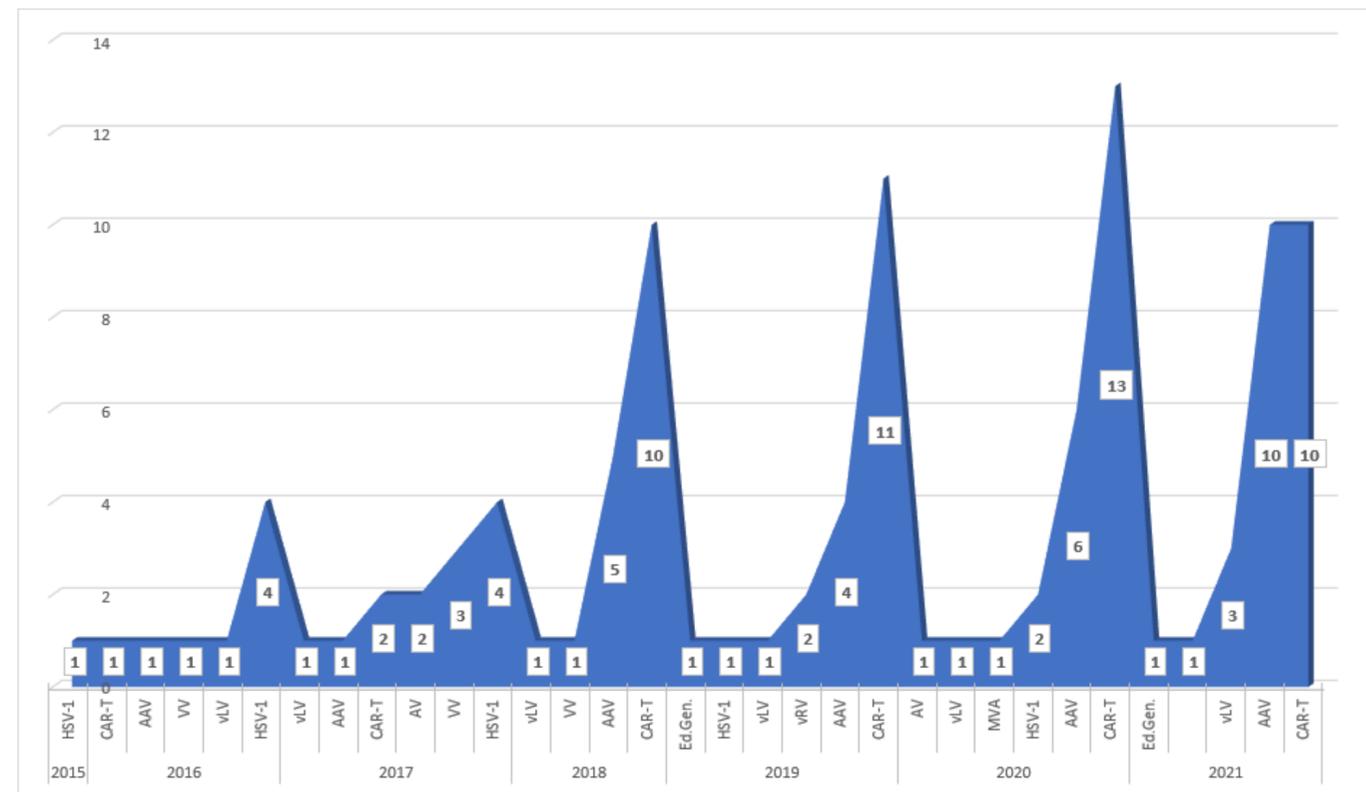
Impianti autorizzati alla sperimentazione clinica con prodotti di terapia avanzata



Sperimentazioni cliniche autorizzate e vettori impiegati

## Sperimentazioni cliniche autorizzate e vettori impiegati

| Num. Autoriz. Anno | Contenimento |           |            |
|--------------------|--------------|-----------|------------|
|                    | Cl.1         | Cl.2      | Cl.1+Cl.2  |
| CAR-T              | 9            | 38        | 47         |
| AAV                | 21           | 6         | 27         |
| HSV-1              |              | 12        | 12         |
| vLV                | 2            | 6         | 8          |
| VV                 |              | 5         | 5          |
| AV                 | 3            |           | 3          |
| vRV                |              | 2         | 2          |
| Ed.Gen.            | 1            | 1         | 2          |
| MVA                |              | 1         | 1          |
| <b>Cl.1+Cl.2</b>   | <b>36</b>    | <b>71</b> | <b>107</b> |



# THREE-YEAR MEMBER STATES **REPORTS** TO THE COMMISSION OF DIRECTIVE 2009/41/EC ON THE CONTAINED USE OF GENETICALLY MODIFIED MICRO-ORGANISMS

How many **notifications** of contained uses of GMMs were submitted in your Member State under the Directive during the reporting period?

Report all types of notifications and amendments to existing notifications by class; this includes GMMs, combined uses of GMMs and GMOs (to be reported according to the GMM class) and clinical trials (where applicable).

| Classification of contained use (according to Art. 4(3)) | No. of notifications submitted (according to Art. 6, 8 and 9) | No. of amendments (according to Art. 11) |
|--|---|--|
| Class 1  | 56  | 17                                       |
| Class 2  | 303   | 72                                       |
| Class 3  | 12  | 7  |
| Class 4  | 0   | 0  |
| <b>Total</b>   | <b>371</b>  | <b>96</b>                                |

Number of premises for contained uses of GMMs (as referred to in Article 6) with a valid notification <sup>[3]</sup> as per December 2021:

<sup>[3]</sup>The definition of "valid notification" is given in the Annex.

|              | No. of premises |
|--------------|-----------------|
| Class 1      | 50              |
| Class 2      | 88              |
| Class 3      | 10              |
| Class 4      | 0               |
| <b>Total</b> | <b>148</b>      |

Number of contained uses of GMMs with a valid notification or approval as per December 2021:

| Class        | Commercial      | Research   | Other (Education)    | Unspecified | Total      |
|--------------|-----------------|------------|----------------------|-------------|------------|
| Class 1      | 4 (production)  | 55         | 1 (Quality Control)  | 0           | 60         |
| Class 2      | 34 (production) | 300        | 14 (Quality Control) | 0           | 348        |
| Class 3      | 0               | 17         | 0                    | 0           | 17         |
| Class 4      | 0               | 0          | 0                    | 0           | 0          |
| <b>Total</b> | <b>38</b>       | <b>372</b> | <b>15</b>            | <b>0</b>    | <b>425</b> |

Anni 2019-2021

Number of contained uses of GMMs with a valid notification or approval as per December 2021:

| Class        | Commercial      | Research | Other (Education)    | Unspecified | Total |
|--------------|-----------------|----------|----------------------|-------------|-------|
| Class 1      | 4 (production)  | 55       | 1 (Quality Control)  | 0           | 60    |
| Class 2      | 34 (production) | 300      | 14 (Quality Control) | 0           | 348   |
| Class 3      | 0               | 17       | 0                    | 0           | 17    |
| Class 4      | 0               | 0        | 0                    | 0           | 0     |
| <b>Total</b> | 38              | 372      | 15                   | 0           | 425   |

**THREE-YEAR MEMBER STATES REPORTS TO THE COMMISSION OF DIRECTIVE 2009/41/EC ON THE CONTAINED USE OF GENETICALLY MODIFIED MICRO-ORGANISMS**

Number of contained uses of GMMs (including combined uses of GMMs and GMOs) with a valid notification or approval as per December 2021:

|              | No. of contained uses |
|--------------|-----------------------|
| Class 2      | 348                   |
| Class 3      | 17                    |
| Class 4      | 0                     |
| <b>Total</b> | 365                   |

Please comment on the overall trend compared to the previous reporting period (e.g. has the overall number of notifications received increased or decreased, has there been an increase/decrease in respect of certain classes, commercial or research sectors etc).

If yes, please provide information on notifications and/or authorisations granted in your Member State during the reporting period.

| Classification of contained use | Total No. of notifications [2] | Total No. of authorisations [3] | No. of notifications concerning ATMPs | No. of authorisations concerning ATMPs |
|---------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|--|
| Class 1                         | 31                             | 31                              | 27                                    | 27                                     |
| Class 2                         | 35                             | 41                              | 35                                    | 41                                     |
| Class 3                         | 0                              | 0                               | 0                                     | 0                                      |
| Class 4                         | 0                              | 0                               | 0                                     | 0                                      |
| <b>Total</b>                    | 66                             | 72                              | 62                                    | 68                                     |

## **Le terapie avanzate rappresentano un settore biotecnologico in espansione.**

Entro il 2030 potrebbero essere lanciate a livello globale fino a 60 nuove terapie cellulari e geniche.

E' una classe di farmaci di nuova concezione e in continua evoluzione scientifica, di produzione e di requisiti regolatori.

Le nuove conoscenze scientifiche consentiranno di passare da terapia autologa con CAR T a una terapia con cellule allogeniche derivate da un donatore sano. Utilizzare editing genico per migliorare la compatibilità con il sistema immunitario del paziente

Per quanto riguarda i nuovi sistemi di produzione: ci sono le opzioni di una produzione centralizzata, automazione, sistemi chiusi, impianti modulari secondo il concetto della boutique GMP.

## INDICE

1. La Valutazione d'impiego confinato
2. La stesura della notifica di impiego
3. La sperimentazione clinica e normativa
4. Environmental Risk Assessment
- 5. Promozione della cultura della sicurezza**

Il personale che lavora nei laboratori di ricerca è esposto ad un **rischio professionale** a volte sottovalutato dai diretti interessati, i quali percepiscono l'esistenza di tale rischio solo in caso di incidente. Invece, la pericolosità degli agenti utilizzati, l'adeguatezza dei dispositivi di protezione e le condizioni delle attrezzature, dovrebbero essere valutati singolarmente come facenti parte di un'unica procedura. Per la riduzione del rischio di esposizione risulta quindi di fondamentale importanza la professionalità, la formazione, l'esperienza dell'operatore e la capacità di non dare nulla per scontato.

Il workshop intende **formare e sensibilizzare** gli utilizzatori di tecniche biotecnologiche al fine di assicurare il **rispetto delle normative vigenti**, e offre a chi opera con le biotecnologie l'opportunità di aggiornarsi sulla normativa e sulle pratiche di gestione del rischio.



In particolare, il workshop ha l'obiettivo di motivare alla cultura della prevenzione e della sicurezza sul lavoro e di offrire gli **strumenti utili ad effettuare una corretta valutazione del rischio** ambientale e della salute dell'uomo, in caso di utilizzo di applicazioni biotecnologiche.

A tal fine, durante la giornata sarà presentata la normativa di riferimento, il D.lgs. 206/2001, gli strumenti sviluppati per facilitarne l'applicazione, ed esempi pratici di applicazione del decreto legislativo.

Inoltre, nella sessione pratica, i formandi, attraverso la realizzazione di un focus group interattivo sulla biosicurezza, saranno parte attiva della discussione con i docenti su alcuni esempi di procedure di laboratorio, con particolare approfondimento da parte dei relatori di alcune interessanti metodologie neuroscientifiche.

## PROGRAMMA DEL WORKSHOP FORMATIVO

- 9.00** Registrazione dei partecipanti
- 9.30** La normativa D.lgs 206/01 sull'impiego confinato di microrganismi geneticamente modificati (MOGM)  
*Dott.ssa Miriam Zanellato, Inail-dit*
- 10.30** I requisiti e le misure di contenimento dei laboratori che utilizzano MOGM  
*Dott.ssa Priscilla Boccia, Inail-dit*
- 11.30** La valutazione dell'impiego confinato e la stesura delle notifiche  
*Dott.ssa Elena Sturchio, Inail-dit*
- 12.30** Pausa pranzo
- 14.00** Esempi pratici di procedure in un laboratorio biologico di contenimento 2  
*Dott.ssa Annalisa Tassone, Fond. Santa Lucia*
- 15.00** Sessione Pratica  
  
Focus group sulla biosicurezza  
*Dott. Aldo Luperini, CNR-IBBA*  
*Prof. Vincenzo Russo, IULM*
- 17.00** Questionario ECM e questionario di valutazione del Corso



DIFFONDERE LA CULTURA DELLA PREVENZIONE E DELLA SICUREZZA SUL LAVORO

# I progetti di ricerca e formativi realizzati dal dit

Sono stati realizzati progetti innovativi e di rete in collaborazione tra Istituzioni, scuola, organismi pubblici e privati di ricerca e territorio al fine di promuovere la cultura scientifica e tecnologica e della sicurezza sul lavoro nel **settore delle Biotecnologie e nell'agroalimentare** per il raggiungimento in maniera trasversale degli obiettivi dell'Agenda 2030 sullo Sviluppo Sostenibile dell'Onu.

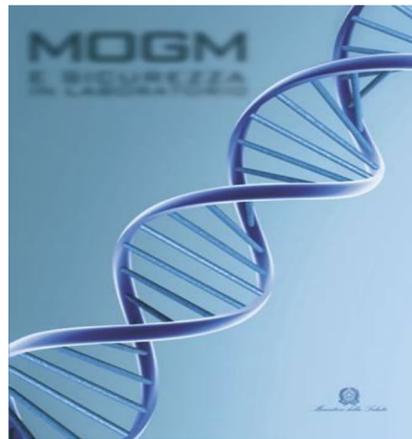


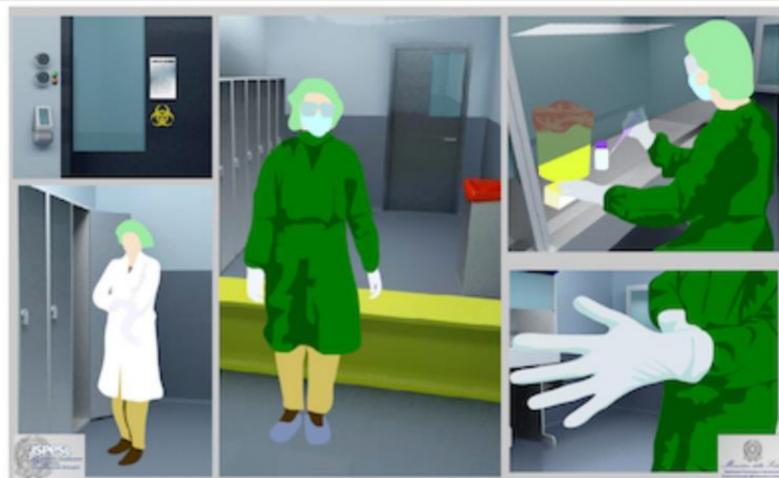
## Promozione della *cultura della sicurezza*

I ricercatori  
INAIL  
propongono.....

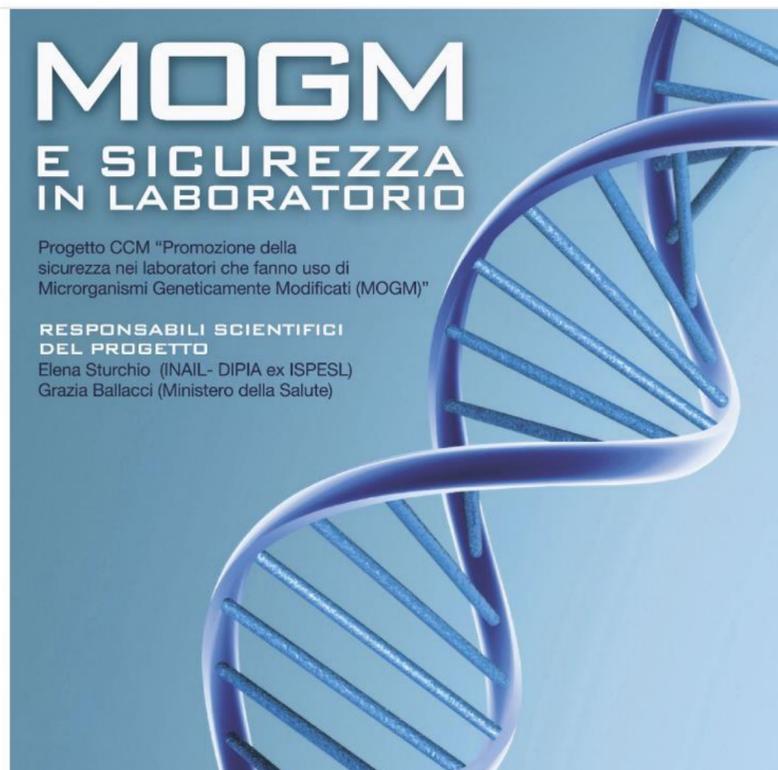


E' stato realizzato, dai ricercatori dell'INAIL ex ISPESL, un Cd-rom multimediale e interattivo corredato da un manuale relativo alla sicurezza nei laboratori che fanno uso di MOGM, il cui intento è quello di offrire agli operatori biotecnologici un valido strumento operativo che riassume in sé la formazione, l'informazione, la divulgazione fin dalle scuole superiori e l'interattività delle principali problematiche attinenti al settore delle biotecnologie. Il Cd-rom evidenzia in maniera chiara ed esaustiva i processi lavorativi e le misure di controllo atte ad evitare o minimizzare il rilascio di MOGM nei luoghi di lavoro e nell'ambiente ed espone dettagliatamente la procedura di valutazione dei rischi correlati con l'impiego confinato di MOGM in conformità alla Direttiva 2009/41/CE.





### PROGETTO CCM "MICRORGANISMI GENETICAMENTE MODIFICATI (MOGM) E SICUREZZA IN LABORATORIO"



### BIOTECNOLOGIE E SICUREZZA



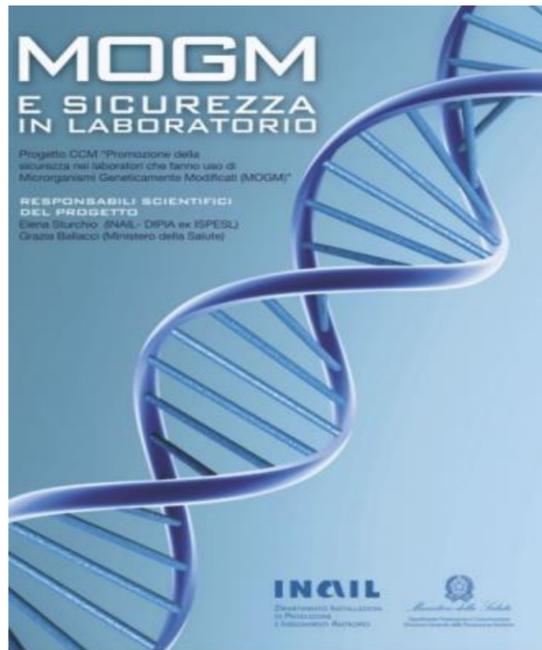
### PROGETTO BITDATA



### PROGETTO CCM "PROMOZIONE DELLA SICUREZZA NEI LABORATORI CHE FANNO USO DI MICRORGANISMI GENETICAMENTE MODIFICATI (MOGM)"



**Progetto CCM 2009**  
**”Promozione della sicurezza nei laboratori  
che fanno uso di microrganismi  
geneticamente modificati (MOGM)”**



# **WORKSHOP**

## **“Biotecnologie, normativa e sicurezza”**

**Università di Roma La Sapienza, Dipartimento  
Biotecnologie Cellulari ed Ematologia  
Roma 24 Ottobre 2012**



Il Manuale ed il CD multimediale  
sono oggetto di parte del programma del Corso di  
«*Biosicurezza e Comunicazione del Rischio*»  
**della laurea triennale in Biotecnologie dell’Università degli  
Studi di Pisa.**

## Progetto CCM 2011

### ***”Promozione della sicurezza nei laboratori che fanno uso di microrganismi geneticamente modificati (MOGM)”***

- Progettazione degli aggiornamenti relativi al materiale già prodotto nell’ambito di questa tematica così dinamica, sia riguardo gli aspetti normativi che nelle sue applicazioni tecnologiche. È prevista l’elaborazione e divisione in diverse sezioni specifiche sui MOGM, composte da testi finalizzati all’informazione e formazione sulle normative; immagini; piante strutturali didattiche; filmati derivanti da immagini reali, animazioni e/o simulazioni in 3 D. Possibilità di interazione stile “videogame” all’interno di un laboratorio virtuale.
- Accordo di **collaborazione con le Scuole** il cui compito sarà quello di realizzare **prodotti multimediali o cortometraggi divulgativi** sull’argomento, i cui contenuti scientifici saranno forniti dai ragazzi di una delle scuole già formate da INAIL nel settore delle biotecnologie.

## COME RAGGIUNGERE LA SEDE

Dalla Stazione Termini procedere dal Piazzale antistante la stazione in direzione di Via Cavour e percorrerla fino a svoltare a destra in Piazza dell'Esquilino. Svoltare a sinistra in Via Urbana.



## MODALITÀ DI ISCRIZIONE

La domanda d'iscrizione dovrà inviata alla Segreteria Scientifica, via

- fax al n. 06 97893304
- e-mail e.sturchio@inail.it

entro il 22 novembre 2012.

Saranno accettate richieste di iscrizione fino ad esaurimento dei posti disponibili. Numero massimo di partecipanti 60. Coloro che non saranno ammessi riceveranno comunicazione per posta elettronica. La partecipazione alla manifestazione è gratuita. A tutti i partecipanti verrà rilasciato un attestato di partecipazione.



## PROGRAMMA

**Ore 9.00** Registrazione dei partecipanti.

**Ore 9.30** Indirizzo di benvenuto e apertura dei lavori.

*Ing. Paolo Pittiglio, INAIL, Direttore DIPIA*

### Moderatori:

*Dott.ssa Elena Sturchio (Direttore Corso)*

*Dott. Uranio Mazzanti (CRF)*

**Ore 9.45** Introduzione al concetto di biotecnologie (mediche, ambientali, agroalimentari).

*Dott.ssa Elena Sturchio*

**Ore 10.20** Prevenzione e sicurezza: impiego delle biotecnologie nei laboratori e applicazioni cliniche.

*Dott.ssa Barbara Ficociello*

**Ore 11.00** Coffe break

**Ore 11.30** Organismi Geneticamente Modificati e Sicurezza alimentare.

*Dott.ssa Marzia De Giacomo*

# INAIL

ISTITUTO NAZIONALE PER L'ASSICURAZIONE  
CONTRO GLI INFORTUNI SUL LAVORO



**Roma, 27 Novembre  
2012**

**INAIL  
Sala Multimediale  
Via Urbana, 167  
00184 Roma**



**Ore 12.15** L'agricoltura sostenibile, possibile alternativa all'agricoltura convenzionale e alle agrobiotecnologie?

*Dott.ssa Laura Casorri*

*Dott.ssa Eva Masciarelli*

**Ore 13.00** Light lunch

**Ore 14.00** Le biotecnologie, la società e la comunicazione.

*Dott.ssa Giuditta Simoncelli*

**Ore 14.30** L'esperienza dell'INAIL nella diffusione della cultura della salute e sicurezza nelle scuole.

*Dott.ssa Maria Cristina Dentici*

*Dott. Adriano Papale*

# CORSO

## “Promozione della sicurezza nelle scuole”

Per **DOCENTI** delle scuole superiori

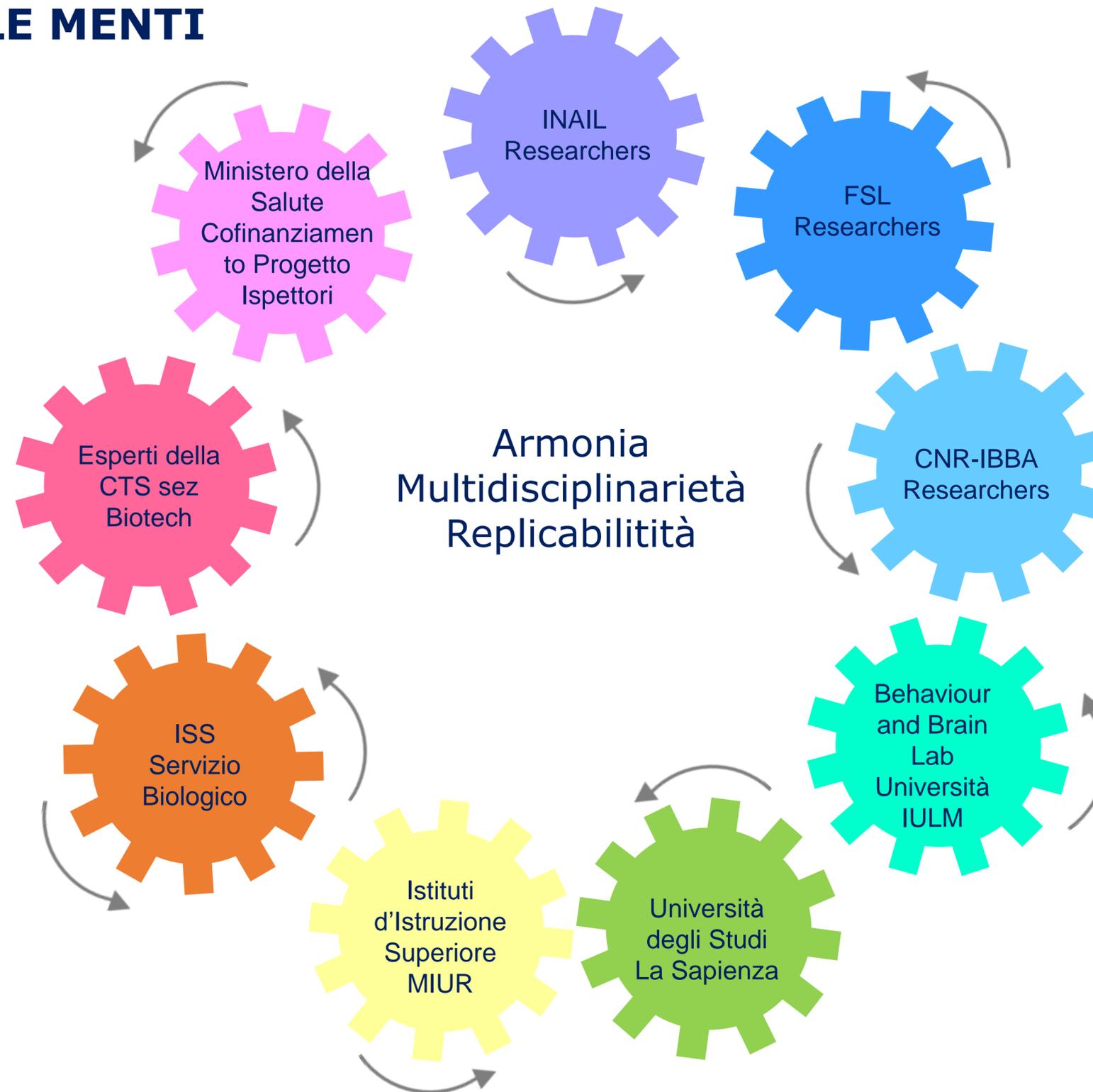
Il Corso di approfondimento sulle Biotecnologie e sicurezza si inserisce nell'ambito delle iniziative INAIL finalizzate alla promozione della cultura della sicurezza nelle scuole al fine di realizzare una corretta politica di comunicazione dei risultati scientifici raggiunti nel settore. Il seminario nasce infatti dall'esigenza di valorizzare e incentivare il notevole sforzo svolto dall'Europa ed anche dall'Italia, nel settore biotech.

**Roma 27 Novembre 2012**



*Il rispettoso ricorso a qualificate competenze terze rispetto alla scuola, per garantire la qualità di un'informazione corretta, è positiva esperienza didattica di metodo.*

# 1. CONNETTERE LE MENTI



# 2.FORMARE E INFORMARE

LE NUOVE APPLICAZIONI BIOTECNOLOGICHE: IL LABORATORIO INAIL DI BIOTECNOLOGIA E SICUREZZA



**INAIL**  
ISTITUTO NAZIONALE PER LE ASSICURAZIONI  
CONTRO GLI INFORTUNI SUL LAVORO

**Le nuove applicazioni biotecnologiche: laboratorio Inail di Biotecnologie e Sicurezza**

**1-2 Ottobre 2020**

Inail, Auditorium, DCOD  
Via S. Regina degli Apostoli 33,

*Ricerca e Scuola per l'Innovazione*

**EUROPEAN BIOTECH WEEK**  
dal 28 SETTEMBRE AL 4 OTTOBRE 2020

SANTA LUCIA **INAIL** EUROPEAN BIOTECH WEEK  
INNOVATION IS IN OUR GENES

28 SETTEMBRE 2021

FEDERCHIMICA ASSOBIOTEC

**“Prevenzione e tutela della salute e dell’ambiente in caso di impiego di tecniche biotecnologiche avanzate”**

GLOBAL BIOTECH WEEK

**Educare alla Sicurezza in maniera trasversale a partire dal mondo della Ricerca fino a quello della Scuola**

**SICUREZZA E APPLICAZIONI BIOTECNOLOGICHE** **INAIL**

**JOB Orienta | 30 Years**

SALONE ORIENTAMENTO SCUOLA FORMAZIONE LAVORO  
25/27 novembre 2021  
Verona - Organized by Veronofere

**JOB Orienta | 30 Years**

Salone Orientamento Scuola Formazione Lavoro  
25/27 novembre 2021  
Verona - Organized by Veronofere

Educazione e Scuola

24 FEBBRAIO 2022  
9.15-12.30

**La neurobiologia al servizio della sicurezza**

9.15 Discorso d'apertura e inizio dell'evento.  
Aldo Ceriotti - IBBA CNR  
Carlo De Petris - INAIL

9.30 Sviluppo delle competenze trasversali come chiave per un mondo del lavoro sostenibile.  
Elena Sturchio - INAIL

10.00 Evoluzione e Comportamento: agire razionale, inconsapevole e innato.  
Aldo Luperini - CNR IBBA

10.30 Neuromanagement e neuroleadership: il contributo delle neuroscienze allo studio della sicurezza.  
Vincenzo Russo - IULM

11.00 Processi di decision making e percezione del rischio nelle malattie neurodegenerative.  
Graziella Madoe - Brain&Care Group

11.30 Bias cognitivi e meccanismi psicologici nel contesto lavorativo.  
Mara Bellati - CNR IBBA

12.00 Question time & chiusura lavori.

Per partecipare alla riunione da computer, tablet o smartphone, è necessario collegarsi alla piattaforma **GoToMeeting** al seguente link:  
<https://global.gotomeeting.com/join/886349669>

**Università degli studi della Tuscia.**  
Cattedra di diritto europeo delle biotecnologie , Dipartimento DBAF  
18 maggio 2022  
Microrganismi geneticamente modificati: valutazione del rischio e biosicurezza

**Corso Formazione dei Formatori Scuola edile – Terni.**

**«Comunicare la Sicurezza»**

3 maggio 2022

**T.E.S.e F. Terni Edilizia Sicurezza e Formazione**

**Università degli studi di Roma «La Sapienza»** l'ADE per gli studenti di medicina.  
19 maggio 2022  
Microrganismi geneticamente modificati: valutazione del rischio e biosicurezza

**INAIL** NTA LUCIA

IBBA BrainLab Università IULM

**Biotecnologie e adempimenti normativi**

*Le Neuroscienze applicate alla Sicurezza*

**9 MAGGIO 2022**

ROMA

Fondazione Santa Lucia  
Aula seminari  
Via del Fosso di Fiorano n.64

VERRÀ RILASCIATO UN ATTESTATO DI PARTECIPAZIONE AL WORKSHOP

**22 giugno 2022 Milano**

# I nostri prodotti Fact Sheet

INAIL

## APPLICAZIONI BIOTECNOLOGICHE GLI ASPETTI NORMATIVI E I PROGETTI INAIL

2021

### PREMESSA

Il Laboratorio Biotecnologie del Dit studia strategie di prevenzione, soluzioni tecnico-procedurali e formative nell'ambito delle nuove applicazioni biotecnologiche per la sicurezza, la prevenzione e la tutela della salute dell'uomo e dell'ambiente. I ricercatori, oltre alle specifiche attività di ricerca, sono impegnati, da diversi anni, in studi di valutazione del rischio in caso di impiego confinato di microrganismi geneticamente modificati (Mogm), ai sensi del decreto legislativo n. 206 del 2001 "Attuazione della direttiva 98/81/CE che modifica la direttiva 90/219/CE, concernente l'impiego confinato di microrganismi geneticamente modificati", (Direttiva 2009/41/CE). In ambito normativo, forniscono supporto tecnico-scientifico alla Commissione Tecnico Sanitaria sezione g - biotecnologie - istituita presso il Ministero della Salute, Autorità Competente.

La presente scheda informativa è la prima di una serie di approfondimenti relativi alle biotecnologie e alle diverse tematiche ad esse correlate, di forte attualità, che verranno redatte sotto forma di raccolta, implementabile a seguito di aggiornamenti normativi e/o sviluppi progettuali del dipartimento.

### INTRODUZIONE

Le biotecnologie sono tecnologie che utilizzano organismi viventi come batteri, lieviti, cellule vegetali e animali o parti di essi per sviluppare prodotti e processi. Definite nel 2009, dalla comunità europea "Key Enabling Technology" rappresentano vere e proprie tecnologie abilitanti per tanti comparti industriali, fornendo attraverso le loro innumerevoli e diverse applicazioni risposte a molteplici esigenze sempre più urgenti della società moderna a livello di salute pubblica, cura dell'ambiente, agricoltura, alimentazione, sviluppo sostenibile (Tabella 1).

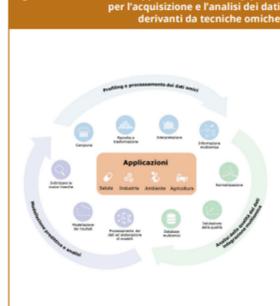
Oggi, quindi, le moderne biotecnologie rappresentano lo strumento per il raggiungimento di traguardi fino a qualche anno fa totalmente inimmaginabili: permettono di lavorare allo sviluppo di un sistema produttivo basato su fonti primarie alternative al petrolio, di avere prodotti eco-compatibili e processi con minore o nessun impatto ambientale. Vengono utilizzate per produrre biofertilizzanti e biopesticidi, rendendo possibile un'agricoltura più sostenibile, e hanno permesso di migliorare le varietà vegetali, preservando la biodiversità. Secondo le stime dell'Organizzazione per la Sicurezza e la Cooperazione in Europa (OCSE), nel 2030 le biotecnologie avranno un peso enorme nell'economia mondiale: 80% dei prodotti farmaceutici, 50% dei prodotti agricoli, 35% dei prodotti chimici e industriali, incidendo complessivamente per il 2,7% del Pil globale.

Tabella 1 Principali tecnologie incluse dall'OCSE nella definizione di biotecnologie

- DNA/RNA:** genomica, farmacogenomica, sonde geniche, ingegneria genetica, sequenziamento/sintesi/amplificazione del DNA/RNA, profilo di espressione genica e utilizzo della tecnologia antisense, gene - and genome - editing, gene-drive.
- Proteine e altre molecole:** sequenziamento/sintesi/ingegnerizzazione di proteine e peptidi (inclusi gli ormoni a grande molecola); nuovi metodi per farmaci a grande molecola; prot. purificazione delle proteine, identifi. segnalatori cellulari.
- Ingegneria e coltura cellulare e tissutale/tissutale:** ingegneria dei tessuti, ingegneria dei tessuti, ingegneria biomedica, vaccini/immunostimolanti, manipolazione di selezione assistita da metabolica, xenobiologia, biopharm.
- Tecniche biotecnologiche di proc:** per mezzo di bioreattori, bioraffinazione, bioconversione, biopulping, bioraffinazione, bioconversione, bioraffinazione, nifica, acquacoltura molecolare.
- Vettori genici e a RNA:** terapia genica.
- Bioinformatica:** costruzione di data quenze di proteine, modellizzazione i sistemi biologici complessi, disegno comp.
- Nanobiotechnologia:** applicazione di processi di nano/microfabbricazione di dispositivi per lo studio dei biosistemi somministrazione di farmaci, diagnosi.
- Metabolomica/metabonomica:** ide di metaboliti e loro interazioni.
- Biologia sintetica:** produzione di f. dard, protocellule, sintesi di DNA in v.
- Altro.

Negli ultimi due decenni, la ricerca fine di analizzare l'enorme mole di nuove tecnologie ha richiesto l'utilizzo di strumenti di analisi di dati derivanti da tecniche omiche. Oggi, quindi, le moderne biotecnologie rappresentano lo strumento per il raggiungimento di traguardi fino a qualche anno fa totalmente inimmaginabili: permettono di lavorare allo sviluppo di un sistema produttivo basato su fonti primarie alternative al petrolio, di avere prodotti eco-compatibili e processi con minore o nessun impatto ambientale. Vengono utilizzate per produrre biofertilizzanti e biopesticidi, rendendo possibile un'agricoltura più sostenibile, e hanno permesso di migliorare le varietà vegetali, preservando la biodiversità. Secondo le stime dell'Organizzazione per la Sicurezza e la Cooperazione in Europa (OCSE), nel 2030 le biotecnologie avranno un peso enorme nell'economia mondiale: 80% dei prodotti farmaceutici, 50% dei prodotti agricoli, 35% dei prodotti chimici e industriali, incidendo complessivamente per il 2,7% del Pil globale.

Figura 1 Sviluppo e validazione di pipeline per l'acquisizione e l'analisi dei dati derivanti da tecniche omiche



### SETTORI DI APPLICAZIONE

Le biotecnologie rappresentano un insieme di tecnologie che trovano applicazione in diversi settori industriali ed economici (Figura 2). Le applicazioni delle tecniche di biologia molecolare in campo biomedico rappresentano attualmente il settore nel quale le biotecnologie hanno dato il contributo più significativo sia in termini di prodotti terapeutici che di ricerca e sviluppo (Figura 3). Oggi circa il 50% di tutti i nuovi farmaci e terapie in sviluppo per il prossimo futuro sono biotech e la proporzione cresce nei trattamenti innovativi come vaccini, anticorpi monoclonali per il trattamento di tumori e malattie infiammatorie/infettive, terapie cellulari, terapia genica e medicina rigenerativa. Oltre 350 milioni di pazienti hanno già beneficiato degli effetti delle terapie

www.inail.it

biotech, inclusi circa 20-30 milioni di pazienti affetti da malattie rare.

Figura 2 Applicazioni biotecnologiche nei diversi settori industriali ed economici

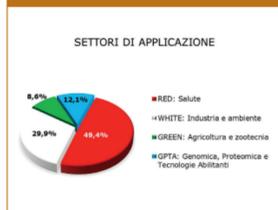
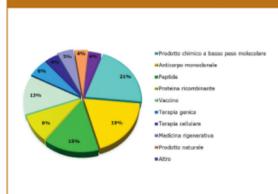


Figura 3 Biofarmaci, diagnostici, vaccini: sono i tre macro ambiti di applicazione delle biotecnologie nel settore della salute che mettono a disposizione straordinari strumenti di trattamento, cura e prevenzione



Nel rapporto BioItaly 2021 si stima che siano oltre 13 mila gli addetti alle attività biotech delle imprese, e la fotografia che emerge dal rapporto è quella di un settore che prosegue nel suo trend di crescita [1] (Figura 4). In ambito normativo, le biotecnologie sono uno dei settori di ricerca avanzata in cui maggiormente si è cercato di sviluppare delle linee guida e delle regolamentazioni atte a tutelare la salute dell'uomo, degli animali e dell'ambiente, spinti, anche, dalla necessità di armonizzare le strutture legislative ed amministrative dei diversi stati membri dell'UE. Infatti, la promulgazione di norme comunitarie che regolamentano l'utilizzazione dei microrganismi geneticamente modificati, piani di verifica e controllo, vigilanza sulla gestione dei rifiuti e organizzazione di misure di emergenza, consente di ridurre la probabilità che si verifichino effetti negativi.

www.inail.it

Figura 4 I numeri: delle imprese, degli addetti alle attività biotech e dei quelli dedicati a ricerca e sviluppo

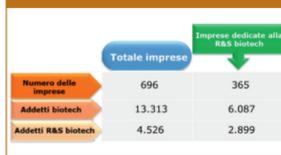
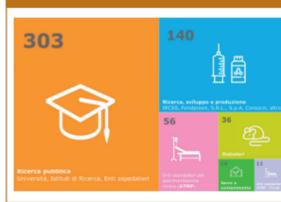


Figura 5 Numero totale degli impianti autorizzati pubblici e privati secondo il decreto legislativo n. 206 del 2001 sull'impiego confinato di microrganismi geneticamente modificati (Mogm)



Fonte: Dati Ministero della Salute 2021

### LA NORMATIVA

La sicurezza delle attività comportanti l'utilizzo di microrganismi geneticamente modificati è garantita in Italia dall'operatività del decreto legislativo n. 206 del 2001 che recepisce il contenuto della direttiva europea (direttiva 2009/41/CE) rivolta alla tutela dell'uomo, dell'ambiente e dell'ecosistema in generale [2]. Queste disposizioni stabiliscono in particolare le misure e le norme procedurali da ottemperare per chiunque voglia manipolare, produrre in laboratorio, utilizzare o conservare in laboratorio microrganismi geneticamente modificati. [https://www.salute.gov.it/portale/temi/p2\\_4.jsp?lingua=italiano&area=biotecnologie](https://www.salute.gov.it/portale/temi/p2_4.jsp?lingua=italiano&area=biotecnologie) Con l'attuazione del d.lgs. 206/2001, l'Autorità Competente Italiana, il Ministero della Salute, tramite il Comitato Tecnico Sanitario sezione g biotecnologie, ha il compito di valutare ed autorizzare gli impianti dove vengono effettuate le attività (di ricerca, di sviluppo e produzione) ed il tipo di manipolazione genetica, nonché i rischi prevedibili, immediati o futuri che il Mogm o la combinazione di Mogm utilizzati possono presentare per la salute umana, animale e per l'ecosistema in generale (Figura 5-6-7-8).

www.inail.it

Il principale campo di applicazione delle biotecnologie è la medicina. L'Italia è all'avanguardia nelle terapie avanzate (terapia genica, terapia cellulare, ingegneria tissutale e terapie combinate). Nel settore della medicina le biotecnologie hanno permesso di dare cura a malattie che erano prive di trattamenti efficaci, di offrire terapie personalizzate e diagnosi tempestive, di produrre vaccini come quelli genetici per il virus SARS-CoV2. Tutto questo è assicurato dagli sforzi ad oggi realizzati dalle istituzioni per assicurare la sicurezza degli impianti e degli impieghi di tali prodotti biotecnologici per la tutela del lavoratore, dell'ambiente e dell'ecosistema in generale.

I prodotti medicinali per le terapie avanzate rientrano nella definizione tecnica di farmaco e, devono sottostare alle stesse procedure e ai regolamenti previsti dagli enti preposti. A livello europeo l'ente di riferimento è l'European medicines agency (Ema), mentre l'Agenzia italiana del farmaco (Aifa) si occupa delle procedure per l'autorizzazione di nuovi farmaci nel nostro Paese. Le sperimentazioni cliniche con Atmp (Advanced therapy medicinal products) devono essere conformi alla legislazione che disciplina l'autorizzazione delle sperimentazioni cliniche di questi prodotti biotech. Le sperimentazioni cliniche con medicinali contenenti organismi geneticamente modificati (Ogm) o da essi costituiti devono inoltre essere conformi ai requisiti applicabili previsti dalla direttiva 2001/18/CE sull'emissione deliberata nell'ambiente di organismi geneticamente modificati e/o dalla direttiva 2009/41/CE sull'impiego confinato di mi

(2-3-4-5) (Figura 6). Questi farmaci i designo dei prc ma anche nell'ambiente e normativi tipici. La direttiva 2 nell'ambiente d definisce un qu rimentazione e con l'obiettivo c della salute umi. Nel caso in cui t secondo il d.lgs prodotti presso nipolati, non è di dell'Autorità Cor di Ogm in ambia taria rivolgersi a 2001/18 (recepti la transizione ec dell'idoneità del cui all'AlfV del d de all'utilizzatorc tale verifica e s to superiore per (Ispra) per aver coinvolta in qua marzo 2018, le Mite già esercita di valutazione di

Fonte: Dati Ministero della Salute 2021

### DEFINIZIONI SECONDO IL DECRETO LEGISLATIVO N. 206 DEL 2001



Figura 6 Definizioni secondo il decreto legislativo n. 206 del 2001

Fonte: Dati Ministero della Salute 2021

www.inail.it

### IL PROGETTO DI RICERCA SCIENTIFICA

#### "PREVENZIONE E TUTELA DELLA SALUTE E DELL'AMBIENTE IN CASO DI IMPIEGO DI TECNICHE BIOTECNOLOGICHE AVANZATE"

La parola chiave del progetto è la "promozione della sicurezza" intesa come attuazione di un processo sistematico complesso che presuppone l'incrocio di competenze tecniche e scientifiche, molto diversificate dal punto di vista disciplinare, con l'obiettivo comune di razionalizzare e migliorare gli ambienti di lavoro. In molti casi il fattore umano costituisce il vero punto debole nei sistemi di sicurezza, da qui l'esigenza di prevedere un idoneo piano di sviluppo per migliorare le competenze attraverso l'addestramento, l'istruzione e l'apprendimento mirati e contestualmente di implementare opportune azioni che aumentino la consapevolezza delle conseguenze reali e potenziali, delle proprie attività lavorative, del proprio comportamento e dei benefici derivanti dal miglioramento delle prestazioni personali. L'attività di ricerca del progetto in corso è quindi orientata alla creazione di reti tra atenei, aziende ospedaliere e istituzioni finalizzata alla realizzazione del primo network italiano specifico per la peculiarità universitaria e ospedaliera, che permetta una diffusione della cultura della sicurezza nel settore biotecnologico, ad oggi a volte sottovalutata. Molti degli impianti e impieghi confinati di classe 1 e 2, autorizzati dall'Autorità Competente, riguardano gli atenei universitari e le aziende ospedaliere (Figura 11,12).

Per quanto riguarda l'applicazione delle norme di sicurezza, la quasi totalità degli atenei italiani ha formalizzato l'approccio sistemico in un regolamento interno che non presenta ancora una buona corrispondenza tra azioni formali ed effettiva attuazione delle azioni operative-gestionali. La realtà universitaria deve coniugare, infatti, la gestione della prevenzione con

Fonte: Dati Ministero della Salute 2021

www.inail.it

Figura 6 Definizioni secondo il decreto legislativo n. 206 del 2001

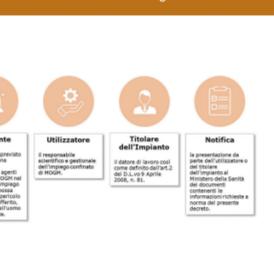
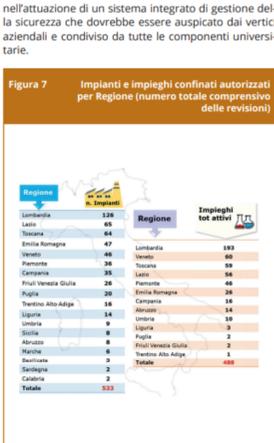


Figura 7 Impianti e impieghi confinati autorizzati per Regione (numero totale complessivo delle revisioni)



Fonte: Dati Ministero della Salute 2021

www.inail.it

Figura 9 Numero di sperimentazioni cliniche autorizzate per Regione



Fonte: Dati Ministero della Salute 2021

Figura 10 Applicazione del d.lgs. 206/01 alla terapia cellulare CAR T (cellule T del Recettore Chimerico dell'Antigene)

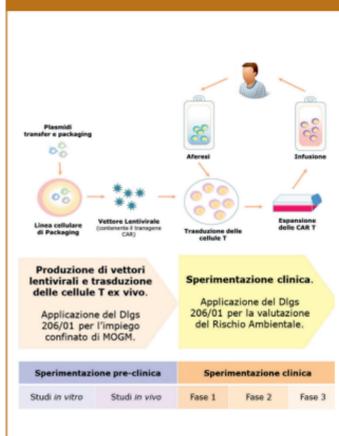
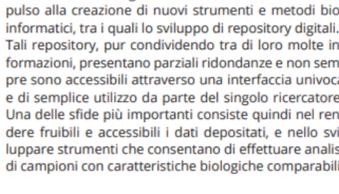


Figura 11 Numero delle autorizzazioni rilasciate dall'autorità competente per gli impianti di impiego confinato di classe 2 e 3 e per gli impianti e impieghi confinati di classe 1, negli ultimi 5 anni



Fonte: Dati Ministero della Salute 2021

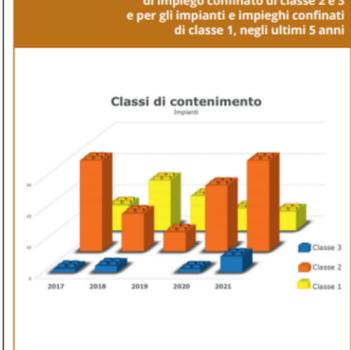
www.inail.it

Tali approcci sono, ad esempio, particolarmente vantaggiosi nello studio delle diverse esposizioni a vari fattori ambientali, correlati e non a luoghi di lavoro. L'analisi potrebbe infatti evidenziare quali mutazioni o alterazioni dell'epigenoma siano più frequenti in individui esposti a specifiche condizioni ambientali, fornendo anche potenziali biomarker che potrebbero rivelarsi utili per l'attività di screening e diagnosi precoce in categorie a rischio.

Allo scopo, quindi, di individuare set di dati rilevanti a fini preventivistici, il Dit in collaborazione con Inail-Dcod e l'Università degli studi di Roma "La Sapienza" ha realizzato la prima banca dati molecolare Inail, denominata BITdata, in sintonia con Big data, si tratta infatti di "dati molecolari BioTecnologici" che fungono quasi da "Biglietto Tecnologico" dell'esposizione occupazionale. <https://www.inail.it/cs/internet/attivita/ricerca-e-tecnologia/applicativi-per-la-salute-e-la-sicurezza-sul-lavoro/bitdata.html>

BITdata prende in esame piattaforme informatiche internazionali, che mettono a disposizione dataset completi dei principali cambiamenti genomici in seguito ad esposizione occupazionale ad agenti fisici chimici e biologici. È progettata, quindi, allo scopo di individuare set di dati rilevanti a fini della prevenzione, rendendo fruibili e accessibili i dati depositati nei "repository" pubblici, e consentirebbe di effettuare "meta-analisi", analisi di campioni con caratteristiche biologiche comparabili; consentendo una delle più importanti sfide della bioinformatica.

Figura 11 Numero delle autorizzazioni rilasciate dall'autorità competente per gli impianti di impiego confinato di classe 2 e 3 e per gli impianti e impieghi confinati di classe 1, negli ultimi 5 anni



Fonte: Dati Ministero della Salute 2021

Gli studi del trascrittoma, inoltre, combinati con tecniche di data mining, possono fornire nuove informazioni sulla patogenesi di numerose patologie e possono contribuire all'identificazione di nuovi bio-

www.inail.it

INAIL

# IL PRODOTTO SWAY



## Chi siamo

Il **Laboratorio Biotecnologie** del *Dipartimento Innovazioni tecnologiche, Sicurezza degli impianti, prodotti ed Insedimenti Antropici (Dit)* studia strategie di prevenzione, soluzioni tecnico-procedurali e formative nell'ambito delle nuove applicazioni biotecnologiche per la sicurezza, la prevenzione e la tutela della salute dell'uomo e dell'ambiente.

I ricercatori, oltre alle specifiche attività di ricerca, sono impegnati, da diversi anni, in studi di valutazione del rischio in caso di impiego confinato di *microrganismi geneticamente modificati (MOGM)*, ai sensi del *decreto legislativo n. 206 del 2001* "Attuazione della direttiva 98/81/CE che modifica la direttiva 90/219/CE, concernente l'impiego confinato di microrganismi geneticamente modificati", (Direttiva 2009/41/CE).

In ambito normativo, forniscono supporto tecnico-scientifico alla *Commissione Tecnico Sanitaria sezione g - biotecnologie* - istituita presso il **Ministero della Salute, Autorità Competente**.

## Struttura del prodotto

### Introduzione alle Biotecnologie



- Premessa
- Settori di applicazione

### Normativa



- Premessa
- Decreto legislativo n. 206 del 2001: definizioni, campo di applicazione, criteri di esclusione, Comitato Tecnico Sanitario (CTS), la Sezione g- Biotecnologie
- Stesura delle notifiche: Moduli editabili da inserire
- La valutazione della classe dell'impiego confinato
- Il livello di contenimento adeguato a garantire la sicurezza determina la classe dell'impiego confinato: Allegato III; Esempi di risk assessment
- La notifica di impianto: Estratto dell'Allegato IV dei requisiti minimi di contenimento per i laboratori per impiego confinato di MOGM; e le checklist in preparazione
- La notifica di impiego: modulistica
- Iter di autorizzazione per l'impiego di MOGM
- Prodotti Sperimentali per Terapie Avanzate (ATMP): modulistica europei e interconnessioni con OGM

### Il Progetto di Ricerca Scientifica

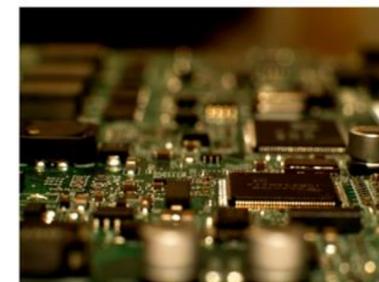


- Introduzione
- Obiettivi del progetto

### Neuromanagement e Biosicurezza



### Strumenti per il monitoraggio



### 3. ISPIRARE E MOTIVARE

#### Approccio Tradizionale

Facoltà di Farmacia  
Corso di laurea in Scienza Farmaceutiche Applicate

## Applicazioni biotecnologiche e adempimenti normativi



**SAPIENZA**  
UNIVERSITÀ DI ROMA

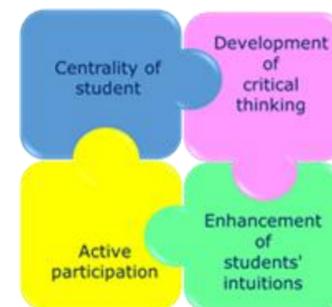
Irene Di Donato  
Matricola 1746025

Relatore: Prof.ssa Francesca Cutruzzolà  
Correlatore: Dott.ssa Elena Sturchio

AA 2021-2022

*Questa tesi, infatti, può essere considerata come un anello importante del processo di diffusione della cultura della sicurezza, innescando un possibile processo di cambiamento culturale a partire dagli studenti.*

*L'obiettivo è quello di poter accrescere la consapevolezza su questi temi, e che gli studenti stessi possano esserne parte attiva e diventare promotori della diffusione di una materia a volte trascurata.*



*Positiva occasione per i giovani di costruire essi stessi comunicazione sempre aggiornata e adatta allo scambio efficace anche nella rete digitale che permette loro di varcare naturalmente quel crinale che da soggetti da proteggere ne fa adulti responsabili.*

#### Approccio Innovativo

I partecipanti al workshop avranno la possibilità di aderire su base volontaria ad una sperimentazione che sarà condotta il giorno del workshop e nei 3 giorni seguenti, in cui avranno modo di verificare da vicino le metodologie e le strumentazioni utilizzate nel Neuromanagement.

Behavior and BrainLab  
Università IULM

Consiglio Nazionale delle Ricerche  
**CIBBA**  
Istituto di Biologia e Biotecnologia Agraria

## EMOTION DETECTION

THROUGH HUNDRED OF CONTROL POINTS

### 4. Al fine di indurre cambiamenti apparentemente molto piccoli che possono produrre grandi effetti



**INAIL**  
 ISTITUTO NAZIONALE PER L'ASSICURAZIONE  
 CONTRO GLI INFORTUNI SUL LAVORO  
 provider ECM

Seminario

**SICUREZZA E APPLICAZIONI  
 BIOTECNOLOGICHE**

Obiettivo formativo ECM: A27 - Sicurezza e igiene negli ambienti e nei luoghi di lavoro e/o patologie correlate. Radioprotezione

**INAIL**

Provider ECM  
 n. 4072

Roma, 2 dicembre 2022  
 Sala Consiliare, sede Inail  
 P.le Pastore, 6

**SICUREZZA  
 NEI LABORATORI BIOTECH  
 DALLA TEORIA  
 ALLA PRATICA**

**13 DICEMBRE 2022  
 MILANO**

CNR Istituto di Biologia  
 e Biotecnologia Agraria  
 Via Alfonso Corti, 12

WORKSHOP FORMATIVO  
 BIOTECNOLOGIE AVANZATE E SICUREZZA NELLA RICERCA  
 PRECLINICA



**EUROPEAN BIOTECH WEEK**

Biotechnologie e corretti stili di vita per  
 la tutela delle fragilità dei giovani e del  
 territorio

**Tuscania 27 Settembre 2022**

"Largo della Pace 12 - Tuscania (VT)"

**INAIL**

CRF  
 Organismo di Ricerca

European  
 Biotech Week

FEDERCHIMICA  
 ASSOBIOTEC

con il Patrocinio del



**INAIL**

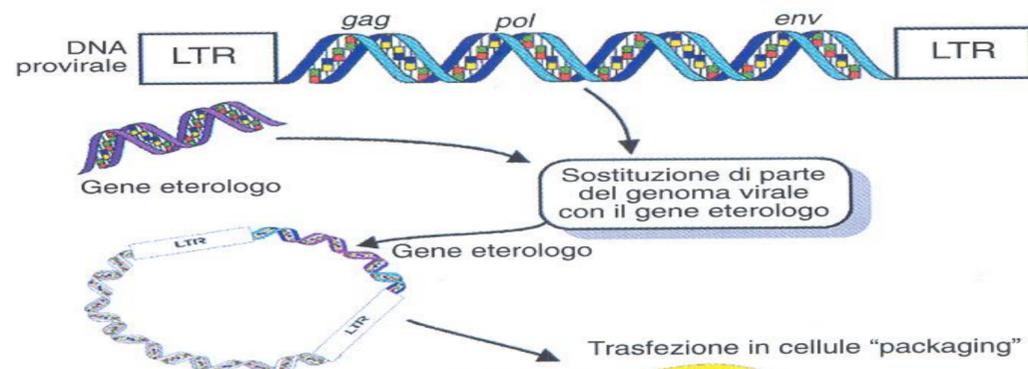


**INAIL**

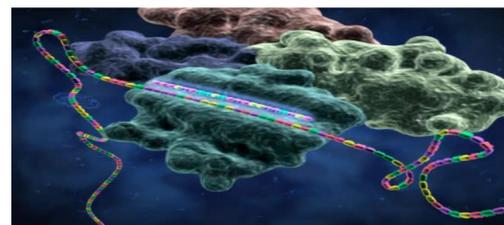


# Miglioramento degli Standard di biosicurezza

Costrutti retrovirali per Terapia genica  
I generazione



Costrutti lentivirali o adenovirali di ultima generazione



Livello di biosicurezza 3



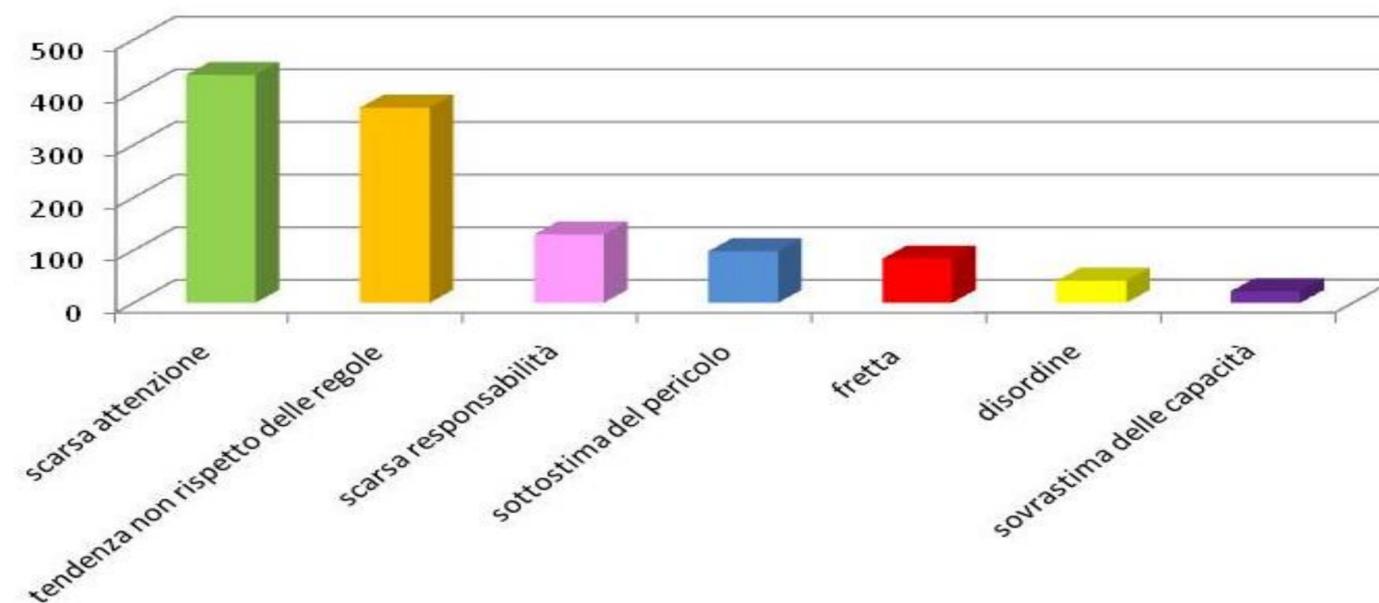
Livello di biosicurezza 2

## Principali cause di rischio comportamentale:

- ★ Distrazione
- ★ Non rispetto delle regole
- ★ Sottostima dei pericoli o sovrastima delle proprie capacità
- ★ Fretta
- ★ Disordine
- ★ Disinformazione e incompetenza
- ★ Mancanza di comunicazione

Circa l'80% degli infortuni da cause comportamentali, è provocato da comportamenti scorretti o imprudenti: distrazione e non rispetto delle regole.

Categorie di osservazione comportamentale



# Importanza della cultura della sicurezza

*Scuola come ambiente di lavoro “vero” dove gli allievi possono sperimentare il ruolo di “lavoratori”.*

*Istituti considerati “macrolaboratori” sotto il profilo della sicurezza, i laboratori in cui si svolgono esercitazioni pratiche, costituiscono casi reali nei quali mettere in pratica attività di valutazione dei rischi e formazione.*

***I prodotti realizzati dalle scuole....***

# CORTOMETRAGGIO



Realizzato da due scuole di Roma (IISS "A. Diaz" dall'Istituto Professionale Cinematografia e Televisione "R. Rossellini" di Roma) sulla sicurezza in laboratorio



*L'idea che sta alla base del progetto è quella che sia più semplice indurre comportamenti corretti nei giovani piuttosto che correggere quelli errati nell'adulto.*



*Chiara è poi il messaggio culturale del “corto”: al diritto a disporre di sistemi oggettivamente adeguati alla tutela deve corrispondere il dovere di ciascuno di proteggersi (e proteggere) in modo proattivo con la specifica conoscenza.*



*Sinergica esperienza di docenti e allievi .....*

*.....nel realizzare una comunicazione, seria e rigorosa nei contenuti ma frutto del piacere di un'esperienza condivisa ancorché ancora "amatoriale" nella sua prima forma prototipale.*





*Positiva occasione per i giovani di costruire essi stessi comunicazione sempre aggiornata e adatta allo scambio efficace nella “totalmente loro” rete digitale che permette loro di varcare naturalmente quel crinale che da soggetti da proteggere ne fa adulti responsabili.*

<https://youtu.be/CJzMfgd9ryw>





**Grazie per l'attenzione**

[e.sturchio@inail.it](mailto:e.sturchio@inail.it)