

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

Resoconto attività 2006

Scopo dell'accordo ratificato nel 2002 tra l'ISS e Novartis (ex Chiron Corporation) è lo sviluppo di un vaccino innovativo rappresentato dall'associazione del vaccino ISS (Tat), con il vaccino Novartis (Δ V2 Env), entrambi in fase avanzata di sperimentazione clinica. Il programma scientifico è articolato nei seguenti cinque obiettivi.

1) Produzione di antigeni e di sistemi di veicolazione

L'ISS ha prodotto e validato nuovi lotti della proteina Tat di HIV-1 (biologicamente attiva) e di un suo mutante (Tatcys22), privo di attività transattivante. Novartis ha prodotto antigeni strutturali virali di HIV-1, tra cui Gag (DNA e proteina), Δ V2 Env (DNA, proteina e peptidi), la proteina Gag di SIV, e gli adiuvanti di sua proprietà (MF59 e LT-K63).

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

Cellule dendritiche (DCs) derivate da monociti del sangue periferico (MDDCs) sono state utilizzate per studiare l'*uptake* di Tat da solo o in combinazione con Env o Gag e la loro attivazione in risposta a Tat. I risultati indicano che non c'è interferenza quando Tat è associato a Gag o ad Env, né in termini di *uptake*, né per quanto concerne l'attivazione delle MDDCs da Tat. Nel corso di questi studi si è evidenziato che Tat e Δ V2 Env formano un complesso che entra nelle MDDCs mediante il *pathway* di entrata di Tat. Studi volti a chiarire la rilevanza biologica di questo dato sono programmati per il 2007. Nell'ambito degli studi volti a caratterizzare l'adiuvanza di Tat su DCs abbiamo dimostrato: i) che Tat induce in MDDCs IL-23, implicata nel mantenimento ed espansione di T *helper* denominati Th17 e importanti nelle risposte secondarie e ii) che Tat induce la maturazione anche di DCs primarie (sia mieloidi che plasmocitoidi) corroborando la rilevanza biologica del dato ottenuto con MDDCs.

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

Nel 2006 sono stati condotti due studi di vaccinazione mucosale per via intranasale (IN). Il primo ha valutato l'attività di diversi adiuvanti nel corso di vaccinazione con la proteina Tat e sebbene la proteina da sola sia immunogenica, l'associazione con ciascuno dei cinque diversi adiuvanti mucosali (a parte l'LT-K63 tutti di nuova generazione) utilizzati per la comparazione ne aumenta in vario grado l'immunogenicità e modula la polarizzazione Th1/Th2.

Il secondo studio ha valutato l'associazione di Tat con altri antigeni virali, in particolare il Δ V2 Env, e il Gag di SIV, utilizzando come adiuvante l'LT-K63. Tutte le combinazioni sono risultate sicure e, seppur in vario grado, immunogeniche. In particolare, è stata confermata l'adiuvanza di Tat anche dopo somministrazione mucosale.

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

La vaccinazione per via sottocutanea (SC) di scimmie cynomolgus con Tat e Δ V2 Env insieme ad Alum è risultata superiore al Δ V2 Env da solo o associato al mutante Tatcys22 nell'induzione di anticorpi anti-Env, sia in termini quantitativi che qualitativi (attività

neutralizzante). Due *boost* IN con Tat e ΔV2 Env + LT-K63 sono risultati scarsamente immunogenici mentre il successivo *boost* SC con Alum ha di fatto richiamato risposte umorali e cellulari al vaccino prima del *challenge* intrarettale. Quest'ultimo è stato effettuato con 35 MID50 del virus R5-tropico SHIVSF162P4cy595 che nel frattempo era stato necessario preparare e titolare in nove macachi dopo inoculo per via intrarettale poiché lo SHIV89.6P inizialmente scelto è risultato resistente alla neutralizzazione da parte di anticorpi generati in corso di vaccinazione con ΔV2 Env, precludendo di fatto la possibilità di valutare l'efficacia del vaccino basato sull'associazione di Tat con ΔV2 Env.

Tre delle quattro scimmie vaccinate con Tat e ΔV2 Env, e due delle tre vaccinate con ΔV2 Env sono risultate protette (plasma viremia negativa), mentre la scimmia vaccinata con Tat e 2/3 controlli sono risultati infetti. Questi risultati sono stati confermati dalla conta dei linfociti CD4 nel sangue periferico e dalla valutazione della carica virale in biopsie linfonodali e della mucosa rettale.

Si è pertanto iniziato un nuovo protocollo con sei scimmie per gruppo per valutare l'immunogenicità e l'efficacia della vaccinazione con Tat e ΔV2 Env in cui ad un *priming* mucosale (IN, x3 con LT-K63) segue un richiamo sistemico (SC, x2 con Alum). Dopo il *priming* sono state rilevate risposte cellulari anti-Env e anti-Tat in quattro su sei e tre su sei scimmie, rispettivamente. La risposta anticorpale ha evidenziato la presenza di IgG e IgA contro Env in quattro su sei e tre su sei macachi, rispettivamente, mentre anticorpi contro Tat non sono stati rilevabili. Nel corso del 2007 verrà terminata l'immunizzazione e si procederà al *challenge* intrarettale con lo SHIVSF162P4cy595 per valutare l'efficacia protettiva del vaccino.

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

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

Attività programmata 2007

Per l'anno 2007 il programma continuerà, secondo gli obiettivi indicati nell'accordo, il cui scopo ultimo è l'ottenimento di un vaccino combinato contro l'HIV-1/AIDS. Ovviamente sono anche previsti nuovi studi volti a caratterizzare sia aspetti biochimici e molecolari dell'interazione fra Tat ed Env che studi virologici e immunologici volti a stabilire la rilevanza patogenetica nel corso dell'infezione primaria e nella fase cronica dell'interazione Tat/Env e ottenere informazioni rilevanti per lo sviluppo di un vaccino preventivo e terapeutico.

Verranno proseguiti gli studi volti a caratterizzare l'attività di adiuvanza di Tat su diversi tipi cellulari (monocitarie, dendritiche, endoteliali, NK, B, e T) a livello di immunità innata e adattativa (umorale e cellulare) in risposta all'immunizzazione con Tat ed Env.

Scopo ultimo è l'identificazione di risposte che correlino con un buon controllo dell'infezione, al fine di poterle riprodurre in corso di vaccinazione e dopo *challenge*.

Per quanto concerne gli studi preclinici, verrà concluso lo studio attualmente in corso (vedi sopra al punto 4) e uno nuovo verrà iniziato entro il 2007 in cui si valuterà l'immunogenicità e l'efficacia di una vaccinazione per via sistemica costituita da *priming* intradermico (due inoculi, senza adiuvante) seguito da *boost* SC (due inoculi, con Alum) con Tat e ΔV2 Env in quantità equimolari. Un protocollo identico di fase I verrà condotto nell'uomo e perciò consentirà di confrontare, pressoché in parallelo, la sicurezza e l'immunogenicità dello stesso vaccino in primati non umani e nell'uomo. Nella scimmia si procederà poi al *challenge* intrarettale con SHIVSF162P4cy595 per valutare l'immunità conferita della vaccinazione.

Accordo tra Italia Corea: prevenzione e trattamento di malattie infettive emergenti e riemergenti

Negli anni 2005-2006 è stato siglato un accordo di collaborazione sulle emergenze infettivologiche, in particolare SARS e pandemia influenzale, con l'analogo Istituto di Sanità Pubblica Coreana, diretto dalla Dr.ssa Hael-Wol Cho.

Resoconto attività 2006

Sono state effettuate visite da parte di due delegazioni di ricercatori coreani e scambiate idee sulle migliori strategie per combattere le emergenze infettive nei due Paesi.

Attività programmata 2007

Il progetto è stato chiuso a dicembre 2006.

AIDS Vaccine Integrated Project (AVIP)

Vaccini basati su prodotti di geni strutturali (Env/Gag/Pol), da soli o in combinazione, non sono stati capaci di prevenire l'infezione con SIV/HIV nel modello preclinico, mentre vaccini basati sui geni regolatori (Tat/Rev/Nef) sono stati capaci di contenere la replicazione virale e di bloccare la progressione clinica dell'infezione. Un vaccino basato sulla combinazione sia di geni strutturali che regolatori, potrebbe avere una efficacia superiore poiché indurrebbe risposte immuni contro antigeni virali sia precoci che tardivi. La missione del progetto AVIP è quella di sviluppare nuovi vaccini preventivi e terapeutici da utilizzare in trial clinici di fase I in Europa nell'arco dei cinque anni di durata del progetto. A questo scopo sono stati selezionati quattro candidati vaccinali sulla base di due presupposti: i) combinazione di geni regolatori di HIV (Tat, e/o Rev, e/o Nef) con geni strutturali (Env, e/o Gag/Pol) e ii) lo stadio di avanzamento dei singoli candidati vaccinali con l'inclusione di studi di efficacia in modelli preclinici. Il razionale e l'obiettivo di questi vaccini è l'induzione di risposte immuni antivirali che, modificando sin dall'inizio l'interazione virus-ospite, assicurino il controllo della replicazione virale e, conseguentemente, la progressione clinica dell'infezione e, a causa della ridotta carica virale, anche la trasmissione di HIV ad individui sani. Questa strategia sarà utilizzata sia in approcci preventivi che terapeutici che prevedono la combinazione di geni e prodotti genici sia regolatori che strutturali. A questo proposito, i partecipanti a questo Consorzio hanno introdotto modificazioni nel gene Env di HIV (delezione nella regione V2 di Env) che permettono la esposizione di epitopi immunogenici che sono conservati tra i diversi sottotipi virali. Questo dovrebbe impedire la selezione o la comparsa di mutanti virali non più controllabili dal sistema immune.

In particolare, la formulazione dei candidati vaccinali selezionati dall'AVIP si basa su due strategie fondamentali. In un primo approccio il vaccino è costituito da una proteina regolatoria (Tat o Nef) e una proteina strutturale (Env V2 deleto - deltaV2 Env).

1. Tat $\pm$ deltaV2 Env (*prime e boost* con proteina)
2. Nef $\pm$ deltaV2 Env (*prime e boost* con vettori virali e proteina)

Lo scopo di questa combinazione è quello di valutare il contributo del singolo gene regolatore nell'indurre immunità protettiva sia di tipo cellulare che umorale (anticorpi neutralizzanti).

Un secondo approccio che vuole mimare il vaccino basato sul virus vivo attenuato, considera invece la combinazione di molteplici proteine sia strutturali che regolatorie.

3. Multi-HIV antigeni/epitopi [geni rev, tat, nef, gag (p17, p24), e più di 20 epitopi T delle proteine Pol, Proteasi ed Env di clade virali diverse (A,B,C, FGH).

4. HIV vaccino basato su una combinazione multigenica (nef, rev, tat, gag, rt, env).

L'efficacia dei diversi antigeni che compongono i candidati vaccinali di AVIP, è stata dimostrata in modelli preclinici. Inoltre, per alcuni di questi antigeni (HIV Tat clade B, MVA-HIV Nef clade B, Multi-HIV antigeni/epitopi clade B, HIV multigene clade B) trial clinici sono stati già completati, o sono in corso (HIV deltaV2 Env clade B, Multi-HIV antigeni/epitopi multiclade, HIV multigene clade A,B,C), mentre per altri (HIV Tat + deltaV2 Env e HIV Nef + deltaV2 Env) i trial clinici inizieranno a partire dal 2006.

L'analisi comparativa dei trial preclinici e clinici di fase I di questi candidati vaccinali permetterà la selezione di candidati vaccinali da valutare in trial clinici di fase II/III nell'ambito di una *partnership* tra Europa e Paesi in via di sviluppo (EDCTP).

Le attività del progetto AVIP sono le seguenti:

- Studi preclinici (topi, scimmie) per la selezione della migliore formulazione e protocollo vaccinale dei candidati da testare in trial clinici di fase I.
- Produzione in GMP degli antigeni vaccinali, valutazione della tossicità, preparazione del dossier per l'approvazione del uso sull'uomo.
- Esecuzione di trial clinici preventivi di fase I e follow up.
- Esecuzione di trial clinici terapeutici di fase I e follow up.
- Studi immunologici focalizzati al riconoscimento *cross-clade* dei candidati vaccinali di AVIP preparatori a futuri trial clinici di fase II/III da condurre nei Paesi in via di sviluppo.
- Utilizzo di “*European Vaccine against AIDS (EVA) Programme – Centralised Facility for AIDS Reagents (NIBSC, UK)*” come banca centralizzata che, attraverso la distribuzione di reagenti standardizzati, supporta tutte le attività di ricerca, sviluppo e dimostrazione di AVIP.

Tra gli scopi generali del progetto vi sono anche le attività di formazione e trasferimento tecnologico considerate come preparatorie per studi clinici di fase avanzata da condurre nel prossimo futuro in Europa e nei Paesi in via di sviluppo. Il Consorzio AVIP è costituito da 20 centri di ricerca di provata esperienza e professionalità appartenenti a diversi Paesi europei (Italia, Germania, Francia, Finlandia, Svezia, Regno Unito) e al Sud Africa.

Il progetto AVIP è coordinato dal Centro Nazionale AIDS, e finanziato dalla Comunità Europea (FP6).

Il Consorzio è governato da una *Steering Committee* che, a sua volta, si avvale di un *Advisory Board* e *Monitoring Committee*, i cui membri sono esperti internazionali. Inoltre, l'AVIP pone particolare enfasi in programmi di educazione e ha creato l’“*AVIP International School*” a cui concorrono centri europei e sud africani il cui compito principale è quello di educare giovani ricercatori e di armonizzare e standardizzare procedure e altri aspetti associati allo sviluppo di vaccini e alla conduzione di trial clinici.

L'AVIP sinergizza con le proprie risorse economiche e scientifiche con altri progetti nazionali e internazionali già esistenti quali: i) Azione concertata Italiana per lo sviluppo di un vaccino contro HIV/AIDS (ICAV), ii) Agenzia Svedese per lo sviluppo e cooperazione (SAREC)/SIDA, iii) programmi bilaterali con Paesi in via di sviluppo (Italia-Sud Africa, Italia-Uganda, Italia-Swaziland, Svezia-Tanzania, Regno Unito-Uganda), iv) Progetti e *Network* Europei (HIVIS, VIAV, MUVAPRED, EAPN).

Resoconto attività 2006

Le attività del progetto AVIP svolte nel corso del 2006 sono state le seguenti:

- Sono stati continuati gli studi tendenti a valutare le risposte immuni in gruppi di scimmie immunizzate con Tat (wt e cys mutato) $\pm$ DV2Env di HIV-1. Tutte le scimmie alla 96a settimana sono state inoculate per via intrarettale con 35 MID50 di SHIVSF162P4 cresciuto e titolato in cynos. Nonostante che una delle scimmie di controllo non sia risultata infetta, nel loro insieme, i dati ottenuti (viremia non rilevabile) indicano l'efficacia protettiva di una vaccinazione con Tat-wt +DV2-Env e DV2-Env. Tale protezione risulta essere associata alla presenza di anticorpi neutralizzanti.
- In collaborazione con R. Le Grand (CEA, Francia) sono continuati gli studi *in vitro* e *in vivo* per la generazione di uno SHIV contenente Nef oltre a Rev, Tat, ed Env di HIV-1 da utilizzare come virus di *challenge* e per studi di patogenesi.
- Sono continuati gli studi per la standardizzazione del modello murino come modello in cui si possa verificare anche l'efficacia oltre che la immunogenicità di combinazione vaccinali. A tale riguardo, sono stati generati nuovi vettori erpetici (HSV-1).
- Produzione in GMP degli antigeni vaccinali, valutazione della tossicità, preparazione del dossier per l'approvazione del uso sull'uomo.
- Standardizzazione di test, scambio di SOPs, al fine di migliorare il rilevamento delle risposte immuni, training inter-laboratori di personale, trasferimento tecnologico, sono state le attività continuate nel 2006. A questo proposito è stato organizzato "AVIP Intensive Journal Club Week", 10-13 October 2006, presso "Institute of Medical Technology (IMT)", Università di Tampere, Tampere, Finlandia.
- Per alcune combinazioni vaccinali (HIV Tat clade B, MVA-HIV Nef clade B, Multi-HIV antigeni/epitopi clade B, HIV multigene clade B) trial clinici preventivi o terapeutici di fase sono stati completati, o continuati nel 2006 (HIV DV2 Env clade B, Multi-HIV antigeni/epitopi multiclade, HIV multigene clade A,B,C). Inoltre, si è continuato l'arruolamento e lo screening iniziato nel 2005, di persone in Sud Africa, come fase preparatoria di trial clinici.
- Sono stati condotti studi virologici (sottotipi di HIV) e immunologici focalizzati al riconoscimento *cross-clade* dei candidati vaccinali di AVIP preparatori a futuri trial clinici di fase II/III da condurre nei Paesi in via di sviluppo.
- Al fine di supportare tutte le attività di ricerca, sviluppo e dimostrazione di AVIP, i partecipanti hanno utilizzato la "European Vaccine against AIDS (EVA) Programme – Centralised Facility for AIDS Reagents (NIBSC, UK)" come banca centralizzata di reagenti standardizzati ad uso dei laboratori partecipanti.

Nel corso del 2006, nell'ambito del progetto AVIP sono stati fatti tre congressi:

- 9-10 marzo 2006 – *Report of the second year of activity and planning for the next 18 months of the AVIP Program* – ISS.
- 8-9 giugno 2006 meeting con la Dott.ssa Eftyhia Vardas, incentrato sulla conduzione di trial clinici in Africa – CNAIDS, ISS.
- 15-17 novembre 2006 – "Plenary Meeting and Steering Committee Meeting", ISS.

Attività programmata 2007

Come continuazione del progetto precedente, ci proponiamo: i) di procedere con un *rechallenge* con virus eterologo delle medesime scimmie vaccinate e protette e della scimmia *naïve* risultata non infetta dopo il primo *challenge*. Questo ci permetterà di verificare l'ampiezza della immunità protettiva indotta dalla vaccinazione con Tat + DV2-Env e DV2-Env; se il

mantenimento di *pool(s)* di cellule memoria specifiche per gli antigeni vaccinali e la generazione di anticorpi neutralizzanti siano sufficienti a garantire la protezione dopo un nuovo contatto con il virus eterologo; ii) sulla base dei risultati ottenuti nel precedente protocollo, si intende iniziare in scimmie ad un nuovo protocollo di vaccinazione con Tat $\pm$ DV2Env di HIV-1; iii) generare di nuovi SHIV da utilizzare come *challenge* e/o per studi di patogenesi nell'ambito di vecchie e nuove collaborazioni internazionali.

Continuare gli studi per lo sviluppo di un modello murino di efficacia (terza generazione di vettori HSV-1, pseudotipi HIV-1).

Completare gli studi preclinici in diversi modelli animali (topi, conigli, scimmia) finalizzati (tossicità, immunogenicità) alla selezione della migliore formulazione e protocollo di immunizzazione dei quattro candidati vaccinali. Sulla base dei risultati dei trial preclinici, i candidati vaccinali saranno testati in trial clinici di fase I. Inoltre, i dati di efficacia, valutati in modelli preclinici (topo, scimmia) condotti parallelamente a trial clinici nell'uomo, rappresenteranno un'ulteriore base di selezione di potenziali candidati vaccinali per le fasi cliniche avanzate (II/III). La decisione di procedere a trial clinici di fase II/III sarà fatta dopo il completamento dei trial di fase I. In generale, i candidati vaccinali capaci di indurre risposte immuni in una percentuale $> 50\%$ dei volontari arruolati nei trial saranno considerati eleggibili per trial clinici di fase avanzata. Perciò, le attività previste da AVIP per il 2007 sono:

- procedere alla produzione GMP dei candidati selezionati e quindi, completare tutti gli step necessari per l'approvazione del candidato vaccinale per l'uso nell'uomo, preparare protocolli per i trial clinici nell'uomo in Europa e in Africa;
- iniziare trial clinici con alcuni candidati vaccinali già in avanzata fase di sperimentazione nel modello della scimmia (HIV Tat + DV2 Env e HIV Nef + DV2 Env);
- continuare la fase di acquisizione e trasferimento di nuove tecnologie e condurre studi di verifica della capacità dei candidati selezionati di indurre risposte immuni (umorali e cellulari) capaci di riconoscere il più ampio spettro possibile di sottotipi virali presenti nei Paesi in via di sviluppo. Questo permetterà di condurre trial clinici di fase II/II nei Paesi in via di sviluppo;
- continuare la formazione di giovani ricercatori sia in Europa che nei Paesi in via di sviluppo tramite la "AVIP International School";
- continuare la partecipazione di "European Vaccine against AIDS (EVA) Programme – Centralised Facility for AIDS Reagents (NIBSC, UK)", provvedere alla distribuzione di reagenti comuni sviluppati e testati da una unica fonte e la preparazione delle S.O.P. per la standardizzazione della conduzione dei trial e delle analisi di laboratorio tra i vari siti nei vari Paesi coinvolti.
- per garantire alti livelli di qualità intra- e inter-centro, tutte le valutazioni cliniche e le procedure di laboratorio, come pure i criteri di arruolamento dei volontari, si continuerà la loro armonizzazione secondo comuni pratiche di GCP/cGLP. I principali obiettivi di questa armonizzazione includono: i) definizione di SOPs; ii) trasferimento di tecnologie, iii) *training* e interscambio di personale tra i centri clinici e i laboratori centrali.

Archivi sostanze e preparati pericolosi

Presso il Reparto "Inventario e caratterizzazione sostanze chimiche", viene svolta un'intensa attività nel campo delle sostanze e dei preparati chimici pericolosi. Nell'ambito di tali attività sono stati creati, e vengono regolarmente aggiornati, archivi informatizzati riguardanti aspetti specifici seguiti dal Reparto, che possono essere resi accessibili o a utenti selezionati (ad

esempio, i Centri Antiveleni nazionali per l'Archivio Preparati), o a tutti i cittadini, quale contributo ad una migliore conoscenza sui prodotti chimici utilizzati sia in ambiente professionale che domestico, e in un'ottica di sempre maggiore trasparenza sulle informazioni disponibili e non confidenziali.

L'Archivio Preparati Pericolosi è una banca dati informatizzata sui preparati pericolosi in base a quanto stabilito dall'art. 10 del DL.vo n. 285 del luglio 1998 riguardante la classificazione, l'imballaggio e l'etichettatura dei preparati pericolosi; riporta le composizioni chimiche complete dei preparati pericolosi presenti sul mercato nazionale; poiché contiene informazioni confidenziali è accessibile solo ai Centri Antiveleni accreditati dal Ministero della Salute. Le aziende produttrici che immettono sul mercato nazionale preparati classificati come pericolosi devono produrre alcune informazioni rilevanti, compresa la composizione chimica, all'Archivio Preparati che le registra. Queste informazioni sono molto utili per poter adottare le varie misure preventive o curative in caso di emergenza.

L'art. 9 della Legge del 23 dicembre 1978, n. 833 ha affidato all'ISS il compito di approntare e aggiornare periodicamente l'Inventario Nazionale Sostanze Chimiche (INSC), corredato dalle caratteristiche chimiche, fisiche e tossicologiche necessarie per la valutazione del rischio sanitario connesso alla loro presenza nell'ambiente. Questa banca dati relazionale rappresenta per l'Amministrazione pubblica il punto di riferimento nazionale per la raccolta delle informazioni disponibili sulle sostanze chimiche di maggior rilievo.

L'Elenco delle Sostanze Classificate riporta la classificazione aggiornata di cui all'allegato I della Direttiva 67/548/CEE.

Il DL.vo 66/2000 stabilisce le norme per la protezione dei lavoratori da agenti cancerogeni. La norma fa riferimento non solo alle sostanze classificate come cancerogene dall'UE, in applicazione della direttiva 67/548/CEE, ma anche alle sostanze che, pur non essendo classificate ufficialmente, rientrano nei criteri di classificazione. Tale disposizione responsabilizza enormemente il datore di lavoro, affidandogli il compito di individuare se all'interno della propria azienda si realizzino le condizioni per l'applicazione del Titolo VII del DL.vo 626/94. Il database, in corso di lavorazione, realizzato dall'ISS, rappresenta uno strumento utile a supporto di tale fase decisionale, riportando le varie classificazioni di cancerogenesi effettuate da organismi internazionali e nazionali, quali l'UE, l'*International Agency for Research on Cancer*, l'*Annual Report on Carcinogens*, l'*US Environmental Protection Agency* e la Commissione Consultiva Tossicologica Nazionale.

Le sostanze chimiche o le miscele di più sostanze (preparati) devono essere classificate ed etichettate in base alla valutazione del pericolo connesso al loro uso secondo quanto stabilito dall'UE e recepito dalla normativa italiana in continuo aggiornamento. Il risultato è l'etichetta che deve essere apposta sui contenitori e le schede informative di sicurezza che devono essere fornite agli operatori specializzati.

Resoconto attività 2006

Nel corso del 2006 è proseguita l'attività di implementazione dell'Archivio Preparati Pericolosi ed è stata perfezionata l'interfaccia con l'utenza, sia per quanto riguarda i Centri Antiveleno che accedono al Servizio, sia per quanto riguarda le aziende che trasmettono i dati per la prima volta o modificano le voci già contenute nell'Archivio. È proseguita l'attività dell'Inventario Nazionale Sostanze Chimiche: per circa 300 sostanze sono state approntate nuove schede tossicologiche o sono state aggiornate schede già presenti nel database. È stato aggiornato anche il database contenente l'elenco delle sostanze classificate ai sensi della direttiva 67/548/CEE in linea con il 29° Adeguamento al Progresso Tecnico. È proseguita anche l'attività di implementazione della banca dati sugli agenti cancerogeni.

Attività programmata 2007

Proseguirà la raccolta e selezione critica dei dati tossicologici ed ecotossicologici su sostanze chimiche di interesse nazionale per l'implementazione dell'Inventario Nazionale Sostanze Chimiche. La banca dati sulle sostanze classificate a livello comunitario sarà aggiornata per tener conto del nuovo aggiornamento comunitario, il 30° Adeguamento al Progresso Tecnico, la cui pubblicazione è prevista per l'anno in corso.

È prevista l'implementazione della Banca Dati Cancerogeni, con l'aggiunta di nuovi campi relativi alle sostanze chimiche classificate come cancerogene dai vari organismi internazionali, a partire dall'Unione Europea. Per quanto riguarda la Banca Dati che contiene l'elenco delle sostanze classificate come pericolose ai sensi della direttiva 67/548/CEE nonché l'anagrafica delle sostanze contenute nell'Inventario Europeo EINECS, è prevista una revisione della veste grafica, nonché l'aggiornamento delle classificazioni di pericolo in linea con gli ultimi Adeguamenti al Progresso Tecnico.

Per quanto riguarda l'Archivio Preparati Pericolosi, è prevista l'implementazione della banca dati con l'aggiunta dei preparati detergenti, indipendentemente dalla loro classificazione o meno come pericolosi, e in linea con quanto previsto dal nuovo Regolamento n. 648/2004/CE. A tale scopo è stata già predisposta una nuova versione del programma client ISS Formula che tiene conto di tali modifiche.

Infine, è prevista la messa in rete di due nuove banche dati; la Banca Dati Sensibilizzanti e la Banca Dati Bonifiche. La prima, prodotta in collaborazione con il Dipartimento MIPI è relativa ad agenti potenzialmente sensibilizzanti e include tutte le sostanze classificate ufficialmente come tali dalla Unione Europea o potenzialmente tali. La seconda, prodotta in collaborazione con il Reparto Suolo e Rifiuti, include tutte le voci per le quali è disponibile una concentrazione soglia di contaminazione nel suolo/sotterraneo e/o acque sotterranee incluse nel DL.vo 152/2006 o con concentrazione limite proposta dall'ISS.

Attività corrente per la produzione di farmaci cellulari innovativi e promozione della ricerca clinica basata su protocolli di immunoterapia sperimentale

In questi ultimi anni, gli sviluppi delle ricerche nel campo dell'immunologia e delle biotecnologie hanno aperto nuovi orizzonti nel trattamento di pazienti oncologici o con infezioni croniche gravi. In particolare, i progressi nel campo dell'immunologia dei tumori hanno promosso l'avvio di numerosi studi clinici di vaccinazione antitumorale o di immunoterapia del cancro.

L'importanza di promuovere l'immunoterapia clinica sperimentale come disciplina specifica è stata recentemente sottolineata in editoriali su prestigiose riviste internazionali, che ne hanno evidenziato le potenzialità di ricaduta sanitaria, suggerendo strategie e iniziative idonee a superare i limiti che attualmente ne ostacolano il pieno sviluppo.

In Italia, nonostante i livelli di eccellenza della ricerca di base nel settore dell'immunologia e immunoterapia dei tumori, si registra un notevole ritardo nel trasferimento dei risultati della ricerca alla sperimentazione clinica. L'attivazione di un progetto speciale dell'ISS appare particolarmente opportuno, non solo per colmare un vuoto di iniziative e coordinamento ispirati a finalità di promozione in questo importante settore della ricerca biomedica, ma anche sulla base dell'esperienza pregressa e delle prospettive della ricerca del gruppo proponente. Infatti, il gruppo possiede una lunga esperienza di ricerca sull'interferone (IFN) e altre citochine, che

hanno negli anni portato all'avvio di studi clinici originali basati sul nuovo razionale di uso di IFN-alfa come adiuvante di vaccini. Il gruppo ha contribuito all'identificazione di nuovi adiuvanti di natura proteica o cellulare, individuando tecnologie e strategie terapeutiche oggetto di brevetti dell'ISS. In particolare, il gruppo ha sviluppato un metodo per la rapida generazione di cellule dendritiche (DC) particolarmente attive a partire da monociti umani. Tale attività di ricerca ha condotto alla formalizzazione di accordi di cooperazione tra l'ISS e partner industriali (es. *Immuno-Designed Molecules*, Parigi) coinvolti nello sviluppo di vaccini antitumorali basati sull'uso di DC e alla partecipazione a progetti europei nel settore. Il gruppo ha recentemente coordinato due studi clinici basati sull'uso di IFN-alfa come adiuvante nella vaccinazione di pazienti con melanoma, da solo o in associazione a dacarbazina, in collaborazione con centri quali l'Istituto Nazionale Tumori di Milano, l'Istituto Dermopatico dell'Immacolata di Roma, l'Istituto Regina Elena-Polo Oncologico di Roma e l'Università di Roma "Tor Vergata". Il gruppo coordina due studi, nell'ambito del V Programma Quadro della EC, riguardanti la valutazione dell'attività adiuvante di IFN-alfa nella vaccinazione contro il virus dell'epatite B.

Recentemente, partendo dalla valutazione dell'importanza di creare un centro pubblico di riferimento in grado di produrre cellule in condizioni GMP per lo sviluppo di progetti clinici innovativi derivanti dalla ricerca italiana, il gruppo ha gestito un finanziamento speciale dell'ISS (circa un milione di euro) dedicato alla ristrutturazione di spazi esistenti al fine di creare idonee aree a contaminazione controllata per la preparazione di cellule e reagenti per sperimentazioni cliniche, procedendo anche all'acquisto della strumentazione necessaria per l'allestimento dei laboratori di produzione e di controllo qualità.

Queste premesse generali e l'attività pregressa del gruppo proponente motivano l'inizio di un progetto speciale dell'ISS per l'attivazione di un centro per la produzione di farmaci cellulari innovativi e per la promozione dell'immunoterapia clinica sperimentale. Un'attività importante di questo progetto speciale consisterà nella preparazione in condizioni GMP di cellule e reagenti per sperimentazioni cliniche innovative nel settore dell'immunoterapia dei tumori e delle infezioni croniche gravi, basate sui risultati di ricerche condotte in ISS stesso o da gruppi esterni, che saranno avviate in Italia in collaborazione con centri clinici. In tale ottica, l'attività consisterà anche nella preparazione di protocolli clinici e nell'attivazione e nel coordinamento dei relativi studi clinici. Altra attività del Centro sarà quella di sviluppare e coordinare ricerche tese: i) all'implementazione delle metodologie correnti per il monitoraggio immunologico dei pazienti nel contesto di studi clinici di immunoterapia; ii) allo sviluppo di nuove tecnologie basate sull'uso dei *microarrays* finalizzate a monitorare e, possibilmente, predire la risposta clinica. Infine, un'altra importante attività di questo progetto speciale riguarderà l'attuazione di iniziative di promozione e implementazione del trasferimento della ricerca preclinica in sperimentazioni cliniche nel settore della immunoterapia.

Tale attività è conseguente e consistente con iniziative intraprese a partire dal 1999 e riguardanti azioni di promozione della ricerca italiana nel settore dell'immunoterapia dei tumori e dei vaccini antitumorali, mediante organizzazione di meeting nazionali e internazionali dedicati a temi specifici inerenti l'immunoterapia e l'elaborazione di documenti *consensus*. Nel complesso, le attività configurate nel presente progetto speciale consentiranno di trasferire i risultati della ricerca preclinica italiana sull'immunoterapia dei tumori e delle infezioni croniche gravi verso terapie sperimentali di particolare interesse sanitario e permetteranno un'efficace azione di promozione e coordinamento della ricerca clinica nazionale in questo settore con potenziali forti ricadute per la salute pubblica, in una visione di stretta collaborazione nel contesto europeo e internazionale.

Resoconto attività 2006

- *Attivazione di FaBioCell*
 - Allestimento locali. Realizzazione dell'area di produzione in accordo ai requisiti definiti nell'“*EudraLex Collection*” relativi alle “*Good Manufacturing Practices*” (GMP). Elaborazione di un programma di convalida della struttura (*Validation Master Plan-VMP*).
 - Autorizzazione. Esecuzione delle “Qualifiche di Installazione” (IQ) e “Qualifiche di Operatività” (OQ) di impianti e attrezzature e preparazione della documentazione per la richiesta all'AIFA di autorizzazione alla produzione di farmaci cellulari. Nomina del Direttore Tecnico, Dott.ssa Carmela Rozera, a seguito di idoneità ottenuta dall'AIFA.
- *Coordinamento di studi clinici nel settore dell'immunoterapia*
 - Studio di vaccinazione anti-epatite B usando IFN-a come adiuvante (V PQ UE). Risultati: Assenza di differenze statisticamente significative dei tassi di sieroprotezione tra i gruppi trattati con IFN e placebo; aumento evidente dell'espressione di alcuni marcatori delle cellule dendritiche (DC) sui PBMC dei soggetti riceventi l'IFN rispetto al placebo.
 - Studio di fase I-II di vaccinazione di pazienti con melanoma con peptidi e IFN-a come adiuvante (ISS – Istituto Nazionale Tumori – IDI) (Di Pucchio *et al.*, 2006).
 - Trattamento combinato con dacarbazina e un vaccino peptidico con IFN-a in pazienti con melanoma in stadio II/IV (ISS - IFO Istituto Regina Elena - Università Tor Vergata). Risultati: induzione di risposte immuni CD8+ melanoma-specifiche significativamente più elevate e di risposte cliniche nel gruppo dacarbazina + vaccino rispetto al gruppo vaccino da solo.
- *Studi su DC differenziate con IFN-a (IFN-DC)*
 - Definizione di procedure GMP per la preparazione di IFN-DC secondo la metodologia IDM e comparazione di IFN-DC e DC di riferimento (Progetto UE “*Dendritophages*” coordinato da IDM - VI PQ), manoscritto in preparazione.
 - Studi su IFN-DC e *cross-priming* di linfociti T CD8+ (Lapenta C. *et al.*, 2006).
- *Attività di promozione e coordinamento a livello nazionale e internazionale*
 - Progetto Ue “*Feasibility Study for Coordination of National Cancer Research Activities*” (EUROCAN+PLUS) (VI PQ), coordinato da IARC:
 - Preparazione di documenti *consensus* su aspetti critici riguardo a vaccini preventivi e terapeutici e bioterapie contro il cancro.
 - Organizzazione del workshop internazionale “*Needs and Perspectives for the Implementation of Clinical Research on Biotherapy, Immunotherapy and Immune Prevention of Cancer*” (ISS, Roma 23 maggio 2006).
 - Organizzazione del Convegno Internazionale “*Immunotherapy of Cancer: Challenges and Needs*” (ISS, Roma 24-25 maggio 2006).
- *Attività progettuale nel settore dell'immunoterapia sperimentale*
 - Preparazione e sottomissione del Programma Integrato Oncologia “Farmaci cellulari, vaccini e bioterapie innovative dei tumori” (DI: ISS), nell'ambito del Programma Straordinario Oncologia (DM 21 luglio 2006), tema 4: Sperimentazioni cliniche di fase I (in collaborazione con AIFA).

Attività programmata 2007— *Attività relative a FaBioCell*

In attesa di ottenere l'autorizzazione dell'officina farmaceutica da parte dell'AIFA, saranno svolte le attività di "Qualifica di Prestazione" (QP) sugli impianti e le attrezzature per confermare che producano effettivamente e costantemente i risultati prefissati e richiesti. Verranno inoltre convalidati i metodi di lavorazione (*batch record*) per i processi di produzione e i metodi analitici per i controlli di qualità. Tutte le attività saranno organizzate mediante l'applicazione di un Sistema di Qualità in grado di garantire l'applicazione delle GMP su tutte le produzioni e le attività svolte all'interno di FaBioCell, allo scopo di soddisfare gli standard attesi per la realizzazione di prodotti per terapie biologiche e cellulari, in ottemperanza alle richieste degli enti regolatori quali l'AIFA e l'EMA. Terminate le convalide e ottenuta l'autorizzazione, FaBioCell sarà pronto per la preparazione di farmaci cellulari da utilizzare non solo per l'avvio di studi coordinati da gruppi dell'ISS, ma anche come struttura pubblica di riferimento e di supporto a gruppi esterni per progetti clinici di particolare cogenza e interesse sanitario.

— *Attività di valutazione di risultati nell'ambito di studi clinici coordinati dall'ISS nel settore dell'immunoterapia*

- Studio di vaccinazione di soggetti sani con il vaccino anti-epatite B e l'IFN- α come adiuvante. Per il 2007 è prevista una elaborazione dei risultati inerenti gli obiettivi secondari dello studio (valutazione di risposte cellulari e dei profili di espressione genica). I risultati dell'analisi delle risposte sierologiche e della caratterizzazione fenotipica e funzionale dei precursori delle DC nei soggetti vaccinati saranno oggetto di pubblicazione (manoscritto in preparazione)
- Trattamento combinato con dacarbazina e un vaccino peptidico con IFN- α in pazienti con melanoma in stadio II/IV. È previsto un follow up dei pazienti inclusi nello studio per tutto l'anno 2007.

— *Attività di promozione e coordinamento a livello nazionale e internazionale*

- Nel corso del 2007 saranno portate a compimento le attività relative al progetto EUROCAN+PLUS e in particolare sarà organizzato un workshop previsto per la primavera 2007. Verranno inoltre finalizzati i documenti *consensus* sui vaccini preventivi, sui vaccini terapeutici e sulle bioterapie contro il cancro.
- Organizzazione di un workshop sulle "*GMP facilities*" dal titolo "Impatto e prospettive di un *network* italiano di laboratori GMP per la preparazione di prodotti medicinali avanzati per le bioterapie dei tumori".
- Corso ECM in collaborazione con il reparto di Terapia genica e cellulare del Dipartimento BCN: "Fabbricazione e Caratterizzazione dei Prodotti Medicinali per Terapie Avanzate".

Attività ispettiva ad officine farmaceutiche per la verifica delle Buone Pratiche di Fabbricazione delle specialità medicinali, delle materie prime e degli eccipienti ad uso farmaceutico

La valutazione dei medicinali si effettua esaminando la qualità, la sicurezza d'uso e l'efficacia, tutti parametri che forniscono una valutazione globale del medicinale stesso. In tale processo di valutazione sono coinvolti l'ISS e una specifica sezione del Ministero della Salute (dal luglio del 2004 divenuta Agenzia Italiana per il Farmaco - AIFA) che, agendo in sinergia, assicurano sempre che i medicinali utilizzati dai cittadini italiani siano sempre di livello elevato. La valutazione avviene attraverso l'esame dettagliato della documentazione, compilata dal proponente o secondo il vecchio schema (da Parte I a Parte IV) ovvero secondo il più moderno formato che prevede cinque moduli distinti (di cui i moduli 3, 4 e 5 a ricalcare le parti II, III e IV del vecchio formato). Tuttavia, non meno importante per una corretta valutazione del medicinale è l'analisi delle condizioni in cui il medicinale stesso è prodotto, condizioni che devono corrispondere a quanto stabilito in una serie di normative che definiscono le Buone Pratiche di Fabbricazione (GMP). Il rispetto di tali condizioni è valutabile esclusivamente attraverso visite ispettive, effettuato da personale adeguatamente addestrato per lo specifico settore. In ambito ispettivo, un aspetto fondamentale è rappresentato dalla armonizzazione delle attività dei vari ispettori nei vari Paesi, e per questo motivo all'inizio del 2000 si è concretizzato sempre più nei dettagli un processo di armonizzazione in ambito europeo e tra Europa e Canada, secondo quanto stabilito dalla Procedura di Mutuo Riconoscimento delle Attività Ispettive definita in sede internazionale. Come già detto nei precedenti anni, in questo processo di mutuo riconoscimento è stato ovviamente coinvolto sia una parte del Ministero della Salute (ora AIFA) e una parte dell'Istituto come struttura analitica che fornisce supporto al Ministero stesso ma anche con personale tecnico attivamente coinvolto nella effettuazione delle ispezioni stesse. L'Accordo di Collaborazione instaurato tra Istituto e Ministero è stato focalizzato sin dall'inizio su alcuni aspetti fondamentali quali lo sviluppo di un Sistema di Assicurazione della Qualità (SAQ), in grado di gestire tutte le attività dell'Ispettorato facente capo al Ministero della Salute. Inoltre, scopo dell'Accordo economico era anche quello di reclutare nuovi ispettori già di livello internazionale, formare quelli al momento disponibili e incrementarne contemporaneamente il numero attingendo anche dalle risorse tecniche dell'Istituto. L'area inizialmente coperta dalle maggiori attività relative all'accordo era quella delle ispezioni ad officine farmaceutiche produttrici di specialità medicinali, ma successivamente, sebbene non direttamente coinvolte nel processo di mutuo riconoscimento Canada – Europa, sono state incluse nelle attività anche le visite ispettive ad officine produttrici di materie prime farmacologicamente attive (API), con ulteriore reclutamento di un certo numero di ispettori da personale interno all'Istituto e loro formazione tecnica mediante corsi di vario livello interni ed esterni all'Istituto.

Resoconto attività 2006

L'attività relativa alla valutazione della qualità, sicurezza d'uso e l'efficacia dei medicinali viene condotta dall'ISS e dal Ministero della Salute che operano integrando competenze e responsabilità. Nell'ambito delle varie possibilità disponibili per valutare i medicinali, di grande importanza è l'analisi delle condizioni di produzione del farmaco stesso, che devono essere rispondenti a quanto prescritto dalle Buone Pratiche di Fabbricazione (GMP). Le visite ispettive sono condotte da ispettori del Ministero e dell'Istituto, opportunamente addestrati e coadiuvati da esperti a seconda delle varie tipologie del farmaco stesso.

Come riportato nella precedente relazione per il 2005, il progetto trae origine dalle attività che si sono rese necessarie nell'ambito del processo definito di "Mutuo riconoscimento delle attività ispettive" tra Unione Europea e Canada, processo in cui è stato coinvolto sia il Ministero della Salute, responsabile delle attività ispettive, che l'ISS. L'impegno dell'Istituto è stato già determinante nel 2002, anno in cui è di fatto avvenuto il riconoscimento formale delle attività ispettive e di supporto analitico. Tale riconoscimento è stato in gran parte legato allo sviluppo per il Ministero, da parte dell'Istituto, di un Sistema di Assicurazione della Qualità (SAQ) che ha consentito di dare valenza formale a tutti quei processi di fatto già soddisfacenti da un punto di vista sostanziale. L'istituzione di una struttura di SAQ per l'Ispettorato nell'ambito dell'Istituto, con Manuale della Qualità e procedure valide, ha consentito di fatto il conseguimento di una completa equivalenza con i requisiti imposti dall'Unione Europea e dal Canada nell'ambito del processo allora in atto.

L'impegno dell'Istituto a supporto delle attività ispettive si è focalizzato nel 2003 sulla messa a regime di tutte le attività, processo che è stato già descritto nelle precedenti relazioni relative appunto al 2004 e 2005. Nell'ambito del 2006, il programma prevedeva il mantenimento a regime di tutte le attività incluse nell'accordo stesso e avviate/sviluppate con successo negli anni precedenti. In particolare, è stata mantenuta una costante capacità di condurre ispezioni con gli esperti e gli ispettori a tempo parziale dell'Istituto e gli ispettori esperti a contratto a tempo pieno. In totale, per il 2006 sono state effettuate 31 ispezioni ad officine che producono specialità medicinali e 36 ispezioni ad officine produttrici di API, per un totale di 67 ispezioni, ciascuna di durata da due (follow up) a cinque giorni, con una media di circa quattro giorni.

Nel 2006 è stato inoltre avviato e finalizzato il passaggio di consegne dall'Istituto all'AIFA del coordinamento del Sistema di Assicurazione della Qualità. Tale passaggio di consegne, previsto sin dal primo accordo di collaborazione, contempla che il responsabile dell'Assicurazione della Qualità dell'Istituto per tale attività rimanga responsabile della effettuazione degli Audit dell'intero sistema ispettivo relativo alle specialità medicinali, affiancando in via temporanea il responsabile dell'intero sistema di Assicurazione della Qualità dell'AIFA. Parallelamente, è terminata la collaborazione con il Dr. Steve Fairchild, e sono state avviate, sotto il coordinamento AIFA, altre attività di formazione per ispettori dedicati alle materie prime e per quelli dedicati alle specialità medicinali. A seguito della interruzione della collaborazione con il Dr. Fairchild, sono state anche sospese le attività, peraltro non previste all'origine, relative alle cosiddette ispezioni osservate, in cui a turno l'ispettore senior svolge e svolgerà le ispezioni in presenza del coordinatore del CCTI.

È stato inoltre rispettato per il 2006 il programma di Audit interni, a continuazione di quello definito e svolto nel 2005, anche al fine di continuare ad identificare specifici punti che possano richiedere, ad un anno e mezzo dalla messa in vigore, specifica revisione e ottimizzazione.

Attività programmata 2007

Nell'ambito del 2007 il programma prevede il mantenimento a regime di tutte le attività incluse nell'accordo stesso di recente stipulato e avviate/sviluppate con successo nel 2003, 2004, 2005 e 2006. In particolare, ci si propone di mantenere una costante capacità di condurre ispezioni ad officine che producono specialità medicinali o API con gli esperti e gli ispettori a tempo parziale dell'Istituto e gli ispettori esperti a contratto a tempo pieno, anche in considerazione dei mutamenti di organico avvenuti sia in Istituto che al Ministero della Salute in concomitanza con la creazione dell'AIFA.

Verrà continuata la programmazione della formazione degli ispettori senior, junior e degli osservatori, utilizzando prevalentemente corsi monotematici ad alta specializzazione offerti da varie strutture esterne qualificate. In particolare continuerà la formazione attraverso workshop,

giornate di formazione e momenti di scambio culturale sempre più con l'obiettivo finale di armonizzare al massimo livello possibile il comportamento dei vari ispettori, aspetto che richiede un continuo e costante lavoro per mantenere i risultati conseguiti e cercare di elevare sempre di più le capacità gestionali dell'ispettore stesso.

È inoltre ovviamente previsto anche per il 2007 un programma di Audit interni a continuazione di quello definito e svolto nel 2003, 2004, 2005 e 2006, in base a quanto stabilito dal SAQ in vigore e in accordo con il Responsabile dell'Assicurazione della Qualità dell'AIFA.

Autorizzazione alla sperimentazione clinica di fase I

La sperimentazione clinica di fase I riguarda il primo impiego di un nuovo farmaco sull'uomo ed è volta a stabilire il profilo di tollerabilità e quello farmacocinetico/metabolico del prodotto e talvolta, nei casi di impiego sui malati, anche alcuni parametri di efficacia. Al fine di eseguire tale sperimentazione in condizioni di sicurezza per i soggetti da arruolare è necessaria una corretta interpretazione dei risultati della sperimentazione preclinica.

La valutazione di questi risultati, ai fini della definizione degli effetti tossici e farmacodinamici sull'uomo, è un'attività di "eccellenza" in campo regolatorio, per la quale è necessario coinvolgere esperti con elevata competenza in particolari settori (qualità, farmacologia e tossicologia previsionale) e consolidata esperienza nella valutazione dei farmaci ai fini regolatori.

Così la normativa italiana, sin dal 1973 (Legge 519/73), ha previsto la formulazione di un parere dell'ISS prima di avviare la sperimentazione clinica di fase I in Italia. I decreti attuativi, emanati nel 1977 (DM 28 luglio 1977 e 25 agosto 1977), hanno definito le procedure e le documentazioni tecniche da allegare alla domanda.

Tale attribuzione all'Istituto è stata reiterata dapprima nel DPR 754/1994 e, successivamente, nel DPR 70/2001, che all'art. 2, comma 3, lettera c), afferma che l'ISS: "provvede all'accertamento della composizione ed innocuità dei prodotti farmaceutici di nuova istituzione prima della sperimentazione clinica sull'uomo".

Il DPR 21 settembre 2001 n. 439, ha introdotto una serie di misure per la semplificazione delle procedure, al fine di rendere più celere il processo globale di autorizzazione all'avvio della sperimentazione clinica di fase I in Italia. Fra queste, si demanda al Presidente dell'ISS l'identificazione della documentazione tecnica da allegare alla domanda. Ciò al fine di adeguarla tempestivamente alle nuove acquisizioni della scienza e alle linee guida emanate dagli organismi nazionali e comunitari, dove tra l'altro partecipano anche esperti dell'ISS.

Negli ultimi cinque anni si è assistito alla riduzione del numero di domande da parte dell'industria farmaceutica (da una media di 30/anno fino alla prima metà degli anni '90 ai 3-5/anno attuali), mentre si è registrato un crescente interesse di istituzioni di ricerca pubbliche (Università, IRCCS, ecc.) con proposte terapeutiche innovative (sei nei primi cinque mesi del 2002).

Negli ultimi anni, con la selezione di farmaci prodotti con le nuove tecnologie, il processo di valutazione delle domande è divenuto più complesso. Così, per facilitare i potenziali utenti nella preparazione del dossier, l'Istituto ha avviato un programma di audizioni *pre-submission* con i loro esperti, per una discussione preliminare della qualità e della validità dei risultati ottenuti negli studi preclinici.

Inoltre l'Istituto ha avviato una serie di iniziative, fra le quali vanno citate: i) la pubblicazione di due linee guida per i prodotti di terapia genica e cellulare somatica (Notiziario dell'ISS, 1996 e 1997) e, a distanza di alcuni anni (2000 e 2001), due workshop internazionali per un riesame dei loro contenuti; ii) la pubblicazione di un rapporto tecnico nel corso dell'anno

2001, per far conoscere le motivazioni scientifiche alla base delle sperimentazioni precliniche richieste; iii) un'indagine ogni tre anni per conoscere il destino dei prodotti approvati dalla Commissione dell'Istituto. Un'altra iniziativa è rappresentata dalle Tavole Rotonde che si svolgono ogni anno per una verifica dell'innovatività di singole categorie di farmaci, sulla base dei dati clinici consolidati, con particolare riguardo per quelli esaminati dalla Commissione dell'Istituto. Quest'ultima iniziativa consente, tra l'altro, un riesame critico dei contenuti del parere formulato a suo tempo dall'Istituto e delle strategie precliniche di selezione dei nuovi farmaci.

Con queste iniziative e altre simili, l'Istituto svolgerà un ruolo che avrà importanti ricadute sullo sviluppo della ricerca clinica in Italia e, più indirettamente, sulla cultura del farmaco nella classe medica.

Resoconto attività 2006

Nelle 11 sedute ordinarie, in quella straordinaria e nelle tre audioconferenze svoltesi durante il 2006, sono state esaminate 30 domande (11 presentate nel 2005), delle quali ne sono state approvate 18 (otto presentate nel 2005). Le sperimentazioni proposte erano indirizzate al trattamento di patologie ad elevato impatto sociale con prodotti biologici e biotecnologici (N=17) e di sintesi (N=16). L'intervallo di tempo intercorso fra la presentazione delle domande e il completamento dell'istruttoria si è significativamente ridotto (N=17, 93 giorni, escludendo quella conclusa per scadenza dei termini), soprattutto per le richieste presentate nel corso del 2006 (N=9; 42 giorni). La documentazione tecnica allegata è stata giudicata insufficiente o inadeguata per 18 domande. È stato così necessario acquisire documentazione aggiuntiva, e in cinque casi la Commissione ha ritenuto opportuno, su indicazione degli esperti dell'Istituto, convocare i proponenti per facilitare lo scambio di informazioni e quindi la soluzione dei problemi. I prodotti che hanno mostrato maggiori carenze di qualità, efficacia e sicurezza sono stati quelli di terapia cellulare (8/12 domande) destinate a proposte innovative (patologie renali, neurologiche, odontoiatriche, ortopediche). Le maggiori carenze hanno riguardato le modalità di preparazione dei prodotti in GMP e, l'adeguatezza degli studi eseguiti per supportare il razionale d'impiego nella indicazione preconizzata.

La Commissione ha giudicato positivamente, sulla base delle relazioni degli esperti, le misure attuate per soddisfare le condizioni cui era soggetta l'approvazione di cinque sperimentazioni e i rapporti finali sui risultati tre sperimentazioni. Inoltre ha approvato 125 emendamenti relativi a 23 sperimentazioni, mentre in un caso ha espresso parere negativo, la maggior parte dei quali ha riguardato il protocollo clinico (42 maggiori e 42 minori).

Rispetto all'anno precedente, il numero totale di domande presentate dalle industrie (11) e dalle istituzioni di ricerca è rimasto sostanzialmente invariato (8), anche se è osservata una tendenza all'aumento di quelle delle multinazionali (da cinque a otto) ma sono mancate quelle dagli Ospedali. Le sperimentazioni sponsorizzate dall'industria riguardavano studi multicentrici in campo oncologico, mentre quelle proposte dalle istituzioni di ricerca riguardavano studi pilota monocentrici per la verifica di ipotesi terapeutiche innovative messe a punto dai propri ricercatori.

La Commissione ha soddisfatto 13 domande di "*Scientific Advice*", per sei delle quali è stata presentata nel corso dell'anno la domanda di autorizzazione alla sperimentazione. Tuttavia, solo per una di esse si è conclusa l'istruttoria, mentre per le altre cinque è stata richiesta integrazione della documentazione.

Nel corso dell'anno è stato approvato un nuovo regolamento per rendere più efficiente l'attività della Commissione, è stata approvata la lista degli esperti da sottoporre all'attenzione del Ministro della Salute e un nuovo modulo per la dichiarazione di interessi.

La Commissione ha inoltre formulato le seguenti proposte per superare le attuali difficoltà nello sviluppo delle sperimentazioni di terapia cellulare in Italia:

- In attesa del completamento dell'iter per l'adeguamento e la certificazione dei centri di produzione, si è deciso che la mancata presentazione di una tale certificazione comporti per le sperimentazioni autorizzabili un parere di "principio" sullo studio proposto, mentre l'effettiva autorizzazione sarà concessa dopo la presentazione del certificato di autorizzazione.
- Per superare il rallentamento dello sviluppo della terapia cellulare causata dalla scarsità di centri di produzione accreditati, è stato preparato un documento, da sottoporre all'attenzione del Ministro della Salute, che propone la realizzazione di un sistema nazionale per la preparazione in condizioni GMP conformi alla direttiva europea 23/2004 dei prodotti per terapia cellulare, analogamente a quanto è avvenuto negli USA.

La Commissione ha proposto alla Società Italiana di Farmacologia, che ha accettato, di fare un Simposio sulla sperimentazione clinica di fase I in Italia nel corso del congresso annuale della Società.

Infine, si sono tenute una serie di audizioni su argomenti specifici.

Al fine di promuovere la sperimentazione clinica in Italia, in un incontro con i massimi vertici della Farmaindustria, sono state esaminate le strategie utili alla promozione della sperimentazione clinica di fase I nel nostro Paese.

Al fine di avviare un clima di collaborazione con i ricercatori clinici che svolgono sperimentazioni con terapia genica e cellulare somatica, in un incontro con i responsabili dei centri dove si svolgono le sperimentazioni di questo tipo riportate nella Banca dati, è stata presentata la scheda informatica definitiva, che introduce, tra l'altro, una serie di semplificazioni delle procedure di immissione dei dati.

Un ricercatore del Dipartimento del Farmaco ha riportato la discussione svoltasi presso l'EMA sul grave evento avverso occorso in Inghilterra nel corso di una sperimentazione clinica di fase I con un anticorpo monoclonale, evidenziando come nel protocollo clinico non siano stati tenuti in attenta considerazione i risultati ottenuti negli studi preclinici.

In una seconda audizione, lo stesso ricercatore ha informato la Commissione sulla discussione in corso presso il *Safety Working Party* dell'EMA di proposte per aggiornare gli studi preclinici necessari per autorizzare la sperimentazione clinica di fase I, chiedendo il supporto della Commissione in ragione della sua più che decennale esperienza nel settore.

Un ricercatore del Dipartimento Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, ha illustrato le linee-guida europee sulla mutagenesi, e il loro impatto sulla procedura di autorizzazione delle sperimentazioni cliniche di fase I. Anche se non rientrano fra le valutazioni obbligatorie ai fini dell'autorizzazione della fase I, questi studi sono sempre stati esaminati, anche ai fini della salvaguardia degli operatori sanitari, ai quali occorre fornire complete informazioni sugli eventuali rischi della manipolazione dei prodotti impiegati.

È iniziato il programma di audizioni dei responsabili delle sperimentazioni cliniche riportate nella Banca dati con il responsabile del protocollo di trattamento con cellule mesenchimali autologhe della sclerosi laterale amiotrofica. Si è convenuto di riesaminare l'andamento dei pazienti in una fase più avanzata del follow up.

Attività programmata 2007

Oltre alla normale routine di valutazione delle domande di sperimentazione clinica di fase I in Italia, e al programma di approfondimento di temi specifici di natura tecnica che via via saranno identificati (è già programmato l'incontro per approfondire la sicurezza degli anticorpi monoclonali approvati dalla Commissione), proseguirà il programma di audizioni