

Notiziario

dell'Istituto Superiore di Sanità

Direttore reggente dell'Istituto Superiore di Sanità e Responsabile scientifico: Aurelia Sargentini
 Direttore responsabile: Vilma Alberani; Redazione: Gabriella Bucossi, Paola De Castro Pietrangeli, Franco Timitilli
 Composizione, Stampa e Distribuzione: Patrizia Mochi, Massimo Corbo
 Redazione, Amministrazione e Stampa: Istituto Superiore di Sanità, Servizio per le attività editoriali, Viale Regina Elena, 299 - 00161 Roma
 Tel. (06) 49901 - Telex 610071 ISTSAN I - Teleg. ISTISAN - 00161 Roma - Telefax (06) 49387118
 Iscritto al n. 475/88 del 16 settembre 1988. Registro Stampa Tribunale di Roma
 © Istituto Superiore di Sanità 1996

Documentazione richiesta per l'avvio degli studi clinici con prodotti per terapia genica: proposta di linee guida e richiesta di commenti

La Commissione per l'accertamento della composizione ed innocuità dei prodotti farmaceutici di nuova istituzione prima della sperimentazione clinica sull'uomo, istituita presso l'Istituto Superiore di Sanità per adempiere alle attività dell'Istituto previste dall'art. 1, comma c, del DPR n. 754 del 21/9/1994, ha sentito la necessità di elaborare linee guida sulla documentazione che il proponente dovrà presentare per la valutazione delle richieste di autorizzazione ad iniziare in Italia sperimentazioni cliniche di fase I e I/II per protocolli di terapia genica.

La proposta qui presentata è stata elaborata da un gruppo di esperti ad hoc individuato nell'ambito dell'Istituto Superiore di Sanità ed è stata approvata dalla Commissione nella seduta del 6/6/1996.

Nel redigere queste linee guida, il gruppo di esperti ha tenuto in considerazione le analoghe raccomandazioni contenute nel do-

documento "Points to consider in human somatic cell and gene therapy" della Food and Drug Administration statunitense, e anche le considerazioni contenute nel documento CEE III/5863/93 "Gene therapy products - Quality aspects in the production of vectors and genetically modified somatic cells". Le indicazioni contenute in quest'ultimo documento sono state opportunamente adattate al caso di prodotti che non hanno ancora raggiunto lo stadio di autorizzazione alla commercializzazione.

La Commissione desidera ora raccogliere l'opinione e i commenti del mondo scientifico italiano interessato agli aspetti oggetto delle linee guida proposte.

Si prega di inviare, nel termine di due mesi dalla data di questa pubblicazione, commenti ed osservazioni al Coordinatore del gruppo di esperti dell'Istituto, Prof. Marino Massotti, Segreteria della Commissione di "Comma c", Laboratorio di Farmacolo-

gia, Istituto Superiore di Sanità, Viale Regina Elena 299, 00161 Roma (fax 06-49387104).

Documentazione richiesta per la prima esposizione sull'uomo di prodotti per terapia genica

Premessa

Le indicazioni fornite in queste linee guida si riferiscono esclusivamente alla sperimentazione clinica di prodotti per la terapia genica somatica nell'uomo, escludendo tassativamente la possibilità di considerare proponibile qualsiasi tipo di terapia genica della linea germinale umana.

Ai fini dell'applicazione delle seguenti norme, si considerano prodotti per la terapia genica non solo quelli ottenuti su scala industriale in stabilimenti farmaceutici, ma anche quelli prodotti su scala

pilota in laboratori di ricerca non industriali.

I diversi tipi di prodotti, elencati nella Tabella 1, di cui si può prevedere un'utilizzazione a scopi di profilassi, diagnosi o terapia intesa a modificare il materiale genetico di cellule somatiche, pongono problemi diversi nella valutazione preliminare alla autorizzazione alla sperimentazione clinica, che pertanto potrà richiedere documentazione diversa caso per caso.

Non è considerato il caso di brevi polinucleotidi, normalmente sintetizzati per via chimica, potenzialmente utilizzabili come oligonucleotidi antisense né altri casi di introduzione di materiale genetico ai fini di ottenere un'espressione transiente.

La valutazione dei protocolli da parte dell'autorità com-



Tabella 1. - *Tipi di prodotti per terapia genica*

1) Acidi nucleici liberi	sintetizzati e/o amplificati per via biosintetica o chimica, eventualmente inseriti in plasmidi o cassette appropriati
2) Acidi nucleici complessati	come sopra, ma complessati con sali, proteine o altri polimeri, o incapsulati in liposomi
3) Vettori virali deficienti per la replicazione	retrovirus, adenovirus o altri virus (es. adeno-associati, <i>Herpes simplex</i>) in cui è stato inserito il gene terapeutico e che sono stati resi incapaci di sostenere la propria replicazione
4) Cellule geneticamente modificate	cellule umane, mantenute e modificate <i>in vitro</i> con l'introduzione del gene terapeutico, le quali possono essere reintrodotte o trapiantate in tessuti o organi del paziente

petente, considerando lo sviluppo recente delle problematiche, la limitatezza dell'esperienza e il rapporto rischio-beneficio, sarà fatta caso per caso e terrà conto delle seguenti informazioni:

1. Presupposti e obiettivi della sperimentazione clinica.
2. Descrizione del costrutto genico e delle modalità di ottenimento.
3. Metodi di produzione e purificazione.
4. Caratterizzazione della qualità del prodotto.
5. Documentazione preclinica della tollerabilità del prodotto.
6. Documentazione preclinica dell'efficacia del prodotto.
7. Protocollo clinico.
8. Reclutamento e selezione dei soggetti.
9. "Follow up".
10. Consenso informato.
11. Diritto alla riservatezza.
12. Considerazioni in termini di salute pubblica.

13. Qualificazione del personale coinvolto nella ricerca.

14. Strutture cliniche e loro organizzazione.

15. Parere del Comitato etico locale.

1. Presupposti ed obiettivi della sperimentazione clinica

Dovrà essere data giustificazione della sperimentazione e della sua validità scientifica. Dovranno essere specificati gli obiettivi della ricerca e i benefici attesi rispetto ad eventuali terapie alternative consolidate. Dovranno essere descritti gli effetti attesi come conseguenza dell'espressione genica prevista, il livello di espressione necessario, e qualsiasi informazione circa possibili conseguenze di un livello di espressione superiore o inferiore.

In particolare si dovrà indicare:

- Gli obiettivi e le basi razionali della ricerca e se si tratta di ricerca con finalità tera-

peutiche o finalità non terapeutiche. Indicare, in modo sintetico, contro quale malattia o gruppo di malattie la ricerca è diretta; in che modo la ricerca affronta il problema specifico e quali sono i potenziali benefici derivanti dall'uso degli strumenti di cui si propone la sperimentazione.

- Per quale motivo si ritiene che la terapia genica sia appropriata per la malattia in questione.

- Quali sono gli indicatori di attività della malattia disponibili per valutare il successo della terapia genica proposta.

- Se il trasferimento genico non è impiegato ai fini terapeutici, quali informazioni in più può dare rispetto alle metodiche alternative standardizzate.

- Se il trasferimento genico è operato a fini terapeutici, quali sono i benefici previsti in merito alla guarigione della malattia o ad un miglio-



mento delle condizioni cliniche del paziente o della sua qualità di vita.

- Le terapie comunemente usate, i loro vantaggi e limiti, la loro possibile applicazione in concomitanza con la terapia genica.

2. Descrizione del costrutto genico e delle modalità di ottenimento del prodotto geneticamente modificato

Deve essere fornita una descrizione dettagliata del materiale genetico funzionalmente rilevante. Questa dovrà comprendere una descrizione circostanziata dell'origine, del metodo di identificazione e di clonaggio, della capacità codificante e, ove possibile, la sequenza nucleotidica. Dovrà essere indicata qualsiasi modificazione (es: mutazione sito-specifica, delezione, riarrangiamento) apportata a geni funzionali rispetto al corrispettivo naturale.

Dovranno essere indicati in dettaglio i metodi seguiti per l'amplificazione del materiale genetico per la sua incorporazione nel prodotto finale o in un vettore per amplificazione secondaria. Ove possibile, dovranno essere inclusi dettagli di tutte le sequenze nucleotidiche presenti nel materiale genetico, necessarie per la sua replicazione in cellule procariotiche ed eucariotiche e per la sua espressione in queste ultime. Le cellule usate per l'amplificazione del materiale genetico dovranno essere caratterizzate compiutamente, con indicazione del-

la storia della linea cellulare, delle caratteristiche che ne consentono l'identificazione, della possibilità di contaminazione. Si dovrà porre particolare attenzione alla possibilità di cross-contaminazione con altre cellule o virus.

Dovrà essere fornita evidenza circa l'assenza di errori di sequenza introdotti nel corso dell'amplificazione del materiale genetico, errori che potrebbero portare alla sintesi di una proteina anomala o dotata di effetti biologici o immunologici indesiderati. Oltre alla correttezza della sequenza nucleotidica, o almeno della sua capacità di codificazione, dovrà essere documentata la sua stabilità prima e, se del caso, dopo il trasferimento alle cellule bersaglio.

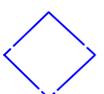
Nel caso in cui il materiale genetico venga complessato con sali, proteine o altri polimeri, incapsulato in liposomi, o adsorbito a particelle organiche o inorganiche, tutti i componenti del vettore finale, anche se riuniti subito prima dell'uso, dovranno essere completamente caratterizzati. Dovrà essere fornita una descrizione completa del procedimento di costruzione del vettore insieme ad una descrizione e caratterizzazione completa di tutti i materiali utilizzati che, ove sia il caso, dovranno essere di qualità farmaceutica.

Nel caso in cui il vettore sia un virus difettivo per la replicazione, dovrà essere fornita documentazione completa circa l'origine, la storia e altre caratteristiche del virus

parentale, gli "stock" di virus utilizzati e i metodi di propagazione.

Dovrà essere data completa descrizione e caratterizzazione, oltre che del materiale genetico introdotto, delle parti del genoma virale cui il materiale genetico viene legato, nonché delle modificazioni apportate alle sequenze virali residue e di eventuali altre sequenze (es. promotore) comunque presenti nel genoma ricombinante. Dovrà essere descritta in dettaglio la linea cellulare di impaccettamento, nonché la natura, la funzione e, se possibile, la localizzazione (es. nucleare, su uno o più plasmidi) delle sequenze virali presenti nella linea cellulare. Per quest'ultima dovranno essere descritte l'origine, l'identità e le caratteristiche biologiche, insieme a informazioni dettagliate sulla presenza o assenza di particelle o di sequenze virali endogene. Dovranno essere stabilite anche cellulari, primaria e di lavoro, ben definite. E' essenziale la dimostrazione di assenza di contaminazione da microrganismi avventizi quali virus, batteri compresi i micoplasmi e funghi.

Dovrà altresì essere fornita una descrizione completa dei procedimenti usati per trasferire il genoma virale ricombinante nelle cellule di impaccettamento. Ove queste non contenessero sequenze virali capaci di complementare il genoma ricombinante, ma il procedimento prevedesse la co-infezione con altri costrutti



o virus, questi dovranno essere descritti in dettaglio. Dovranno essere descritte, inoltre, eventuali tecniche di selezione volte a isolare cellule produttrici di vettori virali deficienti per la replicazione.

Infine, dovrà essere descritto il metodo usato per controllare l'assenza di forme competenti per la replicazione, specificando i limiti di sensibilità del metodo. Dovranno essere definiti e completamente caratterizzati gli "stock" virali primario e di lavoro.

Nei casi in cui il prodotto da somministrare è costituito da cellule geneticamente modificate e propagate *in vitro*, dovrà essere fornita piena documentazione circa l'origine, la storia, la costruzione e le caratteristiche delle cellule. Se del caso, dovranno essere stabilite anche cellule primarie e di lavoro, ben definite e dovranno essere ben descritte le condizioni di propagazione. Dovrà esserne dimostrata o ben caratterizzata l'omogeneità e la stabilità. Dovrà esserne riportata qualsiasi alterazione nel cariotipo, nella morfologia, nelle funzioni o nel comportamento (es. capacità di migrazione) rispetto alle cellule non modificate. È essenziale la dimostrazione di assenza di contaminazione da agenti avventizi quali virus, batteri (compresi i micoplasmi) e funghi, e dovrà essere controllata la possibile riattivazione di virus latenti (es. herpes, Epstein-Barr, citomegalovirus). Andrà, inoltre, considerata la possibilità che la modificazione introdotta alteri l'immunogenicità delle cellule, ad esempio a causa

dell'espressione di proteine non umane o di proteine precedentemente non espresse a causa dello specifico difetto genetico del paziente.

Se le cellule non provengono dal paziente, valgono le considerazioni immunologiche e di istocompatibilità che valgono per i trapianti di tessuto.

3. Metodi di produzione e di purificazione

Il processo di produzione dovrà essere descritto in dettaglio, con indicazione di volumi, tempi, modalità di raccolta e di conservazione. Dovrà essere fornita una descrizione completa dei metodi usati ed una descrizione dei controlli da eseguirsi nel corso del processo di produzione. Dovrà essere quantificata la capacità di rimozione di contaminanti.

Dovrà essere documentata la riproducibilità dei processi di produzione e di purificazione sia per quanto riguarda la stabilità del materiale genetico, di cui dovrà essere controllata la sequenza almeno una volta al termine del processo completo di produzione e di purificazione, sia per quanto riguarda possibili variazioni nello spettro di impurezze (es. endotossine per prodotti ottenuti da cellule batteriche; contaminanti di origine cellulare o agenti avventizi per prodotti ottenuti da linee cellulari; sostanze chimiche usate per la purificazione, come cloruro di cesio, nel caso di virus).

Nel caso di vettori virali deficienti per la replicazione

sono essenziali saggi di sensibilità adeguata per la rivelazione di forme competenti per la replicazione a stadi opportuni durante i processi di produzione e di purificazione, sia nei supernatanti che nei sedimenti.

Se il prodotto da somministrare è costituito da cellule prelevate dal paziente, geneticamente modificate e reintrodotte nel paziente stesso entro un breve periodo di tempo, è necessario aver dimostrato che il procedimento di manipolazione *in vitro* assicura l'assenza di contaminazione da agenti avventizi.

Dovrà essere documentata (con e per altri prodotti ottenuti con la tecnologia del DNA ricombinante) la qualità di tutti i reagenti e componenti usati durante la produzione e la purificazione (es. certificato di origine per il siero fetale di vitello). È altresì da evitare l'uso di sostanze che possono provocare ipersensibilità in alcuni individui (es. penicillina o altri antibiotici β -lattamici).

Dovranno essere indicati i limiti accettabili di variabilità nella resa del processo di ottenimento del prodotto finale.

4. Caratterizzazione della qualità del prodotto

È essenziale una rigorosa caratterizzazione del prodotto attraverso l'uso di diverse metodiche biologiche, biochimiche, molecolari, immunologiche, immunochimiche e dovranno essere forniti i risulta-



ti di saggi per dimostrare l'omogeneità e l'integrità del materiale genetico presente nella preparazione finale.

Deve essere accertato il grado di purezza del prodotto da somministrare, giustificando il livello di contaminazioni considerato accettabile. Dovranno essere indicati limiti superiori stringenti per ogni contaminante identificabile. Dovranno essere indicati i criteri che conducono all'accettazione o allo scarto di una preparazione. Nel caso di vettori virali deficienti per la replicazione sono essenziali saggi per dimostrare l'assenza di forme competenti per la replicazione, con indicazione dei relativi limiti di sensibilità.

Gli studi molecolari, biologici e immunologici intesi a caratterizzare il prodotto e a rivelare e identificare impurezze o contaminazioni dovranno essere eseguiti su di un numero sufficiente di preparazioni indipendenti, al fine di garantirne la riproducibilità, e quindi la possibilità di sperimentazione clinica su più soggetti in condizioni comparabili.

5. Documentazione preclinica della tollerabilità del prodotto

Per i prodotti che utilizzano vettori virali o che sono costituiti da DNA nudo o complessato dovrà essere presentata documentazione relativa alla tollerabilità del prodotto in opportuni sistemi animali. La scelta delle specie animali per la valutazione preclinica di tollerabilità dovrà avvenire sulla base della loro utilità

come modello per la patologia considerata e per la misura dell'attività biologica del prodotto e, nel caso di vettori virali, sulla base della loro sensibilità all'infezione. Altre considerazioni che potranno avere un peso nella scelta riguardano la possibilità di condurre uno studio significativo della risposta infiammatoria e immunologica indotta dal vettore (es. disponibilità di saggi per citochine).

Dovranno essere saggiate dosi scalari del prodotto, sia in somministrazione singola sia ripetuta, in modo da poter costruire una curva dose/effetto tossico. Poiché la via di somministrazione può modificare la tollerabilità, questi studi dovrebbero essere condotti utilizzando la stessa via di somministrazione prevista per l'applicazione clinica. Ove ciò non fosse possibile (ad esempio a causa della piccola taglia delle specie animali utilizzabili) la via di somministrazione dovrà essere scelta in modo da approssimare il più possibile quella prevista per l'applicazione clinica.

Dovranno essere inclusi studi volti a determinare la localizzazione del prodotto somministrato e la sua presenza anche in organi o tessuti non-bersaglio (in particolare, la linea germinale), la persistenza sia del materiale genetico che del suo prodotto nei vari tessuti, la possibile mobilitazione del materiale genetico (ad esempio a seguito di ricombinazione *in vivo* con virus parentale), nonché la possibilità di disseminazione ("shedding").

6. Documentazione preclinica dell'efficacia del prodotto

Dovranno essere forniti i risultati di saggi che permettano di valutare almeno:

- l'efficienza di trasferimento del vettore in cellule *in vitro*;
- il livello di espressione del materiale genetico introdotto.

Ove possibile, dovrebbero essere eseguiti saggi che rivelino l'attività biologica, e non solo la presenza, del prodotto genico atteso.

In questi saggi dovrà essere ben caratterizzata la popolazione di cellule bersaglio. Si dovrà monitorare la variabilità del sistema biologico vettore/cellule riceventi, in particolare quando le cellule hanno diversa origine, e quando si segue l'espressione a lungo termine del materiale genetico transfettato. Ove possibile, simili studi di efficacia dovrebbero essere eseguiti in tessuti umani espuntati e mantenuti *in vitro* e/o in modelli animali (es. animali trapiantati con organi umani, animali transgenici). Dovranno anche essere eseguiti saggi per accertare la trascrizione tessuto-specifica (se attesa) e, se del caso, l'inducibilità del gene.

Sarebbe utile individuare opportune unità di misura dell'efficacia, ad esempio per unità di massa del DNA, al fine di caratterizzare l'attività specifica del prodotto, indicandone limiti accettabili di variabilità.

Nel caso di vettori virali deficienti per la replicazione andrà determinata, se possi-



bile, l'infettività in rapporto al numero di particelle.

7. Protocollo clinico

Si dovranno dettagliare:

- Indicazioni su forma, modalità e tempi di somministrazione.

- Giustificazione della scelta del numero di soggetti da arruolare e di eventuali differenze nella forma, modalità e tempi di somministrazione tra gruppi di soggetti.

- Eventuale simultaneo trattamento con terapie convenzionali (o loro sospensione).

- Nel caso di malattie proliferative o nel caso di potenziale tumorigenicità dei vettori o delle cellule modificate usate per il trasferimento genico, indicazione delle misure intese a ridurre o eliminare le cellule neoplastiche.

- "End point" biochimici, fisiologici, patologici o clinici della sperimentazione.

- Piano temporale e descrizione dettagliata degli accertamenti da eseguire su ogni paziente. Descrizione delle procedure cliniche e dei saggi necessari per monitorare gli effetti della sperimentazione.

- Descrizione delle modalità con cui viene seguito l'inserimento del gene terapeutico e la sua espressione nelle cellule del soggetto, e delle tecniche con cui ne verrà accertato il confinamento alle cellule bersaglio.

- Nel caso di trattamento con vettori virali difettivi, descrizione delle modalità di accertamento di fenomeni di disseminazione ("shedding") e presenza di forme competenti per la replicazione nei

tessuti del paziente.

- Indicazione di possibili rischi accidentali, modalità di prevenzione o contenimento, eventuali modificazioni nell'assistenza clinica al soggetto.

- In caso di morte, indicare quali studi *post mortem* possono essere necessari.

Nota. Possibili conseguenze indesiderate dell'uso clinico di prodotti per terapia genica da considerare nella valutazione del protocollo clinico.

a) *Mutagenesi inserzionale.* L'integrazione di materiale genetico esogeno nel genoma di cellule bersaglio può dare luogo a:

- inattivazione di un gene soppressore di tumori;

- cis- o trans-attivazione di proto-oncogeni o altri geni capaci di promuovere proliferazione;

- variazioni nella capacità delle cellule a rispondere ad agenti quali fattori di crescita, citochine o ormoni, con conseguente acquisizione di potenziale tumorigenicità. Elementi importanti per la valutazione del protocollo clinico, che andranno opportunamente specificati, sono pertanto: il numero di copie introdotte per cellula e capaci di integrarsi a caso nel DNA, la necessità di applicazioni terapeutiche ripetute.

b) *Riattivazione di virus latenti.* Il protocollo clinico dovrà prendere in considerazione la possibile riattivazione nel paziente di virus latenti (quali virus herpes, Hepstein-Barr, citomegalovirus) e prevedere relativi adeguati controlli sia nella selezione dei

pazienti che nel periodo di osservazione successivo alla terapia.

Altrettanto vale per la possibilità di complementazione nel paziente di vettori virali deficienti per la replicazione per la presenza di virus endogeni.

c) *Effetti immunitari.* La sovraespressione del gene terapeutico, in particolare in organi o tessuti non-bersaglio, può portare ad una attivazione indesiderata del sistema immune (es. risposte infiammatorie croniche, conseguenze di tipo autoimmune). Dovrà essere presa in considerazione l'immunogenicità del prodotto del gene introdotto, indipendentemente dal fatto che il meccanismo di azione previsto sia mediato o meno dalla risposta immune. Lo stato immunitario del paziente nei confronti di vettori virali potrà costituire un criterio importante di inclusione o esclusione.

d) *Mobilizzazione del materiale genetico.* La competenza alla replicazione recuperata *in vivo* a seguito di co- o superinfezione del paziente con virus correlati, oppure a seguito di eventi di ricombinazione con sequenze virali endogene, può portare alla mobilizzazione del materiale genetico verso cellule non-bersaglio (es. cellule della linea germinale), o alla sua diffusione al personale della clinica, ai familiari del paziente o ad altri. Nel protocollo clinico dovranno essere descritte le misure adatte a riconoscere e a minimizzare questi rischi.



8. Reclutamento e selezione dei soggetti

- Descrizione dei criteri di inclusione con particolare attenzione: 1) alla eliminazione dei rischi di trasferimento del materiale genetico modificato alla linea germinale e al feto, 2) allo stato immunitario dei soggetti in relazione al vettore virale usato, e con la consapevolezza che l'arruolamento di bambini è consentito solo nel caso in cui sia indispensabile e non sia possibile ottenere le stesse informazioni con soggetti adulti o con altri metodi.

- Descrizione dei criteri di esclusione.

9. Follow up

- Indicare le modalità con cui il soggetto verrà seguito, una volta finita la sperimentazione, con quale frequenza, per quale durata.

10. Consenso informato

La richiesta di consenso informato deve seguire le disposizioni generali in materia.

Il soggetto interessato o il suo tutore, in caso di bambini, deve avere l'opportunità di ottenere il parere di esperti indipendenti prima o anche dopo il rilascio del consenso.

Il consenso deve riguardare non solo gli aspetti propri della ricerca ma anche il trasferimento, in forma anonima, di ogni informazione personale del partecipante alle autorità di controllo, che sono tenute al segreto professionale.

E' necessario, inoltre, indi-

care esplicitamente nel modello di consenso informato:

- Se la partecipazione alla ricerca offra o meno la possibilità di un beneficio clinico.

- Se e per quanto tempo il paziente dovrà essere mantenuto in isolamento e in base a quali criteri potrà uscirne.

- Se il paziente dovrà praticare misure contraccettive in considerazione dei rischi per la prole.

- Se e in che modo viene modificata l'assistenza clinica del soggetto, rispetto ad eventuali terapie standard, e se il soggetto debba essere sottoposto ad ulteriori procedimenti invasivi.

- Se la ricerca preveda un "follow up" per tutta la durata della vita del soggetto, eventualmente esteso anche alla sua prole, e quali ne siano le ragioni.

Copia del modello di consenso informato deve essere allegata alla domanda.

Il consenso informato deve essere rilasciato anche dal personale medico e paramedico direttamente coinvolto nella ricerca.

11. Diritto alla riservatezza

Indicare quali misure saranno adottate per garantire la riservatezza dei soggetti e dei loro familiari.

12. Considerazioni in termini di salute pubblica

- Indicare quali sono le possibilità teoriche che il vettore contenente il DNA modificato possa propagarsi oltre il bersaglio previsto (es. diffusione di vettori competenti per

la replicazione, ricombinazione con virus "helper", ecc.).

- Indicare le misure intese a minimizzare o eliminare il rischio di diffusione del costrutto contenente le sequenze modificate ad altri individui o nell'ambiente.

- Indicare quali saggi sono previsti per controllare una eventuale diffusione del costrutto al di fuori del soggetto della sperimentazione.

- Indicare se e per quanto tempo il paziente dovrà essere mantenuto in isolamento e in base a quali criteri potrà uscirne.

- Indicare i criteri di selezione del personale medico e paramedico che può venire in contatto col paziente e con suo materiale biologico.

- Indicare come tale personale viene informato del protocollo sperimentale.

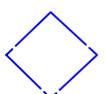
- Indicare eventuali accertamenti da eseguirsi sul personale.

13. Qualificazione del personale coinvolto nella ricerca

Accludere il *curriculum vitae et studiorum* dei ricercatori e dei clinici coinvolti nella ricerca, con particolare riferimento all'esperienza maturata nel campo specifico della sperimentazione in oggetto.

14. Strutture cliniche e loro organizzazione

- Fornire una descrizione dettagliata (includere una pianta) delle strutture in cui sarà svolta la sperimentazione.



- Fornire indicazioni sulle misure fisiche e sulle procedure atte a contenere la propagazione di agenti potenzialmente patogeni (es. barriera con sistemi a flusso di aria sterile, misure di sicurezza per il trasporto e la manipolazione di campioni o per lo smaltimento di rifiuti biologici, ecc.).

15. Parere del Comitato etico locale

Nella documentazione da inviare potrà essere incluso il parere del Comitato etico locale relativo alla proposta di sperimentazione.

Comunicazione alla autorità competente

Il responsabile scientifico della sperimentazione è tenuto a dare comunicazione all'Istituto Superiore di Sanità dell'inizio della sperimentazione e del numero dei soggetti reclutati.

Il responsabile scientifico della sperimentazione è tenuto a dare immediata comunicazione per iscritto all'Istituto Superiore di Sanità di qualunque effetto tossico o contrario o indesiderato riscontrato e ogniqualvolta un saggio di controllo per la presenza di virus competente per la replicazione dia risultato positivo, per tutta la durata della sperimentazione e se del caso per il periodo di "follow up" previsto.

Il responsabile scientifico è tenuto a presentare all'Istituto Superiore di Sanità una dettagliata relazione in duplice copia con cadenza annuale dall'inizio della sperimentazione, nella quale siano com-

presi tutti i dati raccolti ancorché negativi.

E' auspicabile che i dati raccolti nel corso della sperimentazione siano pubblicati su riviste scientifiche internazionali accreditate, ma l'eventuale pubblicazione non può sostituire in alcun modo la relazione annuale, della quale invece può fare parte integrante.

Decadenza dalla autorizzazione alla sperimentazione

Oltre ai casi già previsti dalle vigenti leggi in materia, l'autorizzazione alla sperimentazione clinica decade se entro un anno dal suo rilascio la sperimentazione non è effettivamente cominciata, a meno di accettabili giustificazioni.

L'autorizzazione alla sperimentazione clinica decade se per un periodo di un anno non è reclutato alcun soggetto, a meno di accettabili giustificazioni.

Altre norme vigenti

La preparazione, la conservazione e l'utilizzazione di prodotti per terapia genica che utilizzino vettori virali (anche se deficienti per la replicazione) o cellule geneticamente modificate ricadono sotto il Decreto legislativo n. 91 del 3/3/1993, che prescrive la notifica degli impianti dove tali operazioni avvengono (laboratori, stabulari, camere di degenza), nonché la notifica delle operazioni stesse. Pertanto qualsiasi autorizzazione alla sperimentazione clinica sarà condizionata dall'ottempe-

ranza al disposto del decreto citato.

Nei casi di cui sopra dovrà essere documentata l'avvenuta notificazione al Ministero della Sanità sia dell'impianto (camere di degenza, laboratori, stabulari) sia delle operazioni che si intende svolgere, con indicazione del numero di protocollo assegnato alle notifiche. Se già ottenuti, dovranno essere altresì allegati i relativi provvedimenti di assenso emessi dallo stesso Ministero.

L'utilizzazione terapeutica che preveda la somministrazione per aerosol di virus ricombinanti (anche se deficienti per la replicazione) ricade, inoltre, sotto il Decreto legislativo n. 92 del 3/3/1993, relativo all'immissione di organismi ricombinanti nell'ambiente (a meno che tale somministrazione non sia effettuata in locali e con modalità tali da escludere qualsiasi emissione esterna del prodotto utilizzato per aerosol).

Le responsabilità del datore di lavoro nei confronti dei lavoratori esposti a rischi da agenti biologici sono oggetto del Titolo VIII del Decreto legislativo n. 626 del 19/9/1994. Queste includono l'obbligo di comunicazione del tipo di agente biologico utilizzato all'organo di vigilanza territorialmente competente o (nei casi di maggior rischio) al Ministero della Sanità; l'obbligo di eseguire una valutazione preventiva dei rischi; l'obbligo di rendere edotto il personale dei rischi cui può essere esposto; l'obbligo di mettere in atto misure preventive adeguate, di registrare eventi accidentali, ecc.

