



CELL FACTORY O.I.R.M. S. ANNA

**PROPOSTA DI COLLABORAZIONE TRA
FONDAZIONE DE BENEDETTI - CHERASCO 1547 (ONLUS) E
O.I.R.M. S. ANNA**

20 Luglio 2006

BOZZA SOGGETTA A DISCUSSIONE

INDICE

- Obiettivi del lavoro
- Le manipolazioni cellulari e le Cell Factory
- La Cell Factory al O.I.R.M. S. Anna
- La proposta
- Allegati

OBIETTIVI DEL LAVORO

- Esaminare le esperienze, le attività svolte ed i modelli organizzativi di altri centri;
- Confermare il modello operativo e la struttura organizzativa ipotizzati per la cell factory;
- Stimare i costi di funzionamento (diretti, indiretti etc) e gli investimenti ancora da effettuare;
- Proporre un'ipotesi di collaborazione tra l'O.I.R.M. S. Anna e la Fondazione De Benedetti – Cherasco 1547 (ONLUS).

LE MANIPOLAZIONI CELLULARI E LE CELL FACTORY

CELL FACTORY – DEFINIZIONE E SETTORI DI ATTIVITÀ

Per **Cell Factory** si intende una sofisticata struttura di ricerca e di servizio, costituita da laboratori dove operano, in condizioni di microclima stabile, medici e biologi , in cui è possibile, attraverso particolari metodologie, isolare, conservare e manipolare cellule di ogni organo.

Le Cell Factory operano all'interno del settore della **manipolazione cellulare** che racchiude essenzialmente due tipologie di attività:

- **trattamenti di routine:** attività legate a consolidate tecniche di manipolazione cellulare, quali ad esempio il trapianto di midollo (autologo e allogenico)
- **terapia cellulare:** attività legate a innovate tecniche di manipolazione cellulare, quali ad esempio lo studio e l'uso di cellule staminali

La manipolazione cellulare può essere anche descritta in base alle operazioni che vengono svolte sulle cellule, in questo caso si parla di:

- manipolazione **minima:** azioni che non alterano le funzionalità proprie della popolazione cellulare (centrifugazione, deplasmazione, selezione magnetica, ecc.)
- manipolazione **estensiva:** azioni che possono alterare le funzionalità proprie della popolazione cellulare (espansione in vitro con opportuni fattori di crescita, addestramento contro precisi marcatori, ecc.)

Le Cell Factory nascono essenzialmente per sviluppare la terapia cellulare e presentano attività sia di manipolazione minima che estensiva

CELL FACTORY – SETTORE DI ATTIVITÀ

Le Cell Factory operano all'interno del settore della **manipolazione cellulare** che racchiude essenzialmente due tipologie di attività:

- **trattamenti di routine:** attività legate a consolidate tecniche di manipolazione cellulare, quali ad esempio il trapianto di midollo (autologo e allogenico)
- **terapia cellulare:** attività legate a innovative tecniche di manipolazione cellulare, quali ad esempio lo studio e l'uso di cellule staminali

La manipolazione cellulare può essere anche descritta in base alle operazioni che vengono svolte sulle cellule, in questo caso si parla di:

- manipolazione **minima:** azioni che non alterano le funzionalità proprie della popolazione cellulare (centrifugazione, deplasmazione, selezione magnetica, ecc.)
- manipolazione **estensiva:** azioni che possono alterare le funzionalità proprie della popolazione cellulare (espansione in vitro con opportuni fattori di crescita, addestramento contro precisi marcatori, ecc.)

Le Cell Factory nascono essenzialmente per sviluppare la terapia cellulare e presentano attività sia di manipolazione minima che estensiva

CELL FACTORY – ATTIVITÀ

Le Cell Factory focalizzano la loro attività in particolare su 3 ambiti:

- studio ed utilizzo di cellule staminali: manipolazione estensiva delle cellule allo scopo di trapianto (autologo e allogenico) per la rigenerazione di tessuti e di organi
- terapia cellulare antitumorale o virale (immunoterapia): “addestramento” di cellule del sistema immunitario per riconoscere le cellule malate e sviluppare una specifica risposta immunitaria
- terapia genica: modifica di parti del DNA per combattere le immunodeficienze

In realtà la terapia genica è un ambito solo potenziale in quanto ancora a livelli di primissima sperimentazione e illegale in molti Stati, Italia compresa

CELL FACTORY – FUNZIONAMENTO

Il funzionamento di una Cell Factory è fortemente normato in considerazione della criticità delle operazioni svolte, questo per poter garantire innanzitutto un elevatissimo livello di sicurezza e di qualità tanto dei prodotti cellulari manipolati, quanto delle condizioni ambientali per chi lavora al suo interno.

Per tali ragioni tali strutture operano in regime di GMP (Norme di Buona Fabbricazione dei Medicinali) e sottostanno a severe leggi e normative (vedi allegato 1).

Occorre sottolineare che il parametro più importante al quale gli ambienti di lavoro devono conformarsi è la classe di sterilità (così definita dalle norme GMP, vedi allegato 2); per legge è prescritto che la manipolazione cellulare debba avvenire in camere di classe B (n° di particelle a riposo pari a $0,5 \mu\text{m}$ per m^3 inferiore a 3.500) e che le camere dove vengono effettuati i controlli di qualità devono presentare almeno condizioni di classe C (n° di particelle a riposo pari a $0,5 \mu\text{m}$ per m^3 inferiore a 350.000) .

CELL FACTORY – FUNZIONAMENTO

Essenzialmente in una Cell Factory si compiono le seguenti attività:

- selezione di cellule (attraverso separazione per differenza di densità, centrifuga, o separazione magnetica, es. Clinimacs[®])
- coltivazione ed espansione in vitro (attraverso l'uso di terreni di coltura e di fattori di crescita specifici per indirizzare lo sviluppo della cellula staminale o l'uso di specifici antigeni per sviluppare la risposta immunitaria da parte dei linfociti)
- controlli di qualità (controlli svolti per assicurare la qualità del prodotto cellulare manipolato)

Le apparecchiature standard per una Cell Factory sono:

- Cappe a flusso laminare (all'interno delle quali il personale manipola i prodotti cellulari)
- Incubatori (apparecchiature dove conservare le cellule in espansione)
- Centrifughe e separatori magnetici (per selezionare i tipi di cellule desiderati)
- Apparecchiature di controllo (microscopi ottici, citofluorimetri, contaglobuli, ecc...)

CELL FACTORY - LA SITUAZIONE IN ITALIA

La presenza in Italia di Cell Factory attive ed in possesso dell'autorizzazione AIFA* è limitata alla sola Lombardia, dove operano la Cell Factory dell'Ospedale S. Raffaele di Milano e la Cell Factory dell'ARETA International, un'azienda privata specializzata nel campo della manipolazione cellulare.

In Lombardia operano anche altri laboratori, tra cui la Cell Factory "Franco Calori" presso il Policlinico di Milano (sorta nel 2000), il Laboratorio di terapia cellulare 'G.Lanzani' presso gli Ospedali Riuniti di Bergamo, il Laboratorio di terapia cellulare "S. Verri" dell'Ospedale San Gerardo di Monza.

Questi laboratori, come le altre realtà italiane, sono però ancora in attesa dell'autorizzazione da parte del Ministero della Salute.

A completare il panorama della situazione italiana ci sono i progetti di apertura di altre Cell Factory, in particolare in Veneto, a Padova e Venezia, in Abruzzo, tramite un'iniziativa pubblico-privata per lo sviluppo di farmaci antitumorali e in Sicilia, presso l'Istituto Mediterraneo per i trapianti e terapie ad alta specializzazione di Palermo



*Agenzia Italiana del Farmaco, ente del Ministero della Salute che rilascia le autorizzazioni alla produzione, oltre ai relativi certificati di conformità alle GMP, per le diverse tipologie di siti produttivi di farmaci, comprese le produzioni per sperimentazione clinica

CELLULE STAMINALI – DEFINIZIONE

Le **cellule staminali** sono cellule immature, non specializzate e in grado di dividersi per periodi indefiniti per autoriprodursi e per dare origine ai numerosi tipi di cellule specializzate che eseguono specifiche funzioni dell'organismo, i tessuti (esempio: cellule cerebrali, cellule muscolari o cellule del sangue).

A seconda della potenzialità si distinguono in:

- **Totipotenti:** in grado di differenziarsi in qualsiasi tipo di tessuto.
- **Pluripotenti** (o multipotenti): si trasformano solo in alcuni tipi di tessuti.
- **Unipotenti:** possono dar luogo solo ad uno specifico tessuto.

Le cellule staminali multipotenti possono essere isolate da alcuni tipi di tessuto presenti nel bambino e nell'uomo adulto, ove sono presenti per rimpiazzare le cellule in continuo ricambio.

In base alla fonti di raccolta si parla quindi di:

- **Cellule staminali embrionali:** prelevate cioè da embrioni
- **Cellule staminali adulte:** prelevate dal corpo umano (midollo osseo, sangue periferico, alcuni organi come fegato e pancreas, cordone ombelicale)

CELLULE STAMINALI – CARATTERISTICHE

Come detto la caratteristica principale delle cellule staminali è la potenzialità di dare origine a diverse tipologie di cellule, in relazione al tipo di tessuti che possono essere generati si parla allora di:

- **Cellule staminali emopoietiche:** in grado di generare le cellule del sangue (globuli rossi e bianchi, piastrine, linfociti, ecc).
- **Cellule staminali mesenchimali:** in grado di generare tutti i tipi di tessuti mesenchimali (ossa, cartilagini, tendini, fibre muscolari, tessuto cerebrale, ecc.)

Per maggiori dettagli si rimanda all'allegato 3

IMMUNOTERAPIA

La caratterizzazione molecolare degli antigeni tumorali umani ha consentito, in questi ultimi anni, di pianificare delle nuove strategie di immunoterapia anti-tumore da affiancare alle terapie convenzionali. Gli antigeni tumorali sono proteine cellulari che differiscono qualitativamente o quantitativamente da quelle espresse nei tessuti sani.

Gli antigeni tumorali sono riconosciuti da specifici linfociti (T CD8+ e CD4+), tuttavia, al fine di indurre delle risposte immunitarie anti-tumore efficaci, è indispensabile che gli antigeni tumorali siano presentati ai linfociti T da cellule "professioniste" della presentazione antigenica, quali le cellule dendritiche. Tali cellule sono in grado di veicolare lo stimolo antigenico ed i segnali costimolatori necessari allo sviluppo di una risposta immunitaria anti-tumore efficace.

Il trattamento prevede di prelevare cellule dendritiche al paziente, di moltiplicarle in laboratorio e "caricarle" con gli specifici antigeni tumorali, quindi di reimmetterle nell'organismo del malato per fleboclisi. In questo modo, il tumore viene aggredito con maggior forza dai linfociti T.

CELL FACTORY – UN ESEMPIO

Nel 2000 nasce a Milano, presso il Centro Trasfusionale e di Immunologia dei Trapianti del Policlinico di Milano, la Cell Factory intitolata al benefattore Franco Calori.

Dopo una fase preparatoria, durata circa 3 anni, la Cell Factory del Centro trasfusionale ha iniziato a collaborare in progetti legati alla terapia cellulare sperimentale in campo ematologico, neuromuscolare e cardiologico. Nel 2004, primo anno di attività piena, grazie al lavoro sviluppato nei laboratori della Cell Factory, sono stati trattati presso l'Ospedale Sacco di Vialba 8 pazienti affetti da infarto, presso l'Ospedale Maggiore Policlinico 8 bambini affetti da distrofia muscolare e presso il Policlinico San Matteo di Pavia 1 bambino affetto da talassemia.

Quest'ultimo intervento ha avuto grande rilievo per la particolare tecnica utilizzata, detta combinata. Il bimbo ha ricevuto le cellule staminali da due gemelle, sue sorelle; l'unità di sangue meno ricca di cellule staminali, è stata manipolata in vitro e sottoposta ad espansione, cioè a una metodologia che ha moltiplicato il numero delle staminali. L'uso della Cell Factory ha permesso una rapida e corretta espansione delle cellule, consentendo anche di abbreviare i tempi dell'attecchimento e permettendo dunque di ridurre drasticamente le complicazioni del trapianto.

Le staminali espanse, provenienti dalla placenta di una delle sorelle, sono state infuse nel piccolo malato insieme a quelle non manipolate dell'altra sorella. Si è così verificato che le cellule manipolate hanno attecchito perfettamente insieme alle altre.

La nuova tecnica usata con successo apre ora le porte alla possibilità di trapiantare con maggior successo anche gli adulti, moltiplicando in maniera efficace il numero delle staminali da utilizzare.

LA CELL FACTORY AL O.I.R.M. S. ANNA

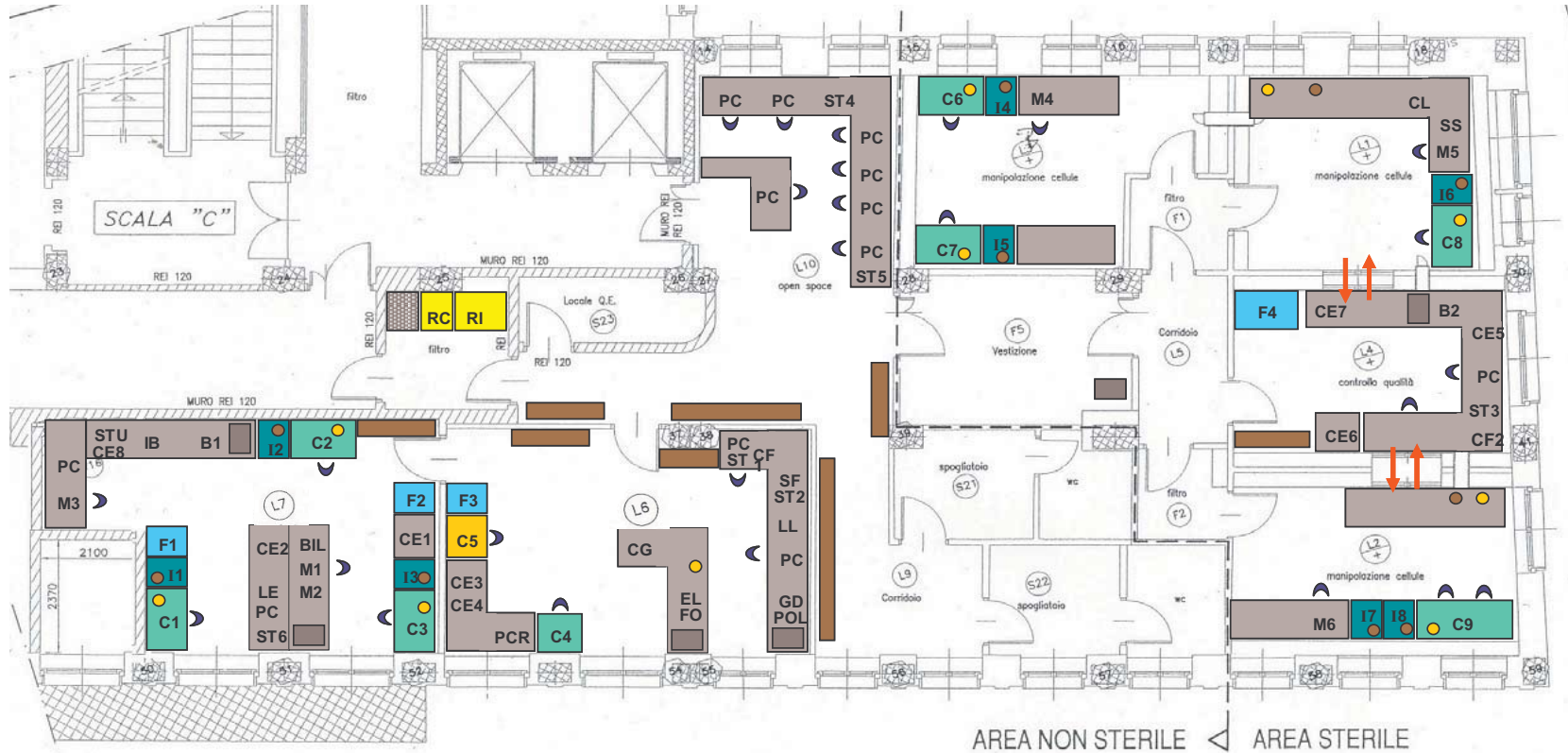
LAYOUT CELL FACTORY












La Cell Factory O.I.R.M S. Anna presenta le seguenti caratteristiche:

- il laboratorio è suddiviso in due aree principali:
 - area sterile: è la Cell Factory in senso stretto, comprende le 3 stanze sterili (classe B) nelle quali vengono materialmente eseguite le manipolazioni cellulari, una sala per i controlli qualità (classe C), due zone filtro e una sala per la vestizione
 - area non sterile: comprende 2 stanze dove sono ospitati i laboratori di supporto (che vengono utilizzati anche per attività diverse dalla Cell Factory), un open space dedicato alle postazioni informatiche e una zona filtro che ospita gli armadi refrigerati per la conservazione dei reagenti
- ogni stanza per la manipolazione cellulare è attrezzata con cappe, incubatori e microscopi; il resto delle attrezzature (a parte il Clinimacs) è alloggiato altrove per garantire a queste stanze il minimo grado di contaminazione e perturbazione dell'atmosfera.

A completamento dei lavori si avvieranno le pratiche per la richiesta di autorizzazione all'AIFA (circa 1-2 mesi).

LAYOUT CELL FACTORY



- | | |
|--|--|
|  BANCONE |  LAVANDINO |
|  CAPPA BIOLOGICA |  FABBRICATORE GHIACCIO |
|  CAPPA CHIMICA |  CHIMICI/INFIAMMABILI |
|  INCUBATORE |  ARMADIO |
|  FRIGORIFERO |  VUOTO |
| |  CO₂ |

- C = CAPPA**
CE = CENTRIFUGA
PC = COMPUTER + RETE
ST = STAMPANTE
M = MICROSCOPIO
B = BAGNETTO TERMOSTATICO
LE = LETTORE ELISPOT
CF = CITOFLUORIMETRO
CG = CONTAGLOBULI
EL = ELETTROFORESI
SS = SALDA SACCHE
POL = POLAROID

- PCR = MACCHINA PCR**
FO = FORNO MICROONDE
LL = LETTORE LAL TEST
SF = SPETTROFOTOMETRO
STU = STUFA
GD = GEL DOC
CL = CLINIMACS
IB = IBRIDIZZATORE
RC = REAGENTI CHIMICI
RI = REAGENTI INFIAMMABILI
F = FRIGORIFERO

ORIGINI DEL PROGETTO CELL FACTORY

L'obiettivo consiste nella realizzazione di una struttura in Piemonte e una in Liguria che permetta di avere due centri di riferimento all'avanguardia in grado di fornire prodotti di terapia cellulare con la possibilità di condurre terapie cellulari per le Istituzioni Ospedaliere non solo nei relativi territori regionali ma per tutto il territorio nazionale.

I vantaggi che ne derivano sono rilevanti ed evidenti su più piani:

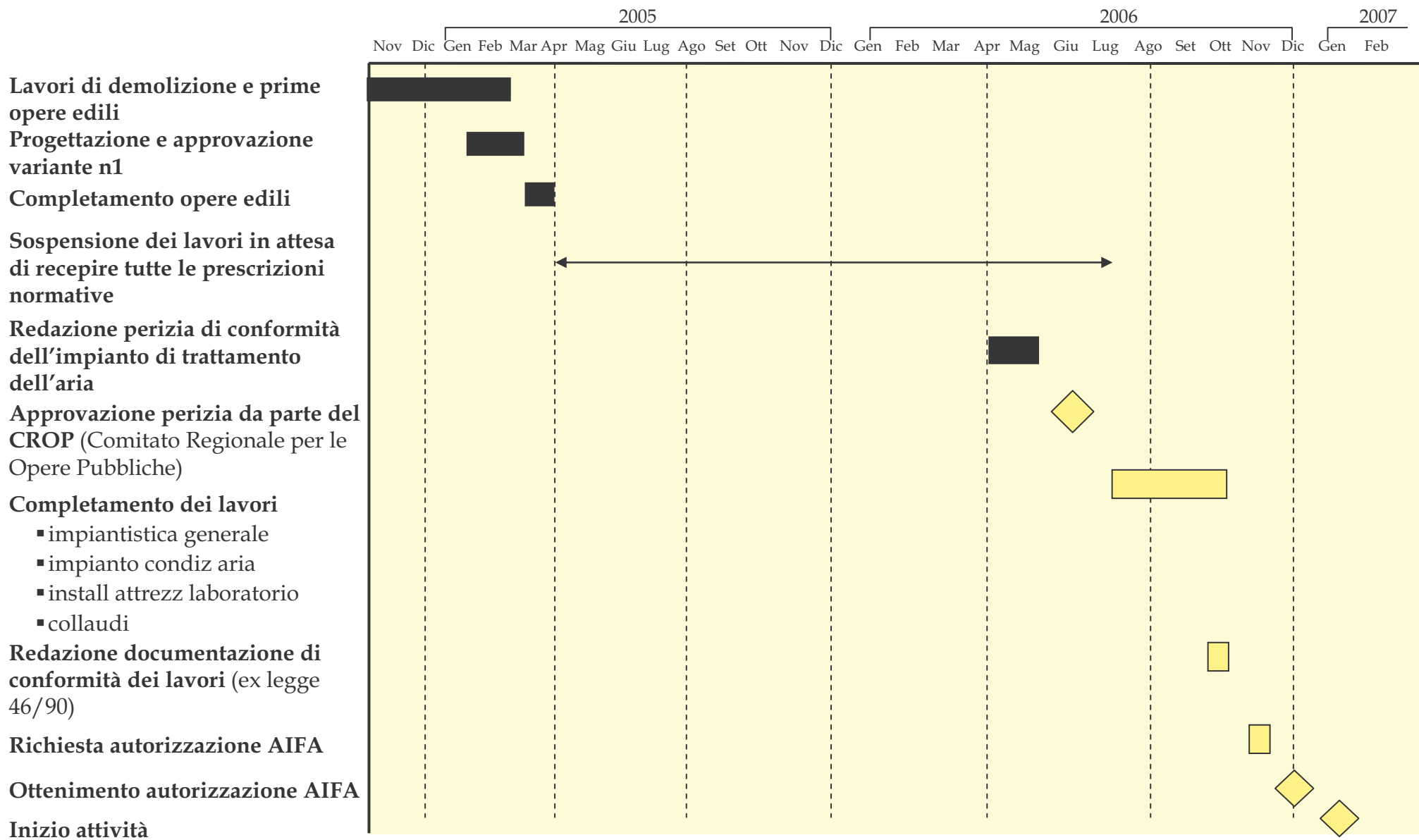
- a) assistenza sanitaria: per i Pazienti, che sono il fulcro e l'obbiettivo primario di tutte le attività del Centro l'eventuale possibilità di utilizzo delle cellule coltivate in vitro per la produzione di sostituti funzionali di organi per indurre tolleranza, rappresenta uno dei risultati più importanti della scienza trapiantologica.
- b) Ricerca: la proposta ha come obiettivo primario la ricerca traslazionale che consenta una perfetta armonizzazione fra la ricerca di base e la ricerca clinica applicata. Ciò avviene attraverso la partecipazione trasversale ai progetti di biologia delle cellule staminali e dell'ingegnerizzazione tessutale. In questi settori, infatti, l'apporto delle conoscenze biologiche è indispensabile per l'attivazione di trials clinici che abbiano come scopo la terapia cellulare.
- c) Industria: la comprensione biologica di come guidare i processi di proliferazione e differenziazione cellulari e lo sviluppo di metodologie di laboratorio determinerà importanti innovazioni tecnologiche e una partecipazione sempre più massiccia del mondo produttivo e commerciale nell'ambito medico-chirurgico, favorendo la nascita di industrie del comparto avanzato delle biotecnologie. In questa prospettiva, è possibile incrementare la collaborazione tra il settore dei servizi e quello produttivo

INVESTIMENTI

Gli investimenti per la realizzazione della Cell Factory presenti in tabella sono estratti dai quadri economici (in allegato al documento) relativi ai lavori di ristrutturazione del reparto di Oncologia Pediatrica e realizzazione dei nuovi laboratori per manipolazione cellulare

Tipologia d'intervento	Costo
Ristrutturazione reparto e realizzazione laboratori	€ 172.666,62
Realizzazione nuove camere bianche (impianti)	€ 283.747,74
Fornitura in opera macchine frigogene	€ 219.240,66
Oneri accessori	€ 139.991,72
TOTALE	€ 815.646,74

STATO AVANZAMENTO LAVORI



ATTIVITÀ DI RICERCA REALIZZABILI

Grazie alla presenza di 3 stanze sterili (classe B) si intendono realizzare 3 tipologie di progetti; in particolare, per ognuna delle tipologie, sono stati individuati diversi protocolli specifici di fase I/II

A. Selezione/Espansione di cellule staminali ematopoietiche

1. Espansione ex vivo cellule staminali emopoietiche di sangue placentare da impiegarsi in pazienti sottoposti a trapianto allogenico
2. Isolamento ed espansione di cellule CD34+ per la terapia degenerativa in pazienti affetti da infarto al miocardio
3. Selezione di cellule CD34+ per trapianto aploidentico
4. CD25+ Deplezione per trapianto aploidentico

B. Espansione di cellule staminali mesenchimali

1. Isolamento ed espansione in vitro di cellule staminali mesenchimali autologhe espanse in vitro per la terapia ricostruttiva delle atrofie alveolari
2. Isolamento ed espansione in vitro di cellule staminali mesenchimali autologhe per pazienti con sclerosi laterale amiotrofica

C. Immunoterapia

1. Produzione di un vaccino con cellule dendritiche autologhe caricate con i peptidi derivati dall'antigene prostatico di membrana per pazienti con tumore della prostata in progressione
2. Espansione di cloni linfocitari T specifici per l'osteosarcoma
3. Effetto inibitorio delle linee cellulari di osteosarcoma sulle cellule del sistema immunitario

Ognuna di queste attività necessita comunque di un attività di supporto, identificabile nei **controlli di qualità** sui prodotti manipolati

ATTIVITÀ DI RICERCA IN COLLABORAZIONE

Oltre alle attività strettamente legate ai protocolli sono state attivate nel corso degli anni le seguenti collaborazioni con altri enti:

1. Studio dei meccanismi di homing delle cellule staminali emopoietiche, in collaborazione con Istituto Weizman
2. Espansione ex vivo cellule staminali emopoietiche di sangue placentare, in collaborazione con IRCC di Candiolo (Prof. Aglietta)
3. Differenziamento delle Cellule Staminali Mesenchimali in senso neuronale, in collaborazione con Prof. Vercelli

ATTIVITÀ DI RICERCA PIANIFICATE

Le attività Cell Factory, presenti nella colonna della ricerca sperimentale, rientrano in un quadro più ampio dell'attività di ricerca del Laboratorio Centro Trapianti, vengono di seguito indicate le attività previste nei prossimi 3 anni (comprese le collaborazioni con enti esterni)

PROTOCOLLI	FASI DELLA RICERCA		
	ANNO	FASE DELLA RICERCA	N° DI PAZIENTI
A.1 Espansione ex vivo cellule staminali emopoietiche di sangue placentare da impiegarsi in pazienti sottoposti a trapianto allogenico	2007	Fase I/II	5
	2008	Fase I/II	
	2009	Fase I/II	
A.2 Isolamento ed espansione di cellule CD34+ per la terapia degenerativa in pazienti affetti da infarto al miocardio	2007	Fase I/II	10
	2008	Fase I/II	
	2009	Fase I/II	
A.3 Selezione di cellule CD34+ per trapianto aploidentico	2007	Fase I/II	2
	2008	Fase I/II	
	2009	Fase I/II	
A.4 CD25+ Deplezione per trapianto aploidentico	2007	Fase I/II	2
	2008	Fase I/II	
	2009	Fase I/II	

ATTIVITÀ DI RICERCA PIANIFICATE

Le attività Cell Factory, presenti nella colonna della ricerca sperimentale, rientrano in un quadro più ampio dell'attività di ricerca del Laboratorio Centro Trapianti, vengono di seguito indicate le attività previste nei prossimi 3 anni (comprese le collaborazioni con enti esterni)

FASI DELLA RICERCA			
PROTOCOLLI	ANNO	FASE DELLA RICERCA	N° DI PAZIENTI
B.1 Isolamento ed espansione in vitro di cellule staminali mesenchimali autologhe espanse in vitro per la terapia ricostruttiva delle atrofie alveolari	2007	Fase I/II	5
	2008	Fase I/II	
	2009	Fase I/II	
B.2 Isolamento ed espansione in vitro di cellule staminali mesenchimali autologhe per pazienti con sclerosi laterale amiotrofica	2007	Fase I/II	5
	2008	Fase I/II	
	2009	Fase I/II	

ATTIVITÀ DI RICERCA PIANIFICATE

Le attività Cell Factory, presenti nella colonna della ricerca sperimentale, rientrano in un quadro più ampio dell'attività di ricerca del Laboratorio Centro Trapianti, vengono di seguito indicate le attività previste nei prossimi 3 anni (comprese le collaborazioni con enti esterni)

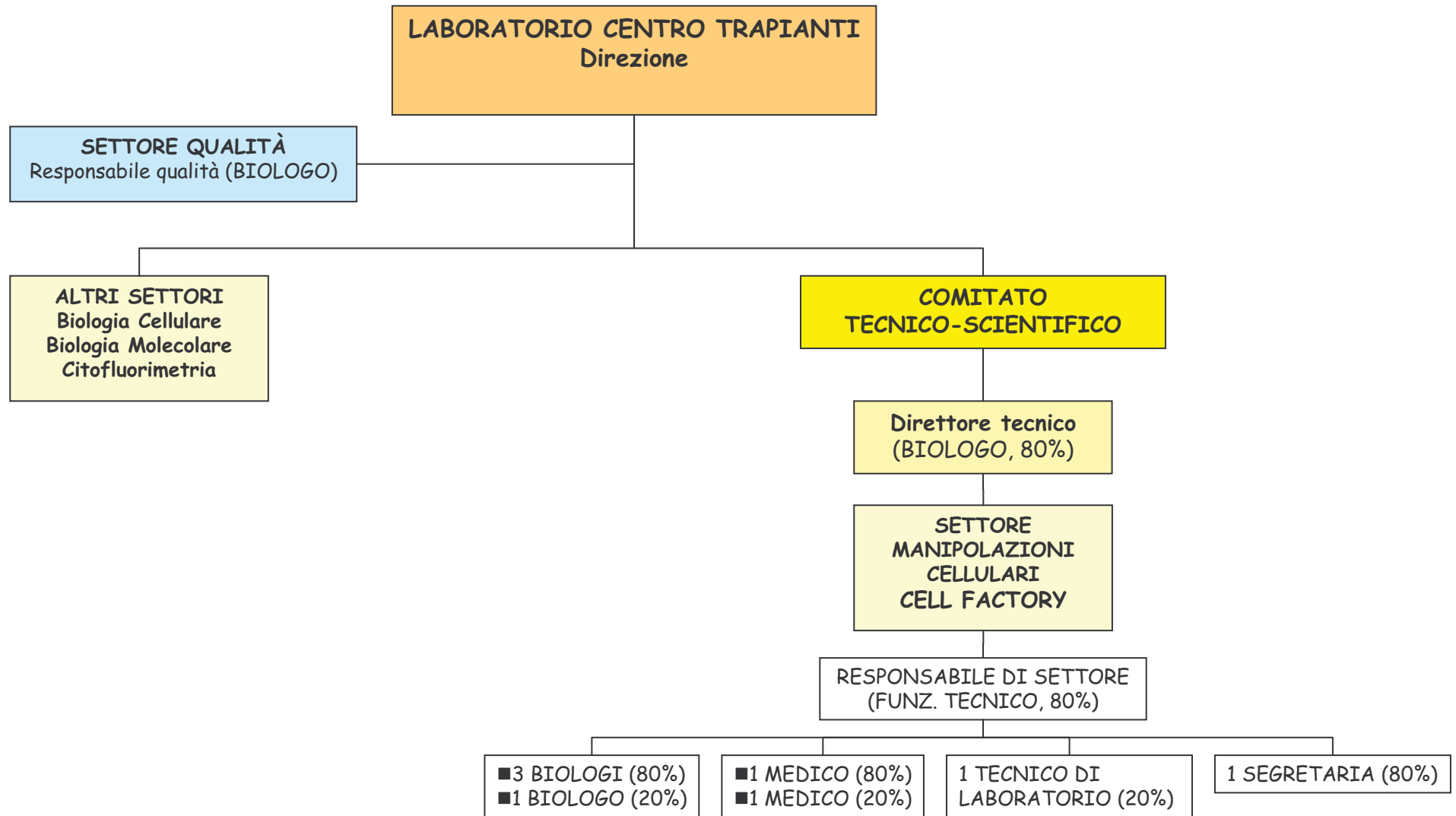
FASI DELLA RICERCA			
PROTOCOLLI	ANNO	FASE DELLA RICERCA	N° DI PAZIENTI
C.1 Produzione di un vaccino con cellule dendritiche autologhe caricate con i peptidi derivati dall'antigene prostatico di membrana per pazienti con tumore della prostata in progressione	2007	Ricerca pre-clinica in vitro	
	2008	Ricerca pre-clinica in vivo	
	2009	Fase I/II	
C.2 Espansione di cloni linfocitari T specifici per l'osteosarcoma	2007	Ricerca pre-clinica in vitro	
	2008	Ricerca pre-clinica in vivo	
	2009	Fase I/II	
C.3 Effetto inibitorio delle linee cellulari di osteosarcoma sulle cellule del sistema immunitario	2007	Ricerca pre-clinica in vitro	
	2008	Ricerca pre-clinica in vivo	
	2009	Fase I/II	

ATTIVITÀ DI RICERCA PIANIFICATE

A fronte delle 3 tipologie di protocolli attuabili si considera che il primo anno si riusciranno ad attivare protocolli relativi solo alle prime due tipologie e che si opererà per un numero totale di pazienti pari a 29, ripartiti indicativamente secondo la seguente tabella

Progetti attivabili		N° pazienti previsti
Selezione/Espansione di cellule staminali ematopoietiche		
	Progetto 1: Espansione ex vivo cellule staminali emopoietiche di sangue placentare da impiegarsi in pazienti sottoposti a trapianto allogenico	5
	Progetto 2: Isolamento ed espansione di cellule CD34+ per la terapia degenerativa in pazienti affetti da infarto al miocardio	10
	Progetto 3: Selezione di cellule CD34+ per trapianto aploidentico	2
	Progetto 4: CD25+ Deplezione per trapianto aploidentico	2
Espansione di cellule staminali mesenchimali		
	Progetto 5: Isolamento ed espansione in vitro di cellule staminali mesenchimali autologhe per pazienti con sclerosi laterale amiotrofica	5
	Progetto 6: Isolamento ed espansione in vitro di cellule staminali mesenchimali autologhe espanse in vitro per la terapia ricostruttiva delle atrofie alveolari	5
Totale		29

ORGANIGRAMMA LABORATORIO CENTRO TRAPIANTI



RISORSE ATTUALI

Qualifica	Ente di riferimento	Termine erogazione borse di studio	Settori	Ruolo	Impegno in attività Cell Factory		Impegno per attività non Cell Factory
					Diretto	Indiretto	
				Direttore laboratorio			
Biologo specialista Direttore tecnico GMP	Università		biologia molecolare biologia cellulare citofluorimetria manipolazioni cellulari	Direttore Tecnico Responsabile assicurazione di qualità		80%	20%
Funzionario Tecnico	Università		manipolazioni cellulari citofluorimetria biologia cellulare	Responsabile Settore	60%	20%	20%
Biologo borsista	Compagnia San Paolo	31/11/2006	citofluorimetria biologia cellulare manipolazioni cellulari	Responsabile gestione ordini	60%	20%	20%
Medico specialista (borsista)	"Gigi Ghirotti"	30/11/2006	manipolazioni cellulari citofluorimetria	Responsabile protocollo clinico attivazione cloni linfocitari EBV-specifici Responsabile gestione sicurezza laboratorio	60%	20%	20%
Biologo specialista (borsista)	AIL Sez. Piemonte	31/12/2006	manipolazioni cellulari biologia cellulare citofluorimetria		60%	20%	20%
Biologo specialista (borsista)	ADISCO	04/09/2006	manipolazioni cellulari citofluorimetria		60%	20%	20%
Tecnico di laboratorio	Università		biologia cellulare biologia molecolare			20%	80%
Medico borsista	ADISCO	12/02/2007	biologia cellulare			20%	80%
Biologo borsista	ADISCO	31/08/2006	citofluorimetria biologia molecolare			20%	80%
Studente medicina			biologia cellulare			20%	80%
Medico Specializzando in Pediatria			biologia molecolare			20%	80%

COSTI DEL LABORATORIO - PERSONALE

I costi del personale si riferiscono alle risorse che attualmente sono coinvolte nelle attività della Cell Factory

La suddivisione è stata fatta tra

- **Personale strutturato**, che risulta necessario in base a disposizioni normative e che comprende:
 - il Direttore del Laboratorio
 - il Direttore Tecnico
 - il Responsabile dell'attività di Manipolazione Cellulare
- **Personale borsista**, che viene impiegato in base alle attività preventivate dal laboratorio e che comprende:
 - 2 Medici specialisti
 - 4 Biologi specialisti
 - 1 Tecnico di laboratorio
 - 1 Segretaria

Personale	Costo annuale
Personale strutturato*	€ 42.800,50
Personale borsista	€ 153.568,00
TOTALE	€ 196.368,00

*non è stato conteggiato il costo del Direttore del laboratorio

COSTI DEL LABORATORIO – MANUTENZIONE

I costi di manutenzione dei macchinari/impianti sono relativi a due tipologie di manutenzione:

- **Programmata**, legata ai contratti stipulati con le aziende costruttrici o di servizi di manutenzione, non comprende i costi di sostituzione di pezzi e le chiamate al di fuori di quelle pianificate;
- **Straordinaria**, comprende tutti gli interventi e i costi dei ricambi dovuti a fermi, rotture, sostituzioni.

Per calcolare il costo della manutenzione straordinaria è stata fatta una stima di tali costi sulla base delle elaborazioni realizzate dall'Ente Ingegneria Clinica (costi di manutenzione straordinaria degli ultimi 3 anni)

La manutenzione degli impianti è stata stimata ipotizzando un costo annuo pari al 6% dell'investimento iniziale

Macchinari/Impianti	Costo Manutenzione programmata	Stima costi manutenzione straordinaria	Stima costo annuale
Cappe	€ 1.527,50	€ 1.800,00	€ 3.327,50
Incubatori	€ 1.188,00	€ 3.750,00	€ 4.938,00
Centrifughe	€ 336,00	€ 210,00	€ 546,00
Microscopi	€ 156,00	€ 240,00	€ 396,00
Altri macchianri	€ 12.517,00	€ 1.150,00	€ 13.667,00
Impianti	€ 30.179,84	-	€ 30.179,84
TOTALE	€ 45.904,34	€ 7.150,00	€ 53.054,34

COSTI DEL LABORATORIO – AMMORTAMENTI E ACCANTONAMENTI

Nel conteggio dei costi di laboratorio figurano anche i costi relativi a:

- **Ammortamenti**, ammortamenti annuali delle opere realizzate nell'investimento iniziale, sono calcolati assumendo una vita economico-tecnica di 10 anni delle opere edili ed impiantistiche e di 5 anni delle attrezzature frigogene
- **Accantonamenti**, accantonamenti annuali in previsione di un riacquisto dei macchinari una volta giunti a fine vita

Macchinari/Impianti	Ammortamenti	Accantonamenti	Stima costo annuale
Realizzazione nuove camere bianche (impianti)	€ 28.374,77	-	€ 28.374,77
Fornitura in opera macchine frigogene	€ 43.848,13	-	€ 43.848,13
Oneri accessori	€ 27.998,34	-	€ 27.998,34
Cappe	-	€ 7.000,00	€ 10.327,50
Incubatori	-	€ 3.800,00	€ 8.738,00
Centrifughe	-	€ 7.200,00	€ 7.746,00
Microscopi	-	€ 1.100,00	€ 1.496,00
Altro	-	€ 11.900,00	€ 25.667,00
TOTALE	€ 100.221,24	€ 31.000,00	€ 131.221,24

COSTI DEL LABORATORIO – UTENZE

Le utenze considerate significative sono relative a

- **Consumi di energia elettrica**, sono la principale voce di spesa e comprendono i consumi relativi a:
 - impianto di condizionamento dell'aria
 - apparecchiature di laboratorio
- **Riscaldamento**

Sono state considerate trascurabili le spese relative a consumi di acqua e di gas di laboratorio (in particolare CO₂)

Utenze	Costo annuale
Energia elettrica	€ 66.200,00
Acqua	€ -
Riscaldamento	€ 22.000,00
Telefonia e Internet	€ 15.000,00
TOTALE	€ 103.200,00

COSTI DEL LABORATORIO – SPESE GENERALI

Le spese generali considerate significative sono relative principalmente a

- **Affitti e altre attribuzioni**
- **Pulizie**
- **Spese Amministrative Generali**

Sono state considerate trascurabili le spese relative alle attività di segreteria (costi telefonici, consumo di carta, articoli di cancelleria, ...)

Spese generali	Costo annuale
Affitti e altre attribuzioni (figurativo)	€ 12.000,00
Pulizie	€ 35.000,00
Quota parte delle SAG dell'O.I.R.M. S. Anna (Stimato)	€ 20.000,00
TOTALE	€ 67.000,00

COSTI DEL LABORATORIO – ALTRI COSTI

Nella gestione della Cell Factory rientrano altri costi volti a garantire la conformità dei laboratori rispetto alle norme vigenti, in particolare:

- **Indumenti**, comprende tutti i dispositivi per permettere a chi accede alle camere di operare in condizioni di sterilità (tute, guanti, cuffie, ecc.)
- **Controlli ambientali**, sono controlli di qualità dell'aria che vengono effettuati da laboratori esterni a garanzia delle prescrizioni normative
- **Certificazioni**, in particolare:
 - certificazione ISO 9001:2000
 - accreditamento JACIE* (Joint Accreditation Committee of ISCT and EBMT)

Poiché i costi delle certificazioni sono relativi ad un periodo di 3 anni, si è considerato un terzo del costo totale ripartito su ogni anno.

Altri costi	Costo annuale
Indumenti	€ 26.000,00
Costi certificazioni	€ 6.500,00
Controlli ambientali	€ 30.000,00
TOTALE	€ 62.500,00

*EBMT (European Group for Blood and Marrow Transplantation) e ISCT (International Society for Cell Therapy) sono organizzazioni internazionali che hanno messo a punto procedure per l'accreditamento dei centri trapianto e le indicazioni al trapianto stesso, in modo da mantenere gli stessi criteri e standard operativi nella raccolta, processazione e uso clinico delle CSE in differenti paesi europei

COSTI DEL LABORATORIO – COSTI FISSI

Costi fissi Cell Factory	Costo annuale
Personale	€ 196.368,00
Manutenzione	€ 53.054,34
Ammortamenti e accantonamenti	€ 131.221,24
Utenze	€ 88.200,00
Spese Generali	€ 67.000,00
Altri costi	€ 62.500,00
Totale costi fissi	€ 598.343,58

COSTI DEL LABORATORIO – COSTI DIRETTI DEI PROTOCOLLI

Tipologia protocolli	Costo di protocollo	N° pazienti/anno	Costi procedure autorizzative*	Costo protocollo annuale
Protocolli tipo 1-2 - Selezione/Espansione di cellule staminali ematopoietiche	€ 11.904,00	15	€ 10.000,00	€ 188.560,00
Reagenti	€ 7.689,60			
Consumabili	€ 300,00			
Controlli di qualità	€ 3.914,40			
Protocolli tipo 3-4 - Selezione cellule per trapianto aploidentico	€ 5.882,40	10	€ 10.000,00	€ 68.824,00
Reagenti	€ 2.157,00			
Consumabili	€ 351,00			
Controlli di qualità	€ 3.374,40			
Protocolli tipo 5-6- Selezione cellule staminali mesenchimali	€ 6.720,00	4	€ 10.000,00	€ 36.880,00
Reagenti	€ 6.480,00			
Consumabili	€ -			
Controlli di qualità	€ 240,00			
Totale costi diretti dei protocolli				€ 264.264,00

*Richiesta di ammissibilità alla sperimentazione clinica di fase I in Italia del prodotto farmaceutico di nuova istituzione, ai sensi del DPR n.439 del 21 settembre 2001.

COSTI COMPLESSIVI

Conto economico	
Totale costi variabili	€ 264.264,00
Totale costi fissi	€ 598.343,58
Totale costi	€ 862.607,58

COPERTURA DEI COSTI

Le attività di manipolazione cellulare svolte dalla Cell Factory, almeno all'inizio, non genereranno dei proventi in quanto non esiste un tariffario regionale, così come non esistono convenzioni tra l'O.I.R.M. S. Annae le strutture ospedaliere per cui vengono svolte le manipolazioni.

Conseguentemente non è possibile calcolare quali saranno i ricavi della Cell Factory al momento in cui verrà attivata.

SI SOTTOLINEA COMUNQUE CHE OLTRE IL 90% DELLE PRESTAZIONI SARANNO DESTINATE A STRUTTURE OSPEDALIERE TERZE

LA PROPOSTA

LA PROPOSTA

Premesso che la Fondazione De Benedetti - Cherasco 1547 (ONLUS) è disponibile a sviluppare con l'O.I.R.M. S. Anna un'attività mista di tipo pubblico-privato per la gestione della Cell Factory, è emerso durante la fase di analisi che, almeno per il momento, non esistono tariffe per le prestazioni e che conseguentemente non è possibile elaborare delle proiezioni economiche.

In attesa che tale criticità venga risolta, la Fondazione De Benedetti - Cherasco 1547 (ONLUS) è disponibile da subito a:

- contribuire alle attività della Cell Factory con una Borsa di Studio di 3 anni, di Euro 20.000 per anno, da assegnare ad un ricercatore nell'ambito di un progetto nell'area dell'immunoterapia;
- assistere il management dell'O.I.R.M. S. Anna ed i responsabili della Cell Factory nella determinazione dei costi di funzionamento della struttura e del costo delle singole prestazioni e nelle successive negoziazioni con l'amministrazione regionale / altri enti ospedalieri per la definizione dei tariffari
- collaborare con il management dell'O.I.R.M. S. Anna ed i responsabili della Cell Factory nella ricerca di ulteriori finanziamenti e/o contributi;
- promuovere programmi di ricerca congiunti, scambi di ricercatori, ecc., con il Weizmann Institute o con altri Istituti di ricerca israeliani.

ALLEGATI

ALLEGATO 1

NORMATIVA DI RIFERIMENTO

NORMATIVA DI RIFERIMENTO

Poiché la manipolazione cellulare è un ambito della medicina relativamente recente la normativa del settore risulta essere molto articolata e non ancora organica, di seguito vengono elencate le principali fonti di disposizione normativa per la realizzazione e la gestione della Cell Factory

Guida alle Norme di Buona Fabbricazione dei Medicinali (GMP)

Linee guide elaborate sulla base delle direttive 91/356/CEE (medicinali per uso umano) e 91/412/CEE (medicinali per uso veterinario)

D.P.R. n. 439 del 21 settembre 2001

Regolamento di semplificazione delle procedure per la verifica e il controllo di nuovi sistemi e protocolli terapeutici sperimentali.

Notiziario ISS 9.10 1996

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

Notiziario ISS 10.5 1997

Linee guida per l'avvio degli studi clinici di fase I/II con cellule umane viventi per la terapia cellulare somatica

Notiziario ISS 12.5 1999

Linee guida per la sicurezza e la qualità della sperimentazione in terapia cellulare e per l'impiego dei "prodotti dell'ingegneria dei tessuti" a scopo terapeutico, ovvero a scopo di trapianto su pazienti

D.M. 26 aprile 2002

Individua la documentazione da sottoporre all'Istituto superiore di sanità ai fini del rilascio del parere di ammissibilità alla sperimentazione clinica di fase I in Italia del prodotto farmaceutico di nuova istituzione, ai sensi del DPR n.439 del 21 settembre 2001.

NORMATIVA DI RIFERIMENTO

Accordo Conferenza permanente per i rapporti tra lo Stato e le Regioni e le Province Autonome di Trento e Bolzano 10 luglio 2003

Linee guide in tema di raccolta, manipolazione e impiego clinico delle cellule staminali emopoietiche (CSE)

Direttiva 2004/23/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio del 31 marzo 2004

Definizione di norme di qualità e di sicurezza per la donazione, l'approvvigionamento, il controllo, la lavorazione, la conservazione, lo stoccaggio e la distribuzione di tessuti e cellule umani

ALLEGATO 2

CLASSIFICAZIONE AMBIENTI SECONDO NORME GMP

CLASSIFICAZIONE AMBIENTI SECONDO NORME GMP

La seguente tabella mostra la classificazione dell'aria in termini di quantità di particelle presenti, suddivisa nelle quattro classi.

Classe	a riposo (b)		In operatività	
	quantità massima ammissibile di particelle /m ³ pari o superiore a			
	0,5 mm	5 mm	0,5 mm	5 mm
A	3.500	0	3.500	0
B(a)	3.500	0	350.000	2.000
C(a)	350.000	2.000	3.500.000	20.000
D(a)	3.500.000	20.000	Non definita (c)	Non definita (c)

Fonte: Guida alle Norme di Buona Fabbricazione dei Medicinali (GMP)

Note:

(a) Per ottenere le classi B, C e D il numero di ricambi d'aria deve essere rapportato alle dimensioni del locale, al personale e alle attrezzature che vi stazionano. Il sistema di areazione deve essere dotato di adeguati filtri, ad es. filtri HEPA per le classi A, B e C.

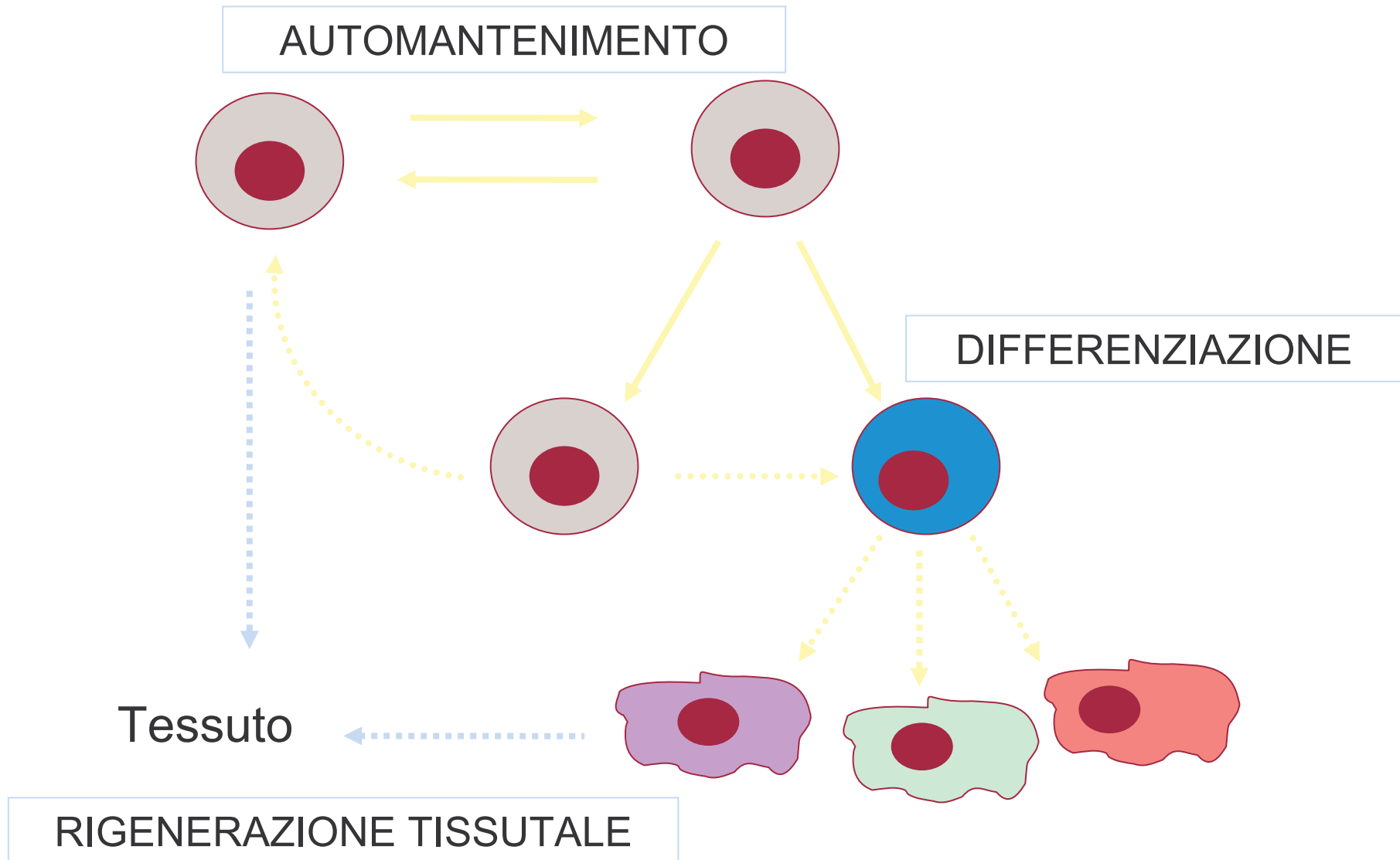
(b) Il valore orientativo riferito alla quantità massima ammissibile di particelle nella condizione "a riposo" corrisponde in linea di massima alla norma federale USA 209 E e alle classificazioni ISO in base ai seguenti parametri: le classi A e B corrispondono alla classe 100, M 3.5, ISO 5; la classe C corrisponde alla classe 10.000, M 5.5, ISO 7; la classe D corrisponde alla classe 100.000, M 6.5, ISO 8.

(c) Le caratteristiche e i limiti di quest'area dipendono dalla natura delle operazioni ivi effettuate.

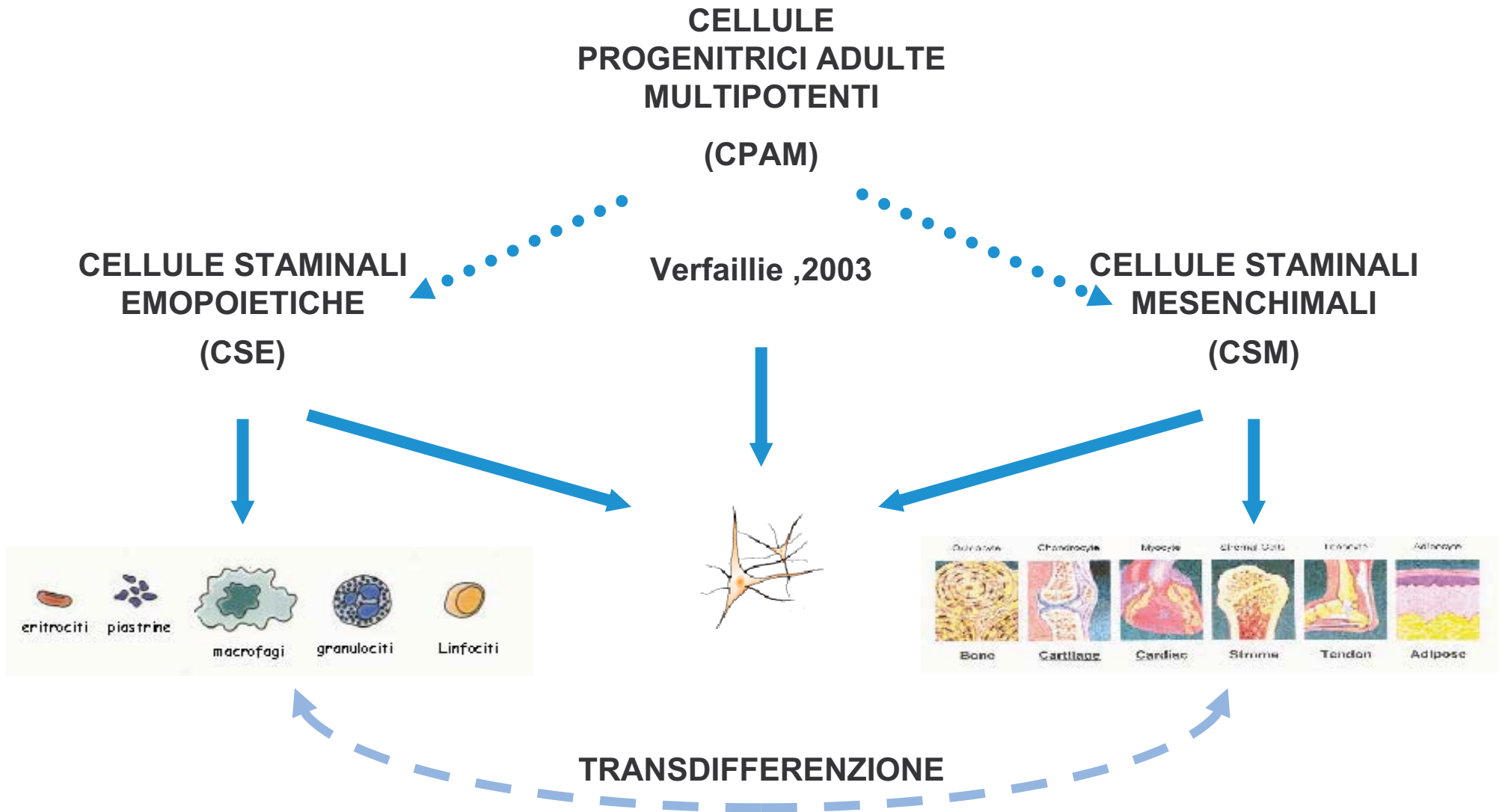
ALLEGATO 3

CELLULE STAMINALI

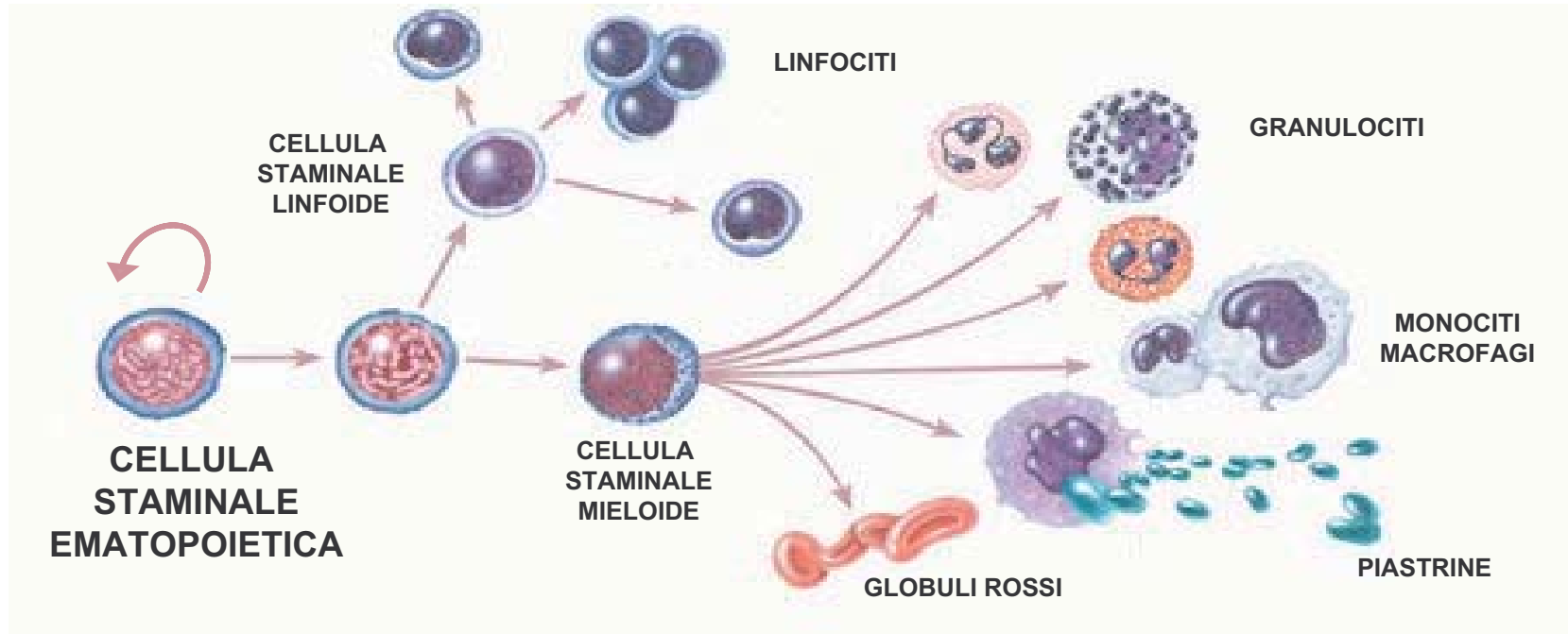
CARATTERISTICHE DELLE CELLULE STAMINALI



CELLULE STAMINALI DEL MIDOLLO OSSEO



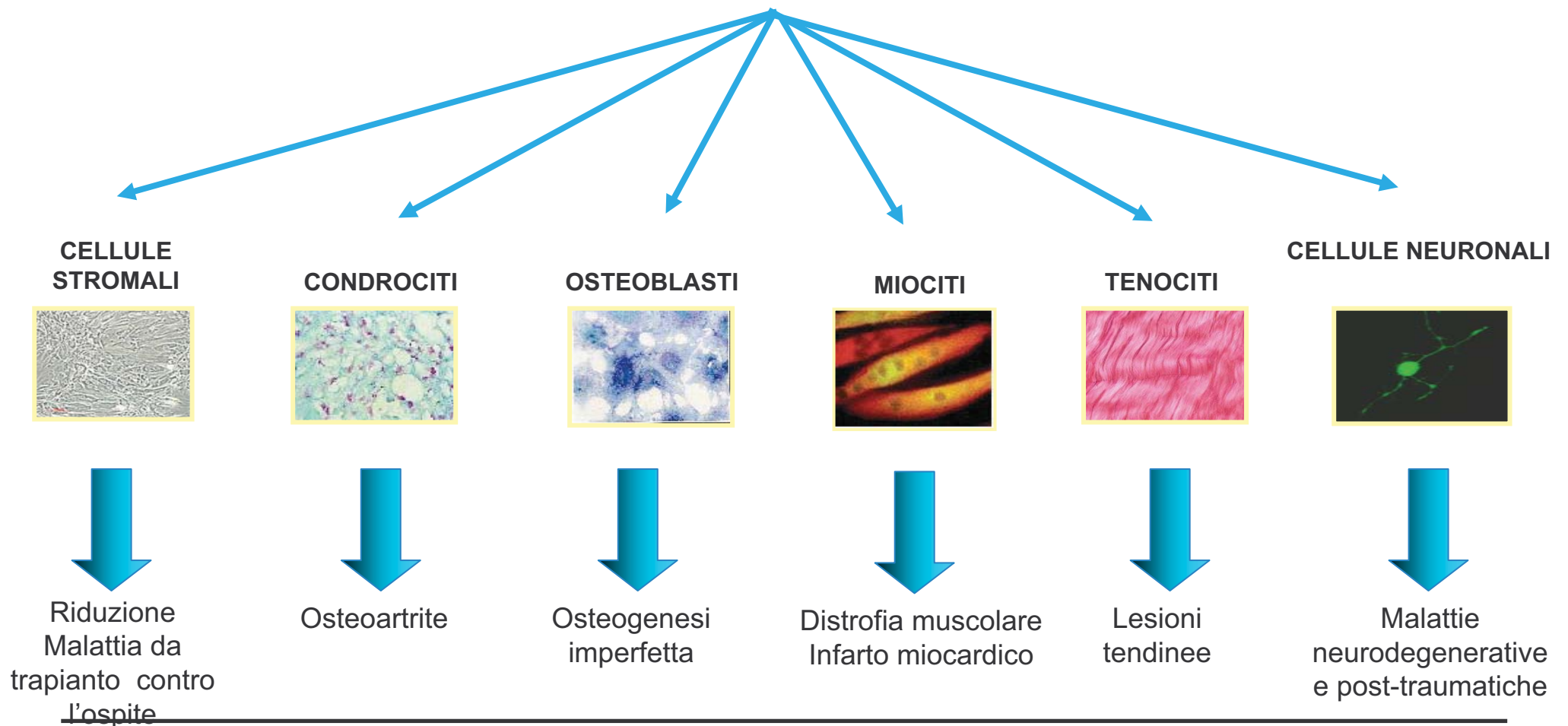
CELLULE STAMINALI EMATOPOIETICHE



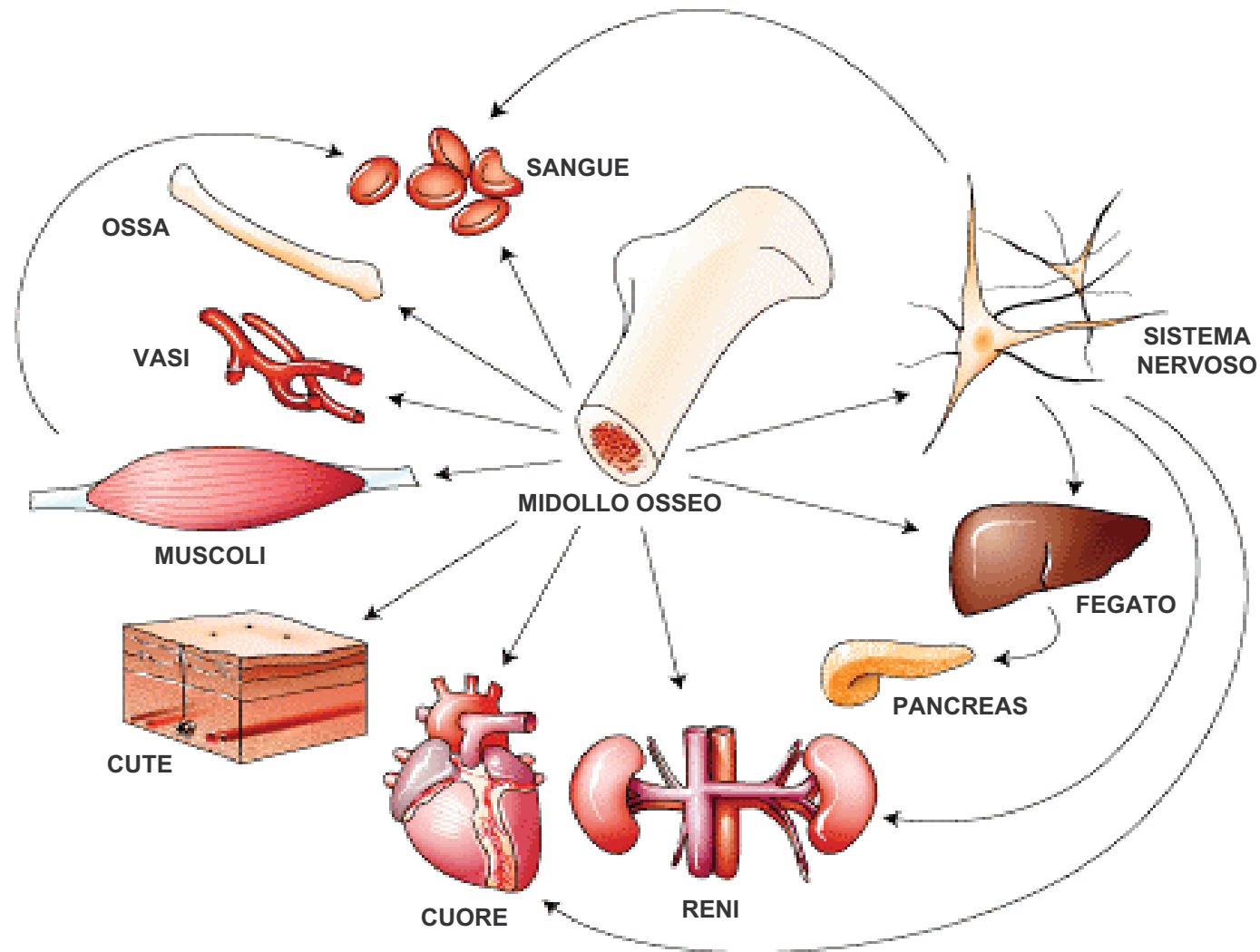
TRAPIANTO DI MIDOLLO OSSEO IN PATOLOGIE ONCO-EMATOLOGICHE

CELLULE STAMINALI MESENCHIMALI

Applicazioni cliniche

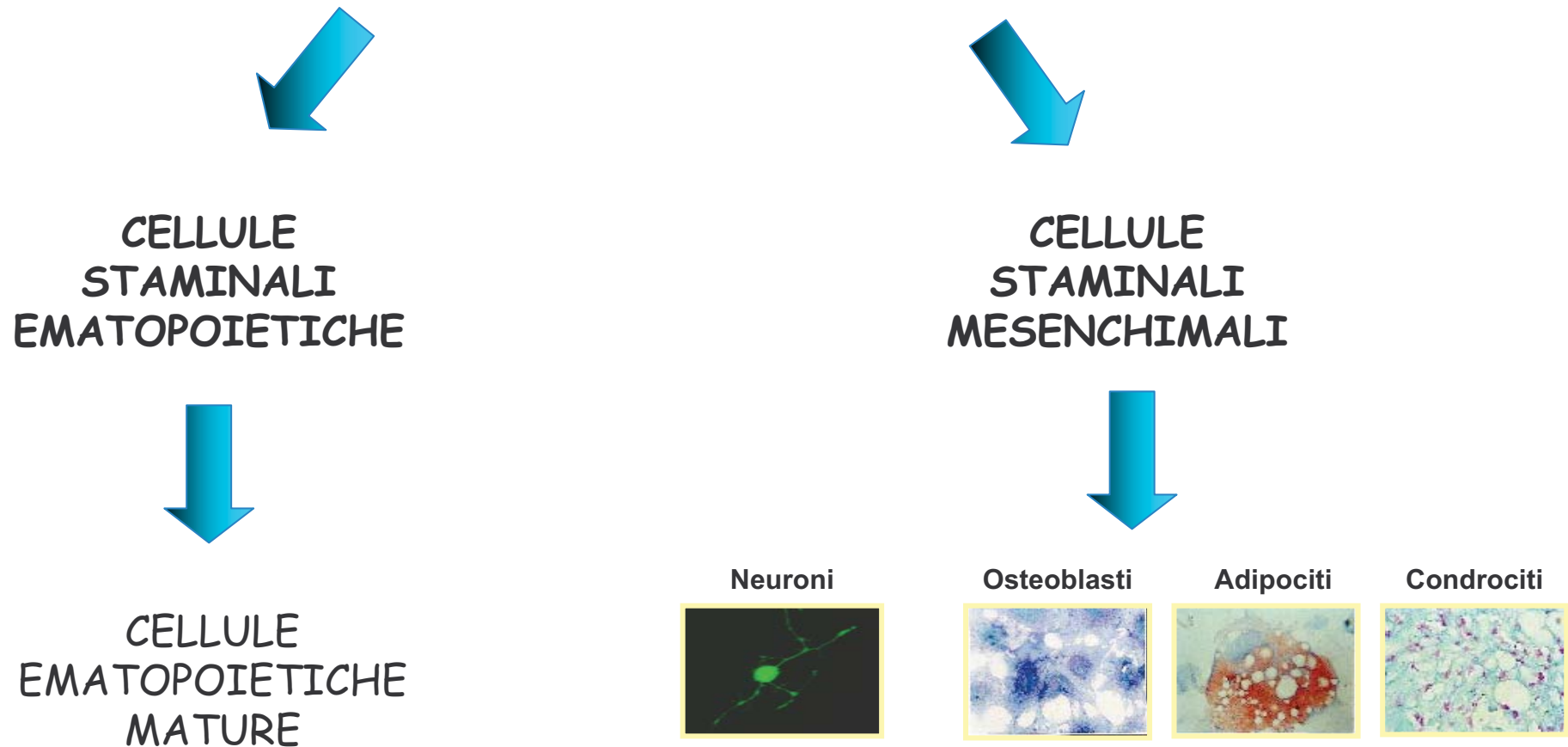


PLASTICITÀ DELLE CELLULE STAMINALI



PLASTICITÀ DELLE CELLULE STAMINALI

CELLULE STAMINALI DEL MIDOLLO OSSEO



ALLEGATO 4

FASI DI RICERCA CLINICA SU DI UN FARMACO/ PRODOTTO CELLULARE

PROCESSO DI SVILUPPO DI UN FARMACO – 1 (Circ. Min. 10/07/97 n°8)

Per studio clinico su medicinale/prodotto cellulare si intende uno studio sistematico sull'uomo al fine di scoprire o verificare gli effetti e/o identificare ogni reazione avversa al/i prodotto/i in esame, e/o di studiare l'assorbimento, la distribuzione, il metabolismo e l'escrezione al fine di accertarne l'efficacia e la sicurezza. Gli studi clinici vengono generalmente classificati in fasi dalla I alla IV. Non è possibile tracciare confini precisi tra le singole fasi, ed esistono al riguardo opinioni discordi sui dettagli e sulla metodologia. Qui di seguito vengono in breve definite le singole fasi, in base alle finalità relative allo sviluppo clinico dei prodotti medicinali.

Fase I: Primi studi su un nuovo principio attivo condotti nell'uomo spesso su volontari sani. Lo scopo è quello di fornire una valutazione preliminare sulla sicurezza ed un primo profilo della farmacocinetica e della farmacodinamica del principio attivo.

Fase II: Studi terapeutici pilota. Lo scopo è quello di dimostrare l'attività e di valutare la sicurezza a breve termine di un principio attivo in pazienti affetti da una malattia o da una condizione clinica per la quale il principio attivo è proposto. Gli studi vengono condotti su un numero limitato di soggetti e spesso, in uno stadio più avanzato, secondo uno schema comparativo, es. versus placebo. Questa fase ha anche lo scopo di determinare un appropriato intervallo di dosi e/o schemi terapeutici e se possibile di identificare il rapporto dose/risposta, al fine di fornire le migliori premesse per pianificare studi terapeutici più estesi.

PROCESSO DI SVILUPPO DI UN FARMACO – 2 (Circ. Min. 10/07/97 n°8)

Fase III: Studi su gruppi di pazienti più numerosi e se possibile diversificati al fine di determinare il rapporto sicurezza/efficacia a breve e lungo termine delle formulazioni del principio attivo e di valutarne il valore terapeutico assoluto e relativo. L'andamento e le caratteristiche delle più frequenti reazioni avverse devono essere indagati e si devono esaminare le specifiche caratteristiche del prodotto (es. interazioni chimiche, fattori che inducono differenti risposte, ecc.). Il programma sperimentale dovrebbe essere preferibilmente a doppio cieco randomizzato, ma altri disegni possono essere accettabili (es. studi a lungo termine sulla sicurezza). Generalmente le condizioni degli studi dovrebbero essere il più possibile vicine alle normali condizioni d'uso.

Fase IV: Studi condotti dopo la commercializzazione del prodotto medicinale sulla base delle informazioni contenute nel riassunto delle caratteristiche del prodotto relativo all'autorizzazione all'immissione in commercio (es. farmacovigilanza o valutazione del valore terapeutico). Questi studi richiedono condizioni sperimentali simili a quelle descritte per i prodotti pre-marketing. Dopo che un prodotto è stato immesso sul mercato gli studi clinici miranti ad indagare, ad esempio, nuove indicazioni, nuove vie di somministrazione, o nuove associazioni vanno considerati come studi su nuovi prodotti medicinali cioè non ancora autorizzati all'immissione in commercio e quindi vanno considerati come studi di fasi precedenti alla IV.

ALLEGATO 5

QUADRI ECONOMICI DEGLI INVESTIMENTI

QUADRI ECONOMICI DEGLI INVESTIMENTI

RISTRUTTURAZIONE DEL REPARTO DI ONCOLOGIA PEDIATRICA E REALIZZAZIONE NUOVI LABORATORI PER MANIPOLAZIONE CELLULARE				
D	Quadro economico post gara d'appalto			
D1 Importi da includersi nell'Atto di Sottomissione		Complessivo	CF	altro
D1.1	Impianti meccanici	€ 372.448,75	€ 46.556,09	€ 325.892,66
D1.2	Impianti elettrici e speciali	€ 249.702,88	€ 31.212,86	€ 218.490,02
D1.3	Opere edili	€ 442.482,18	€ 55.310,27	€ 387.171,91
TOTALE D1		€ 1.064.633,81	€ 133.079,23	€ 931.554,58
D2 Importi per l'attuazione dei piani di sicurezza				
B2.1	Oneri di sicurezza aggiuntivi	€ 5.290,18	€ 661,27	€ 4.628,91
TOTALE D2		€ 5.290,18	€ 661,27	€ 4.628,91
D3 Somme a disposizione dell'amministrazione				
D3.1	Accantonamento di cui all'art. 18 legge 109/94	€ 17.916,60	€ 2.239,58	€ 15.677,03
D3.2	Spese tecniche per la progettazione	€ 145.631,31	€ 18.203,91	€ 127.427,40
D3.3	Spese per la pubblicazione	€ 11.159,85	€ 1.394,98	€ .764,87
	IVA (10%) di A1)	€ 106.463,38	€ 13.307,92	€ 93.155,46
	IVA (10%) di A2)	€ 529,02	€ 66,13	€ 462,89
	IVA + contributo CNPAIA di A3.2)	€ 29.708,79	€ 3.713,60	€ 25.995,19
TOTALE D3		€ 311.408,95	€ 38.926,12	€ 272.482,83
TOTALE		€ 381.332,94	€ 47.666,62	€ 333.666,32

QUADRI ECONOMICI DEGLI INVESTIMENTI

OPERE: REALIZZAZIONE NUOVE CAMERE BIANCHE PER LABORATORI DI MANIPOLAZIONE CELLULARE				
E	Quadro economico			
	E1 Importi a base d'asta	Comlessivo	CF	Altro
E1.1	Impianti meccanici	€ 186.000,00	€ 186.000,00	-
E1.2	Impianti elettrici e speciali	€ 20.000,00	€ 20.000,00	-
E1.3	Opere edili	€ 5.000,00	€ 5.000,00	-
	TOTALE	€ 211.000,00	€ 211.000,00	-
	E2 Importi per l'attuazione dei piani di sicurezza			-
E2.1	Oneri di sicurezza aggiuntivi	€ 6.330,00	€ 6.330,00	-
	TOTALE	€ 6.330,00	€ 6.330,00	-
	E3 Somme a disposizione dell'amministrazione			
E3.1	Accantonamento di cui all'art. 18 legge 109/94	€ 3.911,94	€ 3.911,94	-
E3.2	Spese per la pubblicazione	€ 6.000,00	€ 6.000,00	-
E3.3	Imprevisti (5% su lavoro lordo)	€ 13.039,80	€ 13.039,80	-
	IVA (20%) di E1)	€ 42.200,00	€ 42.200,00	-
	IVA (20%) di E2)	€ 1.266,00	€ 1.266,00	-
	TOTALE	€ 66.417,74	€ 66.417,74	-
	TOTALE	€ 283.747,74	€ 283.747,74	-

QUADRI ECONOMICI DEGLI INVESTIMENTI

OPERE: FORNITURA IN OPERA DI MACCHINE FRIGORIGENE				
<i>F</i>	<i>Quadro economico</i>			
	E1 Importi a base d'asta	Complessivo	CF	Altro
F1.1	Impianti meccanici	€ 198.446,32	€ 119.067,79	€ 79.378,53
F1.2	Impianti elettrici e speciali	€ 84.376,42	€ 50.625,85	€ 33.750,57
F1.3	Opere edili	€ 14.911,50	€ 8.946,90	€ 5.964,60
	TOTALE	€ 297.734,24	€ 178.640,54	€ 119.093,70
	F2 Importi per l'attuazione dei piani di sicurezza			
F2.1	Oneri di sicurezza aggiuntivi	€ 2.000,00	€ 1.200,00	€ 800,00
	TOTALE	€ 2.000,00	€ 1.200,00	€ 800,00
	F3 Somme a disposizione dell'amministrazione			
F3.1	Accantonamento di cui all'art. 18 legge 109/94	€ 4.496,01	€ 2.697,61	€ 1.798,40
F3.2	Spese per la pubblicazione	€ 1.224,00	€ 734,40	€ 489,60
	IVA (20%) di F1)	€ 59.546,85	€ 35.728,11	€ 3.818,74
	IVA (20%) di F2)	€ 400,00	€ 240,00	€ 160,00
	TOTALE	€ 65.666,86	€ 39.400,12	€ 26.266,74
	TOTALE	€ 365.401,10	€ 219.240,66	€ 146.160,44

QUADRI ECONOMICI DEGLI INVESTIMENTI

ONERI ACCESSORI					
G	<i>Quadro economico</i>				
	G1 Fornitura nuovi testaletti		Complessivo	CF	Altro
	G1.1	Fornitura testaletto (16 camere)	€ 25.872,00	-	€ 25.872,00
		IVA (20%) di G1.1)	€ 5.174,40	-	€ 5.174,40
	TOTALE		€ 31.046,40	-	€ 31.046,40
	G2 Fornitura nuovi arredi degenza oncologica				
	G2.1	Arredi degenze (16 camere)	€ 91.200,00	-	€ 91.200,00
		IVA (20%) di G2.1)	€ 18.240,00	-	€ 18.240,00
	TOTALE		€ 09.440,00	-	€ 109.440,00
	G3 Fornitura nuovi arredi dei laboratori				
	G2.1	Arredo laboratori	€ 57.472,84	€ 57.472,84	-
		IVA (20%) di G3.1)	€ 11.494,57	€ 11.494,57	-
	TOTALE		€ 68.967,41	€ 68.967,41	-
	G4 Spese tecniche				
	G4.1	Spese tecniche - Redazione PERIZIE DI VARIANTE n. 01 e 02	€ 28.000,00	€ 28.000,00	
	G4.2	Spese tecniche per Progettazione, Direzione Lavori, Coordinamento Sicurezza, Collaudo - NUOVI LABORATORI (CAMERE BIANCHE)	€ 30.026,40	€ 30.026,40	
		IVA + contributo CNPAIA di G4.1)	€ 6.272,00	€ 6.272,00	
		IVA + contributo CNPAIA di G4.2)	€ 6.725,91	€ 6.725,91	
	TOTALE		€ 71.024,31	€ 71.024,31	
	TOTALE		€ 280.478,12	€ 139.991,72	€ 140.486,40

QUADRI ECONOMICI DEGLI INVESTIMENTI

COMPLESSIVO					
<i>H</i>	<i>Quadro economico</i>				
	H2 Importo totale per la realizzazione delle opere	Complessivo	CF	Altro	
	H2.1	Ristrutturazione reparto e realizzazione laboratori	€ 1.381.332,94	€ 172.666,62	€ 1.208.666,32
	H2.2	Realizzazione nuove camere bianche	€ 283.747,74	€ 283.747,74	-
	H2.3	Fornitura in opera macchine frigogene	€ 365.401,10	€ 219.240,66	€ 146.160,44
	H2.4	Oneri accessori	€ 280.478,12	€ 139.991,72	€ 140.486,40
		TOTALE	€ 2.310.959,90	€ 815.646,74	€ 1.495.313,16

ALLEGATO 6

ELENCO MACCHINARI

ELENCO MACCHINARI

CATEGORIA	COD.	STANZA	NOME COMMERCIALE	N. INVENTARIO
CAPPE	C6	L3	Cappa Safeflow 1.2 BIOAIR	In visione
	C7	L3	Cappa Safeflow 1.2 BIOAIR	da acquistare
	C8	L1	Cappa Herasafe HERAEUS	UNI 879
	C9	L2	Cappa MaxiSAFE THERMO	da acquistare
BAGNETTI	B2	L4	MP-5 JULABO	UNI 947
INCUBATORI	I4	L3	Incubatore CO ₂ heracell1	UNIV 825
	I5	L3	Incubatore CO ₂ heracell1	Da acquistare
	I6	L1	Incubatore CO ₂ heracell2	UNIV 826
	I7	L2	Incubatore CO ₂ STERI CYCLE TC THERMO	UNIV1188
	I8	L2	Incubatore CO ₂ heracell3	UNI 946
FRIGORIFERI	F4	L4	Frigorifero grande	da acquistare

ELENCO MACCHINARI

CATEGORIA	COD.	STANZA	NOME COMMERCIALE	N. INVENTARIO
CENTRIFUGHE	CE5	L4	Centrifuga da banco C3i	OIRM15370
	CE6	L4	Centrifuga RC3Bplus Sorvall	UNIV 345
	CE7	L4	Centrifuga da banco C3i	UNI1038
MICROSCOPI	M4	L3	Microscopio AXIOVERT25	UNIV 827
	M5	L1	Microscopio TELAVAL	I.D.P. 863
	M6	L2	Microscopio AXIOVERT25	da acquistare
ALTRI	CL	L1	CliniMACS MILTENYI BIOTEC	UNI 616
	SS	L1	Salda sacche Hematron III BAXTER	Donaz.
	CF	L4	Citofluorimetro BECKMAN COULTER	Da rilevare in comodato d'uso
		L4	Agitatore orbitale	
	PC	L4	PC + Monitor PHILIPS	
		L4	PC + Monitor FUJITSU SIEMENS	
		L4	Stampante HP Laserjet 1320	

MACCHINARI – CALCOLO FONDO DI RIACQUISTO

Cod.	Stanza	Descrizione	N. Inventario	Anno di acquisto	Costo di acquisto	Vita media [anni]	Vita residua [anni]	Accantonamento fondo di riacquisto	Totale per categorie
C6	L3	Cappa Safeflow 1.2 BIOAIR	In visione	2006	€ 15.000,00	10	10	€ 1.500,00	
C7	L3	Cappa Safeflow 1.2 BIOAIR	da acquistare	2006	€ 15.000,00	10	10	€ 1.500,00	
C8	L1	Cappa Herasafe HERAEUS	UNI 879	2002	€ 15.000,00	10	6	€ 2.500,00	
C9	L2	Cappa MaxiSAFE THERMO	da acquistare	2006	€ 15.000,00	10	10	€ 1.500,00	
CAPPE									€ 7.000,00
I4	L3	Incubatore CO ₂ heracell1	UNIV 825	2002	€ 5.500,00	10	6	€ 916,67	
I5	L3	Incubatore CO ₂ heracell1	da acquistare	2006	€ 5.500,00	10	10	€ 550,00	
I6	L1	Incubatore CO ₂ heracell2	UNIV 826	2002	€ 5.500,00	10	6	€ 916,67	
I7	L2	Incubatore CO ₂ Stery Cycle TC THERMO	UNIV1188	2005	€ 5.500,00	10	9	€ 611,11	
I8	L2	Incubatore CO ₂ heracell3	UNI 946	2003	€ 5.500,00	10	7	€ 785,71	
INCUBATORI									€ 3.780,16
CE8	L4	Centrifuga da banco grande capacità	Da acquistare	2006	€ 5.000,00	10	10	€ 500,00	
CE5	L4	Centrifuga da banco C3i	OIRM15370	1997	€ 5.000,00	10	1	€ 5.000,00	
CE6	L4	Centrifuga RC3Bplus Sorvall	UNIV 345	1999	€ 5.000,00	10	3	€ 1.666,67	
CENTRIFUGHE									€ 7.166,67
M4	L3	Microscopio AXIOVERT25	UNIV 827	2002	€ 3.100,00	15	11	€ 281,82	
M5	L1	Microscopio TELAVAL	I.D.P. 863	1996	€ 3.100,00	15	5	€ 620,00	
M6	L2	Microscopio AXIOVERT25	da acquistare	2006	€ 3.100,00	15	15	€ 206,67	
MICROSCOPI									€ 1.108,48
B2	L4	MP-5 JULABO	UNI 947	2003	€ 300,00	10	7	€ 42,86	
F4	L4	Frigorifero grande	da acquistare	2006	€ 3.800,00	10	10	€ 380,00	
CL	L1	CliniMACS MILTENYI BIOTEC	UNI 616	2000	€ 100.000,00	15	9	€ 11.111,11	
SS	L1	Salda sacche Hematron III BAXTER	Donaz.	2006	€ 200,00	10	10	€ 20,00	
	L4	Agitatore orbitale		2006	€ 200,00	10	10	€ 20,00	
CF2	L4	Citofluorimetro BECKMAN COULTER	Comodato d'uso	2006		10	10	€ -	
PC	L4	PC + MONITOR PHILIPS	UNI 1193	2005	€ 1.500,00	10	9	€ 166,67	
	L4	PC + MONITOR FUJITSU SIEMENS		2005	€ 1.500,00	10	9	€ 166,67	
	L4	STAMPANTE HP LASERJET 1320		2005	€ 300,00	10	9	€ 33,33	
ALTRO									€ 1.940,63
TOTALE									€ 30.995,95

ALLEGATO 7

GLOSSARIO

GLOSSARIO

Antigene: è una sostanza di natura proteica che introdotta in un organismo che ne sia privo, determina la formazione di un anticorpo monoclonale che reagisce specificatamente con esso (risposta immunologica). Sono stati identificati attualmente circa 250 proteine che presentano tali caratteristiche e vengono classificati con la sigla CD (Cluster of Differentiation). Nella manipolazione cellulare riveste particolare importanza l'antigene CD34 in quanto è specifico delle cellule staminali emopoietiche che vengono anche definite CD34+ (cioè positive all'antigene CD34)

Anticorpi Monoclonali: molecole di immunoglobulina che reagiscono specificamente contro un bersaglio, un antigene, che è una proteina che ha la capacità di sviluppare una risposta immunologica. Questi anticorpi distruggono alcuni tipi di cellule tumorali, senza danneggiare in misura rilevante le cellule normali. La loro funzione è quella di riconoscere certi tipi di proteine che sono presenti sulla superficie di alcune cellule tumorali. Quando l'anticorpo monoclonale riconosce la proteina, si unisce saldamente ad essa, stimolando il sistema immunitario ad aggredire le cellule neoplastiche, inducendole ad auto distruggersi.

Citochine: molecole, prodotte da diversi tipi di cellule, che sono in grado di stimolare le cellule staminali e numerosi altri tipi cellulari; funzionano come dei veri e propri messaggeri che garantiscono la comunicazione fra i vari tipi di cellule del sistema emopoietico ed immunitario, garantendone la funzione e la sopravvivenza. Esse comprendono le interleuchine e svariati fattori di crescita.

Terreno di coltura: soluzione acquosa che contiene proteine, sali minerali e glucosio e che costituisce l'ambiente essenziale in cui far moltiplicare il prodotto cellulare

Trapianto autologo: trapianto di cellule o tessuti provenienti dal paziente stesso (detto anche autotrapianto)

Trapianto allogenico: trapianto di cellule, tessuti od organi provenienti da un donatore