

## **Il Centro di Risorse Biologiche della Fondazione IRCCS Ospedale Maggiore Policlinico, Mangiagalli e Regina Elena**

*Paolo Rebutta, Lucilla Lecchi, Lorenza Lazzari, Rosaria Giordano, Laura Porretti  
Silvia Giovanelli, Elena Salvaterra, Laura Clerici*

*Centro di Medicina Trasfusionale, Terapia Cellulare e Criobiologia  
Dipartimento Trasfusionale e di Riferimento per il Trapianto di Organi e Tessuti  
Fondazione IRCCS Ospedale Maggiore Policlinico, Mangiagalli e Regina Elena  
via Francesco Sforza 35, 20122 Milano  
e-mail: prebutta@policlinico.mi.it*

### **Introduzione**

Il termine 'Centro di Risorse Biologiche' (CRB) (*Biological Resource Centre-BRC*) viene oggi utilizzato per definire istituzioni coinvolte nello studio delle scienze umane e nello sviluppo delle biotecnologie. Il CRB, secondo la definizione adottata dall'Organizzazione per la Cooperazione e lo Sviluppo Economico (OCSE), distribuisce servizi e conserva nei propri laboratori cellule vitali e materiale genetico, oltre a informazioni legate alla trasmissione dei caratteri genetici e alle funzioni dei sistemi biologici <sup>(1)</sup>.

Nella prefazione del volume intitolato *Biological Resource Centres: Underpinning the Future of Life Sciences and Biotechnology* <sup>(1)</sup>, Salomon Wald, responsabile dal gennaio 1999 al maggio 2001 dell'Unità Biotecnologia del Direttorato per la Scienza, la Tecnologia e l'Industria dell'OCSE, descrive il programma avviato nel 1998 dal Giappone per sviluppare una rete globale di CRB. Tale programma si basa sulle seguenti raccomandazioni formulate da un gruppo di lavoro costituito a Tokyo nel 1999 e coordinato negli anni successivi dalla Francia: (1) creare CRB nazionali; (2) sviluppare un sistema di accreditamento dei CRB basato su criteri internazionali; (3) promuovere legami internazionali fra i CRB; (4) coordinare la definizione di standards, norme e regolamenti in modo da armonizzare il funzionamento dei CRB; (5) stabilire una rete globale di CRB.

Nell'*executive summary* dello stesso volume viene sottolineato il ruolo cruciale dei CRB nella ricerca e nello sviluppo delle scienze umane e delle biotecnologie, con specifico riferimento a 5 aspetti: (1) conservazione e distribuzione di risorse biologiche per applicazioni scientifiche, industriali, agricole, ambientali e mediche; (2) ricerca e sviluppo su tali risorse biologiche; (3) conservazione della biodiversità; (4) archiviazione di materiali biologici per la protezione della proprietà intellettuale; (5) disponibilità di risorse biologiche per la pubblica informazione e per la formulazione di scelte politiche.

Le premesse in precedenza descritte e i buoni risultati finora conseguiti prevalentemente in ambito microbiologico e genetico suggeriscono l'opportunità di estendere lo sviluppo dei CRB in altre aree biomediche e biotecnologiche, onde facilitare la certificazione dei prodotti biologici e delle strutture che li gestiscono, migliorare gli standard nazionali e internazionali di riferimento e promuovere la collaborazione fra i diversi Paesi.

Particolarmente interessante a tale proposito, per numerosi programmi ed organizzazioni di riferimento nell'area dei trapianti e delle terapie cellulari (tabella 1), è lo sviluppo di un modello di CRB dedicato alla gestione dei materiali biologici normali e patologici che si rendano disponibili nelle grosse organizzazioni sanitarie, nei centri di ricerca biomedica, nei policlinici universitari e nelle aziende ospedaliere di maggiori dimensioni. Tali materiali, fra i quali occupano un ruolo importante diversi tipi di cellule, fra cui le cellule staminali, rappresentano una risorsa fondamentale per l'avanzamento della ricerca e lo sviluppo di terapie innovative.

Scopo di questo articolo è descrivere la struttura e l'organizzazione di un Centro di Risorse Biologiche dedicato alla conservazione e alla manipolazione dei materiali biologici umani a scopo terapeutico e di ricerca. Gli autori, nel discutere gli aspetti peculiari di questa modalità organizzativa, fanno riferimento alla letteratura internazionale e all'esperienza acquisita nella progettazione e nella gestione della Milano Cord Blood Bank <sup>(2)</sup> e della Cell Factory 'Franco Calori' <sup>(3,4)</sup>, rispettivamente banca di sangue placentare e unità di manipolazione cellulare a scopo terapeutico, cui recentemente si è affiancata la Biobanca Italiana, una banca di materiali biologici e il Laboratorio di Citometria e di Epatologia Sperimentale dell'Ospedale Maggiore di Milano. Queste quattro unità costituiscono dall'agosto 2005 il Centro di Risorse Biologiche della Fondazione IRCCS Ospedale Maggiore Policlinico, Mangiagalli e Regina Elena, l'istituzione che riunisce dal gennaio 2005 l'Ospedale Maggiore Policlinico e gli Istituti Clinici di Perfezionamento di Milano. Il Centro di Risorse Biologiche, denominato *Centro di Medicina Trasfusionale, Terapia Cellulare e Criobiologia* (CMTC), fa parte del Dipartimento Trasfusionale e di Riferimento per il Trapianto di Organi e Tessuti della Fondazione.

## Un CRB dedicato alla terapia cellulare

La terapia cellulare è una modalità di cura di alcune malattie nella quale, a fianco dei farmaci tradizionali, vengono impiegate cellule sottoposte a particolari procedure di prelievo, manipolazione, caratterizzazione e conservazione<sup>(5-15)</sup>. Benché i termini ‘terapia cellulare’ e ‘trapianto cellulare’ siano spesso utilizzati come sinonimi, da un punto di vista regolatorio il termine ‘terapia cellulare’ viene impiegato con riferimento alle procedure di manipolazione cellulare estensiva e/o all’impiego terapeutico delle cellule per una funzione diversa da quella fisiologica (uso ‘non omologo’), mentre si utilizza il termine ‘trapianto cellulare’ per le procedure di manipolazione minima e l’uso omologo. Questa distinzione ha immediate ripercussioni pratiche perché i prodotti della terapia cellulare sono regolati dalle normative che regolano i farmaci, mentre il trapianto dispone di una propria, diversa normativa.

Tralasciando questa specifica differenziazione importante nell’ambito regolatorio, è opportuno ricordare che il tradizionale prototipo concettuale di riferimento della terapia cellulare è la trasfusione del sangue e dei suoi componenti (globuli rossi, piastrine, plasma), una branca terapeutica sviluppatasi nell’ultimo secolo, i cui parametri metodologici ed operativi – pur nella continua evoluzione tecnica e scientifica – sono consolidati da molti anni<sup>(16)</sup>. L’altro principale prototipo di riferimento della terapia cellulare è il trapianto di midollo osseo, una modalità di trattamento sviluppatasi nell’ultimo trentennio, cui si è negli anni più recenti affiancato il trapianto di cellule staminali da sangue periferico<sup>(17,18)</sup> e il trapianto di sangue placentare<sup>(19-21)</sup>. Un elenco di alcuni prodotti utilizzati nella trasfusione, nel trapianto e nella terapia cellulare è riportato nella tabella 2.

All’attuale prospettiva di sviluppo di nuove forme di terapia cellulare hanno contribuito significativamente numerose scoperte dell’ultimo decennio sulla potenzialità terapeutica delle cellule staminali<sup>(22,23)</sup>. Queste scoperte, basate soprattutto su dati di laboratorio e sullo studio di modelli animali, hanno ampliato l’orizzonte applicativo della terapia cellulare, estendendolo dalla specialità ematologica ad altre specialità, come la cardiologia<sup>(24)</sup>, la neurologia<sup>(25)</sup>, l’ortopedia<sup>(26,27)</sup>, l’oftalmologia<sup>(28)</sup>, solo per citarne alcune nelle quali le applicazioni terapeutiche nell’uomo sono già in corso di sperimentazione.

Questa nuova prospettiva viene oggi definita nel suo complesso con il termine di medicina riparativa o rigenerativa (*regenerative medicine, tissue repair* nella letteratura anglosassone<sup>(29)</sup>). La piena realizzazione della medicina riparativa richiede – oltre all’approfondimento di numerosi aspetti scientifici di base – la disponibilità di nuove professionalità e di adeguate strutture dedicate alla conservazione e alla manipolazione dei materiali biologici da utilizzare a scopo terapeutico.

## Il Centro di Medicina Trasfusionale, Terapia Cellulare e Criobiologia

La *mission* del CMTC è raccogliere, caratterizzare, conservare e distribuire a scopo terapeutico e di ricerca materiali biologici umani e non umani non manipolati e manipolati e le informazioni ad essi relative, operando in conformità a standard nazionali ed internazionali di eccellenza.

La prima unità costitutiva del CMTC – la Milano Cord Blood Bank – venne fondata dal prof. Girolamo Sirchia nel 1993 all’interno del Centro Trasfusionale e di Immunologia dei Trapianti, con l’obiettivo di raccogliere 5.000 donazioni di sangue placentare a scopo di trapianto allogenico presso l’Ospedale Maggiore. Dopo il conseguimento nel 2004 di tale obiettivo, la Milano Cord Blood Bank ha avviato una seconda fase di raccolta per innalzare l’inventario a 10.000 donazioni. Fra il 1995 e il 2005 la Milano Cord Blood Bank ha distribuito 252 unità di sangue placentare per trapianto allogenico in 20 Paesi (Europa, Nord-America, Sud-America, Asia), come riportato nella figura 1. Nel 1995, la Milano Cord Blood Bank ha promosso la formazione di una rete italiana di banche di sangue placentare denominata GRACE (Gruppo per la Raccolta e l’Amplificazione delle Cellule Emopoietiche), successivamente sottoposta a certificazione per lo standard ISO 9000. Nel 1998, assieme alle banche di Düsseldorf e Barcellona, la banca di Milano ha promosso l’organizzazione della rete internazionale di banche del sangue placentare denominata Netcord, che ha sviluppato un archivio informatico per la selezione delle unità compatibili denominato Virtual Office, cui afferiscono attualmente circa la metà delle donazioni conservate in tutto il mondo. Il 14 dicembre 2004, la Milano Cord Blood Bank è stata accreditata dalla Foundation for the Accreditation of Cellular Therapy (FACT).

Nella seconda parte degli anni ‘90, in considerazione delle promettenti scoperte sulle cellule staminali, venne avviata la costruzione di una seconda unità, con lo scopo di disporre di ambienti dedicati ed operatori specificamente formati e qualificati per eseguire estensive manipolazioni cellulari a scopo terapeutico nell’uomo. Tale unità operativa, denominata Cell Factory, venne intitolata a Franco Calori, il benefattore che ne aveva finanziato la costruzione. Un aspetto importante delle procedure di manipolazione cellulare eseguite nella Cell Factory consiste nella loro conformità con le norme di Good Manufacturing Practice (GMP), che rappresentano la norma di riferimento per la produzione dei farmaci. Nel 2003, la Cell Factory ‘Franco Calori’ ha promosso la formazione di un gruppo collaborativo, denominato Italian Cell Factories (ICF), che riunisce i responsabili e gli operatori di una rete italiana di strutture dedicate alla preparazione di prodotti per la terapia cellulare. Il gruppo ICF si è integrato successivamente con il gruppo di lavoro sulle cellule staminali del Gruppo Italiano Trapianto di Midollo Osseo (GITMO), con lo scopo di condividere un unico forum scientifico ed operativo dedicato alla terapia cellulare.

La terza unità – la Biobanca Italiana – è stata formalmente costituita nel 2004, con lo scopo di realizzare una struttura di biobanking di respiro nazionale, aperta alle collaborazioni internazionali e dotata di moderni sistemi atti a garantire la sicurezza dei prodotti e degli operatori (tabella 3). Un particolare tipo di materiale da conservare in una sala

particolare (figura 2) presso la Biobanca Italiana, oltre alle tradizionali raccolte di cellule, sieri, DNA, RNA e altri materiali biologici, è rappresentato dagli embrioni sovranumerari criopreservati nel contesto delle procedure di fecondazione assistita, effettuate precedentemente all'entrata in vigore della legge 40, successivamente definiti in stato di 'abbandono' da parte delle coppie che li avevano generati. La struttura della Biobanca Italiana è stata progettata come ampliamento dell'area criobiologica della Milano Cord Blood Bank, in modo da ottimizzare l'impiego di una struttura già validata nel corso di un decennio di un'attività finalizzata fin dall'esordio all'uso clinico delle risorse biologiche, come il trapianto del sangue placentare, e quindi idonea a garantire in modo rigoroso il rispetto degli aspetti procedurali e documentali – tracciabilità - del processo di prelievo, caratterizzazione, conservazione e distribuzione dei prodotti biologici. Risulta evidente dalla precedente descrizione il ruolo della Biobanca Italiana in numerosi aspetti di biobanking relativi non solo alla ricerca scientifica sui materiali biologici, ma anche al trapianto di sangue placentare non manipolato (prodotto distribuito dalla Milano Cord Blood Bank) e all'uso clinico dei prodotti per terapia cellulare sottoposti ad estensiva manipolazione in condizioni GMP presso la Cell Factory.

Il Laboratorio di Citometria e di Epatologia Sperimentale è la quarta unità del CMTC, a cui si è aggregato nella seconda metà del 2005.

Nell'esecuzione dei processi di propria competenza, il CMTC opera in collaborazione con i laboratori di immunogenetica e di chimica clinica del Dipartimento Trasfusionale e di Riferimento per il Trapianto di Organi e Tessuti e con l'Istituto di Igiene dell'Università degli Studi di Milano. Inoltre, il CMTC opera in sinergia con il neonato Istituto Nazionale di Genetica Molecolare (INGM), che ha sede presso la stessa Fondazione IRCCS Ospedale Maggiore Policlinico, Mangiagalli e Regina Elena.

Il personale attualmente operativo presso il CMTC, riportato nella tabella 4, oltre alle mansioni svolte presso l'unità di appartenenza, dedica circa il 20% del lavoro ad attività di altre unità del Dipartimento.

### **Strutture e processi**

La figura 3 presenta la pianta dei laboratori che costituiscono la Milano Cord Blood Bank e la Biobanca Italiana; la figura 4 riporta la pianta della Cell Factory 'Franco Calori'.

#### **1. Milano Cord Blood Bank**

Il processo di prelievo, caratterizzazione, criopreservazione e distribuzione del sangue placentare a scopo di trapianto allogenico è descritto nella figura 5. Le fasi principali del processo consistono nella valutazione della donatrice, nel prelievo e trasporto dell'unità di sangue placentare alla banca, nella caratterizzazione e criopreservazione dell'unità, nella determinazione della compatibilità HLA con un potenziale ricevente, nel trasporto dell'unità al centro che effettua il trapianto, nella raccolta dei dati relativi al follow-up del paziente. Le competenze acquisite nella messa a punto della criopreservazione del sangue placentare vengono utilizzate anche per la criopreservazione del midollo osseo, delle cellule staminali emopoietiche da sangue periferico e di altri prodotti aferetici. Inoltre, la Milano Cord Blood Bank gestisce le attività di registro delle banche del sangue placentare aderenti al GRACE e le richieste di unità compatibili inviate dai Centri Trapianto nazionali ed internazionali. Questi processi sono gestiti da 5 biologi, 1 tecnico di laboratorio, 1 informatico ed 1 impiegato amministrativo.

#### **2. Cell Factory 'Franco Calori'**

Il processo di manipolazione cellulare a scopo terapeutico presso la Cell Factory 'Franco Calori' è descritto nella figura 6. Le caratteristiche principali del processo consistono nella lavorazione in asepsi, nella rigorosa e dettagliata selezione e tracciabilità dei materiali impiegati, nell'estensivo controllo del prodotto finito.

Questo processo viene attualmente gestito da 1 medico (che ricopre il ruolo di Direttore di Produzione) e 3 biologi per la fase di produzione secondo le norme GMP, mentre gli aspetti di ricerca e sviluppo sono gestiti da 5 biologi. Sono attualmente in corso presso la Cell Factory 'Franco Calori' tre protocolli clinici sperimentali in ematologia, cardiologia e neurologia.

#### **3. Biobanca Italiana**

Il processo di biobanking è descritto nella figura 7. Le fasi principali dei processi relativi ai diversi programmi consistono nell'accettazione della richiesta, nel trasporto e nel ricevimento dei campioni, nell'identificazione e eventuale suddivisione in aliquote dei campioni, nella conservazione a diverse temperature, nella movimentazione temporanea o definitiva dei campioni, nella consegna e nel trasporto al centro richiedente. Uno schema del volume criogenico complessivo della Biobanca Italiana e della Milano Cord Blood Bank è riportato nella figura 8.

Oltre alla raccolta di campioni biologici relativi ad alcune attività interne al Dipartimento (campioni della Milano Cord Blood Bank, della Cell Factory "Franco Calori", della Banca del Sangue Raro della Regione Lombardia e del Laboratorio di Citometria e di Epatologia Sperimentale), presso la Biobanca Italiana sono conservati i campioni di pazienti raccolti nel progetto collaborativo Italia-USA 'Oncoproteomica', coordinato dall'Istituto Superiore di Sanità, i campioni di un progetto sullo studio delle malformazioni fetali coordinato dalle dottoresse Faustina Lalatta e Alessandra Kustermann, i campioni raccolti a scopo diagnostico dal Laboratorio di Genetica Medica diretto dal Dr. Domenico Coviello, i campioni di pazienti affetti da malattie emolitiche seguiti presso la U.O. di Ematologia 2 diretta dal Prof.

Alberto Zanella, e parte dei campioni afferenti al Servizio di Anatomia Patologica diretto dal Prof. Guido Coggi, presso l'Ospedale San Paolo di Milano.

Altri programmi sono in corso di definizione con altre unità operative interne ed esterne alla Fondazione.

#### 4. Laboratorio di Citometria e di Epatologia Sperimentale

Il laboratorio di Citometria e di Epatologia Sperimentale si occupa principalmente di caratterizzazione cellulare con particolare riguardo alle cellule staminali emopoietiche, muscolari ed epatocitarie. Per quanto riguarda quest'ultimo tipo di cellule, il laboratorio ha messo a punto un processo di isolamento e caratterizzazione, descritto nella figura 9, che prevede la dissociazione in asepsi dei fegati espantati a donatori di organi, ma non utilizzabili per trapianto secondo i criteri del Nord Italia Transplant (NITp). Le procedure sono eseguite da un biologo con la funzione di Direttore Tecnico, da 3 altri biologi (1 Responsabile Ricerca e Sviluppo, 1 Responsabile della Caratterizzazione Cellulare in Citometria e 1 Responsabile della Caratterizzazione cellulare e tissutale in Microscopia) e un biotecnologo (Responsabile delle Colture Cellulari e della Crioconservazione).

#### Formazione degli operatori

La formazione degli operatori di un CRB richiede specifici programmi per ogni tipo di macroattività. Nel caso del CMTC, la Milano Cord Blood Bank e la Biobanca Italiana condividono molti elementi di un unico percorso formativo, mentre la Cell Factory 'Franco Calori' utilizza un percorso formativo separato, centrato sulle norme GMP, sulla peculiarità dell'ambiente lavorativo e sulla qualificazione degli operatori per tali norme, applicate alle particolari problematiche delle manipolazioni estensive richieste nella preparazione dei prodotti della terapia cellulare. Uno schema di riferimento per un percorso formativo di operatore di cell factory è riportato nella tabella 5. Tale percorso formativo, disegnato per operatori privi di esperienza specifica sulla manipolazione estensiva in condizioni GMP, richiede presso la Cell Factory 'Franco Calori' circa 1.000 ore fra attività didattiche di aula e training-on-the-job all'interno dell'area di produzione. Parte del percorso sarà in futuro fruibile con procedura di formazione a distanza (FAD).

Per quanto concerne la formazione presso il Laboratorio di Citometria e di Epatologia Sperimentale, il personale, prima di eseguire autonomamente le specifiche attività è tenuto a svolgere e a superare, affiancato ad un tutore, un test di *proficiency*. Tale test prevede la verifica della conoscenza delle relative procedure e l'esecuzione, in parallelo con il tutore, dello specifico test, per 5 determinazioni. Relativamente alla formazione scientifica, tutto il personale partecipa settimanalmente a letture formative, accreditate ECM, di articoli scientifici relativi ai processi del CMTC.

#### Problematiche di natura etica e giuridica

Un aspetto peculiare legato al prelievo, alla conservazione e all'uso dei materiali biologici riguarda la gestione del consenso informato dei soggetti implicati (donatori e riceventi), il rapporto con le famiglie dei donatori cadavere e con le associazioni di donatori, nonché la protezione della proprietà intellettuale di coloro che sviluppano o potrebbero sviluppare invenzioni e brevetti dallo studio dei campioni biologici. E' necessario che questi aspetti siano definiti da un Comitato di Garanti composto da personalità di elevato profilo scientifico, etico e giuridico, che operi in stretto contatto con il personale del CMTC. Il consenso deve includere una liberatoria del soggetto donatore del campione biologico per i programmi di ricerca sviluppati su quel campione, e prevedere specifici accordi qualora dallo studio del campione derivassero applicazioni di tipo commerciale.

Benché una discussione dettagliata di queste tematiche esuli dallo scopo di questo articolo, è opportuno accennare a qualche aspetto che merita attenzione da parte degli operatori.

Rispetto al consenso informato sorgono, in un contesto giuridico, etico e storico-culturale in profonda trasformazione a livello nazionale, comunitario e internazionale, esigenze peculiari, sia di carattere generale sia di carattere specifico<sup>(30-42)</sup>.

Innanzitutto, vi è l'esigenza di un costante aggiornamento sui cambiamenti che intervengono in campo giuridico in materia di regolamentazione dei concetti e degli istituti coinvolti nell'applicazione delle nuove tecnologie. Si pensi in proposito alla trasformazione che investe l'istituto giuridico della proprietà in alcune delle sue rilevanti estrinsecazioni: proprietà dei materiali biologici, delle informazioni individuali o collettive ricavate dallo studio dei materiali biologici, nonché, come precedentemente ricordato, delle invenzioni e dei brevetti che potrebbero essere prodotti sulla base dello studio dei materiali biologici ceduti. Il dibattito sulla qualificazione del diritto di proprietà, rispetto alle entità appena richiamate, è vivace e, ad oggi, lontano dal raggiungimento di una definizione comune delle problematiche aperte, specie se si fa riferimento alla realtà giuridica nazionale. Sembra opportuno a questo riguardo richiamare la necessità che ogni struttura presso la quale sono conservati campioni biologici definisca una specifica procedura per ogni tipologia di prelievo e conservazione prevista. E' opportuno inoltre che tale procedura, definita con il contributo di esperti di comunicazione, di etica e di diritto, sia condivisa dal comitato etico dell'istituzione di riferimento e prenda in considerazione non solo le leggi nazionali, ma anche le norme dei Paesi con i quali i campioni biologici potrebbero essere scambiati. A questo proposito, è appropriato ricordare che in molti Paesi sono in vigore norme che rendono assai difficile – quando non vietano – l'esportazione di materiale genetico umano.

Inoltre, tra le esigenze di carattere specifico, è meritevole di richiamo la necessità di un allineamento progressivo alla nuova normativa sulla protezione dei dati personali (decreto legislativo n. 196/2003, c.d. Codice in materia di protezione dei dati personali), in particolare per ciò che attiene ai dati personali “sensibili” acquisibili nello svolgimento dell’attività medica, indicati nel Codice quali “dati idonei a rivelare lo stato di salute e la vita sessuale” (art. 4) e “dati genetici” (art. 90). Il Codice italiano in materia di protezione dei dati personali richiama, accanto al diritto alla riservatezza in senso stretto (c.d. diritto alla privacy), un diritto individuale alla gestione dei propri dati personali – diritto della personalità – che porta a considerare una ulteriore sfera di libera determinazione dell’individuo/cittadino/paziente in ambito sanitario, quella della disposizione – libera e consapevole, ai sensi del Codice – dei dati sulla salute, sia i dati di origine genetica, sia i dati di altra provenienza. Ciò si traduce nella richiesta agli operatori sanitari di una attenzione ulteriore all’informativa da dare al cittadino/paziente. E’ attualmente in corso un profondo dibattito per definire fino a che punto sia necessario ed opportuno estendere l’informazione e richiedere il consenso per la conservazione dei campioni biologici. E’ evidente infatti che anche un’informazione corretta e genuinamente trasmessa – ad esempio su un fattore di rischio legato ad un particolare assetto genetico – può essere percepita come indesiderabile o ansiogena. Devono essere rispettati in questo caso tutti i diritti dei soggetti da cui originano i materiali biologici prelevati, valorizzando, peraltro, anche il beneficio collettivo che può derivare da scoperte e invenzioni generate dallo studio dei materiali biologici. Per quanto riguarda la specificità del consenso, è prevalente oggi l’opinione che il consenso debba essere assai specifico, intendendosi che, in linea generale, il ricercatore non può decidere a posteriori di effettuare studi su campioni precedentemente raccolti per altri scopi. Nel bilanciare questa corretta limitazione con i vantaggi che potrebbero derivare da studi non prevedibili al momento della raccolta dei campioni, alcuni considerano la possibilità di eseguire studi definiti dopo la raccolta dei campioni solo se questi ultimi sono stati raccolti in modo anonimo o sono stati anonimizzati dopo la raccolta. Di analoga complessità sono gli aspetti giuridici relativi alla proprietà intellettuale e, più in generale, allo sfruttamento commerciale delle scoperte generate dallo studio dei campioni biologici. Data la complessità di questo aspetto, gli autori lo citano solo per ricordarne l’importanza, rimandando il lettore interessato a pubblicazioni specializzate <sup>(43)</sup>. E’ necessario inoltre, in senso più generale, fare riferimento alla Convenzione di Oviedo sui diritti umani nelle applicazioni in biomedicina <sup>(44)</sup>.

Infine, la peculiarità dei dati personali sulla salute pone l’esigenza di adottare efficienti misure di sicurezza, come da specifiche disposizioni codicistiche. A tale proposito è importante ricordare la recente dimostrazione della possibilità di violare il protocollo Secure Hash Algorithm (SHA)-1, uno standard di crittografia finora considerato sicuro, sviluppato negli anni 90 e approvato dal governo USA, che svolge un ruolo cruciale in numerose transazioni elettroniche quali la firma digitale e l’impiego delle parole chiave <sup>(45)</sup>.

### **Documenti di riferimento**

Numerosi recenti documenti contengono elementi utili per la costruzione e il funzionamento di un Centro di Risorse Biologiche dedicato alla terapia cellulare. La tabella 6 riporta un elenco dei principali documenti relativi alla terapia cellulare utilizzati per la progettazione del CMTC e per la compilazione delle procedure relative alle attività. In molti casi, i documenti possono essere scaricati gratuitamente da internet.

### **Conclusioni**

La completa valorizzazione delle opportunità offerte dallo sviluppo delle biotecnologie richiede la massima sinergia negli sforzi e nelle azioni dei diversi operatori che possono concorrere a tale valorizzazione, anche in considerazione della necessità di ottimizzare l’uso delle risorse disponibili. Nel caso particolare di biotecnologia rappresentato dalla terapia cellulare, ciò è particolarmente importante, dato l’elevato costo della ricerca scientifica in questo settore e l’ancora limitata serie di procedure applicate all’uomo su una scala più ampia di quella sperimentale.

Una modalità razionale per ottimizzare la sinergia necessaria è sviluppare istituti di sufficiente massa critica, integrati in strutture cliniche di eccellenza, capaci di gestire la terapia cellulare nelle sue diverse forme e specialità applicative. Il modello di CRB dedicato alla terapia cellulare, descritto in questo lavoro e sviluppato presso la Fondazione IRCCS Ospedale Maggiore Policlinico, Mangiagalli e Regina Elena, offre il vantaggio di integrare i numerosi aspetti relativi al prelievo, alla caratterizzazione, alla conservazione, alla ricerca e all’impiego clinico dei materiali biologici, con particolare attenzione alla tracciabilità dei materiali e alla sicurezza dei donatori, dei pazienti, degli operatori e dei prodotti, alla certificazione delle strutture e delle procedure, alla protezione della proprietà intellettuale, all’armonizzazione degli standard e delle norme pertinenti e allo sviluppo di collaborazioni a livello nazionale ed internazionale.

*Tabella 1.* Alcuni programmi ed organizzazioni rilevanti a livello nazionale e internazionale per un CRB dedicato alla terapia cellulare.

1. Organizzazione per la Cooperazione e lo Sviluppo Economico (OCSE)
2. European Biological Resource Centre Network (EBRCN)
3. International Society of Cellular Therapy (ISCT)
4. Foundation for the Accreditation of Cellular Therapy (FACT)
5. NETCORD
6. EUROCORD
7. European Federation for Immunogenetics (EFI)
8. National Marrow Donor Program (NMDP)
9. Bone Marrow Donors Worldwide (BMDW)
10. World Marrow Donor Association (WMDA)
11. Associazione Donatrici Italiane Sangue Cordone Ombelicale (ADISCO)
12. Associazione Italiana Donatori di Midollo (ADMO)
13. American Association of Blood Banks (AABB)
14. European Blood and Marrow Transplant (EBMT)
15. Common Access to Biological Resource Information (CABRI)
16. World Federation of Culture Collections (WFCC)
17. American Tissue Culture Collections (ATCC)
18. International Society of Biological and Environmental Repositories (ISBER)
19. Centro Nazionale Trapianti (CNT)
20. Nord Italia Transplant program (NITp)
21. Associazione Interregionale Trapianti (AIRT)
22. Organizzazione Centro Sud Trapianti (OCST)
23. Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA)
24. Istituto Superiore di Sanità (ISS)
25. Società Italiana di Medicina Trasfusionale e Immunoematologia (SIMTI)
26. Gruppo Italiano Trapianto di Midollo Osseo (GITMO)
27. Registro Italiano Donatori di Midollo Osseo (IBMDR)
28. Gruppo per la Raccolta e l'Amplificazione delle Cellule Emopoietiche (GRACE)
29. Italian Cell Factories (ICF)
30. Gruppo Italiano Citofluorimetria (GIC)
31. Associazione Italiana Studio Fegato (AISF)

*Tabella 2.* Alcuni prodotti utilizzati nella trasfusione, nel trapianto e nella terapia cellulare.

1. Globuli rossi
2. Piastrine
3. Globuli bianchi
4. Midollo osseo
5. Progenitori emopoietici mobilizzati da sangue periferico
6. Sangue placentare
7. Cellule CD34+ purificate (da midollo osseo e sangue periferico)
8. Cellule CD133+ purificate (da midollo osseo, sangue periferico, sangue placentare, muscolo)
9. Diversi prodotti depleti di specifiche popolazioni cellulari
10. Cellule CD34+ da sangue placentare, espanse
11. Cellule staminali mesenchimali
12. Cellule dendritiche ottenute da monociti, CD14+ o CD34+ selezionate da sangue periferico
13. Cloni cellulari T antivirali (CMV, EBV)
14. Cloni cellulari T antileucemici
15. Linee cellulari secernenti citochine (ad esempio, cellule K562 secernenti IL-12)
16. Cellule muscolari
17. Cellule staminali del margine limbare
18. Epatociti

Tabella 3. Alcune norme e standard rilevanti per la sicurezza delle aree criobiologiche.

<i>Leggi/Normative/Standards</i>	<i>Descrizione</i>
D.P.R. n. 547 del 27 aprile 1955	Norme per la prevenzione degli infortuni sul lavoro
D.P.R. n. 303 del 19 marzo 1956	Norme generali per l'igiene del lavoro
D.L. 475/1992	Dispositivi di protezione individuale
D.L. 626/1994	Sicurezza sul posto di lavoro
D.L. 493 del 14 agosto 1996	Segnaletica di sicurezza
Journal Officiel de la République Française dell'8 gennaio 1999	Norme di buona pratica relative ai tessuti di origine umana utilizzati a fini terapeutici
Journal Officiel de la République Française del 30 gennaio 1999	Norme di buona pratica relative a cellule staminali emopoietiche umane e cellule mononucleate ematiche utilizzate a fini terapeutici
Standards FACT-NETCORD	International Standards for Cord Blood Collection, Processing, Testing, Banking, Selection and Release. Second Edition, 2001

Tabella 4. Personale attualmente operativo presso il Centro di Medicina Trasfusionale, Terapia Cellulare e Criobiologia della Fondazione IRCCS Ospedale Maggiore Policlinico

<p><b>Direttore medico: Dr. Paolo Rebutta</b>          Dr.ssa Laura Clerici: Coordinamento dei Progetti di Ricerca e del Fundraising          Dr.ssa Elena Salvaterra: Coordinamento della Ricerca in Campo Bio-Giuridico          Chiara Tirloni: amministrativo di segreteria</p>
---

#### 1. Milano Cord Blood Bank

<i>Nome</i>	<i>Titolo</i>	<i>Ruolo</i>
1. Dr.ssa Lucilla Lecchi	Biologo	Direttore Tecnico
2. Dr.ssa Filomena Garcea	Biologo	Supervisore
3. Dr.ssa Ilaria Ratti	Biologo	Supervisore
4. Sig.a. Brasca Emanuela	Tecnico	Crioconservazione
5. Dr.ssa Deborah Dotti	Biologo	Crioconservazione
6. Dr.ssa Silvia Cimoni	Biologo	Crioconservazione
7. Dr.ssa Sarah Gobbi	Biologo	Sistema Qualità
8. Dr.ssa Elisa Patti	Biologo	Crioconservazione

#### 2. Cell Factory “Franco Calori”

<i>Nome</i>	<i>Titolo</i>	<i>Ruolo</i>
1. Dr.ssa Lorenza Lazzari	Biologo	Direttore Ricerca e Sviluppo
2. Dr.ssa Rosaria Giordano	Medico	Direttore di Produzione e Quality Assurance
3. Dr.ssa Tiziana Montemurro	Biologo	Direzione Produzione
4. Dr.ssa Gabriella Andriolo	Biologo	Incaricato del Controllo di Qualità
5. Dr. Stefano Zangrossi	Biologo	Incaricato del Sistema Qualità
6. Dr.ssa Alessandra Giorgetti	Biologo	Componente del Reparto Produzione
7. Dr.ssa Elisa Montelatici	Biologo	Componente del Reparto Produzione
8. Dr.ssa Viviana Lo Cicero	Biologo	Componente del Reparto di Produzione

#### 3. Biobanca Italiana

<i>Nome</i>	<i>Titolo</i>	<i>Ruolo</i>
1. Dr.ssa Lucilla Lecchi	Biologo	Direttore Tecnico
2. Dr.ssa Silvia Giovanelli	Biologo	Coordinatore
3. Dr.ssa Barbara Butti	Biologo	Gestione Campioni Biologici

#### 4. Laboratorio di Citometria e di Epatologia Sperimentale

<i>Nome</i>	<i>Titolo</i>	<i>Ruolo</i>
1. Dr.ssa Laura Porretti	Biologo	Direttore Tecnico
2. Dr. Roberto Gramignoli	Biologo	Responsabile Tecnico del processo di Banking degli Epatociti
3. Dr. Federico Colombo	Biotecnologo	Responsabile Ricerca e Sviluppo
4. Dr.ssa Raffaella Lopa	Biologo	Responsabile Tecnico della Caratterizzazione Cellulare in Citometria
5. Dr.ssa Alessandra Cattaneo	Biologo	Responsabile del Controllo di Qualità
6. Sig.a. Paola Portararo	Studente	Assistente al Processo di Banking degli Epatociti

Tabella 5. Elenco degli argomenti e stima del tempo necessario per un programma formativo per operatori addetti alla preparazione di prodotti per terapia cellulare presso la Cell Factory 'Franco Calori'. La stima è stata effettuata sulla base dell'esperienza di un primo ciclo formativo che si è svolto nel 2004 e nel 2005.

<i>Argomento</i>	<i>Tipo di formazione T: teorica P: pratica</i>	<i>Tempo operatore (ore)</i>	<i>Tempo tutore (ore)</i>
1. Sicurezza dell'operatore	T P	8	2
2. Biosicurezza	T	8	2
3. Produzione in asepsi per uso umano e sperimentale (GMP allegati 1, 2, 13)	T P	60	8
4. Attrezzature (GMP cap. 3)	T P	180	100
5. Documentazione (GMP cap. 4)	T P	320	180
6. Produzione (GMP cap. 5)	T P	120	80
7. Controllo di qualità (GMP cap. 6)	T P	120	80
8. Reclami e autoispezioni (GMP cap. 7-8)	T P	32	20
9. Site Master Plan	T P	40	20
10. Convalide e Validation Master Plan	T P	100	4
<b>Tempo totale</b>		<b>988</b>	<b>496</b>

Tabella 6. Principali documenti di riferimento per la terapia cellulare.

<i>Documento</i>	<i>Riferimento</i>
The rules governing medicinal products in the European Union	Good Manufacturing Practices 1997, vol. 4
Linee guida per l'avvio degli studi clinici di fase I/II con cellule umane viventi per la terapia cellulare somatica	Notiziario ISS 1997, 10: 1-8
Linee guida per l'ingegneria dei tessuti e la terapia cellulare	Notiziario ISS 1997, 12: 1-8
Note for guidance on comparability of medicinal products containing biotechnology-derived proteins as drug substance	<a href="http://www.emea.eu.int/">http://www.emea.eu.int/</a>
Points to consider on the manufacture and quality control of human somatic cell therapy medicinal products CPMP/BWP/41450/98	<a href="http://www.emea.eu.int/">http://www.emea.eu.int/</a>
Design and operation of a current good manufacturing practices cell-engineering laboratory	Cytotherapy 2000; 12:111-122
Standards for Hematopoietic Progenitor Cell Collection, Processing & Transplantation	FACT, second edition, 2001
Regolamento di esemplificazione delle procedure per la verifica ed il controllo di nuovi sistemi e protocolli terapeutici sperimentali	Decreto del Presidente della Repubblica Italiana n. 439 del 21 settembre 2001; <a href="http://www.iss.it">http://www.iss.it</a>
Adaptation of the legal and administrative dispositions and regulations of the EU Members regarding the application of good clinical practice in performing clinical experimentation of drugs for human use	Direttiva 2001/20/CE
Accertamenti ispettivi sulla osservanza delle norme di buona pratica di fabbricazione e di buona pratica clinica.	Decreto 30 maggio 2001
Accertamento della composizione e innocuità dei farmaci di nuova istituzione prima della sperimentazione clinica sull'uomo. Individuazione della documentazione da sottoporre all'Istituto Superiore di Sanità ai sensi dell'art. 4, comma 2, del decreto del Presidente della Repubblica 21 settembre 2001, n. 439.	Decreto del Presidente dell'ISS del 26 Aprile 2002; <a href="http://www.iss.it">http://www.iss.it</a>
The new principles of good laboratory practice. Priorities, problems, perspectives	Annali ISS 2002; vol. 38 (1)
Setting standards of quality and safety for the donation, procurement, testing, processing, preservation, storage and distribution of human tissues and cells	Direttiva 2004/23/CE

Figura 1. Numero di unità di sangue placentare consegnate dalla Milano Cord Blood Bank dal 1995

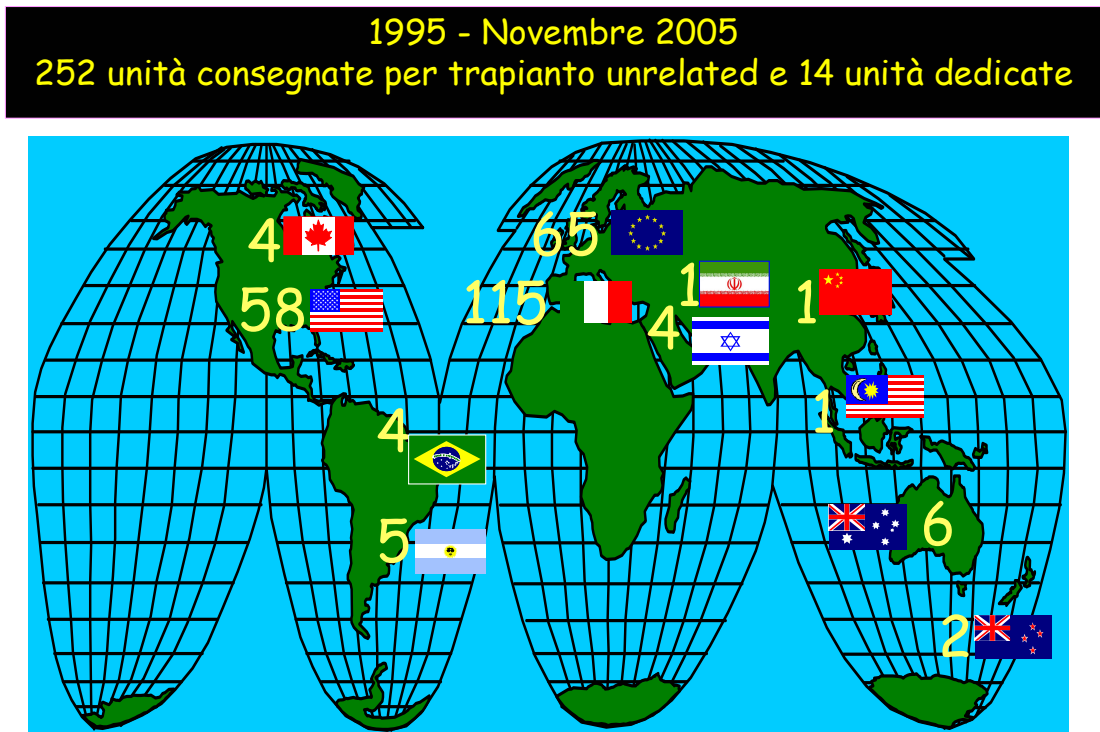


Figura 2. Sala di conservazione degli embrioni criopreservati realizzata in conformità al Decreto 4 agosto 2004 presso la Biobanca Italiana



Figura 3. Pianta della Milano Cord Blood Bank e della Biobanca Italiana.

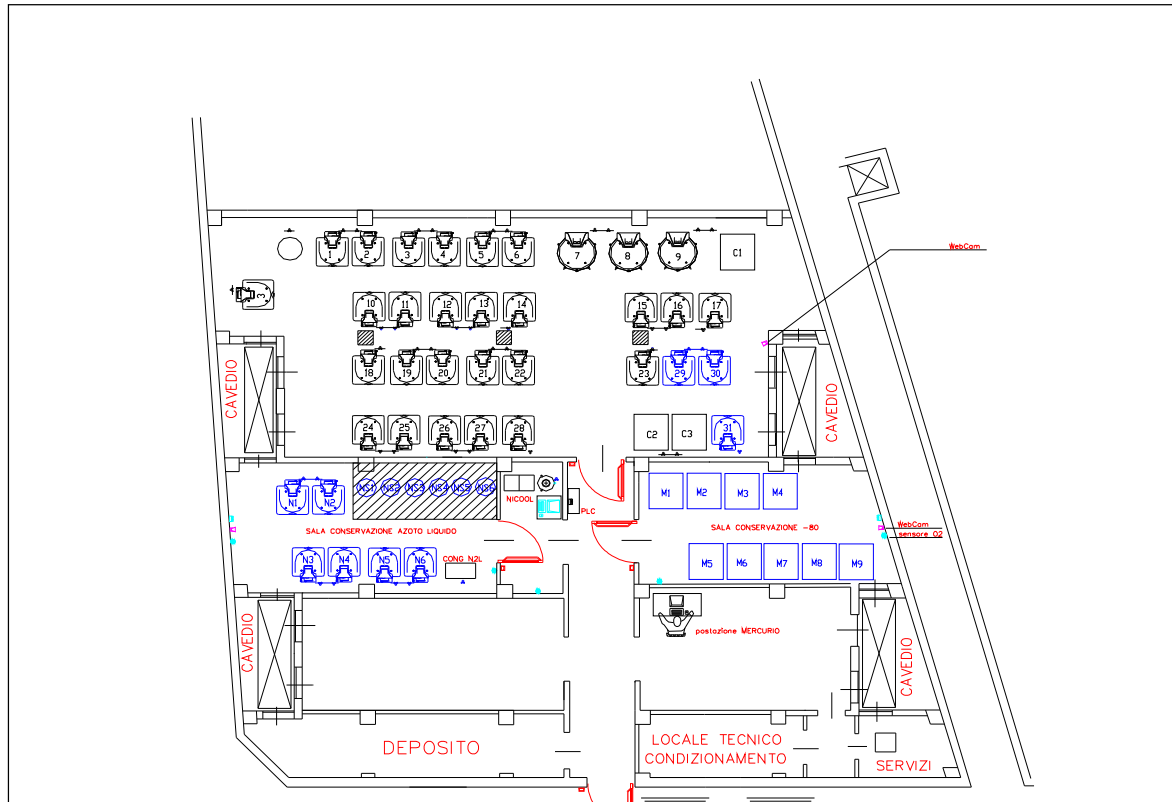


Figura 4. Pianta della Cell Factory 'Franco Calori'.



Figura 5. Schema generale del processo presso la Milano Cord Blood Bank.

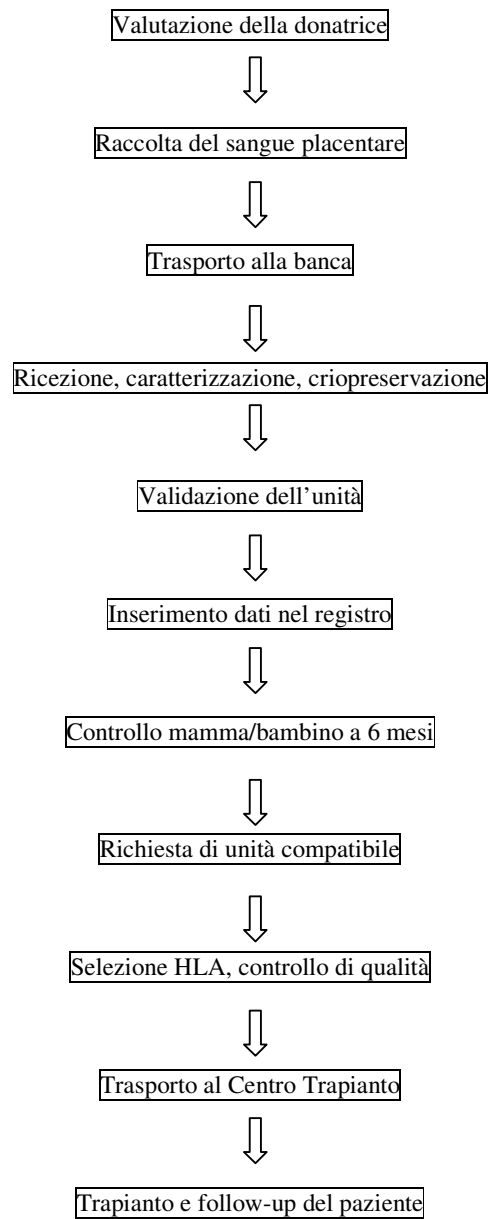


Figura 6. Schema generale del processo presso la Cell Factory 'Franco Calori'.

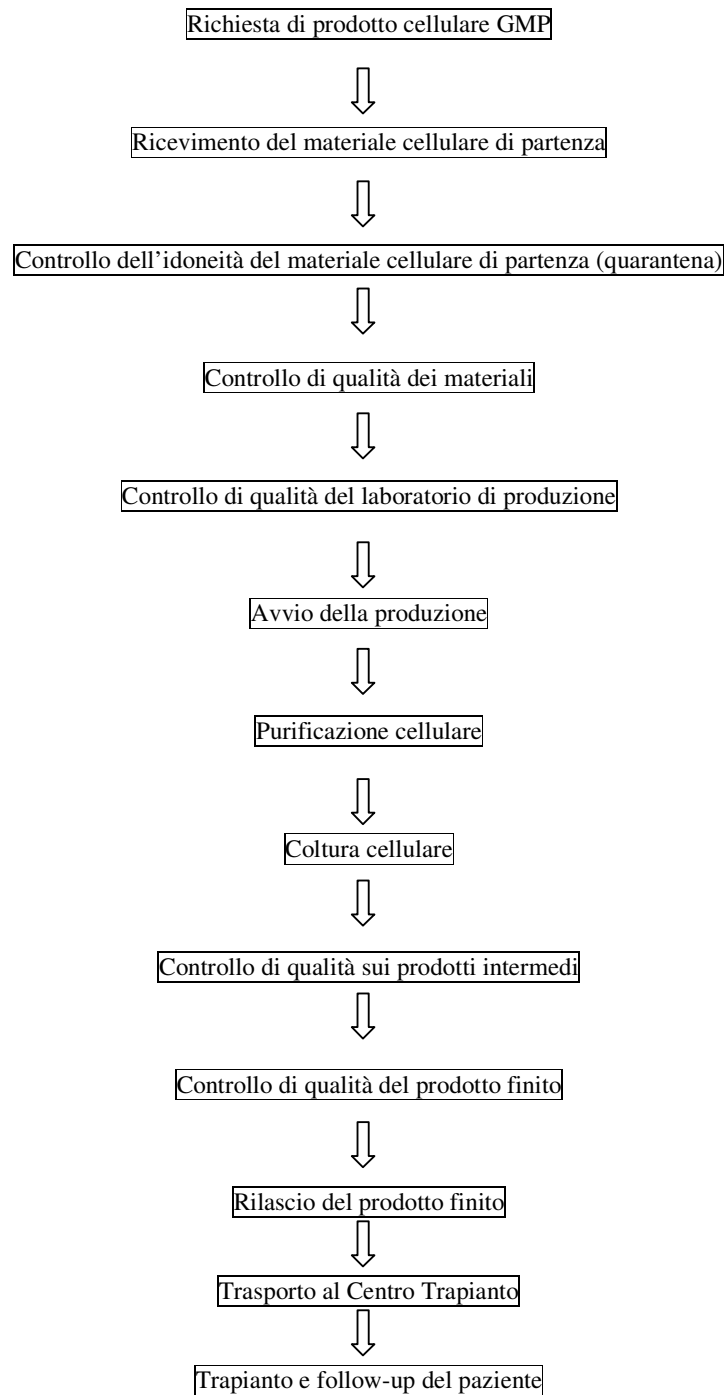
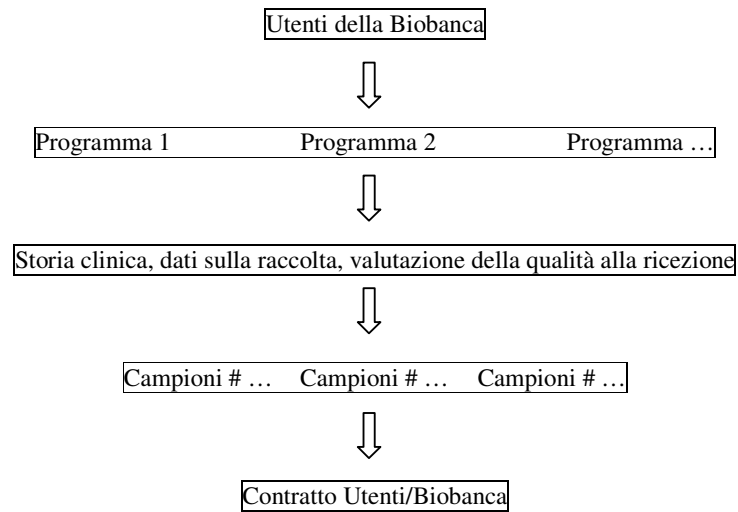


Figura 7. Schema generale del processo presso la Biobanca Italiana.



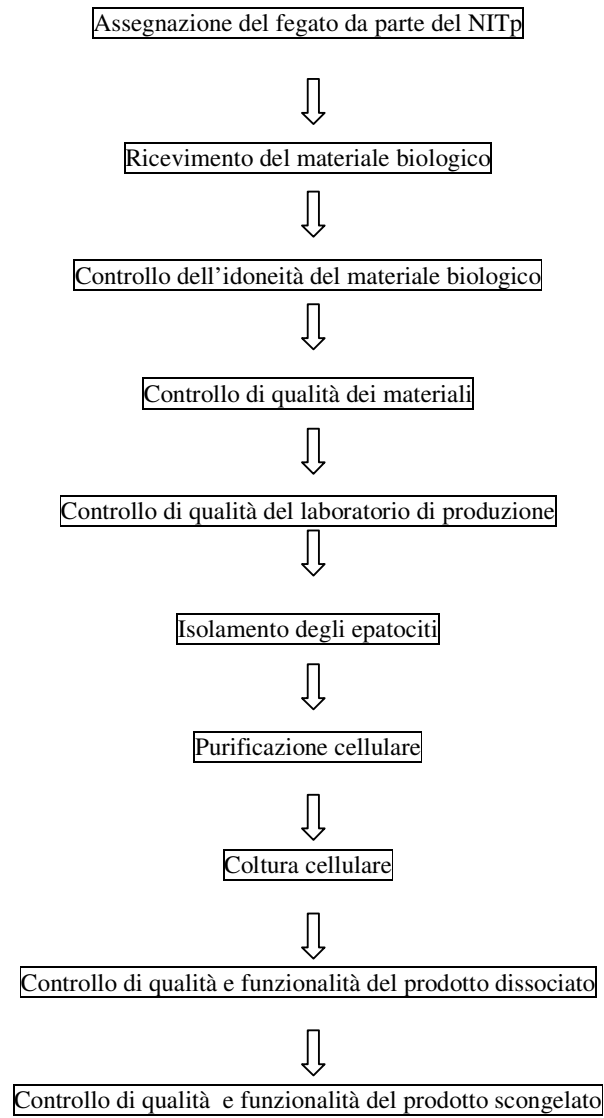
1. Ricezione (tipo, numero, data, qualità, tutore dei campioni)
2. Manipolazione (etichettatura, aliquotazione)
3. Conservazione (-80°C, azoto)
4. Distribuzione (regole, accesso)
5. Trasporto (modalità, tempi)
6. Comunicazione (informazione utenti e pubblico)
7. Ricerca (progetti, pubblicazioni, proprietà intellettuale)
8. Costi (amministrato, rendicontazione)

Figura 8. Capacità della Biobanca Italiana e della Milano Cord Blood Bank.

<i>Spazio criogenico teorico</i>	<i>Volume massimo dei campioni (L)</i>	<i>Numero e tipologia dei contenitori</i>
Totale 18.960 L	2.503 13%	1.251.840 (provette da 2 ml)
12 Contenitori a – 80°C da 6.000 L	816 13%	408.240 (provette da 2 ml)
38 Contenitori di azoto liquido da 12.60 L	1.687 13%	843.600 (provette da 2 ml)
..... oppure ⇨	950 7%	36.936 (sacche da 50 ml)
..... oppure ⇨	1.216 9%	12.312 (sacche da 200 ml)
..... oppure ⇨	2.873 22%	8.208 (sacche da 700 ml)
..... oppure ⇨	3.778 29%	6.144.600 (paillettes da 0,25 ml)

*Nota: riempimento delle sacche = 50% del volume nominale*

Figura 9. Schema generale del processo di isolamento degli epatociti umani.



## **Ringraziamenti**

Gli autori ringraziano gli operatori del CMTC, le mamme che hanno acconsentito alla donazione del sangue placentare, gli operatori delle sale parto che raccolgono il sangue placentare per la Milano Cord Blood Bank, e i colleghi che partecipano a diversi gruppi collaborativi fra cui ICF, GRACE e GITMO, per la discussione di numerosi aspetti descritti in questo lavoro. Un ringraziamento particolare al prof. Girolamo Sirchia, alla dr.ssa Eliane Gluckman, al dr. Alessandro Nanni Costa, al dr. Ferruccio Bonino, al dr. Giuseppe Di Benedetto, al dr. Carlo Tognoli, al dr. Francesco Zanuso, all'ADISCO, alla Fondazione Il Sangue, alla Fondazione CARIPLLO, alla Fondazione Banca Nazionale delle Comunicazioni e alla Regione Lombardia per il contributo allo sviluppo del trapianto di sangue placentare e della terapia cellulare, al prof. Guido Coggi, al dr. Domenico Coviello e all'ing. Pasquale De Blasio per la discussione di numerosi aspetti legati al biobanking, ai prof. Giorgio Lambertenghi, Davide Soligo, Paolo Gerundini, Nereo Bresolin e al dr. Yvan Torrente per lo sviluppo dei protocolli specialistici di terapia cellulare e alla dr.ssa Francesca Poli, al dr. Giuseppe Piccolo e al dr. Mario Scalamogna per la collaborazione a numerose fasi dei processi del CMTC e alla dr.ssa Giusy Baldocchi e a Daniela Graia per il contributo editoriale.

Lavoro finanziato in parte con il contributo dei grant: StemBank2003; Transplantation of multiple partially matched unrelated cord blood units and mesenchymal cells; Homing of peripherally injected bone marrow stem cells in rat after experimental myocardial injury dell'Istituto Superiore di Sanità (2003); Identificazione, purificazione, transdifferenziazione e banking di cellule staminali indirizzate verso fenotipi rari e non propri da utilizzare per riparazione tissutale del MIUR (2002); Plasticità delle cellule staminali da sangue placentare e midollo osseo in senso neurale, muscolare, endoteliale ed epatico della Fondazione CARIPLLO (2002); Evaluation of the facilitation of umbilical cord blood transplant engraftment using ex-vivo hematopoietic progenitor/stem cell expansion (EUROCORD III, 2003).

## Bibliografia

1. Biological Resource Centres. Underpinning the Future of Life Science and Biotechnology. Organisation for Economic Co-operation and Development. [www.SourceOECD.org](http://www.SourceOECD.org)
2. Lazzari L, Corsini C, Curioni C, Lecchi L, Scalamogna M, Rebulli P, Sirchia G. The Milan Cord Blood Bank and the Italian Cord Blood Network. *J Hematother* 1996;5:117-22.
3. Giordano R, Lazzari L, Rebulli P. Clinical grade cell manipulation. *Vox Sang* 2004;87:65-72.
4. Giordano R, Lazzari L, Montemurro T, Lecchi L, Porretti L, Rebulli P. Clinical-grade cell purification from thawed cord blood: an example of translational research. *Bone Marrow Transplant* 2003;32:965-6.
5. Nygaard Jensen J, Jensen J. Cell therapy of diabetes. *Adv Exp Med Biol* 2004;552:16-38.
6. Burns CJ, Persaud SJ, Jones PM. Stem cell therapy for diabetes: do we need to make beta cells? *J Endocrinol* 2004;183:437-43.
7. Cantz T, Sharma AD, Jochheim-Richter A, Arseniev L, Klein C, Manns MP, Ott M. Reevaluation of bone marrow-derived cells as a source for hepatocyte regeneration. *Cell Transplant* 2004;13:659-66.
8. Stute N, Holtz K, Bubenheim M, Lange C, Blake F, Zander AR. Autologous serum for isolation and expansion of human mesenchymal stem cells for clinical use. *Exp Hematol* 2004;32:1212-25.
9. Dunnett SB, Rosser AE. Cell Therapy in Huntington's Disease. *NeuroRx* 2004;1:394-405.
10. Wollert KC, Drexler H. Clinical applications of stem cells for the heart. *Circ Res* 2005;96:151-63.
11. Haas S, Weidner N, Winkler J. Adult stem cell therapy in stroke. *Curr Opin Neurol* 2005;18:59-64.
12. Santner-Nanan B, Peek MJ, McCullagh P, Nanan R. Therapeutic potential of stem cells in perinatal medicine. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2005;45:102-7.
13. Menasche P. Skeletal myoblast for cell therapy. *Coron Artery Dis* 2005;16:105-10.
14. Zhu J, Wu X, Zhang HL. Adult neural stem cell therapy: expansion in vitro, tracking in vivo and clinical transplantation. *Curr Drug Targets* 2005;6:97-110.
15. Schultz SS. Adult stem cell application in spinal cord injury. *Curr Drug Targets* 2005;6:63-73.
16. Heier HE. A personal perception of the history of blood and transfusion. *Vox Sang*. 2002;83 Suppl 1:121-3.
17. Platzbecker U, Bornhauser M, Zimmer K, Lerche L, Rutt C, Ehninger G, Holig K. Second donation of granulocyte-colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood progenitor cells: risk factors associated with a low yield of CD34+ cells. *Transfusion* 2005;45:11-5.
18. Gidron A, Verma A, Doyle M, Boggio L, Evens A, Gordon L, Singhal S, Tallman M, Williams S, Winter J, Mehta J. Can the stem cell mobilization technique influence CD34+ cell collection efficiency of leukapheresis procedures in patients with hematologic malignancies? *Bone Marrow Transplant* 2005;35:243-6.
19. Rocha V, Labopin M, Sanz G, Arcese W, Schwerdtfeger R, Bosi A, Jacobsen N, Ruutu T, de Lima M, Finke J, Frassonni F, Gluckman E; Acute Leukemia Working Party of European Blood and Marrow Transplant Group; Eurocord-Netcord Registry. Transplants of umbilical-cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with acute leukemia. *N Engl J Med* 2004;351:2276-85.
20. Rocha V, Sanz G, Gluckman E, Eurocord and European Blood and Marrow Transplant Group. Umbilical cord blood transplantation. *Curr Opin Hematol* 2004;11:375-85.
21. Laughlin MJ, Eapen M, Rubinstein P, Wagner JE, Zhang MJ, Champlin RE, Stevens C, Barker JN, Gale RP, Lazarus HM, Marks DI, van Rood JJ, Scaradavou A, Horowitz MM. Outcomes after transplantation of cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with leukemia. *N Engl J Med* 2004;351:2265-75.
22. Lemoli RM, Bertolini F, Cancedda R, De Luca M, Del Santo A, Ferrari G, Ferrari S, Martino G, Mavilio F, Tura S. Stem cell plasticity: time for a reappraisal? *Haematologica* 2005;90:360-81.
23. Lakshmipathy U, Verfaillie C. Stem cell plasticity. *Blood Rev* 2005;19:29-38.
24. Yoon YS, Lee N, Scadova H. Myocardial regeneration with bone-marrow-derived stem cells. *Biol Cell* 2005;97:253-63.
25. Rice CM, Scolding NJ. Adult stem cells - reprogramming neurological repair? *Lancet* 2004;364:193-9.
26. Cancedda R, Bianchi G, Derubeis A, Quarto R. Cell therapy for bone disease: a review of current status. *Stem Cells* 2003;21:610-9.
27. Peterson B, Zhang J, Iglesias R, Kabo M, Hedrick M, Benhaim P, Lieberman JR. Healing of critically sized femoral defects, using genetically modified mesenchymal stem cells from human adipose tissue. *Tissue Eng* 2005;11:120-9.
28. Pellegrini G, Golisano O, Paterna P, Lambiase A, Bonini S, Rama P, De Luca M. Location and clonal analysis of stem cells and their differentiated progeny in the human ocular surface. *J Cell Biol* 1999;145:769-82.
29. Schneider MD. Regenerative medicine: Prometheus unbound. *Nature* 2004;432:451-3.
30. Merz JF, Leonard DG, Miller ER. IRB review and consent in human tissue research. *Science* 1999;283:1647-8.
31. Hakimian R, Korn D. Ownership and use of tissue specimens for research. *JAMA* 2004;292:2500-5.
32. Cambon-Thomsen A. Assessing the impact of biobanks. *Nature Genetics*. 2003;34:25-6.
33. Cambon-Thomsen A, Ducourneau P, Gourraud PA, Pontille D. Biobanks for genomics and genomics for biobanks. *Comparative and Functional Genomics*. 2003;4:628-34.
34. Cambon-Thomsen A. The social and ethical issues of post-genomic human biobanks. *Nature Reviews Genetics*. 2004;5:866-73.
35. Cassano G, Fadda S (a cura di). Codice in materia di protezione dei dati personali. Commento articolo per articolo al testo unico sulla privacy. D. lgs 30 giugno 2003 n. 196. IPSOA, 2004.
36. Simitis S. Nationaler Ethikrat, Biobanks for research. Opinion. German National Ethics Council. [www.ethikrat.org](http://www.ethikrat.org)
37. The Health Insurance Portability and Accountability Act of 1996 (HIPAA). <http://www.cms.hhs.gov/hipaa/>

38. McNally E, Cambon-Thomsen A, Brazell C, Cassiman J, Kent A, Lindpaintner K, Lobato de Faria P, Niese D, Roscam Abbing H, Helge Solbakk J, Tack H, Tambuyzer E, Weihsrauch TR, Wendel E. 25 recommendations on the ethical, legal and social implications of genetic testing. Brussels, 2004. <http://europa.eu.int>
39. Council for International Organizations of Medical Sciences (CIOMS) in collaboration with the World Health Organization (WHO). International Ethical Guidelines for Biomedical Research Involving Human Subjects. [http://www.cioms.ch/frame\\_guidelines\\_nov\\_2002.htm](http://www.cioms.ch/frame_guidelines_nov_2002.htm)
40. United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization. International declaration on human genetic data. Adopted unanimously and by acclamation on 16 October 2003 by the 32nd session of the General Conference of UNESCO.
41. Dagna Bricarelli FL, Baldo C, Filocamo M, Monaco L. Genetic biobanks guidelines. *Analysis*. 2003;5:1.
42. Hirtzlin I, Dubreuil C, Preaubert N, Duchier J, Jansen B, Simon J, Lobato de Faria P, Perez-Lezaun A, Visser B, Williams GD, Cambon-Thomsen A. An empirical survey on biobanking of human genetic material and data in six EU countries. *Eur J Hum Genet*. 2003;11:475-88.
43. Then SN. Stem cell technologies: regulation, patents and problems. *J Law Med* 2004;12:188-204.
44. Convenzione di Oviedo (Consiglio d'Europa – 1997). Convenzione per la protezione dei diritti dell'uomo e la dignità dell'essere umano riguardo alle applicazioni della biologia e della medicina. <http://www.portaledibioetica.it/documenti/001306/001306.htm>
45. Seife C. Flaw found in data-protection method. *Science* 2005;307:1389.