

ACCORDO DI COLLABORAZIONE SCIENTIFICA

Studio di immunogenicità dei farmaci anti-TNF. Monitoraggio basato su tecniche di risonanza plasmonica di superficie e confronto tra originators e biosimilari (Progetto ADA)

TRA

la **Azienda USL Toscana Centro**, c.f. 06593810481, P.I. 06593810481, con sede in Firenze, Piazza Santa Maria Nuova 1, cap 50122, in seguito indicata “**Ente**” o “**Promotore**”, rappresentata dal Direttore Generale Dr. Paolo Morello Marchese;

E

il **Laboratorio Interdipartimentale di Chimica e Biologia di Peptidi e Proteine**, afferente alla Sezione di Scienze Farmaceutiche e Nutraceutica del Dipartimento di Neuroscienze, Area del Farmaco e Salute del Bambino (NeuroFarBa) dell'Università di Firenze, , c.f. e P.I.01279680480, con sede in Viale Pieraccini 6, 50139 Firenze, in seguito indicato “**Laboratorio**”, rappresentato dal Prof. Carlo Dani in qualità di Direttore di Dipartimento ed in conformità all'art. 36 co.6 del Regolamento di Amministrazione, Finanza e Contabilità dell'Ateneo F.no;

E

il **Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica** dell'Università di Firenze, c.f. e P.I. 01279680480, con sede in Largo Brambilla 3, 50134 Firenze, in seguito indicato “**Dipartimento**”,

rappresentato dal Prof. Francesco Annunziato in qualità di Direttore di Dipartimento ed in conformità all'art. 36 co.6 del Regolamento di Amministrazione, Finanza e Contabilità dell'Ateneo F.no.

(d'ora in avanti definite "Le Parti")

PREMESSO CHE

- a) l'art. 15 della Legge 7 agosto 1990, n. 241 stabilisce che le Amministrazioni Pubbliche possono concludere tra loro accordi per disciplinare lo svolgimento in collaborazione di attività di interesse comune e che per tali accordi si osservano, in quanto applicabili, le disposizioni previste dall'art. 11, commi 2 e 3 della medesima legge;
- b) un'autorità pubblica può adempiere ai propri compiti anche in collaborazione con altre amministrazioni, in alternativa allo svolgimento di procedure di evidenza pubblica di scelta del contraente purché l'accordo fra amministrazioni preveda un'effettiva cooperazione fra i due enti senza prevedere un compenso oltre al riconoscimento delle spese sostenute per lo svolgimento delle attività, valutate preventivamente a titolo forfettario;
- c) è interesse del Promotore avviare uno studio sui farmaci biologici anti-TNFalfa;
- d) fra le numerose attività di ricerca e competenze del Dipartimento, vi sono anche quelle dello studio dell'immunogenicità di farmaci biologici;
- e) l'Ente intende avvalersi delle competenze tecniche e scientifiche di elevata qualificazione a livello nazionale, messe a disposizione dal Dipartimento;
- f) nel Laboratorio è stata recentemente sviluppata, sotto la supervisione del Prof. Paolo Rovero, una nuova metodica analitica per il dosaggio di anticorpi anti-farmaco, basata sulla Risonanza Plasmonica di Superficie (RPS);

- g) obiettivo generale dell'attività oggetto della presente convenzione è la collaborazione tra il Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica dell'Università di Firenze, l'Azienda USL Toscana Centro e il Laboratorio Interdipartimentale di Chimica e Biologia di Peptidi e Proteine del Dipartimento di Neuroscienze, Area del Farmaco e Salute del Bambino (NeuroFarBa) per la realizzazione delle attività di interesse comune;
- h) il Dipartimento si è dichiarato disponibile a collaborare con le Parti approvando il seguente Accordo nella seduta del Consiglio del 08/09/2022
- i) il Laboratorio si è dichiarato disponibile a collaborare con le Parti approvando il seguente Accordo nella seduta del Consiglio di NeuroFarBa del 05/09/2022

TUTTO CIÒ PREMESSO E CONSIDERATO
SI CONVIENE E SI STIPULA QUANTO SEGUE

Art. 1.- Premesse

Le premesse costituiscono parte integrante del presente accordo.

Art. 2.- Finalità e oggetto dell'accordo

Il presente accordo disciplina il rapporto di collaborazione tecnico-scientifica tra le parti per l'esecuzione delle attività relative allo "*Studio di immunogenicità dei farmaci anti-TNF. Monitoraggio basato su tecniche di risonanza plasmonica di superficie e confronto tra originators e biosimilari (Progetto ADA)*", come meglio descritte all'Allegato A1 al presente accordo a formarne parte integrante e sostanziale

Lo studio avrà lo scopo di valutare la presenza e le caratteristiche di anticorpi anti-farmaco in pazienti trattati con anti-TNF presso l'Azienda USL Toscana Centro. Secondo quanto indicato negli

obiettivi, al termine dello studio si potrà verificare se la presenza di anticorpi anti-farmaco correla con la risposta clinica, e se i biosimilari comportano una produzione di anticorpi anti-farmaco differente da quella degli originator.

Questo aspetto permetterà di selezionare il miglior farmaco biologico, in termini di efficacia clinica con miglior controllo della malattia con il minor impatto economico per la spesa sanitaria.

Art. 3 - Fasi dello studio

Lo studio si articolerà in due fasi.

La **prima fase** sarà articolata nei seguenti "TASKS":

- a) Ampliare la metodica messa a punto dal Laboratorio Interdipartimentale di Chimica e Biologia di Peptidi e Proteine al dosaggio del farmaco Adalimumab stesso sullo strumento già in possesso.
- b) Trasferire la metodica al nuovo strumento RPS che sarà eventualmente identificato e acquisito dall'Azienda USL Toscana Centro per questo scopo.

Il TASK a) si svolgerà, presso il Laboratorio Interdipartimentale di Chimica e Biologia di Peptidi e Proteine afferente al Dipartimento NeuroFarBa, Sezione di Scienze Farmaceutiche e Nutraceutica, dove è già disponibile un apparecchio basato sulla Risonanza Plasmonica di Superficie (RPS) per l'analisi delle interazioni antigene-anticorpo, con il quale è stata recentemente sviluppata una nuova metodica analitica per il dosaggio di anticorpi anti-farmaco. Una volta messa a punto la metodica con le modalità sopra indicate, sempre in 1^a fase ma in un secondo momento e sulla base delle risultanze emerse, la USL Toscana Centro provvederà alla eventuale acquisizione di un nuovo macchinario che verrà installato presso il Dipartimento. Sul nuovo macchinario sarà realizzato il TASK b) ovvero trasferita e validata la metodica precedentemente messa a punto con la collaborazione tra Dipartimento e Laboratorio.

L'intera fase 1 prevede un periodo di formazione e affiancamento specifico, da parte del Laboratorio, di personale afferente al Dipartimento, indispensabile per passare alla seconda fase dello studio.

La **seconda fase** si svolgerà interamente presso il Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica - Laboratorio di Immunologia e Terapie Cellulari sul nuovo strumento RPS, eventualmente acquisito, che eseguirà i test con metodica RPS dei campioni raccolti presso le strutture dell'Azienda USL Toscana Centro.

Sul nuovo strumento RPS, presso il Laboratorio di Immunologia e Terapie Cellulari del Dipartimento, il personale formato nella prima fase effettuerà un'analisi di confronto degli esiti della metodica RPS con quelli della metodica ELISA.

A questo scopo verranno testati preliminarmente con metodica RPS i campioni di siero già nelle disponibilità del Dipartimento. Tali campioni sono stati raccolti e già valutati mediante metodica ELISA presso il Laboratorio di Immunologia e Terapie Cellulari, nell'ambito del Progetto IMI (Seventh Framework Programme) ABIRISK (Anti-Biopharmaceutical Immunization: Prediction and analysis of clinical relevance to minimize the risk), del quale l'Università di Firenze è stata partner, ed al quale hanno partecipato in qualità di Co-investigatore la Dott.ssa Alessandra Vultaggio ed il Dott. Andrea Matucci.

Art. 4 Impegni delle Parti

Fase 1

Ausl Toscana Centro

una volta messa a punto la metodica con le modalità sopra indicate, sempre in 1^a fase ma in un secondo momento e sulla base delle risultanze emerse, la USL Toscana Centro provvederà

alla eventuale acquisizione/noleggio/leasing (o altra modalità ritenuta più idonea) di un nuovo macchinario. Sul nuovo macchinario sarà trasferita e validata la metodica precedentemente messa a punto avvalendosi della collaborazione e del supporto del Dipartimento di Medicina sperimentale e clinica e del Dipartimento NeuroFarBa, Sezione di Scienze Farmaceutiche e Nutraceutica;

Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica

- invio del personale (n. operatori 1-2) al Laboratorio Interdipartimentale di Chimica e Biologia di Peptidi e Proteine per la loro formazione
- Messa in disponibilità di campioni di siero di pazienti trattati con farmaci anti-TNF allo scopo di ampliare la metodica in essere e successivamente trasferirla sul nuovo strumento (si vedano i punti 1 e 2 del “disegno dello studio” in Allegato A1)

Laboratorio Interdipartimentale di chimica e Biologia di Peptidi e Proteine

- Formazione e affiancamento del personale del Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica per l'utilizzo della metodica analitica per il dosaggio di anticorpi anti-farmaco, basata sulla Risonanza Plasmonica di Superficie (RPS) e l'ampliamento del metodo al dosaggio del farmaco in questione.
- Affiancamento e collaborazione col personale del Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica per le procedure di trasferimento della metodica sul nuovo strumento eventualmente acquisito.

Fase 2

Ausl Toscana Centro:

- Fornisce i campioni per esecuzione test

Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica:

- Esegue un'analisi di confronto tra gli esiti del dosaggio di farmaco e anti-farmaco eseguito mediante metodica ELISA o mediante RPS su circa 400 campioni già in possesso del Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica
- Esegue test con metodica RPS dei campioni raccolti presso le strutture dell'Azienda USL Toscana Centro.

Laboratorio Interdipartimentale di chimica e Biologia di Peptidi e Proteine:

- Supporta il personale del Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica nell'analisi di confronto tra dosaggio ELISA e RPS di anticorpi anti-farmaco e farmaco eseguito sul nuovo strumento RPS.

Art. 5.- Responsabili dell'accordo

Responsabili del procedimento ai sensi della Legge 241/90:

- per Azienda USL Toscana Centro: Dr.sa Valentina Uvia Corridori
- per il Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica: Dr.sa Raffaella De Angelis
- per il Laboratorio Interdipartimentale di chimica e Biologia di Peptidi e Proteine: Dr.sa Beatrice Poggini

Responsabili Scientifici

- per Azienda USL Toscana Centro: Dr. Franco Vocioni

- per il Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica: Prof. Francesco Annunziato e Prof. Lorenzo Cosmi
- per il Laboratorio Interdipartimentale di Chimica e Biologia di Peptidi e Proteine: Prof. Paolo Rovero

Art. 6.- Durata dell'accordo e modifiche

L'accordo avrà la durata di 2 anni con decorrenza dalla data di stipula con firma digitale del presente atto, salvo anticipato esaurimento dell'attività per completamento dello stesso o concorde interruzione delle attività che vi sottendono.

Il presente atto potrà anche essere rinnovato, per uguale periodo, previo scambio formale fra le parti.

Ogni modifica al presente accordo dovrà essere approvata dalle parti mediante atto scritto.

Art. 7.- Contributo alle spese e modalità di erogazione

I costi per lo svolgimento dell'attività connessa al presente accordo saranno sostenuti dal Promotore: in particolare, saranno sostenute dal promotore a titolo di rimborso ed esclusivamente nei limiti degli importi complessivi previsti nell'Allegato A2 al presente atto:

- le spese relative al materiale di consumo necessario per la messa in opera e la successiva applicazione dei dosaggi con tecnologia RPS per lo svolgimento della prima fase sull'apparecchio già presente presso il Laboratorio;
- le spese relative al materiale di consumo necessario per le analisi di confronto tra tecnica ELISA i

- le spese relative al personale afferente al Laboratorio Interdipartimentale di chimica e Biologia di Peptidi e Proteine dedicato al progetto.

- le spese relative ai materiali d'uso per le analisi RPS che verranno poi effettuate sul nuovo macchinario eventualmente acquisito saranno oggetto di atti successivi all'eventuale acquisizione.

Il Piano Economico Allegato A2 al presente atto è sotto riportato in sintesi:

- Laboratorio Interdipartimentale di chimica e Biologia di Peptidi e Proteine: Max Euro 50.000 complessivi per due anni di attività

- Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica: Max Euro 33.964,40 complessivi per due anni di attività.

Non configurandosi quale pagamento di corrispettivo l'onere finanziario derivante dal presente accordo, nell'ottica di una reale condivisione di compiti e responsabilità, rappresenta un rimborso delle spese effettivamente sostenute.

L'operazione è pertanto considerata fuori campo IVA, ai sensi dell'art. 1 e 4, del DPR 633/72, e pertanto non è prevista emissione di fattura.

La liquidazione delle somme a favore del Laboratorio Interdipartimentale di chimica e Biologia di Peptidi e Proteine avverrà a seguito di richiesta di pagamento, mediante versamenti sul Conto Tesoreria n. 0036739 intestato all'Università degli Studi di Firenze (inserire nella causale 58514 -Dipartimento di NeuroFarBa) da emettersi nei tempi di seguito indicati:

- 100% alla stipula dell'accordo

La liquidazione delle somme a favore del Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica avverrà a seguito di richiesta di pagamento, mediante versamenti sul Conto Tesoreria n. 0036739 intestato

all'Università degli Studi di Firenze (inserire nella causale 58513 - Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica) da emettersi nei tempi di seguito indicati:

- 100% alla stipula dell'accordo

Le determinazioni relative l'eventuale acquisizione del nuovo macchinario, compresi i costi per i materiali d'uso, saranno oggetto di atti successivi all'acquisizione.

Art. 8. - Proprietà intellettuale

Tutti i risultati parziali e finali direttamente o indirettamente derivanti dal presente accordo saranno di proprietà di tutte le parti che si impegnano ad utilizzarli nel rispetto della normativa di settore.

Art 9. Riservatezza e trattamento dei dati personali

- Le Parti si danno reciprocamente atto di conoscere e applicare, nell'ambito delle proprie organizzazioni, tutte le norme vigenti e in fase di emanazione in materia di trattamento dei dati personali, sia primarie che secondarie, rilevanti per la corretta gestione del trattamento, ivi compresi il Regolamento UE 2016/679 del Parlamento europeo e del Consiglio del 27 aprile 2016 "GDPR") e il D.Lgs 30 giugno 2003, n. 196 "Codice in materia di protezione dei dati personali".

- Ai fini della presente convenzione le Parti, come in epigrafe individuate, si qualificano come autonomi Titolari del trattamento, ai sensi dell'art. 4 n. 7 del Regolamento (UE) cit.

- Le parti si danno reciprocamente atto che lo scambio di dati oggetto della presente convenzione risponde ai principi di liceità e si impegnano, inoltre, a far sì che l'accesso ai

dati personali sia consentito solo a soggetti appositamente nominati nella misura in cui sia necessario per l'esecuzione della presente convenzione.

- Le parti sono tenute al rispetto dei propri obblighi ai sensi della normativa sulla Protezione dei Dati e si impegnano a fornirsi reciproco e ragionevole supporto per garantire tale rispetto nell'ambito della presente convenzione.

- Ciascuna delle Parti si impegna a fornire agli interessati tutte le informazioni sul trattamento dei dati personali in relazione alle attività oggetto della presente Convenzione, ai sensi dell'articolo 13 del GDPR e di acquisire il libero e informato consenso, ove necessario.

- Ciascuna parte si impegna a rispondere in modo appropriato e in conformità alla normativa in materia di protezione dei dati a qualsiasi richiesta e/o istanza da essa ricevute in merito al trattamento dei dati degli interessati fornendo tempestiva notizia all'altra a mezzo P.E.C. Le parti, ove la richiesta e/o l'istanza lo richieda, si impegnano a fornirsi reciproca assistenza, a propria cura e spese, al fine di garantire un completo ed esaustivo riscontro all'interessato.

- Ciascuna delle parti, in relazione al trattamento dei dati si impegna a:

a. adottare misure di sicurezza tecniche e organizzative adeguate contro l'elaborazione non autorizzata o illecita, la perdita, il furto o il danneggiamento dei dati degli interessati;

b. garantire l'assoluto anonimato mediante attribuzione di un codice alfa-numerico progressivo a ciascun paziente

c. non conservare i dati degli interessati per un periodo ulteriore rispetto agli scopi per cui sono stati raccolti e trattati (come previsto dalla normativa e facendo riferimento alla data di chiusura del progetto stabilita per il 31/12/2024)

Art. 10 - Sicurezza e Responsabilità

Le Parti considerano la tutela della salute e della sicurezza dei lavoratori che saranno occupati nelle attività oggetto del presente contratto come condizioni imprescindibili e prioritarie per la stipula del presente atto. Si impegnano pertanto fin d'ora a cooperare e a coordinare le attività di prevenzione e protezione dai rischi nel rispetto della normativa vigente (D.Lgs. n. 81/2008 e ss.mm.ii.) a favore del proprio personale impegnato nelle attività oggetto del presente contratto.

Le attività di cui al presente accordo contemplano la possibilità che il personale dipendente, di una Parte acceda presso la/e Sede/i dell'altra, anche per il compimento di parte della prestazione.

La parte ospitante si farà carico di informare i lavoratori dell'altra Parte in merito alle misure e regole di sicurezza ivi adottate (piano di emergenza, procedure di evacuazione, ecc).

Nel caso in cui l'accesso di lavoratori di una Parte nei locali dell'altra li esponga a rischi specifici per la propria salute e/o sicurezza, le Parti si impegnano a redigere congiuntamente un apposito documento di cooperazione e coordinamento, contenente le informazioni sui rischi e quant'altro ritenuto necessario ai fini del rispetto degli obblighi di legge in materia. L'Amministrazione ospitante si impegna inoltre ad addestrare i lavoratori della Parte ospitata all'uso delle strumentazioni che utilizzeranno presso le proprie Sedi.

Il personale di una delle Parti che si rechi presso la sede dell'altra per l'esecuzione delle attività oggetto della collaborazione è tenuto ad uniformarsi ai regolamenti disciplinari, di sicurezza, di protezione sanitaria in vigore presso la sede ospitante.

Ciascuna delle Parti risponderà di eventuali danni a persone o cose arrecato dal proprio personale, con riserva di rivalsa nei casi di legge.

Art. 11 - Controversie

Le parti si impegnano a concordare, in uno spirito di reciproca collaborazione, eventuali procedure tese a definire consensualmente eventuali controversie che possano sorgere nel corso del rapporto di collaborazione.

Nel caso in cui non si addivenisse ad un accordo bonario, le parti convengono di risolvere ogni eventuale controversia presso l'autorità giudiziaria competente secondo le disposizioni previste dal Codice Civile. Foro competente: Firenze.

Art. 12 - Recesso

Le parti possono recedere dal contratto nel caso intervengano fatti o provvedimenti che modificano la situazione esistente all'atto di sottoscrizione del contratto che ne rendano impossibile o inopportuna la sua conduzione a termine, con preavviso di almeno 30 giorni, da comunicarsi con PEC o raccomandata a/r, il recesso non ha effetto per le attività già portate a termine o in corso di esecuzione. In tal caso, fatto salvo tutto ciò che nel frattempo è stato ottenuto in termini di risultati, l'Ente si impegna a corrispondere al Dipartimento e al Laboratorio l'importo delle spese sostenute o impegnate per le attività già svolte al momento dell'anticipata risoluzione del rapporto.

Le parti possono altresì recedere dalla convenzione (art. 1373, comma 2, C.C.) per motivate esigenze di pubblico interesse o in caso di specifiche disposizioni normative o regolamentari che modifichino l'attuale assetto organizzativo.

Art.13 – Anticorruzione, Incompatibilità e Codice di Comportamento

Le Parti dichiarano di conoscere ed impegnarsi a rispettare il Codice di comportamento dei dipendenti pubblici, emanato con il DPR 16 Aprile 2013 n. 62 e in particolare dichiarano l'assenza di cause di incompatibilità del personale eventualmente impiegato, ai sensi L. 662/96 e/o del D.Lvo 165/2001 art. 53, e L.412/91.

La violazione degli obblighi derivanti dal Codice comporta la risoluzione del contratto ai sensi dell'art.1456 del Codice Civile.

Le Parti si impegnano al rispetto della normativa nazionale sulla prevenzione della corruzione e trasparenza, anche per quanto riguarda il divieto pantouflage (L. n. 190/2012 e successivi decreti attuativi, in particolare DPR n. 62/2013 e D. Lgs n. 33/2013), nello specifico:

- per quanto riguarda la Azienda USL Toscana Centro al rispetto del Piano triennale per la prevenzione della corruzione, trasparenza ed integrità e del Codice etico e di comportamento aziendale, applicabili per la parte di specifica competenza e messi a disposizione sul sito istituzionale, sezione "Amministrazione Trasparente";
- per quanto riguarda il Dipartimento e il Laboratorio "Piano triennale per la prevenzione della corruzione e della trasparenza (PTPC) dell'Università degli Studi di Firenze 2022-2024"

Si segnala che alla sezione del sito aziendale dell'Azienda USL Toscana Centro "amministrazione trasparente/altri contenuti" sono reperibili le istruzioni e la modulistica per rendere le segnalazioni di illeciti (Whistleblowing).

Art 14. - Stipula, imposte e tasse

Il presente atto viene stipulato in forma elettronica, mediante sottoscrizione con firma digitale ai sensi dell'art.15, co.2-bis della legge n.241/90 e trasmesso via posta elettronica certificata.

Gli oneri di bollo sono a carico delle parti in misura uguale, ciascun firmatario assolverà l'imposta di bollo a suo carico a norma di legge.

Il presente atto è soggetto a registrazione solo in caso d'uso, ai sensi dell'art. 4, Tariffa Parte seconda annessa al D.P.R. 131/1986 e s.m. a cura e spese della Parte richiedente.

p. l'Azienda USL Toscana Centro

Dr. Paolo Morello Marchese

.....

Firenze, li

p. il Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica

Il Direttore Prof. Francesco Annunziato

.....

Firenze, li

p. il Dipartimento di Neuroscienze, Area del Farmaco e Salute del Bambino (NeuroFarBa)-

Laboratorio Interdipartimentale di Chimica e Biologia di Peptidi e Proteine

Il Direttore Prof. Carlo Dani

.....

Firenze, li

PROTOCOLLO DI STUDIO

Titolo dello Studio:	Studio di immunogenicità dei farmaci anti-TNF. Monitoraggio basato su tecniche di risonanza plasmonica di superficie e confronto tra originators e biosimilari.
Codice del Protocollo:	progetto ADA
Versione del Protocollo:	3.0
Data:	19/04/2022
Promotore:	<i>Azienda USL Toscana Centro Piazza Santa Maria Nuova, 1 – Firenze</i>
Coordinamento scientifico:	<p>Prof. Lorenzo Cosmi Dipartimento di Medicina Sperimentale e clinica Università degli studi di Firenze</p> <p>Prof Francesco Annunziato Dipartimento di Medicina Sperimentale e clinica Università degli studi di Firenze</p> <p>Prof. Paolo Rovero Dipartimento NeuroFarBa, Sezione di Scienze Farmaceutiche e Nutraceutica Università degli studi di Firenze</p> <p>Dr Giancarlo Landini Direttore Dipartimento specialistiche mediche- Azienda USL Toscana Centro</p>

Lista Centri Partecipanti

Nome Centro	SOS Reumatologia Ospedale San Giovanni di Dio – Azienda USL Toscana Centro Dr.ssa Francesca Li Gobbi, e-mail: francesca.ligobbi@uslcentro.toscana.it
Nome Centro	SOC Dermatologia II Palagi - Azienda USL Toscana Centro Prof.ssa Francesca Prignano, email: francesca.prignano@unifi.it
Nome Centro	SOC Gastroenterologia ed Endoscopia digestiva Pistoia-Prato - Azienda USL Toscana Centro



Servizio Sanitario della Toscana

Dr. Suppressa Sergio, email: sergio.suppressa@uslcentro.toscana.it

Nome Centro

Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica – Università degli Studi di Firenze

Dr.ssa Alessandra Vultaggio, email: alessandra.vultaggio@unifi.it

Elenco strutture partecipanti

Nome	<i>Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica, Università degli Studi di Firenze</i>
Nome	<i>Dipartimento NeuroFarBa, Sezione di Scienze Farmaceutiche e Nutraceutica Università degli studi di Firenze</i>

Informazioni di Contatto

Nome Contatto Promotore	<i>Task Force per la Sperimentazione clinica – Azienda USL Toscana Centro email: taskforceclinica@uslcentro.toscana.it</i>
--------------------------------	--

APPROVAZIONE DEL PROTOCOLLO

Gli Sperimentatori:

- approvano il presente Protocollo;
- dichiarano che lo studio sarà condotto in conformità a quanto riportato nel presente protocollo.

Dott.....

Data

Dott.....

Data

Dott.....

Data

Dott.....

Data

Indice

Background e rationale	5
Obiettivi dello studio	6
Disegno dello studio	7
Setting	8
Popolazione in studio	8
Criteri di inclusione	8
Criteri di esclusione	8
Esiti dello Studio	8
Variabili	8
Bias	8
Dimensione del campione	8
Procedura di arruolamento	8
Procedura di follow-up	8
Definizione di conclusione dello studio	8
Gestione dei dati	8
Raccolta dei dati	8
Gestione dei dati	8
Conservazione dei dati	8
Piano statistico	9
Gestione della sicurezza	9
Aspetti amministrativi	9
Finanziamenti dello studio	9
Considerazioni etiche	9
Acquisizione del consenso informato e trattamento dei dati	9
Conflitto di interessi	9
Responsabilità e politiche di pubblicazione	10
Ruolo del promotore e degli sperimentatori	10
Proprietà dei dati	10
Politiche di pubblicazione	10
Bibliografia	10

Background e razionale

I farmaci biologici, più propriamente detti biotecnologici, costituiscono una classe di farmaci che include anticorpi monoclonali e proteine di fusione e che colpiscono citochine chiave nella patogenesi di patologie infiammatorie croniche. Questi farmaci fanno ormai parte dell'armamentario corrente nella cura di varie patologie infiammatorie ed autoimmuni. In particolare, gli anti-TNF vengono utilizzati routinariamente in immunologia, reumatologia (artrite reumatoide e altre artriti infiammatorie), dermatologia (psoriasi), e gastroenterologia (malattie infiammatorie croniche intestinali). La loro efficacia è oramai stata stabilita e confermata da tempo, ma è anche noto che il loro utilizzo può provocare una risposta immune dell'ospite contro il farmaco stesso. Questi anticorpi anti-farmaco possono o meno essere neutralizzanti, e possono teoricamente influenzare l'efficacia della terapia. L'immunogenicità può essere influenzata da molti fattori come il disegno del farmaco (chimerico, umanizzato o umano), la presenza di contaminanti, la via di somministrazione, la durata del trattamento, il tipo di malattia, e la concomitante somministrazione di altri farmaci in particolare immunosoppressori. L'impatto clinico in termini di diminuita efficacia può essere secondario a un'aumentata clearance, a una competizione con il bersaglio per il sito di attività, e/o alla scatenamento di reazioni da ipersensibilità quali le reazioni infusionali. Gli effetti clinici dipendono anche dall'isotipo dell'anticorpo anti-farmaco, che può poi scatenare conseguenze immunologiche diverse quali attivazione del complemento, citotossicità cellulare anticorpo-dipendente o reazioni allergiche. Gli anticorpi anti-farmaco possono contenere anticorpi di diversi isotipi, specificità, e affinità, e possono modificarsi nel tempo.

Per quanto riguarda gli inibitori del TNF, i più studiati in questo senso sono Adalimumab, Infliximab, ed Etanercept, anche se Golimumab e Certolizumab fanno parte della stessa classe. Anche se Adalimumab è completamente umanizzato, lo sviluppo di anticorpi anti-adalimumab è stato segnalato in molte patologie infiammatorie, e diversi studi hanno dimostrato una correlazione tra lo sviluppo di tali anticorpi e una minor risposta al trattamento.

I farmaci biologici, a differenza di quelli prodotti per sintesi chimica, sono molecole complesse derivate da processi produttivi altrettanto complessi, che includono l'utilizzo di materiale biologico (cellule, microorganismi, ecc.). Dato che il materiale biologico utilizzato nel processo produttivo non può essere sempre uguale a se stesso, allo stesso modo il prodotto sarà diverso di volta in volta quando vi sono modifiche nel processo di produzione o un cambio del sito di produzione.

Per biosimilare s'intende un farmaco biotecnologico, approvato con procedura regolatoria centralizzata europea sostenuta da un esercizio di confronto con il farmaco di riferimento e che può essere commercializzato una volta cessata la copertura brevettuale di quest'ultimo.

La similarità tra farmaci originatori e biosimilari è garantita dalla conduzione, a livello sia preclinico che clinico, di studi di confronto delle caratteristiche:

- chimico-fisiche



Servizio Sanitario della Toscana

- farmacodinamiche (in particolare della loro capacità di interagire con il bersaglio biologico)
- farmacocinetiche (cioè la similarità delle concentrazioni nel sangue dopo somministrazione)
- immunologiche (la capacità dei biologici di stimolare l'insorgenza di anticorpi diretti contro sé stessi).

Inoltre, a volte, la biosimilarità è garantita perfino da studi clinici che confrontano anche l'efficacia e la sicurezza di due prodotti biologici. La comparabilità tra prodotti biologici e tra i loro lotti di produzione derivata da questi studi è alla fine vagliata e certificata dall'[autorità regolatoria europea del farmaco](#) (Ema). Questo rigoroso programma di ricerca e sviluppo prima e regolatorio poi, documenta la sostanziale similarità tra prodotti biologici ovvero la loro biosimilarità (Allocati et al Eur J Clin Pharm doi: 10.1007/s00228-019-02805-y).

Le solide basi scientifiche e la grande quantità di dati sperimentali necessari per la dimostrazione della biosimilarità implicano che il concetto d'intercambiabilità è insito in (e inscindibile da) quello di biosimilarità. Il che comporta che è assolutamente giustificato dal punto di vista scientifico sostituire un farmaco biologico con il rispettivo biosimilare o viceversa, laddove si osservi una diminuita efficacia o addirittura effetti avversi con il farmaco in uso.

La documentazione prodotta nel corso del processo di comparabilità è tanto scrupolosa da esser ritenuta addirittura superflua, a volte dallo stesso ente regolatorio europeo. Si ritiene, infatti, che la valutazione dell'efficacia e della sicurezza clinica di un prodotto biosimilare in confronto al biologico di riferimento non possa aggiungere molto alla definizione della biosimilarità, documentata dagli studi fisico-chimici e funzionali. Anzi, c'è il rischio che la variabilità della risposta soggettiva e tra soggetti a un prodotto biologico (inclusi i biosimilari) porti a risultati fuorvianti. La mancata risposta a un trattamento biologico, infatti, non è necessariamente legata alle inevitabili piccolissime differenze tra lotti diversi o tra il prodotto originale e il suo biosimilare. E' assai più probabile che quella mancata risposta sia dovuta alla refrattarietà del paziente all'azione del farmaco biologico, a prescindere dal suo essere originatore o biosimilare. Può anche darsi che la risposta venga meno per l'insorgere nel paziente di anticorpi che, legandosi al farmaco biologico, lo inattivano – di nuovo, indipendentemente dal suo essere originatore o biosimilare.

A sfavore degli studi clinici di confronto tra biologici e biosimilari depone anche la loro durata, spesso troppo breve perché evidenzi l'eventuale sviluppo di forme di resistenza al biologico o di reazioni immunitarie che lo inattivino. Mentre l'immunogenicità degli originator è stata studiata da diversi anni, la presenza di anticorpi anti-farmaco dopo somministrazione di biosimilari non è ancora ben nota.

Obiettivi dello studio

Lo studio avrà lo scopo di valutare la presenza e le caratteristiche di anticorpi antifarmaco in pazienti trattati con anti-TNF presso l' Azienda USL Toscana Centro.



Servizio Sanitario della Toscana

Obiettivo primario:

Valutare la presenza di anticorpi anti-farmaco, con caratterizzazione tra anticorpi ad alta e bassa affinità e valutazione dei livelli di farmaco residuo circolanti.

Verranno inclusi sia pazienti trattati con originators che con biosimilari, e sarà valutata l'eventuale differenza di immunogenicità tra le due categorie. I farmaci studiati saranno gli inibitori del TNF- α presenti in commercio (etanercept, adalimumab, infliximab, golimumab, certolizumab, oltre a tutti i rispettivi biosimilari disponibili in commercio nel periodo di studio). Verranno inclusi pazienti affetti da patologie reumatologiche croniche, dermatologiche, e gastroenterologiche, senza limitazioni di età, seguiti presso i vari presidi della USL. Ai pazienti inclusi, dopo aver firmato consenso informato, sarà prelevato un campione di sangue al baseline (prima di iniziare la terapia con anti-TNF) e durante tale trattamento (orientativamente a 3 e 6 mesi dall'inizio). I pazienti che iniziano trattamenti con bioterapie devono in ogni caso effettuare prelievi di controllo al baseline, per cui si prevede che lo studio non comporti prelievi aggiuntivi a quelli previsti dalla pratica clinica. Verranno inoltre raccolti i dati clinici rilevanti per valutare la risposta al trattamento, secondo i parametri internazionalmente riconosciuti per le varie patologie.

Obiettivi esplorativi dello studio saranno

1. valutare l'eventuale correlazione tra presenza di farmaco, anticorpi anti-farmaco e risposta clinica,
2. tra la presenza di anticorpi ed eventi avversi, e
3. valutare la differenza di immunogenicità tra gli originators e i rispettivi biosimilari.

Disegno dello studio

Studio osservazionale prospettico su campioni biologici, multicentrico, no-profit.

Un'analisi preliminare delle prescrizioni fatte presso l'Azienda USL Toscana Centro conferma la fattibilità dello studio dal punto di vista della numerosità del campione di pazienti in trattamento con anti-TNF (la maggior parte con biosimilari).

A differenza dei classici saggi ELISA, la metodica RPS (Risonanza Plasmonica di Superficie) permette la determinazione rapida e simultanea di farmaco e anticorpi anti-farmaco, con ottimi valori di accuratezza e precisione, consentendo di evidenziare anticorpi antifarmaco di bassa affinità, anche in presenza di farmaco.

Ad oggi il metodo RPS è stato caratterizzato e validato per infliximab e anticorpi anti-infliximab (Beeg M et al. Scientific Reports 2019; 9:2064), utilizzando uno strumento (Proteon-XPR36), purtroppo in fase di dismissione dal produttore (Biorad) per ragioni commerciali.

Durante la prima fase sarà quindi necessario, innanzitutto, validare la metodica sul nuovo strumento RPS che sarà identificato e acquisito dall'Azienda USL Toscana Centro per questo scopo.



Servizio Sanitario della Toscana

Lo studio si articolerà quindi in due fasi che si svolgeranno presso il Laboratorio di Immunologia del Dipartimento di Medicina sperimentale e Clinica dell'Università degli Studi di Firenze

La **prima fase** vede coinvolti il personale del Dipartimento di Medicina sperimentale e clinica e il Laboratorio Interdipartimentale di Chimica e Biologia di Peptidi e Proteine afferente al Dipartimento NeuroFarBa, che collaboreranno alla messa a punto del metodo di dosaggio di farmaco e anticorpi anti-farmaco sullo strumento Biacore X100 (Cytivia) con metodica RPS.

Presso il Laboratorio Interdipartimentale di Chimica e Biologia di Peptidi e Proteine afferente al Dipartimento NeuroFarBa, Sezione di Scienze Farmaceutiche e Nutraceutica dell'università degli studi di Firenze è stata recentemente sviluppata una metodica analitica per il dosaggio di anticorpi anti-TNF, nella fattispecie per pazienti trattati con il farmaco Adalimumab, basata sulla Risonanza Plasmonica di Superficie (RPS), con l'utilizzo dello strumento Biacore X100 del produttore Cytivia (già GE Healthcare).

A differenza dei classici saggi ELISA, la metodica RPS permette la determinazione rapida, diretta, per cui libera da possibili interferenti legati al metodo di rilevazione, degli anticorpi anti-farmaco, con ottimi valori di accuratezza e precisione, consentendo di evidenziare anticorpi antifarmaco di bassa affinità, anche in presenza di farmaco.

Recentemente sono stati sviluppati strumenti che, applicando la stessa tecnologia su supporti ottimizzati, sono in grado di dosare contestualmente farmaco e anti-farmaco. In particolare, ad oggi il metodo RPS è stato caratterizzato e validato per infliximab e anticorpi anti-infliximab, utilizzando uno strumento (Proteon-XPR36), purtroppo in fase di dismissione dal produttore (Biorad) per ragioni commerciali. Pertanto, la prima fase del presente progetto sarà articolata nei seguenti "TASKS":

1. Ampliare la metodica messa a punto dal Laboratorio Interdipartimentale di Chimica e Biologia di Peptidi e Proteine al dosaggio del farmaco Adalimumab stesso sul medesimo strumento già in possesso.
2. Trasferire la metodica al nuovo strumento RPS che sarà identificato e acquisito dall'Azienda USL Toscana Centro per questo scopo.

Per la validazione si utilizzeranno campioni di siero controllo addizionati di anticorpo terapeutico o dei relativi anticorpi anti-farmaco commerciali, oltre a campioni di siero di pazienti trattati con Adalimumab già in possesso del Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica. I campioni di siero controllo saranno ottenuti da fonti commerciali certificate (ad esempio <https://www.biopredic.com/rubrique-fluids>) o da biobanche certificate, mentre i campioni di siero di pazienti trattati con anti-TNF sono stati ottenuti da pazienti in terapia con adalimumab. Tali campioni sono stati raccolti e già valutati mediante metodica ELISA presso il Laboratorio di Immunologia e Terapie Cellulari, nell'ambito del Progetto IMI (Seventh Framework Programme) ABIRISK (Anti-Biopharmaceutical Immunization: Prediction and analysis of clinical relevance to minimize the risk), del quale l'Università di Firenze è stato partner, ed al quale hanno partecipato in qualità di Co-investigatore la Dott.ssa Alessandra Vultaggio ed il Dott. Andrea Matucci. Il Progetto IMI ABIRISK, approvato dal Comitato Etico dell'AOU Careggi, prevedeva già l'utilizzo dei suddetti campioni, pertanto i pazienti arruolati nell'ambito del progetto avevano già espresso consenso informato all'utilizzo degli stessi.

Questa fase prevede inoltre un periodo di formazione e affiancamento specifico presso il Laboratorio di personale afferente al Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica, indispensabile per passare alla seconda fase dello studio.

Nella prima fase di settaggio della macchina, si prevede di effettuare anche una valutazione dell'integrità del campione in diverse condizioni di conservazione, tenendo conto delle disponibilità dei centri reclutatori.

La **seconda fase** si svolgerà presso il Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica in collaborazione con il Laboratorio Interdipartimentale di Chimica e Biologia di Peptidi e Proteine afferente al Dipartimento NeuroFarBa, utilizzando il nuovo strumento eventualmente acquisito dall'Azienda USL Toscana Centro.

Raccolta e gestione dei campioni biologici

I campioni biologici (siero) nelle disponibilità del Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica dell'Università di Firenze sono attualmente conservati presso il Laboratorio di Immunologia dell'Università degli Studi di Firenze.

La loro conservazione è effettuata mediante congelamento (-80°C).

I referenti responsabili dei campioni conservati sono identificati nella persona della Dott.ssa Alessandra Vultaggio e Dott. Andrea Matucci. I campioni sono stati conservati in forma anonimizzata.

Tali campioni sono:

- n=200, corrispondenti a n=200 pazienti (cross-sectional) in trattamento con farmaco biologico anti-TNF e con diverso outcome clinico (responder, non responder, responder parziali, evento avverso al farmaco)
- n=100, corrispondenti a n=100 pazienti (longitudinali) di cui è disponibile prelievo al baseline e al trough level delle prime 10 somministrazioni.

Il volume di siero di ciascun campione corrisponde a 1.5-4.5 ml ed è suddiviso in 1-3 aliquote.

Tutti i campioni biologici sono stati raccolti al trough level di trattamento, in pazienti affetti da Artrite Reumatoide, Spondiliti sieronegative, Malattie infiammatorie croniche dell'intestino, vasculiti sistemiche, Psoriasi.

I campioni biologici raccolti presso le strutture dell'Azienda USL Toscana Centro saranno costituiti da aliquote di sangue intero provenienti da prelievi venosi effettuati in occasione di prelievi di routine:

- BASELINE-prima di iniziare la terapia con anti-TNF;
- ON TREATMENT- a circa 3 e 6 mesi dall'inizio della terapia anti-TNF

Il volume prelevato sarà pari a 5 ml in provetta da siero, poi conservata in frigo (2-8 gradi °C). Le provette saranno inviate tramite il servizio di trasporto dei campioni biologici in funzione presso la AUSL Toscana Centro al Laboratorio di Immunologia del Dipartimento di Medicina sperimentale e Clinica dell'Università



Servizio Sanitario della Toscana

degli Studi di Firenze, su attivazione dell'operatore logistico da parte del Centro di arruolamento, in condizioni idonee ed entro 3-4 ore del prelievo.

La centrifugazione è effettuata presso il Laboratorio di Immunologia del Dipartimento di Medicina sperimentale e Clinica.

Descrizione della metodica RPS

La RPS è una tecnologia molto potente, principalmente usata per studiare in tempo reale l'interazione tra due molecole non marcate, una immobilizzata su un chip sul quale scorre l'altra molecola in soluzione, tramite un sistema di microfluidica.

La nuova metodica analitica prevede l'iniezione del siero del paziente su un sensor chip che espone in parallelo molecole in grado di catturare selettivamente sia l'anticorpo terapeutico che gli anticorpi anti-farmaco: questo risulta in un segnale RPS immediato dal quale si ricavano, tramite apposite curve di calibrazione, le concentrazioni seriche degli anticorpi di interesse, simultaneamente.

Questa nuova metodica RPS ha quindi il vantaggio di non richiedere molecole marcate e di evitare i lunghi passaggi di incubazione-separazione-rilevamento tipici dell'ELISA; la sua caratterizzazione ha dimostrato ottimi valori di accuratezza e precisione. Inoltre, la possibilità di rigenerare il chip permette il suo riutilizzo per decine di analisi successive, riducendo significativamente i costi dell'analisi che diventano competitivi con quelli dell'ELISA.

L'utilizzo di questa metodica per l'analisi di sieri di pazienti con malattie infiammatorie intestinali in terapia con infliximab ha evidenziato una importante variabilità sia nei livelli plasmatici del farmaco, che nei titoli di anticorpi anti-farmaco, confermando la rilevanza clinica del loro monitoraggio. Inoltre, il confronto dei risultati ottenuti con RPS o con ELISA ha evidenziato una buona correlazione per quanto riguarda i livelli di infliximab, ma differenze significative per quanto riguarda gli anticorpi anti-infliximab: in particolare, circa il 10% dei pazienti mostrava anticorpi anti-farmaco con RPS ma non con ELISA.

Setting

Lo studio vedrà coinvolti i centri indicati di Reumatologia, Dermatologia e Gastroenterologia dell'Azienda USL Toscana Centro, dove saranno raccolti i campioni biologici sia in ambito ambulatoriale che di Day Hospital/Ricovero.

La durata totale dello studio sarà di due anni.

Popolazione in studio

Criteri di inclusione

Saranno inclusi soggetti maggiorenni seguiti presso i centri sopra riportati che inizino un trattamento con farmaci inibitori il TNF, sia originator che biosimilari e che firmeranno il consenso informato.

Criteri di esclusione

Minore età.

Rifiuto di fornire consenso informato.

Esiti dello studio

Secondo quanto indicato negli obiettivi, al termine dello studio si potrà verificare se la presenza di anticorpi anti-farmaco correla con la risposta clinica, e se i biosimilari comportano una produzione di anticorpi anti-farmaco differente da quella degli originator.

Si specifica che i risultati ottenuti dalle analisi non influenzeranno in alcun modo il percorso clinico-terapeutico del paziente.

Dimensione del campione

Tutti i soggetti arruolabili nel primo anno di studio, in maniera consecutiva, che forniranno consenso informato. Si presume un'attività complessiva di circa 800 determinazioni/anno. Trattandosi di uno studio osservazionale non è necessaria una stima del campione a priori.

Gestione dei dati

I dati clinici saranno estrapolati dalle cartelle e raccolti in occasione delle visite di arruolamento e di controllo. Verrà creata una scheda raccolta dati, cartacea e/o elettronica, con tutte le informazioni riguardanti le caratteristiche demografiche, cliniche, e di laboratorio relative allo stato clinico di malattia, inclusi i punteggi validati secondo le diverse aree (psoriasi, artrite reumatoide, malattie croniche intestinali). La scheda verrà poi completata con i risultati delle analisi relative alla presenza di anticorpi anti-farmaco.

Gestione e conservazione dei dati

Per garantire l'assoluto anonimato, affinché i dati estrapolati dalle cartelle cliniche non siano in alcun modo riconducibili ai pazienti arruolati, a ciascun paziente sarà attribuito un codice alfanumerico progressivo di identificazione (Study ID).

Nella scheda di elaborazione dati non sarà inserita alcuna informazione che permetta di identificare direttamente il paziente (come nome e cognome, iniziali, data di nascita).

I dati saranno memorizzati in modo sicuro e tutte le procedure concernenti la gestione e la conservazione delle informazioni saranno in linea con le direttive dell'Unione Europea sulla protezione dei dati 95/46/EC.

In seguito al completamento dello studio, tutti i dati saranno conservati in modo da evitare accessi non autorizzati.

Piano statistico

Verranno calcolate le concordanze tra presenza di anticorpi antifarmaco, livelli di farmaco, e risposta clinica. Verrà inoltre verificata differenza tra percentuale di antigenicità tra ogni originator e il suo biosimilare. I test statistici utilizzati includeranno t di Student, chi-quadro, Fisher exact test, e ANOVA.



Servizio Sanitario della Toscana

Aspetti amministrativi

Lo studio è promosso dall'Azienda USL Toscana Centro, ente no-profit.

Non è previsto alcun finanziamento, i costi sono a carico dell'AUSL Toscana Centro.

Considerazioni etiche

Il Promotore si impegna affinché lo studio sia condotto nel rispetto dei dettami della Dichiarazione di Helsinki, in conformità a quanto scritto in questo protocollo ed alle Good Clinical Practice (GCP).

Il Promotore dello studio si impegna inoltre alla tutela dei dati personali sensibili, clinici e non, dei soggetti coinvolti nello studio secondo quanto stabilito in materia dalla normativa nazionale [D. Lvo. 196/2003] e dalle disposizioni in materia di protezione dei dati personali sancite dal Regolamento Europeo n. 2016/679 (GDPR, General Data Protection Regulation/Regolamento Generale Protezione Dati Personali.)

Acquisizione del consenso informato e trattamento dei dati

Sarà responsabilità degli sperimentatori, o di soggetti da questi incaricati, l'ottenimento del consenso informato dei pazienti dopo adeguata informazione degli stessi circa gli scopi, i metodi, i benefici attesi ed i rischi prevedibili dello studio. Gli sperimentatori o gli incaricati dovranno altresì informare i partecipanti che la non partecipazione o l'interruzione della stessa non comporteranno pregiudizio o danno nei loro confronti.

Conflitto di interessi

Questo studio è stato concepito indipendentemente da ogni organizzazione commerciale e sarà coordinato, gestito e analizzato in forma indipendente.

Gli Sperimentatori ed il Promotore dichiarano l'assenza di conflitto di interessi finanziari in materia.

Responsabilità e politiche di pubblicazione

Ruolo del promotore e degli sperimentatori , Proprietà dei dati, Politiche di pubblicazione

In accordo alle ICH-GCP, il Promotore si impegna a pubblicare tutti i dati raccolti come descritto nel Protocollo e a garantire che i dati siano riportati responsabilmente e coerentemente.

In particolare, la pubblicazione dei dati derivanti dal presente studio avverrà indipendentemente dai risultati ottenuti.

La trasmissione o diffusione dei dati, per il tramite di pubblicazioni scientifiche e/o di presentazione in congressi, convegni e seminari delle associazioni di area radiologica, anche in forma di webinar avverrà esclusivamente a seguito di un'elaborazione meramente statistica degli stessi, o comunque in forma assolutamente anonima.

Bibliografia

Aarden L, Ruuls SR, Wolbink G. Immunogenicity of anti-tumor necrosis factor antibodies-toward improved methods of anti-antibody measurement. *Curr Opin Immunol* 2008;20(4):431-435.

Bartelds GM, Kriekaert CL, Nurmohamed MT, van Schouwenburg PA, Lems WF, Twisk JW, et al. Development of antidrug antibodies against adalimumab and association with disease activity and treatment failure during long-term follow-up. *JAMA* 2011;305(14):1460-8.



Servizio Sanitario della Toscana

Beeg M, Nobili A, Orsini B, Rogai F, Gilardi D, Fiorino G, Danese S, Salmona M, Garattini S, Gobbi M. A Surface Plasmon Resonance-based assay to measure serum concentrations of therapeutic antibodies and anti-drug antibodies. *Sci Rep.* 2019 Feb 14;9(1):2064. doi: 10.1038/s41598-018-37950-4. PMID: 30765716; PMCID: PMC6376047.

Chirmule N, Jawa V, Meibohm B. Immunogenicity to therapeutic proteins: impact on PK/PD and efficacy. *Am Assoc Pharm Sci J* 2012;14:296–302.

Gorovits B, Baltrukonis DJ, Bhattacharya I, et al. Immunoassay methods used in clinical studies for the detection of anti-drug antibodies to adalimumab and infliximab. *Clin Exp Immunol.* 2018;192:348–65. Rup B, Pallardy M, Sikkema D, Albert T, Allez M, Broet P, et al. ABIRISK Consortium. Standardizing terms, definitions and concepts for describing and interpreting unwanted immunogenicity of biopharmaceuticals: recommendations of the Innovative Medicines Initiative ABIRISK consortium. *Clin Exp Immunol* 2015;181(3):385–400.

Hansel TT, Kropshofer H, Singer T, Mitchell JA, George AJ. The safety and side effects of monoclonal antibodies. *Nat Rev Drug Discov* 2010;9:325–38.

Imaeda H, Takahashi K, Fujimoto T, Bamba S, Tsujikawa T, Sasaki M, Fujiyama Y, Andoh A. Clinical utility of newly developed immunoassays for serum concentrations of adalimumab and anti-adalimumab antibodies in patients with Crohn's disease. *J Gastroenterol* 2014;49(1):100–109.

Kelley M, Ahene AB, Gorovits B et al. Theoretical considerations and practical approaches to address the effect of anti-drug antibody (ADA) on quantification of biotherapeutics in circulation. *Am Assoc Pharm Sci J* 2013;15:646–58.

Kim JS, Kim SH, Kwon B, et al. Comparison of immunogenicity test methods used in clinical studies of infliximab and its biosimilar (CT-P13). *Expert Rev Clin Immunol.* 2015;11:33–41.

Real-Fernández F, Cimaz R, Rossi G et al. Surface plasmon resonance-based methodology for anti-adalimumab antibody identification and kinetic characterization. *Anal Bioanal Chem.* 2015;407(24):7477-85.

Richard B.M. Schasfoort; Anna J. Tudos (ed), *Handbook of Surface Plasmon Resonance*, RSC publishing 2008; ISBN 978-0-85404-267-8.

Schreitmüller T, Barton B, Zharkov A, et al. Comparative immunogenicity assessment of biosimilars. *Future Oncol.* 2019;15:319–29.

van Schie KA, Hart MH, de Groot ER et al. The antibody response against human and chimeric anti-TNF therapeutic antibodies primarily targets the TNF binding region. *Ann Rheum Dis* 2015;74:3112-14.

Vande Castele N, Gils A et al. Antibody response to infliximab and its impact on pharmacokinetics can be transient. *Am J Gastroenterol* 2013;108:962–71.

vanKuijk AW, de Groot M, Stapel SO, Dijkmans BA, Wolbink GJ, Tak PP. Relationship between the clinical response to adalimumab treatment and serum levels of adalimumab and anti-adalimumab antibodies in patients with psoriatic arthritis. *Ann Rheum Dis* 2010;69(3):624–625.

PIANO ECONOMICO

Fase 1: SOLO NEUROFARBA

La prima fase, che si svolgerà presso il **Laboratorio Interdipartimentale di Chimica e Biologia di Peptidi e Proteine**, sito in Via della Lastruccia, 13 - 50019 Sesto Fiorentino (FI) e afferente al Dipartimento NeuroFarBa dell'Università degli studi di Firenze, prevede di ampliare la metodica messa a punto dal Laboratorio Interdipartimentale di Chimica e Biologia di Peptidi e Proteine al dosaggio del farmaco Adalimumab stesso su uno strumento già in possesso. I costi, relativamente a questa prima fase, per il materiale di consumo (chip e consumabili Biacore, Ab standard, TNF, lfliximab) si attestano sui 4.000 € circa. Ad essi si aggiungono i costi per la copertura di un assegno di ricerca per personale da dedicare interamente al progetto.

Tipologia di spesa	Descrizione	Costo unitario	Costo totale (2 anni)
Materiale di consumo	chip e consumabili Biacore, Ab standard, TNF, etc...	4.000,00 €	4.000 €
Risorse umane	Tecnologo II livello (1 annualità)	46.000,00 €	46.000,00 €
		TOTALE	50.000,00 €

Fase 2: solo DMSC

Per quanto concerne la parte del progetto che sarà sviluppata presso il **Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica** dell'Università degli studi di Firenze, i costi previsti saranno rappresentati dalla copertura dei reagenti necessari per i dosaggi con tecnica ELISA dei campioni contemporaneamente valutati con lo strumento che verrà eventualmente acquisito da Asl Toscana Centro. Relativamente al materiale di consumo necessario per i dosaggi con tecnica ELISA, in tabella è riportato il costo di un kit (48 determinazioni) per tipologia di reagente necessario ad una valutazione completa per ogni tipo di trattamento. Considerando di effettuare la determinazione con dosaggio ELISA di un solo farmaco (Adalimumab) e rispettivi anticorpi anti-farmaco su circa 400 campioni (200 cross-sectional + 100 pazienti a due tempi pre- e post- trattamento), e considerando tutti i controlli sperimentali si stima una spesa come da tabella.

Tipologia di spesa	Descrizione	Costo unitario	Costo totale (2 anni)
Materiale di consumo	LISA TRACKER "farmaco" 48 DET	1.250,00 €	15.000,00 € (=12kit)
Materiale di consumo	LISA TRACKER "ANTI-farmaco" 48 DET	1.250,00 €	15.000,00 € (=12kit)
Materiale di consumo	CQI- IMMUNO-TROL "farmaco" (2x250ul)	241,10 €	482.20 € (=2kit)
Materiale di consumo	CQI- IMMUNO-TROL "ANTI-farmaco" (2x1ml)	241,10 €	482.20 € (=2kit)
Materiale di consumo	Consumabili (plasticheria, soluzioni di lavaggio)		3.000 €
		TOTALE	33.964,40 €

Le determinazioni relative l'eventuale acquisizione del nuovo macchinario, compresi i costi per i materiali d'uso, saranno oggetto di atti successivi all'eventuale acquisizione.