



RELAZIONE ILLUSTRATIVA SULL'UTILIZZO DELL'EROGAZIONE LIBERALE

RU Responsabili: prof. Claudio Bandi

UO Responsabile: Dipartimento di Bioscienze

Nome progetto: Erogazione liberale per il progetto "LeCoVax2, un vaccino candidato contro SARS-CoV-2 sviluppato per la somministrazione orale

Codice identificativo Progetto: LIB_VT22_LECOVAX2

Attività di ricerca svolta nell'ambito del progetto:

Nonostante lo sviluppo e la rapida commercializzazione dei vaccini in risposta all'emergenza COVID-19, sono emerse diverse criticità che hanno evidenziato la necessità di intensificare la ricerca nel settore, soprattutto per esplorare soluzioni in grado di stimolare una risposta immunitaria duratura e a livello delle mucose.

In questo contesto, è stata sviluppata una nuova piattaforma vaccinale basata sull'impiego del microrganismo *Leishmania tarentolae*. Gli antigeni/vaccini candidati erano rappresentati da *L. tarentolae* ingegnerizzato per produrre una proteina del SARS-CoV-2, sia in forma secreta sia esposta sulla superficie del microrganismo.

Sono stati condotti esperimenti su modelli animali per valutare la risposta immunitaria del candidato vaccino, testando due modalità di somministrazione mucosale: rettale e orale. Dopo l'immunizzazione con *L. tarentolae* ingegnerizzato in combinazione con un adiuvante, è stata analizzata la risposta immunitaria mediante test sierologici e valutazioni dell'immunità cellulo-mediata. Al fine di migliorare la produzione degli antigeni da parte di *L. tarentolae*, sono anche stati testati tre terreni chimicamente definiti per la coltivazione, saggiando sia un ceppo wild-type sia un ceppo ingegnerizzato. Nell'ultimo anno, ulteriori esperimenti su modelli animali hanno previsto l'immunizzazione con *Leishmania* in forma viva o liofilizzata, senza l'utilizzo di adiuvanti, per approfondire l'efficacia e la stabilità del candidato vaccino (lo studio e le analisi sono in fase di completamento).

Spese effettuate

Gli esperimenti in vivo sono stati condotti presso gli stabulari di Farefarma srl, un'azienda specializzata nell'esecuzione di studi sperimentali su modelli animali, riconosciuta per le competenze nell'ambito della ricerca biomedica e preclinica. Gli animali utilizzati per i test sono stati accuratamente monitorati durante l'intero periodo sperimentale per garantire il rispetto degli standard etici e delle normative vigenti in materia di benessere animale.

La valutazione della risposta immunitaria, sia cellulare sia anticorpale, a seguito della somministrazione del candidato vaccino, è stata realizzata in collaborazione con Vismederi srl, azienda leader a livello internazionale nella valutazione della risposta immunitaria verso antigeni vaccinali. Questa collaborazione ha permesso di avvalersi di metodologie all'avanguardia per analisi sierologiche e test di immunità cellulare, fondamentali per verificare l'efficacia del candidato vaccino.

Parallelamente, presso i laboratori del Dipartimento sono stati condotti esperimenti per ottimizzare le condizioni di coltura di *Leishmania tarentolae*, con l'obiettivo di garantire una produzione stabile e di qualità del candidato vaccino. È stata inoltre sviluppata una procedura specifica per la preparazione delle dosi vaccinali, che ha incluso la messa a



punto di un protocollo dettagliato per la liofilizzazione e la conservazione dei protozoi, assicurando la stabilità del prodotto finale.

Per la realizzazione di tali attività, sono stati ordinati specifici reagenti e materiali di consumo, selezionati in base ai requisiti tecnici necessari per il successo degli esperimenti e per garantire la riproducibilità delle procedure sviluppate.

I risultati ottenuti sono stati riassunti in 4 pubblicazioni su riviste internazionali:

i) Epis S et al. Efficacy of mucosal vaccination using a protozoan parasite as a vehicle for antigen delivery: IgG and neutralizing response after rectal administration of LeCoVax-2, a candidate vaccine against COVID-19. *Pharmacol Res.* 2022 Dec;186:106546. doi: 10.1016/j.phrs.2022.106546

ii) Bandi C et al. *Leishmania tarentolae*: a vaccine platform to target dendritic cells and a surrogate pathogen for next generation vaccine research in leishmaniasis and viral infections. *Parasit Vectors.* 2023 Jan 26;16(1):35. doi: 10.1186/s13071-023-05651-1.

iii) Cattaneo GM, Varotto-Bocazzi I, Molteni R, Ronchetti F, Gabrieli P, Mendoza-Roldan JA, Otranto D, Montomoli E, Bandi C, Epis S. A novel chemically defined medium for the biotechnological and biomedical exploitation of the cell factory *Leishmania tarentolae*. *Sci Rep.* 2024 Apr 26;14(1):9562. doi: 10.1038/s41598-024-60383-1.

iv) Mendoza-Roldan JA, Varotto-Bocazzi I, Louzada-Flores VN, Evans A, Cheikhi IB, Carbonara M, Zatelli A, Epis S, Bandi C, Beugnet F, Otranto D. Saurian-associated *Leishmania tarentolae* in dogs: Infectivity and immunogenicity evaluation in the canine model. *PLoS Pathog.* 2024 Oct 9;20(10):e1012598. doi: 10.1371/journal.ppat.1012598.

Infine, i risultati ottenuti sono stati presentati durante il congresso internazionale sullo studio della *Leishmania* e delle leishmaniosi “ALIVE 2 Congress” e al congresso nazionale della Società italiana di parassitologi (SOIPA 2024)

Firma del Responsabile¹

¹ Si consiglia, per maggior visibilità, di utilizzare la firma digitale in formato PADES (con estensione “_signed.pdf”); si fa presente che le firme effettuate direttamente su cellulare o tablet non sono considerate valide.