

Allegato Tecnico - Progetto di Ricerca

Sviluppo accelerato di un vaccino contro SARS-CoV-2

1. Sinossi	2
2. Livello di avanzamento della tecnologia	3
3. Obiettivi di sviluppo del vaccino	3
i. Background.....	3
ii. CMC (Composizione, Manifattura, Controlli di qualità)	5
iii. Studi non-clinici	7
iv. Sviluppo di saggi preclinici/clinici	9
v. Clinica	10
4. Capacità ed esperienza	11
5. Referenze	13

1.Sinossi

Il Progetto propone lo sviluppo accelerato (fino alla conduzione di uno studio clinico di fase Ia) di un vaccino contro COVID-19 basato su un nuovo ceppo di adenovirus di scimmia, chiamato GRAd23. Il vaccino GRAd23-COV2 è costituito dal vettore virale GRAd23, reso difettivo per la replicazione, che codifica l'intera proteina Spike di SARS-CoV-2. Il progetto si basa sulla collaborazione tra INMI "L.Spallanzani" e un partner industriale ReiThera Srl, ed è stato approvato nelle sue linee generali nel incontro tra le Pubbliche Amministrazioni che sostengono il progetto

Negli ultimi 10 anni, diversi adenovirus isolati da primate sono stati ampiamente utilizzati come vettori per candidati vaccini genetici contro numerose malattie infettive, incluse Ebola e RSV (Respiratory Syncytial Virus). Gli studi clinici sono stati condotti in più di cinquemila volontari e in diverse popolazioni, inclusi anziani e neonati/bambini. L'esperienza preclinica e clinica ha dimostrato che tali vettori sono capaci di indurre robuste risposte immunitarie anticorpali e cellulo-mediate. Queste caratteristiche rappresentano un deciso vantaggio rispetto ad altre piattaforme per vaccini genetici basati su RNA o DNA per cui esiste un'esperienza clinica limitata e, almeno nel caso dei vaccini basati su mRNA, esistono dubbi sulla formulazione e la sua sicurezza.

E' importante notare che il nuovo vettore adenovirale GRAd23 presenta una bassa seroprevalenza rispetto ad altri vettori adenovirali di scimmia o umani, dunque l'impatto dell'immunità anti adenovirus pre-esistente sulla sua immunogenicità risulterà molto limitato. Inoltre la potenza immunologica di GRAd23 valutata nel topo si è dimostrata comparabile a quella del vettore prototipo Ad5 isolato dall'uomo.

ReiThera ha messo a punto un processo standard per la produzione di adenovirus di scimmia basato su una linea cellulare proprietaria derivata da Hek.293, adattata alla crescita in sospensione. Questo processo standard è stato già utilizzato con successo per produrre più di 500,000 dosi del candidato vaccino ChAd3-Ebola Zaire per supportare studi clinici condotti negli Stati Uniti, in Europa e in Africa nel corso dell'epidemia del 2014-2015.

ReiThera ha avviato la preparazione di un lotto clinico rispettando le norme di buona fabbricazione (cGMP) di GRAd23-COV2 che sarà sufficiente a coprire il fabbisogno per lo studio clinico di fase 1a qui proposto e per ulteriori studi che verranno condotti in collaborazione con l'INMI. La strategia per accelerare il test in clinica del candidato vaccino è già in discussione con l'autorità regolatoria italiana (Istituto Superiore di Sanità, ISS) e un allineamento sul pannello di test di rilascio del lotto clinico, gli studi preclinici necessari e un piano clinico di massima è stato recentemente raggiunto.

Con l'immediata produzione di lotti pre-clinici e clinici e grazie alla strategia regolatoria accelerata, si prevede di iniziare lo studio di fase 1a per Luglio 2020; tale studio è volto a dimostrare il profilo di sicurezza e l'immunogenicità di una singola somministrazione intramuscolare di GRAd23-CoV2, per consentire successivamente la sperimentazione in popolazioni maggiormente a rischio di infezione quali operatori sanitari, primi e secondi contatti di pazienti COVID-19 e anziani.

2. Livello di avanzamento della tecnologia

La piattaforma tecnologica basata su vettori adenovirali derivati da primati non-umani è stata sviluppata per candidati vaccini contro molteplici malattie infettive. L'esperienza preclinica e clinica ha dimostrato che questi vettori hanno un buon profilo di sicurezza e inducono l'attesa risposta immunitaria anticorpale e cellulo-mediata contro l'antigene in volontari di tutte le fasce di età. La produzione di lotti GMP del vaccino GRAd23-COV2, e la sua caratterizzazione *in vitro* ed *in vivo* sono in corso, e la data di inizio dello studio clinico di fase 1a è atteso per Luglio 2020.

3. Obiettivi di sviluppo del vaccino

i. Background

ReiThera Srl è stata pioniera nello sviluppo di una piattaforma vaccinale basata su vettori adenovirali di scimmia (SAd) di specie C derivati da scimpanzé, bonobo e più recentemente da gorilla. I vettori SAd di specie C sono stati sviluppati come candidati vaccini per molteplici malattie infettive. Esiste allo stato attuale un'ampia esperienza preclinica e clinica che dimostra che questi vettori hanno un ottimo profilo di sicurezza ed inducono immunità cellulare e umorale antigene-specifica in tutte le fasce di età (1, 2). È importante sottolineare che i vettori SAd appartenenti alla specie C (come l'Ad5 umano, hAd5) hanno mostrato una maggiore potenza immunologica ed una maggiore efficacia protettiva in modelli animali rispetto a vettori derivati da adenovirus di altre specie (3,4). A differenza di hAd5 però, i vettori SAd non risentono nella loro potenza immunologica dell'immunità preesistente contro gli adenovirus umani che circolano nella popolazione (1).

Oltre a indurre forti risposte anticorpali, gli antigeni codificati dai vettori SAd sono noti per suscitare potenti risposte T cellulari che possono contribuire a rafforzare la risposta immunitaria antivirale e

a sostenere le risposte umorali. Questo li rende particolarmente adatti per un approccio a dose singola in grado di indurre rapidamente l'immunità protettiva durante un focolaio infettivo (5). Di particolare rilevanza è stata la dimostrazione dell'efficacia protettiva di una singola iniezione intramuscolare (IM) del vettore adenovirale derivato dagli scimpanzé (denominato ChAd3) e codificante la glicoproteina del virus Ebola in un modello di infezione letale in primate (6). Una volta valutato in studi clinici, il vaccino ChAd3 Ebola ha indotto titoli anticorpali neutralizzanti paragonabili a quelli indotti dal vaccino VSV Ebola per cui è stata dimostrata efficacia protettiva, nonché un migliore profilo di sicurezza nell'uomo (7). Inoltre, dati recenti mostrano che un vaccino basato su un vettore non replicativo SAd codificante antigeni del Coronavirus MERS-CoV, dopo l'immunizzazione a dose singola, è in grado di proteggere topi BALB/c transgenici da un'infezione letale da MERS-CoV (8). ReiThera ha recentemente sviluppato un nuovo vettore SAd proprietario derivato da gorilla, della specie C e denominato GRAd23. Questo nuovo vettore vaccinale ha mostrato una forte immunogenicità nei topi e rispetto a hAd5 o ad altri sAd di specie C e risulta scarsamente cross-neutralizzato da sieri umani.

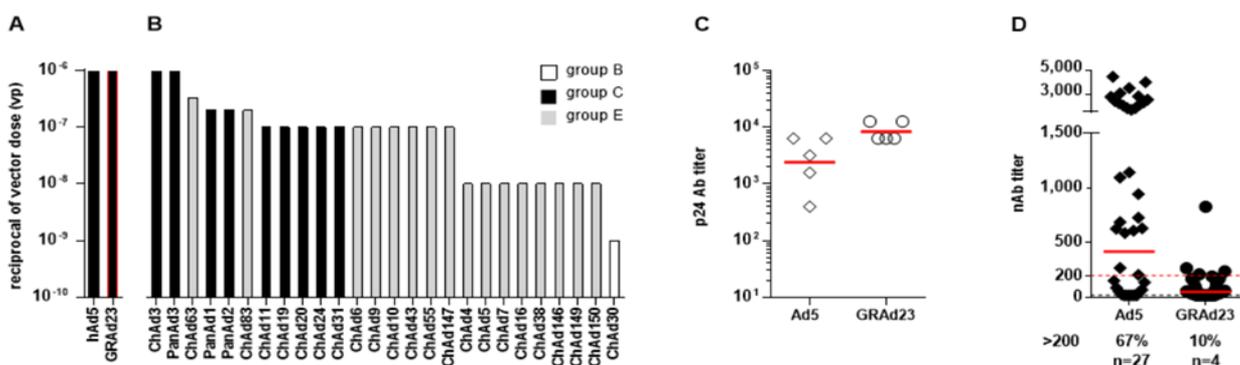


Figura 1. Potenza immunologica dei vettori SAd codificanti la proteina gag di HIV-1 in topi BALB/c. Cinque animali per gruppo sono stati immunizzati IM con dosi crescenti di ciascun vettore adenovirale. Il saggio IFN- γ -ELISpot è stato eseguito su splenociti raccolti dopo 3 settimane. Ogni barra rappresenta la potenza relativa definita come la dose minima del vettore adenovirale in grado di indurre una risposta T cellulare specifica contro HIV-1 gag in almeno due animali su cinque. I dati sono indicati come il reciproco della dose minima. A) Nuovi dati su GRAd23 e hAd5 B) dati pubblicati da Colloca et al (4), C) titoli anticorpali contro gag p24 in topi immunizzati con 10×10^8 vp di Ad5 o GRAd23; i sieri sono stati raccolti 6 settimane post-immunizzazione D) titoli di anticorpi neutralizzanti contro hAd5 e GRAd23 in un pannello di 40 sieri umani.

Nella figura 1, la potenza immunologica di GRAd23-gag è stata confrontata con quella di altri vettori SAd che codificano lo stesso antigene (4). È importante notare che la presenza in sieri umani di anticorpi neutralizzanti contro il GRAd23 è significativamente inferiore a quella di anticorpi contro hAd5 (10% verso il 67%) o altre specie C di scimpanzé come ChAd3 (10% verso il 25-30%). Ciò rende

questo adenovirus di gorilla un vettore vaccinale potenzialmente più efficace, in quanto meno soggetto a risposte immunitarie preesistenti contro adenovirus circolanti nell'uomo (Fig 1D) (9, 10).

ii. CMC (Composizione, Manifattura, Controlli di qualità)

Ci si propone di utilizzare la piattaforma vaccinale basata sul vettore GRAd23 nella forma difettiva per la replicazione per fornire una risposta rapida ed efficace contro il nuovo coronavirus SARS-COV2 recentemente emerso in Cina e rapidamente diffusosi in tutto il mondo, che causa sintomi respiratori acuti negli esseri umani simili a quelli generati dal coronavirus SARS (SARS-COV). I progressi ottenuti nell'ottimizzazione del transgene/vettore, nei processi di produzione, tra cui la scalabilità, congiunti con l'eccellente profilo di sicurezza nell'uomo e la rapida insorgenza della risposta immunitaria, rendono la piattaforma vaccinale basata su SAd uno strumento potenzialmente molto efficace contro le malattie infettive emergenti supportato da un solido rationale scientifico. La proteina Spike (S) ancorata alla superficie del virus media l'ingresso del coronavirus nelle cellule ospiti legandosi prima al recettore e poi causando la fusione delle membrane virali con quelle della cellula bersaglio (11). Come glicoproteina primaria sulla superficie dell'involucro virale, la proteina S è il principale obiettivo degli anticorpi neutralizzanti ed è l'antigene chiave per un candidato vaccino (12). Il vaccino GRAd23-COV2 che ReiThera sta attualmente sviluppando si basa sul vettore GRAd23, difettivo per la replicazione e codificante l'intera proteina S (GRAd23-COV2). Il suddetto vettore sarà testato in modelli preclinici per valutarne l'immunogenicità umorale/cellulare e l'efficacia. Infatti, è stato dimostrato che la risposta T cellulare svolge un ruolo fondamentale nella protezione contro un altro coronavirus, MERS.

In GRAd23 la cassetta codificante il transgene è stata inserita nella regione E1 del genoma virale mediante tecniche in vitro di ricombinazione omologa. I saggi di potenza per GRAd23-CoV2 si baseranno sull'infettività e l'espressione dell'antigene mediante Western Blotting (WB). Sieri iperimmuni verranno generati nel topo e utilizzati per convalidare il saggio di potenza basato sul rilevamento dell'antigene mediante WB. Un altro saggio di potenza, basato sull'infettività e misurato attraverso la colorazione dell'esone adenovirale in linee cellulari, è già stato convalidato per il GRAd23. Il processo di produzione del vaccino, basato su cellule in sospensione cresciute in bioreattori, purificazione mediante una combinazione di processi di filtrazione tangenziale e

cromatografia, è stato già convalidato con diversi vettori adenovirali confermando la possibilità di applicare lo stesso processo di produzione e purificazione a qualsiasi vaccino derivato da vettori di scimmia. Inoltre, questo processo di produzione “chiuso” si basa su reagenti e plastiche monouso e la sua robustezza è dimostrata dal rilascio di più di 40 lotti clinici.

Nella presente proposta, prevediamo di applicare questo processo di produzione standard per produrre e rilasciare:

- i) GRAd23-COV2 Master Virus Bank (MVB)
- ii) GRAd23-COV2 Working Virus Bank (WVB)
- iii) GRAd23-COV2 Drug Substance (DS)
- iv) GRAd23-COV2 Drug Product (DP)

Per accelerare la produzione e il rilascio del lotto clinico, MVB e DS saranno generati dalla stessa produzione in una scala di 200L. Per generare una banca virale sufficientemente grande da supportare una rapida scalabilità della produzione del vaccino, il Working Virus Seed (WVS) sarà prodotto con un bioreattore da 100L. Il vettore virale esprimente l'antigene sarà recuperato dopo trasfezione nella linea cellulare ReiCell35.S e amplificato mediante un singolo passaggio di infezione per generare un vettore pre-GMP. Il processo di produzione del materiale per la sperimentazione clinica di fase 1 (CTM, Clinical Trial Material) si baserà su un'infezione a ciclo singolo in un bioreattore STR da 200L ad una densità cellulare di $5E5$ cellule/mL e ad una molteplicità di infezione del vettore GRAd23-COV2 definita intorno ai 100-200 vp/cellula. Il vaccino sarà purificato attraverso un processo che prevede la lisi delle cellule infette, chiarifica mediante filtrazione di profondità, concentrazione mediante filtrazione tangenziale e purificazione per cromatografia a scambio anionico (AEX). Se necessario, sarà attuata una fase opzionale di raffinamento per ridurre la concentrazione di residui (proteine derivate dalle cellule ospiti e DNA). La formulazione finale attraverso filtrazione tangenziale, includente la digestione con una nucleasi per ridurre ulteriormente la contaminazione da DNA dell'ospite, genererà la Bulk Drug Substance (BDS). Il Drug Product (DP) di GRAd23-COV2 verrà generato tramite una fase di diluizione utilizzando uno specifico buffer di formulazione. Il processo di “fill-finish” si baserà su contenitori a dose singola. Attualmente, ReiThera ha convalidato una procedura di riempimento su una dimensione di 2000 fiale, facilmente scalabile a 10.000 fiale. Il processo di “fill-finish” sarà effettuato in una stanza di classe B con uno strumento (OpenRABS) dotato di una stazione di riempimento e crimpaggio

completamente automatizzata (FPC50W, Watson Marlow). Le fiale correttamente riempite e crimpate saranno ispezionate visivamente, etichettate e conservate secondo le linee guida GMP.

La strategia regolatoria sarà focalizzata sul concetto di convalida della piattaforma tecnologica e diretta ad ottenere un accordo con le autorità regolatorie (RA) su un rilascio accelerato dei lotti clinici sulla base di una strategia di test che si sviluppi in due fasi, con un secondo pannello completo di test da eseguire principalmente dopo il rilascio. Il materiale per gli studi clinici potrebbe essere rapidamente rilasciato eseguendo un pannello di test essenziale, tra cui l'identificazione in vitro di adenovirus competenti per la replicazione (RCA), l'analisi rapida della sterilità (BACT/ALERT), saggio per PCR per presenza del micoplasma e test specifici sul prodotto (titolazione, infettività, identità, pH, osmolalità, aspetto). Si proporrà di eseguire i test che richiedono molto tempo, in particolare il test compendiale per gli agenti avventizi, dopo il rilascio. Una frazione del lotto DP sarà qualificata come MVB. Una serie di campioni verranno raccolti durante le diverse fasi del processo per eseguire test specifici del prodotto (identità, potenza, infettività). Un obiettivo importante sarà quello di concordare con l'agenzia regolatoria la possibilità di completare gli studi di tossicologia e bio-distribuzione dopo l'approvazione dello studio di fase I. Questa richiesta sarà supportata sia da precedenti dati tossicologici e clinici relativi a vaccini basati su vettori di scimmia precedentemente pubblicati (13) che dai dati ottenuti in uno studio di tossicologia acuta con GRAd23-COV2, della durata di 7 giorni, qui proposto. Questa strategia è già stata discussa con l'ISS con un riscontro positivo.

iii. Studi non-clinici

Gli studi preclinici in modelli animali consentiranno di valutare *in vivo* le caratteristiche di sicurezza, immunogenicità ed efficacia del vaccino. Allo scopo di accelerarne lo sviluppo, considerata l'urgenza di proteggere dai rischi legati alla pandemia in corso coloro che lavorano giorno per giorno in prima linea, è stata proposta all'Istituto Superiore di Sanità (ISS), l'agenzia regolatoria italiana, una strategia in due step per quanto riguarda gli studi di tossicità non clinici. Questa strategia consentirà di iniziare lo studio clinico di fase 1 con un anticipo di sei mesi rispetto ai tempi standard. **Caratterizzazione *in vivo*:** appena il lotto di ricerca del vettore GRAd23-CoV2 sarà disponibile, verrà valutata la sua immunogenicità in esperimenti di dose-risposta in topo. Il siero verrà collezionato

ad intervalli definiti dopo la vaccinazione per valutare e caratterizzare la risposta anticorpale contro SARS-CoV-2 Spike. In aggiunta, la risposta cellulo-mediata indotta dal vaccino verrà quantizzata e caratterizzata per il profilo Th al sacrificio utilizzando gli splenociti degli animali immunizzati. I dati di immunogenicità del vaccino collezionati nel modello murino verranno presentati in supporto dell'autorizzazione allo studio di fase 1.

Potrà essere condotto anche uno studio di immunogenicità in macaco cinomolgo (*Macaca fascicularis*) utilizzando una dose di GRAd23-COV2 equivalente alla metà della dose target nell'uomo. Lo studio, oltre a confermare in un modello animale superiore la cinetica e le proprietà della risposta immunitaria umorale e cellulare indotta dal vaccino, potrà consentire di collezionare quantità di siero immune adeguato per studi approfonditi di caratterizzazione della risposta anticorpale (ad esempio rapporto fra anticorpi neutralizzanti e anticorpi leganti).

Sicurezza del vaccino: Capitalizzando sull'ampia esperienza pregressa preclinica, non-clinica e clinica relativa alla piattaforma adenovirale, e tenendo in considerazione le linee guida internazionali, Reithera propone di suddividere in due step la valutazione non-clinica del candidato vaccino GRAd23-COV2:

Step 1. Studio di tossicità acuta a singola dose (GLP) in conigli. Lo studio consisterà in una singola somministrazione del lotto clinico alla dose massima prevista per la sperimentazione umana in animali di entrambi i sessi. Gli animali saranno monitorati per sette giorni, valutando tollerabilità locale al sito di iniezione (Draize score) e parametri clinici (temperatura, consumo di cibo, peso corporeo) ed ematochimici al giorno 1, 3 e 7 post dose. Al sacrificio gli animali verranno sottoposti ad necropsia e in prima battuta si procederà a esame istopatologico del solo sito di iniezione (muscolo quadricipite) e linfonodi drenanti.

Lo studio fornirà dati di tossicità acuta sul lotto clinico prima di iniziare lo studio clinico di fase 1, con tempistiche accelerate.

Step 2: pacchetto completo di studi tossicologici. Composto di:

- a) Studio di tossicità a dose ripetuta (GLP) in coniglio alla dose massima prevista per la sperimentazione umana, con valutazione della tossicità locale e sistemica e la reversibilità per un periodo di quattro settimane dall'ultima somministrazione.
- b) Studio di biodistribuzione GLP-like in ratto in seguito a singola somministrazione del vaccino intramuscolo. Gruppi di animali verranno sacrificati al giorno 2, 8, 29 e 49 post vaccinazione, e il

sangue e una selezione di organi (inclusi sito di iniezione e linfonodi drenanti) verranno raccolti per estrarne il DNA e quantificare i genomi residui di GRAd23-COV2.

Quello di GRAd23-COV2 sarà il primo studio in esseri umani per il vettore GRAd23; gli studi non-clinici summenzionati verranno condotti in parallelo con il trial di fase 1, allo scopo di generare un profilo tossicologico completo in preparazione degli studi di fase 2.

Studio della potenziale esacerbazione della malattia indotto da vaccinazione: l'eventualità che una vaccinazione preventiva possa avere l'effetto negativo di potenziare la malattia in seguito ad infezione da SARS-COV-2 è descritta per i coronavirus, e deve essere valutata in un adeguato modello animale (ICMRA First regulatory COVID-19 Workshop, March 2020). Per esplorare questa possibilità condurremo uno studio di vaccinazione seguito da infezione sperimentale (challenge) con SARS-CoV-2, che consentirà anche di valutare l'immunogenicità e l'efficacia protettiva del nostro candidato vaccino. Il modello animale non è ancora definito, e diverse specie potenzialmente suscettibili sono in corso di valutazione (furetto, coniglio, criceto siriano e primate non umano) nonché le condizioni di studio e gli adeguati controlli. Come schema generale di studio, gli animali riceveranno una singola somministrazione di GRAd23-COV2 o soluzione salina come controllo. Il siero e i PBMC (se la specie lo consente) verranno raccolti 2 settimane dopo la vaccinazione per monitorare la risposta umorale e cellulo-mediata alla vaccinazione; gli animali verranno poi infettati per via intranasale/intratracheale con un inoculo caratterizzato di SARS-CoV-2 28 giorni dopo la vaccinazione. I parametri ematochimici e la carica dell' RNA virale verranno quindi seguiti. Gli animali verranno sacrificati 6 e 28 giorni dopo l'infezione per effettuare esami istopatologici dei polmoni e del tratto respiratorio. Questo studio verrà condotto in parallelo con lo studio di fase 1.

iv. Sviluppo di saggi preclinici/clinici

Per dimostrare l'induzione di anticorpi in grado di legare specificamente la proteina Spike di SARS-CoV-2 nei sieri degli animali immunizzati o dei volontari vaccinati, verrà messo a punto nei nostri laboratori un saggio ELISA utilizzando una proteina Spike ricombinante disponibile in commercio. In alternativa svilupperemo un saggio basato sull'infezione di una linea cellulare con GRAd23-COV2 in modo che a tempi definiti dopo l'infezione le cellule esprimano alti livelli di proteina Spike ancorata sulla membrana cellulare. I sieri verranno incubati con le cellule esprimenti Spike, e il

legame con anticorpi anti-Spyke indotti dalla vaccinazione verrà rivelato mediante citofluorimetria a flusso dopo reazione con un anticorpo secondario anti-IgG coniugato con un fluorocromo.

L'istituto Spallanzani ha sviluppato inoltre un saggio di neutralizzazione basato su cellule. Il SARS-CoV-2 è stato isolato dal campione biologico di un paziente, è stato caratterizzato per sequenza genomica e propagato in sistemi di coltura cellulare. La linea cellulare ben caratterizzata VEROE6, insieme ad altre linee cellulari di origine umana, si sono dimostrate suscettibili all'infezione con SARS-CoV-2, e rappresentano quindi un target da utilizzare nel saggio di neutralizzazione. Il saggio verrà condotto in piastre da 96 pozzetti in un laboratorio BSL-3 e sarà ottimizzato per parametri quali la concentrazione delle cellule, il rapporto adeguato virus/cellule e la cinetica dell'infezione. La presenza di anticorpi neutralizzanti sarà valutata come inibizione del danno cellulare (effetto citopatico) ed espressa come il reciproco della diluizione sierica che provoca il 90% di inibizione.

La risposta antigene-specifica T cellulare verrà studiata mediante saggi immunologici ben caratterizzati. Per la stimolazione antigenica delle cellule T isolate da animali immunizzati o da volontari vaccinati si utilizzeranno miscele di peptidi (lungi 15 aminoacidi e con la sequenza sovrapposta al successivo di 11 aminoacidi) che coprono l'intera proteina Spike di SARS-CoV-2. In particolare, il saggio principale sarà l'ELISpot per interferone gamma, un saggio robusto, altamente sensibile e quantitativo. Lo staining intracellulare di citochine Th1/Th2/Th17 e l'analisi citofluorimetrica verrà utilizzata per caratterizzare ulteriormente la composizione della risposta cellulo-mediata alla vaccinazione in termini di CD4/CD8 e di profilo Th.

v. Clinica

Target Product Profile (TPP):

il TPP specifica gli obiettivi del vaccino supportato dal nostro piano di sviluppo basato su un regime a singola dose. Il vaccino sarà adatto ad un'ampia popolazione, inclusiva degli anziani. Nella valutazione dei rischi e benefici, la sicurezza e la reattogenicità dovranno superare in modo significativo i rischi, quindi saranno selezionate le popolazioni a rischio, compresi gli operatori sanitari. Misure di efficacia mireranno ad un'efficacia ottimale del 90% e minima >60%.

Piano di sviluppo clinico: La strategia di sviluppo clinico proposta è finalizzata ad arruolare il primo partecipante in una sperimentazione clinica di fase 1 entro luglio. Gli studi clinici di fase 1 saranno condotti sotto la guida normativa dell'organismo regolatorio italiano.

Fase 1 Studio in aperto, Dose crescente, Sicurezza e Immunogenicità

- **Popolazione:** Adulti sani (18-55)
- **Outcomes:**
 - Sicurezza: eventi avversi locali e sistemici, previsti e non previsti; analisi cliniche di laboratorio Immunogenicità: crescente titolo anticorpale; percentuale della conversione dei sieri
- **Go/NoGo:** Analisi Ad interim; dose confermata

Tabella 1. Schema dello studio clinico di fase 1

Studio clinico	Popolazione "a rischio"	Obiettivo	n° soggetti	n° vaccinati	Placebo	State gate
Fase 1a, dose crescente	Italia, 18-55 anni, volontari sani	Dose crescente, sicurezza, immunogenicità	18	6 primo dosaggio, 12 secondo dosaggio	0	significatività della sicurezza

4. Capacità ed esperienza

ReiThera possiede laboratori R&D completamente attrezzati e una officina di produzione GMP che mette a disposizione soluzioni affidabili per lo sviluppo di un prodotto dalle fasi iniziali alla sua commercializzazione. In particolare, ReiThera può fornire supporto nella generazione di vaccini genetici e tecnologie per la terapia genica, messa a punto di nuovi processi e metodi di produzione GMP e sulle relative strategie regolatorie. Nel contesto dello sviluppo di vaccini per malattie emergenti, ReiThera ha un'ampia esperienza nello sviluppo e produzione di vaccini basati su vettori virali ricombinanti, in saggi di rilascio e test di stabilità.

Lo staff di ReiThera (attualmente 80 dipendenti) ha una vasta esperienza nello sviluppo e nella produzione di vettori adenovirali a partire da ceppi wild-type geneticamente ingegnerizzati fino alla produzione di vaccini attraverso procedure di GMP. Di recente, la GMP di ReiThera è stata autorizzata dall'Agenzia Italiana del Farmaco a rilasciare prodotti farmacologici sperimentali.

ReiThera è in grado di sostenere campagne di produzione simultanee su una scala di 200L sfruttando la tecnologia dei bioreattori STR ed utilizzando un processo di purificazione basato sulla filtrazione di profondità, filtrazione a flusso tangenziale (TFF) e cromatografia a scambio anionico. Attualmente, la procedura di infialamento è stata convalidata su una dimensione di 2000 fiale, facilmente scalabile a 10.000.

L'Istituto Nazionale per le Malattie Infettive (INMI) "Lazzaro Spallanzani" è un Istituto di ricerca pubblico dedicato alle malattie infettive, che opera dal 1936. L'INMI è riconosciuto come leader nella ricerca sulle malattie infettive ed è classificato come Istituzione di alto livello per l'impatto delle pubblicazioni nel campo delle malattie infettive, dell'epidemiologia e della microbiologia. INMI è il Centro nazionale di riferimento per la gestione e la diagnosi di malattie infettive altamente trasmissibili. Dal 2003 INMI è membro del Global Outbreak Alert and Response Network (OMS), e nel 2009 è stato nominato come centro collaborativo dell'OMS per l'assistenza clinica in merito alla diagnosi, alla risposta e alla formazione su "Malattie altamente infettive."

Il paradigma dell'attività INMI è quello di tenere in stretta connessione, ad es. in prossimità fisica, sia la cura del paziente che le attività di laboratorio, per avere raccolte in un'unica istituzione tutte le competenze e le strutture professionali necessarie per completare il ciclo di gestione dei pazienti con malattie altamente infettive. Il campo di ricerca dell'INMI si concentra principalmente sulle infezioni emergenti e riemergenti (ad es. Zika, H1N1, Chikungunya, Ebola), agenti patogeni del sangue (comprese le infezioni da HIV, HBV e HCV), la tubercolosi e le malattie tropicali. Su questi argomenti INMI copre la ricerca di base, patogenetica, diagnostica, epidemiologica, la cura/trattamento e la ricerca di prevenzione. Un parco tecnologico di alto livello, composto da piattaforme di tecnologie avanzate, offre attrezzature e know-how all'avanguardia.

Ogni anno vengono iniziati all'INMI più di 20 studi clinici sugli anti-infettivi, tra cui una percentuale significativa degli studi clinici avviati su iniziativa dello sperimentatore. Per questi ultimi studi, l'unità epidemiologia clinica di INMI fornisce supporto metodologico e di monitoraggio. L'INMI sta attualmente richiedendo all'Agenzia Italiana di Medicina (AIFA) l'autorizzazione a condurre studi clinici di fase I su volontari sani.

5. Referenze

1. Vitelli, A. et al., *Expert Rev Vaccines* 16 (12):1241-1252 (2017)
2. Hassan, A.O. et al., *Cell Rep.* 28(10): 2634–2646 (2019)
3. Stanley, D. et al. *Nat Med* 20, 1126–1129 (2014)
4. Colloca, S. et al., *Sci Transl Med*, 2012. 4(115): p. 115ra2.
5. Ewer, K. et al, *Human Vaccines & Immunotherapeutics* 0(0) 1–13 (2017)
6. Stanley, D.A., et al. *Nature Medicine* 20:1126–1129 (2014)
7. Tapia MD, et al. *Lancet Infect. Dis.* 16, 31–42 (2016)
8. Munster, V.J., et al. *npj Vaccines* 28 (2017)
9. Cicconi, et al., *Clinical Infectious Diseases* doi.org/10.1093/cid/ciz653 (2019)
10. Venkatraman, N. et al. *The Journal of Infectious Diseases*, 219(8): 1187–1197 (2019)
11. Perlman, S., et al. *Nature Reviews Microbiology* 7:439-450 (2009)
12. Du, L., et al. *Nature Reviews Microbiology* volume 7:226–236 (2009)
13. Planty, C., et al. *J Appl Toxicol.* 1–15 (2020)

ALLEGATO 2

a. Rendicontazioni

Le rendicontazioni scientifiche e finanziarie saranno trasmesse

- Rendicontazione intermedia entro 30 giorni dal termine del primo trimestre di attività
- Rendicontazione finale- entro 90 giorni dal termine delle attività previste dal progetto

b. Cronoprogramma

Mesi	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Attività												
Studi tossicologia												
Set-up e inizio studi tossicologia												
Completamento studio tossicologia semplificato												
Completamento studio tossicologia completo												
Studi non clinici												
Set-up e inizio studi in vitro e in vivo												
Set-up e inizio studi per valutare esacerbazione malattia												
Completamento studi non-clinici												
Produzione Master Cell Bank (MCB)												
Set-up della produzione di MCB												
Completamento della produzione di MCB												
Rilascio di MCB												
Produzione di Master Virus Bank (MVB)/ Drug Substance (DS) /Drug Product (DP)												
Set-up delle attività GMP per la produzione di DS e DP												
Completamento della produzione di DS e DP												
Rilascio finale di DS e DP												
Produzione di Working Virus Seed (WVS)												
Set-up delle attività GMP per la produzione di WVS												
Completamento della produzione di WVS												
Rilascio finale di WVS												
Studio Clinico di fase I												
Consultazione con autorità regolatoria preparazione dello studio e supporto organizzativo e amministrativo												
Attivazione del sito clinico												
Arruolamento dei volontari e conduzione dello studio, compresa la valutazione di laboratorio												
Analisi interim												
Rendicontazione												

c. Previsioni di spesa

Modulo 1: Studi di tossicologia	
Attività	Costi
Set-up e inizio studi tossicologia	€240.000
Completamento studio tossicologia semplificato	€320.000
Completamento studio tossicologia completo	€240.000
Totale: €800.000	
Modulo 2: Studi non- clinici	
Attività	Costi
Set-up e inizio studi in vitro e in vivo (alla firma)	€219.000
Set-up e inizio studi per valutare esacerbazione malattia	€219.000
Completamento studi non-clinici	€292.000
Totale: €730.000	
Modulo 3: Produzione della "Master Cell Bank" (MCB)	
Attività	Costi
Set-up della produzione di MCB	€150.000
Completamento della produzione di MCB	€200.000
Rilascio di MCB	€150.000
Totale: €500.000	
Modulo 4: Produzione di MVB/DS/DP	
Attività	Costi
Set-up delle attività GMP per la produzione di DS e DP	€621.000
Completamento della produzione di DS e DP	€621.000
Rilascio finale di DS e DP	€828.000
Totale: €2.070.000	
Modulo 5: Produzione di WVS	
Attività	Costi
Set-up delle attività GMP per la produzione di WVS	€150.000
Completamento della produzione di WVS	€150.000
Rilascio finale di WVS	€200.000
Totale: € 500.000	
Modulo 6: Studio clinico di fase 1	
Attività	Costi
Consultazione con autorità regolatoria preparazione dello studio e supporto organizzativo e amministrativo	€600.000
Attivazione del sito clinico	€600.000
Arruolamento dei volontari e conduzione dello studio, compresa la valutazione di laboratorio	€1.400.000
Completamento dell'analisi interim	€400.000
Totale: € 3.000.000	
Modulo 7: Coordinamento dello studio e gestione del progetto	
Overhead e spese generali (determinate forfetariamente 5% del costo complessivo)	€400.000

d. Spese ammissibili

- spese di personale
 - 1 - personale dipendente
 - 2 - personale non dipendente
- spese di formazione professionale
- spese generali - determinate forfaitariamente
- adeguamento locali necessari per le attività progettuali
- attrezzature, strumentazioni e prodotti software
- stages e missioni in Italia e all'estero
- spese per sviluppo del progetto e collaborazioni con enti, università ed aziende terze
- prestazioni di terzi - subcontratti
- acquisizione di brevetti, know-how, diritti di licenza
- messa in opera e in funzione di apparecchiature e strumentazioni scientifiche
- spese di pubblicizzazione
- altri costi funzionali al progetto