

Allegato 1.**PROPOSTA STUDIO EFFICACIA ANTICORPI MONOCLONALI IN COVID-19**

SEZIONE AMMINISTRATIVA
SPERIMENTATORE RESPONSABILE DELLO STUDIO (richiedente) Nome e Cognome: Evelina Tacconelli ¹ Indirizzo email: evelina.tacconelli@univr.it CO-SPERIMENTATORE RESPONSABILE DELLO STUDIO Nome e Cognome: Carlo Tascini ² Indirizzo email: c.tascini@gmail.com
ISTITUZIONE ¹ Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona, Unità Operativa Complessa di Malattie Infettive e Tropicali; malattie.infettive@aovr.veneto.it ² Azienda Sanitaria Univesitaria del Friuli Centrale, Unità Operativa Complessa di Malattie infettive, Udine; malattieinfettive@asufc.sanita.fvg.it

IDENTIFICAZIONE DELLA SPERIMENTAZIONE CLINICA
TITOLO STUDIO: Studio clinico adattativo, randoMizzato, placebo controllato con placebo, sull'uso di ANTicorpi monoclonali nei pazienti affetti da forma lieve-moderata di COvid-19 (MANTICO)
SPONSOR/PROMOTORE: AIFA
CENTRO COORDINATORE (solo per studi multicentrici): Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona, Unità Operativa Complessa di Malattie Infettive e Tropicali
CENTRI COINVOLTI NELLA SPERIMENTAZIONE: Centro coinvolto; responsabile dello studio. - Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona, Unità Operativa Complessa di Malattie Infettive e Tropicali; Evelina Tacconelli. - Azienda Sanitaria Universitaria Friuli Centrale (ASU FC), Presidio Ospedaliero Universitario Santa Maria della Misericordia, SOC Clinica di Malattie Infettive, Udine; Carlo Tascini. - Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano. Dipartimento di Patofisiologia e Trapianti, Universtà di Milano, Unità di Malattie Infettive; Andrea Gori. - Policlinico di S. Orsola, Bologna, UO Malattie Infettive, Alma Mater Studiorum Università di Bologna, Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche; Pierluigi Viale. - Ospedale Maggiore, Trieste, Oncologia e Malattie Infettive; Roberto Luzzati. - OUC Malattie Infettive e Tropicali, Azienda Ospedaliera Universitaria di Padova; Anna Maria Cattelan. - Fondazione Policlinico Universitario A. Gemelli IRCCS Università Cattolica S. Cuore, Dipartimento Sicurezza e Bioetica, UOC Malattie Infettive; Robero Cauda. - AOU Città della Salute e Scienza, Torino, SC Malattie Infettive U; Giuseppe De Rosa. - Policlinico Universitario Mater Domini, UOC Malattie Infettive, Catanzaro; Enrico Maria Tricarichi. - A.O. Cannizzaro, Malattie Infettive, Catania; Carmelo Iacobello. - UOC Malattie Infettive, Azienda Ospedaliera Universitaria Policlinico Vittorio Emanuele, Catania; Arturo Montineri. - UOC Malattie Infettive, PO Garibaldi Nesima, Dipartimento di Biomedicina Clinica e Molecolare, Catania; Antonio Cacopardo. - S.O.C. Malattie Infettive 1 Firenze – Empoli Azienda USL Toscana-Centro, Ospedale S. Maria Annunziata;

Massimo Antonio Di Pietro.

- U.O.C. di Malattie Infettive ad Indirizzo Neurologico presso Azienda Ospedaliera dei Colli, presidio ospedaliero Cotugno; Carolina Rescigno.
- AOU Policlinico – Università di Palermo, UOC Malattie Infettive e Tropicali; PI Antonio Cascio
- Direttore S.C. Malattie Infettive, Azienda Ospedaliera S. Maria della Misericordia di Perugia, Dipartimento di Medicina, Università degli Studi di Perugia; Daniela Francisci.
- SC Malattie Infettive Ospedale San Paolo ASL 2 Savonese; Marco Anselmo
- Università degli Studi di Pescara; Jacopo Vecchiet

SINOSI

Disegno dello studio

Trial adattativo di gruppo-sequenziale di fase 3, randomizzato in singolo cieco, controllato con placebo, multicentrico, volto a valutare l'efficacia di anticorpi monoclonali neutralizzanti umani per il trattamento di pazienti non ospedalizzati di almeno 50 anni, affetti da COVID-19 in una fase precoce dell'infezione (entro 4 giorni dall'esordio dei sintomi). Questo disegno consente, sulla base dei risultati di analisi intermedie (analisi ad interim) da realizzarsi in momenti prefissati dello studio, l'interruzione precoce della sperimentazione per ragioni di sicurezza, futilità o per manifesta efficacia di un trattamento sperimentale. Essendo al momento previsti due bracci, i risultati delle analisi intermedie consentiranno di proseguire l'arruolamento di entrambi i gruppi sperimentali o di terminarne uno o entrambi.

Tutti i partecipanti saranno assegnati in modo casuale ed in egual misura nel braccio di controllo e in ciascuno di due bracci sperimentali (1:1:1). La lista di randomizzazione sarà effettuata sulla base di blocchi permutati con apposita procedura per garantire un arruolamento uniforme rispetto ai centri partecipanti e conferire maggiore validità estrinseca ai risultati dello studio. La gestione della randomizzazione avverrà mediante una piattaforma interattiva (REDCap®).

I partecipanti, a differenza dello sperimentatore e del personale del centro sperimentatore autorizzato a collaborare alla realizzazione dello studio, non saranno a conoscenza del braccio di studio assegnato dalla randomizzazione. Per tale motivo sarà somministrato un placebo rispettando le stesse procedure ed utilizzando gli stessi strumenti dei bracci sperimentali.

La scelta della somministrazione del placebo è essenziale per minimizzare il rischio di dropout. Lo studio senza placebo presenterebbe, infatti, un alto rischio che numerosi pazienti con forma lieve/moderata siano persi al follow up. Un rapporto di monitoraggio settimanale sarà protodotto dal centro coordinatore sulla base dei dati inseriti nel sistema di data capturing (RedCap) ed inviato ad ogni centro partecipante. Sulla base del report, una teleconferenza sarà organizzata dal centro coordinatore in modo da chiarire in tempo reale le incongruenze ed intervenire tempestivamente in caso di necessità.

Popolazione in studio

Criteri di inclusione

Sono da considerarsi idonei all'inclusione nello studio, partecipanti che rispondono ai seguenti criteri:

- Età \geq 50 anni
- Consenso informato del partecipante o del suo rappresentante legale
- Prima diagnosi di infezione da SARS-CoV-2 mediante ricerca su tampone naso-faringeo eseguito non più di 4 giorni prima della somministrazione dei trattamenti sperimentali (sono considerati validi sia test molecolari che test antigenici di terza generazione)
- Saturazione di ossigeno \geq 94% in aria ambiente
- Comparsa di almeno un sintomo non più di 4 giorni prima della somministrazione dei trattamenti sperimentali. Il momento della comparsa dei sintomi è definito come il momento in cui il paziente ha manifestato la comparsa di almeno uno tra i seguenti sintomi associati all'infezione da SARS-CoV-2 (FDA, Settembre 2020)
 - Congestione o ostruzione nasale
 - Tosse

- Faringodinia
- Temperatura corporea $\geq 37.3^{\circ}\text{C}$
- Mialgie
- Astenia
- Cefalea
- Anosmia o ageusia
- Nausea o vomito
- Diarrea

Criteri di esclusione

- Criteri di AIFA per l'utilizzo degli anticorpi monoclonali (le definizioni dei criteri potranno essere modificate prima dell'inizio dello studio sulla base di nuove comunicazioni di AIFA per la definizione di tali criteri)
 - Body Mass Index (BMI) ≥ 30
 - Malattia renale cronica
 - Diabete non controllato
 - Immunodeficienze primitive
 - Immunodeficienze secondarie
 - Malattia cardio-cerebrovascolare **nel paziente con almeno 55 anni di età**
 - BPCO e/o altre malattie respiratorie croniche **nel paziente con almeno 55 anni di età**
 - Ospedalizzazione o necessità di ospedalizzazione al momento dell'arruolamento nello studio (la residenza presso una casa di riposo o residenza protetta non costituisce un criterio di esclusione)
 - Frequenza respiratoria ≥ 25 atti respiratori/minuto
 - Frequenza cardiaca ≥ 125 battiti al minuto
 - Saturazione di ossigeno periferica $\leq 93\%$ in aria ambiente o fabbisogno di ossigeno-terapia supplementare rispetto alla norma del paziente
 - Allergia nota a qualsiasi dei componenti usati per la formulazione del prodotto in studio
 - Infezione batterica, fungina, virale (oltre a SARS-CoV-2) o di altra natura, sospetta o confermata, di entità tale da costituire un potenziale motivo di ricovero nei successivi 30 giorni
 - Qualsiasi comorbidità che richieda un intervento chirurgico entro 7 giorni o che costituisca un reale pericolo di vita entro 90 giorni dalla somministrazione dei trattamenti in studio
 - Precedenti test sierologici positivi per SARS-CoV-2
 - Test positivi per SARS-CoV-2 precedenti a quello considerato criterio di inclusione per questo studio
 - Precedenti trattamenti con anticorpi monoclonali specifici per SARS-CoV-2
 - Precedente somministrazione di plasma convalescente per SARS-CoV-2
 - Precedente vaccinazione anti-SARS-CoV-2
 - Partecipazione entro i precedenti 30 giorni, ad uno studio clinico che prevedeva la somministrazione di un trattamento sperimentale
 - Personale direttamente coinvolto con il presente studio
 - Gravidanza e allattamento
 - Donne in età fertile o uomini sessualmente attivi che rifiutano di praticare metodi contraccettivi efficaci per almeno 6 mesi dalla somministrazione dei trattamenti in studio
- Impossibilità di tipo logistico/organizzativa a seguire il protocollo durante il follow-up

INTERVENTO

BRACCIO	BAMLANIVIMAB	CASIRIVIMAB/IMDEVIMAB	PLACEBO
Tipo	Trattamento in studio	Trattamento in studio	Placebo
Dosaggio	700 mg in 250 mL di soluzione di cloruro di sodio 0.9%	1200mg/1200mg in 250 mL di soluzione di cloruro di sodio 0.9%	250 mL di soluzione di cloruro di sodio 0.9%

Via di somministrazione	Endovena	Endovena	Endovena
Utilizzo	Sperimentale	Sperimentale	Braccio di controllo

Obiettivi ed Endpoint

Obiettivi	Endpoint
Primari	
Confrontare l'efficacia dei trattamenti sperimentali rispetto al placebo sulla progressione di COVID-19 in pazienti non ospedalizzati di almeno 50 anni	Progressione di malattia COVID-19, definita come (1) ricovero in ospedale oppure (2) fabbisogno di ossigeno-terapia supplementare a domicilio oppure (3) decesso, entro 14 giorni dalla randomizzazione
Secondari	
Confrontare l'efficacia dei trattamenti sperimentali rispetto al placebo in merito ad altri endpoint clinici rilevanti	<ul style="list-style-type: none"> • Numero di accessi effettuati in Pronto Soccorso senza ospedalizzazione seguente entro 28 giorni dalla randomizzazione • Durata ossigeno-terapia supplementare entro 90 giorni dalla randomizzazione • Durata dell'eventuale ricovero ospedaliero entro 90 giorni dalla randomizzazione • Fabbisogno di ventilazione non invasiva entro 28 giorni dalla randomizzazione • Durata della ventilazione non invasiva entro 90 giorni dalla randomizzazione • Fabbisogno di ventilazione meccanica entro 28 dalla randomizzazione • Durata della ventilazione meccanica entro 90 giorni dalla randomizzazione • Mortalità a 28 e 90 giorni dalla randomizzazione
Confrontare l'efficacia dei trattamenti sperimentali rispetto al placebo in merito ad endpoint laboratoristici	Variazioni dei seguenti parametri ematochimici a 7/14/28 giorni dalla randomizzazione: <ul style="list-style-type: none"> • Creatinina ($\mu\text{mol/L}$) • ALT, Aspartato aminotrasferasi (U/L) • ALP, Fosfatasi alcalina (U/L) • Amilasi (U/L) • Bilirubina totale ($\mu\text{mol/L}$) • D-dimero ($\mu\text{g/L}$) • Glucosio (mmol/L) • Ferritina ($\mu\text{g/L}$) • LDH, Lattato deidrogenasi (U/L) • Sodio (mmol/L) • Potassio (mmol/L) • CRP, Proteina C Reattiva (mg/L) • Procalcitonina (ng/mL) • Emoglobina (g/dL) • Leucociti ($\times 10^9/\text{L}$) • Neutrofili ($\times 10^9/\text{L}$) • Linfociti ($\times 10^9/\text{L}$)

	<ul style="list-style-type: none"> • Piastrine (x 10⁹/L)
Confrontare l'efficacia dei trattamenti sperimentali rispetto al placebo in merito ad endpoint sierologici	Dosaggio sierico di anticorpi anti-SARS-CoV-2 a 7/14/28 giorni dalla randomizzazione
Confrontare l'efficacia dei trattamenti sperimentali rispetto al placebo in merito alla negativizzazione del tampone naso-faringeo per la ricerca di SARS-CoV-2	Negatività della ricerca di SARS-CoV-2 mediante tampone molecolare naso-faringeo (PCR) a 7/14/21/28/90 giorni dalla randomizzazione
Confrontare l'efficacia dei trattamenti sperimentali rispetto al placebo relativamente agli endpoint riportati dai pazienti	<ul style="list-style-type: none"> • Durata della febbre entro 90 giorni dalla randomizzazione • Durata dei sintomi entro 90 giorni dalla randomizzazione. • Giorni di astensione lavorativa (incluso smart working) entro 90 giorni dalla randomizzazione (solo in caso di occupazione lavorativa) • Misurazione della qualità di vita associata allo stato di salute mediante la somministrazione del questionario <i>EuroQuol - five domain questionnaire - five level response</i> (EQ-5D-5L) e <i>EuroQuol-Visual Analog Scale</i> (EQ-VAS) al giorno 7/14/28/90 dalla randomizzazione
Confrontare i trattamenti sperimentali rispetto al placebo in merito all'insorgenza di eventi avversi	Eventi avversi che conducono all'interruzione dell'infusione del farmaco o eventi avversi gravi

Eventuali studi Ancillari

1. Sottostudio immunologico (vedi Allegato 3):

- Endpoint primario: quantificazione dei linfociti (totale e sottopopolazioni) circolanti nel sangue periferico ai vari timepoints dello studio
- Endpoint secondari
 - Quantificazione (totale e sottopopolazioni), descrizione morfologica e fenotipica dei monociti circolanti nel sangue periferico ai vari timepoints dello studio;
 - Quantificazione delle citochine: CCL3/MIP-1 α , CXCL10/IP-10, IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-7, IL-10, IL-12 p70 e TGF- β , in campioni di siero ai vari timepoints dello studio;
 - Analisi trascrittomiche dei T cell receptors ai vari timepoints dello studio
 - Analisi trascrittomiche dei B cell receptors ai vari timepoints dello studio
 - Misurazione dell'espressione di inflammasome NLRP3, caspase 1,3,4,5 e citochine pro-infiammatorie intracellulari (PBMCs).

2. Follow-up clinico dei pazienti a 6/12/18 mesi (progetto ORCHESTRA, WP2 - Task 2.6 – Allegato 4)

- Endpoint primari: 1) prevalenza di sequelae cliniche a medio-lungo termine; 2) ospedalizzazione; 3) decesso
- Endpoint secondario: analisi re-infezioni e sequenziamento dei ceppi

Durata Pianificata dello studio: 12 mesi

Analisi statistica

DETERMINAZIONE DEL SAMPLE SIZE

Per il calcolo del sample size sono stati considerati anche gli algoritmi predittivi della popolazione americana con infezione da SARS-CoV-2 (CDC, 2021), che ha stimato che la percentuale di ricoveri ospedalieri per SARS-CoV-2 è 7.1% nella popolazione generale, 18.7% in quella con età superiore a 50 anni e 25.7% per età superiore a 65 anni. In considerazione del parere favorevole all'utilizzo dei medesimi anticorpi monoclonali nello stesso tipo di pazienti (Commissione Tecnico-Scientifica di AIFA) tali categorie di pazienti ad alto rischio sono state escluse dal presente studio. A seguito dell'esclusione si stima una progressione di malattia del 5% nei bracci sperimentali verso il 12% nel braccio placebo (riduzione del 7%) ai fini della determinazione della dimensione del campione in studio. Lo studio adattativo di gruppo-sequenziale avrà tre bracci di cui due sperimentali ed uno di controllo. Nel caso di uno studio a campione prefissato, con $\alpha = 0.025$ per il test ad una coda ed una potenza del 90%, arriveremmo all'arruolamento di 332 pazienti per gruppo, considerando un fattore di inflazione di Pollock di 1.2 [Jennison, C.J. and Turnbull, B.W. Group sequential methods with applications to clinical trials. Chapman and Hall, Boca Raton, FL, 2000], il campione massimo considerato nello studio è di 420 pazienti per gruppo; per un massimo totale di 1260 (due gruppi di trattamento e un gruppo di controllo). Considerano la perdita al follow up del 5% le numerosità campionarie massime salgono a 420 per gruppo, per un massimo totale di 1260. Essendo lo studio in oggetto adattativo sequenziale di gruppo, ed essendo Bayesiano l'approccio sia al suo disegno che alla sua analisi, per il calcolo del campione sono state effettuate simulazioni imponendo (Berry, 2011)

1. un prior non informativo sull'effetto del trattamento, $d = p_{\text{trattati}} - p_{\text{controlli}}$
2. due criteri di interruzione per successo: $P(d > 0 | D) > 0.975$ e $P(d > 0.07 | D) > 0.5$
3. un criterio di interruzione per futilità: $P(d < 0.02 | D) > 0.5$
4. un totale di 420 pazienti per gruppo da dividere in più stadi

Oltre alla condizione classica sull'errore di tipo 1, si considera quindi come successo un effetto del trattamento maggiore al 7%, e come insuccesso un effetto del trattamento minore al 2%.

Sono stati considerati più disegni, con diverso numero di stadi e diverso numero di pazienti per stadio, e per ciascun disegno sono state effettuate 100000 simulazioni, variando l'effetto del trattamento da -0.10 a +0.10.

Le prestazioni migliori in termini di potenza e numerosità del campione sono risultate essere quelle di un disegno a 5 stadi (4 analisi di interim e una analisi finale), considerando 84 pazienti per gruppo ad ogni stadio.

Per l'effetto atteso del 7% abbiamo una numerosità campionaria attesa di 157 pazienti per gruppo, con una probabilità di interruzione per successo maggiore di 0.5 già alla seconda analisi di interim.

Il calcolo delle probabilità di interruzione è stato svolto con il pacchetto R *gsbDesign* la distribuzione binomiale è stata approssimata con quella normale utilizzando la trasformazione logit dell'odds ratio del trattamento.

Analisi ad interim pianificata

L'effettuazione dell'analisi ad interim dovrà essere realizzata a seguito di un preliminare *cleaning* dei dati. Per garantire la qualità dei dati, verrà effettuato un monitoraggio settimanale della raccolta dei dati digitalizzati per ogni sito di arruolamento con la eventuale correzione degli errori ed un ritardo massimo di 7 giorni.

I dati, a seconda della loro distribuzione, saranno rappresentati come media +/- deviazione standard, mediana e intervallo interquartile o proporzione. Il confronto delle proporzioni sarà effettuato con approccio Bayesiano, assegnando ad esse un prior uniforme. Le distribuzioni posteriori risultanti seguiranno la distribuzione beta; il confronto tra le proporzioni nei due

gruppi sarà quindi basato su una differenza di distribuzioni beta, calcolata con un metodo Markov Chain Monte Carlo. Tutti i calcoli saranno eseguiti in ambiente software R. Sarà prodotto un piano di analisi statistica (SAP) separato che fornirà una descrizione più completa delle analisi statistiche pianificate, tuttavia di seguito si fornisce una breve descrizione della strategia di analisi. I gruppi sperimentali saranno confrontati con quello di controllo con un approccio *intention-to-treat*, ovvero tutti i partecipanti saranno analizzati nel gruppo di trattamento a cui sono stati randomizzati indipendentemente dalla conformità o da altre deviazioni dal protocollo. L'analisi ad interim sarà effettuata solo rispetto all'endpoint primario e si analizzeranno le differenze tra gruppi per verificare l'eventuale la futility o superiority di uno o entrambi i bracci sperimentali.

Analisi finale pianificata

Sulla base del piano di analisi statistica (SAP) descritto nel paragrafo precedente saranno analizzati dopo aver completato l'arruolamento, aver atteso la maturazione degli endpoint ed aver fatto l'ultimo cleaning del dataset esso verrà congelato per l'effettuazione delle analisi e si procederà al confronto tra gruppi sperimentali e controllo con lo stesso approccio *intention-to-treat* descritto precedentemente. In relazione alla scala di misura ed alla distribuzione i test statici saranno di tipo non parametrico (test della probabilità esatta di Fisher, Wilcoxon-Mann-Whitney) o parametrico (T-Studenti, anova ecc.). Per l'endpoint primario e secondari saranno utilizzate statistiche descrittive ed analizzate le differenze tra gruppi. Per la stima dell'effetto controllo-trattamento sarà utilizzato un metodo Bayesiano, assegnando alle proporzioni un prior uniforme. Le distribuzioni posteriori risultanti seguiranno la distribuzione beta; il confronto tra le proporzioni nei due gruppi sarà quindi basato su una differenza di distribuzioni beta, calcolata con un metodo Markov Chain Monte Carlo.

Per gli endpoint secondari, dove è prevista una valutazione *time-to-event*, verrà utilizzata un'analisi di sopravvivenza col metodo del prodotto limite e la modellizzazione avverrà con la regressione di Cox.

Gli endpoint secondari misurati su scala nominale includeranno:

- Proporzione di pazienti in ventilazione non invasiva entro 28 giorni dalla randomizzazione
- Proporzione di pazienti in ventilazione meccanica entro 28 dalla randomizzazione
- Proporzione di decessi a 28 e 90 giorni dalla randomizzazione
- Proporzione di tamponi naso-faringei molecolari (PCR) negativi per la ricerca di SARS-CoV-2 a 7, 14, 21, 28 e 90 giorni dalla randomizzazione

Per gli endpoint secondari misurati su scala ordinale o ad intervalli includeranno:

- Numero di accessi effettuati in Pronto Soccorso entro 28 giorni dalla randomizzazione
- Durata dell'eventuale ricovero ospedaliero
- Durata dell'eventuale ventilazione non invasiva
- Durata dell'eventuale ventilazione meccanica
- Durata dell'eventuale ossigeno-terapia supplementare
- Durata della febbre
- Durata dei sintomi
- Giorni di astensione lavorativa entro 90 giorni dalla randomizzazione
- Cambiamenti degli score di qualità di vita associata allo stato di salute (EQ-5D-5L e EQ-VAS) dal baseline al giorno 7/14/28/90 dalla randomizzazione.

Analisi di sottogruppo

Le analisi degli endpoint primari e secondari descritte nel precedente paragrafo saranno effettuata per i seguenti sottogruppi:

- **età**
- **sexso**
- **tempistica di esordio dei sintomi**
- **dosaggio sierico di anticorpi anti-SARS-CoV-2 al momento della randomizzazione**

Se il numero di partecipanti ad un sottogruppo risultasse troppo esiguo (meno del 10% della dimensione campionaria totale), le categorie dei sottogruppi potranno essere ridefinite prima di bloccare il database.

SOMMARIO

1	ABBREVIAZIONI	11
2	BACKGROUND	12
3	DISEGNO DELLO STUDIO	16
3.1	RANDOMIZZAZIONE	16
3.2	CONTROLLO CON PLACEBO IN SINGOLO CIECO	16
4	POPOLAZIONE IN STUDIO	ERRORE. IL SEGNALIBRO NON È DEFINITO.
4.1	CRITERI DI INCLUSIONE	ERRORE. IL SEGNALIBRO NON È DEFINITO.
4.2	CRITERI DI ESCLUSIONE	ERRORE. IL SEGNALIBRO NON È DEFINITO.
5	INTERVENTO	19
5.1	TRATTAMENTI SPERIMENTALI	19
5.2	BRACCIO DI CONTROLLO	20
5.3	TERAPIE CONCOMITANTI	20
6	OBIETTIVI ED ENDPOINT	21
7	ASPETTI ORGANIZZATIVI E ANALISI DI FATTIBILITÀ	22
7.1	RECLUTAMENTO DEI CENTRI PARTECIPANTI	22
7.2	TRAINING DELLO STAFF DEI SITI DI ARRUOLAMENTO	23
7.3	TRASPORTO DEI PAZIENTI	24
8	PROCEDURE DELLO STUDIO (SOA)	25
8.1	SCREENING DELLA VOLONTÀ DI PARTECIPARE ALLO STUDIO (GIORNO 1)	25
8.2	SCREENING PER L'ARRUOLAMENTO (GIORNO 1)	25
8.3	PROCEDURA DI OTTENIMENTO DEL CONSENSO INFORMATO (GIORNO 1)	26
8.4	BASELINE (GIORNO 1)	26
8.5	RANDOMIZZAZIONE (GIORNO 1)	27
8.6	SOMMINISTRAZIONE DI IMP/PLACEBO (GIORNO 1)	27
8.7	FOLLOW-UP DOPO DUE ORE DAL TERMINE DELL'INFUSIONE (GIORNO 1)	27
8.8	FOLLOW-UP TELEFONICO GIORNO 2/4/10	27
8.9	FOLLOW-UP GIORNO 7 ± 2	27
8.10	FOLLOW-UP GIORNO 14 ± 2	28
8.11	FOLLOW-UP GIORNO 21 ± 2 (TELEFONICO SE TEST MOLECOLARE PER RICERCA SARS-CoV-2 SU TAMPONE NASO-FARINGEO NEGATIVO AL GIORNO 14 ± 2)	28
	SARANNO EFFETTUATE LE SEGUENTI VALUTAZIONI E SI REGISTRERANNO I RELATIVI RISULTATI:	28
8.12	FOLLOW-UP GIORNO 28 ± 2	29
8.13	FOLLOW-UP GIORNO 90 ± 14 (TELEFONICO SE TEST MOLECOLARE PER RICERCA SARS-CoV-2 SU TAMPONE NASO-FARINGEO NEGATIVO AL GIORNO 28 ± 2)	29
	SARANNO EFFETTUATE LE SEGUENTI VALUTAZIONI E SI REGISTRERANNO I RELATIVI RISULTATI:	29
9	FARMACOVIGILANZA	30
9.1	VALUTAZIONE DELLA GRAVITÀ	31
9.2	VALUTAZIONE DEL RAPPORTO DI CAUSALITÀ	31
9.3	MONITORAGGIO DI FARMACOVIGILANZA	32
9.4	NOTIFICA DEGLI EVENTI AVVERSI E RESPONSABILITÀ DELLO SPERIMENTATORE	34
9.5	SUSAR	34
9.6	GESTIONE DI UN'EVENTUALE REAZIONE ALL'INFUSIONE DI IMP	34
9.7	RECLAMI RELATIVI AD IMP	34
10	EVENTUALI STUDI ANCILLARI	35
11	DURATA PIANIFICATA DELLO STUDIO	35
12	ANALISI STATISTICA	35
12.2	SAMPLE SIZE PER TRIAL ADATTATIVO DI GRUPPO-SEQUENZIALE	36

12.3	PROIEZIONE DI ARRUOLAMENTO	38
12.4	BRACCI DI RANDOMIZZAZIONE	38
12.5	ANALISI AD INTERIM PIANIFICATA	38
12.6	ANALISI FINALE PIANIFICATA	39
12.7	ANALISI DI SOTTOGRUPPO	40
13	STRUTTURA ORGANIZZATIVA E DECISIONALE	40
14	GARANZIA DELLA QUALITÀ DEI DATI	41
14.1	RACCOLTA DATI	41
14.2	DATA ENTRY	41
14.3	TRAINING SU <i>DATA ENTRY</i>	42
14.4	MONITORAGGIO DELLA RACCOLTA E INSERIMENTO DATI	42
14.5	RISORSE DOCUMENTALI	42
14.6	AVVIO DELLO STUDIO	42
14.7	CONCLUSIONE DELLO STUDIO	42
15	ETICA E CONSIDERAZIONI NORMATIVE	43
16	PUBBLICAZIONE DEI RISULTATI	43
16.1	PIANO ECONOMICO	47
	BIBLIOGRAFIA	47
	APPENDICE 2	51
	APPENDICE 3	53
	APPENDICE 4	54

1 ABBREVIAZIONI

ACE-2, recettore per l'enzima 2 convertitore dell'angiotensina

AE, evento avverso

AIFA, Agenzia Italiana del Farmaco

ALP, fosfatasi alcalina

ALT, aspartato aminotrasferasi

BMI, indice di massa corporea

CIOMS, *Council for International Organizations of Medical Science*

CRP, proteina C reattiva

COVID-19, malattia da Coronavirus-19

DRE, evento avverso correlato alla malattia

eCRF, *electronic Case Report Form*

FDA, *Food and Drug Administration*

GCP, buona pratica clinica

EQ-5D-5L, EuroQuol - *five domain questionnaire - five level response*

EQ-VAS, EuroQuol-*Visual Analog Scale*

FWER, *familywise error rate*

HIV, virus dell'immunodeficienza umana

ICF, modulo di Consenso Informato

ICH, Conferenza internazionale per l'armonizzazione dei requisiti tecnici per la registrazione dei farmaci ad uso umano (dall'inglese *International Council on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use*)

ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors

IgG1, immunoglobuline G di tipo 1

IMP, trattamento medico sperimentale

ISS, Istituto Superiore di Sanità

ISTAT, Istituto nazionale di statistica

LAR, appresentante legalmente autorizzato

LDH, lattato deidrogenasi

MAMS, studio Multi-Arm-Multi-Stage

NCI CTCAE, *National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events*

PCR, reazione a catena della polimerasi

PI, *Principal Investigator*

REDCap, *Research Electronic Data Capture*

SAE, Grave Evento Avverso

SAP, piano di analisi statistica

SARS-CoV-2, sindrome respiratoria acuta grave da Coronavirus-2

SoA, procedure dello studio

SoC, standard di cura

SSN, Sistema Sanitario Nazionale

SUSAR, sospetta reazione avversa grave inattesa

USCA, Unità Speciali di Continuità Assistenziale

Le referenze bibliografiche sono riportate in parentesi e citati nel capitolo della bibliografia in ordine alfabetico (primo autore)

PROTOCOLLO DI STUDIO

2 BACKGROUND

La pandemia da SARS-CoV-2 ha causato in Italia 2.697.296 infezioni e 93.045 decessi (mortalità cruda) (dati aggiornati al 12.02.2021; fonte Istituto Superiore di Sanità). Il controllo della pandemia è risultato particolarmente complesso non solo da un punto di vista di prevenzione e sanità pubblica ma anche sul piano terapeutico a causa della mancanza di farmaci efficaci. Al momento solo il desametasone ed il remdesivir sono stati inclusi nelle raccomandazioni di *Standard of Care* per i pazienti ospedalizzati affetti da polmonite e in ossigeno-terapia supplementare (Horby, 2020). Nei soggetti non ospedalizzati, asintomatici o con sintomi lievi o moderati, nessun farmaco ha mostrato efficacia né in termini di riduzione della trasmissione né di progressione di malattia, nonostante siano stati valutati numerosi principi attivi (tra cui idrossiclorochina, lopinavir-ritonavir, azitromicina, ivermectina, molnupiravir e favipiravir) in oltre 70 studi clinici (taluni ancora in corso di arruolamento - 14 in Italia) condotti in pazienti non ospedalizzati (www.clinicaltrials.gov; accesso 10/02/21). Recentemente lo studio multicentrico, randomizzato controllato, COLCORONA ha mostrato che l'utilizzo di colchicina sembrerebbe ridurre il rischio di ospedalizzazione o decesso nel paziente non ospedalizzato, affetto da COVID-19 di entità lieve o moderata, con più 40 anni e fattori di rischio per progressione di COVID-19 (Tardif, 2021). Lo studio presenta, tuttavia, limitazioni sostanziali data l'interruzione dell'arruolamento al raggiungimento del 75% del campione previsto e la mancata valutazione degli effetti collaterali associati alla prolungata esposizione a colchicina (somministrata quotidianamente per 30 giorni).

La difficoltà di individuazione di una terapia efficace risiede non solo nell'incompleta identificazione dei meccanismi patogenetici di SARS-CoV-2 ma anche nella progressione della malattia in fasi. Le evidenze scientifiche suggeriscono che una completa acquisizione delle caratteristiche epidemiologiche e cliniche dei pazienti è essenziale per la valutazione di efficacia di nuovi o "vecchi" farmaci attivi contro SARS-Cov-2 negli studi clinici. Le attuali indicazioni terapeutiche si distribuiscono, infatti, a seconda della fase di malattia del paziente, età e comorbidità.

Sono stati sviluppati numerosi score per la classificazione di COVID-19 ma nessuno è stato al momento validato. Il più utilizzato è lo score OMS, *WHO Clinical Progression Scale* (Marshall, 2020), attualmente in corso di revisione. Nessuno degli score esistenti è stato sviluppato per i pazienti a domicilio. Ad tal proposito, nello score OMS non si prende in considerazione il fabbisogno di ossigeno-terapia supplementare presso il proprio domicilio quale fattore indicativo di progressione di COVID-19. Una miglior definizione della progressione di COVID-19 anche in un contesto non ospedaliero sarebbe in linea con quanto indicato da numerosi documenti nazionali e regionali per minimizzare l'inappropriatezza dei ricoveri.

2.1 RAZIONALE

Lo sviluppo e la distribuzione dei vaccini e, più recentemente, degli anticorpi monoclonali ha modificato le prospettive di prevenzione e trattamento dell'infezione da SARS-CoV-2. Il virus è in grado di penetrare nelle cellule umane attraverso il legame della proteina virale *spike* con i recettori per l'enzima 2 convertitore dell'angiotensina (ACE-2) presente sulle cellule target. Gli anticorpi monoclonali sono stati sviluppati per prevenire la penetrazione del virus nelle cellule e ridurre, di conseguenza, il rischio di progressione di COVID-19 dalle fasi precoci (fase asintomatica o sintomi lievi/moderati) a quelle severe/critiche. Tre anticorpi monoclonali, bamlanivimab (prodotto da Eli Lilly®) e casirivimab/imdevimab (prodotti da Regeneron-Roche®), hanno ricevuto l'autorizzazione all'uso da parte dagli enti regolatori preposti in USA, Canada, Germania e Italia. La Commissione Tecnico-Scientifica di AIFA ha autorizzato in emergenza bamlanivimab al dosaggio di 700 mg e di casirivimab/imdevimab al dosaggio di 1200/1200 mg per il

trattamento di forme lievi/moderate di COVID-19 in adulti e bambini (età ≥ 12 anni, peso ≥ 40 kg) con fattori di rischio per progressione a malattia severa (Decreto Ministeriale 6 febbraio 2021).

BAMLANIVIMAB

Anticorpo monoclonale neutralizzante umano IgG1 ricombinante in grado di legarsi alla proteina spike di SARS-CoV-2.

Evidenza nei pazienti non ospedalizzati con infezione lieve/moderata (come definita in base a documento FDA, Maggio 2020, vedi riferimento bibliografico)

Le evidenze di efficacia si basano sull'analisi *ad interim* dello studio clinico di fase 2 BLAZE-1 (Blocking Viral Attachment and Cell Entry with SARS-CoV-2 Neutralizing Antibodies, NCT04427501), randomizzato in doppio cieco e controllato con placebo, che ha valutato la monosomministrazione di bamlanivimab a differenti dosaggi (700 mg, 2800 mg, 7000 mg) in pazienti non ospedalizzati, affetti da forme lievi/moderate di COVID-19. Per tutti i dosaggi di bamlanivimab è stata evidenziata una **riduzione assoluta** sovrapponibile **del tasso di ospedalizzazione al giorno 29 di circa il 5%: 9/143 (6.3%) nel placebo vs 1/101 (1%) nel braccio 700 mg, 2/107 (1.9%) nel braccio 2800 mg e 2/101 (2%) nel braccio 7000 mg.** L'analisi *post hoc* dei pazienti ad alto rischio (età 65 anni o superiore; Body Mass Index (BMI) 35 o superiore) ha rilevato una riduzione del tasso di ospedalizzazione di circa 11%: 4/95 (4%) nel gruppo trattato con bamlanivimab vs 7/48 (15%) nel gruppo di controllo. Il profilo di sicurezza dei pazienti che avevano ricevuto bamlanivimab è risultato sovrapponibile a quello del gruppo di controllo trattato con placebo (Chen, 2021).

Recentemente sono stati pubblicati i risultati parziali di un trial clinico fase 2/3, che ha valutato l'associazione di bamlanivimab con etesevimab, un altro anticorpo monoclonale neutralizzante anti-spike che si lega a un epitopo diverso da bamlanivimab e neutralizza varianti con mutazioni resistenti nell'epitopo legato da bamlanivimab. La riduzione assoluta del tasso di ospedalizzazione con la combinazione di questi 2 anticorpi monoclonali neutralizzanti, 1/109 (0.9%), è risultata sovrapponibile a quella ottenuta con la monoterapia di bamlanivimab. Non sono al momento stati pubblicati dati relativi alla differenza di mortalità somministrando bamlanivimab/etesevimab vs placebo. Il profilo di sicurezza di pazienti trattati con bamlanivimab/etesevimab è risultato sovrapponibile a quello del gruppo di controllo trattato con placebo (Gottlieb, 2021).

Evidenza nei pazienti ospedalizzati

In un trial clinico di fase 3 condotto in pazienti ospedalizzati per COVID-19, la somministrazione di bamlanivimab non ha evidenziato alcun beneficio clinico (Lundgren, 2020).

CASIRIVIMAB E IMDEVIMAB

Anticorpi monoclonali neutralizzanti umani IgG1 ricombinanti, non competitivi, in grado di legarsi alla proteina *spike* di SARS-CoV-2. La scelta di somministrare una combinazione di due anticorpi monoclonali è volta a prevenire l'emergere di varianti virali resistenti alla terapia.

Evidenza nei pazienti non ospedalizzati con infezione lieve/moderata (come definita in base a documento FDA, Maggio 2020, vedi riferimento bibliografico)

Le evidenze di efficacia si basano sull'analisi *ad interim* dello studio di fase 1-3, randomizzato in doppio cieco e controllato con placebo, che ha valutato casirivimab e imdevimab in pazienti non ospedalizzati affetti da SARS-CoV-2 per il trattamento di forme lievi/moderate di COVID-19 (NCT04425629). I dati, che riguardano due diversi dosaggi del cocktail (2400 mg e 8000 mg), evidenziano una **riduzione assoluta** del **tasso di visite mediche al giorno 29 di circa il 3%: 6/93 (6%) nel gruppo placebo vs 6/182 (3%) nel gruppo trattato con casirivimab/imdevimab.** L'analisi del sottogruppo di pazienti privi di anticorpi sierici anti-SARS-CoV-2 al momento dell'inclusione ha rilevato una riduzione ancora maggiore del tasso di visite mediche al giorno 29, di circa 9%: 5/80 (6%) nel gruppo placebo vs 5/33 (15%) nel gruppo trattato con il cocktail

anticorpale. Il profilo di sicurezza di pazienti che avevano ricevuto il trattamento casirivimab/imdevimab è risultato sovrapponibile a quello del gruppo di controllo trattato con placebo (Weinreich, 2021).

Evidenza nei pazienti ospedalizzati

Non ci sono evidenze nei pazienti ospedalizzati.

Anticorpi monoclonali in fase di valutazione

Attualmente sono in fase di valutazione circa 50 anticorpi monoclonali anti-SARS-CoV-2 (94 studi di fase 1/2/3) ma non sono ancora disponibili risultati pubblicati. CT-P59, AZD7442 e VIR-7831 sono anticorpi monoclonali attualmente valutati in studi di fase 3. Numerosi altri anticorpi monoclonali che hanno come target la proteina *spike* sono attualmente in studi di Fase 1/2: VIR-7832, BGB-DXP593, JS016, CT-P59, BRIL-196 e 198, SCTA01, MW33, COVI-GUARD/STI-1499, e HLX70 (Deb, 2021).

Limitazioni delle attuali evidenze sugli anticorpi monoclonali

L'evidenza di un possibile beneficio clinico o preventivo dell'utilizzo di bamlanivimab e casirivimab/imdevimab è preliminare, trattandosi di risultati di analisi ad interim (Chen, 2021; Weinreich, 2021). Inoltre, la dimensione campionaria di tali studi è stata calcolata non sulla base di un endpoint primario clinico bensì virologico (riduzione della carica virale, rispettivamente, a 11 e 7 giorni dalla somministrazione). La bassa frequenza di eventi clinici riferibili alla progressione di malattia (ospedalizzazioni o visite mediche nelle successive 4 settimane dalla somministrazione) rilevati nei bracci placebo conferma che tali studi non abbiano una potenza adeguata a stimare in modo affidabile l'efficacia relativamente a tale endpoint clinico.

EMA non ha ancora espresso parere favorevole ed ha iniziato da poco l'iter di valutazione per l'approvazione. Tali evidenze preliminari (riduzione del numero di ospedalizzazioni e visite mediche) devono essere confermate da studi con una dimensione campionaria adeguata ed un disegno di studio appropriato di fase 3, condotti su pazienti in fase precoce di malattia, nell'ipotesi che la somministrazione di anticorpi monoclonali sia massimamente efficace prima dell'attivazione di una risposta immunitaria aberrante.

2.2 OBIETTIVO DELLO STUDIO

Il presente studio è un trial di fase 3, multicentrico, randomizzato con disegno adattativo, volto a verificare l'efficacia di bamlanivimab 700 mg e casirivimab/imdevimab (1200 mg/1200 mg) somministrati ad uno stadio precoce (entro 4 giorni dalla comparsa dei sintomi) di COVID-19 (stadio sintomatico senza necessità di supplementazione di ossigeno o ricovero ospedaliero) nel prevenire la progressione della malattia (necessità di supplementazione di ossigeno-terapia e/o ricovero ospedaliero e/o decesso) in pazienti di età superiore a 50 anni non inclusi nei criteri di somministrazione indicati da AIFA.

- La fascia d'età superiore o uguale a 50 anni è stata identificata in quanto in tale fascia si concentra il 98.9% dei decessi per COVID-19 in Italia (fonte Istituto Nazionale di Statistica, ISTAT).
- La selezione dei pazienti senza fattori di rischio è stata basata sulla valutazione di eticità e fattibilità dello studio a seguito dell'approvazione degli anticorpi monoclonali inclusi nello studio in Italia. L'approvazione di tali farmaci per le categorie a rischio di progressione renderebbe *non etica* l'offerta al paziente
- I trattamenti sperimentali sono stati selezionati in base alle evidenze scientifiche al momento disponibili.
- L'associazione bamlanivimab/etesevimab non è stata presa in considerazione perché i risultati pubblicati finora non hanno evidenziato un chiaro vantaggio in termini di progressione di malattia rispetto all'utilizzo di bamlanivimab 700 mg.

Sulla base dei risultati di analisi ad interim, il disegno di studio adattativo consentirà l'eventuale introduzione di bracci sperimentali aggiuntivi che valutino nuovi anticorpi monoclonali anti-SARS-CoV-2, selezionati in base alle più aggiornate evidenze scientifiche rispetto al momento di sviluppo di questo protocollo.

2.3 Impatto sul Sistema Sanitario Nazionale (SSN) e trasferibilità dei risultati

In Italia, gli effetti della rapida disseminazione della infezione da Sars-CoV-2 hanno provocato una situazione di allarme sanitario fin dalla dichiarazione dello stato di emergenza del 31 gennaio 2020. L'impatto della pandemia sul SSN è stato drammatico a più livelli: strutture ospedaliere, medicina di comunità, residenze protette per anziani, accesso alla diagnostica e al trattamento semi-intensivo ed intensivo, in un Paese dove la disponibilità di posti letto per terapia intensiva è circa la metà di quelli disponibili in Francia e meno di un terzo di quelli della Germania. Importante notare che il 22% della popolazione italiana ha più di 65 anni ed il 7% più di 80 anni con una percentuale di comorbidità che aumenta progressivamente con l'età (fonte Istituto Nazionale di Statistica, ISTAT). Questa composizione peculiare della popolazione ha ulteriormente aggravato la letalità associata alla infezione da SARS-CoV-2 osservata in Italia. Il SSN ha dovuto fare fronte inoltre all'urgenza di reperire risorse umane adeguate a gestire l'aumentata complessità del sistema non solo in ospedale ma anche sul territorio. Per questo motivo sono state attivate specifiche centrali operative regionali, dotate di apposito personale e di apparecchiature per il telemonitoraggio e la telemedicina ed è stata potenziata l'assistenza domiciliare integrata con la finalità di intensificare le prestazioni sanitarie domiciliari, diminuendo il ricorso a forme di assistenza e cura istituzionalizzate (lungodegenze). Nell'ottica di diminuire il peso degli accessi nelle strutture ospedaliere (per ridurre l'impatto anche sui ricoveri non-COVID) sono state istituite Unità Speciali di Continuità Assistenziale per la gestione domiciliare dei pazienti affetti da COVID-19 senza necessità di ricovero ospedaliero.

Purtroppo, nonostante nelle ultime due settimane il numero dei ricoveri ospedalieri si sia ridotto in maniera sostanziale nella quasi totalità delle regioni italiane, il numero di nuove infezioni da SARS-CoV-2 è ancora talmente elevato da non permettere un ritorno ad una gestione pre-COVID dei pazienti afferenti al SSN con importanti retrazioni dei servizi erogati e conseguenti ripercussioni negative sulla qualità delle cure sia dei pazienti affetti da COVID-19 non ospedalizzati che dei pazienti affetti da altre patologie. L'effetto dell'introduzione progressiva delle strategie di vaccinazione di massa, strettamente dipendenti dalla disponibilità dei vaccini dalle case farmaceutiche produttrici, non può essere stimato nel breve periodo, anche a causa di un progressivo incremento degli isolamenti di varianti virali in numerose regioni italiane il cui impatto sulla disseminazione di varianti non è al momento noto.

In questa situazione di incertezza epidemiologica le esigenze più urgenti per il SSN sono:

- impedire ai pazienti con COVID-19 lieve di progredire verso malattie gravi/critiche, per alleggerire l'impatto dei ricoveri sugli ospedali e ridurre la letalità;
- abbreviare i tempi di possibile contagiosità dei pazienti positivi (sintomatici ed asintomatici) al fine di ridurre l'infettività individuale ed il numero medio di casi secondari.

Lo studio MANTICO è stato disegnato per produrre evidenze scientifiche che possano rispondere a queste due esigenze. Nello studio randomizzato sarà valutata l'efficacia di due anticorpi monoclonali per prevenire l'evoluzione del COVID-19 verso la forma grave e la loro capacità di ridurre il tempo medio di negativizzazione dei tamponi molecolari. Questi obiettivi hanno un potenziale impatto di COVID-19 sul SSN a tre livelli:

- (a) prevenzione della progressione del COVID-19 verso una forma severa/grave che necessiti della ospedalizzazione o del trattamento domiciliare con ossigeno-terapia riducendo quindi l'impatto sulle strutture ospedaliere (disponibilità di posti letto in aree COVID dedicate e non COVID);
- (b) definizione di uno standard di cura per i casi di COVID-19 da lieve a moderato nei pazienti con più di 50 anni senza fattori di rischio maggiori per forme a prognosi infauste che non richiedono ospedalizzazione all'inizio della sintomatologia;
- (c) produrre protocolli di gestione domiciliare integrata dei pazienti con sintomi lievi-moderati ospedaliere e domiciliare dei pazienti;

(d) fornire evidenze sulla tempistica della negativizzazione dei tamponi molecolari a seguito di terapia con anticorpi monoclonali che possano supportare lo sviluppo di documenti di prevenzione della trasmissione nei soggetti trattati a domicilio.

I dati dello studio MANTICO dovrebbero inoltre essere integrati con i dati osservazionali del registro AIFA per la prescrizione degli anticorpi monoclonali in particolare se a tale registro verrà aggiunta la documentazione dello stato del soggetto a rischio (secondo i criteri indicati da AIFA) a 14 giorni dalla somministrazione degli anticorpi monoclonali.

3 DISEGNO DELLO STUDIO

Trial adattativo di gruppo-sequenziale di fase 3, randomizzato in singolo cieco, controllato con placebo, multicentrico, volto a valutare l'efficacia di anticorpi monoclonali neutralizzanti umani per il trattamento di pazienti non ospedalizzati di almeno 50 anni, affetti da COVID-19 in una fase precoce dell'infezione (entro 4 giorni dall'esordio dei sintomi). Questo disegno consente, sulla base dei risultati di analisi intermedie (analisi ad interim) da realizzarsi in momenti prefissati dello studio, l'interruzione precoce della sperimentazione per ragioni di sicurezza, futilità o per manifesta efficacia di un trattamento sperimentale. Essendo al momento previsti due bracci, i risultati delle analisi intermedie consentiranno di proseguire l'arruolamento di entrambi i gruppi sperimentali o di terminarne uno o entrambi.

3.1 Randomizzazione

Tutti i partecipanti saranno assegnati in modo casuale ed in egual misura nel braccio di controllo e in ciascuno di due bracci sperimentali (1:1:1). La lista di randomizzazione sarà effettuata sulla base di blocchi permutati con apposita procedura per garantire un arruolamento uniforme rispetto ai centri partecipanti e conferire maggiore validità estrinseca ai risultati dello studio. La gestione della randomizzazione avverrà mediante una piattaforma interattiva (REDCap®), già utilizzata per la randomizzazione dello studio OMS SOLIDARITY coordinato dal centro coordinatore di questo studio, che consentirà anche per questo studio il monitoraggio puntuale dell'arruolamento e le eventuali deviazioni in modo da correggerle in tempo reale.

3.2 Controllo con placebo in singolo cieco

I partecipanti, a differenza dello sperimentatore e del personale del centro sperimentatore autorizzato a collaborare alla realizzazione dello studio, non saranno a conoscenza del braccio di studio assegnato dalla randomizzazione. Per tale motivo sarà somministrato un placebo rispettando le stesse procedure ed utilizzando gli stessi strumenti dei bracci sperimentali. Allo sperimentatore ed a tutto il personale autorizzato a partecipare allo studio non sarà consentito rivelare il tipo di trattamento somministrato al partecipante in alcun momento dello studio. Le procedure di preparazione sia del trattamento in studio che del placebo non saranno effettuate in presenza del paziente. Specifici flowchart procedurali saranno sviluppati per controllare la corretta implementazione delle procedure. Particolare attenzione sarà posta al monitoraggio dell'infusione, dell'immediato post-infusione ed al successivo follow-up, in modo tale da effettuare procedure standardizzate che garantiscano la cecità del partecipante.

La scelta della somministrazione del placebo è essenziale per minimizzare il rischio di dropout. Lo studio senza placebo presenterebbe, infatti, un alto rischio che numerosi pazienti con forma lieve/moderata siano persi al follow up. Un rapporto di monitoraggio settimanale sarà protodotto dal centro coordinatore sulla base dei dati inseriti nel sistema di data capturing (RedCap) ed inviato ad ogni centro partecipante. Sulla base del report, una teleconferenza sarà organizzata dal centro coordinatore in modo da chiarire in tempo reale le incongruenze ed intervenire tempestivamente in caso di necessità.

4 POPOLAZIONE IN STUDIO

4.1 Criteri di inclusione

Sono da considerarsi idonei all'inclusione nello studio, partecipanti che rispondono ai seguenti criteri:

- Età ≥ 50 anni
- Consenso informato del partecipante o del suo rappresentante legale

- Prima diagnosi di infezione da SARS-CoV-2 mediante ricerca su tampone naso-faringeo eseguito non più di 4 giorni prima della somministrazione dei trattamenti sperimentali (sono considerati validi sia test molecolari che test antigenici di terza generazione)
- Saturazione di ossigeno $\geq 94\%$ in aria ambiente
- Comparsa di almeno un sintomo non più di 4 giorni prima della somministrazione dei trattamenti sperimentali. Il momento della comparsa dei sintomi è definito come il momento in cui il paziente ha manifestato la comparsa di almeno uno tra i seguenti sintomi associati all'infezione da SARS-CoV-2 (FDA, Settembre 2020)
 - Congestione o ostruzione nasale
 - Tosse
 - Faringodinia
 - Temperatura corporea $\geq 37.3^{\circ}\text{C}$
 - Mialgie
 - Astenia
 - Cefalea
 - Anosmia o ageusia
 - Nausea o vomito
 - Diarrea

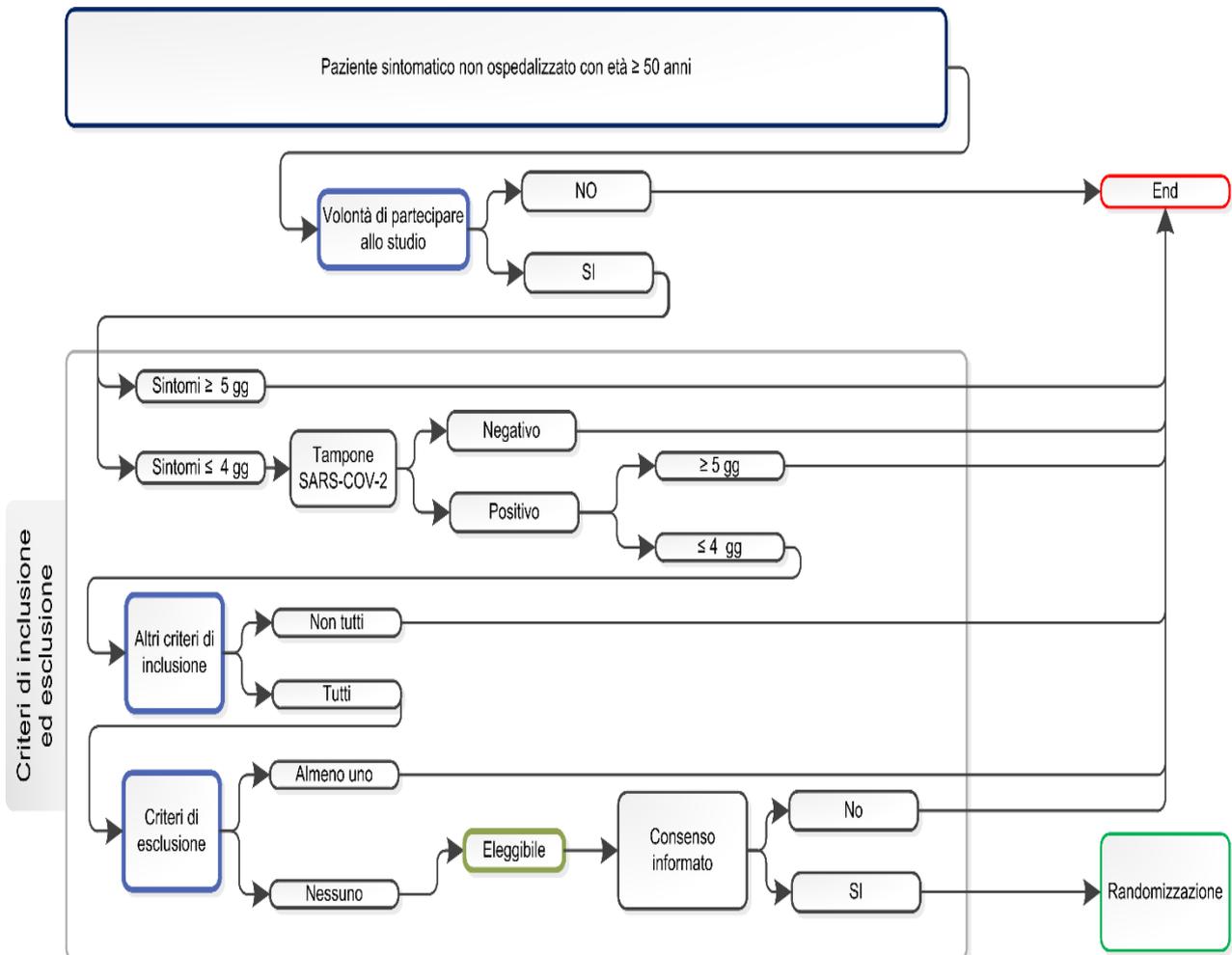
4.2 Criteri di esclusione

- Criteri di AIFA per l'utilizzo degli anticorpi monoclonali (le definizioni dei criteri potranno essere modificate prima dell'inizio dello studio sulla base di nuove comunicazioni di AIFA per la definizione di tali criteri)
 - Body Mass Index (BMI) ≥ 30
 - Malattia renale cronica (stadio 4 e 5 classificazione KDIGO: Velocità di Filtrazione Glomerulare (VFG) $< 30 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ [formula MDRD o CKD-EPI] o presenza di danno renale, anche in assenza di VFG $< 30 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ in paziente trapiantato o documentato da biopsia renale o dalla presenza di proteinuria, alterazioni del sedimento urinario o alterazioni ai test di diagnostica per immagini del rene)
 - Diabete non controllato (paziente diabetico insulino-trattato con complicanze neurologiche, renali, oculari in rapida evoluzione; vasculopatia cerebrale, coronarica, periferica clinicamente significativa; piede diabetico, neuropatie periferiche e disfunzioni erettile, dislipidemie severe non controllate)
 - Immunodeficienze primitive (malattie congenite causate da alterazioni del sistema immunitario che comportano una aumentata suscettibilità alle infezioni quali immunodeficienza comune variabile, carenza di IgA, ipogammaglobulinemia transitoria infantile, agammaglobulinemia legata al cromosoma X, candidosi mucocutanea cronica, sindrome di DiGeorge, sindrome linfoproliferativa legata al cromosoma X, atassia-teleangectasia, sindrome da ipergammaglobulinemia E, immunodeficienza combinata grave, sindrome di Wiskott-Aldrich, malattia granulomatosa cronica, sindrome di Chédiak-Higashi, neutropenia ciclica, deficit di adesione leucocitaria, carenza dell'inibitore del componente del complemento C1, carenza di C3, C5-C9)
 - Immunodeficienze secondarie (causate da infezioni virali [HIV, HBV, HCV] o terapie immunosoppressive per il trattamento di neoplasie o patologie reumatologiche)
 - Malattia cardio-cerebrovascolare (infarto acuto del miocardio, angina pectoris, ictus ischemico ed emorragico, insufficienza cardiaca, fibrillazione atriale, ipertensione con concomitante danno d'organo) **nel paziente con almeno 55 anni di età**
 - BPCO e/o altre malattie respiratorie croniche (asma moderata e grave – FEV1 $< 80\%$, predetta variabilità PEF $> 30\%$; sindrome da apnee ostruttive del sonno; bronchiectasie) **nel paziente con almeno 55 anni di età**
- Ospedalizzazione o necessità di ospedalizzazione al momento dell'arruolamento nello studio (la residenza presso una casa di riposo o residenza protetta non costituisce un criterio di esclusione)
- Frequenza respiratoria ≥ 25 atti respiratori/minuto

- Frequenza cardiaca ≥ 125 battiti al minuto
- Saturazione di ossigeno periferica $\leq 93\%$ in aria ambiente o fabbisogno di ossigeno-terapia supplementare rispetto alla norma del paziente
- Allergia nota a qualsiasi dei componenti usati per la formulazione del prodotto in studio
- Infezione batterica, fungina, virale (oltre a SARS-CoV-2) o di altra natura, sospetta o confermata, di entità tale da costituire un potenziale motivo di ricovero nei successivi 30 giorni
- Qualsiasi comorbidità che richieda un intervento chirurgico entro 7 giorni o che costituisca un reale pericolo di vita entro 90 giorni dalla somministrazione dei trattamenti in studio
- Precedenti test sierologici positivi per SARS-CoV-2
- Test positivi per SARS-CoV-2 precedenti a quello considerato criterio di inclusione per questo studio
- Precedenti trattamenti con anticorpi monoclonali specifici per SARS-CoV-2
- Precedente somministrazione di plasma convalescente per SARS-CoV-2
- Precedente vaccinazione anti-SARS-CoV-2
- Partecipazione entro i precedenti 30 giorni, ad uno studio clinico che prevedeva la somministrazione di un trattamento sperimentale
- Personale direttamente coinvolto con il presente studio
- Gravidanza e allattamento
- Donne in età fertile o uomini sessualmente attivi che rifiutano di praticare metodi contraccettivi efficaci per almeno 6 mesi dalla somministrazione dei trattamenti in studio
- Impossibilità di tipo logistico/organizzativa a seguire il protocollo durante il follow-up

La figura 1 sintetizza i criteri per l'arruolamento allo studio.

Figura 1 – Flowchart per l'arruolamento nello studio



5 INTERVENTO

5.1 TRATTAMENTI SPERIMENTALI

Lo studio si compone di 2 bracci sperimentali, 420 partecipanti saranno arruolati per ciascun braccio. I trattamenti sperimentali (IMP) valutati inizialmente saranno bamlvanimab e casirivimab/imdevimab (vedi Tabella 1).

▪ BAMLANIVIMAB

Ciascun paziente riceverà una singola somministrazione di bamlanivimab 700 mg tramite infusione endovenosa nell'arco di un'ora. Bamlanivimab 700 mg/20 mL è una soluzione acquosa sterile, priva di conservanti, tendenzialmente incolore e trasparente, da diluire in una sacca di 250 mL di soluzione fisiologica (0.9% cloruro di sodio) sterile monouso.

Allestimento. Prelevare dalla sacca di soluzione fisiologica (0.9% cloruro di sodio) 20 mL ed eliminarli. Successivamente, trasferire 20 mL di bamlvanimab nella medesima sacca. Bamlanivimab diluito deve essere privo di qualsiasi particolato visibile: utilizzare nuove fiale di IMP e sacche per flebo se presente particolato visibile. Aggiungere alla linea di infusione un filtro sterile da 0.20/0.22 µm. Infondere nell'arco di un'ora.

Conservazione. Le fiale di bamlvanimab ancora sigillate possono essere conservate nella confezione originale a temperatura refrigerata (2-8°C), lontano da fonti luminose. Bamlvanimab già diluito in soluzione può essere conservato per un massimo di 24 ore a temperatura refrigerata (2-8°C) o fino a 7 ore a temperatura ambiente (20-25°C), incluso il tempo necessario all'infusione endovenosa.

▪ CASIRIVIMAB/IMDEVIMAB

Ciascun paziente riceverà una singola somministrazione di casirivimab 1200mg + imdevimab 1200 mg tramite infusione endovenosa nell'arco di un'ora. Casirivimab e imdevimab sono entrambi forniti come singole fiale. Entrambe sono soluzioni acquose sterili, prive di conservanti, tendenzialmente incolore e trasparente, da diluire in un'unica sacca di 250 mL di soluzione fisiologica (0.9% cloruro di sodio) sterile monouso. Casirivimab è disponibile in soluzione acquosa sterile in due dosaggi: 300 mg/2.5 mL (120 mg/mL) o 1332 mg/11.1 mL (120 mg/mL); entrambe le formulazioni sono da diluire prima della somministrazione. Imdevimab è disponibile in soluzione acquosa sterile in due dosaggi: 300 mg/2.5 mL (120 mg/mL) o 1332 mg/11.1 mL (120 mg/mL); entrambe le formulazioni sono da diluire prima della somministrazione.

Allestimento. Prelevare dalla sacca di soluzione fisiologica (0.9% cloruro di sodio) 20 mL ed eliminarli. Successivamente, trasferire 10 mL di casirivimab e 10 mL di imdevimab nella medesima sacca. La diluizione di casirivimab/imdevimab deve essere priva di qualsiasi particolato visibile: utilizzare nuove fiale di IMP e sacche per flebo se presente particolato visibile. Aggiungere alla linea di infusione un filtro sterile da 0.20/0.22 µm. Infondere nell'arco di un'ora.

Conservazione. Le fiale di casirivimab e imdevimab ancora sigillate possono essere conservate nella confezione originale a temperatura refrigerata (2-8°C), lontano da fonti luminose. Soluzioni già pronte di casirivimab e imdevimab possono essere conservate refrigerate (2-8°C) per non più di 36 ore e a temperatura ambiente (20-25°C) per non più di 4 ore, incluso il tempo necessario alla somministrazione endovena.

Le istruzioni per la preparazione saranno fornite in dettaglio dallo Sponsor.

Lo sperimentatore dovrà confermare che entrambe gli IMP siano stati conservati a temperature adeguate durante il trasferimento. Qualsiasi discrepanza sarà segnalata e risolta prima dell'utilizzo dei farmaci in studio.

Tutti gli IMP ricevuti saranno conservati in un'area sicura, a temperatura controllata e monitorata in conformità con le condizioni di conservazione previste per tali IMP, e con accesso ristretto solo al personale autorizzato del centro sperimentatore. Solo i partecipanti arruolati nello studio riceveranno IMP e solo il personale autorizzato del centro sperimentatore sarà autorizzato a somministrarlo. Lo sperimentatore sarà responsabile della rendicontazione di entrambe gli IMP, conservando e tracciando la relativa

documentazione. Eventuali indicazioni su come disporre dei trattamenti inutilizzati saranno fornite dallo Sponsor.

5.2 BRACCIO DI CONTROLLO

420 partecipanti saranno arruolati nel braccio di controllo.

Lo *standard of care* (SoC) non prevede alcuna terapia specifica anti-SARS-CoV-2 nei pazienti che soddisfano i criteri di inclusione nello studio al momento della somministrazione di IMP, essendo le assunzioni sia di remdesivir che di terapia steroidea indicate solo in caso di necessità di ossigeno-terapia, criterio di esclusione dal presente studio. L'eventuale assunzione di terapia sintomatica (ad esempio acetaminofene, anti-infiammatori non steroidei) è ammessa nei limiti della posologia massima giornaliera indicata. Non è ammessa, quale terapia sintomatica, l'assunzione di anti-infiammatori steroidei. In caso di progressione di COVID-19 o di altre patologie intercorrenti nei giorni successivi alla somministrazione dei trattamenti sperimentali o del placebo, durante il follow-up, sarà proposto al paziente lo SoC, secondo le raccomandazioni delle più aggiornate linee guida al tempo della consultazione.

Ciascun paziente riceverà, quale placebo, una singola infusione intravenosa di 250 mL di soluzione sterile di cloruro di sodio 0.9%, da somministrare nell'arco di un'ora, in modo tale da garantire il cieco.

Allestimento del trattamento inerte (placebo): utilizzare una sacca di soluzione salina fisiologica (0.9% cloruro di sodio) sterile monouso. Aggiungere alla linea di infusione un filtro sterile da 0.20/0.22 µm. Infondere nell'arco di un'ora.

Tabella 1 – Bracci di studio

BRACCIO	BAMLANIVIMAB	CASIRIVIMAB/IMDEVIMAB	PLACEBO
Tipo	Trattamento in studio	Trattamento in studio	Placebo
Formulazione	Soluzione acquosa sterile	Soluzione acquosa sterile	Soluzione acquosa sterile
Concentrazione	700 mg/20mL	2 dosaggi, entrambe sia per casirivimab che per imdevimab: 300 mg/2.5 mL (1) e 1332 mg/11.1 mL (2)	Soluzione di cloruro di sodio 0.9%
Dosaggio	700 mg in 250 mL di soluzione di cloruro di sodio 0.9%	1200mg/1200mg in 250 mL di soluzione di cloruro di sodio 0.9%	250 mL di soluzione di cloruro di sodio 0.9%
Via di somministrazione	Endovena	Endovena	Endovena
Utilizzo	Sperimentale	Sperimentale	Braccio di controllo
Fonte	Fornito dallo Sponsor e inviato al Centro Sperimentale dal Centro Coordinatore	Fornito dallo Sponsor e inviato al Centro Sperimentale dal Centro Coordinatore	Soluzione di cloruro di sodio disponibile in commercio
Confezionamento ed etichettature	Il trattamento sarà fornito in fiale sterili monouso, opportunamente etichettate dal Centro Coordinatore	Il trattamento sarà fornito in fiale sterili monouso, opportunamente etichettate dal Centro Coordinatore	

5.3 TERAPIE CONCOMITANTI

Non vi sono limitazioni all'assunzione di terapie concomitanti, non essendo note significative interazioni cliniche di casirivimab + imdevimab o bamvianivimab con terapie concomitanti. Tutte le terapie concomitanti saranno registrate in un *electronic Case Report Form* (eCRF) appositamente creato per lo

studio. La terapia eventualmente avviata in caso di progressione di COVID-19 o di altre patologie intercorrenti nel periodo di follow-up sarà registrata in eCRF.

6 OBIETTIVI ED ENDPOINT

La tabella 2 enuncia obiettivi ed endpoint dello studio.

Tabella 2 – Obiettivi ed endpoint dello studio

Obiettivi	Endpoint
Primari	
Confrontare l'efficacia dei trattamenti sperimentali rispetto al placebo sulla progressione di COVID-19 in pazienti non ospedalizzati di almeno 50 anni	Progressione di malattia COVID-19, definita come (1) ricovero in ospedale (come definito nei criteri riportati al paragrafo 8.10) oppure (2) fabbisogno di ossigeno-terapia supplementare a domicilio oppure (3) decesso, entro 14 giorni dalla randomizzazione
Secondari	
Confrontare l'efficacia dei trattamenti sperimentali rispetto al placebo in merito ad altri endpoint clinici rilevanti	<ul style="list-style-type: none"> • Numero di accessi effettuati in Pronto Soccorso senza ospedalizzazione seguente entro 28 giorni dalla randomizzazione • Durata ossigeno-terapia supplementare entro 90 giorni dalla randomizzazione • Durata dell'eventuale ricovero ospedaliero entro 90 giorni dalla randomizzazione • Fabbisogno di ventilazione non invasiva entro 28 giorni dalla randomizzazione • Durata della ventilazione non invasiva entro 90 giorni dalla randomizzazione • Fabbisogno di ventilazione meccanica entro 28 dalla randomizzazione • Durata della ventilazione meccanica entro 90 giorni dalla randomizzazione • Mortalità a 28 e 90 giorni dalla randomizzazione
Confrontare l'efficacia dei trattamenti sperimentali rispetto al placebo in merito ad endpoint laboratoristici	Variazioni dei seguenti parametri ematochimici a 7/14/28 giorni dalla randomizzazione: <ul style="list-style-type: none"> • Creatinina ($\mu\text{mol/L}$) • ALT, Aspartato aminotrasferasi (U/L) • ALP, Fosfatasi alcalina (U/L) • Amilasi (U/L) • Bilirubina totale ($\mu\text{mol/L}$) • D-dimero ($\mu\text{g/L}$) • Glucosio (mmol/L) • Ferritina ($\mu\text{g/L}$) • LDH, Lattato deidrogenasi (U/L) • Sodio (mmol/L) • Potassio (mmol/L) • CRP, Proteina C Reattiva (mg/L) • Procalcitonina (ng/mL) • Emoglobina (g/dL) • Leucociti ($\times 10^9/\text{L}$) • Neutrofili ($\times 10^9/\text{L}$)

	<ul style="list-style-type: none"> • Linfociti (x 10⁹/L) • Piastrine (x 10⁹/L)
Confrontare l'efficacia dei trattamenti sperimentali rispetto al placebo in merito ad endpoint sierologici	Dosaggio sierico di anticorpi anti-SARS-CoV-2 a 7/14/28 giorni dalla randomizzazione
Confrontare l'efficacia dei trattamenti sperimentali rispetto al placebo in merito alla negativizzazione del tampone naso-faringeo per la ricerca di SARS-CoV-2	Negatività della ricerca di SARS-CoV-2 mediante tampone molecolare naso-faringeo (PCR) a 7/14/21/28/90 giorni dalla randomizzazione
Confrontare l'efficacia dei trattamenti sperimentali rispetto al placebo relativamente agli endpoint riportati dai pazienti	<ul style="list-style-type: none"> • Durata della febbre entro 90 giorni dalla randomizzazione • Durata dei sintomi entro 90 giorni dalla randomizzazione. • Giorni di astensione lavorativa (incluso smart working) entro 90 giorni dalla randomizzazione (solo in caso di occupazione lavorativa) • Misurazione della qualità di vita associata allo stato di salute mediante la somministrazione del questionario <i>EuroQuol - five domain questionnaire - five level response</i> (EQ-5D-5L) e <i>EuroQuol-Visual Analog Scale</i> (EQ-VAS) al giorno 7/14/28/90 dalla randomizzazione
Confrontare i trattamenti sperimentali rispetto al placebo in merito all'insorgenza di eventi avversi	Eventi avversi che conducono all'interruzione dell'infusione del farmaco o eventi avversi gravi

7 ASPETTI ORGANIZZATIVI E ANALISI DI FATTIBILITÀ

7.1 Reclutamento dei centri partecipanti

La rete nazionale già definita dei centri partecipanti allo studio è costituita sulla base del network per pazienti con COVID-19 consolidato dal trial *Solidarity* (Sponsor OMS) (WHO, 2020). I centri già inclusi sono 17 e sono stati selezionati all'interno della rete di Solidarity sulla base dei risultati di un questionario di fattibilità e successivo colloquio con i responsabili dei centri.

Il questionario di fattibilità per lo studio MANTICO, per valutare la capacità organizzativa e la fattibilità dello studio a livello locale, include la valutazione dei seguenti aspetti epidemiologici ed organizzativi:

- Numero di soggetti con infezione da SARS-CoV-2 registrati nella provincia /Regione
- Esistenza di una rete di collaborazione e correlate procedure tra il centro ospedaliero ed i Medici di Medicina Generale
- Organizzazione del Pronto Soccorso nella valutazione dei pazienti con infezione da SARS-CoV-2 e sintomatologia lieve
- Presenza di Unità Speciali di Continuità Assistenziale (USCA)
- Possibilità di follow-up dei pazienti con infezione da SARS-CoV-2
- Rete infettivologica con altri Centri della stessa Regione attiva

I centri già inclusi garantiscono la capiacità di arruolamento e follow up secondo il protocollo di studio e, sulla base del numero di casi registrati nella seconda settimana di febbraio 2021, garantiscono il raggiungimento del campione stimato.

Al fine di garantire la possibilità di partecipare allo studio a tutti i centri interessati a livello nazionale, il Centro Coordinatore pubblicherà una *call for interest* della durata di una settimana dalla data di approvazione dello studio da parte dello Sponsor. I centri interessati compileranno il questionario e saranno selezionati, previo colloquio con il Coordinatore Regionale, con l'obiettivo cardine di garantire una

distribuzione omogenea e rappresentativa di tutto il territorio nazionale, anche sulla base della evoluzione epidemiologica della pandemia nelle singole Regioni, come mostrato in Figura 2. Il Coordinatore Regionale sarà responsabile dell'inclusione di nuovi centri regionali, previa valutazione mediante questionario di fattibilità e colloquio, e in accordo con il Centro Coordinatore. Il Coordinatore Regionale garantisce, inoltre, la distribuzione del farmaco a livello regionale.

Figura 2 – Distribuzione dei centri già coinvolti nello studio



7.2 Training dello staff dei siti di arruolamento

Il personale medico-infermieristico coinvolto nell'arruolamento e nella somministrazione farmaco/placebo con il relativo follow-up sarà coinvolto in uno specifico training finalizzato a garantire che tutte le procedure previste dallo studio siano realizzate correttamente. Il training, effettuato da uno o più ricercatori appartenenti al centro sperimentatore principale, prevederà l'uso di materiali didattici audio-visivi con la possibilità di simulazioni per testare l'apprendimento ed il rispetto delle procedure dello studio in tutte le sue fasi (dalla raccolta del consenso informato, alla somministrazione del trattamento fino alla conclusione del follow-up). In caso di necessità sarà anche data la possibilità di un ri-training a nuovi operatori nel caso lo staff locale di qualche centro arruolante avesse la necessità essere riassegnato ad altre mansioni. Il personale originariamente assegnato al progetto sarebbe quindi immediatamente sostituito da personale formato velocemente e la sperimentazione non subirebbe ritardi. In considerazione dell'uso di RedCap® per la raccolta elettronica dei dati, un operatore per ogni centro verrà formato per realizzare tutte le operazioni di monitoraggio del data entry e data checking. In considerazione del disegno dello studio di tipo adattivo il cleaning dei dati avverrà su base settimanale e questo consentirà di avere in tempo reale un database sempre analizzabile.

Al fine di mantenere un adeguato flusso informativo, il centro coordinatore garantirà l'invio mensile di una newsletter con le informazioni relative al progetto, all'arruolamento ed alle occasioni di ri-training per i

centri che ne avessero bisogno. Un rapporto di monitoraggio settimanale sarà prodotto dal centro coordinatore sulla base dei dati inseriti nel sistema di data capturing ed inviato ad ogni centro partecipante. Sulla base dei rapporti, teleconferenze saranno organizzate dal centro coordinatore in modo da chiarire in tempo reale le incongruenze ed intervenire tempestivamente in caso di necessità per garantire un dataset analizzabile in occasione delle riunioni del comitato direttivo (Sezione 12).

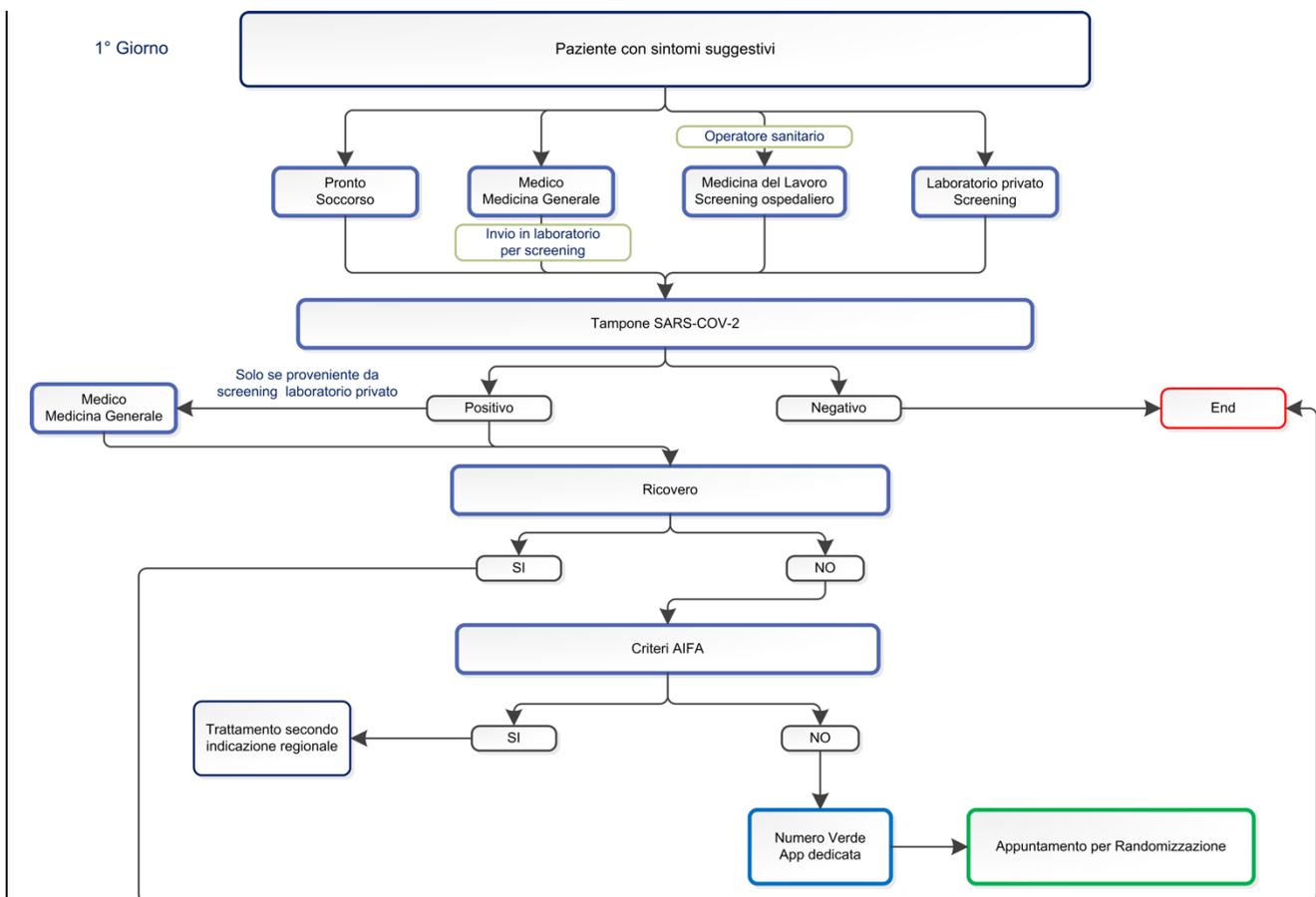
7.3 Organizzazione arruolamento pazienti: analisi di fattibilità

Si stima che circa 1200 pazienti saranno inclusi nello studio, con il coinvolgimento di circa 25 strutture omogeneamente distribuite sul territorio italiano (circa 40-90 pazienti a centro; 1-4 partecipanti al giorno per 8 settimane).

Il reclutamento dei partecipanti avverrà tramite il supporto di (1) Medici di Medicina Generale, (2) Centri di medicina del lavoro, (3) Pronto Soccorso, (4) Centri ambulatoriali privati dove si esegue il test per la ricerca di SARS-CoV-2, come indicato in Figura 3.

I responsabili di ogni singolo centro partecipante allo studio dovranno arruolare i partecipanti garantendo a tutti lo stesso standard di cura e uguali opportunità di partecipazione allo studio.

Figura 3 – Flowchart per il reclutamento dei partecipanti



7.3 Trasporto dei pazienti

Qualora il partecipante non possa raggiungere con mezzi propri l'ambulatorio ospedaliero per motivi clinici o logistico-organizzativi, sarà offerto un servizio di trasporto per effettuare la visita di screening/baseline, nonché l'eventuale somministrazione di IMP/placebo, presso l'ambulatorio ospedaliero. Tale servizio sarà garantito per consentire la partecipazione allo studio a tutti i soggetti che soddisfino i criteri di inclusione/esclusione.

8 PROCEDURE DELLO STUDIO (SoA)

Le procedure dello studio e la loro tempistica di esecuzione sono riassunte in Tabella 3. L'aderenza al protocollo dello studio è essenziale, pertanto non sono consentite deroghe.

8.1 Screening della volontà di partecipare allo studio (giorno 1)

Ad ogni paziente con i criteri di inclusione e potenzialmente interessato alla partecipazione allo studio sarà chiesto di esprimere il proprio interesse ad essere arruolato nello studio. Per ogni paziente contattato, sarà registrato l'interesse alla partecipazione allo studio o il diniego. Ai pazienti che hanno espresso la volontà di adesione saranno fornite informazioni dettagliate sullo studio (modulo informativo per il paziente) e si raccoglierà la firma al consenso informato come specificato nel paragrafo successivo.

8.2 Screening per l'arruolamento (giorno 1)

Durante lo screening, devono essere espletate tutte le valutazioni per confermare che la/il potenziale partecipante soddisfi tutti i criteri di inclusione/esclusione dello studio. Lo sperimentatore compilerà un registro di tutti i partecipanti sottoposti a screening per confermarne l'idoneità o segnalare le ragioni della mancata inclusione. Come specificato nei criteri di inclusione ed esclusione, saranno effettuate le seguenti valutazioni e si registreranno i relativi risultati:

- Data di nascita, confermata da un documento di identità o sanitario
- Data del primo test positivo per la ricerca di SARS-CoV-2 su tampone naso-faringeo, confermata da certificazione cartacea o elettronica
- Saturazione periferica di ossigeno in aria ambiente (%)
- Fabbisogno di ossigeno supplementare
- Data di comparsa dei seguenti sintomi:
 - Congestione o ostruzione nasale
 - Tosse
 - Faringodinia
 - Temperatura corporea $\geq 37.3^{\circ}\text{C}$
 - Mialgie
 - Astenia
 - Cefalea
 - Anosmia o ageusia
 - Nausea o vomito
 - Diarrea
- Necessità di ospedalizzazione al momento dell'arruolamento nello studio
- Indicazione a ricevere i trattamenti sperimentali (bamlanivimab 700 mg e casirivimab/imdevimab 1200 mg/1200 mg) in base ai criteri pubblicati da AIFA/Commissione Tecnico-Scientifica in data 04/02/2021 e riportati in Appendice 1 (AIFA, 2021). Tale criterio sarà rivalutato in funzione di ulteriori aggiornamenti alle indicazioni di AIFA al momento dello studio.
- Frequenza respiratoria
- Frequenza cardiaca
- Allergia nota a qualsiasi dei componenti usati per la formulazione del prodotto in studio
- Infezione batterica, fungina, virale (oltre a SARS-CoV-2) o di altra natura, sospetta o confermata, di entità tale da costituire un potenziale motivo di ricovero nei successivi 30 giorni
- Qualsiasi comorbidità che richieda un intervento chirurgico entro 7 giorni o che costituisca un reale pericolo di vita entro 90 giorni dalla somministrazione dei trattamenti in studio
- Precedenti test sierologici positivi per SARS-CoV-2
- Test molecolari o antigenici da qualsiasi sede corporea positivi per SARS-CoV-2 precedenti a quello considerato criterio di inclusione per questo studio
- Precedenti trattamenti con anticorpi monoclonali specifici per SARS-CoV-2
- Precedente somministrazione di plasma convalescente per SARS-CoV-2
- Precedente vaccinazione anti-SARS-CoV-2

- Partecipazione entro i precedenti 30 giorni, ad uno studio clinico che prevedeva la somministrazione di un trattamento sperimentale
- Test di gravidanza: determinazione della presenza di gonadotropina corionica umana (HCG) nelle urine
- Allattamento
- Coinvolgimento professionale con il presente studio
- Rifiuto alla pratica di metodi contraccettivi efficaci per almeno 6 mesi dalla somministrazione dei trattamenti in studio (per donne in età fertile o uomini sessualmente attivi)
- Impossibilità logistico-organizzativa a seguire il protocollo durante il follow-up

8.3 Procedura di ottenimento del consenso informato (giorno 1)

Tutti i pazienti dovranno acconsentire allo studio attraverso il processo informativo del consenso informato. In particolare, nel modulo di consenso informato (ICF) sarà presente la possibilità di firma da parte del partecipante o del rappresentante legalmente autorizzato (LAR).

Lo Sperimentatore Principale (o un rappresentante da lui delegato) fornirà una spiegazione accurata e comprensibile di tutti gli aspetti della ricerca e risponderà a tutte le domande riguardanti lo studio, dando modo di risolvere ogni dubbio in merito alla sperimentazione e alle procedure dello studio, inclusi i rischi e i benefici.

Il consenso informato sarà firmato dal paziente (o dal LAR) che ottiene il consenso informato. Una copia dell'ICF verrà fornita al partecipante (o al LAR).

I partecipanti devono essere informati che la loro partecipazione è volontaria e revocabile in qualsiasi momento.

L'utilizzo del materiale biologico è vincolato all'accettazione esplicita da parte del paziente di un consenso, basato su un'adeguata informativa. L'ICF conterrà una sezione separata che specificherà l'uso dei campioni, relativamente alla conservazione e all'uso previsto.

Inoltre verrà specificato che i dati della ricerca e i campioni rimanenti potranno essere utilizzati per eventuali ricerche future, esplicitandone le finalità e lo specifico settore di ricerca per i quali verranno utilizzati.

Infine verrà fatto firmare il modulo "Informativa e manifestazione del consenso al trattamento dei dati personali" sarà conforme alla Legge nazionale sulla Privacy (D.Lgs. n.196/2003, e successivi emendamenti) e al Regolamento Generale per la Protezione dei Dati Personali n. 2016/679 (GDPR).

In una sezione dedicata della CRF saranno registrate le informazioni in merito all'appropriata tempistica di ottenimento del consenso informato, la natura del consenso (partecipante, LAR) e la data in cui è stato ottenuto il consenso.

8.4 Baseline (giorno 1)

Dopo aver appurato che la/il potenziale partecipante soddisfa i criteri di inclusione/esclusione dello studio, saranno raccolti e registrati i seguenti dati di baseline:

- Sesso, nazione di nascita, altezza (cm), peso (Kg), fumatore attivo o pregresso
- Anamnesi patologica remota
- Trattamenti concomitanti assunti con regolarità (esclusi farmaci assunti al bisogno)
- EQ-5D-5L e EQ-VAS
- Esame obiettivo
- Segni vitali: temperatura corporea, frequenza del polso, pressione sanguigna diastolica e sistolica, frequenza respiratoria
- Esami emato-chimici: emoglobina, conta dei leucociti, conta dei neutrofili, conta dei linfociti, conta delle piastrine, creatinina, ALT, ALP, amilasi, bilirubina totale, D-dimero, glucosio, ferritina, LDH, sodio, potassio, CRP, procalcitonina
- Elettrocardiogramma: frequenza del battito cardiaco, PR, QRS, QT, QTc

DIARIO del paziente

I partecipanti saranno istruiti sulle modalità di compilazione del diario relativamente agli endpoint riportati dai pazienti (durata della febbre, durata dei sintomi, giorni di astensione dall'attività lavorativa, EQ-5D-5L e EQ-VAS).

La **durata della febbre** si definisce come l'ultimo giorno in cui la/il partecipante ha registrato una temperatura superiore ai 38°C nel diario auto-compilato, senza l'assunzione di paracetamolo o anti-infiammatori non steroidei.

La definizione di **durata dei sintomi** si basa su una checklist di sintomi (congestione o ostruzione nasale, tosse, faringodinia, dispnea o difficoltà a respirare, mialgie, astenia, cefalea, anosmia o ageusia, nausea o vomito, diarrea), a cui la/il paziente attribuisce un punteggio in base all'intensità (FDA, Settembre 2020), riportato quotidianamente nel diario auto-compilato: assente (0), lieve (1), moderato (2) e severo (3). Il tempo di guarigione corrisponde al primo giorno in cui il paziente ha attribuito un punteggio di 0 per tutti i sintomi della checklist nelle 24 ore precedenti.

EQ-5D-5L valuta cinque dimensioni soggettive (capacità di movimento, cura della persona, attività abituali, dolore/fastidio, ansia/depressione); ogni dimensione prevede risposte graduate da 1 a 5: il livello 1 indica assenza di problemi, il livello 5 indica un'estrema limitazione. **EQ-VAS** rappresenta graficamente una scala graduata da 0 (il peggiore stato di salute possibile) a 100 (il migliore stato di salute possibile) sulla quale il soggetto indica il proprio livello percepito di salute. EQ-5D-5L ed EQ-VAS sono riportati in Appendice 2.

8.5 Randomizzazione (giorno 1)

Tutti i partecipanti saranno assegnati in modo casuale ed in egual misura nel braccio di controllo e in ciascuno di due bracci sperimentali (1:1:1). Tale assegnazione sarà generata automaticamente a blocchi permutati. La gestione della randomizzazione avverrà mediante una piattaforma interattiva (REDCap®). Prima dell'inizio dello studio, a ciascuno dei centri partecipanti saranno fornite le istruzioni necessarie per l'utilizzo della piattaforma.

8.6 Somministrazione di IMP/placebo (giorno 1)

In base al braccio di randomizzazione assegnato, sarà infuso IMP/placebo nell'arco di almeno un'ora.

8.7 Follow-up dopo due ore dal termine dell'infusione (giorno 1)

Trascorse almeno due ore dal termine dell'infusione, durante le quali il paziente sarà mantenuto in osservazione, saranno nuovamente monitorati e registrati i seguenti parametri:

- Eventi avversi riportati dal paziente
- Esame obiettivo
- Segni vitali: temperatura corporea, frequenza del polso, pressione sanguigna diastolica e sistolica, frequenza respiratoria
- Elettrocardiogramma: frequenza del battito cardiaco, PR, QRS, QT, QTc

Al paziente verranno forniti saturimetri per la valutazione della Saturazione di O₂ presso il proprio domicilio.

8.8 Follow-up telefonico giorno 2/4/10

I pazienti saranno contattati telefonicamente al giorno 2/4/10 per valutare e registrare eventuali eventi avversi riportati dal paziente con questionario dedicato.

8.9 Follow-up giorno 7 ± 2

Saranno effettuate le seguenti valutazioni e si registreranno i relativi risultati:

- Sopravvivenza
- EQ-5D-5L e EQ-VAS
- Test molecolare per la ricerca di SARS-CoV-2 su tampone naso-faringeo
- Trattamenti concomitanti assunti con regolarità (esclusi farmaci assunti al bisogno)

- Eventi avversi riportati dal paziente
- Esame obiettivo
- Segni vitali: temperatura corporea, frequenza del polso, pressione sanguigna diastolica e sistolica, frequenza respiratoria, saturazione periferica di ossigeno in aria ambiente
- Esami emato-chimici: emoglobina, conta dei leucociti, conta dei neutrofili, conta dei linfociti, conta delle piastrine, creatinina, ALT, ALP, amilasi, bilirubina totale, D-dimero, glucosio, ferritina, LDH, sodio, potassio, CRP, procalcitonina
- Esame obiettivo
- Segni vitali: temperatura corporea, frequenza del polso, pressione sanguigna diastolica e sistolica, frequenza respiratoria, saturazione periferica di ossigeno in aria ambiente
- Dosaggio sierico di anticorpi
- Elettrocardiogramma: frequenza del battito cardiaco, PR, QRS, QT, QTc

8.10 Follow-up giorno 14 ± 2

Saranno effettuate le seguenti valutazioni e si registreranno i relativi risultati:

- Sopravvivenza
- Fabbisogno di ossigeno supplementare dal giorno della randomizzazione
- Ospedalizzazione dal giorno della randomizzazione: i criteri riportati successivamente a tale elenco costituiscono una guida all'appropriatezza di un ricovero per COVID-19, ovvero motivato da un'effettiva progressione di malattia. Qualora un partecipante ospedalizzato non corrispondesse a tali criteri in modo definito, è possibile segnalare su eCRF tale discrepanza (registrando e conservando adeguata documentazione clinica/radiologica/laboratoristica a supporto)
- EQ-5D-5L e EQ-VAS
- Test molecolare per la ricerca di SARS-CoV-2 su tampone naso-faringeo (ripetuto solo in caso di persistente positività alla precedente visita di follow-up del giorno 7 ± 2)
- Trattamenti concomitanti assunti con regolarità (esclusi farmaci assunti al bisogno)
- Eventi avversi riportati dal paziente
- Esame obiettivo
- Segni vitali: temperatura corporea, frequenza del polso, pressione sanguigna diastolica e sistolica, frequenza respiratoria, saturazione periferica di ossigeno in aria ambiente
- Esami emato-chimici: emoglobina, conta dei leucociti, conta dei neutrofili, conta dei linfociti, conta delle piastrine, creatinina, ALT, ALP, amilasi, bilirubina totale, D-dimero, glucosio, ferritina, LDH, sodio, potassio, CRP, procalcitonina
- Dosaggio sierico di anticorpi
- Elettrocardiogramma: frequenza del battito cardiaco, PR, QRS, QT, QTc

Criteri per l'appropriatezza dei ricoveri in reparti di media complessità (AA.VV., 2021)

- Presenza di ipossiemia moderata (PaO₂ <60 mmHg in aria ambiente o SpO₂ ≤ 92% in aria ambiente) aumento del gradiente alveolo-arterioso di ossigeno (almeno il doppio rispetto al valore atteso)
- Dispnea a riposo o dispnea per sforzi lievi (es. difficoltà nell'eloquio)
- Punteggio *Modified Early Warning Score* (MEWS) ≥ 5
- Alterazioni dello stato del sensorio (es. confusione, cambio nel comportamento) e/o altri segni o sintomi di ipo-perfusione e/o ipossia (es. ipotensione, anuria, cianosi, sindrome coronarica acuta), sincope ripetuta

8.11 Follow-up giorno 21 ± 2 (telefonico se test molecolare per ricerca SARS-CoV-2 su tampone naso-faringeo negativo al giorno 14 ± 2)

Saranno effettuate le seguenti valutazioni e si registreranno i relativi risultati:

- Sopravvivenza
- Test molecolare per la ricerca di SARS-CoV-2 su tampone naso-faringeo (ripetuto solo in caso di persistente positività alla precedente visita di follow-up del giorno 14 ± 2)
- Eventi avversi riportati dal paziente

8.12 Follow-up giorno 28 ± 2

Saranno effettuate le seguenti valutazioni e si registreranno i relativi risultati:

- Sopravvivenza
- Fabbisogno di ventilazione non invasiva dal giorno della randomizzazione
- Fabbisogno di ventilazione meccanica dal giorno della randomizzazione
- Numero di accessi effettuati in Pronto Soccorso senza ospedalizzazione dal giorno della randomizzazione
- EQ-5D-5L e EQ-VAS
- Test molecolare per la ricerca di SARS-CoV-2 su tampone naso-faringeo (ripetuto solo in caso di persistente positività alla precedente visita di follow-up del giorno 21 ± 2)
- Trattamenti concomitanti assunti con regolarità (esclusi farmaci assunti al bisogno)
- Eventi avversi riportati dal paziente
- Esame obiettivo
- Segni vitali: temperatura corporea, frequenza del polso, pressione sanguigna diastolica e sistolica, frequenza respiratoria, saturazione periferica di ossigeno in aria ambiente
- Esami emato-chimici: emoglobina, conta dei leucociti, conta dei neutrofili, conta dei linfociti, conta delle piastrine, creatinina, ALT, ALP, amilasi, bilirubina totale, D-dimero, glucosio, ferritina, LDH, sodio, potassio, CRP, procalcitonina
- Dosaggio sierico di anticorpi
- Elettrocardiogramma: frequenza del battito cardiaco, PR, QRS, QT, QTc

8.13 Follow-up giorno 90 ± 14 (telefonico se test molecolare per ricerca SARS-CoV-2 su tampone naso-faringeo negativo al giorno 28 ± 2)

Saranno effettuate le seguenti valutazioni e si registreranno i relativi risultati:

- Sopravvivenza
- Data di inizio e data di fine dell'ossigeno-terapia supplementare dal giorno della randomizzazione
- Data di ricovero e data di dimissione delle eventuali degenze ospedaliere dal giorno della randomizzazione
- Data di inizio e data di fine delle eventuali ventilazioni non invasive dal giorno della randomizzazione
- Data di inizio e data di fine delle eventuali ventilazioni meccaniche dal giorno della randomizzazione
- Data di inizio e data di fine della febbre, definita come l'ultimo giorno in cui la/il partecipante ha registrato una temperatura superiore ai 38°C nel diario auto-compilato, senza l'assunzione di paracetamolo o anti-infiammatori non steroidei
- Data di fine dei sintomi, corrispondente al primo giorno in cui il paziente ha attribuito un punteggio di 0 per tutti i 7 sintomi della checklist nelle 24 ore precedenti (in base alla definizione di tempo di guarigione riportata tra gli endpoint secondari).
- Data/e di inizio e data/e di fine dell'astensione lavorativa (incluso smart working) dal giorno della randomizzazione (solo in caso di occupazione lavorativa)
- EQ-5D-5L e EQ-VAS
- Test molecolare per la ricerca di SARS-CoV-2 su tampone naso-faringeo (ripetuto solo in caso di persistente positività al giorno 28 ± 2)
- Trattamenti concomitanti assunti con regolarità (esclusi farmaci assunti al bisogno)
- Eventi avversi riportati dal paziente

Le visite di screening/baseline e di follow-up in presenza saranno svolte presso un ambulatorio ospedaliero. In alternativa, nell'impossibilità da parte del partecipante di recarsi presso l'ambulatorio per motivi clinici o logistico-organizzativi, le visite di follow-up saranno effettuate presso il domicilio del paziente con le medesime procedure tramite i servizi delle USCA o team del centro coordinatore regionale. La visita di screening/baseline si svolgerà in ogni caso in un contesto ambulatoriale ospedaliero per garantire che, qualora il candidato risulti arruolabile, l'eventuale immediata somministrazione di IMP avvenga in ambiente protetto. In caso di ricovero intercorrente, le valutazioni di follow-up si svolgeranno durante la degenza con

la medesima tempistica indicata in SoA. Se la dimissione dall'ospedale si verifica prima di una valutazione di follow-up, saranno svolte le successive valutazioni dello studio nei tempi indicati in SoA. Se la dimissione dall'ospedale si verifica lo stesso giorno di una valutazione di follow-up, la valutazione non deve essere ripetuta se già svolta prima della dimissione, in assenza di cambiamenti rilevanti nello stato clinico.

Tabella 3 - Sintesi delle procedure dello studio e loro tempistica di esecuzione

Giorno	Screening, baseline, somministrazione IMP/placebo	Follow-up				
	Giorno 1	7 ± 2 giorni	14 ± 2 giorni	21 ± 2 giorni	28 ± 2 giorni	90±14 giorni
Consenso informato	X					
Criteri di inclusione/esclusione	X					
Dati demografici e storia clinica	X					
Terapie concomitanti	X	X	X		X	X
Randomizzazione	X					
Somministrazione IMP/placebo	X					
Endpoint						
Ospedalizzazione	X-----X					
Durata ospedalizzazione/i	X-----X					
Ossigeno supplementare	X-----X					
Durata ossigeno supplementare	X-----X					
Ventilazione non invasiva	X-----X					
Durata ventilazione non invasiva	X-----X					
Ventilazione meccanica	X-----X					
Durata ventilazione meccanica	X-----X					
Sopravvivenza		X	X	X	X	X
Accessi effettuati in Pronto Soccorso	X-----X					
Durata della febbre	X-----X					
Durata dei sintomi	X-----X					
Giorni di lavoro persi	X-----X					
EQ-5D-5L e EQ-VAS	X	X	X		X	X
Tampone nasofaringeo per la ricerca di SARS-CoV-2		X	X**	X**	X**	X**
Farmacovigilanza						
Eventi avversi riportati dal paziente	X#-----X#			X	X	X
Esame obiettivo	X*	X	X	X	X	
Segni vitali	X*	X	X	X	X	
Esami emato-chimici	X	X	X	X	X	
Elettrocardiogramma	X*	X	X	X	X	

IMP, trattamenti sperimentali; EQ-5D-5L, EuroQuol - *five domain questionnaire - five level response*; EQ-VAS, EuroQuol-*Visual Analog Scale*

* Effettuati sia prima della randomizzazione che dopo due ore dal termine dell'infusione dei farmaci sperimentali

** Ripetuto solo in caso di persistente positività dell'esame precedente

Valutazione telefonica ogni 48 ore, dal giorno 2 al giorno 14, ad eccezione dei giorni in cui è programmata la visita ambulatoriale di follow-up

9 FARMACOVIGILANZA

Saranno segnalati eventi avversi e reazioni avverse, definiti in Tabella 4. Una descrizione dettagliata delle definizioni è disponibile in Appendice 3. L'insorgenza evento o reazione avversa, comprese quelle gravi e inaspettate, dovrà essere riportata secondo le modalità e le tempistiche descritte nella sezione 4 di questo paragrafo.

Tabella 4 – Definizioni di evento avverso

TERMINE	DEFINIZIONE
Evento Avverso (AE)	Qualsiasi evento clinico dannoso che si manifesta in un paziente o in un soggetto coinvolto in una sperimentazione clinica cui è stato somministrato un medicinale e che non ha necessariamente un rapporto causale con questo trattamento
Grave evento avverso (SAE)	Qualsiasi AE che risulti in <ul style="list-style-type: none"> - decesso - rischio per la vita del paziente - ricovero ospedaliero - persistente o significativa disabilità o incapacità - anomalia congenita/difetto alla nascita
Sospetta reazione avversa grave inattesa (SUSAR)	Reazione avversa, di cui natura, esito, frequenza o gravità non sono prevedibili in base alle informazioni di sicurezza relative al farmaco sperimentale
Evento avverso correlato alla malattia (DRE)	Qualsiasi evento avverso potenzialmente correlato alla malattia COVID-19

9.1 Valutazione della gravità

Tutti gli eventi avversi saranno valutati in base al livello di gravità, secondo la scala riportata in tabella 5, basata sulla versione più recente del NCI CTCAE (*National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events*).

Tabella 5 – Gradi di gravità degli eventi avversi secondo la versione 5.0 del NCI CTCAE

Grado	Descrizione
1	Disagio lieve o transitorio, senza limitazione delle normali attività quotidiane; nessun intervento medico o trattamento correttivo richiesto
2	Limitazione da lieve a moderata delle normali attività quotidiane ^a ; minimo intervento medico o trattamento correttivo richiesto
3	Marcata limitazione delle normali attività quotidiane e nella cura di sé ^{b,c} ; necessario intervento medico e trattamento correttivo, possibile ricovero
4	Grave limitazione delle normali attività quotidiane; intervento medico e trattamento correttivo richiesto, quasi sempre in ambito ospedaliero ^d
5	Morte correlata all'evento avverso ^d

Note: NCI CTCAE (versione 5.0), consultabile all'indirizzo:
http://ctep.cancer.gov/protocolDevelopment/electronic_applications/ctc.htm

a. Le attività della vita quotidiana si riferiscono alla preparazione dei pasti, alla spesa per la spesa o ai vestiti, all'uso del telefono, alla gestione del denaro, ecc.

b. Esempi di attività di cura di sé nella vita quotidiana includono fare il bagno, vestirsi e svestirsi, nutrirsi, usare il bagno e assumere farmaci, eseguiti da pazienti che non sono costretti a letto

c. Se un evento viene valutato come un "evento medico significativo", deve essere segnalato come un evento avverso grave.

d. Gli eventi di grado 4 e 5 devono essere riportati come eventi avversi gravi

9.2 Valutazione del rapporto di causalità

Tutti gli eventi avversi per i quali, a giudizio dello Sperimentatore o del Promotore della sperimentazione clinica, vi sia un ragionevole sospetto che possa esistere un rapporto di causalità con un IMP sono da considerarsi reazioni avverse.

Lo sperimentatore dovrà stabilire inoltre la relazione tra la somministrazione di IMP e la manifestazione di un AE/SAE come riportato di seguito:

Atteso: i) un evento avverso sarà da considerarsi dipendente dalla somministrazione del farmaco in studio a meno che non vi siano evidenze di una diversa eziologia (patologie pregresse, patologie di base, complicanze, concomitante somministrazione di un farmaco); ii) l'evento avverso non ha una relazione temporale plausibile con il momento della somministrazione del farmaco (ad esempio una diagnosi di carcinoma sopraggiunta 2 giorni dopo la somministrazione del farmaco in studio).

Inatteso: i) ciascun evento avverso per il quale vi è una relazione temporale plausibile tra la somministrazione del farmaco sperimentale e l'insorgenza dei sintomi. Inoltre, l'AE non può essere giustificato dallo stato clinico del paziente, la malattia in corso o terapie concomitanti. ii) l'evento avverso si manifesta seguendo un *pattern* di risposta alla somministrazione del trattamento in studio; iii) la manifestazione del AE/SAE diminuisce o scompare con la sospensione del trattamento in studio o con la riduzione della dose somministrata, e nel momento in cui il trattamento viene ripreso, i sintomi si manifestano nuovamente.

9.3 Monitoraggio di farmacovigilanza

Gli eventi avversi (AEs/DREs) elencati in tabella 6 saranno sistematicamente monitorati, come riportato nelle Procedure dello Studio (SoA).

Tabella 6 – Elenco eventi avversi monitorati

Tipologia	Evento
AEs locali (nel sito di infusione) riportati dal paziente o rilevati all'esame obiettivo	Malessere Prurito Rossore Edema Comparsa di vescicole o papule
AEs sistemici successivi all'infusione, riportati dal paziente o rilevati all'esame obiettivo	Febbre Brividi/sudorazione notturna Insonnia Mialgia diffusa Artralgia Astenia Cefalea Congestione nasale Dispepsia, nausea/vomito o diarrea Prurito generalizzato Esantema/eritema/eritrodermia/dermatite/orticaria Angioedema Edema della glottide Tosse/dispnea Dolore toracico Sincope Ipertensione/ipotensione/tachicardia/aritmia
AEs rilevati mediante il monitoraggio dei segni vitali	Temperatura corporea (°C) Frequenza cardiaca (battiti/min), regolare/non regolare Pressione diastolica e sistolica (mmHg) Frequenza respiratoria (atti/min) Saturazione periferica di ossigeno in aria ambiente (%)
AEs rilevati	Frequenza cardiaca

all'elettrocardiogramma	PR QRS QT QTc	
AEs rilevati agli esami emato-chimici	Creatinina (μmol/L) ALT, Aspartato aminotrasferasi (U/L) ALP, Fosfatasi alcalina (U/L) Amilasi (U/L) Bilirubina totale (μmol/L) D-dimero (μg/L) Glucosio (mmol/L) Ferritina (μg/L) LDH, Lattato deidrogenasi (U/L) Sodio (mmol/L) Potassio (mmol/L) CRP, Proteina C Reattiva (mg/L) Procalcitonina (ng/mL)	Emoglobina (g/dL) Leucociti (x 10 ⁹ /L) Neutrofili (x 10 ⁹ /L) Linfociti (x 10 ⁹ /L) Piastrine (x 10 ⁹ /L)
AEs potenzialmente correlati a COVID-19 od alla gestione clinica di COVID-19 (DRE)	Iper/ipo-glicemia Anemia Disordine della coagulazione Insufficienza renale acuta Pancreatite Disordine della coagulazione Insufficienza renale acuta Pancreatite Disordini cardiaci: aritmia, ischemia cardiaca, arresto, insufficienza cardiaca congestizia Polmonite, ascesso polmonare, bronchite, empiema Endocardite/batteremia/sepsi Miocardite/pericardite Meningite/encefalite/ascesso cerebrale Congiuntivite, cheratite, endoftalmite, retinite Otite, mastoidite Faringite, ascesso peritonsillare Mediastinite Infezioni intra-addominali (inclusa gastroenterite) Infezioni del tratto genitourinario Osteomielite Artrite settica/infezione di impianti protesici Infezione acuta della pelle Fascite necrotizzante Infezione da piede diabetico Ulcera da decubito Sindrome acuta da distress respiratorio Pneumotorace Embolia polmonare Trombosi arteriosa Trombosi venosa profonda Ictus ischemico/emorragico Insufficienza epatica Coma/confusione Emorragia gastrointestinale	

Lo sperimentatore dovrà registrare nella eCRF i risultati delle seguenti valutazioni:

- AE riportato dal paziente
- esame obiettivo
- segni vitali
- elettrocardiogramma
- esami emato-chimici

Valori anormali associati al COVID non saranno considerati clinicamente significativi a meno che non siano giudicati dallo sperimentatore più severi rispetto all'atteso, date le condizioni cliniche del paziente.

9.4 Notifica degli eventi avversi e responsabilità dello Sperimentatore

Sarà segnalato quale AE nella eCRF, entro 24 ore dalla rilevazione, qualsiasi cambiamento significativo dal punto di vista clinico che si manifesti durante il periodo di follow-up. Sarà obbligo dello Sperimentatore seguire i pazienti fino alla risoluzione di ciascun AE segnalato. Tutti gli eventi avversi e i SAE saranno raccolti dalla firma del modulo di consenso informato (ICF) fino alla visita di follow-up nei punti temporali specificati nelle procedure dello studio (tabella 6). Si presterà attenzione a non introdurre *bias* durante il rilevamento di eventi avversi.

Ad eccezione dei DRE, come definiti nella tabella 5, tutte le SAE saranno registrate e segnalate allo Sponsor, immediatamente e in nessuna circostanza dopo le 24 ore dalla comparsa. Gli sperimentatori non sono obbligati a cercare attivamente informazioni su eventi avversi gravi dopo la conclusione della partecipazione allo studio. Tuttavia, se lo Sperimentatore viene a conoscenza di qualsiasi SAE, inclusa una morte, in qualsiasi momento dopo che un partecipante è stato dimesso dallo studio, e ritiene che l'evento sia ragionevolmente correlato all'intervento o alla partecipazione allo studio, lo Sperimentatore deve prontamente avvisare lo Sponsor.

9.5 SUSAR

L'insorgenza di qualsiasi sospetta reazione avversa grave e inaspettata (SUSAR) correlata ad un IMP sarà notificata al Ministero della Salute (AIFA) nonché al Comitato Etico interessato con procedura d'urgenza secondo la normativa AIFA n.9/2012 relativa al monitoraggio della sicurezza (Portale AIFA, 21 dicembre 2012) utilizzando il formato CIOMS (disponibile al link <https://cioms.ch/wp-content/uploads/2017/05/cioms-form1.pdf> o in Appendice 4). La notifica con procedura d'urgenza, entro 7 giorni di calendario da quando si è venuti a conoscenza del caso, è necessaria per le SUSAR fatali e che mettono in pericolo di vita il paziente. Successive informazioni dovranno essere raccolte al follow-up, entro 8 giorni. SUSAR non fatali o che non mettono in pericolo di vita il paziente dovranno essere notificate dal Promotore al Ministero della Salute (AIFA) e ai Comitati Etici interessati entro 15 giorni di calendario da quando si è venuti a conoscenza del caso.

9.6 Gestione di un'eventuale reazione all'infusione di IMP

Gli sperimentatori devono determinare la gravità della reazione all'infusione e gestire le reazioni all'infusione in base allo standard di cura e al loro giudizio clinico. Se si verifica una reazione all'infusione, è necessario utilizzare una terapia di supporto in base ai segni e ai sintomi. L'ambulatorio dove avverrà la somministrazione di IMP deve disporre delle attrezzature e dei farmaci necessari per la gestione di qualsiasi reazione all'infusione, inclusi ossigeno-terapia, soluzioni reidratanti, epinefrina, paracetamolo e antistaminico.

9.7 Reclami relativi ad IMP

Un reclamo relativo ad IMP è rappresentato da qualsiasi comunicazione scritta, elettronica o orale che accenni a carenze relative all'identità, qualità, durata, affidabilità, sicurezza ed efficacia di IMP. Lo Sponsor sarà responsabile di raccogliere eventuali reclami relativi ad IMP, inclusi quelli relativi ai metodi di distribuzione e somministrazione di IMP, al fine di monitorarne la qualità e garantire la sicurezza dei partecipanti.

Qualora vi sia un qualsiasi tipo di reclamo relativo ad IMP, ai partecipanti sarà richiesto di contattare lo Sperimentatore nel più breve tempo possibile. Anche gli AE/SAE associati ad un reclamo sul prodotto seguiranno i processi delineati nella sezione “Farmacovigilanza” del protocollo.

I reclami relativi ad IMP che si traducono in un evento avverso saranno rilevati, documentati e segnalati allo Sponsor durante tutto il periodo dello studio. Nel caso in cui lo Sperimentatore ne venga a conoscenza successivamente alla conclusione del periodo dello studio e tale evento avverso sia ragionevolmente correlato alla somministrazione di IMP, lo Sperimentatore dovrà tempestivamente informare lo Sponsor. I reclami relativi ad IMP saranno segnalati allo Sponsor entro 24 ore dalla comunicazione allo Sperimentatore mediante un modulo specifico, che sarà fornito a tutti i centri partecipanti prima dell’inizio dello studio.

Il follow-up dei reclami relativi ad IMP si applica a tutti i soggetti, compresi quelli che interrompono la loro partecipazione allo studio. Lo sperimentatore è responsabile di garantire che il follow-up includa qualsiasi indagine aggiuntiva che si renda necessaria per chiarire la natura e/o causalità del reclamo. Eventuali informazioni aggiuntive così ottenute saranno riportate nella eCRF del paziente.

10 EVENTUALI STUDI ANCILLARI

1. Sottostudio immunologico (vedi allegato 3):

- Endpoint primario: quantificazione dei linfociti (totale e sottopopolazioni) circolanti nel sangue periferico ai vari timepoints dello studio
- Endpoint secondari
 - Quantificazione (totale e sottopopolazioni), descrizione morfologica e fenotipica dei monociti circolanti nel sangue periferico ai vari timepoints dello studio;
 - Quantificazione delle citochine: CCL3/MIP-1 α , CXCL10/IP-10, IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-7, IL-10, IL-12 p70 e TGF- β , in campioni di siero ai vari timepoints dello studio;
 - Analisi trascrittomiche dei T cell receptors ai vari timepoints dello studio
 - Analisi trascrittomiche dei B cell receptors ai vari timepoints dello studio
 - Misurazione dell’espressione di inflammasome NLRP3, caspase 1,3,4,5 e citochine pro-infiammatorie intracellulari (PBMCs).

2. Follow-up clinico dei pazienti a 6/12/18 mesi (progetto ORCHESTRA, WP2 – Task 2.6 – Allegato 4)

- Endpoint primari: 1) prevalenza di sequelae cliniche a medio-lungo termine; 2) ospedalizzazione; 3) decesso
- Endpoint secondario: analisi re-infezioni e sequenziamento dei ceppi

11 DURATA PIANIFICATA DELLO STUDIO

Periodo di arruolamento:

Periodo di trattamento:

Periodo di Follow-up:

Analisi dei dati e produzione del Final Study Report:

12 Analisi statistica

12.1 DETERMINAZIONE DEL SAMPLE SIZE

In base ai dati dell’Istituto Superiore di Sanità (ISS) relativi all’infezione da SARS-CoV-2 aggiornati al 10 febbraio 2021 ed ai dati dell’Istituto Superiore di Sanità aggiornati quotidianamente (Aggiornamento Nazionale, 14 Febbraio 2021), prendendo in considerazione la fascia d’età **superiore ai 50 anni** ed escludendo dal totale dei casi segnalati i guariti, i deceduti, i persi al follow-up e gli asintomatici, 30818 sono pauci-sintomatici, 52901 hanno sintomi lievi, 18545 hanno sintomi severi e 2696 presentano un quadro clinico critico. La proporzione di pazienti con sintomi severi/critici è **20%** dei pazienti sintomatici.

Per il calcolo del sample size sono stati considerati anche gli algoritmi predittivi della popolazione americana con infezione da SARS-CoV-2 (CDC, 2021), che ha stimato che la percentuale di ricoveri ospedalieri per SARS-CoV-2 è 7.1% nella popolazione generale, 18.7% in quella con età superiore a 50 anni e 25.7% per età superiore a 65 anni.

In considerazione del parere favorevole all'utilizzo dei medesimi anticorpi monoclonali in pazienti non ospedalizzati con particolari fattori di rischio recentemente espresso dalla Commissione Tecnico-Scientifica di AIFA, tali **categorie** (vedi Appendice 1) di **pazienti ad alto rischio** sono state **escluse dal presente studio**. Sulla base della stima della distribuzione dei fattori di rischio sovramenzionati ed in base ai dati degli studi pubblicati in merito alla riduzione del numero di ospedalizzazioni e visite mediche con l'utilizzo di bamvianivimab e casirivimab/imdevimab (riportati nel paragrafo 2.1) in soggetti affetti da COVID-19 non ospedalizzati in una fase precoce di malattia (Chen, 2021 e Weinreich, 2021), **si stima una progressione di malattia del 5% nei bracci sperimentali verso il 12% nel braccio placebo (riduzione del 7%) ai fini della determinazione della dimensione del campione in studio**. Come si evince dai dati riportati nel paragrafo 2.1, in considerazione dell'eterogeneità degli endpoint secondari considerati per la progressione di malattia, della bassa frequenza di eventi clinici riportati anche nei bracci di controllo e della differente popolazione in studio, non è possibile stimare una diversa efficacia tra i due IMP iniziali.

12.2 Sample size per trial adattativo di gruppo-sequenziale

La dimensione del campione si basa sul presupposto che la percentuale di soggetti con end-point primario (ricovero in ospedale o fabbisogno di ossigeno-terapia supplementare o decesso, entro 14 giorni da randomizzazione) nel braccio di controllo sarà del 12%. Per i due bracci sperimentali, miriamo a una riduzione di questa progressione al 5%, con una perdita al follow-up del 5% dei pazienti. Sulla base dei dati esposti nel paragrafo 11, e di questa attesa di progressione di malattia (12% vs 5%), nel caso di uno studio a campione prefissato, con $\alpha = 0.025$ per il test ad una coda ed una potenza del 90%, arriveremmo all'arruolamento di 332 pazienti per gruppo, considerando un fattore di inflazione di Pollock di 1.2 [Jennison, C.J. and Turnbull, B.W. Group sequential methods with applications to clinical trials. Chapman and Hall, Boca Raton, FL, 2000], il campione massimo considerato nello studio è di 420 pazienti per gruppo; per un massimo totale di 1260 (due gruppi di trattamento e un gruppo di controllo). Considerano la perdita al follow up del 5% le numerosità campionarie massime salgono a 420 per gruppo, per un massimo totale di 1260.

Essendo lo studio in oggetto adattativo sequenziale di gruppo, ed essendo Bayesiano l'approccio sia al suo disegno che alla sua analisi, per il calcolo del campione sono state effettuate simulazioni imponendo (Berry, 2011)

5. un prior non informativo sull'effetto del trattamento, $d = p_{\text{trattati}} - p_{\text{controlli}}$
6. due criteri di interruzione per successo: $P(d > 0 | D) > 0.975$ e $P(d > 0.07 | D) > 0.5$
7. un criterio di interruzione per futilità: $P(d < 0.02 | D) > 0.5$
8. un totale di 420 pazienti per gruppo da dividere in più stadi

Oltre alla condizione classica sull'errore di tipo 1, si considera quindi come successo un effetto del trattamento maggiore al 7%, e come insuccesso un effetto del trattamento minore al 2%.

Sono stati considerati più disegni, con diverso numero di stadi e diverso numero di pazienti per stadio, e per ciascun disegno sono state effettuate 100000 simulazioni, variando l'effetto del trattamento da -0.10 a +0.10.

Le prestazioni migliori in termini di potenza e numerosità del campione sono risultate essere quelle di un disegno a 5 stadi (4 analisi di interim e una analisi finale), considerando 84 pazienti per gruppo ad ogni stadio. Le probabilità di interruzione per successo e futilità, insieme al numero di pazienti totali (controlli più trattati), sono riportate nelle Tabelle 7 e 8.

Tabella 7 – Probabilità di interruzione per successo al variare dell'effetto del trattamento (d) e campione totale (controlli più trattati) atteso.

d	Stadio 1	Stadio 2	Stadio 3	Stadio 4	Stadio 5	Totale	N atteso
-0.1	8e-04	0	0	0	0	8e-04	144
-0.05	0.0043	5e-04	0	0	0	0.0048	164.7
0	0.025	0.0079	9e-04	1e-04	0	0.0339	238.3
0.02	0.0513	0.0225	0.0039	0.001	3e-04	0.0791	294
0.05	0.1601	0.1	0.0299	0.014	0.0077	0.3117	363.6
0.07	0.3428	0.2099	0.0705	0.039	0.0254	0.6876	312.1
0.08	0.4887	0.2495	0.0743	0.0379	0.0229	0.8734	251.7
0.1	0.875	0.1123	0.0083	0.0013	2e-04	0.9972	152

Tabella 8 – Probabilità di interruzione per futilità al variare dell'effetto del trattamento (d).

d	Stadio 1	Stadio 2	Stadio 3	Stadio 4	Stadio 5	Totale
-0.1	0.9361	0.0538	0.0076	0.0014	3e-04	0.9991
-0.05	0.841	0.1061	0.0297	0.0106	0.0043	0.9917
0	0.6283	0.1404	0.063	0.0355	0.0225	0.8897
0.02	0.5	0.1237	0.0592	0.0353	0.0237	0.7419
0.05	0.2616	0.0567	0.0225	0.011	0.0061	0.3579
0.07	0.1098	0.0144	0.0033	9e-04	3e-04	0.1287
0.08	0.0543	0.0043	6e-04	1e-04	0	0.0593
0.1	0.0027	0	0	0	0	0.0027

In Figura 4 è riportato il campione totale atteso in due bracci dello studio (un braccio di trattamento e il braccio di controllo). In Figura 5 sono riportate le probabilità cumulative di interruzione calcolate al variare di d.

Per l'effetto atteso del 7% abbiamo una numerosità campionaria attesa di 157 pazienti per gruppo, con una probabilità di interruzione per successo maggiore di 0.5 già alla seconda analisi di interim.

Il calcolo delle probabilità di interruzione è stato svolto con il pacchetto R *gsbDesign* [Gspöner T, Gerber F, Bornkamp B, Ohlssen D, Vandemeulebroecke M and Schmidli H. A practical guide to Bayesian group sequential designs. Pharmaceut Statist 2014; 13: 71-80]; la distribuzione binomiale è stata approssimata con quella normale utilizzando la trasformazione logit dell'odds ratio del trattamento.

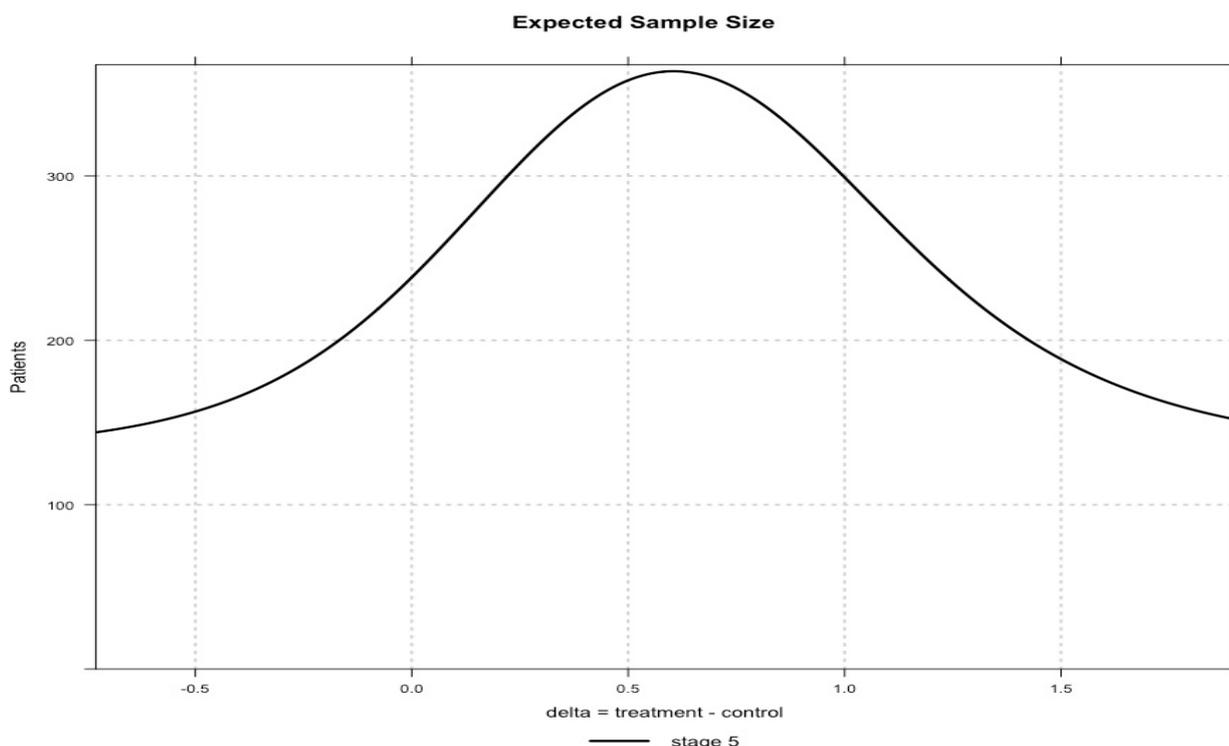


Figura 4 – Andamento del campione atteso (per un gruppo di trattamento più il gruppo di controllo) alla fine dello studio.

Sull'asse delle ascisse dei grafici è riportata la trasformata logit dell'odds ratio del trattamento. Considerando $p_{\text{controllo}} = 0.12$, -0.5 sull'asse x corrisponde a un $p_{\text{trattamento}}=0.19$, 0.5 corrisponde a un $p_{\text{trattamento}} = 0.08$, 1 corrisponde a un $p_{\text{trattamento}} = 0.05$, 1.5 corrisponde a un $p_{\text{trattamento}}=0.03$.

12.3 Proiezione di arruolamento

La previsione di arruolamento è basata sull'assunto che l'epidemia di SARS-COV-2 mantenga un andamento a livello italiano in linea con l'attuale incidenza stimata intorno ai 10.000 su base giornaliera. In considerazione del numero di siti di arruolamento che parteciperanno allo studio (20 centri sul territorio italiano) si ipotizza l'arruolamento settimanale di circa 100 pazienti. Il nostro obiettivo di reclutamento di 5 pazienti a settimana per sito rappresenta una stima prudentiale.

12.4 Bracci di randomizzazione

Durante lo studio il rapporto di allocazione sarà di C:S1:S2 = 1:1:1. Il braccio C sarà quello di comparazione per gli altri due sperimentali (confronto a coppie). Il rapporto di allocazione rimarrà fisso 1:1:1 per controllo, sperimentale 1 e sperimentale 2.

12.5 Analisi ad interim pianificata

L'effettuazione dell'analisi ad interim dovrà essere realizzata a seguito di un preliminare *cleaning* dei dati. Per garantire la qualità dei dati (vedi riferimento al paragrafo più sotto), verrà effettuato un monitoraggio settimanale della raccolta dei dati digitalizzati per ogni sito di arruolamento con la eventuale correzione degli errori ed un ritardo massimo di 7 giorni. Questo garantirà la possibilità di effettuale *interim analysis* con un ritardo di massimo 2 settimane comprendendo il *cleaning*, l'analisi e la produzione del report delle analisi statistiche da fornire al comitato di coordinamento dello studio per le decisioni conseguenti. Durante questa fase per evitare di arruolare pazienti in bracci con futilità, la randomizzazione verrà sospesa e ripresa per ricominciarla all'inizio della fase successiva. Nella simulazione del disegno di studio è stato ipotizzato un ritardo di 2 settimane prima della ripresa dell'arruolamento per la fase successiva dello studio.

I dati, a seconda della loro distribuzione, saranno rappresentati come media +/- deviazione standard, mediana e intervallo interquartile o proporzione. Il confronto delle proporzioni sarà effettuato con approccio Bayesiano, assegnando ad esse un prior uniforme. Le distribuzioni posteriori risultanti seguiranno la distribuzione beta; il confronto tra le proporzioni nei due gruppi sarà quindi basato su una differenza di distribuzioni beta, calcolata con un metodo Markov Chain Monte Carlo [Gelman A, Carlin JB, Stern HS and Rubin DB. Bayesian data analysis. Chapman & Hall, Boca Raton FL, 2004]. Tutti i calcoli saranno eseguiti in ambiente software R [R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria; 2019].

Sarà prodotto un piano di analisi statistica (SAP) separato che fornirà una descrizione più completa delle analisi statistiche pianificate, tuttavia di seguito si fornisce una breve descrizione della strategia di analisi. I gruppi sperimentali saranno confrontati con quello di controllo con un approccio *intention-to-treat*, ovvero tutti i partecipanti saranno analizzati nel gruppo di trattamento a cui sono stati randomizzati indipendentemente dalla conformità o da altre deviazioni dal protocollo. L'analisi ad interim sarà effettuata solo rispetto all'endpoint primario e si analizzeranno le differenze tra gruppi per verificare l'eventuale la futility o superiority di uno o entrambi i bracci sperimentali. Nei grafici di Figura 5 vengono presentate le varie curve cumulative rispetto ai criteri di futilità e superiorità in relazione agli stadi ipotizzati nelle analisi facendo sempre riferimento alla differenza trattati e controllo.

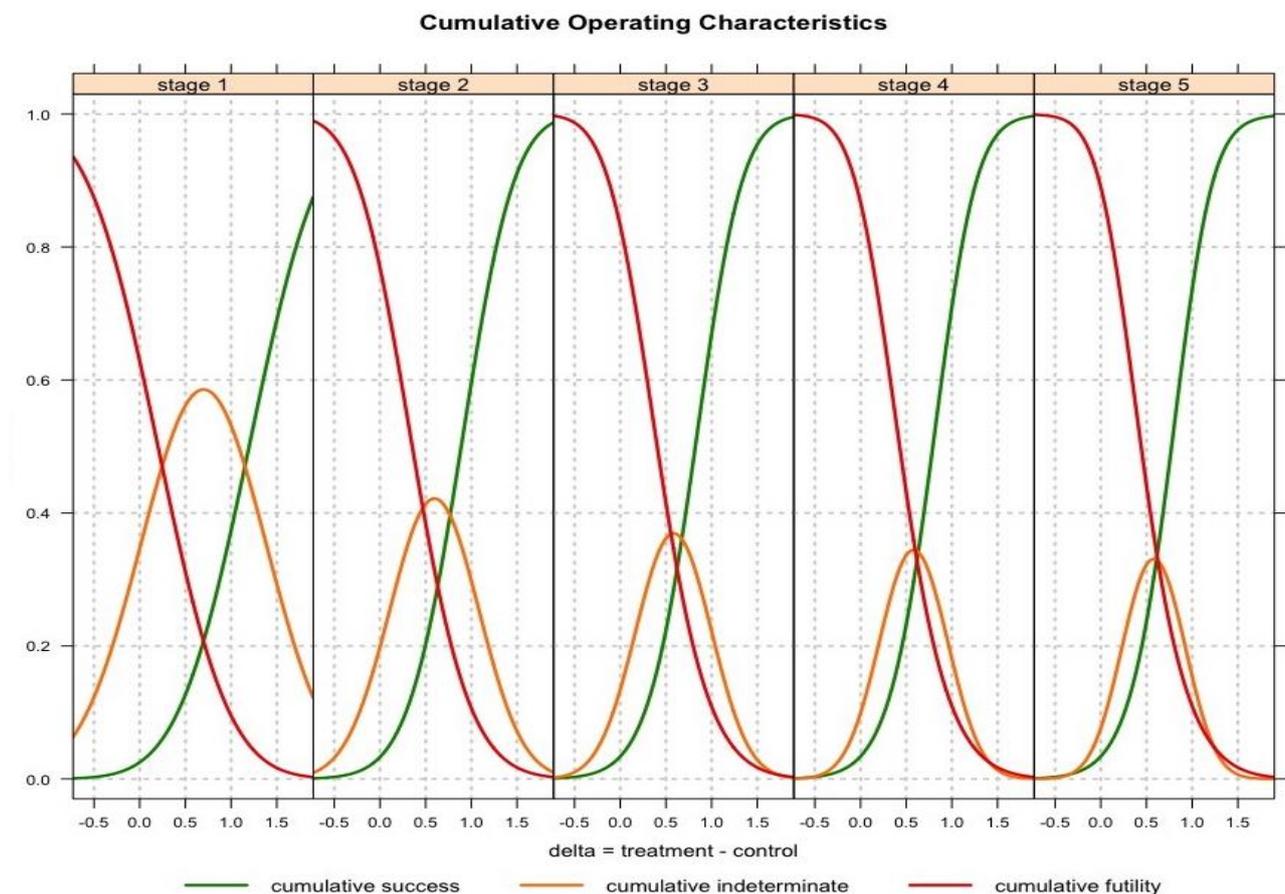


Figura 5 – Andamento delle probabilità cumulative di interruzione a ciascuno dei 5 stadi dello studio.

Sull'asse delle ascisse dei grafici è riportata la trasformata logit dell'odds ratio del trattamento. Considerando $p_{\text{controllo}} = 0.12$, -0.5 sull'asse x corrisponde a un $p_{\text{trattamento}} = 0.19$, 0.5 corrisponde a un $p_{\text{trattamento}} = 0.08$, 1 corrisponde a un $p_{\text{trattamento}} = 0.05$, 1.5 corrisponde a un $p_{\text{trattamento}} = 0.03$.

12.6 Analisi finale pianificata

Sulla base del piano di analisi statistica (SAP) descritto nel paragrafo precedente saranno analizzati dopo aver completato l'arruolamento, aver atteso la maturazione degli endpoint ed aver fatto l'ultimo cleaning del dataset esso verrà congelato per l'effettuazione delle analisi e si procederà al confronto tra gruppi sperimentali e controllo con lo stesso approccio *intention-to-treat* descritto precedentemente. In relazione alla scala di misura ed alla distribuzione i test statici saranno di tipo non parametrico (test della probabilità esatta di Fisher, Wilcoxon-Mann-Whitney) o parametrico (T-Student, anova ecc.). Per l'endpoint primario e secondari saranno utilizzate statistiche descrittive ed analizzate le differenze tra gruppi. Per la stima dell'effetto controllo-trattamento sarà utilizzato un metodo Bayesiano, assegnando alle proporzioni un prior uniforme. Le distribuzioni posteriori risultanti seguiranno la distribuzione beta; il confronto tra le proporzioni nei due gruppi sarà quindi basato su una differenza di distribuzioni beta, calcolata con un metodo Markov Chain Monte Carlo [Gelman A, Carlin JB, Stern HS and Rubin DB. *Bayesian data analysis*. Chapman & Hall, Boca Raton FL, 2004].

Per gli endpoint secondari, dove è prevista una valutazione *time-to-event*, verrà utilizzata un'analisi di sopravvivenza col metodo del prodotto limite e la modellizzazione avverrà con la regressione di Cox.

Gli endpoint secondari misurati su scala nominale includeranno:

- Proporzioni di pazienti in ventilazione non invasiva entro 28 giorni dalla randomizzazione
- Proporzioni di pazienti in ventilazione meccanica entro 28 dalla randomizzazione
- Proporzioni di decessi a 28 e 90 giorni dalla randomizzazione
- Proporzioni di tamponi naso-faringei molecolari (PCR) negativi per la ricerca di SARS-CoV-2 a 7, 14, 21, 28 e 90 giorni dalla randomizzazione

Per gli endpoint secondari misurati su scala ordinale o ad intervalli includeranno:

- Numero di accessi effettuati in Pronto Soccorso entro 28 giorni dalla randomizzazione
- Durata dell'eventuale ricovero ospedaliero
- Durata dell'eventuale ventilazione non invasiva
- Durata dell'eventuale ventilazione meccanica
- Durata dell'eventuale ossigeno-terapia supplementare
- Durata della febbre
- Durata dei sintomi
- Giorni di astensione lavorativa entro 90 giorni dalla randomizzazione
- Cambiamenti degli score di qualità di vita associata allo stato di salute (EQ-5D-5L e EQ-VAS) dal baseline al giorno 7/14/28/90 dalla randomizzazione.

12.7 Analisi di sottogruppo

Le analisi degli endpoint primari e secondari descritte nel precedente paragrafo saranno effettuate per i seguenti sottogruppi:

- età
- sesso
- tempistica di esordio dei sintomi
- dosaggio sierico di anticorpi anti-SARS-CoV-2 al momento della randomizzazione

Se il numero di partecipanti ad un sottogruppo risultasse troppo esiguo (meno del 10% della dimensione campionaria totale), le categorie dei sottogruppi potranno essere ridefinite prima di bloccare il database.

13 STRUTTURA ORGANIZZATIVA E DECISIONALE

Per il controllo qualità e monitoraggio dati dello studio saranno costituiti i gruppi di seguito elencati

Comitato direttivo: Lo studio si doterà di un Comitato interno direttivo e di monitoraggio dello studio che includerà rappresentanti dello sponsor (AIFA), la cui funzione decisionale e di coordinamento riguarderà la validazione del protocollo finale e dei piani di analisi dei dati, discussione e validazione delle stopping rules, verifica dei progressi nella realizzazione dello studio e, se necessario, decidere sulle modifiche al protocollo, revisione il piano di diffusione e pubblicazione dei risultati. In relazione alla tipologia del disegno dello studio di tipo adattivo con braccia multiple e analisi intermedie ed alla

necessità di prendere decisioni in relazione ai risultati delle analisi intermedie il Comitato avrà anche il compito di monitorare la raccolta dei dati e, avvalendosi di un comitato indipendente di monitoraggio dei dati, decidere se e quando lo studio potrà essere interrotto per futilità dei risultati (<i>outcome futility</i>) oppure per provata efficacia (<i>outcome efficacy</i>) già nelle fasi intermedie e di conseguenza decidere la revisione dello studio e l'eventuale riassegnazione dei pazienti al braccio più promettente o sospendere lo studio per eventi avversi o altre documentate ragioni.
Il Comitato indipendente di monitoraggio dei dati è responsabile del monitoraggio della sicurezza e integrità scientifica dell'intervento in studio. È un gruppo esterno di esperti e fornirà consulenza al Comitato Direttivo e di monitoraggio nel caso i risultati intermedi o finali forniscano l'indicazione di un cambiamento nel protocollo (ad esempio, modifica o cessazione di uno o più dei bracci di trattamento) ipotizzare soluzioni ad eventuali problemi identificati.
Gruppo di implementazione del Centro clinico promotore. Il gruppo di implementazione è costituito dal team che avrà in compito di seguire tutte le fasi di realizzazione dello studio, pianificare l'uso degli strumenti informatici, realizzare i training per l'arruolamento e la raccolta dati, produrre i vari report di monitoraggio per i centri clinici che arruoleranno i pazienti e per il Comitato direttivo e monitoraggio e Comitato indipendente di monitoraggio. Compiti ulteriori del gruppo sono la pianificazione pratica dello studio e organizzazione delle riunioni del comitato direttivo, seguire le approvazioni dei comitati etici, sovrintendere alla fornitura di materiali di studio ai centri, monitoraggio e comunicazione delle informazioni sulla sicurezza in linea con il protocollo e i requisiti normativi. gestire domande tecniche, mediche e amministrative che potenzialmente potrebbero emergere dai centri. Un ruolo particolarmente critico di questo gruppo sarà la formazione e la supervisione appropriate per il personale clinico (vedi dettaglio procedure)

14 GARANZIA DELLA QUALITÀ DEI DATI

14.1 Raccolta dati

I dati relativi ai pazienti verranno raccolti attraverso un apposito eCRF realizzato per lo studio, che non conterrà dati personali idonei ad identificare il paziente. Le informazioni cliniche e di outcome raccolte in relazione allo studio saranno limitate agli obiettivi dello studio, curando di ridurre il più possibile il carico per il paziente e per il centro clinico arruolante. Solo il centro clinico arruolante avrà accesso all'identità del paziente e potrà contattarlo se si dovesse presentare la necessità, da parte del centro coordinatore, di avere ulteriori informazioni o per verifiche di follow-up durante o dopo la chiusura dello studio in fase di analisi e reporting. Per ogni paziente, un apposito codice identificativo digitale univoco (*barcode*), sarà fornito dal centro coordinatore quando saranno generate le sequenze di randomizzazione per l'arruolamento nei diversi bracci dello studio. Il codice sarà costituito da una parte di tre caratteri per identificare il centro arruolante e una seconda parte composta da 5 cifre per identificare il soggetto arruolato. Il codice sarà associato al paziente dal centro clinico che ne conserverà copia nel file del paziente e nella cartella clinica. Ogni paziente arruolato avrà uno specifico file dello studio con tutta la documentazione etica, clinica e di randomizzazione. Il manuale per la compilazione di eCRF sarà fornito nel *Trial Master File*.

14.2 Data entry

I dati saranno inseriti direttamente nella eCRF dei pazienti e le relative informazioni cliniche e di *outcome* saranno digitalizzate in un apposito database che verrà sviluppato usando la piattaforma di data *capturing* RedCap®. Il sistema è stato utilizzato con successo nel network a cui i centri fanno parte di SOLIDARITY. RedCap®, installato su server protetti dell'Azienda Ospedaliera Integrata di Verona, viene periodicamente aggiornato e consente di creare account per gli utilizzatori, controllare i loro accessi per il data entry, limitare i privilegi degli utenti (accesso esclusivamente ai dati del proprio centro) e chiusura della validità dell'account alla fine dello studio.

14.3 Training su *data entry*

Gli operatori abilitati all'arruolamento saranno sottoposti ad un training sul sistema di data entry, sulle procedure di sicurezza e sulle responsabilità circa l'uso del sistema di data *capturing* e sulle implicazioni derivanti dall'utilizzo dell'accesso a dati clinici e risorse informatiche pubbliche.

14.4 Monitoraggio della raccolta e inserimento dati

Per assicurare la corretta implementazione della raccolta dei dati e l'inclusione dei pazienti nei diversi bracci come da piano di randomizzazione, il centro coordinatore svilupperà una routine di controlli da effettuare sui dati scaricati periodicamente da RedCap. La procedura opererà alcuni controlli sulle variabili principali, sia rispetto ai criteri di arruolamento e dati clinici sia rispetto alle variabili di *outcome*. Al fine di consentire una corretta implementazione dello studio verranno prodotti periodici report in cui verranno evidenziate irregolarità o inconsistenze da verificare e risolvere con l'operatore che ha raccolto il dato prima del report successivo da cui si potranno verificare le avvenute correzioni. Inoltre, il report presenterà lo stato di arruolamento per tutti i siti rispetto al pattern pianificato in base ai criteri di arruolamento e randomizzazione. Una versione globale del data entry monitoring verrà prodotta con la stessa cadenza del report locali e condivisa con il comitato sul monitoraggio dello studio (*Comitato indipendente di monitoraggio dei dati*). Lo sperimentatore consentirà il monitoraggio correlato allo studio, gli audit, la revisione e le ispezioni delle agenzie di regolamentazione e fornire accesso diretto ai documenti dei dati di origine.

I registri e i documenti, inclusi gli ICF firmati, relativi alla conduzione di questo studio verranno conservati dallo sperimentatore per 15 anni dopo il completamento dello studio. Nessun record potrà essere distrutto durante il periodo di conservazione senza l'approvazione scritta dello Sponsor. Nessun record può essere trasferito a un altro luogo o partito senza notifica scritta allo sponsor

14.5 Risorse documentali

I documenti saranno archiviati presso il centro dello sperimentatore. I monitor dello studio eseguiranno una verifica continua dei dati di origine per confermare che i dati inseriti in eCRF dal personale autorizzato del centro siano accurati, completi e verificabili dai documenti di origine, che la sicurezza e i diritti dei partecipanti siano protetti e che lo studio venga condotto in conformità con il protocollo attualmente approvato e qualsiasi altro accordo di studio, ICH, buona pratica clinica (GCP, *Good Clinical Practice*) e tutti i requisiti normativi applicabili.

14.6 Avvio dello studio

- La data di inizio dello studio è la data in cui lo studio clinico sarà aperto per il reclutamento dei partecipanti.
- Il primo step per il reclutamento è il consenso informato e sarà la data di inizio dello studio.

14.7 Conclusione dello studio

I centri dello studio saranno chiusi al termine dello studio. Un centro sarà considerato chiuso quando tutti i documenti e materiali di studio richiesti sono stati raccolti ed è stata eseguita una visita di chiusura dello studio nel centro. Lo sperimentatore può avviare la chiusura dello studio nel centro in qualsiasi momento, a condizione che vi sia un motivo ragionevole e venga fornito un preavviso sufficiente prima della conclusione prevista.

Le ragioni per la chiusura anticipata di un centro da parte dello sponsor o dello sperimentatore potranno includere ma non saranno limitate a:

- Mancato rispetto da parte dello sperimentatore del protocollo, dei requisiti dell'Autorità competente/Comitato Etico o delle autorità sanitarie locali, delle procedure dello sponsor o delle linee guida GCP

- Reclutamento inadeguato o inesistente (valutato dopo un ragionevole lasso di tempo) di partecipanti da parte dello sperimentatore
- Numero totale di partecipanti inclusi prima del previsto

I motivi per l'interruzione anticipata dello studio da parte dello sponsor potranno includere ma non sono limitati a:

- Interruzione dello sviluppo di ulteriori interventi di studio
- Insorgenza di eventi avversi sconosciuti fino ad oggi in relazione alla loro natura, gravità e durata
- Motivi medici o etici che influenzano la prosecuzione dello studio, incluse:
 - Evidenze esterne che indicano l'efficacia o il danno di uno qualsiasi degli interventi dello studio
 - Generale mancanza di pazienti idonei a causa della variazione dell'andamento della pandemia da SARS-CoV-2 in Italia

Se lo studio verrà interrotto prematuramente o sospeso, lo sponsor deve informare prontamente gli investigatori, i Comitati Etici, le autorità di regolamentazione e qualsiasi organizzazione di ricerca a contratto utilizzata nello studio del motivo della risoluzione o della sospensione, come specificato dalla normativa applicabile. requisiti.

15 ETICA E CONSIDERAZIONI NORMATIVE

Questo studio sarà condotto in conformità con il protocollo e con quanto segue:

- Principi etici di consenso derivati da linee guida internazionali tra cui la Dichiarazione di Helsinki e le linee guida etiche internazionali del CIOMS
- Linee guida ICH di GCP applicabili
- Leggi e regolamenti applicabili
- Legge nazionale sulla Privacy (D.Lgs. n.196/2003, e successivi emendamenti) e al Regolamento Generale per la Protezione dei Dati Personali n. 2016/679 (GDPR).

Il protocollo, l'ICF, la brochure per lo sperimentatore e altri documenti pertinenti (ad esempio, annunci pubblicitari) devono essere presentati al Comitato Etico e all'Autorità Competente dallo sperimentatore per revisione ed approvazione prima che lo studio venga avviato. Qualsiasi modifica al protocollo richiederà l'approvazione al Comitato Etico e all'Autorità Competente prima dell'implementazione delle modifiche apportate al disegno dello studio, ad eccezione delle modifiche necessarie per eliminare un rischio immediato per i partecipanti allo studio.

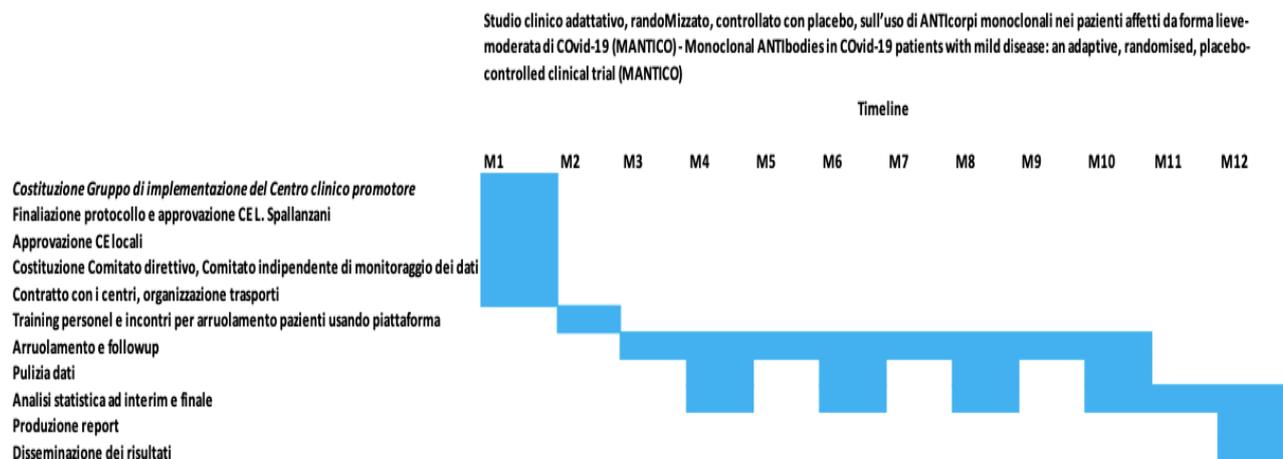
16 PUBBLICAZIONE DEI RISULTATI

Il protocollo sarà registrato su ClinalTrial.gov. Le pubblicazioni che deriveranno da questo studio saranno effettuate su rivista *open access* e sviluppate secondo le raccomandazioni di CONSORT Extension (ACE) (Dimairo, 2020). Gli autori dovranno soddisfare tutti i seguenti criteri di paternità ICMJE:

- 1) Contributi sostanziali alla concezione o progettazione dello studio o acquisizione, analisi o interpretazione dei dati per il lavoro
- 2) Redazione del lavoro o revisione critica per importanti contenuti intellettuali
- 3) Approvazione finale della versione da pubblicare
- 4) Assunzione di responsabilità in merito all'accuratezza o integrità di qualsiasi parte del lavoro

La raccolta dei dati, la supervisione generale del gruppo di ricerca o la supervisione dello svolgimento dello studio da parte del singolo centro non ne giustifica la paternità. Le pubblicazioni saranno pianificate dal Centro Coordinatore in accordo con gli sperimentatori di tutti i centri partecipanti e definite in un accordo di pubblicazione che sarà approvato da tutti i centri entro 4 settimane dall'inizio dello studio. La pubblicazione di dati parziali o locali dovrà essere approvata dal Centro Coordinatore. In conformità con la prassi editoriale ed etica standard, si sostiene la pubblicazione di studi multicentrici solo nella loro interezza e non come dati di singoli siti.

Figura 6 – GANTT Chart dello studio



Istituto proponente

Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona, Unità Operativa Complessa di Malattie Infettive e Tropicali – descrizione del Centro Coordinatore

L'Università degli Studi di Verona è un'Università pubblica focalizzata su innovazione e ricerca, riconosciuta a livello internazionale nel campo della ricerca sulle malattie biomedicali e infettive. L'Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata è un centro medico da 1.600 posti letto che include tutte le specialità mediche.

La Sezione di Malattie Infettive e Tropicali, all'interno del Dipartimento di Diagnostica e Sanità Pubblica, svolge ampie attività cliniche e di ricerca con un team multidisciplinare che coinvolge più di 80 membri di diverse specialità (Malattie Infettive, Medicina Interna, Microbiologia, Biologia, Statistica, Bio-Statistica, Igiene, Psicologia) coordinando e partecipando a diversi progetti nazionali e internazionali finanziati da svariati enti e società scientifiche (es. OMS, GARDP, IMI, Horizon2020, JPI-AMR, AIFA ed ESCMID). Gli argomenti di ricerca includono la terapia delle infezioni batteriche gravi causate da batteri multiresistenti, la prevenzione delle infezioni associate all'assistenza sanitaria, l'ottimizzazione dei sistemi di sorveglianza, la gestione degli antibiotici, la gestione diagnostica, la trasmissione e il carico della resistenza antimicrobica, le malattie sessualmente trasmissibili e la salute pubblica e, naturalmente, più di recente il COVID-19. La sezione di Malattie Infettive si è classificata unico ente in Italia tra i primi 15 atenei con più progetti finanziati che hanno ottenuto i maggiori finanziamenti dalla Commissione Europea per la ricerca su COVID-19 nell'ambito delle call Horizon2020 (<https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/0ed2d5bf-09de-11eb-bc07-01aa75ed71a1/language-en/format-PDF>).

Nell'ambito della recente ricerca sul COVID-19, la Sezione di Malattie Infettive e Tropicali ha in corso 32 progetti di cui per 7 è Centro Coordinatore. Tra questi, è coordinatore del progetto Horizon2020 ORCHESTRA (*Connecting european cohorts to increase common and effective response to SARS-CoV-2 pandemic*), con un finanziamento complessivo di quasi 20 milioni di euro. La Sezione è Centro Coordinatore Italiano di VACCELERATE (European Corona Vaccine Trial Accelerator Platform), ancora in fase di valutazione per il finanziamento Horizon2020.

Inoltre, il centro di Verona è coordinatore italiano di REVERSE, "*pREvention and management tools for rEducing antibiotic Resistance in high prevalence Settings*", progetto finanziato da Horizon2020 nell'ambito della ricerca su microrganismi antibiotico resistenti, della durata di 60 mesi e con inizio previsto per il prossimo luglio 2021. Inoltre, è partner del progetto ECRAID-Base, finanziato da IMI con l'obiettivo di costituire un network di ricerca clinica sulle malattie infettive.

Breve descrizione del CV dello Sperimentatore responsabile dello studio, Prof.ssa Evelina Tacconelli (vedi CV allegato)

Evelina Tacconelli, autore di oltre 200 articoli elencati in SCI-JCR e NIH Medline, è Direttore della Sezione di Malattie Infettive dell'Ospedale Universitario di Verona, e Responsabile dell'Unità di Ricerca Clinica del Centro Tedesco per la Ricerca sulle Malattie Infettive (DZIF) presso l'Università di Tubinga, Germania. Ha ricoperto vari ruoli di collaborazione e consulenza per OMS: è parte del gruppo di lavoro EML sugli antibiotici (*Essential medicines selection – EML Antibiotics Working Group*); ha coordinato il gruppo di lavoro per la creazione di una lista delle priorità nello sviluppo di nuovi antibiotici efficaci contro batteri resistenti (PPL, *Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics*); ha collaborato al progetto GLASS (*Global Surveillance of Resistant Severe Infections*) volto a valutare i limiti delle stime del carico di infezioni resistenti agli antibiotici nell'ambito del progetto.

Tacconelli ha una lunga esperienza nella partecipazione e nel coordinamento di progetti e reti europee incentrati sulla resistenza agli antimicrobici: è presidente del Comitato Europeo per il Controllo delle Infezioni (EUCIC) e collaboratore dell'ECDC (*European Centre for Disease Control*) per il controllo delle infezioni e la gestione della sorveglianza antimicrobica. Inoltre, è autore delle linee guida ESCMID per la gestione e il controllo delle infezioni dovute a batteri Gram negativi-MDR e delle linee guida EUCIC per la decolonizzazione di gram negativi-MDR. È leader di COMBACTE-Magnet Epi-Net (rete epidemiologica di sorveglianza) e partner del progetto ECRAID (*European Clinical Research Alliance on Infectious Diseases*). Inoltre, è membro del programma JPIAMR (*The Joint Programming Initiative on Antimicrobial Resistance*) network che coinvolge 28 nazioni per fronteggiare l'antibiotico resistenza con un approccio One Health.

Tacconelli è Principal Investigator del progetto ORCHESTRA, finanziato da Horizon2020, che ha l'obiettivo di creare una coorte paneuropea per la definizione di modelli di prevenzione e di terapia efficaci dell'infezione da SARS-CoV-2, per rispondere al bisogno urgente di proteggere la popolazione generale e fornire rapidamente risposte che migliorino l'assistenza alle persone colpite dal **COVID-19**.

Elenco di 10 progetti rilevanti per lo studio proposto

- 1. WHO Solidarity:** Studio controllato e randomizzato internazionale su trattamenti aggiuntivi per Covid-19 in pazienti ospedalizzati che ricevono tutti lo standard di cura locale
Data di inizio: Maggio 2020 (6-12 mesi)
Ruolo nel progetto: Coordinatore nazionale per l'Italia
Sponsor: OMS
- 2. AMMURAVID:** cumulative adaptive, multiarm, multistage and multicentre randomized clinical trial with immunotherapy for Moderate COVID-19
Data di inizio: 6.5.2020 (36 mesi)
Ruolo nel progetto: Coordinatore
Sponsor: AIFA
- 3. ORCHESTRA:** Connecting European Cohorts to Increase Common and Effective Response to SARS-CoV-2 Pandemic
Data di inizio: 1.12.2020 (36 mesi)
Ruolo nel progetto: Coordinatore
Sponsor: Horizon2020
- 4. EU-Response:** European Research and Preparedness Network for Pandemics and Emerging Infectious Diseases
Data di inizio: 1.07.2020 (60 mesi)
Ruolo nel progetto: WP leader
Sponsor: Horizon2020
- 5. ENACT:** Conoscerlo per sconfiggerlo, Alleanza contro COVID-19
Data di inizio: 1.3.2020 (24 mesi)
Ruolo nel progetto: WP leader
Sponsor: Fondazione Cariverona
- 6. REVERSE:** pREvention and management tools for rEducing antibiotic Resistance in high prevalence Settings
Data di inizio: 01-07-2021 (60 mesi)

Ruolo nel progetto: WP leader

Sponsor: Horizon2020

7. SENTINELLA: Identifica, traccia, previeni, cura

Data di inizio: novembre 2020 (12 mesi)

Ruolo nel progetto: Coordinatore

Sponsor: Comune di Verona

8. VACCELARATE: European Corona Vaccine Trial Accelerator Platform

Data di inizio: ancora in fase di valutazione

Ruolo nel progetto: Coordinatore nazionale per l'Italia

Sponsor: Horizon2020

9. ECRAID-BASE: European Clinical Research Alliance on Infectious Diseases

Data di inizio: 1.03.2021 (60 mesi)

Ruolo nel progetto: Partner

Sponsor: Horizon2020

10. TOCIVID-19: Studio multicentrico su efficacia e sicurezza di Tocilizumab nel trattamento di pazienti affetti da polmonite da COVID-19

Data di inizio: marzo 2020 (2 mesi)

Ruolo nel progetto: partner

Sponsor: Istituto Nazionale Tumori, IRCCS, Fondazione G. Pascale – Napoli

Dichiarazione sul conflitto di interessi

Evelina Tacconelli, in qualità di PI dello studio MANTICO, non detiene interessi diretti o indiretti nell'industria farmaceutica negli ultimi 10 anni.

16.1 Piano economico

Il budget, riassunto in tabella 9, è stato sviluppato tenendo conto della forma adattiva del disegno di studio. Tutte le valorizzazioni economiche sono state fatte per la *best guess* del disegno che prevede l'arruolamento ed il follow-up per 4 settimane di circa 1260 soggetti. Il disegno adattivo tuttavia prevede per sua natura oscillazioni significative e va pertanto considerato che la reale spesa può variare effettivamente tra 700.000 e 937.095 euro. Sono stati inoltre tenuti in considerazione i costi di spedizione dei farmaci dal centro coordinatore a tutti i centri partecipanti. **La tabella non include il costo dei farmaci.**

La polizza assicurativa dello studio non è stata inserita sulla base del comma 6 dell'art. 40 del D.L. n. 23 del 8/4/2020. L'overhead non è stato inoltre calcolato. Si richiederà alle Aziende/Università di non applicare overhead per progetto di utilità globale in situazione di emergenza sanitaria.

Tabella 9 - Costi

Voci di costo	Materiale/Attività	Descrizione	n. pazienti	Costo unitario (Euro) per paziente	Costo totale per pazienti	Costi sostenuti dai Centri	Finanziamento richiesto	
A. Costi di Personale	A.1: Personale: 2 CRA per coordinazione	Assegnista di ricerca		35.000,00	--		70.000,00	
	A.2: Personale: statistico analisi studio	Assegnista di ricerca		24.000,00	--		24.000,00	
	A.3: Personale: Farmacista (6 mesi)	Attività organizzativa e coordinazione delle spedizioni ai centri satelliti		23.000,00	--		23.000,00	
B. Costi di Laboratorio	B.1: MOCROMO: Hb, GR, GB, HCT, PLT, IND. DERIV., F. L.. (cod. ministeriale 90.62.2)	Prelievi ematochimici secondo protocollo	5500 (1100 per totale n. 5 ripetizioni)	4,10	22.550			
		Prelievi gg 14, 21, 28	3300				13.530,00	
		Prelievi gg 1, 7	2200			9.020,00		
	B.2: Sierologia (SNIBE, Maglumi (comprende 2 provette, dispositivo prelievo e reagenti))	Prelievi Sierologici gg 1, 7, 14, 28, 30	5500 (1100 per totale n. 5 ripetizioni)	8,90	48.950		48.950	
	B.3: Tampone orofaringeo (cod. ministeriale 91.12.1)	Tampone SARS-CoV-2 secondo protocollo 7, 14, 21, 28	3190*	61,70			0,00	196.823,00
		gg 7, 14: 100% coorte	2200*		135.740			
		gg 21: 60% coorte*;	660*	61,70	40.722			
		gg 28: 30% coorte*;	330*		20.361			

	B.4:ECG (cod. ministeriale 89.52)	ECG secondo protocollo 1 - 7-14	3300 (1100 per n. 3 ripetizioni)	12,55	41.415		
		ECG gg 1;	1100			13.805	
		ECG gg 7 – 14;	2200				27.610,00
	B.5: Costo fisiologica per placebo	Sacca fisiologica per pazienti	1100	0,62	682,00		682,00
	B.6: Pulsiossimetro	Pulsiossimetro	1100	25,00	27.500,00		27.500,00
C. Costi per servizi	C.1: Costi servizio: infermiere (a tutti i centri)	Infermiere (per centro)		10.000,00			200.000,00 **
	C.2: Costo servizio trasporto pazienti (specificare le ipotesi in cui è garantito il servizio.....)	Servizio trasporto auto con autista		300.000,00			300.000,00 **
	C.3: Costi di gestione	Costi di spedizione ai centri satellite		5.000,00	--		5.000,00
	TOTALE					22.825,00 ***	937.095,00

* Campione calcolato su % positività; ** Importo calcolato per tutti i centri; *** Costo totale a carico dei Centri;

BIBLIOGRAFIA

- AA.VV., Criteri di appropriatezza per i setting assistenziali di gestione dei pazienti affetti da Covid-19, 2021
- Agenzia Italiana del Farmaco, “Parere CTS AIFA su anticorpi monoclonali”. 4 Febbraio 2021
- Berry SM, Carlin BP, Lee JJ, et al. Bayesian Adaptive Methods for Clinical Trials. CRC Press, Boca Raton, Florida, 2011. ISBN [9781439825488](#)
- Chen P, Nirula A, Heller B, Gottlieb RL, Boscia J, Morris J, et al. SARS-CoV-2 Neutralizing Antibody LY-CoV555 in Outpatients with Covid-19. *N Engl J Med.* 2021;384(3):229-37
- Deb P, Molla MMA, Rahman KMSU. An update to monoclonal antibody as therapeutic option against COVID-19. *Biosafety and Health* 2021. doi:[10.1016/j.bsheal.2021.02.001](#)
- "DICHIARAZIONE DI HELSINKI" 5° rev. - W.M.A. (Associazione Medica Mondiale) a Edimburgo, Anno 2000 <http://www.informazionisuifarmaci.it/la-dichiarazione-di-helsinki-sulletica-della-ricerca-clinica>
- Dimairo M, Pallmann P, Wason J, et al.; ACE Consensus Group. The adaptive designs CONSORT extension (ACE) statement: a checklist with explanation and elaboration guideline for reporting randomised trials that use an adaptive design. *Trials.* 2020 Jun 17;21(1):528. doi: 10.1186/s13063-020-04334-x. PMID: 32546273; PMCID: PMC7298968.
- Gottlieb RL, Nirula A, Chen P, et al. Effect of Bamlanivimab as Monotherapy or in Combination With Etesevimab on Viral Load in Patients With Mild to Moderate COVID-19: A Randomized Clinical Trial. *JAMA* 2021. doi:10.1001/jama.2021.0202
- Horby PW, Emberson JR. Hydroxychloroquine for COVID-19: Balancing contrasting claims. *Eur J Intern Med.* 2020 Dec;82:25-26. doi: 10.1016/j.ejim.2020.11.018. Epub 2020 Nov 23. PMID: 33243609; PMCID: PMC7682326.
- Istituto Superiore di Sanità, “Epidemia COVID-19, Aggiornamento nazionale - 3 febbraio 2021”
- Lundgren JD, Grund B, Barkauskas CE, Holland TL, Gottlieb RL, Sandkovsky U, et al. A Neutralizing Monoclonal Antibody for Hospitalized Patients with Covid-19. *N Engl J Med.* 2020
- Marshall JC, et al. A minimal common outcome measure set for COVID-19 clinical research. *The Lancet Infectious Diseases*, 2020
- *R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria; 2019*
- Tardif J-C, Bouabdallaoui N, L’Allier PL, Gaudet D, Shah B, Pillinger MH, et al. Efficacy of Colchicine in Non-Hospitalized Patients with COVID-19. medRxiv. 2021:2021.01.26.21250494.
- U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration (FDA), “Assessing COVID-19-Related Symptoms in Outpatient Adult and Adolescent Subjects in Clinical Trials of Drugs and Biological Products for COVID-19 Prevention or Treatment. Guidance for Industry”. September 2020
- U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration (FDA), “COVID-19: Developing Drugs and Biological Products for Treatment or Prevention Guidance for Industry”. May 2020
- Weinreich DM, Sivapalasingam S, Norton T, Ali S, Gao H, Bhore R, et al. REGN-COV2, a Neutralizing Antibody Cocktail, in Outpatients with Covid-19. *N Engl J Med.* 2021;384(3):238-51.
- WHO Solidarity Trial Consortium, Pan H, Peto R, Henao-Restrepo AM, et al. Repurposed Antiviral Drugs for Covid-19 - Interim WHO Solidarity Trial Results. *N Engl J Med.* 2021 Feb 11;384(6):497-511. doi: 10.1056/NEJMoa2023184. Epub 2020 Dec 2. PMID: 33264556; PMCID: PMC7727327.

Appendice 1

Soggetti candidabili a ricevere i trattamenti con anticorpi monoclonali anti SARS-CoV-2 bamvianivimab 700 mg e casirivimab/imdevimab in base alle indicazioni espresse dalla commissione tecnico-scientifica (CTS) dell'agenzia italiana del farmaco (AIFA) in data 04/02/2021

Soggetti positivi per SARS-CoV-2 non ospedalizzati per COVID-19, non in ossigenoterapia per COVID-19, con sintomi di grado lieve-moderato di recente insorgenza (e comunque da non oltre 10 giorni) e presenza di almeno uno dei fattori di rischio (o almeno 2 se uno di essi è l'età >65 anni) elencati qui di seguito:

- Body Mass Index (BMI) ≥ 30
- Malattia renale cronica
- Diabete non controllato
- Immunodeficienze primitive o secondarie
- >65 anni più almeno un fattore di rischio
- ≥ 55 anni con
 - malattia cardio-cerebrovascolare (inclusa ipertensione con concomitante danno d'organo)
 - BPCO e/o altre malattie respiratorie croniche
- 12-17 anni con
 - BMI ≥ 85 esimo percentile per età e genere
 - anemia falciforme
 - malattie cardiache congenite o acquisite
 - malattia del neurosviluppo
 - dipendenza da dispositivo tecnologico (es. soggetti con tracheotomia, gastrostomia, ...)
 - asma, o altre malattie respiratorie che richiedono medicazioni giornaliere per il loro controllo

APPENDICE 2

Questionario sulla Salute EuroQuol - five domain questionnaire - five level response (EQ-5D-5L) e EuroQuol-Visual Analog Scale (EQ-VAS)

CAPACITÀ DI MOVIMENTO

- Nessuna difficoltà nel camminare
- Lievi difficoltà nel camminare
- Moderate difficoltà nel camminare
- Gravi difficoltà nel camminare
- Non in grado di camminare

CURA DELLA PERSONA

- Nessuna difficoltà nel lavarsi o vestirsi
- Lievi difficoltà nel lavarsi o vestirsi
- Moderate difficoltà nel lavarsi o vestirsi
- Gravi difficoltà nel lavarsi o vestirsi
- Non in grado di lavarsi o vestirsi

ATTIVITÀ ABITUALI (*per es. lavoro, studio, lavori domestici, attività familiari o di svago*)

- Nessuna difficoltà nello svolgimento delle attività abituali
- Lievi difficoltà nello svolgimento delle attività abituali
- Moderate difficoltà nello svolgimento delle attività abituali
- Gravi difficoltà nello svolgimento delle attività abituali
- Non in grado di svolgere le attività abituali

DOLORE O FASTIDIO

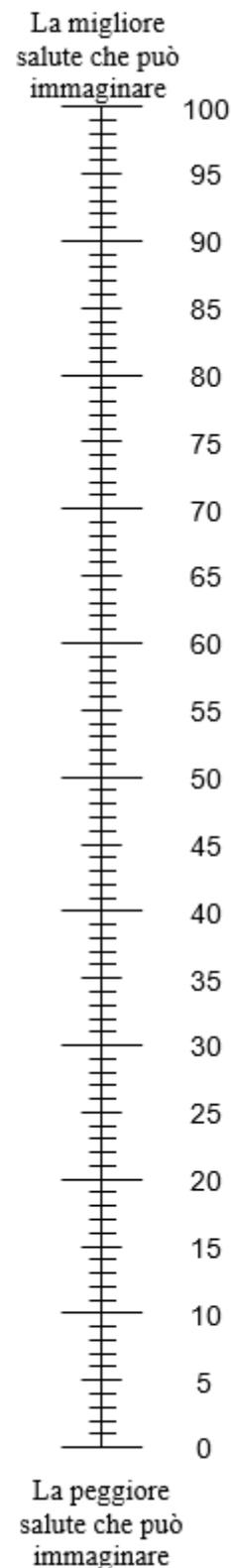
- Nessun dolore o fastidio
- Lieve dolore o fastidio
- Moderato dolore o fastidio
- Grave dolore o fastidio
- Estremo dolore o fastidio

ANSIA O DEPRESSIONE

- Per niente ansioso/a o depresso/a
- Lievemente ansioso/a o depresso/a
- Moderatamente ansioso/a o depresso/a
- Gravemente ansioso/a o depresso/a
- Estremamente ansioso/a o depresso/a

- Vorremmo sapere quanto ritiene sia buona o cattiva la salute del soggetto *(inserire il nome della persona di cui viene valutata la salute, per es. Sig. Rossi o Paola)* OGGI.
- Questa è una scala numerata che va da 0 a 100.
- 100 rappresenta la migliore salute che può immaginare.
0 rappresenta la peggiore salute che può immaginare.
- Segni una X sul punto della scala per indicare quanto ritiene sia buona o cattiva la salute del soggetto *(inserire il nome della persona di cui viene valutata la salute, per es. Sig. Rossi o Paola)* OGGI.
- Poi, scriva nella casella qui sotto il numero che ha segnato sulla scala numerata.

LA SALUTE DEL SOGGETTO OGGI



APPENDICE 3

Definizioni relative alla farmacovigilanza

Evento avverso (AE): qualsiasi evento clinico dannoso che si manifesta in un paziente o in un soggetto della sperimentazione clinica cui è stato somministrato un medicinale, e che non ha necessariamente un rapporto causale con questo trattamento (Direttiva 2001/20/CE, art. 2 definizioni). Un evento avverso può pertanto essere un segno nocivo e non desiderato (compreso un risultato anomalo di esami di laboratorio), un sintomo o una malattia concomitanti all'impiego di un medicinale ma non necessariamente collegati al medicinale (Linee Guida CT-3, Sez 4 (23) 24, Giugno 2011).

Evento avverso o reazione avversa grave: qualsiasi evento avverso o reazione avversa che, a prescindere dalla dose,

- ha esito fatale
- mette in pericolo di vita il soggetto
- richiede un ricovero ospedaliero oppure prolunga il ricovero in corso
- comporta un'invalità o un'incapacità grave o prolungata
- è un'anomalia congenita o un difetto alla nascita (Direttiva 2001/20/CE art. 2 definizioni (q))
- rappresenta un importante evento clinico (Linee Guida CT-3, Sezione 4, 2011).

Medicinale sperimentale (IMP): una forma farmaceutica di un principio attivo o di un placebo saggiato come medicinale sperimentale o come controllo in una sperimentazione clinica, compresi i medicinali che hanno già ottenuto un'autorizzazione di commercializzazione, ma – che sono utilizzati o preparati (secondo formula magistrale o confezionati) in forme diverse da quella autorizzata, – o quando sono utilizzati per indicazioni non autorizzate – o per ottenere ulteriori informazioni sulla forma autorizzata.

Promotore: una persona, società, istituzione oppure un organismo che si assume la responsabilità di avviare, gestire e/o finanziare una sperimentazione clinica.

Reazione avversa (AR): qualsiasi reazione dannosa e indesiderata a un medicinale in fase di sperimentazione, indipendentemente dalla dose somministrata, D.Lvo 211/2003, art.2 (p) compresi anche gli errori di medicazione e le utilizzazioni non previste nel protocollo compresa la cattiva utilizzazione o l'abuso del prodotto. La definizione suggerisce la ragionevole eventualità di un nesso causale tra l'evento e il medicinale sperimentale. Ciò significa che esistono fatti (prove) o argomenti che suggeriscono un nesso di causalità (Linee Guida CT-3, Sez 7 (43-45), 2011).

Reazione Avversa Inattesa (SAR): reazione avversa la cui natura o severità (*severity*-termine usato per indicare l'intensità dell'evento) o gravità non concorda con le informazioni applicabili sul medicinale:

- il dossier per lo sperimentatore per un medicinale in sperimentazione non autorizzato all'immissione in commercio;
- o il riassunto delle caratteristiche del prodotto (RCP) per un medicinale autorizzato e che viene utilizzato in conformità alle condizioni di tale autorizzazione (D.Lvo 211/2003. art.2 (r) - Linee Guida CT-3, Sez 7 (48), 2011).

Sperimentatori: il medico o la persona che esercita una professione riconosciuta nello Stato membro ai fini della ricerca a causa delle conoscenze scientifiche e dell'esperienza in materia di trattamento dei pazienti che richiede. Lo sperimentatore è responsabile dell'esecuzione della sperimentazione clinica in un dato sito. Se la sperimentazione è svolta da un gruppo di persone nello stesso sito, lo sperimentatore è il responsabile del gruppo e può essere pertanto definito «sperimentatore principale».

SUSAR: ogni sospetta reazione avversa grave e inattesa (*Suspected Unexpected Serious Adverse Reaction*) correlata all'IMP (medicinale in studio o di confronto), che si verifica in uno studio clinico interventistico.

APPENDICE 4

Formato CIOMS per la segnalazione di SUSAR

CIOMS FORM

SUSPECT ADVERSE REACTION REPORT	

I. REACTION INFORMATION

1. PATIENT INITIALS (first, last)	1a. COUNTRY	2. DATE OF BIRTH			2a. AGE	3. SEX	4-6 REACTION ONSET			8-12 CHECK ALL APPROPRIATE TO ADVERSE REACTION
		Day	Month	Year	Years		Day	Month	Year	
7 + 13 DESCRIBE REACTION(S) (including relevant tests/lab data)										<input type="checkbox"/> PATIENT DIED <input type="checkbox"/> INVOLVED OR PROLONGED INPATIENT HOSPITALISATION <input type="checkbox"/> INVOLVED PERSISTENCE OR SIGNIFICANT DISABILITY OR INCAPACITY <input type="checkbox"/> LIFE THREATENING

II. SUSPECT DRUG(S) INFORMATION

14. SUSPECT DRUG(S) (include generic name)		20. DID REACTION ABATE AFTER STOPPING DRUG? <input type="checkbox"/> YES <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> NA
15. DAILY DOSE(S)	16. ROUTE(S) OF ADMINISTRATION	
17. INDICATION(S) FOR USE		21. DID REACTION REAPPEAR AFTER REINTRODUCTION? <input type="checkbox"/> YES <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> NA
18. THERAPY DATES (from/to)	19. THERAPY DURATION	

III. CONCOMITANT DRUG(S) AND HISTORY

22. CONCOMITANT DRUG(S) AND DATES OF ADMINISTRATION (exclude those used to treat reaction)
23. OTHER RELEVANT HISTORY (e.g. diagnostics, allergics, pregnancy with last month of period, etc.)

IV. MANUFACTURER INFORMATION

24a. NAME AND ADDRESS OF MANUFACTURER		
	24b. MFR CONTROL NO.	
24c. DATE RECEIVED BY MANUFACTURER	24d. REPORT SOURCE <input type="checkbox"/> STUDY <input type="checkbox"/> LITERATURE <input type="checkbox"/> HEALTH PROFESSIONAL	
DATE OF THIS REPORT	25a. REPORT TYPE <input type="checkbox"/> INITIAL <input type="checkbox"/> FOLLOWUP	