

# Lettera di intenti

**Titolo del progetto:** Studio prospettico per la valutazione dell'efficacia e sicurezza della vaccinazione anti-Sars-CoV-2 in una coorte di pazienti affetti da Lupus Eritematoso Sistemico

**Titolo breve** (max 50 characters): la vaccinazione anti-Sars-CoV-2 in una coorte di pazienti affetti da Lupus Eritematoso Sistemico

## Coordinatore scientifico:

Nome e Cognome: **Immacolata Prevete**

Istituzione di appartenenza: **U.O.C. Reumatologia, A.O. San Camillo-Forlanini, Roma**

Qualifica professionale: Dirigente Medico di I livello

Indirizzo: Circonvallazione Gianicolense 87, Roma

Telefono numero: 0658703456

Fax numero: 0658704218

E-mail: iprevete@scamilloforlanini.rm.it

## Elenco delle Unità di Ricerca:

1. U.O.C. Reumatologia, A.O. San Camillo-Forlanini, Roma (Direttore Prof. Gian Domenico Sebastiani)
2. Translational Research Unit Department of Epidemiology and Preclinical Research National Institute for Infectious Diseases L. Spallanzani, Roma (Head Dottssa Delia Goletti)

## Riassunto (max 2.000 caratteri)

### 1. Background

La pandemia da SARS-CoV-2 e la conseguente campagna vaccinale hanno avuto un notevole impatto sui pazienti affetti da Lupus Eritematoso Sistemico (LES), in particolare per le terapie in atto e l'eventualità di effetti collaterali o peggioramenti dello stato di malattia. Questi pazienti per le caratteristiche della malattia e per l'effetto dei farmaci, presentano un'aumentata suscettibilità alle infezioni, ma anche una risposta teoricamente minore ai vaccini. Inoltre, qualunque stimolazione del sistema immunitario, inclusi i vaccini, può causare una riacutizzazione del LES. Appare di fondamentale importanza valutare nei pazienti affetti da LES l'efficacia, la sicurezza e la durata nel tempo della copertura vaccinale specialmente nell'ottica di una possibile rivaccinazione di questi pazienti ad alto rischio.

### 2. Obiettivi

Valutare nei pazienti con LES, in terapia immunosoppressiva e non, rispetto ad una popolazione di controllo, sottoposti a vaccinazione anti-SARS-CoV-2:

**1. efficacia, entità e durata immunoprotettiva** dei vaccini, ovvero: il tasso di siero-conversione e le eventuali differenze

2. il profilo di **sicurezza e tollerabilità** del vaccino, ovvero: l'eventuale comparsa di reazioni al vaccino e riacutizzazioni (flares) di malattia.

### 3. Metodi

Studio osservazionale prospettico che prevede l'arruolamento di 100 pazienti affetti da LES e 200 controlli vaccinati per Sars-CoV-2; valuteremo gli eventi avversi correlabili al vaccino e l'attività di malattia mediante controllo ambulatoriale (anamnesi, esame obiettivo, esami bio-umorali, questionari validati). Inoltre, misureremo l'immunità specifica (umorale e T-cellulare) per valutare comparsa, entità e durata nel tempo della risposta immunitaria stessa.

### 4. Risultati attesi

Lo studio fornirà i connotati di **sicurezza, immunogenicità ed efficacia nel tempo** dei vaccini nei pazienti affetti da LES, nonché eventuali **fattori prognostici** permettendo di migliorare la gestione di questo particolare gruppo di pazienti.

## Informazioni relative al Responsabile Scientifico del Progetto

*Breve curriculum vitae*

### **Immacolata Prevete**

Laureata in Medicina e Chirurgia presso la Seconda Università degli Studi di Napoli, SUN il 23/07/2004 con Tesi Sperimentale in Medicina Interna: *Anomalie del Balance neurovegetativo nei pazienti adulti con beta-talassemia major* con voto 109/110.

Abilitazione all'esercizio professionale II sessione 2004 presso l'Università di Napoli. Iscritta all'Ordine dei Medici e Chirurghi di Napoli dal 2005 e per trasferimento dal 2013 all'Ordine dei Medici di Roma.

Diploma di Specializzazione in Reumatologia presso l'Università di Napoli Federico II con voto 50/50 e lode. IV anno della Specializzazione in Reumatologia in rete formativa presso l'UOC di Reumatologia dell'Azienda Ospedaliera San Camillo-Forlanini di Roma.

Svolge attività assistenziale e di ricerca presso l'UOC di Reumatologia dell'Azienda Ospedaliera San Camillo-Forlanini di Roma dal 2010.

Corso di perfezionamento anno accademico 2012/2013 in 'Revisioni narrative e revisioni sistematiche: come pubblicare nelle riviste con Impact Factor' presso l'Istituto Mario Negri di Milano organizzato dall'Università degli Studi di Milano in collaborazione con la Cochrane Collaboration (con superamento esame finale).

Discussione Tesi dal titolo: *Aspetti patogenetici dell'Artrite Reumatoide*. Master di II livello in "Clinical problem Solving in Reumatologia" presso Università UNICUSANO, Roma- Anno accademico 2014-2015, (1500 ore CFU 60)

Master di II livello in Biostatistica ed Epidemiologia, presso l'UNIVERSITÀ BICOCCA di Milano (IN CORSO)

Autrice o coautrice di n° 24 Pubblicazioni.

Dirigente di I livello a tempo indeterminato, disciplina Reumatologia, presso l'UOC di Reumatologia

dell'Azienda Ospedaliera San Camillo-Forlanini di Roma. *Incarico professionale sulla gestione diretta dei pazienti affetti da lupus eritematoso sistemico.*

*Pubblicazioni* (fino a 5 attinenti all'area tematica del Progetto)

1) Baseline characteristics of systemic lupus erythematosus patients included in the Lupus Italian Registry of the Italian Society for Rheumatology. Sebastiani, G.D., Spinelli, F.R., Bartoloni, E., ...Conti, F., Doria, A. *Lupus*, 2021, 30(8), pp. 1233–1243

2) Comparative study between two european inception cohorts of patients with early systemic lupus erythematosus Prevece, I., Espinosa, G., Bellisai, F., ...Ruiz-Irastorza, G., Sebastiani, G.D. *Clinical and Experimental Rheumatology* [this link is disabled](#), 2020, 38(5), pp. 925–932

3) Risk factors of damage in early diagnosed systemic lupus erythematosus: Results of the Italian multicentre Early Lupus Project inception cohort Piga, M., Floris, A., Sebastiani, G.D., ...Scirè, C.A., Mathieu, A. *Rheumatology (United Kingdom)* [this link is disabled](#), 2020, 59(9), pp. 2272–2281

4) The Importance of an Early Diagnosis in Systemic Lupus Erythematosus. Sebastiani GD, Prevece I, Iuliano A, Minisola G. *Isr Med Assoc J.* 2016 Mar-Apr;18(3-4):212-5.

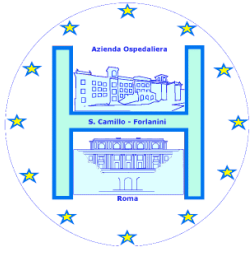
5) Early Lupus Project: one-year follow-up of an Italian cohort of patients with systemic lupus erythematosus of recent onset. Sebastiani GD, Prevece I, Iuliano A, Piga M, Iannone F, Coladonato L, Govoni M, Bortoluzzi A, Mosca M, Tani C, Doria A, Iaccarino L, Tincani A, Fredi M, Conti F, Spinelli FR, Galeazzi M, Bellisai F, Zanetti A, Carrara G, Scirè CA, Mathieu A. *Lupus.* 2018 Aug;27(9):1479-1488. doi: 10.1177/0961203318777112. Epub 2018 May 19.

**Breve descrizione del contributo specifico di ogni Unità di Ricerca** (max 1.400 caratteri per ciascuna Unità di Ricerca)

1. U.O.C. Reumatologia, A.O. San Camillo-Forlanini, Roma (Direttore Prof. Gian Domenico Sebastiani): reclutamento e valutazione clinica e terapeutica dei pazienti affetti da LES
2. Translational Research Unit Department of Epidemiology and Preclinical Research National Institute for Infectious Diseases L. Spallanzani, Roma (Head Dottssa Delia Goletti): ricezione e lavorazione dei campioni di sangue per lo studio dell'immunità specifica anti-SARS-Cov-2 (umorale e T-cellulare) raccolti presso il centro promotore. Misure immunometriche e studi in vitro

**Costo orientativo del Progetto/Provisional cost of the Project**

Per la realizzazione di questo progetto si programma una spesa complessiva di euro **30.000.**



AZIENDA OSPEDALIERA SAN CAMILLO-FORLANINI  
OSPEDALE SAN CAMILLO  
U.O.C. DI REUMATOLOGIA  
*Direttore: Prof. G.D. Sebastiani*

*CIRCONVALLAZIONE GIANICOLENSE N. 87  
00152 ROMA  
tel. 06.58703456 - 4567 - Fax 06.58704218*

*Protocollo:*

## **Titolo**

Studio prospettico per la valutazione dell'efficacia e sicurezza della vaccinazione anti-Sars-CoV-2 in una coorte di pazienti affetti da Lupus Eritematoso Sistemico

## **1. Premesse e obiettivi**

La pandemia da SARS-CoV-2 e la conseguente campagna vaccinale hanno avuto un notevole impatto sui pazienti affetti da Lupus Eritematoso Sistemico (LES); infatti, molte perplessità sono sorte riguardo la necessità di sospendere o meno le terapie in corso e sulle possibili interazioni delle stesse con la vaccinazione. Ulteriori dubbiosità sono state poste sulla reale convenienza del vaccino, l'eventualità di reazioni avverse o di peggioramenti/recrudescenze dello stato di malattia. D'altro canto, l'esistenza stessa di una campagna di vaccinazione comporta la necessità di programmare un monitoraggio "sul campo" (post-approval) nei termini di sicurezza ed efficacia, inclusa la tematica della entità, tipologia e durata della risposta immunitaria indotta dal vaccino.

Al momento non è possibile trarre alcuna conclusione in quanto non solo la pandemia e la campagna vaccinale sono ancora in corso ma, inoltre, scarseggiano in letteratura dati conclusivi riguardanti il rapporto tra pazienti affetti da LES e vaccinazione. Appare, dunque, di fondamentale importanza sanitaria e scientifica valutare quanto sopra esposto.

I pazienti con malattie infiammatorie croniche immuno-mediate rappresentano una popolazione particolarmente adatta a verificare l'efficacia protettiva del vaccino e i correlati di protezione in quanto sottoposti ad una sorveglianza sanitaria minuziosa presso i centri reumatologici facilitante un'ottimale aderenza a protocolli standardizzati.

I pazienti affetti da LES presentano un'aumentata suscettibilità ed un rischio significativamente maggiore di contrarre infezioni (RR = 2.96), viste sia le caratteristiche proprie di malattia come la disregolazione dell'immunità umorale (anticorpale) che cellulare (linfocitaria) che per l'effetto dei

farmaci immunosoppressori. Esse rappresentano circa il 25-50% delle cause di morte nei pazienti con LES nonché importanti cause di ospedalizzazione e morbilità.

Inoltre, inducendo un quadro infiammatorio e stimolando il sistema immunitario, possono essere foriere di una riacutizzazione di malattia; molto spesso, infatti, è di fondamentale importanza distinguere un quadro infettivo acuto da un flare.

Le cause dell'aumentato rischio infettivo e delle complicanze ad esso legato sono da attribuirsi alla presenza di comorbidità (ad esempio: diabete, cardiopatie) ed all'età avanzata, ma soprattutto alle caratteristiche intrinseche alla patologia quali un'alterata risposta cellulare ed umorale nonché alle conseguenze della terapia immunosoppressiva.

Alcune terapie, in particolare i corticosteroidi ad alto dosaggio, gli anticorpi monoclonali anti-CD20 (Rituximab) e anti-BLyS (Belimumab) sembrano influenzare negativamente la risposta ad alcuni vaccini quali l'anti-influenzale e anti-pneumococcico. Per quanto concerne l'infezione da SARS-CoV-2, attualmente non è possibile trarre alcuna conclusione dal momento che la pandemia è ancora in corso e pochi sono i dati disponibili in letteratura. Pertanto, valutare l'efficacia e la sicurezza ma anche la durata della copertura vaccinale anti-SARS-CoV-2 nei pazienti affetti da LES, sia nei riguardi dell'immunità umorale che cellulare, appare di grande interesse sanitario e scientifico per ottimizzare la gestione clinica di questi pazienti durante la pandemia COVID-19 ed in vista di una possibile rivaccinazione di questi pazienti ad alto rischio.

### **Obiettivo primario**

Valutare nei pazienti affetti da Lupus Eritematoso Sistemico rispetto alla popolazione di controllo, appaiata per sesso ed età, sottoposti a vaccinazione anti-SARS-CoV-2:

1. **l'efficacia** immunoprotettiva dei vaccini anti-Sars-Cov-2, ovvero: il tasso di siero-conversione e le eventuali differenze tra i pazienti in terapia immunosoppressiva e non al momento della vaccinazione;
2. il profilo di **sicurezza** e tollerabilità del vaccino, ovvero: l'eventuale comparsa di reazioni al vaccino e di **riacutizzazioni** (flares) di malattia.

### **Obiettivi secondari:**

Valutare:

1. L'incidenza di infezione da SARS-CoV-2 nella popolazione studiata;
2. L'entità e durata della risposta umorale specifica, ovvero la presenza degli anticorpi;
3. L'entità e durata della risposta cellulare specifica (linfociti T);
4. L'eventuale differenza in numero e frequenza delle reazioni avverse correlabili al vaccino;
5. L'eventuale differente risposta, umorale e cellulare, nei pazienti con immunità naturale, ovvero precedente infezione da SARS-CoV-2, rispetto a quelli con immunità acquisita tramite vaccinazione; nonché le eventuali differenze nei pazienti con pregressa infezione e successivamente vaccinati;

6. L'eventuale differente durata dell'immunità, sia naturale che acquisita, tra i soggetti affetti da LES e la popolazione di controllo sana;
7. l'eventuale differenza in numero e frequenza degli effetti collaterali correlabili al vaccino (reazioni avverse, ecc...) tra i soggetti affetti da LES e la popolazione di controllo sana;
8. la differente severità di infezione da SARS-CoV-2 in base alla terapia immunosoppressiva praticata.

## **2. Ricadute cliniche**

Lo studio fornirà i connotati non solo di immunogenicità, sicurezza ed efficacia del vaccino ma potrà mettere in luce anche eventuali fattori prognostici positivi o negativi in grado di influenzare i connotati sopra descritti. Di conseguenza, si potranno ottenere dati per prevedere la risposta immunogenica dei vaccini, ma anche quali pazienti sono a rischio di effetti collaterali secondari alla vaccinazione e quali, inoltre, potrebbero con più facilità sviluppare un peggioramento di malattia. Altri dati, di fondamentale importanza, riguarderanno la risposta a breve, ma anche a lungo termine dei pazienti affetti da LES ai vaccini, nonché la durata della copertura vaccinale in questo particolare gruppo di soggetti.

Quanto sopra elencato permetterà di migliorare la gestione delle necessità dei pazienti affetti da LES.

## **3. Materiali e metodi dello studio**

### **3.1 Disegno dello studio:**

Si tratta di uno studio osservazionale prospettico, monocentrico, su adesione volontaria. La popolazione in studio è rappresentata dai pazienti affetti da LES, afferenti alla LUPUS clinic della U.O.C. Reumatologia dell'A.O. San Camillo – Forlanini di Roma (centro promotore), di entrambi i sessi con età compresa tra 18 e 70 anni.

Si specifica che lo studio è in corso di sottomissione al Comitato Etico per l'approvazione.

### **3.2 Popolazione dello studio:**

Per lo studio ci si propone di arruolare consecutivamente i primi 100 pazienti con LES sottoposti a vaccinazione (gruppo target) che sottoscriveranno l'adesione allo studio e che verranno confrontati con una popolazione di 200 soggetti sani (gruppo controllo) sottoposti a vaccinazione. L'opportunità di estendere l'arruolamento sarà valutata durante il corso dello studio.

Nello specifico il "**Gruppo target**" sarà composto da:

pazienti sottoposti a vaccinazione anti-SARS-CoV-2 affetti da LES. Saranno identificati i seguenti sotto-gruppi:

1. Pazienti in terapia immunosoppressiva con:

- 1a. Farmaco biologico Belimumab, con o senza cDMARD e/o glucorticoidi;

- 1b. cDMARD e/o glucorticoidi a dosaggio equivalente di prednisone >7,5mg/die;
- 1c. Glucorticoidi orali da soli a dosaggio equivalente di prednisone >7,5mg/die.

2. Pazienti non in terapia immunosoppressiva intesa come:

- 2a. Nessuna terapia;
- 2b. Prednisone a dosaggio equivalente <7,5mg/die e/o idrossiclorochina;
- 2c. Idrossiclorochina (Plaquenil)

Il **“Gruppo di controllo”** sarà composto da una coorte di operatori sanitari sottoposti a vaccinazione anti Sars-Cov-2 non affetti da patologie reumatologiche. Questa coorte di soggetti è disponibile grazie allo studio svolto dall'“Istituto nazionale malattie infettive L. Spallanzani”.

**3.3 Durata dello studio:** 24 mesi

**3.4 Procedure dello studio:**

**3.4.1 Criteri di arruolamento:**

Verranno arruolati consecutivamente i primi 100 pazienti con LES sottoposti a vaccinazione (gruppo target) che sottoscriveranno l'adesione allo studio. Saranno arruolati pazienti di entrambi i sessi con età compresa tra 18 e 70 anni, con diagnosi di LES in accordo ai criteri classificativi ACR (1997) o SLICC (2011) o EULAR/ACR (2019), in follow-up presso la “Lupus clinic” dell'U.O.C. Reumatologia dell'A.O. San Camillo-Forlanini di Roma (centro promotore).

**3.4.2 Criteri di esclusione**

1. Pazienti affetti da LES non vaccinati;
2. Pazienti affetti da Connettiviti Overlap
3. Pazienti con età < 18 o > 70 anni;
4. LES in fase di elevata attività di malattia indicata con SLEDAI-2K >10;
5. Pazienti trattati con Rituximab da meno di 12 mesi;
6. Pazienti con comorbidità neoplastica;
7. Pazienti in gravidanza o allattamento;
8. Pazienti con epatopatia moderata-grave (Child-Pugg  $\geq$ B);
9. Pazienti con insufficienza renale grave (eGFR < 15ml/min);
10. Pazienti in trattamento con immunoglobuline.

**3.5 Metodi**

Nella popolazione in studio si valuterà l'**efficacia** immunoprotettiva dei vaccini anti-Sars-Cov-2 ed i profili di **sicurezza** e tollerabilità degli stessi. Al fine di completare gli obiettivi preposti verrà effettuata una raccolta dati in un database specifico e, successivamente, un'analisi dedicata.

I pazienti aderenti allo studio verranno valutati ad intervalli regolari così stabiliti: a 2 e 6 mesi dopo la prima dose di vaccino e successivamente ogni 6 mesi; suddette tempistiche sono coincidenti con

le consuete visite di follow-up. Ad ogni visita di follow-up ciascun paziente verrà esaminato sia dal punto di vista clinico che laboratoristico al fine di perfezionare una valutazione completa dello stato di malattia. Inoltre, a ciascuno degli intervalli sovra elencati, ogni paziente sarà sottoposto ad un prelievo ematico al fine di studiare l'immunità specifica indotta dalla risposta immunitaria al vaccino (si veda paragrafo 3.5.2); tale studio avverrà presso il laboratorio di ricerca traslazionale dell'Istituto Nazionale per le Malattie Infettive L. Spallanzani-IRCCS di Roma.

Inoltre, secondo particolari necessità, come ad esempio un'infezione da Sars-CoV-2, ciascun paziente, a richiesta, potrà essere sottoposto a visite eccezionali non pianificate ("unscheduled"); si specifica che durante tali visite non verranno raccolti campioni ematici.

### **3.5.1 Valutazione dello stato di malattia**

La valutazione dello stato di malattia, finalizzata a misurarne l'attività, avverrà tramite una valutazione clinico-anamnestica e laboratoristica. La prima sarà effettuata raccogliendo un approfondito raccordo anamnestico, effettuando un esame obiettivo completo ed utilizzando scale internazionalmente validate (PGA, SLEDAI-2K, SELENA-SLEDAI, SLEDAI flare index; allegati). Allo stesso modo, la valutazione laboratoristica comprenderà esami ematochimici (emocromo, funzionalità epatica e renale, esame urine con sedimento, protidogramma, VES, PCR, C3 e C4) ed esami auto-immunitari (ANA, anti-dsDNA, Lupus anticoagulant, anti-B2-GlicoProteina1 e anti-cardiolipina); tali esami saranno esibiti dal paziente in quanto già previsti per le ordinarie visite di follow-up.

Inoltre, ad ogni partecipante allo studio verranno somministrati due questionari (allegati 1 e 2):

- un "questionario vaccinazione" esclusivamente durante la prima visita (T1) indirizzato a valutare gli eventuali sintomi correlabili alla vaccinazione ed il loro sviluppo temporale e intensità nel periodo successivo alla vaccinazione stessa;
- un "questionario COVID", ad ogni visita e finalizzato ad indagare l'insorgenza di eventuali sintomi compatibili con l'infezione da Sars-CoV-2, precedenti tamponi per diagnosi antigenica/molecolare e l'eventuale malattia derivante (COVID-19) e la sua gravità.

	<b>T1 2 mesi dopo la prima somministrazione del vaccino</b>	<b>T2 6 mesi dopo la prima somministrazione del vaccino</b>	<b>T3, T4, T5 Rispettivamente: 12,18 24 mesi dopo la prima somministrazione del vaccino</b>
<b>Visita e raccolta anamnestica</b>	X	X	X
<b>Valutazione attività di malattia*</b>	X	X	X
<b>Esame obiettivo</b>	X	X	X
<b>Prelievo ematico:</b>			



<b>1. Per risposta T cellulare</b>	<b>X</b>	<b>X</b>	<b>X</b>
<b>2. Per la risposta anticorpale</b>	<b>X</b>	<b>X</b>	<b>X</b>
<b>3. Per gli esami ematochimici**</b>	<b>X</b>	<b>X</b>	<b>X</b>
<b>4. Per gli esami auto-anticorpali***</b>	<b>X</b>	<b>X</b>	<b>X</b>
<b>Questionario vaccinazione</b>	<b>X</b>		
<b>Questionario COVID</b>	<b>X</b>	<b>X</b>	<b>X</b>
<b>Visita unscheduled</b>	<b>Secondo necessità</b>		

Tabella 1.

\*Mediante compilazione di questionari validati internazionalmente: SLEDAI-2K, SELENA-SLEDAI.

\*\* Emocromo, funzionalità epatica e renale, esame urine con sedimento, protidogramma C3, C4, VES e PCR.

\*\*\* ANA, anti-dsDNA, Lupus anticoagulant, anti-B2-GlicoProteina 1 e anti-cardiolipina.

I campioni di sangue per lo studio dell'immunità specifica anti-SARS-Cov-2 (umorale e T-cellulare) saranno raccolti presso il centro promotore e contestualmente inviati al laboratorio dell'INMI L. Spallanzani per l'immediata valutazione della risposta umorale e T-cellulare. Un'aliquota di siero verrà conservata a -80°C per eventuali successivi test.

### **3.5.2 Test per valutare comparsa, entità e durata della risposta immunitaria specifica, ovvero: umorale (anticorpi) e cellulare (linfociti T).**

Lo studio dell'immunità umorale verrà eseguito monitorando gli anticorpi specifici (IgG) mediante saggi immunometrici e, nei soggetti che presenteranno anticorpi, mediante la misura del titolo neutralizzante. Per lo studio dell'immunità cellulo-mediata, le attività si svilupperanno attraverso il monitoraggio della risposta dei linfociti T a stimolazione in vitro con pool di peptidi derivanti dagli antigeni virali (N e S).

#### **Misura dell'immunità umorale (anticorpi):**

Metodo immunometrico. Il siero dei soggetti inclusi nella sperimentazione sarà sottoposto a un doppio test immunometrico per la misura degli anticorpi contro la proteina N (testimonianza di infezione naturale) e degli anticorpi contro la proteina S (attesi positivi sia nell'infezione naturale che a seguito di vaccinazione). I test che saranno utilizzati saranno ad elevata automazione e concordati con il coordinamento centrale di laboratorio.

Anticorpi neutralizzanti.

Soltanto i campioni che presentano anticorpi contro la glicoproteina S saranno testati per la misura del loro titolo neutralizzante, utilizzando una metodica standardizzata e condivisa presso tutti i laboratori della rete NeuCoVNet.

#### **Misura dell'immunità cellulare (linfociti T).**

La valutazione dell'immunità cellulo-mediata sarà effettuata mediante utilizzo di un test su sangue intero che misura la presenza di cellule T linfocitarie antigene-specifiche attraverso la rilevazione

delle citochine rilasciate dopo stimolazione specifica. Il test non è commercialmente disponibile, ma usa un pool di peptidi commerciali ed è facilmente standardizzabile, in modo da renderlo trasferibile in un contesto multicentrico. Diversi studi effettuati su pazienti con infezione acuta da SARS-CoV-2 o in fase di convalescenza hanno infatti dimostrato come sia possibile quantificare la risposta T specifica mediante questo tipo di approccio, che ha il vantaggio di poter essere eseguito in maniera semplice e riproducibile direttamente su sangue intero. In particolare, il campione di sangue dei pazienti affetti da LES sottoposti a vaccinazione verrà raccolto in provette contenenti eparina a 2, 6, 12, 18 e 24 mesi dalla prima somministrazione del vaccino (si veda la Tabella sopra riportata). Successivamente il campione di sangue sarà stimolato per 18-24 ore con:

- nulla (controllo negativo)
- pool di peptidi derivati dalla proteina Spike (S);
- pool di peptidi derivati dalla proteina Nucleocapside (N);
- mitogeno (SEB) (controllo positivo).

Il campione sarà, dunque, centrifugato e il plasma condizionato sarà raccolto e congelato in due aliquote a -80°C per la successiva analisi quantitativa di citochine.

### **3.5.3 Analisi dei dati e dei risultati**

Al fine di raggiungere gli obiettivi preposti verrà prima studiata la popolazione di studio nella sua interezza e, successivamente, confrontati i sotto-gruppi del “Gruppo Target” ed, infine, raffrontati col “Gruppo controllo”. Questi parallelismi permetteranno di comprendere le eventuali differenze tra i pazienti in terapia immunosoppressiva e non ma anche le eventuali differenze con soggetti non affetti da LES.

L'efficacia della vaccinazione anti-SarsCoV-2 verrà stimata analizzando il tasso di siero conversione nella popolazione in studio sia per entità che per durata. Invece, i profili di sicurezza e tollerabilità verranno valutati monitorando l'incidenza di effetti collaterali correlabili alla vaccinazione nei due gruppi e tra i vari sottogruppi, nonché le differenze nell'attività di malattia dei diversi sotto-gruppi.

### **3.5.4 Sorveglianza**

Tutti i pazienti affetti da LES saranno invitati a segnalare la comparsa di sintomi suggestivi di infezione da SARS-CoV-2, nonché eventuali esposizioni/contatti a rischio, tramite apposito questionario somministrato ad ogni visita (“Questionario COVID”). In caso di segnalazione di sintomi o di contatti a rischio i pazienti saranno avviati alle cure del caso.

I pazienti con LES sintomatici risultati negativi per SARS-CoV-2 saranno sottoposti a ricerca di altra causa di infezione respiratoria.

### **3.5.5 Principali misure di esito**

Valutare le eventuali differenze tra il “Gruppo target” ed il “Gruppo di controllo”, nonché tra i diversi sotto-gruppi del “Gruppo target” circa:

1. Il numero e la gravità di eventuali effetti collaterali correlabili alla vaccinazione;
2. Il tasso di siero-conversione alla proteina Spike;

3. Differente impatto delle diverse terapie sul tasso di siero conversione alla proteina Spike,
4. La persistenza della risposta umorale e T cellulare a 2, 6, 12, 18 e 24 mesi dalla prima somministrazione del vaccino;
5. Le eventuali riacutizzazione di LES di entità tale da richiedere un intervento farmacologico;
6. Gli eventuali differenti set di severità di infezione da SARS-CoV-2

### **3.6 Principi di analisi statistica**

L'analisi dei dati raccolti comprenderà statistiche descrittive e analisi univariata e multivariata per l'identificazione delle caratteristiche socio-demografiche, cliniche e comportamentali derivanti dallo studio e dal confronto dei sottogruppi del "Gruppo Target" e dal confronto di quest'ultimo con il "Gruppo controllo".

Queste caratteristiche saranno associate a:

1. Il numero e la gravità di eventuali effetti collaterali correlabili alla vaccinazione
2. Il tasso di siero-conversione alla proteina Spike e l'impatto delle diverse terapie;
3. immunogenicità del vaccino sia per la risposta umorale che cellulare nel tempo;
4. Le riacutizzazioni di LES;
5. I differenti set di severità di infezione da SARS-CoV-2

### **4. Durata dello studio: 24 mesi**

### **5. Stima dettagliata del budget**

Per la realizzazione di questo progetto si programma una spesa complessiva di euro **30.000**, suddivisa come riportato nella sottostante tabella 2.

	<b>Parziale</b>	<b>Totale</b>
Costi gestionali	Per il 1° anno: 3.000 € Per il 2° anno: 3.000 €	6.000 €
Monitoraggio dei dati	Per il 1° anno: 1.000 € Per il 2° anno: 1.000 €	2.000 €
Immissione dei dati	Per il 1° anno: 6.600 € Per il 2° anno: 3.400 €	10.000 €
Pubblicazioni	Per il 1° anno: 1.000 € Per il 2° anno: 1.000 €	2.000 €
Contributo Costi di laboratorio*		10.000 €
	<b>Costo totale dello studio</b>	<b>30.000 €</b>

*Tab. 2: suddivisione dei costi relativi alla realizzazione dello studio proposto.*

*\*I costi di laboratorio saranno coperti per la restante parte da fondi dell'INMI L. Spallanzani.*

## **6. Dichiarazione di assenza di conflitto di interessi**

I partecipanti allo studio dichiarano l'assenza di conflitto di interessi per lo studio stesso.

## **7. Rischi e benefici per i partecipanti.**

### **7.1 Potenziali rischi per i partecipanti allo studio.**

Non si ravvedono particolari rischi per il paziente ad eccezione del disagio per l'esecuzione del prelievo ematico. In particolare, allo stato delle conoscenze attuali, la partecipazione allo studio non costituisce alcun rischio aggiuntivo per i pazienti rispetto a quello della popolazione generale.

### **5.2 Potenziali benefici per i partecipanti allo studio.**

La partecipazione all'indagine consentirà al partecipante di conoscere il proprio stato immunitario.

## **8. Procedure per il consenso.**

Ad ogni persona potenzialmente arruolabile nello studio verranno date tutte le informazioni contenute nell'informativa così come la possibilità di manifestare i propri dubbi e richiedere informazioni aggiuntive. Al termine del colloquio verrà offerta una copia dell'informativa e verrà raccolto per iscritto il consenso informato.

## **9. Procedure per la sicurezza dei dati**

I dati personali dell'operatore saranno sempre trattati in aderenza alla normativa europea (Regolamento UE 2016/679 sulla protezione dei dati) ed a quella italiana (D.Lgs. 196/03, modificato dal D.Lgs. 101/2018). Pertanto, prima di raccogliere i dati personali dell'utente e quelli relativi alla Sua salute, verrà fornita l'informativa ai sensi dell'articolo 13 Regolamento UE 2016/679, in cui saranno illustrati in modo dettagliato le finalità del trattamento dei dati personali, le modalità con cui gli stessi verranno trattati ed i diritti dell'utente in materia, elencati e descritti agli articoli 15 e seguenti del Regolamento UE 2016/679 (diritto di accesso, di rettifica, di cancellazione, di limitazione del trattamento e di portabilità). Nell'ambito dello studio sopra descritto, il personale della U.O.C Reumatologia dell'A.O. "San Camillo-Forlanini" di Roma, promotore dello studio, in accordo alle responsabilità previste dalle norme della buona pratica clinica (D.Lgs.211/2003), tratterà i dati personali delle persone arruolate, in particolare quelli relativi alle attività svolte e allo stato di salute, esclusivamente in funzione della realizzazione della ricerca. I dati raccolti non saranno resi pubblici, né saranno diffusi, se non in forma rigorosamente anonima e aggregata, ad esempio, tramite pubblicazioni scientifiche, statistiche e in convegni scientifici, e l'identità di ogni soggetto partecipante allo studio non potrà essere resa nota in alcuna fase del progetto. Il comitato etico, le Autorità sanitarie italiane, gli enti che collaborano per la realizzazione dello studio potranno conoscere i dati che riguardano le persone arruolate, contenuti anche nella documentazione clinica originale con modalità tali da garantire la riservatezza dell'identità.

## **Bibliografia**

1. Pego-Reigosa JM, Nicholson L, Pooley N, Langham S, Embleton N, Marjenberg Z, Barut V, Desta B, Wang X, Langham J, Hammond ER. The risk of infections in adult patients with systemic lupus erythematosus: systematic review and meta-analysis. *Rheumatology (Oxford)*. 2021 Jan 5;60(1):60-72. doi: 10.1093/rheumatology/keaa478. PMID: 33099651; PMCID: PMC7785308.
2. Petri M. Infection in systemic lupus erythematosus. *Rheum Dis Clin North Am*. 1998 May;24(2):423-56. doi: 10.1016/s0889-857x(05)70016-8. PMID: 9606766.
3. Wang Z, Wang Y, Zhu R, et al. Long-term survival and death causes of systemic lupus erythematosus in China: a systemic review of observational studies. *Medicine (Baltimore)*. 2015;94(17):e794. doi:10.1097/MD.0000000000000794.
4. Zandman-Goddard G, Shoenfeld Y. SLE and infections. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2003 Aug;25(1):29-40. doi: 10.1385/CRIAI:25:1:29. PMID: 12794259.
5. Danza A, Ruiz-Irastorza G. Infection risk in systemic lupus erythematosus patients: susceptibility factors and preventive strategies. *Lupus*. 2013 Oct;22(12):1286-94. doi: 10.1177/0961203313493032. PMID: 24098001.
6. Agrati C, Castilletti C, Goletti D, Meschi S, Sacchi A, Matusali G, Bordoni V, Petrone L, Lapa D, Notari S, Vanini V, Colavita F, Aiello A, Agresta A, Farroni C, Grassi G, Leone S, Vaia F, Capobianchi MR, Ippolito G, Puro V, On Behalf Of The Inmi Covid-Vaccine Study Group. Coordinate Induction of Humoral and Spike Specific T-Cell Response in a Cohort of Italian Health Care Workers Receiving BNT162b2 mRNA Vaccine. *Microorganisms*. 2021 Jun 16;9(6):1315. doi: 10.3390/microorganisms9061315. PMID: 34208751; PMCID: PMC8235087.
7. Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1997 Sep;40(9):1725. doi: 10.1002/art.1780400928. PMID: 9324032.
8. Petri M, Orbai AM, Alarcón GS, Gordon C, Merrill JT, Fortin PR, Bruce IN, Isenberg D, Wallace DJ, Nived O, Sturfelt G, Ramsey-Goldman R, Bae SC, Hanly JG, Sánchez-Guerrero J, Clarke A, Aranow C, Manzi S, Urowitz M, Gladman D, Kalunian K, Costner M, Werth VP, Zoma A, Bernatsky S, Ruiz-Irastorza G, Khamashta MA, Jacobsen S, Buyon JP, Maddison P, Dooley MA, van Vollenhoven RF, Ginzler E, Stoll T, Peschken C, Jorizzo JL, Callen JP, Lim SS, Fessler BJ, Inanc M, Kamen DL, Rahman A, Steinsson K, Franks AG Jr, Sigler L, Hameed S, Fang H, Pham N, Brey R, Weisman MH, McGwin G Jr, Magder LS. Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2012 Aug;64(8):2677-86. doi: 10.1002/art.34473. PMID: 22553077; PMCID: PMC3409311.
9. Aringer M. EULAR/ACR classification criteria for SLE. *Semin Arthritis Rheum*. 2019 Dec;49(3S):S14-S17. doi: 10.1016/j.semarthrit.2019.09.009. PMID: 31779843.
10. Petri M, Kim MY, Kalunian KC, et al. Combined oral contraceptives in women with systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med*. 2005;353 (suppl):2550-2558.
11. Vitali C, Bencivelli W, Isenberg DA, et al. Disease activity in systemic lupus erythematosus: report of the Consensus Study Group of the European Workshop for Rheumatology Research II. Identification of the variables indicative of disease activity and their use in the developer of an activity score. *Clin Exp Rheumatol* 1992;10:541-7.
12. Gladman DD, Ibanez D, Urowitz MB. Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000. *J Rheumatol* 2002;29:288-91.
13. Murugesan K, Jagannathan P, Pham TD, et al. Interferon-gamma release assay for accurate detection of SARS-CoV-2 T cell response. *Clin Infect Dis*. 2020 Oct 9:ciaa1537. doi: 10.1093/cid/ciaa1537. Epub ahead of print. PMID: 33035306; PMCID: PMC7665338
14. Petrone L, Petruccioli E, Vanini V, et al. A whole blood test to measure SARS-CoV-2-specific response in COVID-19 patients. *Clin Microbiol Infect*. 2020 Oct 10:S1198-743X(20)30605-4. doi: 10.1016/j.cmi.2020.09.051. Epub ahead of print. PMID: 33045370; PMCID: PMC7547312.
15. Echeverría G, Guevara Á, Coloma J, Ruiz AM, Vasquez MM, Tejera E et al. Pre-existing T-cell immunity to SARS-CoV-2 in unexposed healthy controls in Ecuador, as detected with a COVID-19 Interferon-Gamma Release Assay. *Int J Infect Dis* 2021;105:21-25. S1201-9712(21)00120-X.

16. Aiello A, Najafi Fard S, Petruccioli E, Petrone L, Vanini V, Farroni C, Cuzzi G, Navarra A, Gualano G, Mosti S, Pierelli L, Nicastri E, Goletti D. Spike is the most recognized antigen in the whole-blood platform in both acute and convalescent COVID-19 patients. *Int J Infect Dis.* 2021 May;106:338-347. doi: 10.1016/j.ijid.2021.04.034. Epub 2021 Apr 14. PMID: 33864921; PMCID: PMC8045417
17. Jackson ML, Nelson JC. The test-negative design for estimating influenza vaccine effectiveness *Vaccine* 2013; 31: 2165– 2168
18. De Serres G, Skowronski DM, Wu XW, Ambrose CS. The test-negative design: validity, accuracy and precision of vaccine efficacy estimates compared to the gold standard of randomised placebo-controlled clinical trials . *Euro Surveill.* 2013;18:pii=20585.
19. Grifoni A, Weiskopf D, Ramirez SI, et al. Targets of T Cell Responses to SARS-CoV-2 Coronavirus in Humans with COVID-19 Disease and Unexposed Individuals. *Cell.* 2020 Jun 25;181(7):1489-1501.e15. doi: 10.1016/j.cell.2020.05.01
20. Rydzynski Moderbacher C, Ramirez Si, Dan JM, et al. Antigen-Specific Adaptive Immunity to SARS-CoV-2 in Acute COVID-19 and Associations with Age and Disease Severity. *Cell.* 2020 2020; 183: 996–1012
21. Rodda LB, Netland J, Shehata L, et al. Functional SARS-CoV-2-Specific Immune Memory Persists after Mild COVID-19. *Cell.* 2020 Nov 23;S0092-8674(20)31565-8. doi: 10.1016/j.cell.2020.11.029.
22. Furer V et al. Incidence and prevalence of vaccine preventable infections in adult patients with autoimmune inflammatory rheumatic diseases (AIIRD): a systemic literature review informing the 2019 update of the EULAR recommendations for vaccination in adult patients with AIIRD. *BMD* 2019.