

**Titolo del protocollo:**

Studio clinico randomizzato controllato open label per valutare l'efficacia e la sicurezza dell'associazione di idrossiclorochina più azitromicina versus idrossiclorochina in pazienti affetti da polmonite da COVID-19.

**Numero EudraCT:** 2020-001802-50

**Versione:** 1.1 del 18 Aprile 2020

**Codice:** AZI-RCT-COVID19

**Promotore:** Università del Piemonte Orientale (UPO), via Duomo 6, 13100 Vercelli.

**Principal investigator:** Pier Paolo Sainaghi

**Comitato scientifico (in ordine alfabetico):**

Mario Pirisi, Mattia Bellan, Alessandra Gennari.

**Comitato statistico**

Francesco Barone Adesi, Danila Azzolina.

## Background

Alla fine del 2019, un nuovo coronavirus è stato identificato come la causa di un gruppo di casi di polmonite a Wuhan in Cina, una città nella provincia cinese di Hubei. Si è diffuso rapidamente, provocando un'epidemia in tutta la Cina, poi estesi in vari paesi del mondo e in particolare in Italia. Questo ha determinato e sta determinando un carico elevato per i sistemi sanitari, in quanto i pazienti hanno importanti necessità cliniche richiedendo un ricovero in terapia intensiva stimato fino al 15% dei ricoverati.

Nel febbraio 2020, l'Organizzazione mondiale della sanità (OMS) ha definito la malattia COVID-19, che sta per malattia coronavirus 2019. Il virus patogeno responsabile, il SARS-CoV-2, è stato identificato in tamponi eseguiti da faringe e rinofaringe dei pazienti affetti dalla malattia. Seppure lo spettro di manifestazioni cliniche sia variabile, quella che desta maggiore preoccupazione e che rappresenta la principale causa di ricovero è una polmonite interstiziale definita come polmonite da COVID-19. La maggior parte delle infezioni non è grave, infatti l'81% ha infatti malattia lieve (assenza di polmonite o polmonite lieve), ma circa il 20% dei pazienti con COVID-19 sviluppano malattia grave (ad es. dispnea, ipossia, > 50% di coinvolgimento polmonare nell'imaging entro 24-48 ore) fino a malattia critica (ad es. insufficienza respiratoria, shock o disfunzione multiorgano) [1-8]. A testimonianza del grave impatto globale ed in particolare in Italia della malattia, al 04 Aprile 2020 in Italia sono stati registrati 124.632 casi totali, 3994 ricoverati in Terapia Intensiva e 15.362 deceduti.

Dal punto di vista patogenetico, il SARS-CoV-2 determina nell'ospite una intensa risposta infiammatoria verosimilmente responsabile della grave polmonite interstiziale. Alcuni pazienti sviluppano a complicazione una sindrome da distress respiratorio acuto (ARDS) altri una elevatissima risposta infiammatoria sistemica anche definita come "tempesta di citochine" che possono portare alla morte indipendentemente dall'agente infettante [6-8].

Non esiste al momento un trattamento specifico di dimostrata efficacia nella malattia COVID-19. Il trattamento al momento è perlopiù sintomatico e di supporto in particolare per i pazienti che necessitano di essere ricoverati in unità di terapia intensiva. Alcuni farmaci con probabile azione antivirale o antinfiammatoria o con una combinazione di entrambe sono stati proposti e hanno trovato impiego nella pratica clinica sulla base di dati di efficacia in vitro ma limitati report clinici.

### Idrossiclorochina.

L'idrossiclorochina, antimalarico appartenente alla famiglia dei 4- aminochinolinici è un farmaco dotato anche di azione antireumatica a lento effetto. L'azione terapeutica dell'idrossiclorochina si basa su diversi effetti farmacologici quali: interazione con i gruppi sulfidrilici, modulazione dell'attività enzimatica (in particolare fosfolipasi, NADH-citocromo C reduttasi, colinesterasi, proteasi e idrolasi), fissazione al DNA; stabilizzazione delle membrane lisosomiali; inibizione della sintesi delle prostaglandine, della chemiotassi di polimorfonucleati e della fagocitosi; possibile interferenza con la produzione dell'interleuchina 1 da parte dei monociti e inibizione della liberazione di superossido da parte dei neutrofili. Sia l'effetto antireumatico che l'effetto antimalarico si possono spiegare in relazione alla concentrazione raggiunta nelle vescicole acide intracellulari e attraverso

l'aumento del loro pH [9].

In alcuni reports preliminari è emerso un effetto di inibizione in vitro da parte della cloroquina sulla replicazione del virus SARS-CoV-2 in vitro [10]; inoltre studi clinici preliminari condotti su pazienti affetti da COVID-19 in Cina hanno dimostrato che la cloroquina aveva un effetto significativo, sia in termini di esito clinico che di clearance virale, se confrontato con gruppi di controllo anche se i risultati di questi studi non sono ancora stati pubblicati su riviste con peer review [11,12]. Esperti cinesi hanno conseguentemente raccomandato che i pazienti diagnosticati come affetti da polmonite COVID-19 indipendentemente dalla gravità dovessero essere trattati con 500 mg di cloroquina due volte al giorno per dieci giorni [13]. È stato altresì dimostrato che l'idrossicloroquina (un analogo della cloroquina) ha un'attività anti SARS-CoV in vitro [14]. Il profilo di sicurezza clinica dell'idrossicloroquina è migliore di quello della cloroquina (durante l'uso a lungo termine) e consente una dose giornaliera più elevata [15] e si associa a minori interazioni farmaco-farmaco [16] tanto che è stato scelto come farmaco di diffuso impiego nella strategia di trattamento intraospedaliero della polmonite da COVID-19. La Commissione Tecnico Scientifica di AIFA, nella seduta riunitasi in teleconferenza dall'11 al 13 marzo 2020 ha espresso parere favorevole sull'inserimento a carico del SSN (in deroga alla legge 648/96) dell'uso off label di cloroquina e idrossicloroquina per il trattamento dell'infezione da SARS-CoV-2.

L'idrossicloroquina è diventato un farmaco di diffuso impiego in Italia in particolare nel trattamento intraospedaliero della polmonite da COVID-19, ed è al momento, in attesa di evidenze scientifiche a riguardo e l'esito di specifici trial clinici, il trattamento standard più comunemente impiegato nella terapia della polmonite da COVID-19.

### Azitromicina

L'azitromicina è il primo farmaco di una sottoclasse di antibiotici macrolidi, denominata azalidi. L'azione antibatterica dell'azitromicina si esplica attraverso il legame al rRNA 23S della subunità ribosomiale 50S (batterico) e blocca la sintesi proteica inibendo la fase di transpeptidazione/traslocazione della sintesi proteica e inibendo l'assemblaggio della subunità ribosomiale 50S [17].

Azitromicina non pare avere un effetto antivirale diretto. In uno studio randomizzato controllato su pazienti adulti ricoverati in ospedale per l'influenza azitromicina non ha favorito il declino dell'RNA virale [18]. Non emergono inoltre in letteratura report di un'azione inibitoria di azitromicina sulla replicazione virale di SARS-Cov-2 in vitro.

L'ipotesi tuttavia di impiegare i macrolidi nel trattamento di un processo infiammatorio polmonare ad etiologia virale trova alcune basi razionali, seppur controverse, nella letteratura. Vi sono infatti evidenze che i macrolidi abbiano effetti immunomodulatori e di riduzione della risposta infiammatoria in particolare a livello polmonare [19-22]. Sulla base di queste premesse l'azitromicina è stato l'antibiotico più comunemente impiegato come profilassi antibatterica in pazienti affetti da Middle-East Respiratory Syndrome (MERS) determinata da MERS-CoV, un coronavirus simile al SARS-CoV-2 come descritto in una casistica retrospettiva su 349 pazienti; in tale studio i trattati con azitromicina hanno avuto una maggiore probabilità di essere dimessi dalla terapia intensiva ma nessuna differenza di mortalità a 90 giorni e di clearance virale [23]. Un vantaggio a favore dei macrolidi inclusa

azitromicina è stato anche segnalato in una analisi a posteriori di un clinical trial in pazienti con Acute Lung Injury (ALI) da cause differenti in cui si osservava una riduzione della mortalità a 3 mesi nel gruppo di pazienti che aveva ricevuto terapia con macrolidi inclusa azitromicina [24]. Le evidenze provenienti da trial di intervento sull'uso dei macrolidi in pazienti con polmonite ad etiologia influenzale hanno portato a parziali evidenze favorevoli di efficacia clinica e evidenza di efficacia sulla riduzione delle citochine pro infiammatorie [18, 25-26].

Recentemente, i risultati di un piccolo studio prospettico monocentrico francese hanno nuovamente riportato l'attenzione alla possibile efficacia dell'utilizzo combinato di idrossiclorochina con azitromicina nel trattamento dell'infezione da SARS-Cov-2. In questo studio pazienti ricoverati in ospedale con vari quadri clinici di COVID-19 sono stati trattati con idrossiclorochina 600 mg/die (200 mg t.i.d) in associazione o meno con azitromicina 500 mg/die il primo giorno poi 250 mg/die per 4 giorni secondo giudizio clinico per la prevenzione delle sovrainfezioni batteriche e paragonati con un gruppo di pazienti ricoverati presso un altro ospedale in cui tale trattamento non era stato attivato; pur con i limiti di uno studio non randomizzato, open label, single arm, l'uso di idrossiclorochina si è associato ad una risposta virologica completa a 6 giorni nel 57% dei 14 pazienti trattati rispetto al 12,5% dei non trattati; tale effetto era apparentemente potenziato dall'associazione con azitromicina, in quanto tutti e 6 (100%) i pazienti trattati con l'associazione di idrossiclorochina 600 mg/die + azitromicina 500 mg/die presentavano una risposta virologica completa a 6 giorni [27]. Tuttavia i risultati potenzialmente promettenti di tale studio sono fortemente limitati da importanti problematiche metodologiche quali la scarsa numerosità campionaria, il disegno dello studio, il numero di persi al follow up, la scarsa numerosità totale degli esposti ad azitromicina.

Con l'intensificarsi dell'emergenza da COVID-19 in presenza di evidenze pregresse di un ruolo antinfiammatorio polmonare dei macrolidi, la loro potenziale utilità a prevenzione di sovrainfezioni batteriche e i risultati preliminari di questo ultimo trial clinico hanno portato in particolare in Italia e in Francia ad un incremento dell'utilizzo dell'azitromicina come antibatterico di profilassi di scelta nel trattamento della polmonite da COVID-19 ed in molti casi anche come trattamento "off label" della stessa infezione. La necessità di generare evidenze robuste che possano confutare o rafforzare questo utilizzo rappresentano il razionale principale al presente utilizzo.

### **Interazioni farmacologiche del trattamento con idrossiclorochina ed azitromicina.**

La principale cautela nella combinazione terapeutica di idrossiclorochina ed azitromicina deriva dalla possibilità che entrambe i trattamenti possano sinergicamente interferire favorendo il prolungamento dell'intervallo QTc e, conseguentemente, incrementando in misura significativa il rischio di complicanze aritmogeniche potenzialmente fatali. Infatti, entrambi i farmaci sono attualmente annoverati nella lista dei principi attivi potenzialmente responsabili di allungamento del QTc (<https://www.crediblemeds.org/index.php/drugsearch>).

I dati clinici derivanti dall'utilizzo di tali principi attivi appaiono, tuttavia, rassicuranti. L'esperienza deriva da studi di associazione in cui i due principi attivi sono stati

cosomministrati al fine di valutare l'attività antimalarica di azitromicina. In particolare, nel 2012, Pfizer ha avviato uno studio di associazione in soggetti sani, allo scopo di utilizzare una terapia di combinazione per proteggere dalla malaria e dalle infezioni a trasmissione sessuale in gravidanza: l'associazione di azitromicina a cloroquina, ha dato un modesto prolungamento del QTc, in maniera dose dipendente (5 ms in soggetti randomizzati alla dose di 500 mg/die di azitromicina, 7 ms in soggetti randomizzati a 1000 mg, 9 ms in soggetti randomizzati a 1500 mg/die) [28].

L'uso di azitromicina e cloroquina/idrossicloroquina è stato testato in diversi altri studi clinici, che non hanno evidenziato significativi incrementi della mortalità cardiovascolare e del rischio di aritmie maligne [29-30]. Tali osservazioni appaiono corroborate da dati di laboratorio: in uno studio condotto su cavie, l'associazione tra i due principi attivi non ha rivelato un incremento del rischio aritmogenico, avendo l'azitromicina addirittura un lieve effetto protettivo sul rischio di sviluppo di aritmie, in animali sottoposti a somministrazione di cloroquina [31].

Particolare precauzione all'impiego della terapia associativa va comunque riservata a soggetti che presentino fattori concomitanti di rischio per prolungamento del QTc, in particolare: pazienti con alterazioni elettrolitiche, aritmie/bradicardie pre-esistenti, sindrome del QT lungo.

L'obiettivo generale di questo studio è valutare se la terapia di associazione tra idrossicloroquina e azitromicina è in grado di determinare rispetto alla terapia con sola idrossicloroquina una guarigione clinicapiù frequente e rapida tale da permetterne più precocemente la dimissione da ricovero ospedaliero. Si tratta di un obiettivo di interesse primario per il paziente in quanto è prioritario individuare un trattamento efficace dell'infezione, ma anche per la sanità pubblica che ha l'urgente necessità di ridurre il numero dei pazienti ricoverati in ospedale riducendo la durata dei ricoveri per polmonite da COVID-19 per poter fare meglio fronte alle necessità cliniche sia di altri pazienti affetti da polmonite da COVID o da altre patologie.

## Obiettivi dello studio

Obiettivo primario: Valutare la superiorità della combinazione terapeutica di Idrossiclorochina più Azitromicina in pazienti ricoverati in ospedale per polmonite da COVID-19 di gravità lieve/moderata rispetto alla terapia con idrossiclorochina (attuale trattamento standard più comunemente utilizzato) nel favorire la guarigione clinica durante il ricovero.

### Obiettivi secondari

1. Valutare la superiorità della combinazione di Idrossiclorochina più Azitromicina rispetto ad idrossiclorochina nel prevenire il peggioramento clinico incluso l'avvio di ventilazione non invasiva o ingresso in terapia intensiva.
2. Valutare la superiorità della combinazione di Idrossiclorochina più Azitromicina rispetto ad idrossiclorochina nel ridurre la mortalità per tutte le cause
3. Valutare la sicurezza della combinazione di Idrossiclorochina più Azitromicina rispetto ad idrossiclorochina in termini di eventi avversi con particolare attenzione alle alterazioni elettrocardiografiche dell'intervallo QT.
4. Valutare la superiorità della combinazione di Idrossiclorochina più Azitromicina rispetto ad idrossiclorochina in termini di clearance virale.
5. Valutare i livelli degli indici infiammatori in particolare la PCR e loro correlazione con i due protocolli di trattamento.
6. Valutare parametri di laboratorio prognostici di gravità di malattia (LDH, conta linfocitaria, D-dimero) e loro correlazione con i due protocolli di trattamento
7. Valutare l'andamento del rapporto PaO<sub>2</sub> / FiO<sub>2</sub> e correlazione con i due protocolli di trattamento
8. Valutare l'evoluzione clinica di popolazioni a maggior rischio di prognosi sfavorevole (anziani, comorbidità cardiovascolari, diabetici, pazienti oncologici etc) in relazione ai due protocolli di trattamento.

## Disegno dello studio

Si tratta di uno studio randomizzato di fase 3 in aperto a due braccia di trattamento di superiorità del regime di trattamento combinato di idrossiclorochina più azitromicina rispetto alla sola idrossiclorochina.

Nel dettaglio si tratta di uno studio in cui in pazienti con polmonite da COVID-19 di gravità lieve/moderata ricoverati viene confrontato il trattamento di associazione tra idrossiclorochina ed azitromicina rispetto al trattamento con sola idrossiclorochina.

Più specificatamente:

- il braccio di trattamento riceverà entro 24 ore dal ricovero la terapia di associazione di
  - idrossiclorochina 400 mg b.i.d (400 mg x 2, 800 mg/die) il primo giorno poi 200 mg b.i.d (200 mg x 2, 400 mg/die) per 7 giorni

- Azitromicina 500 mg 1 cp al giorno per 5 giorni
- il braccio di controllo entro 24 ore dal ricovero riceverà la terapia con idrossiclorochina 400 mg b.i.d (400 mg x 2, 800 mg/die) il primo giorno poi 200 mg b.i.d (200 mg x 2, 400 mg/die) per 7 giorni

### **Durata dello studio per singolo paziente**

Lo studio si conclude al raggiungimento dell'end point. Lo studio ha una durata di 10 giorni per la valutazione di efficacia e di 28 giorni per la valutazione di sicurezza a partire dalla randomizzazione dei pazienti (giorno 1) (vedasi Scheda dello studio: Trattamento e valutazioni). Se il paziente non ha raggiunto l'end point al giorno 10 in quanto ancora ricoverato termina il periodo di osservazione per la valutazione di efficacia senza raggiungimento dell'end point stesso, ma prosegue il periodo di osservazione di sicurezza sino al giorno 28.

### **Criteri di valutazione**

**Endpoint primario:** proporzione di soggetti che presenta guarigione clinica entro 10 giorni definita dal raggiungimento entro 10 giorni di tutti i seguenti (vale il giorno della determinazione in cui tutti i valori sono raggiunti):

- a. un valore di saturazione periferica di ossigeno (sPO2)  $\geq 93\%$  in aria ambiente
- b. defervescenza ( $T_{est} < 37^\circ$ )
- c. frequenza respiratoria  $< 18$  atti/minuto

### **Endpoint secondari:**

La valutazione degli endpoint secondari viene fatta seguendo l'ordine con cui sono presentati gli obiettivi dello studio.

1. Dimissione in vita dall'ospedale entro 10 giorni.
2. Tempo alla dimissione in vita dall'ospedale.
3. Il tempo di raggiungimento di tutti i seguenti criteri di guarigione clinica (vale il giorno della determinazione in cui tutti i valori sono raggiunti).
  - a. un valore di saturazione periferica di ossigeno (sPO2)  $\geq 93\%$  in aria ambiente
  - b. defervescenza ( $T_{est} < 37^\circ$ )
  - c. frequenza respiratoria  $< 18$  atti/minuto
4. Proporzione di soggetti che sviluppano entro 10 giorni peggioramento clinico e tempo alla comparsa del peggioramento definito dalla comparsa di uno di questi eventi:
  - a. Avvio di ventilazione non invasiva inclusiva di cPAP, NIV, cannule nasali ad alto flusso (optiflow)
  - b. Ricovero in terapia intensiva
5. Mortalità per tutte le cause a 28 giorni

6. Tossicità misurata secondo gli standard internazionalmente riconosciuti e riscontro di allungamento del QTc maggiore di 500 msec
7. Proporzione di soggetti con indagine molecolare (RT-PCR) negativa per identificazione di SARS-CoV-2 a 5, 7 e 10 giorni.
8. Raggiungimento di valori di proteina C reattiva < 1 mg/dl entro 10 gg e tempo al raggiungimento
9. Valore di proteina C reattiva, ferritina a 5, 7 e 10 giorni.
10. Rapporto PaO<sub>2</sub> / FiO<sub>2</sub> ai giorni 3, 5, 7, 10.
11. Guarigione clinica a 10 giorni in popolazioni fragili (anziani, comorbidità cardiovascolari, diabetici, pazienti oncologici, con insufficienza renale).



## Criteri di selezione dei pazienti

### Popolazione in studio

La popolazione in studio include i pazienti maggiorenni con polmonite da Covid-19 di recente diagnosi che richiedono assistenza ospedaliera, di gravità lieve/moderata e che comunque non necessitino procedure di ventilazione meccanica invasiva o non-invasiva.

### Criteri di inclusione

1. età > 18 anni
2. Consenso informato per la partecipazione allo studio
3. Diagnosi molecolare (real time PCR) dell'infezione da SARS-CoV-2
4. Ricovero in Ospedale e diagnosi di polmonite confermata strumentalmente (TAC torace, Rx torace o ecografia polmonare) entro le precedenti 24 ore
5. PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> maggiore o uguale a 200 mm/Hg
6. La presenza di almeno uno dei seguenti:
  - a. sPO<sub>2</sub><93% in aria ambiente
  - b. FR≥18 atti/minuto
  - c. Temperatura esterna ≥37°C

### Criteri di esclusione

1. Paziente con sindrome da distress respiratorio con PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> < 200 mm/Hg o in ventilazione non invasiva o in ventilazione invasiva o presenza di shock o ricovero presso Unità di Cura/Terapia Intensiva
2. Uno delle seguenti problematiche cardiologiche:
  - a. Insufficienza cardiaca grave (NYHA III-IV)
  - b. Infarto del miocardio in atto o nei 3 mesi precedenti
  - c. patologia del ritmo cardiaco quali bradicardia con FC<50 b/min o aritmia clinicamente rilevante in atto o pregressa (esclusa tachicardia sinusale).
  - d. terapia in atto con farmaci antiaritmici della classe IA (chinidina e procainamide) e della classe III (amiodarone e sotalolo),
  - e. prolungamento congenito dell'intervallo QT o altra malattia congenita proaritmogena
3. QTc all'elettrocardiogramma >500 ms eseguito entro le 24 ore precedenti
4. Storia nota di maculopatia.
5. Terapia concomitante con i seguenti farmaci noti allungare il QTc per i quali la prosecuzione terapeutica è ritenuta clinicamente indispensabile (cisapride, terfenadina, pimozone, citalopram, moxifloxacina e levofloxacina)
6. Grave disturbo elettrolitico, che persiste a 24 ore dal ricovero, in particolare K<sup>+</sup><3 mEq/L
7. Insufficienza renale grave (GFR<10 ml/min) o Insufficienza epatica grave.
8. Paziente gravida o in allattamento
9. Anamnesi positiva per favismo (deficit di G6PD) o per porfiria
10. Ipersensibilità nota all'azitromicina o all'idrossiclorochina o ai loro eccipienti

**Procedure di registrazione e randomizzazione**

I pazienti eleggibili saranno registrati in un database centralizzato presso i sistemi informatici dell'Università del Piemonte Orientale (UPO)/Azienda Ospedaliero-Universitaria "Maggiore della Carità" di Novara. I dati pseudoanonimizzati dei pazienti verranno registrati a cura del centro clinico in una CRF ad hoc ad accesso web based. La randomizzazione avverrà su base competitiva e bilanciata per centro clinico partecipante. La randomizzazione sarà effettuata mediante un apposito sistema informatico presso il centro clinico coordinatore. Tale operazione determina anche la registrazione dei pazienti arruolati.

Il paziente arruolato dal centro clinico sulla base dei criteri di selezione può avviare idrossiclorochina prima della procedura di randomizzazione essendo il regime terapeutico identico nei due bracci di studio.

## **Il protocollo di trattamento**

### Il razionale di utilizzo di Azitromicina in associazione ad idrossiclorochina

Le indicazioni autorizzate in EU (da RCP) per Azitromicina sono il trattamento delle infezioni causate da germi sensibili all'azitromicina. - infezioni delle alte vie respiratorie (sinusiti, tonsilliti e faringiti); - infezioni delle basse vie respiratorie (incluse bronchiti e polmoniti); - infezioni dell'orecchio medio (otite media acuta), - infezioni odontostomatologiche; - infezioni della cute e dei tessuti molli; - uretriti non gonococciche (da *Chlamydia trachomatis*);

Inoltre Azitromicina in polvere per soluzione per infusione è indicato nel trattamento della polmonite acquisita in comunità causata da organismi sensibili, inclusa la *Legionella pneumophila*, in pazienti che richiedono una terapia iniziale endovenosa.

La posologia per il trattamento delle infezioni delle alte e basse vie respiratorie, della cute e dei tessuti molli e delle infezioni odontostomatologiche è 500 mg al giorno in un'unica somministrazione, per tre giorni consecutivi. Tuttavia in caso di polmonite acquisita in comunità è prevista una durata di trattamento orale superiore: il dosaggio raccomandato per l'adulto è di 500 mg di azitromicina polvere per soluzione per infusione in un'unica dose giornaliera per via endovenosa per almeno due giorni. La terapia per via endovenosa deve essere seguita da quella orale con un dosaggio di 500 mg in monosomministrazione giornaliera per un periodo complessivo di trattamento di 7-10 giorni. Il momento nel quale effettuare il passaggio alla terapia orale deve essere deciso dal medico in base alla risposta clinica [17].

Non esistono ad oggi studi clinici randomizzati controllati sull'uso dell'azitromicina nei pazienti con polmonite da COVID-19, ma solo alcune evidenze molto limitate derivate da un piccolo trial clinico single arm prospettico non controllato. In questo studio pazienti ricoverati in ospedale con vari quadri clinici di COVID-19 sono stati trattati con idrossiclorochina 600 mg/die (200 mg t.i.d) in associazione o meno con azitromicina 500 mg/die il primo giorno poi 250 mg/die per 4 giorni secondo giudizio clinico per la prevenzione delle sovrainfezioni batteriche e paragonati con un gruppo di pazienti ricoverati presso un altro ospedale in cui tale trattamento non era stato attivato; l'uso di idrossiclorochina si è associato ad una risposta virologica completa a 6 giorni nel 57% dei 14 pazienti trattati rispetto al 12,5% dei non trattati; tale effetto era apparentemente potenziato dall'associazione con azitromicina, in quanto tutti e 6 (100%) i pazienti trattati con l'associazione di idrossiclorochina 600 mg/die + azitromicina 500 mg/die il primo giorno poi 250 mg/die per 4 giorni presentavano una risposta virologica completa a 6 giorni [27].

Sulla base del meccanismo di azione del farmaco non si può ipotizzare un effetto antivirale diretto. Tuttavia la polmonite da COVID-19 e la sua gravità paiono dipendere più dalla risposta infiammatoria inappropriata scatenata dal virus a livello polmonare e sistemico piuttosto che da un effetto citopatico diretto. A tale proposito vi sono evidenze che i macrolidi abbiano effetti immunomodulatori e di riduzione della risposta infiammatoria in particolare a livello polmonare [19-22] con efficacia sulla riduzione delle citochine proinfiammatorie osservata in trial clinici in pazienti con polmonite ad etiologia influenzale pur con dati di efficacia clinica contrastanti [18, 24-26]. Inoltre, da uno studio osservazionale retrospettivo in pazienti affetti

da MERS, era emerso un seppur limitato ma misurabile effetto di azitromicina favorente la probabilità di essere dimessi dalla terapia intensiva [23].

Alla luce delle precedenti evidenze allo scopo di individuare un corretto schema posologico si segnala che lo schema posologico di azitromicina comunemente utilizzato nel trattamento della polmonite da comunità di 500 mg 1 cp per tre giorni consecutivi potrebbe non essere sufficiente per determinare l'azione immunomodulatoria e antinfiammatoria polmonare. A tale proposito l'unico trial clinico randomizzato controllato di azitromicina in una forma di polmonite virale senza infezione batterica (polmonite da virus influenza) che ha dimostrato dati di efficacia di riduzione infiammatoria e di trend verso un miglioramento clinico ha impiegato una dose di azitromicina di 500 mg/die per 5 giorni consecutivi [18].

#### Il razionale di utilizzo di idrossiclorochina

Le indicazioni autorizzate in EU (da RCP) per Idrossiclorochina – negli adulti, è indicato per il trattamento dell'artrite reumatoide in fase attiva e cronica e nel lupus eritematoso discoide e disseminato.

Artrite Reumatoide, dosaggio iniziale: da 400 a 600 mg al giorno (da 2 a 3 compresse rivestite) somministrati ai pasti o con un bicchiere di latte. Dopo 4-12 settimane la posologia può essere ridotta a metà, da 200 a 400 mg (1 o 2 compresse rivestite) al giorno.

Lupus Eritematoso sistemico: la dose media iniziale è di 400 mg una o due volte al giorno. Questa dose può essere continuata per diverse settimane o mesi in base alla risposta del paziente. Per una terapia di mantenimento spesso basterà una dose più bassa da 200 a 400 mg al giorno [9].

Non esistono ad oggi studi clinici randomizzati controllati sull'uso dell'idrossiclorochina nei pazienti con polmonite da COVID-19, ma solo alcune evidenze sperimentali che sembrano mostrarne l'efficacia antivirale in vitro e clinica in piccoli studi clinici. Sulla base delle evidenze a disposizione la Commissione Tecnico Scientifica di AIFA, nella seduta riunitasi in teleconferenza dall'11 al 13 marzo 2020 ha espresso parere favorevole sull'inserimento a carico del SSN (in deroga alla legge 648/96) dell'uso off label di cloroquina e idrossiclorochina per il trattamento dell'infezione da SARS-CoV-2.

Sulla base del meccanismo di azione è ipotizzabile sia un meccanismo di inibizione della replicazione del virus SARS-Cov-2 in vitro attraverso l'alterazione (aumento) del pH endosomiale che è determinante per la fusione virus-cellula e di interferenza sulla glicosilazione dei recettori cellulari di SARS-COV-2. Dati in vitro riportano che la cloroquina è in grado di bloccare la replicazione virale di SARS-COV-2 a dosi utilizzate nella pratica clinica. Oltre all'azione antivirale, l'idrossiclorochina ha un'attività immunomodulante che potrebbe sinergisticamente potenziare l'effetto antivirale in vivo. Da studi in vitro sembra inoltre che gli effetti sulle cellule sono osservabili sia quando il farmaco è presente prima sia quando è presente dopo l'inoculo virale. L'idrossiclorochina si distribuisce in tutto il corpo incluso il polmone dove sembra concentrarsi e avrebbe una maggiore efficacia in vitro ed essere attiva contro SARS-COV-2 a concentrazioni minori rispetto alla cloroquina.

AIFA in una nota del 31 marzo 2020 ha suggerito ha consigliato il seguente dosaggio nella infezione da SARS-Cov-2: idrossiclorochina 400 mg b.i.d (400 mg x 2, 800 mg/die) il primo giorno poi 200 mg b.i.d (200 mg x 2, 400 mg/die) per almeno 5-7 giorni ma da stabilite secondo indicazione clinica.

### **La terapia sperimentale con Azitromicina più idrossiclorochina**

#### Durata, dosaggio schedula di trattamento

Alla popolazione in studio sarà applicato il seguente schema posologico:

Azitromicina 500 mg 1 cp al giorno per 5 giorni in associazione a idrossiclorochina 400 mg b.i.d (400 mg x 2, 800 mg/die) il primo giorno poi 200 mg b.i.d (200 mg x 2, 400 mg/die) per 7 giorni

Il farmaco sperimentale utilizzato all'interno del presente protocollo è l'associazione di Azitromicina 500 mg compresse rivestite e Idrossiclorochina solfato (plaquenil) 200 mg, compresse rivestite

Le proprietà fisiche, chimiche e farmaceutiche delle formulazioni in studio sono contenute nel riassunto delle caratteristiche del prodotto ed Investigator's Brochure aggiornato reso disponibile dall'azienda produttrice titolare dell'autorizzazione in commercio (Pfizer per azitromicina e Sanofi per idrossiclorochina) [9,17].

Il medicinale sperimentale sarà quello utilizzato in pratica clinica e presente in commercio.

#### Schema terapeutico sperimentale.

In caso di randomizzazione al braccio sperimentale lo schema terapeutico sarà: Azitromicina 500 mg 1 cp al giorno per 5 giorni in associazione a idrossiclorochina 400 mg b.i.d (400 mg x 2, 800 mg/die) il primo giorno poi 200 mg b.i.d (200 mg x 2, 400 mg/die) per 7 giorni. Il paziente potrà ricevere idrossiclorochina secondo lo schema posologico indicato immediatamente dopo l'arruolamento prima della procedura di randomizzazione.

### **La terapia di comparazione con idrossiclorochina**

#### Il razionale di utilizzo di idrossiclorochina

Le indicazioni autorizzate in EU (da RCP) per Idrossiclorochina – negli adulti, è indicato per il trattamento dell'artrite reumatoide in fase attiva e cronica e nel lupus eritematoso discoide e disseminato.

Artrite Reumatoide, dosaggio iniziale: da 400 a 600 mg al giorno (da 2 a 3 compresse rivestite) somministrati ai pasti o con un bicchiere di latte. Dopo 4-12 settimane la posologia può essere ridotta a metà, da 200 a 400 mg (1 o 2 compresse rivestite) al giorno.

Lupus Eritematoso sistemico: la dose media iniziale è di 400 mg una o due volte al giorno. Questa dose può essere continuata per diverse settimane o mesi in base alla risposta del

paziente. Per una terapia di mantenimento spesso basterà una dose più bassa da 200 a 400 mg al giorno.

Non esistono ad oggi studi clinici randomizzati controllati sull'uso dell'idrossiclorochina nei pazienti con polmonite da COVID-19, ma solo alcune evidenze sperimentali che sembrano mostrarne l'efficacia antivirale in vitro e clinica in piccoli studi clinici. Sulla base delle evidenze a disposizione la Commissione Tecnico Scientifica di AIFA, nella seduta riunitasi in teleconferenza dall'11 al 13 marzo 2020 ha espresso parere favorevole sull'inserimento a carico del SSN (in deroga alla legge 648/96) dell'uso off label di cloroquina e idrossiclorochina per il trattamento dell'infezione da SARS-CoV-2.

Sulla base del meccanismo di azione è ipotizzabile sia un meccanismo di inibizione della replicazione del virus SARS-Cov-2 in vitro attraverso l'alterazione (aumento) del pH endosomiale che è determinante per la fusione virus-cellula e di interferenza sulla glicosilazione dei recettori cellulari di SARS-COV-2. Dati in vitro riportano che la cloroquina è in grado di bloccare la replicazione virale di SARS-COV-2 a dosi utilizzate nella pratica clinica. Oltre all'azione antivirale, l'idrossiclorochina ha un'attività immunomodulante che potrebbe sinergisticamente potenziare l'effetto antivirale in vivo. Da studi in vitro sembra inoltre che gli effetti sulle cellule sono osservabili sia quando il farmaco è presente prima sia quando è presente dopo l'inoculo virale. L'idrossiclorochina si distribuisce in tutto il corpo incluso il polmone dove sembra concentrarsi e avrebbe una maggiore efficacia in vitro ed essere attiva contro SARS-COV-2 a concentrazioni minori rispetto alla cloroquina [10-16].

AIFA in una nota del 31 marzo 2020 ha suggerito ha consigliato il seguente dosaggio nella infezione da SARS-Cov-2: idrossiclorochina 400 mg b.i.d (400 mg x 2, 800 mg/die) il primo giorno poi 200 mg b.i.d (200 mg x 2, 400 mg/die) per almeno 5-7 giorni ma da stabilire secondo indicazione clinica.

## **La terapia di comparazione con Idrossiclorochina**

### Durata, dosaggio schedula di trattamento

Sulla base delle recenti indicazioni AIFA del 31 marzo 2020 alla popolazione in studio sarà applicato il seguente schema posologico:

idrossiclorochina 400 mg b.i.d (400 mg x 2, 800 mg/die) il primo giorno poi 200 mg b.i.d (200 mg x 2, 400 mg/die) per 7 giorni.

Il farmaco sperimentale utilizzato all'interno del presente protocollo è: Idrossiclorochina solfato (plaquenil) 200 mg, compresse rivestite

Le proprietà fisiche, chimiche e farmaceutiche delle formulazioni in studio è contenuta nel riassunto delle caratteristiche del prodotto ed Investigator's Brochure aggiornato reso disponibile dall'azienda produttrice titolare dell'autorizzazione in commercio (Sanofi).

Il medicinale sperimentale sarà quello utilizzato in pratica clinica e presente in commercio.

### Schema terapeutico di comparazione.

Idrossiclorochina 400 mg b.i.d (400 mg x 2, 800 mg/die) il primo giorno poi 200 mg b.i.d (200 mg x 2, 400 mg/die) per 7 giorni. Il paziente potrà ricevere idrossiclorochina secondo lo schema posologico indicato immediatamente dopo l'arruolamento prima della procedura di randomizzazione.

### **Gestione della possibile interazione tra idrossiclorochina e azitromicina nel determinare prolungamento del QTc.**

Al fine di evitare prolungamenti significativi del QTc derivanti dall'impiego della terapia di associazione proponiamo il seguente algoritmo; al momento del reclutamento il paziente verrà sottoposto a:

- ECG con calcolo del QTc;
- Revisione della terapia farmacologica in atto, finalizzata ad identificare concomitanti terapie potenzialmente responsabili di prolungamento del QTc. Nel caso di assunzione di terapie potenzialmente interferenti, se ne valuterà la possibilità di sospensione/sostituzione;
- Esecuzione di esami ematochimici finalizzati a valutare i livelli plasmatici dei principali elettroliti: potassio, calcio, magnesio. Ipopotassiemia, ipocalcemia e ipomagnesiemia sono noti fattori di rischio per il prolungamento del QTc. Pertanto, in caso di alterazioni elettrolitiche, verrà avviata adeguata supplementazione farmacologica, con monitoraggio dei valori plasmatici secondo protocollo (vedi scheda di valutazioni previste)

In soggetti con:

- QTc basale  $\geq 500$  msec: esclusione dallo studio;
- QTc basale  $< 500$  msec: esecuzione a 24 e 48 ore di ECG di controllo:
  - Se aumento del QTc  $< 25$  msec e comunque QTc inferiore a 500 msec: non necessaria ripetizione ECG;
  - Se aumento del QTc 25-60 msec e comunque QTc inferiore a 500 msec: ulteriore ripetizione ogni 48 ore con indicazione a sospensione se superamento del valore di 500 msec o se incremento  $> 60$  msec rispetto ad ECG basale;
  - Se aumento del QTc  $\geq 60$  msec e/o QTc  $\geq 500$  msec: uscita dallo studio con sospensione della terapia di associazione.

### **Terapia standard**

- Tutti i pazienti, indipendentemente dal braccio di assegnazione, continueranno a ricevere la terapia già in atto, verrà effettuata una accurata revisione delle terapie concomitanti che possono allungare l'intervallo QTc che possano essere temporaneamente sospese a giudizio clinico
- Al peggioramento clinico definito come avvio di ventilazione non invasiva inclusiva di cPAP, NIV, cannule nasali ad alto flusso (optiflow) oppure ricovero in terapia intensiva termina il protocollo sperimentale e il paziente potrà essere trattato secondo giudizio

clinico con qualsiasi trattamento sia indicato ed eventualmente anche reclutato in un ulteriore protocollo sperimentale.

- In caso di stabilità o miglioramento clinico non dovranno essere avviate terapie sperimentali concomitanti con effetto immunomodulante o antinfiammatorio o terapia con corticosteroidi o con altri farmaci con effetto antivirale.
- Lo steroide o altre terapie immunomodulanti/immunosoppressive potranno essere continuate se il paziente assume già tali trattamenti al momento del ricovero.



## Valutazione previste

- Valutazioni previste per tutta la durata dello studio (massimo 10 giorni per la valutazione di efficacia, massimo 28 giorni per quella di sicurezza) o fino all'uscita del paziente dallo studio per decesso o raggiungimento dell'end point
- Il giorno 1 è il giorno della randomizzazione a prescindere dall'ora in cui sia stata fatta.
- Per le valutazioni al giorno 1 si possono usare gli esami fatti per la valutazione di eleggibilità prima della randomizzazione
- Gli esami richiesti sono quelli previsti dal protocollo. Il medico è libero di prescrivere esami aggiuntivi a sua discrezione

### Valutazioni di laboratorio\*

- EGA arterioso programmato: se presente distress respiratorio a giudizio clinico
- EGA arterioso per aggravamento: o In qualsiasi momento sulla base della valutazione clinica
- Emocromo, ALT, bilirubina, creatinina, PCR, LDH, sodio, potassio, calcio, magnesio, ferritina, D-Dimero giorni 1, 3, 7, 10.

### Valutazione clinica\*\*

- Temperatura esterna, frequenza respiratoria e saturazione periferica (sPO2): tutti i giorni fino al giorno di dimissione a domicilio o di trasferimento in terapia intensiva.
- Valutazione tipo di ossigenoterapia (incluso eventuale avvio di ventilazione non invasiva quale CPAP, NIV, optiflow): tutti i giorni fino al giorno di dimissione a domicilio o di trasferimento in terapia intensiva o di avvio di ventilazione non invasiva quale CPAP, NIV, optiflow
- valutazione presenza in ricovero e trasferimento in terapia intensiva: tutti i giorni fino al giorno di trasferimento/dimissione a domicilio.

### Valutazione elettrocardiografica

- Calcolo QTc giorni 1, 2 e 3
  - In caso di incremento del QTc <25 msec al giorno 3 (rispetto al giorno 1) stop monitoraggio
  - In caso di QTc>500 msec al giorno 2 o 3 termina trattamento (Evento avverso) e il paziente esce dallo studio di efficacia prosegue valutazione di sicurezza fino a 28 giorni
  - In caso di incremento del QTc>25 msec al giorno 2 o 3 (rispetto la giorno 1) ma con QTc<500 prosegue monitoraggio ECG con calcolo QTc ogni 24 ore fino alla dimissione
  - In caso di QTc>500 msec in qualunque degli eventuali monitoraggi successivi termina trattamento (evento avverso) e il paziente esce dallo studio prosegue valutazione di sicurezza fino a 28 giorni

**Valutazione virologica\*\*\***

- Tampone rinofaringeo e/o orofaringeo: giorni 5, 7, 10.

\* il follow up di laboratorio termina con la dimissione al domicilio

\*\* tutte le valutazioni cliniche dovrebbero essere sempre eseguite tra le ore 06 e le ore 12 di ogni giorno.

\*\*\* La valutazione virologica non viene eseguita in pratica clinica in quanto non rappresenta pratica clinica standard, pertanto il tampone eseguito viene inviato al laboratorio di riferimento per estrazione RNA e stoccaggio o eventuale analisi immediata, il risultato non viene reso disponibile al centro clinico se non dopo la dimissione del paziente. Anche in questo caso il follow up virologico termina con la dimissione del paziente.

## Considerazioni statistiche

### Calcolo della dimensione del campione.

La dimensione del campione è stata calcolata congruentemente all'obiettivo primario e in accordo alle seguenti ipotesi:

- 1) Ipotesi nulla ( $H_0$ ):  $\pi_{ctrl} = \pi_{exp} = 0.70$  ( $\pi_{ctrl}$  e  $\pi_{exp}$  sono le probabilità di guarigione clinica nel gruppo di controllo e sperimentale rispettivamente entro 10 giorni);
- 2) Ipotesi alternativa ( $H_1$ ):  $\pi_{ctrl} = 0.70$  &  $\pi_{exp} = 0.90$  che corrisponde ad un aumento della probabilità di guarigione clinica entro 10 giorni del 29%;
- 3) Test statistico: chi-quadrato (asintotico)
- 4) Code del test: entrambe (bilaterale);
- 5) errore  $\alpha = 0.05$
- 6) potenza statistica = 0.80
- 7) rapporto di allocazione: 1:1

Sulla base di queste assunzioni, si rende necessario un campione di 72 soggetti per gruppo, 144 in totale.

La dimensione del campione è stata calcolata ricorrendo usando il comando `sampsi` del software STATA 12 (Statacorp)

### **Popolazioni in studio:**

Pazienti arruolati: tutti i soggetti arruolati.

Popolazione Safety: tutti i soggetti che hanno ricevuto almeno una dose dei trattamenti in studio (sperimentale o di controllo).

Pazienti randomizzati: tutti i soggetti arruolati che hanno firmato l'ICF e che sono stati randomizzati (ITT, Intention To Treat).

Analisi statistiche. Un piano di analisi statistica (SAP) sarà sviluppato e finalizzato prima della chiusura del database (locking) dello studio e descriverà le popolazioni partecipanti da includere nelle analisi, pre-elaborazione e data cleaning, dettagli tecnici e ulteriori analisi secondarie. Questa sezione, pertanto, è un riepilogo delle analisi statistiche pianificate solo per gli endpoint primari e di safety.

**Analisi di efficacia.** L'analisi dell'efficacia verrà condotta sulla popolazione randomizzata per le finalità di cui all'obiettivo primario (ITT); un'analisi per protocollo (PP) sarà condotta per completezza e con finalità descrittive. La probabilità di guarigione clinica nei due bracci verrà confrontata utilizzando una regressione di Poisson per dati binari e stima robusta della varianza [32], mentre il tempo alla guarigione clinica nei due gruppi verrà analizzato utilizzando la regressione di Cox. Il livello convenzionale di 0.05 per la significatività statistica

sarà adottato per valutare i p-value. I calcoli statistici verranno eseguiti utilizzando il software STATA.

**Analisi di safety.**

Le analisi di safety verranno eseguite solo sulla popolazione di safety sopra definita. Per ciascun paziente e per ogni tipo di tossicità descritto secondo CTCAE, il peggior grado riscontrato durante il trattamento sarà utilizzato per l'analisi descrittiva. Tali dati saranno descritti utilizzando listati e tabelle.

## **Sicurezza e farmacovigilanza**

### **Individuazione degli eventi avversi**

Qualsiasi evento avverso di cui lo Sperimentatore venga a conoscenza dopo completamento del periodo di osservazione e valutazione clinica e che sia giudicato come possibilmente correlato al trattamento dovrà essere segnalato fino alla chiusura dello studio.

Lo sperimentatore dovrà fare ogni possibile sforzo per ottenere una risoluzione per tutti gli eventi, anche dopo l'interruzione / completamento dello studio. Lo sperimentatore è responsabile di seguire tutti i SAE fino alla loro risoluzione (ritorno del soggetto allo stato di base o stabilizzazione e cronicizzazione della condizione, anche se ciò si estende oltre la partecipazione allo studio).

Le informazioni di sicurezza di riferimento (RSI) necessarie per valutare e classificare una reazione avversa, in base alla natura e alla gravità, compresa la frequenza, sono ricomprese nell'SmPC - riassunto delle caratteristiche del prodotto di azitromicina e idrossiclorochina.

### **Definizioni**

#### **Evento Avverso (AE)**

Viene definito evento avverso qualsiasi evento clinico dannoso che si manifesti in un soggetto partecipante allo studio, cui sia stato somministrato il trattamento sperimentale e che non ha necessariamente un rapporto causale con esso. Rientrano in tale definizione effetti derivanti da errore terapeutico, abuso, misuse, sovradosaggio, tossicità correlata o reazioni di ipersensibilità.

Un evento avverso può pertanto essere un segno nocivo e non desiderato, un sintomo o una malattia concomitanti al trattamento, ma non necessariamente collegati ad esso. Un evento avverso può verificarsi sia nel periodo di trattamento che in quello di follow-up. Anche un'alterazione di un valore di laboratorio viene considerata evento avverso, se l'anomalia:

- determina la sospensione definitiva del trattamento;
- richiede modifica / interruzione del trattamento, o qualsiasi altro intervento;
- è giudicata essere di notevole importanza clinica.

#### **Reazione Avversa (AR)**

Si definisce reazione avversa, qualsiasi reazione dannosa e indesiderata al trattamento sperimentale, a prescindere dalla dose somministrata.

#### **Evento Avverso Serio (SAE) o Reazione Avversa Seria (SAR)**

Qualsiasi evento avverso o reazione avversa che, a prescindere dalla dose:

- impone un ricovero ospedaliero;
- prolunga il ricovero in corso;

- comporta un'invalidità o un'incapacità grave o prolungata;
  - risulta in un'anomalia congenita o in un difetto alla nascita;
- mette in pericolo la vita del soggetto o ne causa il decesso.

### **Evento Avverso Serio Inatteso (SUSAR)**

Qualsiasi evento avverso serio impreveduto giudicato serio dall'Investigatore e / o dal Promotore, che non è coerente, né in natura né in severità né in frequenza, con le informazioni di sicurezza di riferimento (RSI).

### **Valutazione di un evento avverso**

La valutazione di serietà, gravità, correlazione, prevedibilità ed esito di un evento sono responsabilità dello Sperimentatore Principale o di un altro Medico formato alla e incaricato della registrazione e notifica degli AE.

### **Serietà**

La serietà di un evento definisce gli obblighi e le tempistiche di notifica. I criteri secondo cui lo Sperimentatore valuterà la serietà dell'AE sono quelli riportati nella definizione di "Evento avverso serio (SAE)".

### **Severità/Gravità**

Il criterio di severità non deve essere confuso con il criterio di serietà che è la guida per la definizione degli obblighi di segnalazione. Al verificarsi di una tossicità per la valutazione di gravità occorrerà fare riferimento a NCI Common Toxicity Criteria, - NCI CTCAE term (Version 5.0).

La gravità degli eventi avversi non elencati nella scala delle tossicità NCI CTCAE term (Version 5.0) sarà valutata sulla base dei seguenti livelli:

1. lieve: l'evento avverso viene facilmente tollerato dal soggetto, causando un disagio minimo e nessuna interferenza con le attività quotidiane; non richiede trattamenti specifici;
2. moderato: l'evento avverso è abbastanza sconcertante da interferire con le normali attività quotidiane ed è migliorato da intervento terapeutico;
3. grave: l'evento avverso impedisce le normali attività quotidiane e necessità di intervento terapeutico specifico;
4. rischio vita: rischio immediato che richiede ospedalizzazione e intervento clinico;
5. morte.

### **Correlazione**

Lo Sperimentatore valuterà la correlazione tra l'AE e il trattamento rispetto alle informazioni di sicurezza di riferimento (RSI). a prescindere dalla dose somministrata:

- Non correlato: quando l'AE non è ritenuto collegato al trattamento;

– Possibile correlazione (o correlato): quando il nesso causale tra l'AE e il trattamento è reso probabile dalla relazione temporale, natura dell'evento e dipendenza dalla sospensione / ripresa del trattamento, mentre è ritenuta improbabile la relazione dell'AE con farmaci concomitanti o patologie di base o eventuali procedure specifiche.

Lo Sperimentatore deve considerare come correlati al trattamento anche gli eventi che sono generati da errori di terapia e utilizzi non previsti nel protocollo, compreso il cattivo utilizzo o l'abuso del prodotto e dalla interazione con un trattamento non sperimentale o di trattamenti concomitanti.

### **Prevedibilità**

Qualora l'AE sia giudicato correlato al trattamento, lo Sperimentatore valuterà la prevedibilità rispetto alle informazioni di sicurezza note. L'AE sarà classificato come:

- Atteso: la reazione è coerente con le informazioni sulla tossicità del trattamento elencate tra le informazioni di sicurezza di riferimento (RSI).
- Inatteso: la reazione NON è coerente con le informazioni sulla tossicità del trattamento elencate tra le informazioni di sicurezza di riferimento (RSI). Un aumento della frequenza o della gravità di una reazione avversa grave conosciuta e già documentata è da considerare come inattesa.

### **Esito dell'evento**

Lo Sperimentatore indicherà le azioni intraprese in merito al trattamento (sospensione temporanea, riduzione o interruzione del trattamento) ed indicherà se interventi supplementari e non previsti nel protocollo si sono resi necessari per la gestione dell'evento.

Lo Sperimentatore è responsabile di un adeguato follow up clinico dell'AE fino a risoluzione completa o parziale, stabilizzazione, aggravamento o morte (dovuta all'evento stesso). Questo può significare che in talune circostanze il follow up continui anche al termine dello studio.

### **Registrazione di un evento avverso**

Lo Sperimentatore (o altro Medico formato alla registrazione e notifica degli AE) registrerà gli AE e i SAE sia in CRF che nella documentazione sanitaria e provvederà ad aggiornare il registro permanente degli AE.

In questo studio tutti gli AEs verranno registrati nella CRF, fatta eccezione per:

- Eventuali condizioni mediche presenti nel paziente riportate alla valutazione basale, prima dell'inizio del trattamento in studio (il peggioramento di tali condizioni nel corso dello studio verrà invece registrato come un AE).
- Un valore anomalo di laboratorio clinicamente non significativo (che non determina uscita dallo studio, un trattamento specifico, la modifica o l'interruzione del trattamento in studio, altri interventi terapeutici) o che a giudizio dello Sperimentatore non sia da ritenersi clinicamente importante. Se il parametro di laboratorio è parte di uno stato patologico, solo la diagnosi del medesimo dovrà essere riportata come AE all'interno della CRF. Se possibile,

l'anomalia di laboratorio dovrebbe essere registrata come un termine medico e non semplicemente come un risultato di laboratorio anomalo.

All'interno della CRF, lo Sperimentatore dovrà descrivere l'AE con termini medici, dettagliare le informazioni richieste secondo quanto definito rispetto ai criteri di valutazione dell'evento, e registrare la durata dell'AE (data di presentazione ed esito).

Un AE risolto che si ripresenti o che aumenti di gravità dovrà essere registrato come un nuovo evento.

#### **Procedure di segnalazione di un evento avverso serio**

Tutti i SAE/SUSAR devono essere segnalati dallo Sperimentatore immediatamente e non oltre le 24 ore successive a quando è venuto a conoscenza dell'evento. L'evento, oltre a registrazione in CRF in sezione specifica, sarà verificato rispetto agli obblighi di trasmissione tramite EVCTM.

In caso di decesso verrà data comunicazione anche al Comitato Etico di riferimento.

#### **Raccolta e segnalazione di eventi avversi**

Il Promotore notificherà tutti i SUSAR che potrebbero influire negativamente sulla sicurezza dei partecipanti a Eudravigilance (attraverso EVCTM), a tutti gli Sperimentatori e i Comitati etici dei centri partecipanti, entro i termini dell'articolo 17 della Direttiva europea 2001/20 / CE:

- SUSAR fatali o potenzialmente letali entro 7 giorni
- Tutti gli altri SUSAR entro 15 giorni.

Il promotore predisporrà una Relazione annuale di sicurezza (DSUR) secondo quanto previsto da normativa applicabile.



## **Aspetti etici**

Questo studio sarà condotto in piena conformità con i principi della Dichiarazione di Helsinki, o le leggi e la normativa italiana, a seconda di quale sia la protezione maggiore per i partecipanti.

## **Protezione dei dati**

L'Università del Piemonte Orientale (UPO), in qualità di promotore afferma il diritto del soggetto alla protezione contro la violazione della privacy e applica le regole per la protezione dei diritti e delle libertà fondamentali delle persone fisiche (partecipanti) in relazione al trattamento dei dati personali in conformità con la GCP e le normative europee e locali. Tutte le informazioni che identificano il paziente saranno mantenute riservate e, nella misura consentita dalle leggi e / o dai regolamenti applicabili, non saranno rese pubblicamente disponibili.

Se il nome del paziente o altre informazioni che consentono potenzialmente l'identificazione del paziente compaiono su qualsiasi documento di studio, deve essere cancellato prima che una copia del documento venga mostrata al Promotore o ai suoi rappresentanti (pseudo-anonimizzazione). Secondo la Direttiva 95/46 / CE (Regolamento generale sulla protezione dei dati, GDPR), la pseudo-anonimizzazione dei dati del partecipante implica la sostituzione di qualsiasi caratteristica identificativa dei dati con un valore che non consente di identificare direttamente l'interessato. La chiave del codice (ID paziente) rimane presso il Centro clinico ed è coperta dall'obbligo di riservatezza.

I nomi dei partecipanti alla sperimentazione o qualsiasi altro dato che ne consenta l'identificazione non saranno raccolti e registrati nella Case Report Form (CRF). Nella CRF verrà registrato solo il codice del partecipante (ovvero l'ID paziente). Tutte le informazioni raccolte nella CRF saranno rese accessibili agli investigatori autorizzati dal PI in qualità di responsabile del trattamento nel delegation log degli studi di ciascun centro clinico e l'accesso sarà possibile esclusivamente attraverso il nome utente e la password forniti a ogni investigatore che partecipa allo studio. I risultati dello studio raccolti su un database specifico dello studio verranno archiviati in conformità con le leggi sulla protezione dei dati e in conformità con l'Aggiunta Integrata alla ICH E6 (R1) E6R2.

Il promotore come responsabile del trattamento dei dati garantirà che:

- i pazienti arruolati nello studio ricevano informazioni dettagliate sul perché i loro dati sono necessari e su come verranno utilizzati;
- è in atto una procedura per rispondere alle richieste di informazioni da parte dei soggetti iscritti allo studio;
- è in atto una procedura per trattare tempestivamente qualsiasi richiesta di informazioni sulla gestione dei dati personali o richiesta di accesso nei termini e nei termini stabiliti dalla legislazione applicabile; e che i responsabili del trattamento dei dati opportunamente identificati garantiranno che:

- i dati clinici sono elaborati solo per la gestione per la quale sono raccolti, come specificato nel protocollo di studio;

**Aspetti amministrativi**

Questa è una sperimentazione clinica spontanea promossa ed avviata da un promotore senza fini di lucro. La sperimentazione è finalizzata al miglioramento della pratica clinica quale parte integrante dell'assistenza sanitaria e non a fini industriali o di lucro. Non è previsto alcun compenso per gli sperimentatori che partecipino alla sperimentazione.

In questo studio, il farmaco sperimentale e di confronto verrà reperito in pratica clinica dalle scorte commerciali utilizzate in pratica clinica a cura di ogni centro clinico partecipante.

Previa approvazione etica, lo studio verrà avviato in ogni centro italiano che richiede la partecipazione e la partecipazione verrà comunicata unitamente al protocollo approvato alla rispettiva Azienda Sanitaria di riferimento del centro

La copertura per eventuali danni derivanti dalla partecipazione dei soggetti alla sperimentazione clinica è incluso nell'assicurazione generale dei singoli centri clinici partecipanti.



## Schedula dello studio

### Trattamento e valutazioni

Procedure	Baseline	Randomizzazione	Trattamento	Follow up
Trattamento		● *	X	
Criteri Inclusione/esclusione	X			
Consenso Informato	X			
Dati demografici	X			
Anamnesi (condizioni mediche correnti/trattamenti farmacologici)	X			
Trattamenti concomitanti (in particolare farmaci noti allungare il QTc)	X			
Esame obiettivo	X			
Parametri vitali (FR, SO <sub>2</sub> , T est) e tipo di assistenza respiratoria 1)	X			x
Valutazione aggravamento o dimissione				X
Esami laboratorio 2)	X		X	X
EGA arterioso 3)	*		*	*
ECG con calcolo QTc 4)	X		X	X
Valutazione clinica			X	X
Tampone per valutazione virologica 5)				X
Eventi Avversi	X		X	X

\* Una volta arruolato il paziente (soddisfatti i criteri di selezione del paziente, firmato il consenso informato) il paziente può avviare idrossiclorochina secondo la schedula di trattamento in attesa della randomizzazione che dovrà comunque avvenire entro le 24 ore dal ricovero.

- 1) Da valutare tra le ore 06 e 12 del giorno, tipo di assistenza respiratoria incluso eventuale avvio di ventilazione non invasiva quale CPAP, NIV, optiflow.

- 2) Emocromo, ALT, bilirubina, creatinina, PCR, LDH, sodio, potassio, calcio, magnesio, ferritina, D-Dimero giorni 1, 3, 7, 10. Il follow up di laboratorio termina con la dimissione al domicilio.
- 3) EGA arterioso programmato: se presente distress respiratorio a giudizio clinico, EGA arterioso per aggravamento: o In qualsiasi momento sulla base della valutazione clinica
- 4) Calcolo QTc giorni 1, 2 e 3
  - a. In caso di incremento del QTc <25 msec al giorno 3 (rispetto al giorno 1) stop monitoraggio
  - b. In caso di QTc>500 msec al giorno 2 o 3 termina trattamento (Evento avverso) e il paziente esce dallo studio di efficacia prosegue valutazione di sicurezza fino a 28 giorni
  - c. In caso di incremento del QTc>25 msec al giorno 2 o 3 (rispetto al giorno 1) ma con QTc<500 prosegue monitoraggio ECG con calcolo QTc ogni 24 ore fino alla dimissione al domicilio
  - d. In caso di QTc>500 msec in qualunque degli eventuali monitoraggi successivi termina trattamento (evento avverso) e il paziente esce dallo studio prosegue valutazione di sicurezza fino a 28 giorni
- 5) Tampone rinofaringeo e/o orofaringeo: giorni 5, 7, 10. La valutazione virologica non viene eseguita in pratica clinica in quanto non rappresenta pratica clinica standard, pertanto il tampone eseguito viene inviato al laboratorio di riferimento per estrazione RNA e stoccaggio, il risultato non viene reso disponibile al centro clinico se non dopo la dimissione al domicilio del paziente. Anche in questo caso il follow up virologico termina con la dimissione al domicilio del paziente.

## Bibliografia

1. Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 2020; 395:497.
2. Chen N, Zhou M, Dong X, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet* 2020; 395:507.
3. Wang D, Hu B, Hu C, et al. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA* 2020.
4. Liu K, Fang YY, Deng Y, et al. Clinical characteristics of novel coronavirus cases in tertiary hospitals in Hubei Province. *Chin Med J (Engl)* 2020.
5. Yang X, Yu Y, Xu J, et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *Lancet Respir Med* 2020.
6. Hui DSC, Zumla A. Severe acute respiratory syndrome: historical, epidemiologic, and clinical features. *Infect Dis Clin North Am* 2019; 33: 869–89.
7. Li G, Fan Y, Lai Y, et al. Coronavirus infections and immune responses. *J Med Virol* 2020; published online Jan 25. DOI:10.1002/jmv.25685.
8. Channappanavar R, Perlman S. Pathogenic human coronavirus infections: causes and consequences of cytokine storm and immunopathology. *Semin Immunopathol* 2017; 39: 529–39.
9. Idrossiclorochina (Plaquenil) RIASSUNTO DELLE CARATTERISTICHE DEL PRODOTTO [https://farmaci.agenziafarmaco.gov.it/aifa/servlet/PdfDownloadServlet?pdfFileName=footer\\_008055\\_013967\\_RCP.pdf&retry=0&sys=m0b113](https://farmaci.agenziafarmaco.gov.it/aifa/servlet/PdfDownloadServlet?pdfFileName=footer_008055_013967_RCP.pdf&retry=0&sys=m0b113)
10. Wang M, Cao R, Zhang L, Yang X, Liu J, Xu M, et al. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. *Cell Res* 2020;10-0282.
11. Gao J, Tian Z, Yang X. Breakthrough: Chloroquine phosphate has shown apparent efficacy in treatment of COVID-19 associated pneumonia in clinical studies. *Biosci Trends* 2020 Feb 19. doi: 10.5582/bst.2020.01047. [Epub ahead of print]
12. Chinese Clinical Trial Registry. <http://www.chictr.org.cn/searchproj.aspx?title=%E6%B0%AF%E5%96%B9&officialname=&subjectid=&secondaryid=&applier=&studyleader=&ethicalcommitteesanction=&sponsor=&studyailment=&studyailmentcode=&studytype=0&studystage=0&studydesign=0&minstudyexecutetime=&maxstudyexecutetime=&recruitmentstatus=0&gender=0&agreetosign=&secsponsor=&regno=&regstatus=0&country=&province=&city=&institution=&institutionlevel=&measure=&intercode=&sourceofspends=&createyear=0&isuploadrf=&whetherpublic=&btngo=btn&verifycode=&page=1>
13. Multicenter collaboration group of Department of Science and Technology of Guangdong Province and Health Commission of Guangdong Province for chloroquine in the treatment of novel coronavirus pneumonia. Expert consensus on chloroquine phosphate for the treatment of novel coronavirus pneumonia]. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi*. 2020 Mar12;43(3):185-188. doi: 10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2020.03.009.
14. Biot C, Daher W, Chavain N, Fandeur T, Khalife J, Dive D, et al. Design and synthesis of hydroxyferroquine derivatives with antimalarial and antiviral activities. *J Med Chem* 2006;49:2845-2849.
15. Marmor MF, Kellner U, Lai TY, Melles RB, Mieler WF; American Academy of Ophthalmology. Recommendations on Screening for Chloroquine and

- Hydroxychloroquine Retinopathy (2016 Revision). *Ophthalmology*. 2016 Jun;123(6):1386-94. doi:10.1016/j.ophtha.2016.01.058. Epub 2016 Mar 16.
16. Yao X, Ye F, Zhang M, Cui C, Huang B, Niu P, et al. In Vitro Antiviral Activity and Projection of Optimized Dosing Design of Hydroxychloroquine for the Treatment of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Clin Infect Dis*. 2020 Mar 9. pii:ciaa237. doi: 10.1093/cid/ciaa237. [Epub ahead of print]
  17. Azitromicina (Zitromax) RIASSUNTO DELLE CARATTERISTICHE DEL PRODOTTO [https://farmaci.agenziafarmaco.gov.it/aifa/servlet/PdfDownloadServlet?pdfFileName=footer\\_000040\\_027860\\_RCP.pdf&sys=m0b1l3](https://farmaci.agenziafarmaco.gov.it/aifa/servlet/PdfDownloadServlet?pdfFileName=footer_000040_027860_RCP.pdf&sys=m0b1l3)
  18. Lee N, Wong CK, Chan MCW, Yeung ESL, Tam WWS, Tsang OTY, et al. Antiinflammatory effects of adjunctive macrolide treatment in adults hospitalized with influenza: a randomized controlled trial. *Antiviral Res*. 2017; 144: 48–56
  19. Amsden GW. Anti-inflammatory effects of macrolides—an underappreciated benefit in the treatment of community-acquired respiratory tract infections and chronic inflammatory pulmonary conditions?. *J Antimicrob Chemother* 2005; 55(1): 10–21.
  20. Kanoh S, Rubin BK. Mechanisms of action and clinical application of macrolides as immunomodulatory medications. *Clin Microbiol Rev* 2010; 23(3): 590–615.
  21. Zarogoulidis P, Papanas N, Kioumis I, Chatzaki E, Maltezos E, Zarogoulidis K. Macrolides: from in vitro anti-inflammatory and immunomodulatory properties to clinical practice in respiratory diseases. *Eur J Clin Pharmacol* 2012; 68 (5): 479–503.
  22. Bermejo-Martin JF, Kelvin DJ, Eiros JM, Castrodeza J, Ortiz de Lejarazu R. Macrolides for the treatment of severe respiratory illness caused by novel H1N1 swine influenza viral strains. *J Infect Dev Ctries*. 2009 Apr 30;3(3):159-61.
  23. Arabi YM, Deeb AM, Al-Hameed F, Mandourah Y, Almekhlafi GA, Sindi AA, Al-Omari A, Shalhoub S, Mady A, Alraddadi B, Almotairi A, Al Khatib K, Abdulmomen A, Qushmaq I, Solaiman O, Al-Aithan AM, Al-Raddadi R, Ragab A, Al Harthy A, Kharaba A, Jose J, Dabbagh T, Fowler RA, Balkhy HH, Merson L, Hayden FG; Saudi Critical Care Trials group. Macrolides in critically ill patients with Middle East Respiratory Syndrome. *Int J Infect Dis*. 2019 Apr;81:184-190.
  24. Walkey AJ, Wiener RS. Macrolide antibiotics and survival in patients with acute lung injury. *Chest*. 2012 May;141(5):1153-1159.
  25. Hung, Ivan F.N. et al. Efficacy of Clarithromycin-Naproxen-Oseltamivir Combination in the Treatment of Patients Hospitalized for Influenza A(H3N2) Infection CHEST, Volume 151, Issue 5, 1069 – 1080
  26. Martín-Loeches I, Bermejo-Martin JF, Vallés J, Granada R, Vidaur L, Vergara-Serrano JC, Martín M, Figueira JC, Sirvent JM, Blanquer J, Suarez D, Artigas A, Torres A, Diaz E, Rodriguez A; SEMICYUC/REIPI/CIBERES H1N1 Working Group. Macrolide-based regimens in absence of bacterial co-infection in critically ill H1N1 patients with primary viral pneumonia. *Intensive Care Med*. 2013 Apr;39(4):693-702.
  27. Gautret P, Lagier JC, Parola P, Hoang VT, Meddeb L, Mailhe M, Doudier B, Courjon J, Giordanengo V, Vieira VE, Dupont HT, Honoré S, Colson P, Chabrière E, La Scola B, Rolain JM, Brouqui P, Raoult D. Hydroxychloroquine and azithromycin as a treatment of COVID-19: results of an open-label non-randomized clinical trial. *Int J Antimicrob Agents*. 2020 Mar 20:105949. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105949. Epub ahead of print
  28. Pfizer Labs, 2013 [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2013/050693s023,050730s03](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2013/050693s023,050730s03)

[1lbl.pdf](#)

29. Sagara I, et al. Efficacy and safety of a combination of azithromycin and chloroquine for the treatment of uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria in two multi-country randomised clinical trials in African adults. *Malar J.* 2014 Nov 25; 13:458. doi: 10.1186/1475-2875-13-458.
30. Kimani J, et al. Efficacy and Safety of Azithromycin-Chloroquine versus Sulfadoxine-Pyrimethamine for Intermittent Preventive Treatment of *Plasmodium falciparum* Malaria Infection in Pregnant Women in Africa: An Open-Label, Randomized Trial. *PLoS One.* 2016 Jun 21; 11(6):e0157045
31. Fossa AA, et al. Azithromycin/chloroquine combination does not increase cardiac instability despite an increase in monophasic action potential duration in the anesthetized guinea pig. *Am J Trop Med Hyg.* 2007 Nov; 77(5): 929-38.
32. Zou G (2004) A modified poisson regression approach to prospective studies with binary data. *Am J Epidemiol* 159(7):702–706