

PROTOCOLLO DI STUDIO CLINICO

Titolo del protocollo

PRECOV: studio clinico controllato e randomizzato sugli effetti della idrossiclorochina nella prevenzione di COVID-19 in operatori sanitari a rischio

Numero EudraCT: 2020-001987-28

Versione: 3 del 05-05-2020

Codice: PRECOV

Promotore: IRCC Ospedale San Raffaele, via Olgettina 60, 20132 Milano

Principal investigator

Giancarlo Comi ¹

Comitato Scientifico (in ordine alfabetico)

Marco Bregni², Antonella Castagna³, Fabio Ciceri⁴, Lorenzo Dagna⁵, Gloria Dalla Costa¹, Sandro Iannaccone⁶, Adriano Lazzarin³, Massimo Locatelli⁷, Matteo Moro⁸, Gabriele Pellicciotta⁹, Paolo Scarpellini³, Moreno Tresoldi¹⁰, Alberto Zangrillo¹¹

Comitato Operativo (in ordine alfabetico)

Marco Bonopane¹, Luciano Callegaro², Giliola Calori¹², Cecilia Canzonieri², Cirino Di Carlo¹³, Francesca Filograna¹², Maria Libera Laporta¹, Lucia Roselli¹

External Advisory Board (in ordine alfabetico)

Maria Pia Sormani (Presidente)¹⁴, Carlo Defanti¹⁵, Agostino Riva¹⁶

Affiliazioni

¹Istituto di Neurologia Sperimentale (INSPE) IRCCS Ospedale San Raffaele, Milano, Italia; ²Clinical Trial Center, IRCCS Ospedale San Raffaele, Milano, Italia; ³U.O. di Malattie Infettive, IRCCS Ospedale San Raffaele, Milano, Italia; ⁴U.O. di Ematologia, IRCCS Ospedale San Raffaele, Milano, Italia; ⁵U.O. di Immunologia, Reumatologia, Allergologia e Malattie Rare, IRCCS Ospedale San Raffaele, Milano, Italia; ⁶U.O. Riabilitazione Disturbi Neuro-Cognitivi, IRCCS Ospedale San Raffaele, Milano, Italia; ⁷Servizio di Medicina di Laboratorio, IRCCS Ospedale San Raffaele, Milano, Italia; ⁸Direzione Sanitaria, IRCCS Ospedale San Raffaele, Milano, Italia; ⁹U.O. di Medicina Preventiva, IRCCS Ospedale San Raffaele, Milano, Italia; ¹⁰U.O. di Medicina Generale e delle Cure Avanzate, IRCCS Ospedale San Raffaele, Milano, Italia; ¹¹U.O. di Anestesia e Rianimazione, IRCCS Ospedale San Raffaele, Milano, Italia; ¹²Comitato Etico, IRCCS Ospedale San Raffaele, Milano, Italia; ¹³Servizio di Farmacia, IRCCS Ospedale San Raffaele, Milano, Italia; ¹⁴Unità di Biostatistica, Università di Genova, Genova, Italia; ¹⁵Università Vita-Salute San Raffaele, Milano, Italia; ¹⁶Unità di Malattie Infettive III, Ospedale Sacco, ASST Fatebenefratelli Sacco, Milano, Italia

Questo studio viene realizzato dall'IRCCS Ospedale San Raffaele di Milano.

Questo studio clinico sarà condotto in accordo con le attuali Norme di Buona Pratica clinica (GCP) e secondo i requisiti previsti nelle Linee Guida dell'ICH (International Conference on Harmonization)

CONFIDENZIALE

Questo documento è da ritenersi riservato e confidenziale e non può essere divulgato tranne che per ottenere l'approvazione da parte dei Comitati Etici/IRB e per l'approvazione da parte delle Autorità Regolatorie Locali come richiesto dalle Leggi Locali.

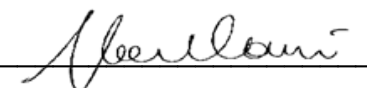
PAGINA FIRME

Codice protocollo: PRECOV

Versione: 3 del 05.05.2020

Titolo: studio clinico controllato e randomizzato sugli effetti della idrossiclorochina nella prevenzione di COVID-19 in operatori sanitari a rischio

Titolo in inglese: a randomized controlled clinical trial on the efficacy of hydroxychloroquine in the prevention of COVID-19 in healthcare workers at risk

Firma dello Sperimentatore Principale: 

Data: 05-05-2020

INDICE

1. INTRODUZIONE E RAZIONALE	4
2. OBIETTIVI DELLO STUDIO	6
3. DISEGNO DELLO STUDIO	7
4. POPOLAZIONE IN STUDIO	8
5. TRATTAMENTO SPERIMENTALE	10
6. PROCEDURE DELLO STUDIO	12
7. CONSIDERAZIONI STATISTICHE	13
8. SICUREZZA E FARMACOVIGILANZA	14
9. CONSIDERAZIONI ETICHE	17
10. PROTEZIONE DEI DATI	18
11. RISULTATI DELLA SPERIMENTAZIONE	19
12. BIBLIOGRAFIA	20
13. APPENDICE 1: FLOW-CHART DELLO STUDIO	22

1. INTRODUZIONE E RAZIONALE

Un coronavirus altamente infettivo denominato SARS-CoV-2 è stato identificato per la prima volta nel dicembre 2019 a Wuhan, nella provincia di Hubei, in Cina, come causa di una malattia nota come COVID-19. Da allora il virus si è rapidamente diffuso in tutto il mondo tanto da portare l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) a dichiarare lo stato di pandemia nel Marzo 2019. Al 18 Aprile 2020 sono stati registrati nel mondo oltre 2200000 casi, dei quali oltre 170000 in Italia, che è lo Stato che ha registrato il più alto numero di decessi legati all'infezione [1]. Fin dalle prime fasi dell'epidemia di COVID-19 in Cina, la malattia è risultata colpire con elevata frequenza il personale sanitario operante negli ospedali e sul territorio [2], ed anche in Italia il personale medico e paramedico è risultato particolarmente a rischio: si stima infatti che nelle aree geografiche maggiormente esposte al rischio infettivo almeno il 15% degli operatori sanitari ospedalieri siano positivi al virus, e ad oggi 131 medici e 34 infermieri sono morti a causa della malattia [3]. Oltre all'incredibile sacrificio umano di queste categorie di lavoratori, ciò comporta conseguenze altamente negative sulla piena operatività degli ospedali in questi momenti così critici e sul rischio di ulteriore diffusione dell'infezione, per cui è fondamentale identificare strategie di prevenzione per mitigare i suddetti rischi.

La cloroquina è un farmaco scoperto nel 1934 e da allora utilizzato con efficacia su larga scala per la cura e la profilassi della malaria e di infezioni batteriche quali la febbre Q e la malattia di Whipple [4]. In virtù di ciò la cloroquina è annoverata fra i farmaci essenziali per i sistemi sanitari mondiali dall'OMS [5]. Il farmaco è anche efficace come agente antinfiammatorio per il trattamento dell'artrite reumatoide e del lupus eritematoso sistemico. Alla luce della sua buona tollerabilità e sicurezza, basso costo, e potenziale attività antimicrobica ad ampio spettro, negli anni è stata esplorata l'efficacia del farmaco anche come antivirale. In particolare, sono stati ben descritti gli effetti in vitro della cloroquina come l'inibizione del "uncoating" e l'alterazione delle modificazioni post traduzionali di proteine in molti virus, tra cui il virus dell'HIV [6] e dell'influenza aviaria [7].

Un recente studio ha dimostrato un marcato effetto inibitore della cloroquina sulla crescita di SARS-CoV-2 in vitro [8]. In particolare, la concentrazione di farmaco tale da produrre il 90% dell'effetto massimale (EC90) nei confronti del virus è risultata essere in vitro di 6,90 μM , una concentrazione che può essere facilmente e con sicurezza raggiungibile in vivo come dimostrato nel plasma dei pazienti con artrite reumatoide che hanno ricevuto una somministrazione di 500 mg di cloroquina [9]. Uno studio clinico condotto su pazienti cinesi affetti da COVID-19, ha mostrato che il farmaco ha avuto un effetto significativo, sia in termini di esito clinico che di clearance virale, rispetto ai gruppi di controllo [10]. Tale risultato è stata confermato poi da altri studi in vivo condotti in Cina [11]. Nel febbraio 2020 pertanto un panel di esperti ha riassunto i risultati dell'impiego di cloroquina nel trattamento dell'infezione acuta da COVID-19, raccomandando di trattare i pazienti con diagnosi accertata di polmonite da COVID-19 lieve e moderata con 500 mg di cloroquina due volte al giorno per dieci giorni [12].

Anche l'idrossiclorochina, un analogo della cloroquina, ha dimostrato di avere un'attività anti-SARS-CoV-2 in vitro [13]. Il profilo sicurezza dell'idrossiclorochina è migliore di quello della cloroquina durante l'uso a lungo termine, ne consente una dose giornaliera più elevata [14] e presenta meno problemi riguardo alle interazioni farmacologiche [15]. In particolare, l'idrossiclorochina ha un ottimo assorbimento orale ed un pattern di distribuzione tissutale tale per cui raggiunge nei polmoni una concentrazione pari a 700 volte quella plasmatica. Un dosaggio di idrossiclorochina sicuro (6.5 mg/kg per giorno) può generare nell'uomo concentrazioni plasmatiche di farmaco di 1.4–1.5 μM [16], in grado al pari della cloroquina di inibire la replicazione in vitro di SARS-CoV-2 [13]. L'assunzione di tale dosaggio giornaliero di farmaco per sette anni consecutivi non ha portato nell'uomo all'occorrenza di

effetti collaterali in pazienti affetti da artrite reumatoide [14]. Recentemente il trattamento con idrossiclorochina è stato significativamente associato alla riduzione/scomparsa della carica virale nei pazienti con COVID-19 [17]. In uno studio condotto in Cina, randomizzato e controllato, idrossiclorochina ha prodotto un significativo miglioramento della sintomatologia clinica associata ad una riduzione dei livelli di PCR e ad un più rapido recupero dalla linfopenia associata all'infezione[18]. In uno studio recente in vitro condotto presso il nostro Istituto, è stato dimostrato che l'attività anti SARS-CoV-2 di una concentrazione di idrossiclorochina rapportabile a quella usata comunemente in ambito clinico è massima solo quando amministrata già prima dell'infezione, a suggerire la necessità di un uso profilattico di idrossiclorochina (Figura 1) [19].

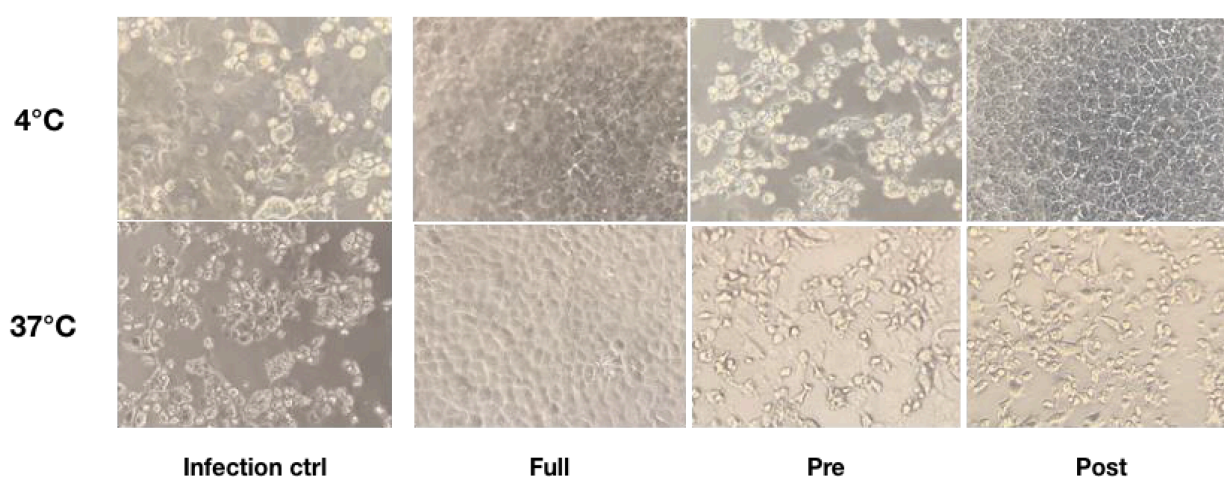


Figura 1. Effetto citopatico di SARS-CoV-2 in condizioni standard (Infectionctrl) ed in diverse condizioni di trattamento con idrossiclorochina: trattamento pre infezione (Pre), trattamento post infezione (Post), o trattamento pre e post infezione (Full)

L'attuale stato di emergenza sanitaria mondiale legata alla pandemia da COVID-19 comporta l'assoluta necessità di sviluppo di strategie non solo curative ma anche preventive per l'infezione da virus e sua ulteriore diffusione. Misure di profilassi pre-esposizione e post-esposizione (PEP) si sono dimostrate efficaci nel ridurre il rischio di diffusione secondaria di infezione da parte di diversi agenti patogeni [20]. Dalle evidenze fino ad ora emerse, la somministrazione in profilassi di idrossiclorochina in persone esposte al virus SARS-CoV-2 può ridurre il rischio di malattia e di contagiosità verso gli altri riducendo la carica virale nel sistema respiratorio degli esposti. L'implementazione di un trattamento farmacologico per la profilassi di un'infezione ha diversi requisiti: l'efficacia nei confronti dell'agente eziologico, la disponibilità, la sicurezza elevata ed i bassi costi del farmaco, tutte caratteristiche che fanno di idrossiclorochina il candidato ideale per la sua sperimentazione negli studi di profilassi [21]. Diversi trial clinici nel mondo stanno per iniziare a testare l'efficacia di questo approccio [11], e l'Italia, e la Lombardia in particolare, si trovano nella situazione di poter sperimentare questa strategia e fornire una risposta definitiva anzitempo.

Il presente studio si pone l'obiettivo pertanto di valutare l'efficacia del trattamento preventivo con idrossiclorochina contro l'infezione da SARS-CoV-2 nel personale sanitario a rischio di infezione.

2. OBIETTIVI DELLO STUDIO

Obiettivo primario

Valutare l'efficacia del trattamento preventivo con idrossiclorochina nel ridurre il rischio di infezione da SARS-CoV-2 in personale sanitario a rischio.

Obiettivi secondari

- Valutare l'efficacia del trattamento preventivo con idrossiclorochina nel ridurre la gravità di manifestazioni cliniche di COVID-19
- Valutare la sicurezza e la tollerabilità del trattamento di profilassi per SARS-CoV-2 con idrossiclorochina

End point primario

- Proporzione dei soggetti trattati con idrossiclorochina con tampone nasofaringeo positivo per SARS-CoV-2 fra il giorno +3 ed il giorno +28 di trattamento rispetto ai controlli

End point secondari

- Proporzione dei soggetti trattati con idrossiclorochina con positività degli anticorpi anti SARS-CoV-2 al giorno +42 (28 +14) rispetto ai controlli
- Proporzione dei soggetti trattati con idrossiclorochina con due o più manifestazioni cliniche tipiche di COVID-19 (tosse secca, dispnea, febbre, faringodinia, mialgie, disgeusia o anosmia, congiuntivite, nausea vomito o diarrea)
- Proporzione dei soggetti trattati con idrossiclorochina con polmonite interstiziale da SARS-CoV-2
- Proporzione dei soggetti trattati con idrossiclorochina ospedalizzati per COVID-19
- Proporzione dei soggetti trattati con idrossiclorochina che accedono alla terapia intensiva
- Proporzione dei soggetti in trattamento di profilassi con idrossiclorochina che presentano eventi avversi e eventi avversi gravi

3. DISEGNO DELLO STUDIO

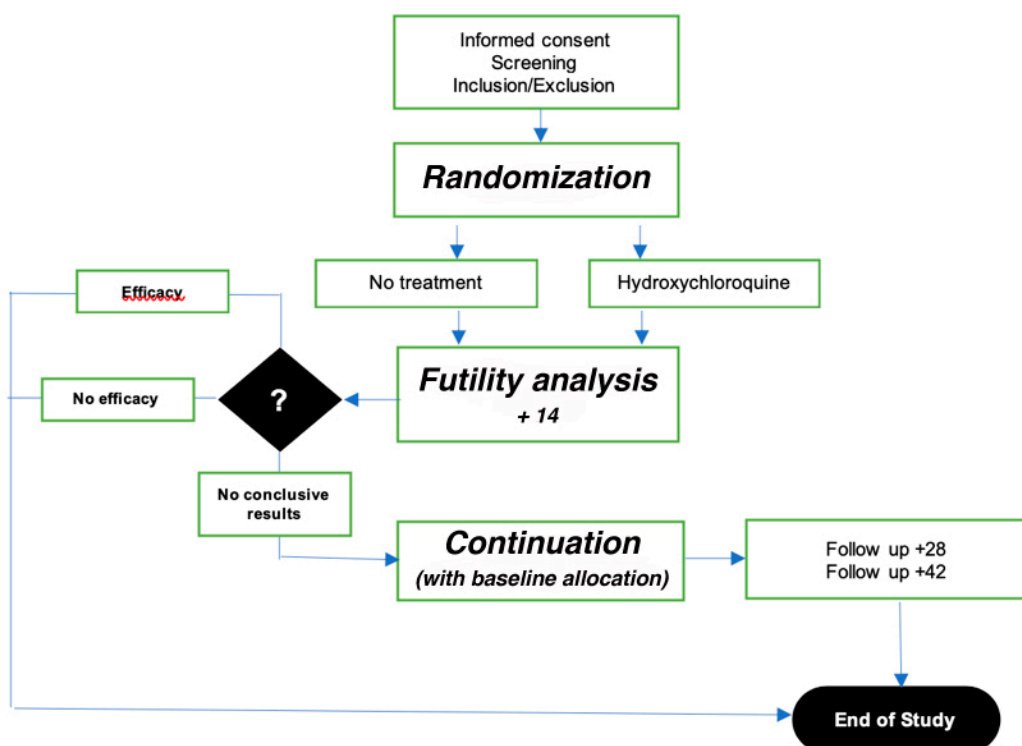
Studio sperimentale, farmacologico, di fase III, randomizzato e controllato, in singolo cieco, sugli effetti della idrossiclorochina nella prevenzione di COVID-19 in personale sanitario sieronegativo.

Studio di superiorità, prospettico, della durata di 42 giorni a gruppi paralleli.

Durata dello studio

La durata dello studio è di 42 giorni, con una durata di 28 giorni della fase di trattamento. L'estensione da 28 a 42 giorni si deve al test anticorpale che sarà effettuato ad una distanza di 14 giorni dalla fine del trattamento al fine di catturare l'eventuale positivizzazione del test che verrà ritenuta espressione di un'infezione intercorsa entro i 28 giorni di trattamento. Verrà effettuata un'analisi di futilità quando tutti i soggetti avranno completato 14 giorni di trattamento. Se l'analisi evidenzierà l'inefficacia del trattamento preventivo con idrossiclorochina lo studio verrà considerato concluso. Se l'analisi evidenzierà un'efficacia dell'intervento ancora una volta lo studio verrà ritenuto concluso ed a tutti i partecipanti verrà offerto il trattamento. Se infine l'analisi di futilità non consentirà di rigettare o accettare l'ipotesi alla base dello studio si continuerà il follow-up secondo l'assegnazione iniziale al braccio di trattamento o controllo fino al 28esimo giorno. Per l'analisi di futilità verrà utilizzato l'end point primario (positività al tampone). End point primario e secondari verranno ripetuti anche al giorno 28 solo nel caso in cui lo studio venga proseguito fino a tale tempo, ad esclusione degli esami sierologici che verranno effettuati al giorno 42. Un External Advisory Board avrà l'incarico di effettuare l'analisi di futilità e di suggerire al comitato scientifico la decisione sulla prosecuzione o meno dello studio (Vedi considerazioni statistiche pagina 13).

Flow chart dello studio



4. POPOLAZIONE IN STUDIO

La popolazione in studio include il personale sanitario dell'Ospedale San Raffaele di Milano a rischio di infezione da SARS-CoV-2 (medici, infermieri, fisioterapisti, tecnici di laboratorio, di radiologia e di neurofisiologia, ausiliari).

Criteri di INCLUSIONE:

1. Consenso informato per la partecipazione allo studio
2. Età compresa tra i 18 ed i 70 anni
3. RT-PCR negativo per SARS-CoV-2
4. Test anticorpale per SARS-CoV-2 negativo

Criteri di ESCLUSIONE:

1. Presenza di co-morbilità o assunzione concomitante di farmaci che possono interferire col rischio di contrarre l'infezione o influenzarne il decorso: diabete, insufficienza cardiaca, patologie neoplastiche, ecc)
2. Trattamenti immunoattivi in corso
3. Stato di gravidanza o allattamento
4. Controindicazioni all'utilizzo di idrossiclorochina:
 - a. Storia di ipersensibilità o allergia ad idrossiclorochina
 - b. Deficit di glucosio-6 fosfato deidrogenasi
 - c. Porfiria
 - d. Psoriasi
 - e. Peso < 40 kg
 - f. Pregressa riferita retinopatia o disturbi del campo visivo o concomitante assunzione di farmaci noti per indurre retinopatia (es tamoxifene);
 - g. Pregresse disritmie cardiache ventricolari o condizioni proaritmiche (es bpm < 50/min);
 - h. Utilizzo concomitante di digossina o di farmaci noti per prolungare l'intervallo QT (antiaritmici di classe IA e III, antidepressivi triciclici, antipsicotici, alofantrina), insulina o ipoglicemizzanti orali, fenilbutazone, ciclosporina, meflochina o altri antimalarici, farmaci antiepilettici
 - i. Insufficienza renale cronica di grado severo (clearance della creatinina < 10 ml/min)
5. Assunzione di idrossiclorochina per qualsiasi dose, durata e motivazione negli ultimi 6 mesi
- 6 Pregressa diagnosi di COVID-19 o pregressi sintomi suggestivi di malattia

Procedure di registrazione e randomizzazione

Il personale ospedaliero che soddisfa criteri di inclusione/esclusione verrà classificato in tre fasce, a seconda del rischio di infezione derivato dallo storico ospedaliero:

- Fascia ad alto rischio: personale medico, infermieristico ed ausiliario che opera, al momento dell'arruolamento, in reparti di terapia intensiva, reparti dedicati alla cura di pazienti affetti da COVID-19, Area del Pronto Soccorso dedicata ai casi di sospetto COVID-19
- Fascia a rischio intermedio: personale medico, infermieristico ed ausiliario che opera, al momento dell'arruolamento, in reparti non dedicati alla cura di pazienti affetti da COVID-19
- Fascia a basso rischio: tecnici di laboratorio, di radiologia e di neurofisiologia

Il reclutamento avverrà a partire dalla classe di rischio maggiore e fino ad esaurimento della stessa, e successivo passaggio alla classe di rischio inferiore. Il processo di reclutamento avverrà in un periodo massimo di 6 giorni.

I soggetti verranno randomizzati con rapporto 1:1 alla terapia con Idrossiclorochina e al braccio di controllo; la randomizzazione sarà stratificata per classe di rischio ed avverrà a blocchi permutati mediante il pacchetto blockrand del software statistico R (R Core Team). Il personale medico valutatore che effettuerà la visita basale e di follow-up dei soggetti arruolati sarà in cieco e non avrà pertanto accesso alla lista di randomizzazione. La lista di randomizzazione sarà conservata presso la Farmacia dell'Ospedale, che si occuperà della dispensazione del farmaco. Con la randomizzazione avverrà anche contestualmente la registrazione dei soggetti arruolati.

5. TRATTAMENTO SPERIMENTALE

Valutazione dei rischi-benefici

Clorochina e idrossiclorochina sono farmaci efficaci come agenti antinfiammatori per il trattamento dell'artrite reumatoide e del lupus eritematoso sistemico.

Nella terapia dell'artrite reumatoide il dosaggio iniziale di farmaco è di 400-600 mg/die da incrementare gradualmente fino al raggiungimento della dose ideale. Nel mantenimento la posologia solitamente viene ridotta a 200-400 mg die. Anche nel trattamento del lupus nella fase iniziale è previsto un dosaggio di 400 mg una o due volte/die, posologia che si può continuare per settimane o mesi in base alla risposta del paziente per poi passare ad una dose più bassa di 200-400 mg/die nella fase di mantenimento.

Un recente studio ha dimostrato un marcato effetto inibitore della clorochina sulla crescita di SARS-CoV-2 in vitro [8]. In particolare, la concentrazione di farmaco tale da produrre il 90% dell'effetto massimale (EC90) nei confronti del virus è risultata essere in vitro di 6,90 μM , una concentrazione che può essere facilmente e con sicurezza raggiungibile in vivo come dimostrato nel plasma dei pazienti con artrite reumatoide che hanno ricevuto una somministrazione di 500 mg di clorochina [9]. Uno studio clinico condotto su pazienti cinesi affetti da COVID-19, ha mostrato che il farmaco ha avuto un effetto significativo, sia in termini di esito clinico che di clearance virale, rispetto ai gruppi di controllo [10]. Tale risultato è stato confermato poi da altri studi in vivo condotti in Cina [11]. Nel febbraio 2020 pertanto un panel di esperti ha riassunto i risultati dell'impiego di clorochina nel trattamento dell'infezione acuta da COVID-19, raccomandando di trattare i pazienti con diagnosi accertata di polmonite da COVID-19 lieve e moderata con 500 mg di clorochina due volte al giorno per dieci giorni [12].

L'idrossiclorochina, un analogo della clorochina, ha dimostrato un profilo migliore di quello della clorochina durante l'uso a lungo termine, ne consente una dose giornaliera più elevata [14] e presenta meno problemi riguardo alle interazioni farmacologiche.

Studi in vitro hanno dimostrato che un dosaggio di idrossiclorochina di 6.5 mg/kg per giorno, comunemente utilizzato pertanto nel trattamento cronico di patologie reumatologiche, può generare nell'uomo concentrazioni plasmatiche di farmaco di 1.4–1.5 μM [16], in grado di inibire la replicazione di SARS-CoV-2 [13].

Alla dose utilizzata in questa sperimentazione e per la durata prevista di trattamento di 28 giorni i potenziali eventi avversi attesi sono di entità moderata: disturbi gastro intestinali (diarrea, nausea, vomito), inappetenza, vertigini, cefalea, disturbi dell'accomodazione e rash cutanei. Tra gli eventi avversi gravi vanno segnalati i disturbi del ritmo cardiaco (prolungamento dell'intervallo Q-T), cardiomiopatia, depressione midollare e retinopatia; tali eventi sono legati alla dose cumulativa, per dosi cumulative inferiori a 200 g gli eventi avversi seri sono eccezionali [14]. Nel trattamento dei pazienti COVID-19, in uno studio francese il farmaco è stato somministrato al dosaggio di 600 mg die per sei giorni senza effetti avversi gravi [17]. In uno studio condotto in Cina su 150 pazienti randomizzati a 1200 mg al giorno per tre giorni indi 800 mg die per due/tre settimane, il profilo di sicurezza di idrossiclorochina è apparso soddisfacente nonostante la dose elevata (non eventi avversi seri legati al farmaco, diarrea nel 10% dei casi) [18].

Diversi studi clinici in vari Paesi del mondo differentemente colpiti allo stato attuale dalla pandemia sono in fase di avvio per testare l'ipotesi l' idrossiclorochina sia efficace nel prevenire l'infezione da SARS-CoV-2 delle categorie a rischio:

Codice Trial Clinico	Stato	Popolazione in Studio
NCT04318015	Messico	Personale sanitario
NCT04318444	Stati Uniti d'America	Contatti stretti di casi COVID-10
NCT04303507	Regno Unito	Personale sanitario
NCT04308668	Stati Uniti d'America	Personale sanitario
NCT04328285	Francia	Personale sanitario
NCT04328467	Stati Uniti d'America	Personale sanitario
NCT04331834	Spagna	Personale sanitario
NCT04304053	Spagna	Contatti stretti di casi COVID-10

Durata, dosaggio, scheda di trattamento

Il personale ospedaliero è esposto al virus quotidianamente, pertanto un dosaggio di idrossiclorochina di 200 mg due volte/die è il dosaggio che è in grado di garantire il mantenimento delle concentrazioni plasmatiche necessarie ad inibire la replicazione virale. In analogia pertanto con la posologia indicata per il trattamento in cronico di artrite reumatoide e lupus eritematoso nella popolazione adulta, alla popolazione in studio sarà applicato il seguente schema posologico:

Idrossiclorochina 200 mg, 1 cp x 2 volte/die

Il farmaco sperimentale utilizzato all'interno del presente protocollo è:

Idrossiclorochina solfato 200 mg, compresse rivestite

Il medicinale sperimentale sarà acquistato dal Promotore e rietichettato e distribuito dalla Farmacia dell'Ospedale, nel rispetto delle leggi vigenti.

La Farmacia di OSR garantirà la corretta gestione del farmaco.

Dovrà essere garantita la registrazione e tracciabilità di tutte le effettive somministrazioni avvenute per ciascun soggetto partecipante allo studio attraverso la compilazione di documentazione studio-specifica.

Schema Terapeutico

Lo schema terapeutico sperimentale prevede la somministrazione ai soggetti randomizzati al braccio di trattamento di Idrossiclorochina 200 mg 1 cp x 2/die per 28 giorni, oltre all'utilizzo dei dispositivi di protezione individuale consigliati presso l'unità di appartenenza del soggetto arruolato. Ai soggetti randomizzati al braccio di controllo verrà garantito l'utilizzo dei dispositivi di protezione individuale consigliati presso l'unità di appartenenza dei soggetti e, in caso l'analisi ad interim metterà in luce l'efficacia del trattamento, a partire da allora e fino al giorno 28 verrà loro esteso il trattamento con idrossiclorochina al medesimo dosaggio di 400 mg/die.

6. PROCEDURE DELLO STUDIO

Valutazioni previste nelle 2 settimane dello studio o fino all'uscita del paziente dallo studio:

Valutazione clinica:

- visita 0: verrà effettuata la verifica della sussistenza dei criteri per aderire allo studio da parte del medico valutatore (inclusa la negatività del tampone nasofaringeo e dei test sierologici); previo ottenimento del consenso informato, ai soggetti arruolati nello studio verrà sottoposto, da parte del medico valutatore, un breve questionario anamnestico e verrà quindi effettuata la valutazione dei parametri vitali (frequenza cardiaca, pressione).
- visita 1 (giorno 0, randomizzazione al braccio di trattamento attivo o al braccio di controllo): i soggetti che soddisfano i criteri per aderire allo studio verranno registrati nello studio e randomizzati al braccio di trattamento o al braccio di controllo. Avverrà quindi da parte del personale addetto alla dispensazione del farmaco, la consegna del farmaco in caso di randomizzazione al braccio di trattamento attivo;
- visita 2 (giorno 14 dalla randomizzazione): verrà effettuata da parte del medico valutatore una valutazione comprensiva della rilevazione dei parametri vitali ed esecuzione di un ECG, e verrà sottoposto al volontario un breve questionario per la raccolta dell'eventuale sintomatologia occorsa durante lo studio;
- visita 3 (giorno 28 dalla randomizzazione): verrà effettuata da parte del medico valutatore una valutazione dei parametri vitali (frequenza cardiaca, pressione) e verrà sottoposto al volontario un breve questionario per la raccolta dell'eventuale sintomatologia occorsa durante lo studio;
- visita 4 (giorno 42 dalla randomizzazione): verrà effettuata da parte del medico valutatore una valutazione dei parametri vitali (frequenza cardiaca, pressione) e verrà sottoposto al volontario un breve questionario per la raccolta dell'eventuale decorso della sintomatologia occorsa durante lo studio;

Valutazioni di laboratorio:

Esami ematochimici (emocromo con formula leucocitaria, funzionalità epatica e renale)

- visita di screening (visita 0)
- visita 2 (giorno 14 dalla randomizzazione), per i soggetti nel braccio di trattamento con idrossiclorochina

Tampone nasofaringeo per la ricerca mediante RT-PCR di SARS-CoV-2:

- visita di screening (visita 0)
- visita 2 (giorno 14 dalla randomizzazione)
- visita 3 (giorno 28 dalla randomizzazione)

Indagini sierologiche per la ricerca di IgM ed IgG specifiche per SARS-Cov-2

- visita di screening (visita 0)
- visita 4 (giorno 42 dalla randomizzazione)

In caso di manifestazioni cliniche suggestive di COVID 19 nel corso del follow-up il tampone nasofaringeo verrà eseguito immediatamente.

7. CONSIDERAZIONI STATISTICHE

Calcolo della dimensione del campione.

Dai dati storici relativi all'Ospedale San Raffaele riferiti al mese di Marzo 2010 il 15% del personale sanitario a rischio ha contratto l'infezione nell'arco di un mese.

Considerando che la frequenza attesa di infezione dovrebbe essere minore nei mesi di maggio/giugno, per il miglioramento intervenuto nelle misure di protezione individuale, è stata stimata una frequenza di infezione del 10% nel gruppo di controllo. Con 1000 soggetti con un'allocazione al 50% al braccio attivo e al braccio di controllo e un drop-out rate del 10% sarà preservata la probabilità di errore di tipo II al di sotto del 20% (potenza 80%) per rilevare una riduzione del 50% nel numero degli operatori contagiati (dal 10% al 5%).

Le stopping rules saranno dettagliate nel piano di analisi statistica (SAP) dello studio. In breve, per lo stop per efficacia è stata prevista una alpha spending function così distribuita: $p=0.003$ all'analisi ad interim e $p=0.047$ all'analisi finale.

Per lo stop per futilità verrà condotta un'analisi di potenza condizionale, e lo studio verrà sospeso se la probabilità di avere un risultato significativo alla fine dello studio, dati i risultati raccolti al giorno 14, sarà $<20\%$.

Popolazioni in studio

Soggetti arruolati: tutti i soggetti arruolati.

Popolazione Safety: tutti i soggetti che hanno ricevuto almeno una dose del trattamento in studio.

Soggetti randomizzati: tutti i soggetti arruolati che hanno firmato l'ICF e che sono stati randomizzati al gruppo di trattamento o al gruppo controllo (ITT, Intention To Treat).

Analisi statistiche: analisi di efficacia.

L'analisi dell'efficacia verrà condotta sull'intera popolazione arruolata per le finalità di cui all'obiettivo primario (ITT); un'analisi per protocol (PP) sarà condotta per completezza e con finalità descrittive.

Il rischio di infezione dei due bracci verrà confrontato usando il test chi-quadrato (in forma asintotica).

Sarà inoltre calcolato l'RR, con il relativo intervallo di confidenza bilaterale al 95%, per facilitare il confronto dei rischi sopra citati da un punto di vista descrittivo.

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 statistico R.

Analisi statistiche: 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.

8. 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.

Nel corso dello studio, tutti gli eventi avversi e gli eventi avversi associati devono essere seguiti in modo proattivo. Ogni sforzo dovrebbe essere fatto per ottenere una risoluzione per tutti gli eventi, anche se gli eventi continuano dopo l'interruzione / completamento dello studio. Lo sperimentatore è responsabile di seguire tutti i SAE fino alla risoluzione, fino a quando il soggetto non ritorna allo stato di base o fino a quando la condizione non si sia stabilizzata con l'aspettativa che rimanga cronica, 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 ed Investigator's Brochure aggiornati per Idrossiclorochina e forniti dal titolare dell'autorizzazione in commercio (Sanofi S.p.a.).

Definizione di Evento Avverso (AE)

Qualsiasi evento clinico dannoso che si manifesta in un soggetto partecipante allo studio a 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, misuso, sovradosaggio, tossicità correlata o reazioni di ipersensibilità. Un evento avverso può pertanto essere un segno nocivo e non desiderato (compreso un risultato anomalo di esami di laboratorio), un sintomo o una malattia concomitanti al trattamento, ma non necessariamente collegati ad esso. Un evento avverso può verificarsi sia nel periodo di trattamento che in quello di follow-up. Un valore di laboratorio anomalo viene considerato un evento avverso se l'anomalia:

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

Qualsiasi reazione dannosa e indesiderata al trattamento sperimentale, a prescindere dalla dose somministrata.

Definizione di Evento Avverso Serio (SAE) o Reazione Avversa Seria (SAR)

Qualsiasi evento avverso o reazione avversa che, a prescindere dalla dose: impone un ricovero ospedaliero

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.

Definizione di Evento Avverso Serio Inatteso (SUSAR)

Qualsiasi evento avverso serio imprevisto 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

Il Sperimentatore (o altro Medico formato alla registrazione e notifica degli AE) è responsabile della valutazione di un AE relativamente a: serietà, gravità, correlazione, prevedibilità ed esito dell'evento.

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.

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.

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 in CRF e provvederà ad aggiornare il registro permanente degli AE.

In questo studio tutti gli AEs verranno registrati nella della 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).

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 e 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), e al titolare dell'autorizzazione in commercio (Sanofi S.p.a.), 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.

9. CONSIDERAZIONI ETICHE

La sperimentazione verrà condotta in accordo con i principi stabiliti dalla 18th World Medical Assembly (Helsinki, 1964), e tutte le modifiche secondo le linee guide ICH per la Good Clinical Practice. Questa sperimentazione clinica sarà condotta nel rispetto di tutte le leggi internazionali e regolamenti del Paese in cui viene eseguita la sperimentazione clinica.

Consenso informato: Lo sperimentatore informerà esaurientemente il paziente degli aspetti riguardanti la sperimentazione clinica. Prima di qualsiasi procedura legata alla sperimentazione clinica, il paziente dovrà aver firmato il consenso informato. Il paziente verrà chiaramente informato della possibilità di potersi ritirare dallo studio in qualsiasi momento e per qualsiasi ragione. La scheda di consenso informato dovrà essere approvata dal Comitato Etico. Tutti i consensi informati verranno archiviati nell'Investigator File. Una copia del consenso informato verrà fornita al paziente.

10. PROTEZIONE DEI DATI

L'IRCCS Ospedale San Raffaele, 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 dei volontari partecipanti 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.

L'Ospedale come responsabile del trattamento dei dati garantirà che i volontari arruolati nello studio riceveranno informazioni dettagliate sul perché i loro dati sono necessari e su come verranno utilizzati, 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;
- tutti coloro che trattano i dati personali sono responsabili del rispetto delle buone pratiche di protezione dei dati e sono adeguatamente formati e controllati.

In conformità con la GCP, le informazioni sullo studio saranno tenute al sicuro da adeguate misure fisiche, tecniche, organizzative e di altro tipo per salvaguardare i dati dello studio e prevenirne la riproduzione o l'elaborazione non autorizzata o illegale o la perdita o la distruzione accidentale. Le informazioni sullo studio saranno accessibili solo al personale autorizzato e saranno conservate solo per il tempo necessario.

Il responsabile della gestione dei dati adotterà le misure appropriate per garantire che vengano messe in atto misure tecniche e di sicurezza adeguate durante il trasferimento dei dati di studio all'interno dell'unità di gestione dei dati e che tali trasferimenti di dati vengano effettuati in conformità con la legge locale applicabile. L'assicurazione della qualità valuterà regolarmente il processo e le prestazioni in relazione alla gestione delle informazioni personali. Questa politica verrà aggiornata, se necessario, per riflettere le migliori pratiche in materia di gestione, sicurezza e controllo dei dati.

Tutte le responsabilità sopra indicate sono supervisionate dal Responsabile della protezione dei dati, come definito nel Regolamento Articolo 37 UE 2016/679 (GDPR).

11. RISULTATI DELLA SPERIMENTAZIONE

Il Promotore curerà la redazione del Clinical Study Report. Successivamente all'analisi dei dati, i risultati verranno comunicati alle autorità competenti.

12. BIBLIOGRAFIA

1. <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>
2. <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/who-china-joint-mission-on-covid-19-final-report.pdf>
3. https://www.ansa.it/piemonte/notizie/2020/04/02/tamponi-a-6000-operatori-sanitari-13-positivi_32f2d533-6c78-4838-80d4-92f545a58e69.html
4. Savarino A, Boelaert JR, Cassone A, Majori G, Cauda R. Effects of chloroquine on viral infections: an old drug against today's diseases? *Lancet InfectDis*. 2003 Nov;3(11):722-7.
5. World Health Organization (2019). World Health Organization model list of essential medicines: 21st list 2019. Geneva: World Health Organization. hdl:10665/325771.
6. Romanelli F, Smith KM & Hoven AD (2004) Chloroquine and hydroxychloroquine as inhibitors of human immunodeficiency virus (HIV-1) activity. *Current Pharmaceutical Design* 10:2643–2648.
7. Yan, Y., Zou, Z., Sun, Y., Li, X., Xu, K.-F., Wei, Y., Jin, N., & Jiang, C. (2013). Antimalaria drug chloroquine is highly effective in treating avian influenza AH5N1 virus infection in an animal model. *Cell Research*, 23(2), 300–302.
8. Wang, M., Cao, R., Zhang, L., Yang, X., Liu, J., Xu, M., Shi, Z., Hu, Z., Zhong, W. and Xiao, G., 2020. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. *Cell research*, 30(3), pp.269-271
9. Mackenzie AH: Dose refinements in long term therapy of rheumatoid arthritis with antimalarials. *Am J Med* 1983, (Supp): 40-45
10. Gao, J., Tian, Z. and Yang, X., 2020. Breakthrough: Chloroquine phosphate has shown apparent efficacy in treatment of COVID-19 associated pneumonia in clinical studies. *BioScience Trends*.
11. Corteggiani A et al. A systematic review on the efficacy and safety of chloroquine for the treatment of COVID-19. *J Crit Care* 2020 (in press)
12. 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 Feb 20;43(0):E019
13. Liu, J., Cao, R., Xu, M., Wang, X., Zhang, H., Hu, H., Li, Y., Hu, Z., Zhong, W. and Wang, M., 2020. Hydroxychloroquine, a less toxic derivative of chloroquine, is effective in inhibiting SARS-CoV-2 infection in vitro. *Cell Discovery*, 6(1), pp.1-4.
14. Mackenzie AH. Dose refinements in long-term therapy of rheumatoid arthritis with antimalarials. 1983 Jul 18;75(1A):40-5.
15. Yao, X., Ye, F., Zhang, M., Cui, C., Huang, B., Niu, P., Liu, X., Zhao, L., Dong, E., Song, C. and Zhan, S., 2020. 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). *Clinical Infectious Diseases*.
16. Laaksonen, A. L., Koskiahde, V. & Juva, K. Dosage of antimalarial drugs for children with juvenile rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. A clinical study

- with determination of serum concentrations of chloroquine and hydroxychloroquine. *Scand. J. rheumatol.* 3, 103–108 (1974).
17. Gautret et al. (2020) Hydroxychloroquine and azithromycin as a treatment of COVID-19: results of an open-label non-randomized clinical trial. *International Journal of Antimicrobial Agents* – In Press 17 March 2020 – DOI : 10.1016/j.ijantimicag.2020.10594
 18. Tang W, Cao Z, Han M et al. Hydroxychloroquine in patients with COVID-19: an open-label, randomized, controlled trial. *medRxiv preprint* doi: <https://doi.org/10.1101/2020.04.10.20060558>
 19. Clementi N, Criscuolo E, Diotti RA et al. Combined prophylactic and therapeutic use maximizes hydroxychloroquine anti-SARS-CoV-2 effects in vitro. <https://doi.org/10.1101/2020.03.29.014407> doi: bioRxiv preprint
 20. Welliver R, Monto AS, Carewicz O, et al. Effectiveness of oseltamivir in preventing influenza in household contacts: a randomized controlled trial. *JAMA* 2001; 285: 748–54.
 21. OrjolMitjà, Bonaventura Clotet. Use of antiviral drugs to reduce COVID-19 transmission. *The Lancet Global Health* 2020 (in press)

13. FLOW-CHART DELLO STUDIO

	V0	V1 giorno 0	V2 giorno 14	V3* giorno 28	V4* giorno 42
Criteri inclusione/esclusione	x				
Consenso informato	x				
Randomizzazione		x			
Tampone nasofaringeo SARS-CoV-2	x		x	x	
Test sierologici SARS-CoV-2	x				x
Esami ematochimici	x		x		
Valutazione clinica	x		x	x	x
Registrazione AE/SAE	x		x	x	x

* Tali visite sono condizionate dai risultati dell'analisi ad interim che verrà effettuata al completamento da parte di tutti i volontari degli iniziali 14 giorni di trattamento. Alle persone arruolate nel braccio di trattamento verrà chiesto di proseguire con l'assunzione di farmaco fino a che pervengono i risultati di tale analisi. La prosecuzione del trattamento nel gruppo trattato, e l'eventuale inizio nel gruppo dapprima non trattato, saranno consigliate sulla base dei risultati ad interim.