



# UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI GENOVA

**Scuola di Scienze Mediche e Farmaceutiche  
CORSO DI LAUREA IN MEDICINA E CHIRURGIA**

Tesi di Laurea

**“Infezioni breakthrough da SARS-COV 2  
dopo somministrazione di vaccini a mRNA  
in pazienti con Sclerosi Multipla in terapia con DMT ”**

Relatrici: Chiar.ma Prof.ssa Maria Matilde Inglese  
Chiar.ma Prof.ssa Maria Pia Sormani

Correlatrice: Chiar.ma Dott.ssa Caterina Lapucci

Candidata: Maria Gagliardi

*Anno Accademico 2021/2022*



# INDICE

## 1. SCLEROSI MULTIPLA

1.1 INTRODUZIONE ED EPIDEMIOLOGIA .....	5
1.2 EZIOLOGIA E PATOGENESI .....	6
1.3 PRESENTAZIONE CLINICA E FENOTIPI DI MALATTIA.....	9
1.4 DIAGNOSI .....	13
1.5 PRINCIPI DI TERAPIA .....	18

## 2. LA PANDEMIA DI COVID-19 NEI PAZIENTI CON SCLEROSI MULTIPLA

2.1 INFEZIONE DA SARS-COV 2.....	21
2.2 L'INFEZIONE NEI PAZIENTI CON SCLEROSI MULTIPLA.....	25
2.3 FATTORI DI RISCHIO PER L'INFEZIONE GRAVE NEI PAZIENTI CON SCLEROSI MULTIPLA .....	27

## 3. VACCINAZIONI NEL PAZIENTE CON SCLEROSI MULTIPLA

3.1 RISCHIO INFETTIVO E RELAZIONE TRA INFEZIONI E RICADUTA-PROGRESSIONE.....	33
3.2 SICUREZZA DEI VACCINI: ESISTE UN RUOLO NELL'INSORGENZA O RICADUTA.....	35
3.3 EFFICACIA DEI VACCINI, GLI EFFETTI DEI DMT SULLA RISPOSTA IMMUNOLOGICA .....	36
3.4 VACCINAZIONE ANTI SARS-COV2: IMMUNOGENICITÀ E DATI DI SAFETY .....	38
3.5 VACCINAZIONE ANTI SARS-COV 2: DOSE BOOSTER .....	44

## 4. L'INFEZIONE DA SARS-COV 2 NELLA POPOLAZIONE

VACCINATA: BREAKTHROUGH INFECTIONS .....	45
--	----

## 5. RAZIONALE E OBIETTIVI DELLO STUDIO

5.1 RAZIONALE DELLO STUDIO .....	51
5.2 OBIETTIVI DELLO STUDIO .....	52

## 6. PAZIENTI E METODI

6.1 DISEGNO DELLO STUDIO.....	52
6.2 RILEVAMENTO DEL TITOLO ANTICORPALE ANTI-SARS-COV 2 .....	55
6.3 CARATTERISTICHE DELL'ANALISI STATISTICA .....	56
6.4 CRITERI DI INCLUSIONE ED ESCLUSIONE.....	57
6.5 CARATTERISTICHE BASELINE DEI PAZIENTI IN STUDIO .....	58

## **7. RISULTATI**

7.1 INFEZIONI BREAKTHROUGH DA VARIANTE DELTA.....	59
7.2 INFEZIONI BREAKTHROUGH DA VARIANTE OMICRON .....	62
7.3 OUTCOME DELLE INFEZIONI BREAKTHROUGH: TASSO DI OSPEDALIZZAZIONE.....	66

<b>8. DISCUSSIONE .....</b>	<b>67</b>
-----------------------------	-----------

<b>9. CONCLUSIONI .....</b>	<b>69</b>
-----------------------------	-----------

<b>10. BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>71</b>
-------------------------------	-----------

# 1. SCLEROSI MULTIPLA

## 1.1 Introduzione ed Epidemiologia

La Sclerosi Multipla è una patologia infiammatoria autoimmune cronica che colpisce il Sistema Nervoso Centrale caratterizzata da aree di demielinizzazione con perdita assonale. Clinicamente il difetto di conduzione legato al danno alle guaine mieliniche si traduce in deficit funzionali in prima battuta reversibili, che tendono a diventare permanenti per l'instaurarsi del danno assonale.

Si stima che la Sclerosi Multipla colpisca 2.8 milioni di individui nel mondo, con una prevalenza media del 35.9 per 100.000 abitanti, caratterizzata da ampie differenze regionali; in Europa si registra la massima incidenza con 6.8 casi per 100.000 abitanti ogni anno. Questi dati sono verosimilmente sottostimati a causa della scarsità di informazioni provenienti da numerosi paesi, tra cui le popolose nazioni di Cina e India. L'età media alla diagnosi è 32 anni e il genere femminile risulta interessato con un rischio due volte maggiore rispetto a quello maschile. (1)

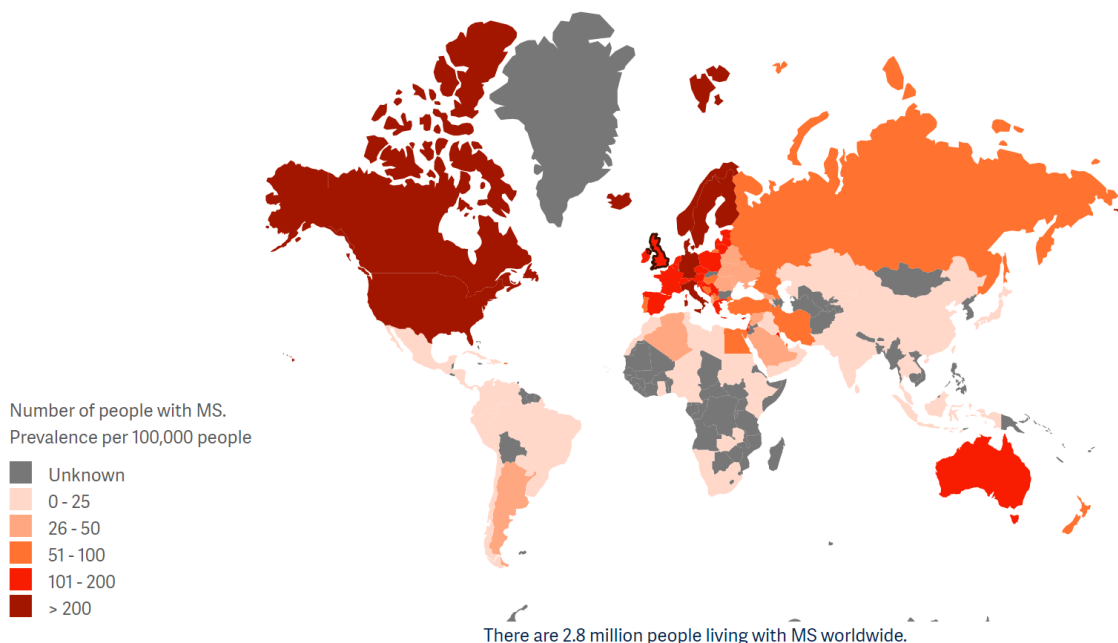


Fig. 1.1 Prevalenza della SM per 100.000 abitanti. Atlas Of MS third edition (1)

## 1.2 Eziologia e Patogenesi

L'eziologia rimane ancora oggi non completamente chiarita, l'ipotesi più accettata è che si tratti di una patologia multifattoriale al cui sviluppo concorrono fattori genetici e ambientali.

Per quanto riguarda i **fattori ambientali** questi comprendono:

- Infezioni batteriche e virali, quali EBV, HHV-6 e *Mycoplasma Pneumoniae*.

Secondo il recente studio longitudinale di Bjornevik, Ascherio et al. (2) gli individui che hanno sviluppato nella vita l'infezione da EBV hanno un rischio fino a 32 volte maggiore di sviluppare la Sclerosi Multipla. Alcune caratteristiche epidemiologiche della malattia sono comuni a quelle della mononucleosi, un elemento a favore del possibile ruolo patogenetico di EBV. Entrambe le patologie compaiono prima nelle donne, sono meno frequenti negli individui asiatici e neri e rare negli eschimesi (3). Le aree a bassa prevalenza coinciderebbero con zone in cui l'infezione è contratta in giovane età, quando potrebbe avere un effetto protettivo sul rischio di sviluppare la Sclerosi Multipla. Per raccogliere ulteriori prove a favore della relazione temporale tra l'infezione da EBV e la Sclerosi Multipla nello studio di Bjornevik, Ascherio et al. (2) sono stati misurati i livelli sierici della catena leggera dei neurofilamenti (NfL), un biomarker sensibile, sebbene non specifico della Sclerosi Multipla, che segnala la presenza di degenerazione neuroassonale. E' stata quindi osservata una correlazione temporale tra l'infezione con EBV e la positivizzazione dei livelli di NfL.

Di contro, studi di migrazione (4) avevano evidenziato già negli anni Sessanta la riduzione del rischio di sviluppare la malattia nelle persone che in giovane età migrano da aree ad alto rischio verso aree a basso rischio, così come l'aumentato del rischio in caso di migrazione da aree a basso rischio verso aree ad alto rischio. L'infezione da EBV è molto comune nei primi anni di vita, ma diventa meno frequente già tra i 5 e i 12 anni: ci potremmo aspettare una variazione del rischio solo per individui sotto ai cinque anni di età, ma essa è stata osservata anche in giovani adulti. (3) Questi dati indicano che probabilmente l'infezione da EBV è solo uno dei molteplici possibili fattori coinvolti.

- Fumo (5)
- Deficit di vitamina D ed esposizione alle radiazioni UV.

Numerose sono le prove che negli anni hanno suggerito un'associazione tra l'insufficiente esposizione ai raggi solari e il deficit di vitamina D nei primi anni di vita con l'insorgenza della Sclerosi Multipla.

E' stato osservato che una supplementazione di vitamina D con la dieta in giovane età ha un ruolo protettivo contro lo sviluppo di malattia e che gli individui i cui valori di vitamina D nel siero superano i 40 ng/mL hanno un rischio ridotto del 60% rispetto a coloro i cui valori non superano i 25 ng/mL (6). La carenza di vitamina D agirebbe come fattore di rischio non solo in termini ambientali, ma anche genetici; sono state osservate infatti diverse correlazioni tra alterazioni in geni coinvolti nel metabolismo della vitamina e il rischio di malattia (7). Sono vari i possibili meccanismi alla base del ruolo della vitamina D, essa infatti ricopre numerose funzioni nell'organismo, tra cui la proliferazione e il differenziamento cellulare. I suoi effetti nella regolazione del sistema immunitario in senso immunomodulante sono stati abbondantemente documentati negli anni; essa è responsabile dell'induzione dell'apoptosi dei linfociti B, la sintesi di IL-10 e il controllo negativo della produzione di citochine infiammatorie come INF- $\gamma$  e IL-2. (8)

➤ Dieta.

Il ruolo dei fattori nutrizionali nella patogenesi della Sclerosi Multipla e gli effetti di possibili interventi dietetici sullo stato infiammatorio non sono ancora stati chiariti. Negli ultimi anni sono stati oggetto di attenzione i minerali, gli antiossidanti e alcune vitamine, senza però che si sia giunti a conclusioni definitive (9). Ne è un esempio la vitamina B12, correlata alla Sclerosi Multipla per il suo ruolo nella sintesi della mielina e per la sua azione immunomodulante. Sono discordi gli studi che hanno provato a correlare i livelli di vitamina B12 nel sangue con l'insorgenza di malattia, la durata dei sintomi e la disabilità (10) (11).

E' largamente accettata l'esistenza di una **suscettibilità genetica** nella patogenesi della Sclerosi Multipla. Il ruolo dei fattori genetici è sostenuto dalla familiarità riconoscibile in gruppi familiari e dalla riduzione del rischio in maniera proporzionale al grado di parentela. Circa un paziente su otto ha una storia familiare positiva e il rischio di sviluppare la malattia nei parenti di un individuo affetto si correla con l'entità dell'informazione genetica condivisa: nei gemelli monozigoti è del 25%, nei dizigoti e nei parenti di primo grado scende al 2-5% (8). L'associazione tra la regione genomica del complesso maggiore di istocompatibilità (MHC) e la Sclerosi Multipla è stata la prima a essere descritta e supporta l'ipotesi dell'origine immunomediata antigene-specifica della malattia.

Negli ultimi anni grazie agli studi di associazione genetica GWAS (Genome-Wide Association Study) con analisi dei polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) è stato possibile identificare anche alleli di suscettibilità non correlati al complesso maggiore di istocompatibilità come il recettore per l'interleuchina 2 (IL2RA) e il recettore dell'interleuchina 7 (IL7RA) (12). Le metanalisi hanno dimostrato la presenza di più di 200 alleli associati alla malattia; la somma di ogni allele associato alla Sclerosi Multipla pesato per il suo potenziale effetto definisce il "genetic burden" dell'individuo. È rilevante il fatto che si tratta di loci genetici generalmente localizzati in prossimità delle regioni regolatorie di geni associati alle funzioni immunitarie, il che supporta ulteriormente l'ipotesi dell'origine immunomediata della Sclerosi Multipla (13).

Storicamente la malattia venne descritta da Charcot alla fine dell'Ottocento come "sclerosi a placche", in riferimento alla presenza di aree demarcate di demielinizzazione che interessavano la sostanza bianca. Grazie a studi più recenti è stato possibile riconoscere anche la sostanza grigia come sede di danno, sia a livello corticale che a livello dei nuclei profondi. Costante è l'interessamento delle zone periventricolari e periacqueduttali, del corpo calloso, dei nervi ottici, del tronco encefalico, della sostanza bianca encefalica e del midollo spinale, sebbene qualunque area del Sistema Nervoso Centrale possa essere teoricamente interessata. Le caratteristiche neuropatologiche distintive sono la demielinizzazione, la gliosi astrocitaria e il danno assonale o neuronale; quest'ultimo, al quale ci riferiamo come neurodegenerazione, è responsabile della disabilità clinica permanente.

Possiamo quindi distinguere nella patogenesi della Sclerosi Multipla una componente di danno infiammatorio demielinizzante a cui si associa una componente di neurodegenerazione.

La componente infiammatoria domina la fase iniziale di malattia e le riattivazioni e si caratterizza per un infiltrato di cellule infiammatorie autoreattive che migrano attraverso la barriera ematoencefalica. Numerosi attori del ramo adattativo del sistema immunitario sarebbero coinvolti nell'autoaggressione al Sistema Nervoso, tra questi i linfociti T-helper 1 e 17 (CD4+) con la loro produzione di citochine proinfiammatorie, ma anche i linfociti B regolatori e i linfociti T-citotossici (CD8+) (8). Nell'individuo che si ammala queste popolazioni linfocitarie sarebbero disfunzionali e capaci di attraversare la barriera ematoencefalica. Nella cronicizzazione del processo infiammatorio intervengono anche le cellule dell'immunità innata, quali macrofagi e microglia, che agiscono mediante vari meccanismi di danno, tra cui il rilascio di citochine e di radicali liberi dell'ossigeno.



In conclusione possiamo affermare che la Sclerosi Multipla emerge quando un individuo geneticamente predisposto entra in contatto con trigger ambientali che scatenano una reazione infiammatoria diretta contro antigeni self localizzati nel Sistema Nervoso Centrale.

### **1.3 Presentazione clinica e fenotipi di malattia:**

All'esordio la malattia si presenta con sintomi neurologici monofocali (esordio monosintomatico) o polifocali (esordio polisintomatico), a evoluzione acuta o sub acuta, che perdurano per almeno 24 ore, in assenza di febbre e infezione. Il corredo sintomatologico è correlato alla localizzazione delle lesioni demielinizzanti, qualunque funzione del Sistema Nervoso Centrale può essere potenzialmente interessata, anche se alcuni sintomi sono più comuni di altri.

---

<b>Sede del danno</b>	<b>Sintomi e Segni</b>
<b>Nervo Ottico</b>	Calo dell'acuità visiva, annebbiamento della vista , dolore associato ai movimenti oculari
<b>Cervelletto</b>	Tremore intenzionale, disartria, nistagmo centrale, atassia assiale e della marcia
<b>Tronco encefalico</b>	Diplopia (oftalmoplegia internucleare), disfagia
<b>Midollo Spinale</b>	Mielite trasversa parziale. Disfunzioni vescicali, disturbi sessuali, costipazione, paraparesi/tetraparesi centrale (ipereflessia profonda, spasticità, segno di Babinski positivo), disturbi sensitivi (ipoestesia, parestesie, disestesie superficiali, ipoestesia profonde e atassia sensitiva)
<b>Encefalo</b>	Disturbi depressivi, turbe cognitive, crisi epilettiche (rare), deficit sensitivi e motori
<b>Altro</b>	Disturbi dolorosi, fatica, intolleranza al caldo

---

*Tab 1.1 Manifestazioni cliniche (14)*

Il North American Research Committee on Multiple Sclerosis (NARCOMS) ha curato la compilazione di un database raccogliendo dal 1996 al 2011 informazioni da circa 36,000 pazienti riguardo alla propria esperienza di malattia.

Sono stati indagati i sintomi più frequentemente presenti al fine di studiare la frequenza e severità della sintomatologia in una coorte di pazienti in trattamento nel corso di diversi anni di malattia (15). Dalle tabelle di prevalenza costruite sulla base dei dati raccolti è possibile trarre informazioni sulla differente percezione sintomatologica durante il corso della malattia. L'85% dei pazienti ha riportato la presenza di disturbi sensitivi e l'81% di fatica nel primo anno dopo l'esordio della malattia. Circa il 50% ha notato minime alterazioni cognitive e il 35% ha sofferto di peggioramento della mobilità. E' stato possibile osservare un peggioramento della sintomatologia nei primi 10 anni di malattia a carico degli undici domini clinici indagati.

Nel 1996 il National Multiple Sclerosis Society (NMSS) Advisory Committee on Clinical Trials in Multiple Sclerosis degli Stati Uniti ha definito i fenotipi clinici di malattia, riconoscendo tre possibili decorsi clinici:

- **Forma a ricadute e remissioni** (Relapsing-Remitting, RR): interessa circa l'85% dei pazienti (16) e si caratterizza per la presenza di episodi acuti di peggioramento delle funzioni neurologiche, con la comparsa di nuovi sintomi, o il peggioramento di sintomi preesistenti, seguiti da un totale o parziale recupero in assenza di progressione di malattia;

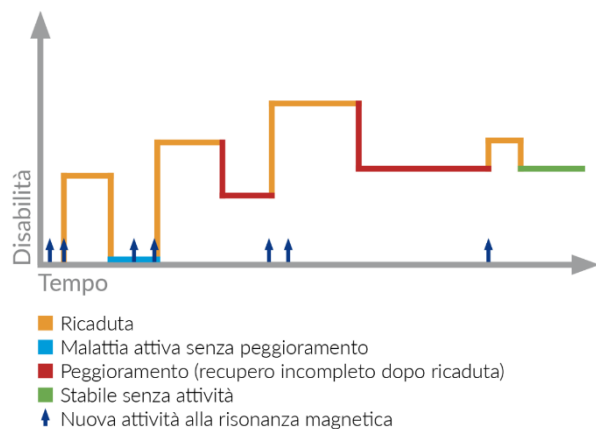


Fig. 1.2 SM-RR AISM

- **Forma secondariamente progressiva** (Secondary Progressive, SP): segue un'iniziale fase di malattia a ricadute e remissioni, la patologia progredisce costantemente con un decadimento delle funzioni neurologiche, con o senza episodi di ricadute;

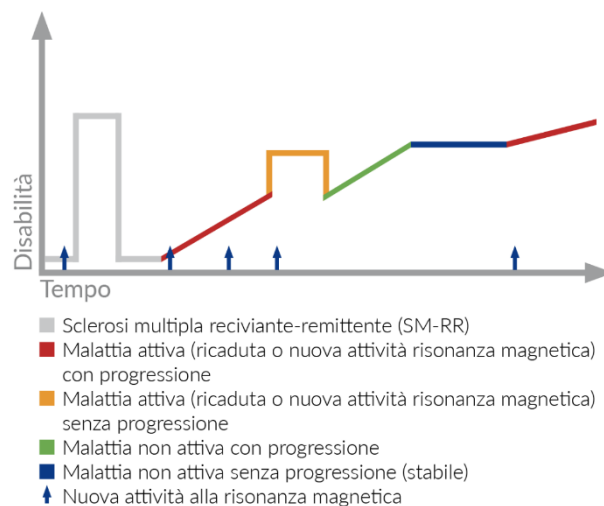


Fig. 1.3 SM-SP AISM

- **Forma primariamente progressiva** (Primary Progressive, PP): è caratterizzata da un progressivo e costante peggioramento delle funzioni neurologiche fin dall'esordio dei sintomi, senza che sia riconoscibile un'iniziale fase a ricadute e remissioni;

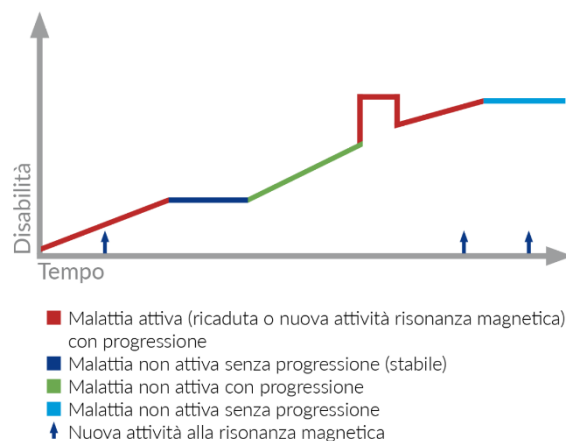


Fig. 1.4 SM-PP AISM

Una revisione del 2013 di Lublin et al. (17) ha integrato il precedente lavoro apportando alcune modifiche:

- **Definizione di “Sindrome Clinicamente Isolata”** (Clinically Isolated Syndrome, CIS): il primo episodio di comparsa di deficit neurologici che perdurano per almeno 24 ore, in assenza di febbre e infezione, che mostra caratteristiche di demielinizzazione infiammatoria, ma che non soddisfa i criteri diagnostici per la Sclerosi Multipla. Il rapporto tra CIS e Sclerosi Multipla è stato oggetto di alcuni studi osservazionali che hanno individuato la frequenza di conversione in relazione al tipo di evento clinico (18) (19).

- **Definizione di “Sindrome Radiologicamente Isolata”** (Radiologically Isolated Syndrome, RIS): identifica un paziente in cui vengono individuate accidentalmente delle alterazioni alla risonanza magnetica altamente suggestive di demielinizzazione, in assenza di sintomi o segni clinici. In questa classificazione (Lublin et al. 2013) la RIS viene tenuta separata dalla Sclerosi Multipla in quanto condizione eterogenea in cui spesso confluiscono differenti situazioni patologiche con evoluzioni altrettanto eterogenee. Alcuni studi hanno cercato di identificare il rischio di progressione clinica e radiologica (20), con il riscontro di un aumentato rischio di sviluppare la Sclerosi Multipla.
- **Introduzione di descrittori addizionali quali l’attività di malattia e la progressione di malattia.** I fenotipi clinici proposti nel 1996 forniscono una descrizione statica della malattia basata su dati anamnestici e poco caratterizzano invece l’andamento della patologia. L’evidenza di attività di malattia e di progressione clinica permettono un inquadramento dinamico che impatta sulla prognosi, le scelte terapeutiche e l’inclusione in trial clinici.

L’attività di malattia riflette la presenza di infiammazione ed è definita da

- Evidenza clinica di una ricaduta di malattia
- Comparsa alle immagini di risonanza magnetica di una nuova lesione captante mezzo di contrasto nelle sequenze pesate in T1 e/o comparsa o aumento delle dimensioni di una lesione nelle sequenze pesate in T2.

Il descrittore di attività di malattia può essere applicato sia alle forme remittenti-ricidivante sia a quelle progressive.

La progressione di malattia riflette il processo di neurodegenerazione ed è definita da un peggioramento della disabilità, confermato per un certo lasso di tempo, conseguente a una recidiva di malattia. Considerata l’attuale assenza di marker immunologici o di imaging della progressione di malattia, questa può essere valutata esclusivamente clinicamente e per mezzo di informazioni fornite dal paziente (16).

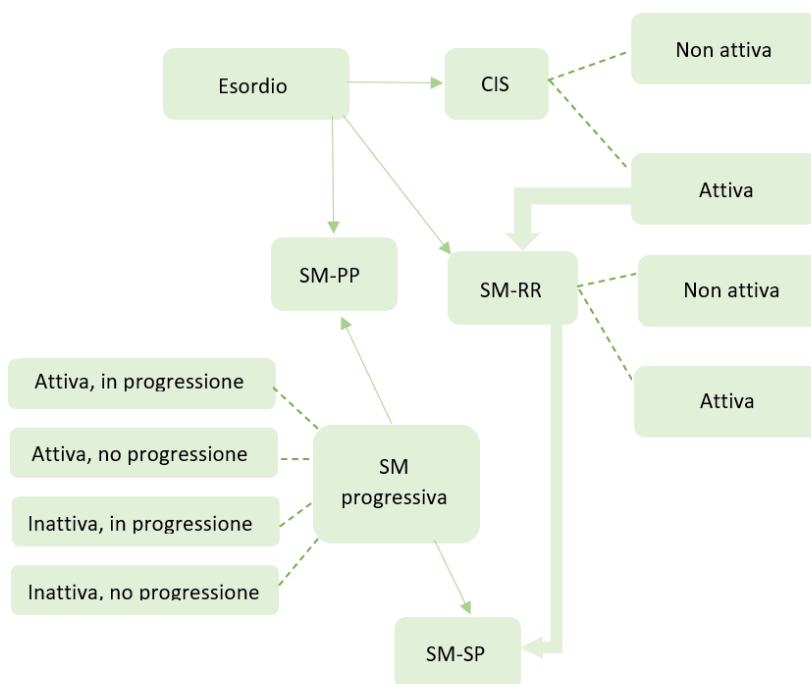


Fig. 1.5 Fenotipi clinici di malattia

L'utilizzo dei descrittori "attività di malattia" e "progressione" permette l'identificazione di numerosi fenotipi di malattia, un passo verso una descrizione più coerente con il decorso clinico specifico del singolo paziente e quindi verso una personalizzazione dell'approccio alla malattia.

## 1.4 Diagnosi

La diagnosi di Sclerosi Multipla Remittente-Recidivante è una diagnosi clinica che si avvale di esami strumentali e si basa sulla dimostrazione del tradizionale criterio di disseminazione temporale e spaziale e l'esclusione di altre condizioni cliniche eventualmente confondenti.

La diagnostica differenziale deve tenere conto di altre malattie demielinizzanti (quali ad esempio la neuromielite ottica o l'encefalomielite acuta disseminata) e non demielinizzanti (tra le tante: condizioni infiammatorie, infettive, metaboliche e genetiche).

Poiché non esiste un singolo marcatore clinico o strumentale sufficiente per la diagnosi, questa si fonda sulla valutazione dei sintomi e segni clinici e di esami strumentali come la Risonanza Magnetica, l'analisi del liquido cefalorachidiano e i potenziali evocati visivi (VEP).

Definiamo **disseminazione temporale** la presenza di almeno due episodi di sofferenza focale del Sistema Nervoso Centrale separati nel tempo da almeno un mese; i sintomi devono perdurare per almeno 24 ore e non deve essere presente febbre.

Definiamo **disseminazione spaziale** la compromissione di due diverse aree del Sistema Nervoso.

I criteri diagnostici per la diagnosi di Sclerosi Multipla Remittente-Recidivante proposti da McDonald et al. nel 2001 (21) suggerivano che le lesioni evidenziabili con la risonanza magnetica potessero fornire le prove della disseminazione spaziale e temporale e la revisione del 2017 (22) ne ha riaffermato l'importanza per la diagnosi e il monitoraggio.

Negli anni numerose revisioni hanno proposto valide semplificazioni nei modelli di conteggio per la dimostrazione della disseminazione nello spazio e modificato le tempistiche della risonanza per dimostrare la disseminazione nel tempo. In funzione di questi dati nel 2007 sono state pubblicate le linee guida per l'uso della RM per la diagnosi, la prognosi e il monitoraggio della Sclerosi Multipla Remittente-Recidivanti (MAGNIMS) (23), incluse nei criteri diagnostici di McDonald nella versione del 2010 (24), poi aggiornate nel 2016 (25) e nel 2021 (26).

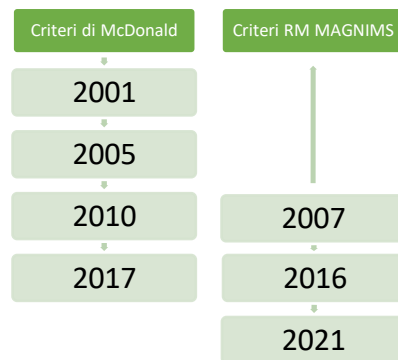


Fig. 1.6 Cronologia delle pubblicazioni dei criteri di McDonald e dei criteri RM MAGNIMS

Secondo i **criteri di McDonald** nel 2010 (24):

I. La disseminazione nello spazio può essere dimostrata da un numero di lesioni  $\geq 1$  evidenziate alla risonanza magnetica nelle sequenze pesate in T2 in almeno due aree del Sistema Nervoso Centrale considerate caratteristiche di Sclerosi Multipla tra:

- Periventricolare
- Iuxtacorticale
- Infratentoriale
- Midollo spinale

Nei pazienti con sindromi troncali o spinali è necessario escludere dal conteggio le lesioni localizzate nelle aree sintomatiche.

II. La disseminazione nel tempo può essere dimostrata da:

- Almeno una nuova lesione alla risonanza magnetica nelle sequenze pesate in T2 e/o captante il mezzo di contrasto al follow-up confrontata con una scansione al baseline, indipendentemente dal timing del baseline.
- Presenza simultanea di lesioni captanti e non captanti il mezzo di contrasto asintomatiche

L'utilizzo di questi criteri per la dimostrazione della disseminazione spaziale e temporale permette in numerosi pazienti con una sindrome clinicamente isolata di porre diagnosi di Sclerosi Multipla per mezzo di una singola risonanza. Il risultato è una semplificazione del processo diagnostico senza perdere in accuratezza.

Nella tabella sono riassunti i criteri di McDonald secondo la più recente versione della revisione del 2017 (22):

Numero di episodi clinici	Numero di lesioni con evidenza clinica obiettiva	Dati aggiuntivi necessari per la diagnosi di Sclerosi Multipla
$\geq 2$	$\geq 2$	Nessuno
$\geq 2$	1 (o con chiara anamnesi positiva per un precedente episodio riferibile a una lesione di una distinta sede anatomica)	Nessuno
$\geq 2$	1	Disseminazione nello spazio
1	$\geq 2$	Disseminazione nel tempo
1	1	Disseminazione nello spazio E nel tempo

Tab 1.2 Criteri di McDonald 2017 per la diagnosi di Sclerosi Multipla (22)

Con la revisione dei criteri di McDonald nel 2017 sono state apportate alcune modifiche per la determinazione del criterio di disseminazione nello spazio. Nella versione del 2010 venivano escluse dal conteggio per la disseminazione spaziale le lesioni sintomatiche nei pazienti con una sindrome clinicamente isolata interessante il tronco o il midollo spinale. I criteri MAGNIMS del 2017 (27) hanno dimostrato che l'inclusione aumenta la sensibilità diagnostica con una riduzione della specificità trascurabile. Sulla base di questi dati si consiglia quindi l'inclusione nel conteggio per la disseminazione spaziale e temporale delle lesioni sintomatiche e asintomatiche individuate alla risonanza magnetica.

Quando è presente la tipica sindrome clinica che si accompagna a lesioni caratteristiche, la clinica e la risonanza magnetica sono sufficienti per confermare la diagnosi. In alcuni pazienti tuttavia il processo diagnostico può beneficiare di informazioni aggiuntive fornite dall'analisi del liquido cefalo-rachidiano.

Le alterazioni evidenziabili **all'analisi del liquido cefalorachidiano** sono (28):

- Valori normali o lieve aumento della conta dei leucociti (solitamente >25 cellule per cm<sup>3</sup>, prevalentemente linfociti)
- Valori normali o lievemente aumentati delle proteine (solitamente < 1 g/L)
- Aumento delle IgG riferibile alla produzione intratecale; questa variazione si esprime mediante l'indice di Link, dato dalla formula

$$\frac{IgG\ liquor/IgG\ siero}{Albumina\ liquor/Albumina\ siero}$$

Si considera aumentato un valore > 0.69

- Le tecniche di isoelectrofocusing e immunofissazione permettono di evidenziare nel circa 90% dei pazienti con Sclerosi Multipla bande oligoclonali di IgG prodotte da linfociti presenti nel Sistema Nervoso Centrale attivate contro determinanti antigenici. La percentuale di pazienti è minore nel caso di sindrome clinicamente isolata.



Secondo la revisione del 2017 dei criteri di McDonald (22) la presenza di bande oligoclonali nel paziente adulto con sindrome clinicamente isolata è un fattore predittivo indipendente di rischio per un secondo episodio. In considerazione di questo in un paziente

- con sindrome clinica isolata tipica
- con positività ai criteri di risonanza magnetica per la dimostrazione della disseminazione spaziale
- in assenza di una spiegazione alternativa per la clinica
- in presenza di bande oligoclonali e in assenza di alterazioni atipiche all'analisi del liquor

è possibile fare diagnosi di Sclerosi Multipla, anche in assenza della dimostrazione della disseminazione temporale alla risonanza magnetica.

Secondo i criteri di McDonald del 2017 (22) la diagnosi di Sclerosi Multipla Primariamente Progressiva può essere posta in un paziente che presenta progressione della disabilità da almeno un anno associata a due tra i seguenti criteri:

1. Alla risonanza magnetica almeno una lesione ipercaptante evidenziata nelle sequenze pesate in T2 caratteristica per Sclerosi Multipla a livello di:
  - Periventricolare
  - Corticale o iuxtacorticale
  - Infratentoriale
2. Alla risonanza magnetica almeno due lesioni ipercaptanti nelle sequenze pesate in T2 a livello del midollo spinale
3. Presenza di bande oligoclonali specifiche nel liquido cefalorachidiano

## 1.5 Principi di terapia:

Al momento nell'approccio terapeutico ai pazienti con Sclerosi Multipla si può ricorrere a:

- Corticosteroidi nell'attacco acuto
- Disease-modifying therapy (DMT) nella terapia a lungo termine
- Terapie sintomatiche
- Terapie riabilitative
- Terapia di supporto psicologico

Nella terapia dell'attacco acuto, sia questo un primo episodio o una ricaduta di malattia, si ricorre alla somministrazione di corticosteroidi (metilprednisolone o prednisone) per via endovenosa o, meno frequentemente, per via orale.

Il primo DMT, l'Interferone beta-1b è stato approvato dall'FDA nel 1993; da allora sono stati fatti enormi progressi ed esistono oggi numerose terapie immunomodulanti e immunosoppressive. Questi farmaci, seppur diversi tra loro, si concentrano tutti sulla riduzione dell'attività di malattia, intesa come

- numero di episodi di ricadute cliniche
- comparsa di nuove lesioni alla risonanza magnetica
- aumento della disabilità.

Sono quindi in grado di modificare il decorso della patologia, soprattutto se iniziati precocemente e continuati senza interruzioni. Il target d'azione è l'infiammazione a livello del Sistema Nervoso Centrale, per questo motivo sono approvati nel trattamento della Sclerosi Multipla remittente-ricidivante e secondariamente progressiva con attività, i due fenotipi di malattia caratterizzati da una maggior componente infiammatoria. Nella Sclerosi Multipla primariamente progressiva prevale invece la componente neurodegenerativa e ad oggi solo Ocrelizumab sembrerebbe avere un'attività anche nel rallentare la progressione di malattia, probabilmente grazie al ruolo che i linfociti B giocano nella neurodegenerazione (29).

Essendo farmaci immunomodulanti o immunosoppressivi sono associati a un aumentato rischio di infezioni.

I DMT possono essere suddivisi in due categorie:

1. Farmaci di prima linea: prevalentemente ad azione immunomodulante, con migliore profilo di sicurezza:

- Interferoni
- Glatiramer acetato
- Dimetilfumarato
- Teriflunomide
- Azatioprina

2. Farmaci di seconda linea: prevalentemente ad azione immunosoppressiva, maggiormente efficaci:

- Fingolimod
- Natalizumab
- Alemtuzumab
- Ocrelizumab
- Mitoxantrone
- Ciclofosfamide
- Cladribina

Per valutare l'efficacia di queste terapie è stato introdotto il concetto di *no evidence of disease activity* (NEDA), definita come assenza di

- Ricadute cliniche
- Progressione di malattia
- Nuove lesioni alla risonanza magnetica che indichino attività infiammatoria (lesioni nuove o di aumentate dimensioni nelle sequenze T2-pesate e lesioni captanti mezzo di contrasto nelle sequenze T1-pesate)

DMT	Meccanismo d'azione	Efficacia nel ridurre le ricadute *	Principali effetti avversi
<b>IFN-beta 1a and 1b</b>	immunomodulazione	32-34%	Reazioni al sito di iniezione, sintomi simil-influenzali, linfopenia, leucopenia, alterazioni degli indici epatici
<b>Peg-IFN-beta-1a</b>	immunomodulazione	30%	Reazioni al sito di iniezione, sintomi simil-influenzali, linfopenia, leucopenia, alterazioni degli indici epatici
<b>Glatiramer acetato</b>	immunomodulazione	29%	Reazioni al sito di iniezione, lipoatrofia, flushing
<b>Dimetilfumarato</b>	Riduzione dell'infiltrazione delle cellule immunitarie nel Sistema Nervoso Centrale	51%	Flushing, sintomi gastrointestinali (dispepsia, crampi, diarrea), linfopenia,

			alterazioni degli indici epatici, proteinuria
<b>Teriflunomide</b>	Riduzione dell'espansione e differenziamento dei linfociti	35%	Sintomi gastrointestinali (nausea, diarrea), alterazioni degli indici epatici, leucopenia
<b>Fingolimod</b>	Modulatore dei recettori della sfingosina-1-fosfato: riduzione della migrazione dei linfociti dai tessuti linfoidi all'organo bersaglio	52%	Bradycardia (soprattutto alla prima somministrazione), ipertensione, broncospasma, linfopenia, alterazioni degli indici epatici, infezioni opportunistiche
<b>Natalizumab</b>	Anticorpo monoclonale diretto contro l'integrina $\alpha 4$ : blocco dei meccanismi di adesione e penetrazione dei linfociti all'interno del Sistema Nervoso Centrale	68%	Reazioni allergiche, leucoencefalopatia multifocale progressiva da virus JVC
<b>Ocrelizumab</b>	Anticorpo monoclonale diretto contro CD-20: deplezione dei linfociti B	47%	Reazioni allergiche, aumentata suscettibilità alle infezioni
<b>Alemtuzumab</b>	Anticorpo monoclonale diretto contro CD-52: deplezione non selettiva delle cellule del sistema immunitario	52%	Reazioni allergiche, linfopenia, aumentata suscettibilità alle infezioni, infezioni opportunistiche, complicanze autoimmuni a carico della tiroide e del rene
<b>Cladribina</b>	Inibizione sintesi DNA: deplezione di linfociti	58%	Linfopenia, aumentata suscettibilità alle infezioni

Tab 1.3 DMT (30) (13) (31)\* Da trial clinici indipendenti che hanno testato DMT vs placebo o a un'alternativa terapeutica.

## **2. LA PANDEMIA DI COVID-19 NEI PAZIENTI CON SCLEROSI MULIPLA**

### **2.1 Infezione da SARS-COV 2**

Nel mese di dicembre del 2019 nella provincia cinese di Wuhan sono stati registrati i primi casi di polmonite causata da un virus non noto; il patogeno è stato successivamente indentificato e denominato SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2).

A seguito della sua rapida e massiva diffusione l'11 Marzo 2020 l'Organizzazione Mondiale della Sanità ha dichiarato lo stato di pandemia da Covid-19. Ad oggi (*Aprile 2022*) nel mondo sono stati registrati più di 400 milioni di casi e più di 6 milioni di morti (32). Il 20 Febbraio 2020 in Italia veniva diagnosticato il primo paziente con infezione da SARS-COV2 con conseguente ricovero in terapia intensiva in Lombardia.

L'infezione si trasmette mediante il contatto con le secrezioni nasali e orali di un individuo infetto e mediante l'inalazione di *droplet* prodotti durante lo starnuto e la tosse.

A partire da dicembre 2019 sono stati pubblicati in letteratura numerosi case series che descrivevano dati clinici di presentazione dell'infezione, le possibili complicanze, i primi schemi di trattamento e gli outcome di coorti di pazienti in tutto il mondo.

Fin da subito è emerso come le possibili manifestazioni cliniche possano essere alquanto eterogenee, con casi asintomatici o paucisintomatici di malattia lieve del tratto respiratorio superiore e casi di polmonite da moderata a grave fino all'insufficienza respiratoria potenzialmente letale. I dati più consistenti sono giunti nei primi mesi del 2020 dalla Cina; in uno studio (33) condotto tra Dicembre 2019 e Febbraio 2020 su più di 40.000 casi confermati l'81% presentava sintomi lievi, il 14% sintomi severi e il 5% era in condizioni critiche (insufficienza respiratoria, shock settico, insufficienza multiorgano). La mortalità registrata in questa coorte era del 2.3%, con significative variazioni in base all'età (0.2% per la fascia 30-39 anni e 14.8% per gli over 80).

Per quanto riguarda l'Italia l'esperienza genovese dell'Ospedale San Martino con il gruppo GECOVID ha descritto con uno studio retrospettivo le caratteristiche cliniche di una coorte di 317 pazienti ricoverati tra Febbraio e Marzo 2020 (34). La maggior parte dei pazienti aveva ricevuto ossigeno-terapia: per il 35% di questi era stato necessario ricorrere al supporto respiratorio non invasivo e nel 47.8% la situazione aveva richiesto anche la ventilazione invasiva.

Per il 20.5% era stato necessario il ricovero in terapia intensiva e in totale il 18.9% dei pazienti era stato sostenuto con ventilazione meccanica invasiva. Il 43.6% è deceduto in ospedale e il 56.4% è stato successivamente dimesso.

Grazie alle revisioni della letteratura (35) che hanno analizzato le numerosissime pubblicazioni è stato possibile delineare le principali caratteristiche dell'infezione.

<b>Trasmissione</b>	Droplet
<b>Periodo di incubazione medio</b>	5 (2-7) giorni
<b>Tempo medio intercorso tra comparsa dei sintomi ed eventuale ricovero in ambiente ospedaliero</b>	7 (3-9) giorni
<b>Età media dei pazienti ospedalizzati</b>	47-73 anni, nel 74%-86% dei casi >50 anni
<b>Distribuzione Uomo-Donna nei pazienti ospedalizzati</b>	60% uomini
<b>Sintomi comuni</b>	Febbre (70-90%); Tosse secca (60-86%); Dispnea (53-80%); Astenia (38%); Mialgie (15-44%); Nausea, vomito e diarrea (15-39%); Rinorrea (7%); Anosmia, ageusia isolate (3%);
<b>Alterazioni di laboratorio nei pazienti ospedalizzati</b>	Linfopenia (83%); Aumento dei marker di infiammazione (PCR, VES, ferritina, TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6); Aumento del D-dimero (46%); Alterazioni degli indici della coagulazione (aumento dell'aPTT, trombocitopenia, riduzione del fibrinogeno)
<b>Alterazioni all'imaging radiologico</b>	Infiltrati bilaterali prevalenti ai lobi inferiori alla radiografia del torace; opacità a ground-glass e/o consolidamenti bilaterali, soprattutto ai lobi inferiori e in periferia alla TC del torace
<b>Complicanze nei pazienti ospedalizzati</b>	Polmonite (75%); ARDS (15%); Insufficienza epatica acuta con aumento delle transaminasi e della bilirubina (19%); Danno cardiaco con elevazione delle troponine (7-17%), scompenso cardiaco acuto, aritmie, miocarditi; Coagulopatia pro-trombotica con conseguenti eventi trombo-embolici arteriosi e venosi (10-25%); Insufficienza renale acuta (9%); Alterazioni dello stato di coscienza (8%); Eventi cerebrovascolari acuti (3%); Shock (6%)
<b>Comorbilità</b>	Il 25% dei pazienti infettati presenta comorbilità;

	il 60-90% dei pazienti ospedalizzati presenta comorbidità: le comorbidità più frequenti sono: ipertensione (48-57%), diabete (17-34%), malattia cardiovascolare (21-28%), patologie polmonari croniche (4-10%), insufficienza renale cronica (3-13%), neoplasie (6-8%), insufficienza epatica cronica (<5%)
<b>Ruolo delle terapie intensive</b>	Il 17-35% dei pazienti ospedalizzati è stato trattato in regime intensivo a causa dell'insufficienza respiratoria; di questi quote variabili tra il 29 e il 91% ha necessitato della ventilazione meccanica invasiva

Tab 2.1 Principali caratteristiche di SARS-COV 2 e della malattia COVID-19 (35)

Durante il periodo pandemico a partire dal mese di settembre del 2020 sono state individuate e studiate 9 emergenti varianti del virus SARS-COV 2, con una particolare attenzione alle cosiddette “*Variants of concern*” (VOC) (36), ovvero quelle varianti caratterizzate da:

1. Aumento della trasmissibilità o cambiamenti significativi dell'epidemiologia dell'infezione
2. Aumento della virulenza o alterazioni nella presentazione clinica dell'infezione
3. Riduzione dell'efficacia delle misure di tutela della salute pubblica, degli strumenti diagnostici, dei vaccini o delle soluzioni terapeutiche.

Ne sono esempi:

- I. La variante *Alfa* (B.1.1.7), identificata in Inghilterra nell'autunno 2020 è lì diventata in pochi mesi la variante dominante. Si è dimostrata maggiormente trasmissibile e con un aumentato rischio di infezione severa richiedente l'ospedalizzazione. La mortalità dei pazienti ricoverati in terapia intensive si è dimostrata invece pressoché analoga a quella degli infettati con il ceppo originale di SARS-COV 2; tuttavia poiché la variante alfa ha determinato un aumento dei ricoveri in terapia intensiva questo si è tradotto in un aumento dei decessi.
- II. La variante *Delta* (B.1.617.2), inizialmente identificata in India nell'Ottobre del 2020 e classificata come VOC a Marzo del 2021 dalla WHO; essa si è rivelata maggiormente trasmissibile (37) rispetto ai ceppi precedenti, di conseguenza ha causato un numero maggiore di casi e di decessi. La comparazione (38) tra la presentazione clinica nei pazienti infettati dalla variante rispetto a quelli infettati dal virus *wild-type* ha mostrato:
  - medesimi fattori di rischio in termini di comorbidità
  - maggior percentuale di soggetti con infezione asintomatica

- frequente presenza di faringodinia
- minor incidenza di tosse, febbre, sintomi gastrointestinali e dispnea, probabilmente legata a una viremia meno importante.

III. La variante *Omicron* (B.1.1.529), inizialmente identificata in Sud Africa e classificata come VOC a Novembre 2021 dalla WHO; è diventata la variante dominante in Europa e negli Stati Uniti alla fine di Dicembre 2021. E' stato presto identificato un numero consistente di mutazioni, comprese alcune interessanti il *receptor-binding domain* della proteina Spike, associate a aumentata trasmissibilità e possibilità di sfuggire all'immunità sviluppata grazie a una precedente infezione naturale o a una vaccinazione. (39) Il rischio di infezione grave richiedente l'ospedalizzazione è risultato minore rispetto a quello osservato durante la predominanza della variante delta. (40)

Le varianti si sono sviluppate quando le campagne vaccinali di numerosi paesi nel mondo avevano già permesso di raggiungere importanti percentuali di individui con un ciclo vaccinale completato. Alla comparsa delle varianti ci si è interrogati sulla possibilità che le vaccinazioni approvate potessero perdere la loro efficacia nella prevenzione dell'infezione sintomatica e della malattia grave. E' stato dimostrato che l'efficacia delle vaccinazioni è significativamente ridotta in termini di protezione dalla malattia sintomatica nella variante Omicron (39), mentre si mantiene, sebbene lievemente ridotta, l'efficacia nella protezione dalla malattia grave con una sostanziale riduzione della frequenza di ospedalizzazione nei pazienti vaccinati rispetto a quelli non vaccinati (41).

E' stata dimostrata l'efficacia nella prevenzione della malattia grave richiedente ospedalizzazione anche per le varianti Alfa e Delta (42). In particolare è stata osservata un'efficacia nella protezione dall'ospedalizzazione:

- dell'85% (82%-88%) per la variante Alfa con due dosi di vaccino a mRNA;
- dell'85% (83%-87%) per la variante Delta con due dosi di vaccino a mRNA;
- del 65% (51%-75%) per la variante Omicron con due dosi di vaccino a mRNA e dell'86% (77%-91%) negli individui che avevano ricevuto la dose booster (42).



## 2.2 L'infezione nei pazienti con Sclerosi Multipla

Gli studi eseguiti per meglio comprendere i meccanismi patogenetici sottostanti l'infezione grave hanno individuato nella risposta immunitaria disregolata un elemento chiave. Un'esagerata risposta immunitaria si concretizza in un'eccessiva dismissione di citochine infiammatorie, la cosiddetta "tempesta citochinica", che è la causa dell'ARDS, dello shock e del danno d'organo esteso (43).

Sono tracciabili alcuni parallelismi tra il COVID-19 e le patologie autoimmuni: il danno d'organo è causato da una risposta immunitaria incontrollata con eccessiva produzione di citochine ed è presente una compromissione del meccanismo di tolleranza immunologica verso le strutture self con la conseguente produzione di autoanticorpi. (44)

Sin dall'inizio del periodo pandemico sono state rivolte particolari attenzioni ai pazienti affetti da patologie autoimmuni in relazione al rischio infettivo in termini di frequenza e gravità dell'infezione. Sono stati numerosi gli studi che hanno confrontato la **frequenza dell'infezione da SARS-COV 2** tra individui con patologie autoimmuni e popolazione generale; i risultati sono stati in parte contrastanti. Uno studio condotto dall'Università di Padova (45) nel periodo di Marzo-Aprile 2020 su una coorte di pazienti affetti da patologie autoimmuni reumatologiche non mostrava un'aumentata incidenza dell'infezione rispetto alla popolazione generale. Al contrario dati provenienti da studi cinesi (46) sembrerebbero suggerire un'aumentata suscettibilità nei pazienti con pregresse patologie su base autoimmune.

Non è ancora chiaro come la Sclerosi Multipla in particolare possa influire sulla **severità dell'infezione da SARS-COV2**. Circa il 70% degli affetti è in terapia cronica con DMT, farmaci immunomodulanti o immunosoppressivi che possono impattare sulla risposta immunitaria e sono legati a un aumentato rischio di infezioni. Al di là degli aspetti legati al trattamento, anche la patogenesi immunomediata della Sclerosi Multipla potrebbe impattare sulle capacità dell'individuo di contrastare l'infezione; sembrerebbe esistere inoltre un'interazione tra il virus SARS-COV2 e il background genetico dell'individuo infetto, in particolare per quanto riguarda la predisposizione individuale all'autoimmunità. E' quindi plausibile che una condizione autoimmune preesistente possa configurarsi come un fattore di rischio per lo sviluppo della malattia COVID-19 grave.

Una review di Barzegar et al. (47) ha raccolto i dati di 87 pubblicazioni e più di 4000 pazienti con Sclerosi Multipla e Covid-19 nel periodo compreso tra Dicembre 2019 e Dicembre 2020 per analizzare l'andamento clinico dell'infezione in questa specifica coorte di pazienti. I sintomi più comuni sono risultati sovrapponibili come incidenza a quelli osservati nella popolazione generale. Circa il 5% dei pazienti ha sperimentato un'infezione asintomatica, dato significativamente minore rispetto alla stima nella popolazione generale (intorno al 40% (48)), probabilmente a causa della scarsità di studi che hanno ricercato una risposta anticorpale su coorti di pazienti con Sclerosi Multipla con il fine di individuare le infezioni asintomatiche. La percentuale di pazienti che ha richiesto l'ospedalizzazione si attesta intorno al 20% in media, con valori molto eterogenei (3%-30%) in relazione alle caratteristiche delle corti e alla fase della pandemia.

I dati provenienti dall'analisi della coorte italiana dello studio MuSC-19 (49) di pazienti con Sclerosi Multipla che hanno contratto l'infezione da SARS-COV 2 sono stati confrontati con i dati della popolazione generale, corretta per età e sesso, per comprendere meglio quanto la Sclerosi Multipla possa impattare sulla malattia COVID-19. E' stato osservato un rischio di infezione grave circa due volte maggiore rispetto alla popolazione italiana corretta per età e sesso:

- RR = 2.12 per l'ospedalizzazione ( $p < 0.001$ )
- RR = 2.19 per il ricovero in terapia intensiva ( $p < 0.001$ )
- RR = 2.43 per il decesso ( $p < 0.001$ )

L'eccesso di rischio è stato giustificato grazie alla suddivisione della coorte in sottogruppi basati su disabilità in scala EDSS e comorbilità e in base alla terapia assunta:

- Nei pazienti con EDSS  $\leq 2$  e nessuna comorbilità il rischio di infezione grave era sovrapponibile a quello della popolazione generale, mentre il rischio aumentato è riconoscibile nei pazienti con EDSS  $> 3$  e comorbilità. L'associazione con la disabilità, e non con la patologia in sé, sembrerebbe suggerire un'integrità dell'immunocompetenza dei pazienti con Sclerosi Multipla nel fronteggiare il SARS-COV2.
- Nei pazienti in terapia con anticorpi monoclonali anti CD-20 è presente un rischio aumentato, mentre in quelli in terapia con Interferone il rischio sembrerebbe ridotto.

Osservando il dato di mortalità per COVID-19 nelle coorti di pazienti con la Sclerosi Multipla riportato dai registri di diversi paesi nel mondo è evidente una certa eterogeneità, dall'1.6% nella coorte italiana al 3.6% della coorte americana (50).

### 2.3 Fattori di rischio per l'infezione grave nei pazienti con Sclerosi Multipla

Sono stati numerosi gli sforzi della ricerca per identificare i fattori che accrescono il rischio di sviluppare un'infezione grave da SARS-COV2 nei pazienti con Sclerosi Multipla. Gli studi su diverse coorti di pazienti hanno portato alla luce i potenziali fattori di rischio, con alcune eterogeneità e discordanze. Nel Forest plot sottostante sono riassunti i fattori di rischio per l'infezione grave individuati da 13 studi inclusi nella metanalisi di Etemadifar et al. (51).

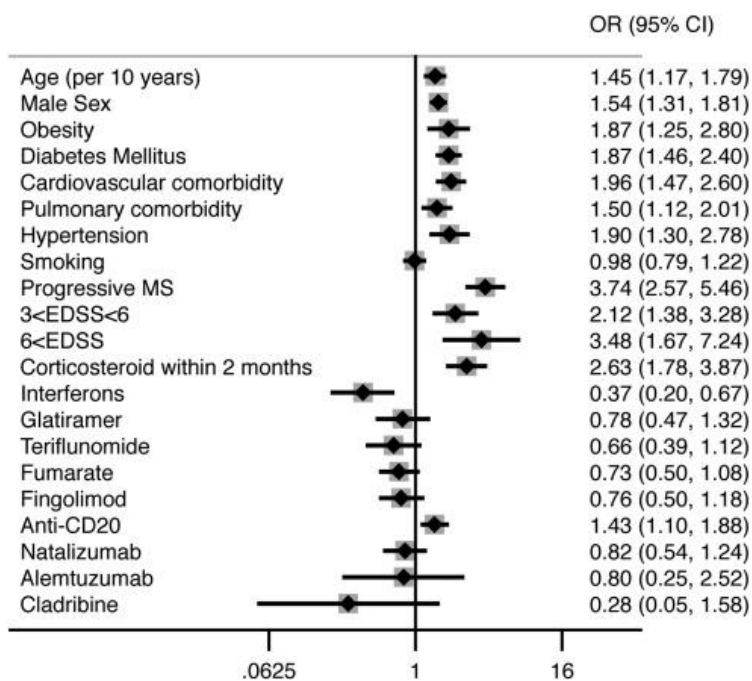


Fig. 2.1 Forest plot dei risultati della metanalisi sui fattori di rischio per infezione grave nei pazienti con Sclerosi Multipla (51)

Possiamo osservare tra i fattori di rischio alcuni già individuati nella popolazione generale (52): l'età, il sesso maschile, l'obesità, il diabete mellito, le malattie cardiovascolari, le patologie polmonari, l'ipertensione arteriosa e il fumo.

Alcuni fattori specifici delle coorti di pazienti con Sclerosi Multipla sembrerebbero essere il livello di disabilità, espresso dalla scala EDSS e la malattia con fenotipo progressivo. Anche il trattamento con metilprednisolone nel mese precedente l'infezione è risultato associato a un peggioramento significativo dell'outcome per i pazienti con Sclerosi Multipla (53), dato in linea con quanto osservato in coorti di pazienti con patologie reumatologiche (54).

Per quanto riguarda il ruolo dei DMT è ancora molto dibattuto il loro possibile significato nella malattia COVID-19; sono infatti presenti dati a sostegno del loro effetto protettivo e dati che sembrerebbero invece suggerire un aumento del rischio di infezione grave. Nella tabella sottostante sono riassunti i farmaci, il loro meccanismo d'azione, i possibili effetti sulla funzione del sistema immunitario, l'impatto sul rischio e i potenziali effetti protettivi contro l'infezione grave.

<b>DMT</b>	<b>Meccanismo d'azione</b>	<b>Altri possibili effetti sul sistema immunitario</b>	<b>Impatto sul rischio nell'infezione da SARS-COV2</b>	<b>Potenziale beneficio nell'infezione da SARS-COV2</b>
<b>Interferone-beta</b>	Modulazione dei linfociti B, T e della produzione citochinica	Rara leucopenia	Improbabile aumenti il rischio di infezione	Possibili effetti antivirali: Sormani MP et al. (53) hanno osservato una riduzione del rischio di infezione grave
<b>Glatiramer acetato</b>	Immunomodulazione tramite il legame con MHC II dei linfociti T	Interferenza nel riconoscimento di antigeni non-self	Improbabile aumenti il rischio di infezione	Determina uno shift dallo stato pro-infiammatorio allo stato anti-infiammatorio, potenzialmente benefico in caso di infezione; l'inibizione dell'attivazione macrofagica sarebbe un fattore protettivo nei confronti di ARDS
<b>Teriflunomide</b>	Riduzione dell'espansione e differenziamento dei linfociti	Rara linfopenia e neutropenia	Potrebbe aumentare la suscettibilità all'infezione	Possibili effetti antivirali: è stato dimostrato in vivo e in vitro

				un'inibizione della replicazione virale di CMV, EBV, HSV (55)
<b>Dimetilfumarato</b>	Riduzione dell'infiltrazione delle cellule immunitarie nel Sistema Nervoso Centrale	Linfopenia nel 38% dei pazienti (Linfopenia di grado 1 nel 9% dei pazienti, grado 2 nel 21%, grado 3 nel 7% e grado 4 nel 1% ) (56)	Potrebbe aumentare la suscettibilità all'infezione nei pazienti con linfopenia grave	In vitro si è dimostrata un'inibizione della produzione di citochine proinfiammatorie e della funzione macrofagica
<b>Fingolimod</b>	Modulatore dei recettori della sfingosina-1-fosfato: riduzione della migrazione dei linfociti dai tessuti linfoidei all'organo bersaglio	Linfopenia periferica	Potrebbe aumentare la suscettibilità all'infezione	Possibili effetti protettivi nei confronti nella tempesta citochinica
<b>Natalizumab</b>	Anticorpo monoclonale diretto contro l'integrina $\alpha 4$ : blocco dei meccanismi di adesione e penetrazione dei linfociti all'interno del Sistema Nervoso Centrale	Riduzione dell'immunosorveglianza nel Sistema Nervoso Centrale, nei polmoni e nel tratto gastrointestinale	Improbabile aumenti il rischio di infezione	Possibile vantaggio visto l'interazione con le integrine, probabilmente coinvolte nei processi di ingresso di SARS-COV 2 nelle cellule (57)
<b>Ocrelizumab, Rituximab</b>	Anticorpi monoclonali diretti contro CD-20: deplezione dei linfociti B	Linfopenia e ipogammaglobulinemia	Potrebbero aumentare la suscettibilità all'infezione	Potrebbero avere effetti protettivi grazie alla riduzione della risposta immunitaria B-mediata

<b>Cladribina</b>	Inibizione sintesi DNA: deplezione di linfociti	Linfopenia	Potrebbe aumentare la susceptibilità all'infezione	-
<b>Alemtuzumab</b>	Anticorpo monoclonale diretto contro CD-52: deplezione non selettiva delle cellule del sistema immunitario	Linfopenia	Potrebbe aumentare la susceptibilità all'infezione	-

*Tab 2.2 DMT, meccanismo d'azione, effetti sul Sistema immunitario, effetti di aumento e/o riduzione del rischio di sviluppo dell'infezione grave (58) (59)*

I lavori scientifici si sono concentrati sull'analisi dell'associazione tra utilizzo di DMT e rischio di sviluppare un'infezione grave, in particolare per quanto riguarda le terapie con anticorpi monoclonali anti CD-20.

Sormani et al. (53) hanno evidenziato come, correggendo per età e sesso, i pazienti in terapia con Ocrelizumab e Rituximab avevano un rischio significativamente aumentato di sviluppare un'infezione grave di COVID-19. Sebbene il dato sia stato confermato anche dall'analisi di altre coorti (Salter et al.; (50)) oltre a quella italiana, in letteratura sono presenti delle discordanze. Nella coorte francese analizzata da Louapre et al. (60) l'esposizione a DMT e i livelli di immunosoppressione non sono stati riconosciuti come fattori di rischio indipendenti per lo sviluppo dell'infezione grave.

Dai dati elaborati nella metanalisi Barzegar et al. (47) possiamo osservare il dato di mortalità e ospedalizzazione per singolo DMT.

<b>DMT</b>	<b>Frequenza di ospedalizzazione</b>	<b>Mortalità</b>
<b>Anticorpi monoclonali anti CD-20</b>	29.2%	2.5%
<b>Teriflunomide</b>	20.6%	1.6%
<b>Fingolimod</b>	14.7%	0.5%
<b>Glatiramer-acetato</b>	14.5%	0.8%
<b>Dimetilfumarato</b>	13.9%	-
<b>Cladribina</b>	13%	-
<b>Alemtuzumab</b>	11.1%	-
<b>Interferone</b>	11%	1.7%
<b>Natalizumab</b>	10.1%	1.1%
<b>Nessun trattamento</b>	42.9%	8.4%

*Tab 2.3 dati dalla metanalisi di Barzegar et al. (47)*

Possiamo notare che la massima frequenza di ospedalizzazione è presente nei pazienti che non assumono alcun DMT (42.9%), seguita dai pazienti in terapia con anticorpi monoclonali anti CD-20 (29.2%). Anche il dato di mortalità è maggiore nei pazienti non in terapia (8.4%) e nei pazienti che assumono anti CD-20 (2.5%).

Sebbene possa sembrare che non assumere DMT costituisca un fattore indipendente di rischio per la mortalità e l'ospedalizzazione bisogna tener presente che nella pratica clinica sono i pazienti più anziani e con stadi avanzati di malattia ad avere un rapporto rischio-beneficio a favore dei rischi per quanto riguarda l'assunzione di DMT; è questo insieme di pazienti fragili a costituire il sottogruppo senza terapia. E' invece significativo il dato che mette in luce come la frequenza di ospedalizzazione e decesso sia doppia nei pazienti in terapia con anticorpi monoclonali anti CD-20 rispetto ai pazienti in terapia con altri DMT .

Dalla metanalisi di Schiavetti et al. (61), che ha incluso 29 articoli e più di 5173 pazienti, sono state stimate la frequenza di ospedalizzazione, di sviluppo di polmonite, di ricovero in terapia intensiva e l'incidenza di decessi. Nella tabella possiamo osservare i risultati dell'analisi aggregata.

Ospedalizzazione	Sviluppo di polmonite	Ricovero in terapia intensiva	Decessi
<b>18.1%</b> <b>(14.5%-21.6%)</b>	14.8% (9.6%-20.1%)	3.3% (1.8%-4.7%)	Totali: 1.8% (1%-2.6%) Pazienti in terapia con Ocrelizumab: 1.6% (0.6%-2.6%) Pazienti in terapia con Rituximab: 4.5% (0.8%-8.1%)

Tab 2.4 Dati dall'analisi aggregata degli studi compresi nella metanalisi di Schiavetti et al. (61)

La frequenza dei decessi è stata calcolata separatamente per i pazienti in terapia con Rituximab e per quelli in terapia con Ocrelizumab; questo ha permesso di evidenziare una differenza tra i due farmaci:

- Rituximab 10 decessi su 455 pazienti (2.2%)
- Ocrelizumab 15 decessi su 770 pazienti (1.9%)

Rituximab sembrerebbe quindi associato a un maggior rischio per lo sviluppo di un'infezione grave da SARS-COV-2 rispetto agli altri DMT. Per spiegare la differenza tra Ocrelizumab e Rituximab, entrambi anticorpi monoclonali anti CD-20, è stata chiamata in causa la diversa durata della terapia.

E' stata osservata (53) una differenza significativa tra i pazienti in terapia con anti CD-20 da meno di sei mesi, da meno di un anno e da più di un anno, perciò il maggior rischio associato a Rituximab potrebbe essere legato alla maggior durata della terapia.



### **3. LA VACCINAZIONE NEL PAZIENTE CON SCLEROSI MULTIPLA**

#### **3.1 Rischio infettivo e relazione tra infezioni e ricaduta-progressione**

Per comprendere la relazione che intercorre tra Sclerosi Multipla e infezioni è necessario concentrarsi su alcuni punti cardine:

1. Ruolo delle infezioni nello sviluppo della malattia
2. Ruolo delle infezioni nell'insorgenza delle ricadute
3. Frequenza delle infezioni nei pazienti con Sclerosi Multipla rispetto alla popolazione generale

#### **Le infezioni costituiscono un elemento patogenetico nello sviluppo della Sclerosi Multipla?**

L'associazione tra infezioni e sviluppo della Sclerosi Multipla è stato oggetto di interesse della ricerca a partire già dagli anni Settanta. Molti sono gli agenti infettivi che sono stati chiamati in causa nella patogenesi della malattia; probabilmente la patogenesi multifattoriale prevede un insulto infettivo che funge da trigger in un substrato geneticamente predisposto (3).

#### **Le infezioni aumentano il rischio di recidiva di malattia?**

Sono numerosi gli studi che già a partire dagli anni Ottanta hanno evidenziato una relazione tra infezioni e comparsa di recidiva di malattia. Buljevac et al. (62) hanno osservato su una coorte di 73 pazienti con Sclerosi Multipla remittente-ricidivante un'aumentata incidenza di recidive di malattia nel periodo compreso tra due settimane prima e cinque settimane dopo un evento infettivo. I risultati di questo studio longitudinale sono in linea con i dati precedentemente raccolti sulla relazione tra recidive e infezioni (Sibley et al. (63); Andersen et al. (64)) e le infezioni imputate nell'aumentare il rischio di recidiva di malattia erano soprattutto infezioni virali delle alte vie aeree.

L'induzione da parte di agenti patogeni della produzione di citochine pro-infiammatorie costituisce una possibile spiegazione all'associazione tra infezioni e ricadute di malattia. Sarebbe quindi lo stato pro-infiammatorio indotto dall'infezione il fattore facilitante la comparsa delle riattivazioni della Sclerosi Multipla.

Le infezioni nel paziente con Sclerosi Multipla possono anche determinare pseudo-esacerbazioni ovvero un peggioramento dei sintomi della malattia che compare in associazione a febbre. Il trattamento dell'infezione che ha causato la pseudo-esacerbazione può portare a un miglioramento della sintomatologia.

In conclusione, esistono evidenze che correlano le infezioni al peggioramento della sintomatologia clinica nei pazienti con Sclerosi Multipla, scatenando ricadute con nuove lesioni alla risonanza magnetica e pseudo-esacerbazioni. Le vaccinazioni costituiscono quindi uno strumento importante nella gestione clinica dei pazienti: prevenendo le infezioni esse ridurrebbero l'incidenza di ricadute e pseudo-esacerbazioni (65).

### **I pazienti con Sclerosi Multipla hanno un aumentato rischio infettivo?**

Nonostante la disregolazione immunitaria presente nella Sclerosi Multipla, sono assenti dati che supportino il suo ruolo come fattore di rischio indipendente per la suscettibilità alle infezioni (66); la nota predisposizione alle infezioni è infatti da correlarsi alla disabilità e alle terapie immunomodulanti e immunosoppressive più che alla malattia in sé.

Il calcolo del rischio infettivo nel singolo paziente in terapia con DMT è complicato dall'interazione tra la predisposizione individuale e gli effetti del farmaco; di conseguenza è pratica clinica comune l'analisi individualizzata del rischio infettivo che si basa sulla raccolta di informazioni quali precedenti infezioni, uso di farmaci immunosoppressori in passato, rischio di esposizione a specifici microorganismi, comorbilità e stato del sistema immunitario.

La maggior parte dei dati disponibili sulla frequenza delle infezioni nei pazienti in terapia con DMT proviene da trial clinici randomizzati che confrontano coorti di pazienti trattati versus placebo o interferone; d'esempio sono gli studi di fase II effettuati su Rituximab (67) che hanno messo in luce un'aumentata frequenza delle infezioni delle vie urinarie (14.5% vs 8.6%) e delle sinusiti (13% vs 8.6%). Durante gli studi di approvazione per Fingolimod (68) si è evidenziato un'aumentata incidenza di infezioni delle basse vie respiratorie e delle vie urinarie e anche gli studi di fase III (69) che confrontavano Ocrelizumab con Interferone hanno osservato un'aumentata incidenza di infezioni del tratto urinario e infezioni respiratorie ( 52.4% nel gruppo trattato con Interferone vs 58.4% nel gruppo trattato con Ocrelizumab).

Uno studio svedese (70) su una coorte di più di 6000 pazienti con Sclerosi Multipla in trattamento con DMT confrontata con la popolazione generale ha messo in evidenza alcuni dati interessanti:

- La frequenza delle infezioni è maggiore nella coorte di pazienti con la Sclerosi Multipla; HR 0.65 [95% CI, 0.47-0.89] nella popolazione generale confrontata con il sottogruppo di pazienti in terapia con Interferone beta o Glatiramer-acetato;
- La frequenza delle infezioni sembrerebbe essere maggiore nei pazienti trattati con Fingolimod, Natalizumab e Rituximab rispetto a quelli trattati con Interferone beta e Glatiramer-acetato.

In conclusione oggi sono disponibili dati che indicano un aumentato rischio infettivo per Alemtuzumab, Dimetilfumarato, Fingolimod, Natalizumab, Ocrelizumab, Rituximab e Teriflunomide.

Nella pratica clinica la gestione del rischio infettivo si avvale dello screening prima dell'inizio del DMT (ricerca del precedente contatto con la tubercolosi, ricerca degli anticorpi diretti contro il virus della Varicella-Zoster, ricerca degli anticorpi anti JC-virus) e dell'immunizzazione. Le vaccinazioni giocano quindi un ruolo fondamentale nella prevenzione delle infezioni e costituiscono ad oggi una delle armi fondamentali nella gestione del rischio infettivo.

### **3.2 Sicurezza dei vaccini: esiste un ruolo nel favorire l'insorgenza o la ricaduta di malattia?**

In considerazione della relazione tra infezioni e ricadute di malattia e visto l'aumentato rischio infettivo legato ai DMT, nei pazienti con Sclerosi Multipla la pratica di immunizzazione tramite vaccinazione è raccomandata dall'American Academy of Neurology. (71)

Negli ultimi anni si è registrata una crescente sfiducia nei confronti delle vaccinazioni legata al timore di possibili effetti collaterali anche gravi. L'immunizzazione tramite la vaccinazione costituisce uno strumento potente nella prevenzione delle infezioni; i dati che dimostrano l'aumentata incidenza di infezioni prevenibili con i vaccini hanno riportato l'attenzione sulle conseguenze che la ridotta copertura vaccinale può avere.

Un ristretto numero di casi di insorgenza o ricaduta di Sclerosi Multipla in correlazione temporale con la somministrazione di vaccini ha sollevato dubbi sulla possibile relazione di causalità, con il concreto rischio di una riduzione dell'aderenza ai programmi vaccinali nella popolazione. E' quindi fondamentale raccogliere ed elaborare i dati epidemiologici per distinguere le correlazioni temporali da quelle di causalità.

Il meccanismo d'azione dei vaccini prevede che venga elicitata una risposta infiammatoria al fine di creare una memoria immunologica per una rapida ed efficace risposta in caso di successiva esposizione al patogeno. In linea teorica l'attivazione del sistema immunitario secondaria alla vaccinazione in un paziente con la Sclerosi Multipla potrebbe rappresentare un trigger per l'insorgenza di una ricaduta di malattia; mediante simili meccanismi in un individuo suscettibile potrebbe addirittura promuovere l'insorgenza della malattia. Gli studi di farmacovigilanza e le revisioni sistematiche delle pubblicazioni epidemiologiche hanno però ripetutamente dimostrato la sicurezza delle vaccinazioni. In particolare non è stato identificato un aumentato rischio di sviluppo della Sclerosi Multipla in correlazione alle vaccinazioni contro HBV, HPV, influenza, colera, tifo, pertosse, varicella, difterite, tetano, poliomielite, vaiolo, Morbillo-Parotite-Rosolia, BCG; non è stato identificato un aumentato rischio di ricaduta di malattia a seguito della vaccinazione contro l'influenza, HBV, rosolia, morbillo, tetano, Encefalite da morso di zecca (TBE); (72) (73)

### **3.3 Efficacia dei vaccini: gli effetti dei DMT sulla risposta immunologica**

In relazione ai comprovati dati sulla sicurezza è possibile affermare che nei pazienti con Sclerosi Multipla che non ricevono DMT i benefici della vaccinazione superano di gran lunga i potenziali rischi. Rispetto al tema della sicurezza, il problema dell'efficacia dei vaccini è sempre stato meno controverso, è presente infatti un generale accordo nelle pubblicazioni scientifiche nell'affermare che i pazienti con Sclerosi Multipla che non ricevono terapie immunosoppressive o immunomodulanti mostrino risposte all'immunizzazione comparabili a quelle della popolazione generale.

La complessità aumenta nel caso dei pazienti in terapia con DMT; gli effetti immunomodulatori e immunosoppressivi dei farmaci possono infatti impattare sulla risposta all'immunizzazione. In linea teorica i farmaci che modulano l'azione dell'immunità adattativa potrebbero interferire con la creazione di una memoria immunologica a lungo termine. La revisione di Ciotti et al. 2020 (74) ha raccolto i dati pubblicati in letteratura in merito all'impatto che i DMT hanno nella risposta alle vaccinazioni.

Si evince che la maggior parte dei DMT, fatta eccezione per l'Interferone-beta, riducono a vari gradi la risposta umorale all'immunizzazione.

<b>DMT</b>	<b>Effetti sulla risposta all'immunizzazione</b>
<b>Interferone-beta</b>	La risposta alle vaccinazioni sembra non essere influenzata dal DMT
<b>Glatiramer-acetato</b>	Rispetto ai controlli sani è stata registrata una risposta attenuata alla vaccinazione contro l'influenza
<b>Teriflunomide</b>	La risposta alla vaccinazione sembrerebbe essere sufficiente, anche se modestamente ridotta
<b>Dimetilfumarato</b>	La risposta ai vaccini coniugati non sembra essere alterata in maniera significativa
<b>Fingolimod</b>	La risposta ai vaccini inattivati e ai tossoidi risulterebbe ridotta
<b>Natalizumab</b>	Sono presenti dati che riportano inadeguate risposte alle vaccinazioni
<b>Ocrelizumab, Rituximab</b>	La risposta ai vaccini è significativamente ridotta;

*Tab 3.1 Effetti dei DMT sulla risposta alle vaccinazioni (74).*

Oltre agli aspetti legati all'efficacia, i DMT giocano un ruolo nel modificare il profilo di sicurezza dei vaccini vivi attenuati in relazione ai noti effetti immunomodulatori e immunosoppressivi. Questi specifici vaccini contengono microorganismi vivi attenuati in laboratorio che si replicano nel vaccinato per suscitare una risposta immunitaria; nei pazienti immunocompromessi la replicazione può essere incontrollata e portare allo sviluppo dell'infezione classica. Croce et al. 2017 (75) hanno revisionato la letteratura per stimare la sicurezza dei vaccini vivi attenuati in pazienti con malattie infiammatorie immunomediate e in pazienti trapiantati di midollo e di organi solidi. Questa revisione ha messo in luce come, nonostante la maggior parte degli studi dimostrino dati sufficienti di efficacia e sicurezza, sono state riportate reazioni avverse severe e infezioni scatenate dai vaccini. In relazione a queste osservazioni non è raccomandata la somministrazione di vaccini vivi attenuati (vaccino per la Varicella-Zoster, vaccino per la Febbre Gialla e vaccino per Morbillo-Rosolia-Parotite) nei pazienti con Sclerosi Multipla che sono al momento in terapia con DMT e prima di quattro settimane dall'interruzione del farmaco immunosoppressore.

In relazione ai dati presenti in letteratura è possibile individuare alcune indicazioni (76) (71) per la pratica clinica:

- In considerazione dei possibili effetti dei DMT sulla risposta alle vaccinazioni è conveniente verificare lo stato di immunizzazione prima dell'inizio di un trattamento immunosoppressivo o immunomodulatorio;
- La vaccinazione dovrebbe essere ritardata di almeno due settimane dopo un trattamento con corticosteroidi ad alte dose;
- Per verificare il successo dell'immunizzazione in pazienti in terapia con immunosoppressori è conveniente valutare il titolo anticorpale dopo quattro settimane dalla vaccinazione;
- In caso di ricaduta è conveniente ritardare la somministrazione di una vaccinazione fino al termine dell'evento;
- La somministrazione di un vaccino vivo attenuato dovrebbe precedere di almeno quattro settimane l'inizio della terapia con Ocrelizumab e di quattro-sei settimane quello con Cladribina;

### **3.4 Vaccinazione anti SARS-COV 2: immunogenicità e dati di sicurezza**

A seguito delle raccomandazioni di EMA nel Dicembre 2020 la Commissione Europea ha autorizzato il primo vaccino contro SARS-COV2: mRNA BNT162b2, il vaccino a mRNA prodotto da Pfizer e BioNTech; nello stesso mese l'Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA) ne ha autorizzato l'immissione in commercio. A Gennaio 2021 l'EMA ha raccomandato la concessione dell'autorizzazione anche per mRNA-1273, il vaccino a mRNA prodotto dalla ditta Moderna, autorizzato da AIFA lo stesso mese. Sono seguite le autorizzazioni per i due vaccini a vettore virale ChAdOx1-S, sviluppato dall'Università di Oxford e AstraZeneca e per Janssen Ad26.COV2.S, sviluppato dal gruppo Johnson & Johnson.

Alla fine del mese di Dicembre del 2020 è iniziata ufficialmente la campagna vaccinale contro il Covid-19 in tutta Europa. Con il Decreto del 12 marzo 2021 l'Italia ha messo a punto un piano strategico nazionale per l'esecuzione delle vaccinazioni, individuando l'ordine di priorità delle categorie da vaccinare in relazione alla correlazione con la mortalità da COVID-19.

Nella categoria 1, "*persone a elevata fragilità*", rientrano anche i pazienti con Sclerosi Multipla.

La National Multiple Sclerosis Society (NMSS) ha raccomandato la vaccinazione anti SARS-COV2 nei pazienti con Sclerosi Multipla (77). E' importante tenere in considerazione che i pazienti con malattie autoimmuni e in trattamento con farmaci immunosoppressori sono stati ampiamente esclusi dai trial clinici per lo sviluppo dei vaccini a disposizione oggi. Ne consegue che all'inizio della campagna vaccinale erano scarsi i dati di sicurezza ed efficacia in questa specifica categoria, così come erano ampiamente sconosciuti i possibili effetti dei DMT sulla capacità di montare un'adeguata risposta immunitaria alla vaccinazione.

Se è vero che i dati sulla sicurezza dei vaccini inattivati (BBIBP-CorV Sinopharm, vaccino sviluppato in Cina e non approvato in Europa) possono essere ricavati dai numerosi studi su precedenti vaccini, questo non è altrettanto vero per quelli che sfruttano tecnologie più recenti come i vaccini a mRNA (BNT162b2 Pfizer/BioNTech, mRNA-1273 Moderna) e i vettori virali (Ad26.COV2.S Johnson&Johnson) (78).

I dati preliminari sulla sicurezza della vaccinazione anti SARS-COV2 sono arrivati da Israele nel Febbraio del 2021. Achiron et al. (79) hanno condotto uno studio osservazionale su una coorte di 555 pazienti con Sclerosi Multipla vaccinati con almeno una dose di Pfizer-BioNTech (BNT162b2) tra Dicembre 2020 e Gennaio 2021. L'obiettivo dello studio era raccogliere informazioni riguardo gli eventuali eventi avversi e il rischio di recidiva di malattia. E' stato possibile osservare che i pazienti con Sclerosi Multipla hanno presentato eventi avversi con un'incidenza comparabile a quella della popolazione generale. Inoltre i pazienti vaccinati non hanno mostrato un'aumentata attività di malattia e la frequenza delle ricadute è risultata comparabile con quella di pazienti non vaccinati se si considera lo stesso periodo dell'anno a partire dal 2017. Secondo gli autori, da quanto è stato possibile osservare nella coorte israeliana, la vaccinazione è da considerarsi sicura e viene raccomandata nei pazienti con Sclerosi Multipla.

Altri studi sono stati pubblicati sull'argomento, la Neuroimmunology Clinic del Rabin Medical Center in Israele (80) ha sottoposto una coorte di pazienti con Sclerosi Multipla vaccinati con Pfizer-BioNTech (BNT162b2) a un questionario per raccogliere dati sui principali effetti avversi secondari alla vaccinazione. Il gruppo ha osservato che, su 239 pazienti che hanno ricevuto almeno una dose di vaccino, un totale di 136 partecipanti (56.9%) ha riportato eventi avversi; i più comuni sono stati: dolore nel sito di iniezione, astenia, mialgie, cefalea e vertigini. Gli effetti collaterali registrati nella coorte israeliana sono comparabili con quelli evidenziati negli studi di fase 3 di sviluppo del vaccino.

Il 15.1% dei partecipanti ha riportato un peggioramento o una comparsa di nuovi sintomi neurologici a seguito della vaccinazione, tra questi i più comuni sono stati: alterazioni sensitive, debolezza muscolare e dolore. La sintomatologia neurologica si è risolta nella maggior parte dei casi entro due settimane dalla vaccinazione e per la maggior parte dei pazienti non è stato necessario alcun nuovo farmaco per la gestione clinica. Questa incidenza relativamente bassa di peggioramento o comparsa di nuovi sintomi neurologici e la modesta entità degli stessi è in linea con quanto osservato per precedenti vaccini, che si è già dimostrato non essere correlati a un aumentato rischio di ricaduta di malattia. Gli autori hanno concluso che dai dati osservati il profilo di sicurezza di Pfizer-BioNTech (BNT162b2) nei pazienti con Sclerosi Multipla sarebbe da considerarsi analogo a quello osservato nella popolazione generale. Anche i dati raccolti da Briggs et al. (81) forniscono prove a favore della sostanziale comparabilità del profilo di sicurezza a breve termine dei vaccini tra i pazienti con Sclerosi Multipla e la popolazione generale.

Anche i primi dati sull'efficacia della vaccinazione in pazienti con Sclerosi Multipla sono stati pubblicati da Achiron et al. (82) ad Aprile 2021. Dopo aver constatato la sicurezza del vaccino Pfizer-BioNTech (BNT162b2) il gruppo israeliano ha condotto uno studio per valutare la risposta umorale alla vaccinazione in pazienti in terapia con DMT mediante la ricerca su sangue degli anticorpi IgG diretti contro il virus. Il titolo anticorpale a un mese dalla seconda dose di vaccino è stato confrontato con quello del gruppo di controllo costituito da individui sani.

Ciò che si è potuto osservare è stato che:

- Pazienti con Sclerosi Multipla non in trattamento con DMT sviluppano una risposta anticorpale comparabile a quella della popolazione generale;
- Solo un paziente su 26 (3.8%) in terapia con Fingolimod ha sviluppato una risposta anticorpale; questo fallimento potrebbe essere dovuto alla bassa conta linfocitaria correlata all'uso del farmaco;
- Circa l'80% dei pazienti in terapia con Ocrelizumab non è riuscita a montare una risposta anticorpale, indipendentemente dalla conta linfocitaria e dal tempo trascorso tra l'ultima infusione di farmaco e il vaccino;
- Tutti i pazienti in terapia con Cladribina presenti nello studio hanno sviluppato un'immunità umorale definita protettiva dagli autori



Dati importanti sull'efficacia dei vaccini sono arrivati dallo studio italiano CovaXiMS di Sormani et al. (83) che ha coinvolto 35 centri in Italia. Questo studio prospettico osservazionale si è prefissato l'obiettivo di monitorare gli effetti avversi e l'immunogenicità dopo la vaccinazione effettuata tra Marzo e Giugno 2021. Per ciascun paziente sono stati raccolti:

- Dati demografici e anamnesi;
- Un campione di sangue prima della somministrazione della prima dose di vaccino;
- Informazioni riguardo i giorni successivi alla prima e alla seconda dose mediante contatto telefonico volto a portare all'attenzione eventuali effetti collaterali;
- Un campione di sangue quattro settimane dopo la somministrazione della seconda dose di vaccino;

I campioni di sangue sono stati testati con l'elettrochemiluminescenza per la ricerca degli anticorpi rivolti contro

- *Receptor-binding domain* (RBD) della proteina spike-1 (anti-SARS-CoV-2 S), per valutare la risposta all'immunizzazione secondaria al vaccino;
- Il Nucleocapside (N), per individuare un'eventuale precedente risposta immunitaria all'infezione naturale.

Dei 780 pazienti che hanno ricevuto due dosi di vaccino l'86.8% presentava anticorpi anti-SARS-COV-2 S. Sono state osservate relazioni tra il titolo anticorpale post seconda dose e il DMT assunto dal paziente, il vaccino iniettato e il titolo anticorpale pre-vaccinazione.

In particolare:

- I pazienti con titolo anticorpale positivo per anti-SARS-CoV-2 S prima della vaccinazione presentavano titoli più elevati al prelievo post seconda dose;
- I pazienti vaccinati con mRNA-1273 Moderna avevano titoli anticorpali 3.25 volte maggiori rispetto ai vaccinati con BNT162b2 Pfizer/BioNTech;
- Al confronto con i pazienti non in terapia, i pazienti in terapia con Ocrelizumab, Fingolimod e Rituximab avevano titoli anticorpali ridotti di 201, 26, 20 volte rispettivamente. Anche all'interno di questi tre sottogruppi è presente una differenza tra i vaccinati con mRNA-1273 Moderna e BNT162b2 Pfizer/BioNTech. Il 56.5% dei pazienti in terapia con Ocrelizumab, il 36.0% con Rituximab e il 7.1% con Fingolimod non hanno presentato un titolo rilevabile al prelievo post seconda dose;

- Nei pazienti in terapia con Ocrelizumab e Rituximab il titolo anticorpale risultava crescente all'aumentare dell'intervallo di tempo trascorso tra l'ultima infusione del farmaco e la somministrazione delle due dosi di vaccino;
- Nei pazienti in terapia con Fingolimod è stata osservata una correlazione tra il rilevamento di bassi titoli anticorpali e la presenza di linfopenia (linfociti < 1000/mL).

Una limite di molti tra i primi studi pubblicati in tema di efficacia delle vaccinazioni è stato quello di considerare come marker esclusivamente la risposta umorale, in relazione all'accessibilità della metodica e alla buona correlazione mostrata tra la positività agli anticorpi neutralizzanti e l'effettiva protezione (84). Tuttavia un'efficace risposta immunitaria che perduri nel tempo prevede il coinvolgimento di entrambi i bracci dell'immunità adattativa: quello umorale B-mediato con produzione di anticorpi e quello cellulo-mediato. I linfociti T, gli attori della risposta cellulo-mediata, giocano un ruolo critico nell'eliminazione delle cellule infettate dal virus (linfociti CD8+) e nella maturazione delle plasmacellule producenti anticorpi e delle cellule B- memoria (linfociti CD4+).

Una valutazione dell'efficacia della vaccinazione che sia comprensiva dell'aspetto dell'immunità cellulare acquista un valore soprattutto nei pazienti in terapia con Fingolimod, Ocrelizumab e Rituximab, DMT che hanno dimostrato un impatto negativo sulla risposta umorale; l'assenza di anticorpi neutralizzanti non necessariamente dovrebbe essere interpretata come un'assenza della risposta alla vaccinazione.

Il gruppo di Milo et al. (85) ha investigato l'efficacia dei vaccini nei pazienti con Sclerosi Multipla tenendo in considerazione l'aspetto umorale e quello cellulare. La misurazione della produzione di citochine da parte dei linfociti T incubati è stata utilizzata per quantificare la risposta cellulare.

Lo studio di Milo et al. ha mostrato:

- L'88.5% dei pazienti aveva sviluppato una risposta cellulo-mediata dopo la seconda dose di vaccino (contro il 100% del gruppo di controllo);
- Non vi era una significativa differenza nei livelli di INF $\gamma$  prodotti dai linfociti T a seguito della seconda e della terza dose di vaccino tra i pazienti con Sclerosi Multipla e il gruppo di controllo;
- Solo il 25% dei pazienti trattati con Fingolimod ha montato una risposta cellulare dopo la seconda vaccinazione;

- Dei 5 pazienti in terapia con Ocrelizumab dei quali è stata valutata la risposta cellulare post seconda dose, tutti sono risultati positivi, nonostante 3 pazienti non avessero montato una risposta umorale.

La discordanza tra la risposta umorale e quella cellulo-mediata in pazienti in terapia con anti CD-20 è stata documentata da numerosi studi pubblicati nello stesso periodo, i quali hanno messo in luce che:

- La maggior parte dei pazienti con Sclerosi Multipla sviluppa una risposta cellulo-mediata specifica contro SARS-COV2 (86% secondo Gadani et al. (86) );
- I pazienti in terapia con Ocrelizumab sviluppano una risposta cellulo-mediata con frequenza maggiore (89.7% secondo Brill et al. (87), 92% secondo Tortorella et al. (88)) rispetto ai pazienti trattati con altri DMT;
- La conta dei linfociti produttori INF $\gamma$  nei pazienti in terapia con anticorpi monoclonali anti CD-20 rispetto ai pazienti che assumevano altri DMT risultava maggiore di un fattore 1.36 (86);
- Solo il 14% dei pazienti trattati con Fingolimod sviluppa una risposta cellulo-mediata (88); questa scarsa risposta potrebbe essere spiegata dal meccanismo d'azione del farmaco. Il Fingolimod determina un'inibizione della migrazione dei linfociti dai tessuti linfoidei all'organo bersaglio, con la conseguente riduzione dei linfociti circolanti e quindi una difficoltà nel montare una risposta cellulo-mediata.

In relazione ai lavori che hanno correlato una risposta cellulo-mediata all'infezione naturale con una ridotta gravità clinica della malattia (89), i dati presentati sulla risposta cellulo-mediata nella Sclerosi Multipla ampliano il complesso quadro dell'efficacia della vaccinazione in questo sottogruppo di pazienti. La robusta risposta da parte dei linfociti T nei pazienti in terapia con anticorpi monoclonali anti-CD20, che è risultata peraltro indipendente dalla risposta umorale (87), suggerisce una possibile protezione dall'infezione anche in assenza di sierconversione. Questo è un dato importante se teniamo in considerazione l'aumentato rischio di malattia grave per questo sottogruppo di pazienti e la ridotta sierconversione dopo la vaccinazione. La risposta cellulo-mediata mette in luce l'importanza della vaccinazione nei pazienti trattati con Ocrelizumab, essa infatti potrebbe fornire una protezione anche in assenza di un'evidenziabile risposta umorale.

### 3.5 Vaccinazione anti-SARS-COV2: dose booster

La diffusione della variante Delta di SARS-COV2 ha portato a un vertiginoso aumento dei casi di infezione in tutto il mondo, causando a partire da aprile 2021 una seconda ondata di COVID-19 e già da settembre 2021 risultava la variante dominante. (90)

Se è vero che l'efficacia short-term della doppia vaccinazione nella protezione dall'infezione severa era stata ampiamente dimostrata, sia nella popolazione generale che in coorti selezionate, non si poteva certo dire altrettanto sull'efficacia a lungo termine.

Per meglio comprendere la possibile durata della protezione conferita dal vaccino nei pazienti con Sclerosi Multipla il gruppo israeliano di Mizrahi et al. (91) ha condotto uno studio retrospettivo per osservare la correlazione tra la distanza temporale dall'ultima vaccinazione e la frequenza di comparsa delle infezioni breakthrough. Lo studio riporta un'incidenza maggiore di infezioni breakthrough tra Giugno e Luglio 2021 negli individui che avevano completato il ciclo vaccinale a Gennaio e Febbraio 2021, rispetto a coloro che lo avevano completato a Marzo e Aprile, suggerendo una possibile riduzione della protezione nel tempo. I risultati sono coerenti con le pubblicazioni che hanno osservato un declino significativo dei livelli anticorpali nei mesi successivi all'infezione da SARS-COV2 e/o alla vaccinazione (92) (93).

In relazione alla crescita dei contagi e al possibile declino della protezione fornita dalla vaccinazione nel tempo, sono molti i paesi nel mondo che hanno deciso di procedere con la somministrazione di una dose booster di vaccino, con Israele che già nel Luglio del 2021 procedeva con la vaccinazione con terza dose.

In specifiche coorti di pazienti era stato ipotizzato che la terza dose potesse risultare un valido strumento per migliorare una risposta anticorpale che era risultata insoddisfacente dopo le prime due dosi. E' stato il caso osservato nei pazienti immunocompromessi con trapianto di organo solido (94), poteva dunque essere così anche per i pazienti con Sclerosi Multipla in terapia con Ocrelizumab, Rituximab e Fingolimod?

Lo studio prospettico osservazionale multicentrico di Milo et al. (85) ha cercato una risposta a questa domanda raccogliendo i dati di una coorte di più di 500 pazienti con Sclerosi Multipla. Si è confermato che livelli di IgG si riducevano dell'82% a sei mesi dalla seconda dose di vaccino, una dinamica pressoché analoga a quella dei controlli sani; la terza dose di vaccino determinava un nuovo aumento dei livelli anticorpali di una fattore 10 rispetto ai livelli rilevati al prelievo post 6 mesi dalla seconda dose.

Si confermava anche per la terza dose che un intervallo di tempo di almeno 5 mesi tra l'ultima infusione di Ocrelizumab e la somministrazione del vaccino determinava titoli anticorpali maggiori e una maggior percentuale di positivizzazioni. Il titolo anticorpale e la frequenza di sieropositività nei pazienti in terapia con Fingolimod e Ocrelizumab era però pressoché uguale al controllo post seconda dose e al controllo post terza dose; in coloro che avevano risposto alla vaccinazione il titolo di IgG post terza dose non differiva granché dal titolo rilevato un mese dopo la seconda dose. Inoltre la terza dose di vaccino non sembrava migliorare la risposta cellulare nei pazienti in terapia con Fingolimod.

#### **4. INFEZIONE DA SARS-COV 2 NELLA POPOLAZIONE VACCINATA: BREAKTHROUGH INFECTIONS**

Nonostante l'efficacia dimostrata nei trial clinici e nelle campagne vaccinali in Europa e negli USA dei vaccini approvati da EMA e FDA, sono state registrate infezioni da SARS-COV 2 anche in una certa percentuale di individui che avevano completato il ciclo vaccinale. Definiamo *breakthrough infection* il rilevamento del virus in un campione raccolto nelle alte vie aeree dopo la conclusione del ciclo vaccinale (95). Per comprendere l'entità del fenomeno già alla fine di Aprile 2021 il Centre for Disease Control (CDC) americano aveva ricevuto la segnalazione di più di 10.000 casi di infezioni in pazienti vaccinati; i dati presentati dallo studio inglese ZOE Covid Study hanno documentato che su 971,504 individui completamente vaccinati lo 0.2% ha sviluppato un'infezione breakthrough tra Dicembre 2020 e Luglio 2021. I dati presentati dai numerosi report che sono stati pubblicati a partire dalla primavera del 2021 rappresentano probabilmente una sottostima dell'incidenza delle *breakthrough infection*. Questo errore di misurazione è legato al fatto che i sistemi di sorveglianza sanitaria nazionali si avvalgono di spontanee segnalazioni; inoltre molte infezioni post-vaccino sono asintomatiche ed è possibile che gli individui non procedano all'esecuzione di un test molecolare o antigenico nel periodo dell'infezione. (96)

La comparsa di infezioni nei soggetti vaccinati era prevedibile, il fenomeno è ben documentato per altri generi di vaccinazioni, sia per la protezione da infezioni virali che da infezioni batteriche (97) (98).

La probabilità di sviluppare un'infezione *breakthrough* è stato correlata con la distanza dall'ultima somministrazione di vaccino da Mizrahi et al (91), indicando una relazione con la cinetica della risposta immunitaria che prevede un declino nel tempo dei livelli di anticorpi protettivi circolanti.

Una serie di studi prospettici ha permesso di individuare i fattori di rischio, le caratteristiche cliniche e il rischio di malattia grave nel contesto delle infezioni post-vaccino.

Antonelli et al. (99) hanno condotto uno studio prospettico su una coorte inglese al fine di individuare i fattori di rischio e le caratteristiche cliniche di un'infezione *breakthrough*. La raccolta dei dati è stata possibile grazie all'applicazione per dispositivi mobili sviluppata dal King's College di Londra, tramite la quale i cittadini inglesi potevano segnalare l'avvenuta vaccinazione, il riscontro di un test PCR positivo per SARS-COV 2 e dati anamnestici su comorbilità e sull'infezione.

6030 (0.5%) dei 1.240.009 cittadini che avevano ricevuto la prima dose di vaccino e 2370 (0.2%) dei 971.504 che avevano ricevuto entrambe le dosi hanno riportato un'infezione COVID-19.

Il gruppo ha individuato:

- Un'associazione inversa significativa tra l'età del soggetto e il riscontro di infezione post-vaccino: i dati suggeriscono infatti un ridotto rischio di contrarre il virus dopo la vaccinazione nelle fasce di età più anziane;
- La possibilità di avere sintomi per più di 28 giorni era dimezzata nei casi di COVID-19 post vaccinazione, indicando la ridotta frequenza di long COVID negli individui che hanno ricevuto entrambi le dosi di vaccino;
- Comparati ai non vaccinati, negli individui che avevano ricevuto almeno una dose di vaccino era più probabile osservare un'infezione con meno di cinque sintomi con una riduzione delle ospedalizzazioni ed erano anche più frequenti le infezioni completamente asintomatiche;

Bergwerk et al. (100) hanno analizzato una coorte di 1497 professionisti in ambito sanitario impiegati nello Sheba Medical Centre e durante il periodo di osservazione hanno individuato 39 casi di *breakthrough infection*. Il gruppo israeliano si è occupato di raccogliere informazioni riguardo le caratteristiche cliniche delle infezioni e le varianti virali responsabili. I sintomi più comuni riportati sono stati: congestione nasale (36%), mialgie (28%), perdita dell'olfatto o del gusto (28%) e febbre (21%).

Il 31% riportava sintomi persistenti dopo 14 dal test PCR e il 19% riportava sintomi da long COVID a sei settimane, tra cui prolungata perdita dell'olfatto, tosse persistente, astenia e dispnea. Nell'85% dei casi di COVID-19 il ceppo virale responsabile era B.1.1.7 (variante inglese o variante Alfa), una prevalenza del tutto comparabile con quella registrata in Israele nel periodo in studio. La distribuzione delle *Variants Of Concern* (VOC) nelle infezioni *breakthrough* sembrerebbe quindi simile a quella osservata nella popolazione non vaccinata, suggerendo che non sia presente una pressione selettiva verso una particolare variante in grado di evadere l'immunità.

Sono presenti tuttavia dati che suggerirebbero il contrario, in particolare alcuni report hanno dimostrato una prevalenza delle VOC nelle infezioni *breakthrough* (101) (102).

La malattia secondaria a un'infezione *breakthrough* è parsa essere meno severa, sia in termini di numero di sintomi, sia in termini di ospedalizzazioni negli individui che hanno ricevuto almeno una dose di vaccino rispetto a quelli non vaccinati; tuttavia sono stati riportati anche casi di forme severe di malattia.

Brosh-Nissimov et al. (103) hanno pubblicato i risultati di uno studio di coorte retrospettivo multicentrico condotto su 152 pazienti vaccinati che hanno necessitato di un ricovero ospedaliero a seguito dell'infezione da SARS-COV 2. E' stato calcolato che il rischio di ventilazione invasiva e di morte era del 25% (38/152).

<b>Età media</b>	71.1 anni (range 22 anni - 98 anni)
<b>Decessi</b>	34/152 (mortalità del 22%)
<b>Ipertensione</b>	108/152 (71%)
<b>Diabete</b>	73/152 (48%)
<b>Scompenso cardiaco congestizio</b>	41/152 (27%)
<b>Demenza</b>	29/152 (19%)
<b>Tumore</b>	36/152 (27%)
<b>Assenza di comorbilità</b>	6/152 (4%)
<b>Immunocompromissione (terapia corticosteroidica cronica, trapianto di organo solido, anticorpi monoclonali anti CD-20)</b>	60/152 (40%)

Tab 4.1 dati raccolti da Brosh-Nissimov et al. (103)

Dalla Tab 4.1 è possibile osservare i fattori di rischio per sviluppare una forma severa di infezione da SARS-COV 2: età avanzata, alto tasso di comorbilità e immunosoppressione. Si tratta di un profilo che rispecchia quanto osservato dallo studio inglese di Hippisley-Cox (104) che ha utilizzato un dataset nazionale per mettere a punto un algoritmo in grado di stimare il rischio di ospedalizzazione e mortalità nei casi di COVID-19 post vaccinazione.

Ciò che è stato possibile osservare è che la vaccinazione riduce efficacemente la possibilità di outcome severo, senza però alterare i predittori dello stesso, già individuati negli studi pubblicati prima della diffusione delle vaccinazioni (52). I predittori più forti per la mortalità rimangono l'età avanzata, il sesso maschile e specifiche condizioni associate a ridotta risposta immunitaria come la recente chemioterapia, trapianti di midollo e organo solido.

Sebbene la mortalità rimanga alta negli individui vaccinati con malattia grave e ospedalizzati, è bene ricordare che si conferma significativamente minore il rischio di ospedalizzazione per COVID-19 negli individui vaccinati (105), soprattutto se essi hanno ricevuto la dose booster (106), rispetto agli individui non vaccinati.

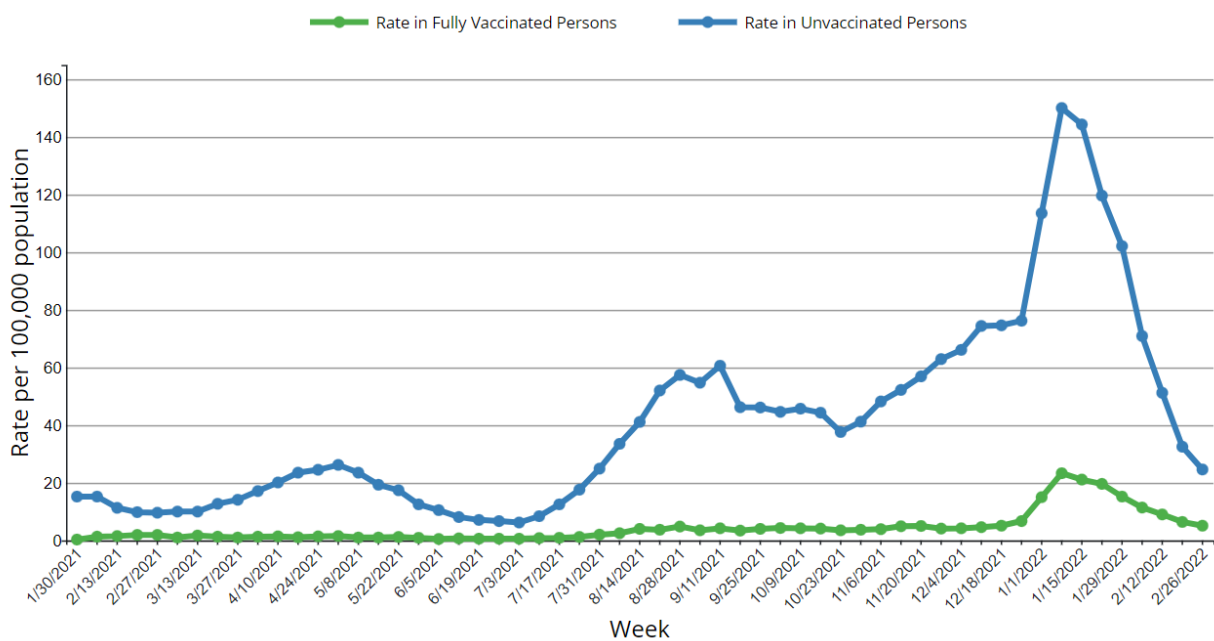


Fig. 4.1 Frequenza delle ospedalizzazioni per COVID-19 tra Gennaio 2021 e Febbraio 2022 in individui >18 anni in funzione dello stato vaccinale (105)

E' inoltre stato dimostrato che i vaccini giocano un ruolo nel ridurre la severità della malattia tra i pazienti che necessitano l'ospedalizzazione. Questa osservazione è stata possibile nel contesto dello studio caso-controllo di Tenforde et al. (107) che ha preso in considerazione 4513 pazienti adulti ospedalizzati per COVID-19 negli Stati Uniti tra Marzo e Agosto 2021.



	<b>Pazienti vaccinati (infezioni breakthrough)</b>	<b>Pazienti non vaccinati</b>
<b>Sul totale degli ospedalizzati tra Marzo e Luglio</b>	142/1197, 11.9%	1055/1197, 88.1%
<b>Numero di pazienti che hanno necessitato di ventilazione meccanica invasiva o che sono andati incontro al decesso</b>	17/142, 12%	261/1055, 24.7%
<b>Progressione verso la ventilazione meccanica invasiva o verso il decesso</b>	17/278, 6.1%	261/278, 93.9%

Tab 4.2 Confronto tra outcome nelle infezioni breakthrough e infezioni nei non vaccinati (107)

Lipsitch et al. (108) invece hanno messo a punto un modello per correlare il ruolo delle varianti, la riduzione della risposta immunitaria nel tempo, l'età e il livello di immunocompetenza dell'individuo al suo rischio di sviluppare un'infezione breakthrough.

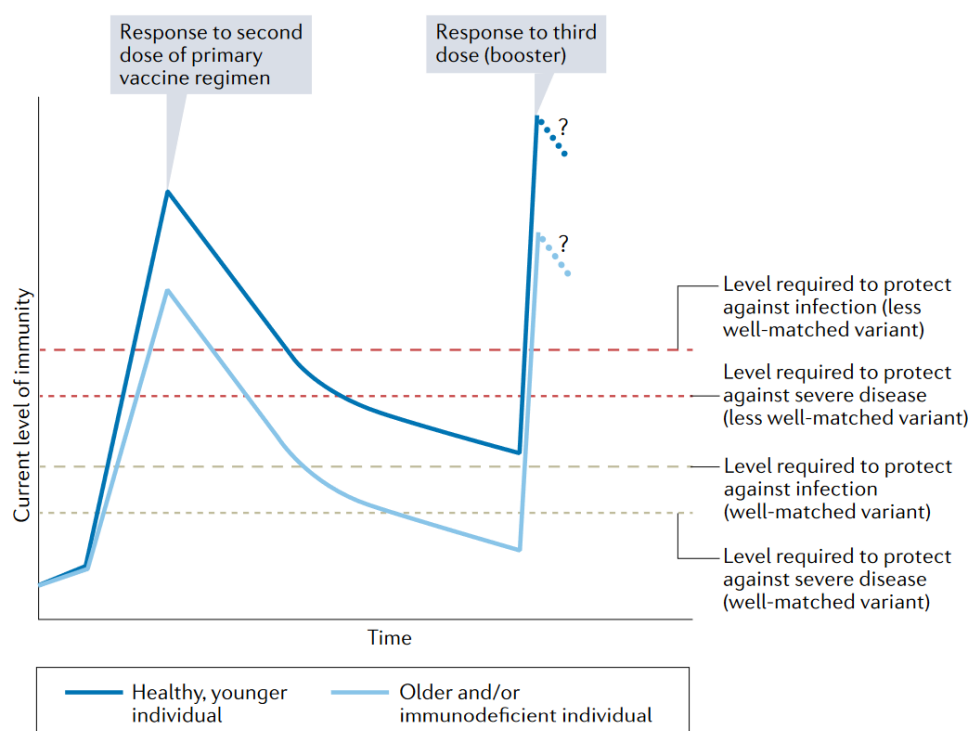


Fig. 4.1 Lipsitch et al.: Modello del rischio di sviluppare un'infezione breakthrough (108)

Il modello presentato dal gruppo propone una correlazione tra il livello di immunità protettiva e:

- l'età, in particolare l'iniziale risposta immunitaria sarebbe minore con l'aumentare dell'età;
- l'immunocompromissione, che riduce il picco di risposta immunitaria post vaccino;
- il tempo trascorso dall'ultima somministrazione di vaccino.

A seguito dell'esposizione la possibilità di sviluppare un'infezione dipenderebbe dal raffronto tra il livello di immunità protettiva dell'individuo e il livello necessario per prevenire l'infezione o la malattia severa in funzione della variante virale in gioco. Sarebbero necessari livelli di protezione maggiori per prevenire l'infezione lieve, mentre la protezione dall'infezione grave si manterrebbe più a lungo nel tempo. Per quanto riguarda le varianti il gruppo distingue tra varianti più o meno affini all'originale proteina spike di SARS-CoV-2, individuando come sarebbero sufficienti livelli più bassi di protezione immunitaria per prevenire l'infezione di varianti affini, come la variante B.1.1.7 (variante inglese o variante Alfa), rispetto a varianti meno affini come la variante Delta.

## 5. RAZIONALE E OBIETTIVI DELLO STUDIO

### 5.1 Razionale dello studio

Con il procedere delle campagne vaccinali hanno iniziato a sommarsi in letteratura i *real world data* sull'efficacia dei nuovi vaccini, comprensivi di informazioni riguardanti casi largamente esclusi dagli studi di fase 3: i soggetti in terapia con farmaci immunomodulanti e immunosoppressori. Con il passare dei mesi la comunità scientifica si è interrogata anche sull'efficacia a lungo termine della vaccinazione in relazione alle prove del calo del titolo anticorpale nei mesi successivi alla somministrazione della seconda dose di vaccino (93) (92). Con l'emergere delle nuove varianti di SARS-COV 2 l'efficacia dei vaccini è stata messa nuovamente in discussione ed è stato fondamentale raccogliere dati che dimostrassero una mantenuta protezione nei confronti della malattia grave (42).

Per quanto riguarda i pazienti con Sclerosi Multipla sono ormai consolidate le prove che dimostrano una risposta umorale al vaccino marcatamente ridotta nei pazienti in terapia con anticorpi monoclonali anti CD-20 e con Fingolimod (82) (83).

Al tempo stesso gli studi che si sono concentrati sull'analisi della risposta cellulare alla vaccinazione hanno evidenziato la possibilità di montare una risposta immunitaria significativa anche per i pazienti in terapia con anti CD-20 (85), mentre rimarrebbe insoddisfacente la risposta cellulare nei pazienti in terapia con Fingolimod (88). Per meglio comprendere le potenzialità della risposta immunitaria umorale e cellulare al vaccino nella protezione a lungo termine dal COVID-19 risulta cruciale quindi monitorare l'incidenza delle infezioni breakthrough. Per raggiungere questo obiettivo è necessario osservare coorti numerose di pazienti con Sclerosi Multipla in terapia con differenti DMT per individuare possibili fattori di rischio di contagio e di malattia grave tra i pazienti vaccinati, dati importanti per guidare le misure di protezione nei confronti di individui identificabili come a maggior rischio.

## 5.2 Obiettivi dello studio

L'obiettivo principale dello studio è quantificare l'incidenza di infezioni *breakthrough* da SARS-COV 2 in relazione alle caratteristiche dei pazienti e ai livelli di risposta anticorpale registrati a seguito della vaccinazione, per individuare una possibile relazione tra ridotti titoli anticorpali e la forma severa di malattia. E' stata quindi osservata una coorte di pazienti con Sclerosi Multipla vaccinati nel contesto del follow-up dello studio CovaXiMS.

Per definire un'infezione *breakthrough* è risultata necessaria la presenza di un test molecolare PCR positivo per SARS-COV 2 a distanza di almeno 14 giorni dalla somministrazione della seconda dose di vaccino.

Obiettivo	Endpoint
Valutazione dell'incidenza dell' infezione da SARS-COV 2 in pazienti con Sclerosi Multipla che hanno completato il ciclo vaccinale	Proporzione di pazienti che sviluppano sintomatologia da COVID-19 e per i quali è possibile confermare l'infezione tramite analisi PCR nel periodo follow-up dopo la somministrazione della seconda dose di vaccino.

Tab 5.1 Obiettivo ed Endpoint dello studio

## 6. PAZIENTI E METODI

### 6.1 Disegno dello studio

Nell'ambito dello studio osservazionale prospettico multicentrico CovaXiMS (*Covid-19 vaccine in Multiple Sclerosis*) è stato istituito un periodo di follow-up clinico che ha permesso di registrare i casi di infezione *breakthrough* da SARS-COV 2.

Lo studio ha coinvolto 35 centri italiani, tra cui il centro SM della Clinica Neurologica dell'IRCSS Ospedale Policlinico San Martino di Genova, per arruolare pazienti affetti da Sclerosi Multipla a cui sono state somministrate le due dosi di vaccino a mRNA. Lo studio è stato disegnato allo scopo di quantificare la risposta umorale alla vaccinazione mediante la determinazione del titolo degli anticorpi anti- SARS-CoV-2 in pazienti in terapia con diversi DMT. E' stato previsto un follow up di 18 mesi per raccogliere informazioni riguardo ai possibili effetti collaterali e all'efficacia della vaccinazione.

Per valutare il livello di immunizzazione è stato testato il titolo anticorpale baseline su prelievo ematico raccolto precedentemente alla prima dose di vaccino e il titolo su prelievo effettuato un mese dopo la seconda dose.

La raccolta dei dati sulle *breakthrough infection* si è concentrata tra Marzo 2021 e Marzo 2022 e al momento dell'analisi la coorte in studio era costituita da 1705 pazienti che avevano ricevuto due dosi di vaccino a mRNA (il 81.6% BNT162b2 e il 18.4% mRNA-1273). A 1509 pazienti (l'88.5% del totale) era stato raccolto un prelievo ematico a quattro settimane dalla seconda dose di vaccino.

E' stato possibile raccogliere i dati relativi alla terza dose di vaccino per il 74% dei pazienti inclusi nello studio (n=1256); il 92% di questi (1154 pazienti) hanno ricevuto la terza dose dopo un tempo medio di 210 giorni, con un range variabile tra 90 e 342, mentre 112 pazienti (8%) non avevano ancora ricevuto la dose booster all'ultimo follow up.

I partecipanti allo studio sono stati contattati dal proprio neurologo tre mesi dopo la seconda dose di vaccino e poi a cadenza mensile; i dati dei pazienti che hanno sviluppato un'infezione da SARS-COV 2 verificata tramite test PCR sono stati inseriti in una CRF elettronica dedicata (*Form: SARS-COV 2 infection during the study*).

<p>Caso di infezione da SARS-COV 2 confermata:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• dopo la prima dose</li> <li>• dopo la seconda dose</li> </ul>
<p>L'infezione è risultata severa? <input type="checkbox"/> si <input type="checkbox"/> no</p> <p>La definizione di COVID-19 severo secondo l'FDA prevede la presenza di almeno una delle seguenti caratteristiche:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- segni clinici presenti a riposo indicativi di malattia grave</li> <li>- insufficienza respiratoria</li> <li>- evidenza di shock</li> <li>- disfunzione acuta grave renale, epatica o neurologica</li> <li>- necessità di ricovero in terapia intensiva</li> <li>- decesso</li> </ul>
<p>E' stata necessaria l'ospedalizzazione? <input type="checkbox"/> si <input type="checkbox"/> no</p> <p>Numero di giorni di ricovero ___</p>
<p>E' stato necessario il ricovero in terapia intensiva? <input type="checkbox"/> si <input type="checkbox"/> no</p> <p>Numero di giorni di ricovero in terapia intensiva ___</p>
<p>Data del primo test PCR positivo per SARS-COV 2</p>
<p>Data del primo test PCR negativo per SARS-COV 2</p>
<p>Data dell'ultimo test sierologico, se presente</p> <p>IgG <input type="checkbox"/> positive <input type="checkbox"/> negative</p> <p>IgM <input type="checkbox"/> positive <input type="checkbox"/> negative</p>

Tab 6.1 Form: SARS-COV 2 infection during the study

Rispetto al periodo in cui lo studio CovaXiMS è stato disegnato due sono gli eventi inaspettati che si sono verificati durante il periodo designato per il follow up: la decisione di somministrare una terza dose di vaccino e la comparsa di una nuova variante virale di SARS-COV 2, diventata presto la responsabile della stragrande maggioranza dei casi di infezione. Una indagine coordinata dall'Istituto Superiore di Sanità sui campioni raccolti all'inizio del mese di Gennaio 2022 ha permesso di stimare la prevalenza delle *Variants Of Concern* (VOC): la variante Omicron era responsabile di circa l'80% dei casi, contro un 20% della variante Delta (109). L'8 Ottobre 2021 veniva pubblicato dal Ministero della Salute un aggiornamento delle indicazioni alla somministrazione della terza dose di vaccino anti SARS-COV2 (110) nel quale veniva raccomandata la dose booster anche ai pazienti con Sclerosi Multipla. A partire dall'inizio del mese di Novembre anche i pazienti arruolati nello studio CovaXiMS hanno iniziato a ricevere la terza dose di vaccino qualora fossero passati più di quattro mesi dalla somministrazione della seconda dose, come da indicazioni del Ministero della Salute alla luce dell'approvazione da parte di EMA e AIFA.

Questi due eventi avevano la potenzialità di fungere da fattori confondenti nell'analisi del rapporto tra titolo anticorpale post-seconda dose di vaccino e rischio di sviluppare una *breakthrough infection*. In relazione a questa possibilità è stato necessario adattare l'analisi per tenere in considerazione le due nuove variabili. Ciò è stato fatto individuando due distinti intervalli di tempo per l'analisi dei dati sulle infezioni breakthrough. In particolare è necessario distinguere:

- I. 4 Marzo 2021-15 Dicembre 2021: primo periodo di analisi. In questo frangente temporale è possibile valutare il rischio di sviluppare un'infezione breakthrough e mettere in relazione l'incidenza delle infezioni con i livelli anticorpali raggiunti a seguito della somministrazione di due dosi di vaccino. In relazione agli studi di prevalenza effettuati dall'Istituto Superiore di Sanità ad inizio Dicembre (111), si è deciso di considerare le infezioni rilevate prima del 15 Dicembre come determinate dalla variante Delta di SARS-COV 2.
- II. 15 Dicembre 2021- 25 Marzo 2022: secondo periodo di analisi. Sempre seguendo i dati degli studi di prevalenza (109) i casi registrati dopo il 15 Dicembre sono stati considerati causati dalla variante omicron di SARS-COV 2.

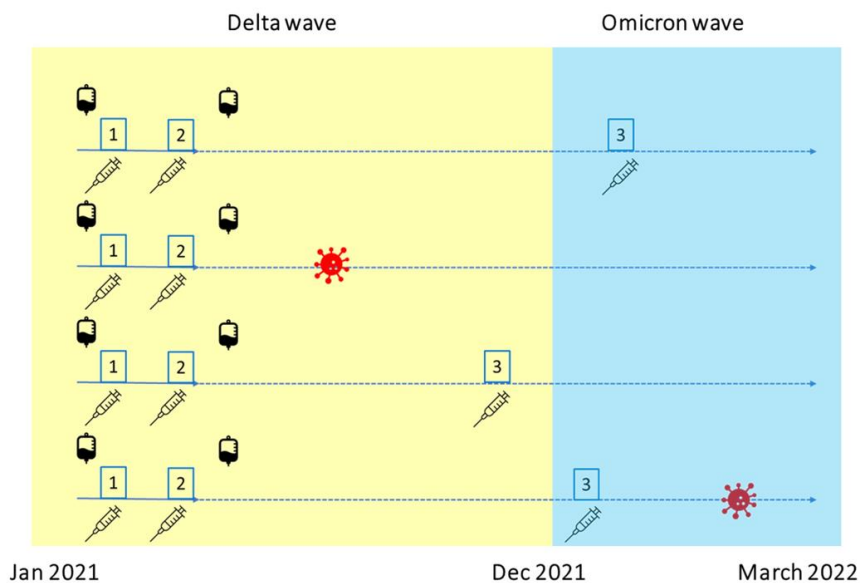


Fig. 6.1 Scenari durante il follow up

Nella figura possiamo osservare la rappresentazione grafica dei due intervalli temporali distinti per variante virale dominante.

## 6.2 Rilevamento del titolo anticorpale anti-SARS-COV 2

Per ottenere il titolo degli anticorpi neutralizzanti anti SARS-COV 2 è stata utilizzata la tecnica del *double-antigen sandwich-based electrochemiluminescence immunoassay* (Elecsys®, Roche Diagnostics Ltd, Switzerland). In particolare per valutare la risposta umorale alla vaccinazione sono stati quantificati gli anticorpi diretti contro il *receptor-binding domain* (RBD) della proteina Spike. I campioni di siero sono stati gestiti da un laboratorio centralizzato, il trasporto è avvenuto in ghiaccio secco e fino all'analisi i campioni sono stati conservati a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

In accordo con l'uso in letteratura il titolo anticorpale è stato convertito in unità standard BAU e trasformato in scala logaritmica su base dieci.

### 6.3 Caratteristiche dell'analisi statistica

L'analisi statistica dei dati sulle *breakthrough infection* è stata separata per i due differenti intervalli temporali individuati in relazione alla variante virale dominante in Italia.

La prima analisi ha tenuto conto dell'incidenza cumulativa delle infezioni breakthrough da variante Delta insorte durante il follow up post seconda dose durato fino al 15 Dicembre 2021, o eventualmente interrotto prima qualora il soggetto avesse ricevuto la dose booster o avesse contratto l'infezione.

Per l'incidenza cumulativa delle infezioni da variante Delta sono state utilizzate curve di sopravvivenza di Kaplan-Meier nei diversi sottogruppi di pazienti in relazione al DMT in terapia.

Per valutare il possibile impatto del DMT e dei livelli di anticorpi neutralizzanti determinati dopo quattro settimane dalla seconda dose di vaccino è stato usato il modello di Cox correggendo per età, sesso, livello di disabilità espresso con la scala EDSS, eventuale precedente infezione da SARS-COV 2 e tipologia di vaccino (mRNA BNT162b2, mRNA-1273).

Per determinare il valore cut-off del titolo anticorpale che garantirebbe una protezione dalle *breakthrough infection* da variante delta è stata utilizzata una curva ROC con i dati dei pazienti con follow-up di almeno sei mesi.

La seconda analisi ha riguardato il periodo di follow up esteso fino al 25 Marzo 2022 ed è stato quindi necessario tenere in considerazione il possibile effetto combinato delle due variabili tempo-dipendenti, la dose booster e la nuova variante dominante Omicron, sul rischio di sviluppare una *breakthrough infection*. L'approccio statistico a questa seconda analisi ha previsto l'utilizzo del modello dei rischi proporzionali di Cox. Con il modello disegnato è stato possibile valutare se:

- l'effetto del titolo anticorpale sul rischio di sviluppare un'infezione breakthrough potesse essere modificato dalla somministrazione della dose booster di vaccino;
- l'effetto del titolo anticorpale nel rischio di sviluppare un'infezione breakthrough potesse essere influenzato dalla variante Omicron.

Grazie al test U di Mann-Whitney e al test del Chi-quadro è stato possibile confrontare le caratteristiche dei pazienti che hanno avuto un'infezione breakthrough nel gruppo Delta (infezioni precedenti la data cut-off del 15 Dicembre) rispetto al gruppo Omicron (infezioni successive alla data cut-off del 15 Dicembre).



Infine grazie a una curva di sopravvivenza di Kaplan-Meyer è stato possibile raccogliere la probabilità cumulativa di sviluppare un'infezione breakthrough durante entrambi gli intervalli temporali in studio.

#### **6.4 Criteri di inclusione ed esclusione**

I criteri di inclusione per lo studio CovaXiMS comprendevano:

- espressione e acquisizione di un consenso informato
- eleggibilità a ricevere la vaccinazione anti SARS-COV 2 in relazione alle normative nazionali e il consenso a riceverla
- disponibilità a rispettare tutte le procedure dello studio
- capacità del paziente di comprendere la natura e gli scopi dello studio, di collaborare con i ricercatori e di rispettare i requisiti dello studio
- età superiore ai 18 anni
- diagnosi confermata di Sclerosi Multipla

I criteri di esclusione comprendevano:

- note precedenti reazioni allergiche a componenti del vaccino
- presenza di patologie concomitanti (neoplasie, malattie autoimmuni) che richiedessero
  - terapie che riducono i livelli dei linfociti B (esempi: Rituximab, Ocrelizumab)
  - terapie bloccanti il traffico linfocitario
  - Anticorpi anti-CD4
  - farmaci quali: Alemtuzumab, Cladribina, Ciclofosfamide, Mitoxantrone, Azatioprina, Micofenolato Mofetile, Ciclosporina, Metotrexato
  - irradiazione corporea totale
  - trapianto di midollo osseo

## 6.5 Caratteristiche baseline dei pazienti in studio

- Caratteristiche demografiche:
  - età media: 46.1 anni
  - percentuale di individui di sesso femminile 68.1% (1161/1705)
  - BMI medio 24.1
- Caratteristiche della malattia:
  - Durata mediana di malattia: 10.0 anni
  - EDSS mediano 2.0
  - Distribuzione del fenotipo di Sclerosi Multipla:

Remittente-Recidivante	1420/1705
Secondariamente Progressiva	158/1705
Primariamente Progressiva	127/1705

- Distribuzione dei pazienti secondo il DMT

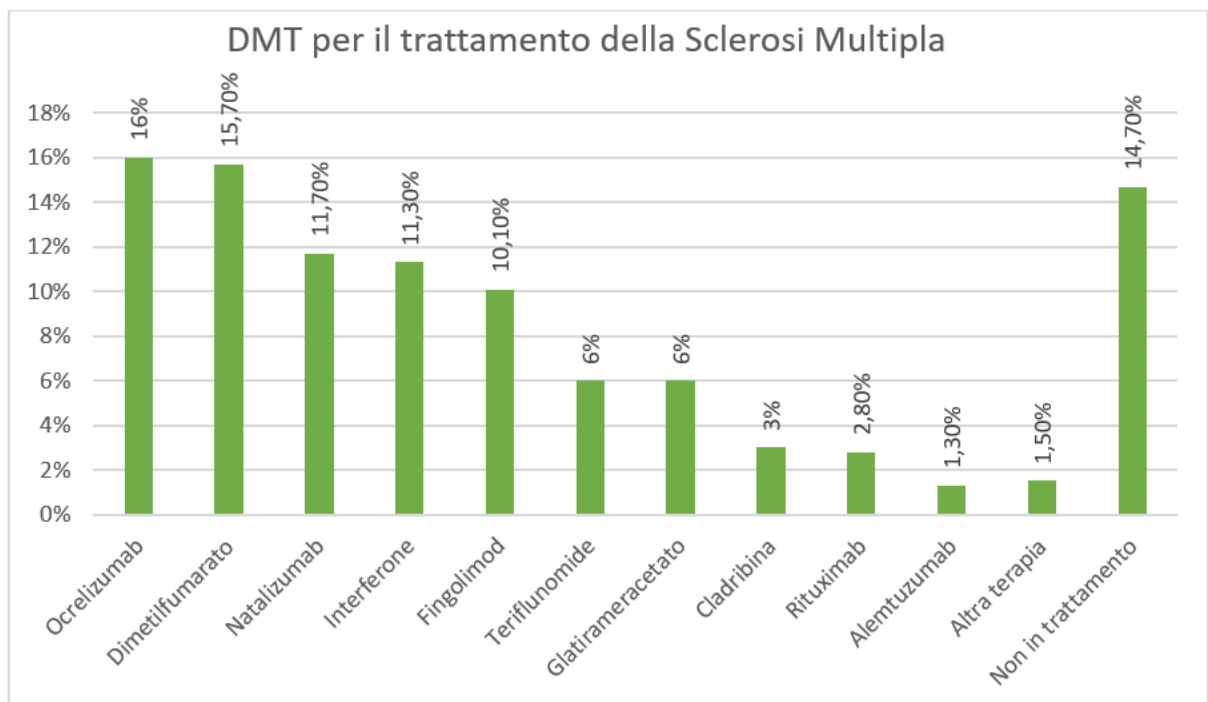


Grafico 6.2 DMT

- Prodotto vaccinale utilizzato
  - mRNA BNT162b2 1391/1705 (81.6%)
  - mRNA-1273 314/1705 (18.4%)
- Infezione da SARS-COV 2 antecedente al vaccino testimoniata dalla positività degli anticorpi N in 218 pazienti (12.8%).

## 7. RISULTATI

### 7.1 Breakthrough infection da variante Delta

Durante il periodo di follow up compreso tra la somministrazione della seconda dose di vaccino e il 15 Dicembre 2021 sono state registrate 33 infezioni breakthrough causate dalla variante Delta, comparse in media 125 giorni dopo la vaccinazione, con un range variabile tra 18 e 230 giorni.

Nella tabella 7.1 è possibile osservare le caratteristiche dei casi di COVID-19 registrati e in particolare il DMT presente nella terapia dei pazienti infetti, dei 33 casi ben 16 erano in terapia con anticorpi monoclonali anti CD-20 e 6 con Fingolimod.

	<b>Variante Delta (n=33 casi)</b>
<b>Età media in anni (Standard Deviation)</b>	44.0 (10.74)
<b>Numero di donne (percentuale sul totale)</b>	18 (54.5%)
<b>BMI medio (SD)</b>	24.0 (3.13)
<b>Fenotipo di malattia</b>	RR-SM: 26 (78.8%) PP-SM: 6 (18.2%) SP-SM: 1 (3.0%)
<b>Mediana della durata di malattia espressa in anni (IQR)</b>	11.1 (7.43)
<b>Mediana del livello di disabilità espressa con l'EDSS (IQR)</b>	2.0 (1.5-4.0)
<b>DMT</b>	Ocrelizumab/Rituximab: 16 (48.5%) Fingolimod: 6 (18.2%) Altri: 11 (33.3%)
<b>Prodotto vaccinale utilizzato</b>	mRNA BNT162b2: 27 (81.8%) mRNA-1273: 6 (18.2%)
<b>Mediana del titolo degli anticorpi anti-SARS-COV 2 4 settimane dopo la somministrazione della seconda dose di vaccino</b>	15.2 (0.0-559.2)

Tab 7.1 Caratteristiche dei casi di breakthrough infection da variante Delta.

SM: Sclerosi Multipla; RR: remittente-recidivante; PP: primariamente progressiva; SP: secondariamente progressiva  
IQR: Scarto interquartile

L'incidenza cumulativa delle infezioni breakthrough da variante Delta negli 8 mesi di follow up è risultata essere del 4.3% (SE=0.5%). Nella tabella 7.2 è possibile osservare l'incidenza in funzione del DMT:

<b>DMT</b>	<b>Incidenza</b>	<b>Standard Error (SE)</b>
<b>Ocrelizumab</b>	7.2%	1.9%
<b>Fingolimod</b>	3.5%	1.6%
<b>Rituximab</b>	3.9%	2.7%
<b>Dimetilfumarato</b>	2.3%	0.9%
<b>Teriflunomide</b>	1.0%	1.0%
<b>Pazienti non in terapia con DMT</b>	2.0%	0.6%
<b>Altri DMT</b>	0%	-

Fig. 7.2 Incidenza delle infezioni breakthrough da variante Delta secondo il DMT presente in terapia

Per confrontare le distribuzioni di incidenza delle infezioni nei diversi gruppi è stato eseguito un test dei ranghi logaritmici che ha escluso l'ipotesi nulla che non vi fosse una differenza nella probabilità dell'evento infezione tra i diversi DMT ( $p=0.001$ ); si conferma quindi che il rischio di sviluppare un'infezione breakthrough è maggiore per il gruppo di pazienti in terapia con Ocrelizumab, Fingolimod e Rituximab.

Il modello dei rischi proporzionali è stato impiegato per valutare l'impatto di diversi fattori di rischio nello sviluppo di un'infezione breakthrough nei 1508 pazienti in studio per i quali era disponibile il titolo anticorpale a un mese dalla seconda dose.

Variabili	Hazard Ratio (95% C.I.)	p
<b>Titolo anticorpale BAU/ml (log 10)</b>	0.51 (0.38-0.69)	<0.001
<b>Età espressa in anni</b>	1.00 (0.96-1.04)	0.94
<b>Sesso (F vs M)</b>	0.58 (0.26-1.28)	0.18
<b>EDSS</b>	0.94 (0.76-1.17)	0.59
<b>Preparato vaccinale (mRNA-1273 vs mRNA BNT162b2)</b>	0.86 (0.29-2.52)	0.94
<b>Infezione da SARS-COV 2 antecedente alla vaccinazione</b>	0.98 (0.24-4.23)	0.98

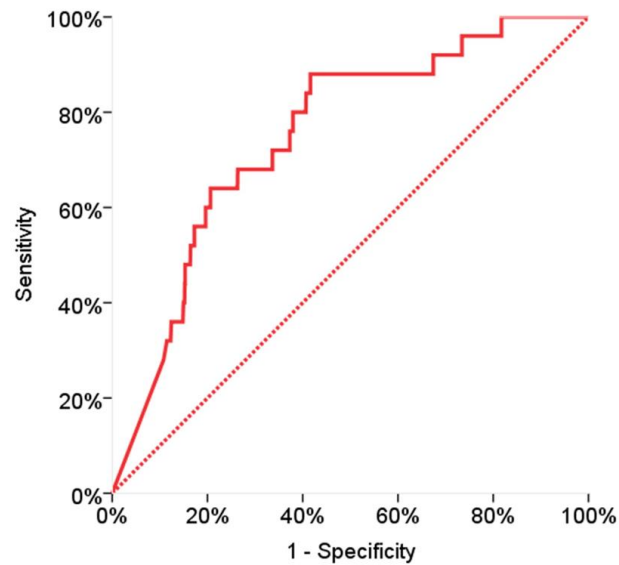
Tab 7.3 Modello di Cox per la valutazione dei fattori di rischio nello sviluppo di un'infezione breakthrough.  
C.I. = Intervallo di Confidenza

E' stato possibile osservare che l'unico fattore significativamente associato a un aumentato rischio di sviluppare un'infezione breakthrough è risultato essere il titolo anticorpale post seconda dose, con un Hazard Ratio di 0.51 (95%CI = 0.38-0.69,  $p < 0.001$ ).

Il rischio di sviluppare un'infezione breakthrough risulta quindi ridotto del 49% per ogni aumento di un fattore 10 del titolo anticorpale.

Non sono risultati significativamente correlati al rischio di sviluppare una breakthrough infection fattori quali l'età, il sesso, il punteggio EDSS, la tipologia di vaccino a mRNA e la presenza di un'infezione da SARS-COV 2 precedente alla vaccinazione.

Il titolo anticorpale ci permetterebbe quindi di classificare i pazienti in base al loro rischio di sviluppare un'infezione breakthrough, ma qual è il valore del titolo che discrimina i pazienti in alto e basso rischio? Grazie alla curva ROC applicata a 1543 pazienti per i quali era disponibile un periodo di follow up della durata di 6 mesi è stato possibile osservare come il miglior valore cut-off del titolo anticorpale per identificare i pazienti ad alto rischio sia risultato essere 659 BAU/ml (2.82 se considerato in termini di logaritmo del titolo anticorpale).



*Fig. 7.1 Curva ROC che riporta la sensibilità e la specificità del titolo anticorpale post seconda dose nell' identificare i pazienti a maggior rischio di sviluppare un'infezione breakthrough.  
AUC = 0.71; sensibilità = 85%; specificità = 58%)*

## 7.2 Breakthrough infection da variante Omicron

Con il diffondersi della variante Omicron in Italia è stata registrata un'impennata dei contagi (112) che si è riflessa in un aumento delle infezioni breakthrough registrate durante lo studio. Durante il follow up compreso tra il 15 Dicembre e il 25 Marzo 2022 sono stati 98 i casi di COVID-19 da variante Omicron registrati tra i pazienti vaccinati in studio.

Nella tabella 7.4 è possibile osservare le caratteristiche delle infezioni breakthrough registrate nel periodo di predominanza della variante Omicron.

	<b>Variante Omicron (n=98 casi)</b>
<b>Età media in anni (Standard Deviation)</b>	42.2 (11.50)
<b>Numero di donne (percentuale sul totale)</b>	73 (74.5%)
<b>BMI medio (SD)</b>	23.9 (3.96)
<b>Fenotipo di malattia</b>	RR-SM: 88 (89.8%); PP-SM: 7 (7.1%); SP-SM: 3 (3.1%)
<b>Mediana della durata di malattia espressa in anni (IQR)</b>	9.9 (6.68)
<b>Mediana del livello di disabilità espressa con l'EDSS (IQR)</b>	1.5 (1.0-3.0)
<b>DMT</b>	Ocrelizumab/Rituximab: 36 (36.7%); Fingolimod: 8 (8.2%); Altri DMT: 54 (55.1%)
<b>Prodotto vaccinale utilizzato</b>	mRNA BNT162b2: 77 (78.6%); mRNA-1273: 21 (21.4%)
<b>Mediana del titolo degli anticorpi anti-SARS-COV 2 4 settimane dopo la somministrazione della seconda dose di vaccino</b>	406.1 (2.1-1689.3)

Tab 7.4 Caratteristiche dei casi di breakthrough infection da variante Omicron.

SM: Sclerosi Multipla; RR: remittente-ricidivante; PP: primariamente progressiva; SP: secondariamente progressiva  
IQR: Scarto interquartile

E' interessante osservare alcune differenze statisticamente significative rispetto ai casi registrati durante il periodo di predominanza della variante Delta, quali:

- la maggior percentuale di pazienti di sesso femminile (74.5% nel periodo Omicron vs 54.5% nel periodo Delta; p=0.03)
- la percentuale di pazienti in terapia con anticorpi monoclonali anti-CD20 (da 48.5 % nel periodo Delta a 36.7% nel periodo Omicron) e con Fingolimod (dal 18.2% del periodo Delta all'8.2% del periodo Omicron).

Il modello dei rischi proporzionali è stato impiegato per valutare l’impatto di diversi fattori di rischio sullo sviluppo di un’infezione breakthrough nei pazienti in studio tenendo questa volta in considerazione il follow up esteso fino al 25 Marzo 2022. Dopo la correzione per età, sesso, EDSS e prodotto vaccinale il titolo anticorpale post seconda dose di vaccino si è confermato un forte predittore del rischio di sviluppare un’infezione breakthrough (HR = 0.57, 95%CI = 0.44-0.73,  $p < 0.001$ ).

Variabili	Hazard Ratio (95% C.I.)	p
<b>Titolo anticorpale BAU/ml (log 10)</b>	0.57 (0.44-0.73)	<0.001
<b>Età espressa in anni</b>	0.99 (0.97-1.00)	0.11
<b>Sesso (F vs M)</b>	1.04 (0.69-1.56)	0.84
<b>EDSS</b>	0.94 (0.84-1.05)	0.26
<b>Preparato vaccinale (mRNA-1273 vs mRNA BNT162b2)</b>	0.65 (0.24-1.73)	0.39
<b>Infezione da SARS-COV 2 antecedente alla vaccinazione</b>	0.63 (0.31-1.26)	0.19
<b>Terza dose di vaccinazione (sì o no)</b>	0.44 (0.21-0.90)	0.025
<b>Variante virale (Omicron vs Delta)</b>	6.31 (2.55-15.49)	<0.001
<b>Interazione tra terza dose e titolo anticorpale</b>	0.84 (0.63-1.12)	0.24
<b>Interazione tra variante Omicron e titolo anticorpale</b>	1.44 (1.04-1.99)	0.028

*Tab 7.5 Modello di Cox per la valutazione dei fattori di rischio nello sviluppo di un’infezione breakthrough, compresa la terza dose di vaccino e la nuova variante virale Omicron.  
C.I. = Intervallo di Confidenza*

Sono risultati significativamente correlati al rischio di sviluppare una breakthrough infection anche fattori quali l’aver ricevuto la dose booster di vaccino (HR = 0.44, 95%CI = 0.21-0.90,  $p < 0.025$ ) e l’aver contratto l’infezione da SARS-COV 2 nella variante virale Omicron (HR = 6.31, 95%CI = 2.55-15.49,  $p < 0.001$ ).

In particolare nei pazienti che hanno ricevuto la terza dose di vaccino si è osservato una riduzione del rischio del 56% di sviluppare un’infezione breakthrough (HR = 0.44, 95%CI = 0.21-0.90,  $p = 0.025$ ).

Nella figura 7.2 è possibile osservare le curve di Kaplan Meier che mostrano la differente probabilità cumulativa di sviluppare un'infezione breakthrough nei pazienti che hanno ricevuto la dose booster (*curva in rosso*) e in quelli che non l'hanno ricevuta (*curva blu*).

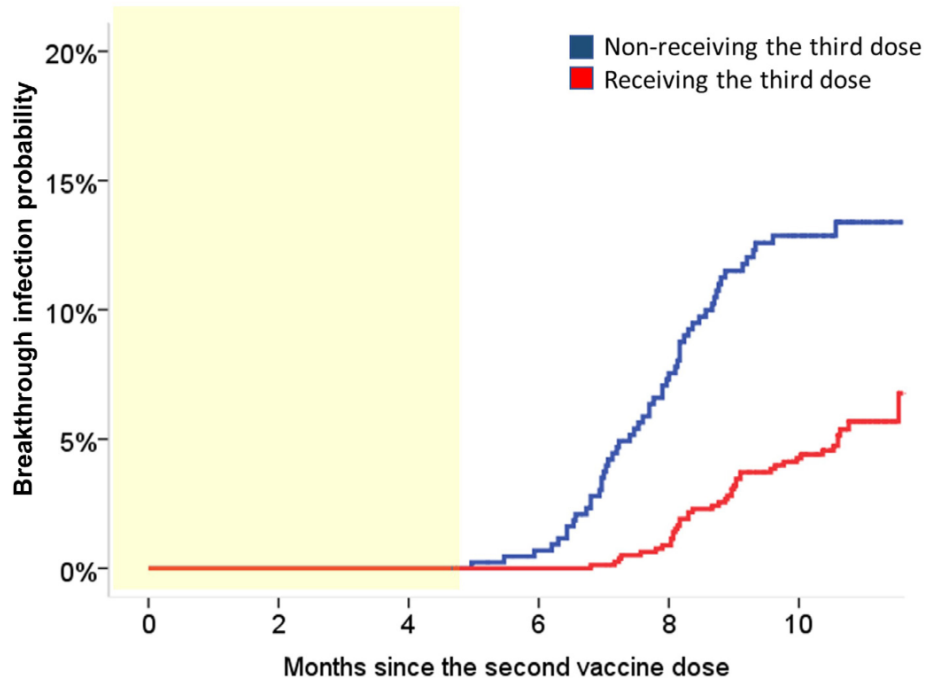


Fig. 7.2 Curve di Kaplan Meier che confrontano la probabilità di breakthrough infection nei pazienti che hanno ricevuto la dose booster e in quelli che non l'hanno ricevuta.

La variante Omicron si è dimostrata responsabile di un aumento di sei volte il rischio di infezione (HR = 6.31, 95% CI = 2.55-15.49,  $p < 0.001$ ).

Grazie al Modello di Cox presentato nella tabella 7.4 è stato possibile evidenziare che l'effetto del titolo anticorpale sul rischio di sviluppare un'infezione breakthrough non veniva a essere significativamente modificato dalla somministrazione della dose booster di vaccino ( $p = 0.24$ ). Al contrario è risultata significativa l'interazione tra il titolo anticorpale e la variante Omicron (HR = 1.44, 95% CI = 1.04-1.99,  $p = 0.03$ ): l'effetto protettivo del titolo anticorpale sul rischio di sviluppare un'infezione breakthrough risulta infatti ridotto del 40 % in caso di infezione da variante Omicron.



Nella figura 7.3 *pannello a* è possibile osservare le curve di Kaplan Meier rappresentanti la probabilità cumulativa di sviluppare un'infezione breakthrough da variante Delta nel periodo compreso tra il 4 Marzo 2021 e il 15 Dicembre 2021, mentre nel *pannello b* sono rappresentate le curve in riferimento alle infezioni da variante Omicron nel periodo compreso tra il 15 Dicembre 2021 e il 25 Marzo 2022.

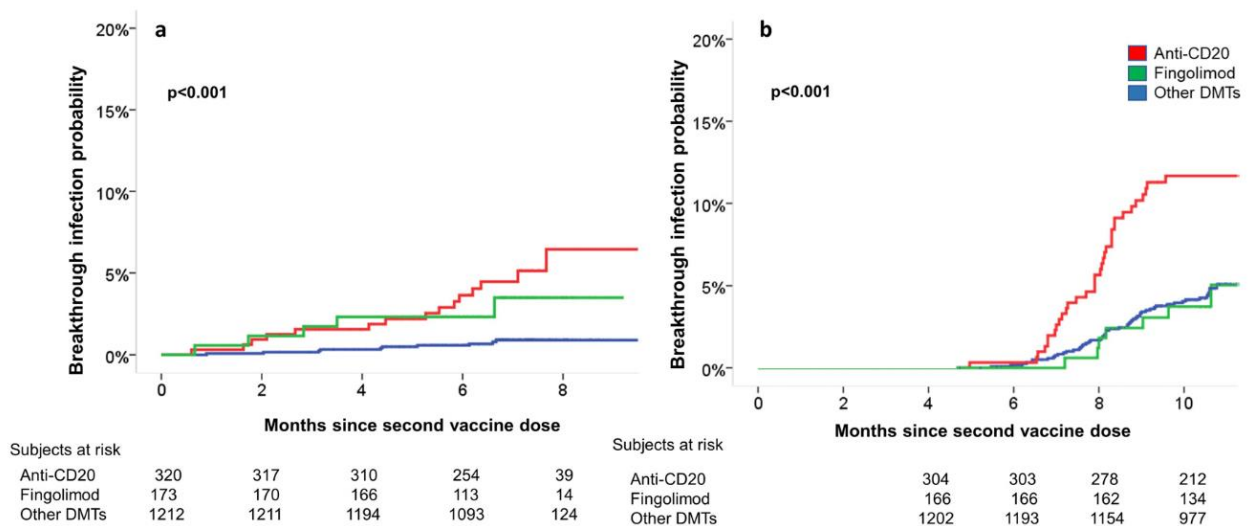


Fig. 7.3 Curve di Kaplan Meier per la probabilità cumulativa di infezione breakthrough

E' presente una suddivisione in tre sottogruppi di pazienti in funzione del DMT presente in terapia:

- Anticorpi monoclonali anti CD-20
- Fingolimod
- altri DMT

E' possibile osservare come la probabilità di contrarre un'infezione breakthrough aumenta nel tempo più ci si allontana dalla data di somministrazione della seconda dose di vaccino.

Questo trend in crescita accomuna tutte le classi di DMT, tuttavia è presente una sostanziale differenza, soprattutto nel periodo di predominanza della variante Omicron. Nei pazienti in terapia con anticorpi monoclonali anti CD-20 infatti è riconoscibile una probabilità maggiore di sviluppare un'infezione breakthrough rispetto alle altre classi di DMT.

### 7.3 Outcome delle infezioni breakthrough: tasso di ospedalizzazione

Durante l'intero periodo di follow up (Marzo 2021- Marzo 2022) nella coorte dei pazienti dello studio CovaXiMS sono state osservate quattro infezioni che hanno richiesto l'ospedalizzazione, di queste tre durante la predominanza della variante Delta e una durante la predominanza della variante Omicron.

Tutti e quattro i pazienti ospedalizzati per COVID-19 non hanno necessitato di ossigeno-terapia e sono andati incontro a un recupero completo.

	<b>Sesso</b>	<b>Età</b>	<b>EDSS</b>	<b>Titolo anticorpale post seconda dose</b>	<b>DMT in terapia</b>	<b>Timing dalla seconda dose</b>	<b>Timing dalla terza dose</b>
<b>Paziente 1 (Delta)</b>	F	>65 anni	4.5	5.2 BAU/mL	Ocrelizumab	63 giorni	-
<b>Paziente 2 (Delta)</b>	F	>40 anni	6.5	0.0 BAU/mL	Ocrelizumab	186 giorni	-
<b>Paziente 3 (Delta)</b>	M	>40 anni	3.5	630 BAU/mL	Teriflunomide	132 giorni	-
<b>Paziente 4 (Omicron)</b>	F	>40 anni	1.5	4.9 BAU/mL	Ocrelizumab	218 giorni	50 giorni

Tab 7.5 Caratteristiche dei pazienti ospedalizzati

Durante il periodo di follow up il tasso di ospedalizzazione si è notevolmente ridotto rispetto al tasso calcolato nel contesto dello studio MuSC-19 su una coorte di pazienti italiani con Sclerosi Multipla (49) nel periodo precedente l'avvento delle vaccinazioni. In particolare nei pazienti in terapia con Ocrelizumab è stata osservata una riduzione del 70% nel tasso di ospedalizzazione e del 90% nei pazienti non in terapia con Ocrelizumab.

<b>DMT</b>	<b>Tasso di ospedalizzazione pre-vaccinazioni (49)</b>	<b>Tasso di ospedalizzazione post-vaccinazioni</b>
<b>Pazienti in terapia con Ocrelizumab</b>	19.5%	5.8% (95%CI = 1.2% - 16.0%)
<b>Pazienti non in terapia con Ocrelizumab</b>	11.9%	1.2% (95%CI = 0% - 6.5%)

Tab 7.6 Confronto tra i tassi di ospedalizzazione calcolati nel periodo precedente e successivo alla campagna vaccinale

## 8. DISCUSSIONE

Con il procedere della campagna vaccinale l'osservazione dei *real world data* nei pazienti con Sclerosi Multipla ha permesso di riconoscere un aumentato rischio di sviluppare l'infezione da SARS-COV 2 nei pazienti in terapia con anticorpi monoclonali anti CD-20 e con Fingolimod, anche in presenza di un ciclo di vaccinazione completo. Nella popolazione generale (92) (93) e nei pazienti con Sclerosi Multipla (91) è stato confermato che la protezione indotta dal vaccino presenta una progressiva riduzione nei mesi che seguono il completamento del ciclo vaccinale e i livelli decrescenti di immunità impattano sulla suscettibilità alle infezioni breakthrough.

Il periodo di follow up compreso nello studio CovaXiMS ha permesso di calcolare l'incidenza delle infezioni breakthrough in un'ampia coorte di pazienti che avevano completato il ciclo vaccinale con vaccini a mRNA. L'incidenza cumulativa delle infezioni breakthrough nel periodo di osservazione dello studio è risultata essere del 4.5%, con alcune eterogeneità in relazione ai diversi DMT presenti in terapia.

All'analisi di Cox l'unico fattore di rischio significativo nello sviluppo delle infezioni breakthrough si è dimostrato essere il basso titolo degli anticorpi anti SARS-COV 2. In particolare si è osservato che il rischio di sviluppare un'infezione breakthrough si riduce del 43% per ogni incremento del titolo anticorpale di un fattore 10.

In accordo con il lavoro di Madelon et al. (113) condotto su pazienti in terapia con anticorpi monoclonali anti CD-20 che avevano ricevuto la vaccinazione, il fattore età, tipicamente associato a una minore risposta anticorpale alla vaccinazione, non ha dimostrato un ruolo indipendente nella determinazione del rischio di infezione breakthrough nella coorte di pazienti in studio.

E' stato possibile individuare il valore soglia del titolo anticorpale di 659 BAU/mL al di sotto del quale il paziente risulta a maggior rischio di sviluppare un'infezione breakthrough nei sei mesi successivi alla vaccinazione. Il titolo degli anticorpi neutralizzanti si è già dimostrato un buon predittore del rischio di breakthrough infection nei lavoratori in ambito sanitario, come riportato da Bergwerk et al. (100). Al momento però nessuno dei valori identificati in studi pubblicati si è dimostrato adeguato nel predire il grado di protezione, conseguenza delle poco prevedibili variazioni del titolo nel tempo e della non nota entità della protezione immunitaria al momento dell'esposizione al patogeno virale. Inoltre va riconosciuto che sono presenti modificatori del rischio che sono indipendenti dal titolo anticorpale, come per esempio le precauzioni prese dall'individuo in termini di sicurezza e la carica virale al momento dell'esposizione.

Durante il follow up si è assistito all'avvento della variante Omicron in Italia e all'inizio della campagna di somministrazione della terza dose di vaccino per i pazienti con Sclerosi Multipla. Questo ha reso necessario adattare l'analisi statistica dei dati raccolti per tenere in considerazione entrambe le variabili e comprendere meglio gli effetti nelle nuove varianti sull'efficacia dei vaccini a mRNA e l'efficacia della dose booster.

La dose booster sembrerebbe un fattore protettivo significativo nei confronti dello sviluppo di un'infezione anche da variante Omicron, la protezione nei confronti del COVID-19 è infatti aumentata a seguito della somministrazione.

Con l'avvento della variante Omicron si è osservato un aumento del rischio di sviluppare l'infezione di 6 volte nei pazienti con Sclerosi Multipla che avevano ricevuto due dosi di vaccino a mRNA. Un alto titolo anticorpale dopo la seconda dose si è dimostrato nuovamente rilevante nel prevenire l'infezione, anche se nel caso della variante Omicron il vantaggio della vaccinazione in questi termini si è ridotto.

E' importante tenere in considerazione che l'obiettivo principale della vaccinazione non è tanto quello di prevenire l'infezione, quanto più prevenire l'infezione grave che richiede l'ospedalizzazione.

La prevalenza dell'ospedalizzazione nella coorte italiana di pazienti con la Sclerosi Multipla dello studio MuSC-19 (49) prima dell'avvento della vaccinazione era del 12.8%, perciò su 131 pazienti infetti avremmo potuto aspettarci 16 casi richiedenti un ricovero. Tuttavia la vaccinazione ha determinato una significativa riduzione del tasso di ospedalizzazione, nella coorte in studio infatti si è osservato un tasso del 3.1%, con quattro casi che hanno necessitato di un ricovero. Di questi tre pazienti erano in terapia con Ocrelizumab; l'infezione breakthrough è stata osservata in un totale di 48 pazienti in terapia con Ocrelizumab e il tasso di ospedalizzazione è risultato ridotto anche in questo sottogruppo di pazienti (6.3%) rispetto a quanto osservato nei pazienti italiani nell'epoca pre-vaccinazione (49). Questa osservazione, sebbene sia basata su un piccolo numero di casi, suggerirebbe l'importanza della preservata risposta linfocitaria T-mediata. La risposta T giocherebbe un ruolo fondamentale nel conferire una protezione dalle infezioni gravi richiedenti l'ospedalizzazione in un gruppo di pazienti il cui DMT, in relazione al proprio meccanismo d'azione, determina una mancata risposta umorale alla vaccinazione.

Lo studio presenta alcune limitazioni, in primo luogo il piccolo numero di casi di infezione osservati durante il follow up. Non è stato possibile un confronto con i dati della popolazione generale sull'incidenza delle infezioni breakthrough a causa della mancata disponibilità degli stessi, così come non è stato possibile un confronto con i dati delle infezioni nella popolazione dei non vaccinati.

Per questo studio non sono stati disponibili i dati sulla caratterizzazione molecolare di SARS-COV 2 per il singolo caso di infezione, perciò la distinzione tra infezioni da variante Delta (fino al 15 Dicembre 2021) e variante Omicron (dal 15 Dicembre 2021 al 25 Marzo 2022) si è basata esclusivamente sui dati di prevalenza del periodo in esame.

## **9. CONCLUSIONI**

In conclusione i risultati dello studio suggeriscono che la frequenza delle infezioni breakthrough nei pazienti con Sclerosi Multipla in terapia con DMT dipende dai livelli di immunità umorale al SARS-COV 2, livelli che risultano ridotti in pazienti in terapia con specifici DMT e che in generale hanno una tendenza a decrescere nel tempo. Inoltre la variante Omicron si è dimostrata meno influenzata dai livelli anticorpali e con l'avvento di questa variante la frequenza delle infezioni è aumentata nei pazienti con Sclerosi Multipla.

Saranno necessari studi su coorti più numerose per comprendere meglio il ruolo protettivo delle vaccinazioni nei confronti della malattia severa nei pazienti con Sclerosi Multipla in relazione ai diversi DMT, sebbene appaia già significativamente ridotta la frequenza delle infezioni richiedenti l'ospedalizzazione anche nei pazienti in terapia con anticorpi monoclonali anti-CD20.

Ulteriori studi per identificare la frequenza, la gravità e i fattori predisponenti le infezioni breakthrough nei pazienti fragili potrebbero suggerire strategie di protezione con eventuali dosi booster di vaccino.

Le raccomandazioni sulle norme di sicurezza come l'uso della mascherina e il distanziamento sociale dovrebbero continuare a costituire un pilastro per ridurre l'incidenza dei casi di infezione da SARS-COV-2.



## 10. BIBLIOGRAFIA

1. Walton, Clare et al. Rising prevalence of multiple sclerosis worldwide: Insights from the Atlas of MS, third edition. *Multiple Sclerosis Journal*. 1 12 2020, p. 1816-1821.
2. Bjornevik e Ascherio, et al. Longitudinal analysis reveals high prevalence of Epstein-Barr virus associated with multiple sclerosis. *Science*. 2022, Vol. 375.
3. Ascherio, Alberto e Munger, Kassandra. Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part I: The role of infection. *Annals of Neurology*. 2007, Vol. 61.
4. Dean, G. e Kurtzke, J.F. On the Risk of Multiple Sclerosis According to Age at Immigration to South Africa. *BMJ*. 1971, Vol. 3.
5. Hernán, Miguel A. et al. Cigarette Smoking and Incidence of Multiple Sclerosis. *American Journal of Epidemiology*. 2001, Vol. 154.
6. Kassandra, L. e Munger, MSc. Serum 25-Hydroxyvitamin D Levels and Risk of Multiple Sclerosis. *JAMA*. 2006.
7. Pierrot-Deseilligny, Charles e Souberbielle, Jean-Claude. Vitamin D and multiple sclerosis: An update. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*. 2017, Vol. 14.
8. Ghasemi, Nazem et al. Multiple Sclerosis: Pathogenesis, Symptoms, Diagnoses and Cell-Based Therapy. *Cell Journal*. 2017, Vol. 19.
9. Bagur, M José et al. Influence of Diet in Multiple Sclerosis: A Systematic Review<sup>12</sup>. *Advances in Nutrition*. 2017, Vol. 3.
10. Najafi, Mohamad Reza et al. Vitamin B12 Deficiency and Multiple Sclerosis; Is there Any Association? *International Journal of Preventive Medicine*. 2012, Vol. 3.
11. Kocer, B. et al. Serum vitamin B12, folate, and homocysteine levels and their association with clinical and electrophysiological parameters in multiple sclerosis. *Journal of Clinical Neuroscience: Official Journal of the Neurosurgical Society of Australasia*. 2009, Vol. 16.
12. Hollenbach, Jill A. e Oksenberg, Jorge R. The immunogenetics of multiple sclerosis: A comprehensive review. *Journal of Autoimmunity*. 2015, Vol. 64.
13. Thompson, Alan J et al. Multiple sclerosis. *The Lancet*. 2018, Vol. 391.
14. Compston, Alastair e Coles, Alasdair. Multiple sclerosis. *The Lancet*. 2008, Vol. 372.

15. Kister, Ilya et al. Natural History of Multiple Sclerosis Symptoms. *International Journal of MS Care*. 2013, Vol. 15.
16. Klineova, Sylvia et al. Clinical Course of Multiple Sclerosis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2018-9, Vol. 8.
17. Lublin, Fred D. et al. Defining the clinical course of multiple sclerosis. *Neurology*. 2014, Vol. 83.
18. Group, The Optic Neuritis Study. Multiple Sclerosis Risk after Optic Neuritis: Final Optic Neuritis Treatment Trial Follow-Up. *Archives of neurology*. 2008, Vol. 65.
19. Young, John et al. Clinically isolated acute transverse myelitis: prognostic features and incidence. *Multiple Sclerosis Journal*. 2009, Vol. 15.
20. Okuda, Darin T. et al. Radiologically Isolated Syndrome: 5-Year Risk for an Initial Clinical Event. *PLoS ONE*. 2014, Vol. 9.
21. McDonald, W. Ian et al. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: Guidelines from the international panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Annals of Neurology*. 2001, Vol. 50.
22. Thompson, Alan J. et al. Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. *The Lancet Neurology*. 2018, Vol. 17.
23. Montalban, X. et al. MRI criteria for MS in patients with clinically isolated syndromes. *Neurology*. 2010, Vol. 74.
24. Polman, Chris H. et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 Revisions to the McDonald criteria. *Annals of Neurology*. 2011, Vol. 69.
25. Filippi, M. et al. MRI CRITERIA FOR THE DIAGNOSIS OF MULTIPLE SCLEROSIS: MAGNIMS CONSENSUS GUIDELINES. *The Lancet. Neurology*. 2016, Vol. 15.
26. Wattjes, Mike P. et al. 2021 MAGNIMS–CMSC–NAIMS consensus recommendations on the use of MRI in patients with multiple sclerosis. *The Lancet Neurology*. 2021, Vol. 20.
27. Filippi, M. et al. MRI CRITERIA FOR THE DIAGNOSIS OF MULTIPLE SCLEROSIS: MAGNIMS CONSENSUS GUIDELINES. *The Lancet. Neurology*. 2016, Vol. 15.
28. Brownlee, Wallace J. et al. Diagnosis of multiple sclerosis: progress and challenges. *The Lancet*. 2017, Vol. 389.



29. Montalban, Xavier et al. Ocrelizumab versus Placebo in Primary Progressive Multiple Sclerosis. *New England Journal of Medicine*. 2017, Vol. 376.
30. Liu, Zhuoyi et al. Disease modifying therapies in relapsing-remitting multiple sclerosis: A systematic review and network meta-analysis. *Autoimmunity Reviews*. 2021, Vol. 20.
31. Gholamzad, Mehrdad et al. A comprehensive review on the treatment approaches of multiple sclerosis: currently and in the future. *Inflammation Research*. 2019, Vol. 68.
32. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard. <https://covid19.who.int/>. [Online] 11 Aprile 2022. [Riportato: 11 Aprile 2022.] <https://covid19.who.int/>.
33. The Novel Coronavirus Pneumonia Emergency Response. The Epidemiological Characteristics of an Outbreak of 2019 Novel Coronavirus Diseases (COVID-19) — China, 2020. *China CDC Weekly*. 2020, Vol. 2.
34. Vena, Antonio e Giacobbe, Daniele Roberto et al. Clinical characteristics, management and in-hospital mortality of patients with coronavirus disease 2019 in Genoa, Italy. *Clinical Microbiology and Infection*. 2020, Vol. 26.
35. Wiersinga, W. Joost et al. Pathophysiology, Transmission, Diagnosis, and Treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review. *JAMA*. 2020, Vol. 324.
36. Tracking SARS-CoV-2 variants. <https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/>. [Online] 11 Aprile 2022. [Riportato: 11 Aprile 2022.] [https://www.who.int/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants](https://www.who.int/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/).
37. Hirabara, Sandro M. et al. SARS-COV-2 Variants: Differences and Potential of Immune Evasion. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2022, Vol. 11.
38. Hu, et al. Differences in Clinical Characteristics Between Delta Variant and Wild-Type SARS-CoV-2 Infected Patients. *Frontiers in Medicine*. 2022, Vol. 8.
39. Andrews, et al. Covid-19 Vaccine Effectiveness against the Omicron (B.1.1.529) Variant. *New England Journal of Medicine*. 2022, Vol. 386.
40. Lewnard, et al. Clinical outcomes among patients infected with Omicron (B.1.1.529) SARS-CoV-2 variant in southern California. *Epidemiology*. 2022.
41. Collie, et al. Effectiveness of BNT162b2 Vaccine against Omicron Variant in South Africa. *New England Journal of Medicine*. 2022, Vol. 386.

42. Lauring, et al. Clinical severity of, and effectiveness of mRNA vaccines against, covid-19 from omicron, delta, and alpha SARS-CoV-2 variants in the United States: prospective observational study. *BMJ*. 2022, Vol. 376.
43. Jamal, et al. Immune dysregulation and system pathology in COVID-19. *Virulence*. 2021, Vol. 12.
44. Liu, et al. COVID-19 and autoimmune diseases. *Current Opinion in Rheumatology*. 2021, Vol. 33.
45. Zen, et al. SARS-CoV-2 infection in patients with autoimmune rheumatic diseases in northeast Italy: A cross-sectional study on 916 patients. *Journal of Autoimmunity*. 2020, Vol. 112.
46. Zhong, et al. COVID-19 in patients with rheumatic disease in Hubei province, China: a multicentre retrospective observational study. *The Lancet. Rheumatology*. 2020, Vol. 2.
47. Barzegar, et al. COVID-19 Among Patients With Multiple Sclerosis: A Systematic Review. *Neurology(R) Neuroimmunology & Neuroinflammation*. 2021, Vol. 8.
48. Sah, et al. Asymptomatic SARS-CoV-2 infection: A systematic review and meta-analysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2021, Vol. 118.
49. Sormani, et al. COVID-19 Severity in Multiple Sclerosis: Putting Data Into Context. *Neurology - Neuroimmunology Neuroinflammation*. 2022, Vol. 9.
50. Salter, et al. Outcomes and Risk Factors Associated With SARS-CoV-2 Infection in a North American Registry of Patients With Multiple Sclerosis. *JAMA Neurology*. 2021, Vol. 78.
51. Etemadifar, et al. Risk factors of severe COVID-19 in people with multiple sclerosis : A systematic review and meta-analysis. *Revue Neurologique*. 2022, Vol. 178.
52. Kumar, et al. Clinical Features of COVID-19 and Factors Associated with Severe Clinical Course: A Systematic Review and Meta-analysis. *Social Science Research Network*. 2020.
53. Sormani, et al. Disease-Modifying Therapies and Coronavirus Disease 2019 Severity in Multiple Sclerosis. *Annals of Neurology*. 2021, Vol. 89.

54. Gianfrancesco, et al. Characteristics associated with hospitalisation for COVID-19 in people with rheumatic disease: data from the COVID-19 Global Rheumatology Alliance physician-reported registry. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2020, Vol. 79.
55. Maghzi, et al. COVID-19 in teriflunomide-treated patients with multiple sclerosis. *Journal of Neurology*. 2020, Vol. 267.
56. Fox, et al. Characterizing absolute lymphocyte count profiles in dimethyl fumarate-treated patients with MS. *Neurology: Clinical Practice*. 2016, Vol. 6.
57. Beaudoin, et al. Can the SARS-CoV-2 Spike Protein Bind Integrins Independent of the RGD Sequence? *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2021, Vol. 11.
58. Zheng, et al. Multiple Sclerosis Disease-Modifying Therapy and the COVID-19 Pandemic: Implications on the Risk of Infection and Future Vaccination. *CNS Drugs*. 2020, Vol. 34.
59. Sharifian-Dorche, et al. COVID-19 and disease-modifying therapies in patients with demyelinating diseases of the central nervous system: A systematic review. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*. 2021, Vol. 50.
60. Louapre, et al. Clinical Characteristics and Outcomes in Patients With Coronavirus Disease 2019 and Multiple Sclerosis. *JAMA Neurology*. 2020, Vol. 77.
61. Schiavetti, et al. Severe outcomes of COVID-19 among patients with multiple sclerosis under anti-CD-20 therapies: A systematic review and meta-analysis. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*. 2022, Vol. 57.
62. Buljevac, et al. Prospective study on the relationship between infections and multiple sclerosis exacerbations. *Brain*. 2002, Vol. 125.
63. Sibley, et al. CLINICAL VIRAL INFECTIONS AND MULTIPLE SCLEROSIS. *Lancet (London, England)*. 1985, Vol. 325.
64. Andersen, et al. Viral infections trigger multiple sclerosis relapses: a prospective seroepidemiological study. *Journal of Neurology*. 1993, Vol. 240.
65. Zrzavy, et al. Vaccination in Multiple Sclerosis: Friend or Foe? *Frontiers in Immunology*. 2019, Vol. 10.
66. Williamson e Berger. Infection Risk in Patients on Multiple Sclerosis Therapeutics. *CNS Drugs*. 2015, Vol. 29.

67. Hawker, et al. Rituximab in patients with primary progressive multiple sclerosis: results of a randomized double-blind placebo-controlled multicenter trial. *Annals of Neurology*. 2009, Vol. 66.
68. O'Connor, et al. A Phase II study of the safety and efficacy of teriflunomide in multiple sclerosis with relapses. *Neurology*. 2006, Vol. 66.
69. Cree, et al. Efficacy and safety of ocrelizumab vs interferon beta-1a in participants of African descent with relapsing multiple sclerosis in the Phase III OPERA I and OPERA II studies. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*. 2021, Vol. 52.
70. Luna, et al. Infection Risks Among Patients With Multiple Sclerosis Treated With Fingolimod, Natalizumab, Rituximab, and Injectable Therapies. *JAMA Neurology*. 2019, Vol. 77.
71. Farez, et al. Practice guideline update summary: Vaccine-preventable infections and immunization in multiple sclerosis: Report of the Guideline Development, Dissemination, and Implementation Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*. 2019, Vol. 93.
72. Mailand e Frederiksen, et al. Vaccines and multiple sclerosis: a systematic review. *Journal of Neurology*. 2017, Vol. 264.
73. DeStefano, et al. Vaccinations and Risk of Central Nervous System Demyelinating Diseases in Adults. *Archives of Neurology*. 2003, Vol. 60.
74. Ciotti, et al. Effects of MS disease-modifying therapies on responses to vaccinations: A review. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*. 2020, Vol. 45.
75. Croce, et al. Safety of live vaccinations on immunosuppressive therapy in patients with immune-mediated inflammatory diseases, solid organ transplantation or after bone-marrow transplantation – A systematic review of randomized trials, observational studies and case re. *Vaccine*. 2017, Vol. 35.
76. Reyes, et al. Protecting people with multiple sclerosis through vaccination. *Practical Neurology*. 2020, Vol. 20.
77. COVID-19 Vaccine Guidance for People Living with MS. *National Multiple Sclerosis Society*. [Online] febbraio 2022. [Riportato: 23 Aprile 2022.] <https://www.nationalmssociety.org/>.

78. Kelly, et al. Safety and efficacy of COVID-19 vaccines in multiple sclerosis patients. *Journal of Neuroimmunology*. 2021, Vol. 356.
79. Achiron, et al. COVID-19 vaccination in patients with multiple sclerosis: What we have learnt by February 2021. *Multiple Sclerosis Journal*. 2021, Vol. 27.
80. Lotan, et al. Safety of the BNT162b2 COVID-19 vaccine in multiple sclerosis (MS): Early experience from a tertiary MS center in Israel. *European Journal of Neurology*. 2021, Vol. 28.
81. Briggs, et al. COVID-19 Vaccination Reactogenicity in Persons With Multiple Sclerosis. *Neurology - Neuroimmunology Neuroinflammation*. 2022, Vol. 9.
82. Achiron, et al. Humoral immune response to COVID-19 mRNA vaccine in patients with multiple sclerosis treated with high-efficacy disease-modifying therapies. *Therapeutic Advances in Neurological Disorders*. 2021, Vol. 14.
83. Sormani, et al. Effect of SARS-CoV-2 mRNA vaccination in MS patients treated with disease modifying therapies. *eBioMedicine*. 2021, Vol. 72.
84. Khoury, et al. Neutralizing antibody levels are highly predictive of immune protection from symptomatic SARS-CoV-2 infection. *Nature Medicine*. 2021, Vol. 27.
85. Milo, et al. Humoral and Cellular Immune Responses to SARS-CoV-2 mRNA Vaccination in Patients with Multiple Sclerosis: An Israeli Multi-Center Experience Following 3 Vaccine Doses. *Frontiers in Immunology*. 2022, Vol. 13.
86. Gadani, et al. Discordant humoral and T cell immune responses to SARS-CoV-2 vaccination in people with multiple sclerosis on anti-CD20 therapy. *eBioMedicine*. 2021, Vol. 73.
87. Brill, et al. Humoral and T-Cell Response to SARS-CoV-2 Vaccination in Patients With Multiple Sclerosis Treated With Ocrelizumab. *JAMA Neurology*. 2021, Vol. 78.
88. Tortorella, et al. Humoral- and T-Cell-Specific Immune Responses to SARS-CoV-2 mRNA Vaccination in Patients With MS Using Different Disease-Modifying Therapies. *Neurology*. 2022, Vol. 98.
89. Rydzynski Moderbacher, et al. Antigen-Specific Adaptive Immunity to SARS-CoV-2 in Acute COVID-19 and Associations with Age and Disease Severity. *Cell*. 2020, Vol. 183.

90. COVID-19 Data Explorer. *Our World in Data*. [Online] aprile 2022. [Riportato: 24 Aprile 2022.] <https://ourworldindata.org/coronavirus-data-explorer>.
91. Mizrahi, et al. Correlation of SARS-CoV-2-breakthrough infections to time-from-vaccine. *Nature Communications*. 2021, Vol. 12.
92. Shrotri, et al. Spike-antibody waning after second dose of BNT162b2 or ChAdOx1. *The Lancet*. 2021, Vol. 398.
93. Seow, et al. Longitudinal observation and decline of neutralizing antibody responses in the three months following SARS-CoV-2 infection in humans. *Nature Microbiology*. 2020, Vol. 5.
94. Efros, et al. Efficacy and Safety of Third Dose of the COVID-19 Vaccine among Solid Organ Transplant Recipients: A Systemic Review and Meta-Analysis. *Vaccines*. 2022, Vol. 10.
95. The Possibility of COVID-19 after Vaccination: Breakthrough Infections. *Centers for Disease Control and Prevention*. [Online] 17 Dicembre 2021. [Riportato: 30 Aprile 2022.] <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/vaccines/effectiveness/why-measure-effectiveness/breakthrough-cases.html>.
96. Birhane, et al. COVID-19 Vaccine Breakthrough Infections Reported to CDC — United States, January 1–April 30, 2021. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 2021, Vol. 70.
97. Adebajo, et al. Pneumococcal Conjugate Vaccine Breakthrough Infections: 2001–2016. *Pediatrics*. 2020, Vol. 145.
98. Huang, et al. Varicella breakthrough infection and vaccine effectiveness in Taiwan. *Vaccine*. 2011, Vol. 29.
99. Antonelli, et al. Risk factors and disease profile of post-vaccination SARS-CoV-2 infection in UK users of the COVID Symptom Study app: a prospective, community-based, nested, case-control study. *The Lancet Infectious Diseases*. 2022, Vol. 22.
100. Bergwerk, et al. Covid-19 Breakthrough Infections in Vaccinated Health Care Workers. *New England Journal of Medicine*. 2021, Vol. 385.
101. Servellita, et al. Predominance of antibody-resistant SARS-CoV-2 variants in vaccine breakthrough cases from the San Francisco Bay Area, California. *Nature Microbiology*. 2022, Vol. 7.

102. Kustin, et al. Evidence for increased breakthrough rates of SARS-CoV-2 variants of concern in BNT162b2-mRNA-vaccinated individuals. *Nature Medicine*. 2021, Vol. 27.
103. Brosh-Nissimov, et al. BNT162b2 vaccine breakthrough: clinical characteristics of 152 fully vaccinated hospitalized COVID-19 patients in Israel. *Clinical Microbiology and Infection*. 2021, Vol. 27.
104. Hippisley-Cox, et al. Risk prediction of covid-19 related death and hospital admission in adults after covid-19 vaccination: national prospective cohort study. *The BMJ*. 2021, Vol. 374.
105. Rates of laboratory-confirmed COVID-19 hospitalizations by vaccination status. *Centers for Disease Control and Prevention*. [Online] 29 Aprile 2022. [Riportato: 30 Aprile 2022.]
106. Bar-On, et al. Protection against Covid-19 by BNT162b2 Booster across Age Groups. *New England Journal of Medicine*. 2021, Vol. 385.
107. Tenforde, et al. Association Between mRNA Vaccination and COVID-19 Hospitalization and Disease Severity. *JAMA*. 2021, Vol. 326.
108. Lipsitch, et al. SARS-CoV-2 breakthrough infections in vaccinated individuals: measurement, causes and impact. *Nature Reviews Immunology*. 2022, Vol. 22.
109. Sanità, Istituto Superiore di. Stima della prevalenza delle varianti VOC (Variant Of Concern). 03/01/2022.
110. Ministero della Salute, Direzione generale della prevenzione sanitaria. Aggiornamento delle indicazioni sulla somministrazione di dosi addizionali e di dosi "booster" nell'ambito della campagna di vaccinazione anti SARS-CoV-2/COVID19. 08/10/2021.
111. Sanità, Istituto Superiore di. Stima della prevalenza delle varianti VOC (Variants of Concern) in Italia:. 06/12/2021.
112. Sharifian-Dorche, et al. COVID-19 and disease-modifying therapies in patients with demyelinating diseases of the central nervous system: A systematic review. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*. 2021, Vol. 50.
113. Habek, et al. Humoral and cellular immunity in convalescent and vaccinated COVID-19 people with multiple sclerosis: Effects of disease modifying therapies. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*. 2022, Vol. 59.

## Ringraziamenti

*Alle mie relatrici, la Prof.ssa Maria Matilde Inglese e la Prof.ssa Maria Pia Sormani, alla mia correlatrice la Dott.ssa Caterina Lapucci e a tutto il gruppo CovaXiMS per avermi dato la possibilità di fare la mia prima esperienza nel mondo della ricerca.*

*Ai miei genitori e a Lucia, per la fiducia e l'immenso sostegno in questi anni. Per i ravioli a festeggiare ogni esame superato, per essere stati presenti ogni giorno e per avermi dato la possibilità di dedicarmi interamente allo studio.*

*A Davide, che è arrivato durante questo percorso e da allora mi ha affiancato con amore, senza farmi mai mancare il suo supporto ha reso più leggere molte fatiche e più vive molte gioie.*

*Ad Anna, per aver creduto talmente tanto in me da avermi regalato il mio primo fonendo quando non avevo ancora neppure il diploma di maturità e per essermi sempre stata amica da quasi 22 anni.*

*A Betta, per aver condiviso con me tutte le gioie e i dolori dei primi anni dell'Università e per aver partecipato a creare ricordi che difficilmente dimenticherò.*

*Agli Amici, per essere stati pazienti nelle mie assenze e avermi sempre aspettato quando faticavo a trovare il tempo per staccarmi dai libri.*

*Allo Zio Matto, alla Zianna e allo Zio Alfredo per aver partecipato con trasporto a ogni passo del mio percorso.*

*Al Nonnino, alla Nonna Bianca e al Nonno Eugenio che non ci sono più e che avrei voluto con me oggi.*

*A me stessa, per avercela messa tutta.*





