

1222 • 2022  
**800**  
ANNI



UNIVERSITÀ  
DEGLI STUDI  
DI PADOVA

# UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

SCUOLA DI MEDICINA E CHIRURGIA

## CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN MEDICINA E CHIRURGIA

Dipartimento di Medicina DIMED

Direttore: Prof. Roberto Vettor

U.O.C. di Reumatologia

Direttore: Prof. Andrea Doria

Tesi di Laurea Magistrale

## VACCINAZIONE ANTI SARS-CoV-2 IN PAZIENTI AFFETTI DA MALATTIE AUTOINFIAMMATORIE IN CORSO DI TRATTAMENTO CON INIBITORI DI IL-1

Relatore: Prof. Paolo Sfriso

Correlatrice: Dott.ssa Sara Bindoli

Laureanda: Elisabetta Ciavarella

ANNO ACCADEMICO 2021/2022



# SOMMARIO

<b>RIASSUNTO</b> .....	1
<b>ABSTRACT</b> .....	3
<b>1. INTRODUZIONE</b> .....	5
1.1 LE MALATTIE AUTOINFIAMMATORIE .....	5
1.1.1 Definizione e cenni storici .....	5
1.1.2 Eziopatogenesi e classificazione.....	7
1.1.3. Sintomatologia delle MAIS .....	21
1.1.4. Terapia .....	28
1.2 COVID-19.....	32
1.2.1 Definizione ed eziopatogenesi .....	32
1.2.2 Varianti genomiche .....	37
1.2.3 Vaccinazione.....	39
1.2.3 Clinica.....	43
1.2.4 Dosaggio anticorpale.....	46
1.2.5 Gestione e terapia della COVID-19 .....	48
<b>2. SCOPO DELLO STUDIO</b> .....	50
<b>3. PAZIENTI E METODI</b> .....	51
3.1. ANALISI DELLA RISPOSTA ANTICORPALE POST VACCINAZIONE .....	51
3.2. ANALISI DELL'ANDAMENTO CLINICO DELL'INFEZIONE DA SARS-CoV-2 .....	52
3.3. STATISTICA.....	53
<b>4. RISULTATI</b> .....	54
4.1 ANALISI DELLA RISPOSTA ANTICORPALE POST VACCINAZIONE .....	54
4.1.1 Dati demografici e clinici.....	54
4.1.2. Risultati dell'analisi sierologica.....	56
4.1.3. Confronto con controlli sani .....	69
4.2 ANALISI DELL'ANDAMENTO CLINICO DELL'INFEZIONE DA SARS-CoV-2 .....	79

4.2.1 Dati demografici e clinici.....	79
4.2.2 Dati associati all'infezione da SARS-CoV-2.....	81
<b>5. DISCUSSIONE</b> .....	<b>85</b>
<b>6. CONCLUSIONI</b> .....	<b>88</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	<b>89</b>





## RIASSUNTO

**Premesse:** Le malattie autoinfiammatorie sistemiche (MAIS) sono patologie rare, eterogenee, che originano da alterazioni dei meccanismi dell'immunità prevalentemente innata, con conseguente eccessiva produzione di citochine pro-infiammatorie. La terapia, volta al controllo della sintomatologia e della flogosi, si basa sull'utilizzo di farmaci quali colchicina, corticosteroidi e farmaci biologici come gli inibitori di IL-1 e IL-6.

Il COVID-19 è una malattia respiratoria acuta causata dal virus SARS-CoV-2, appartenente alla famiglia dei Coronaviridae. Nelle fasi severe, la malattia da SARS-CoV-2 può portare ad uno stato di iper-infiammazione sistemica incontrollata, similmente a quanto può accadere in alcune malattie reumatologiche quando vanno incontro a riesacerbazione. Per tale motivo, diverse terapie anti-reumatiche, in particolar modo i farmaci inibitori di IL-1 (anakinra), sono stati utilizzati con successo nel trattamento delle forme severe di COVID-19, caratterizzate dalla cosiddetta "tempesta citochinica".

**Scopo dello studio:** Valutare se la risposta anticorpale alla vaccinazione anti SARS-CoV-2 nei pazienti affetti da malattie autoinfiammatorie in trattamento sia diminuita rispetto alla popolazione sana. È stato inoltre indagato il grado di protezione, nei confronti dell'infezione e delle sue complicanze, raggiunto nei pazienti trattati con anti-IL1 e colchicina rispetto ai soggetti non trattati. Scopo secondario dello studio è stato quello di valutare l'andamento dell'infezione da SARS-CoV-2 in un gruppo di soggetti affetti da malattia autoinfiammatoria.

**Materiali e metodi:** Sono stati reclutati 43 pazienti affetti da MAIS, seguiti presso l'Ambulatorio Malattie Autoinfiammatorie dell'UOC di Reumatologia dell'Az. Ospedale-Università di Padova. La risposta sierologica post vaccinazione anti-SARS-CoV-2 è stata misurata tramite test CLIA MAGLUMI™ 2000 Plus dopo le prime due dosi di vaccino (T3), a sei mesi dalle prime due dosi (T6) e dopo la dose booster (T9). In maniera analoga è stata valutata la risposta anticorpale in 55 soggetti sani. In quattordici pazienti MAIS che hanno contratto il SARS-CoV-2 tra marzo 2020 ed agosto 2022, è stato infine valutato il decorso e l'outcome dell'infezione. Il software *GraphPad Prism 9* è stato utilizzato per l'analisi statistica.

**Risultati:** Tutti i soggetti sottoposti a vaccinazione anti-COVID-19 (43) hanno sviluppato adeguata risposta anticorpale. Non è stata riscontrata una differenza significativa tra il valore medio del titolo anticorpale sviluppato dai pazienti in terapia con inibitori dell'IL-1 in confronto al gruppo dei non trattati ( $p = 0.3112$ ). La differenza tra il valore medio del titolo anticorpale sviluppato dai pazienti affetti da MAIS rispetto a quello della popolazione sana è risultato anch'esso non significativo ( $p = 0.1296$ ) dopo ciascuna determinazione anticorpale (T3, T6, T9). Per quanto riguarda l'andamento clinico, i pazienti che hanno contratto COVID-19 hanno avuto un decorso benigno dell'infezione e senza presentare riacutizzazione della malattia di base. In particolare, i pazienti in terapia con anti-IL-1 hanno manifestato sintomi di intensità minore rispetto a quelli non in terapia. Analogamente, i pazienti che hanno contratto l'infezione dopo aver effettuato la vaccinazione hanno presentato sintomi più lievi rispetto ai soggetti che hanno contratto il COVID-19 prima della vaccinazione.

**Conclusioni:** I pazienti affetti da MAIS sviluppano un'adeguata risposta anticorpale a seguito di vaccinazione anti-SARS-CoV-2. Nei pazienti, il trattamento con inibitori di IL-1 e con colchicina non riduce i livelli anticorpali, i quali risultano paragonabili a quelli della popolazione sana dopo le prime due dosi di vaccino, a sei mesi dalle prime due dosi e dopo la dose booster. Inoltre, i pazienti trattati con inibitori di IL-1, che hanno contratto l'infezione da COVID-19, hanno presentato sintomi più lievi rispetto ai non trattati. Nonostante la bassa numerosità campionaria possiamo ipotizzare che i farmaci inibitori di IL-1 e la colchicina possano avere un ruolo "protettivo" nel prevenire l'iper-infiammazione e le conseguenze più severe dell'infezione.

## ABSTRACT

**Background:** Systemic autoinflammatory diseases (SAIDs) are rare, heterogeneous diseases that originate from an imbalance of the innate immunity, resulting in an excessive production of pro-inflammatory cytokines. The main therapies employed for the control of symptoms and the inflammation typical of SAIDs, are mainly based on the use of drugs such as colchicine, corticosteroids and biological drugs such as IL-1 and IL-6 inhibitors.

COVID-19 is an infectious disorder caused by SARS-CoV-2 virus. In severe COVID-19 cases, the pathology can exacerbate leading to an uncontrolled delivery of pro-inflammatory cytokines. The hyperinflammation observed in COVID-19 may be also a frequent feature of exacerbated SAIDs. That is the reason why anti-rheumatic drugs, in particular the IL-1 inhibitors were successfully employed for the treatment of severe COVID-19.

**Aim of the study:** The aim of this study is to evaluate the antibody response to SARS-CoV-2 vaccination in SAID-treated patients. We also investigated the degree of protection, against infection and its complications, achieved in treated patients compared to those untreated. The second aim is to investigate the clinical course and outcome of SAID subjects who had COVID-19 infection during the last two years.

**Patients and methods:** Forty-three patients affected with SAIDs, in regular follow-up at the Autoinflammatory Diseases Outpatient Clinic of the University-Hospital of Padua, were enrolled. The serological response following the anti-SARS-CoV-2 vaccination was evaluated by using the CLIA MAGLUMI™ 2000 Plus test after the first two doses of vaccine (T3), six months after the first two doses (T6) and after the booster dose (T9). Fourteen of these patients contracted SARS-CoV-2 infection between march 2020 and august 2022.

**Results:** All the subjects receiving COVID-19 vaccination developed an adequate antibody response. No significant difference between the mean value of the antibody titer developed by patients receiving IL-1 inhibitors compared to those not treated was observed ( $p = 0.3112$ ). No significant difference between the mean value of the antibody titer developed by patients with MAIS compared to healthy controls was observed ( $p = 0.1296$ ). This occurred after the first two vaccine doses (T3), six months after the first two doses (T6) and after the booster dose (T6). As

for the clinical course, patients who contracted COVID-19 had a benign course and outcome without experiencing exacerbation of the underlying disease. Patients receiving IL-1 inhibitors reported fewer symptoms related to the infection than those not receiving this treatment. Similarly, patients who contracted the infection after vaccination had fewer symptoms than those who contracted it before.

**Conclusions:** Patients with SAIDs developed an adequate antibody response following anti-SARS-CoV-2 vaccination. Treatment with IL-1 inhibitors does not reduce the antibody production, whose levels are comparable to the healthy subjects after the first two doses of the vaccine, six months after the first two doses and after the booster dose. Patients treated with IL-1 inhibitors had milder symptoms than untreated patients, both before and after vaccination; based on our results, it can be assumed that blockers of IL-1 axis may present a protective role, by preventing the pro-inflammatory cytokine release and thus avoiding the clinical consequences related to the hyperinflammation elicited by the virus.

# 1. INTRODUZIONE

## 1.1 LE MALATTIE AUTOINFIAMMATORIE

### 1.1.1 Definizione e cenni storici

Le malattie auto-infiammatorie sistemiche (MAIS) sono patologie di recente identificazione, caratterizzate da episodi di infiammazione apparentemente spontanea che originano da alterazioni dei meccanismi dell'immunità innata. Il campo delle MAIS è un ambito di nuovo inquadramento ed in rapida espansione. La stessa definizione di "malattia autoinfiammatoria" è stata proposta per la prima volta nel 1999 da *Mc Dermott et al* in un articolo su *Cell* (1) nel quale si rendeva nota l'identificazione della mutazione genetica alla base della TRAPS (TNFRS1A-Receptor Associated Periodic Syndrome). Questa era una patologia clinicamente nota, la cui eziologia, però, non era stata ancora definita fino a quel momento. La mutazione in questione era una mutazione missenso ad ereditarietà autosomica dominante per il recettore 1 del TNF (TNFRSF1A). I pazienti che la presentavano manifestavano episodi febbrili prolungati e gravi fenomeni di infiammazione locale, associati a periodi di remissione della sintomatologia.

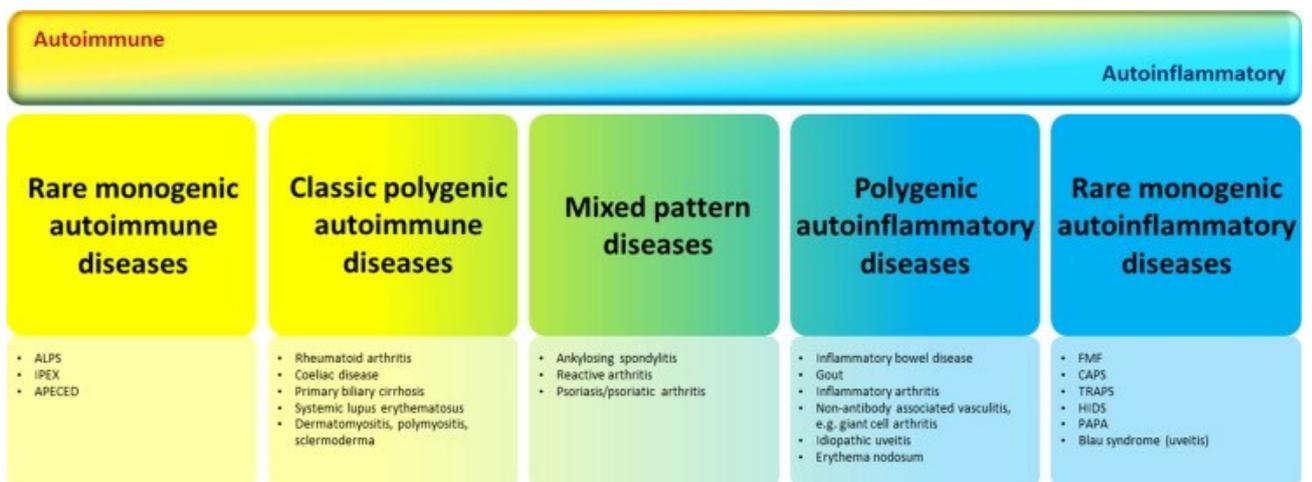
Le prime quattro patologie auto-infiammatorie storicamente descritte furono la Febbre Mediterranea Familiare (FMF), la sindrome TRAPS, il deficit di Mevalonato Chinasi (MVK) e la sindrome CAPS (Cryopirin-Associated Periodic Fever Syndrome) (2).

Nella definizione di MAIS rientrano, quindi, tutti i soggetti che presentano inspiegabili episodi febbrili ricorrenti, associati ad un rialzo dei biomarcatori infiammatori nel sangue. Non vi sono, inoltre, alterazioni dell'immunità acquisita e presenza di linfociti T auto-reattivi od eventuali auto-anticorpi (3).

Similmente alle malattie autoimmuni, anche le MAIS hanno una base patologica che coinvolge l'immunità. Tuttavia, nelle prime entra in gioco il compartimento dell'immunità adattativa; nel caso delle seconde, invece, i meccanismi alla base fanno riferimento ai principi dell'immunità innata, deputata al controllo della prima risposta di tipo infiammatorio contro gli stimoli di danno. Non è da escludere, però, che vi siano dei punti di contatto (4) tra i due tipi di immunità. È la stessa immunità innata, per esempio, a stimolare l'attivazione di quella adattativa tramite la

produzione di varie citochine, dell'interleuchina 1 $\beta$  e delle cellule APC (presentanti l'antigene). Queste ultime, infatti, vanno ad attivare la produzione di linfociti T e B.

Negli ultimi anni è stato proposto uno spettro continuo di patologie che vedono coinvolti in modo diverso meccanismi dell'immunità adattativa e dell'immunità innata. (5) Ad un estremo, troviamo le patologie autoimmuni monogeniche legate ad alterazioni di singoli geni dell'immunità adattativa; all'altro, le patologie autoinfiammatorie monogeniche legate a mutazioni dei singoli geni dell'immunità innata. Nel mezzo, si collocano patologie provocate da diversi fattori o poligeniche, alcune più correlate a meccanismi dell'immunità innata, altre a quelli dell'immunità adattativa (*Fig. 1*). (6)



**Figura 1.** Spettro continuo di patologie legate a meccanismi immunitari, con esempi (6)

### 1.1.2 Eziopatogenesi e classificazione

Alla base di queste patologie si riconoscono complessi meccanismi intracellulari che riguardano il compartimento dell'immunità innata. Questi meccanismi sono implicati nel riconoscimento di segnali potenzialmente dannosi provenienti sia dall'ambiente esterno, i cosiddetti PAMPs (*Pathogen Associated Molecular Patterns*), sia dall'ambiente interno, i DAMPs (*Damage Associated Molecular Patterns*). I PAMPs sono solitamente batteri e virus, mentre i DAMPs sono sostanze prodotte dal nostro organismo da cellule andate incontro ad apoptosi o necroptosi come ATP, ROS, DNA, RNA ed acido urico.

I microrganismi patogeni vengono riconosciuti dall'immunità innata grazie a molecole recettoriali dette *Pattern Recognition Receptors (PRRs)* presenti in numero limitato e associati a pattern molecolari differenti. I PRR possono essere solubili e quindi rilasciati nell'ambiente extra-cellulare (C3, collectine e pentraxine), associati alla membrana plasmatica di una cellula dendritica, di un macrofago di un linfocita B (Toll-Like Receptors, recettori per i peptidi formilati e recettori lectinici) oppure ancora possono essere intracellulari (Nod-Like Receptors e Pirina). (7)

Il recettore PRR determina l'attivazione di piattaforme molecolari che danno l'avvio ad una risposta infiammatoria finalizzata a fronteggiare lo stimolo dannoso. A svolgere un ruolo centrale in questi processi è proprio una di queste piattaforme molecolari: l'inflammasoma.

L'inflammasoma è un complesso molecolare eptamerico presente nel citoplasma delle cellule coinvolte nell'immunità innata, costituito a sua volta da 7 monomeri. Ciascuno di questi è composto da diversi elementi:

- un recettore NLRP (NOD-like receptor con dominio effettore di tipo Pypin) che ha la funzione di riconoscere strutture esogene (PAMPs), strutture endogene (DAMPs) e sostanze cristalline esogene o endogene, come i cristalli di urato monosodico coinvolti nella patogenesi della gotta.
- una proteina adattatrice ASC, che da un lato contiene un dominio Pypin con cui riconosce il dominio Pypin di NLRP e dall'altro un dominio CARD (*dominio di attivazione e reclutamento delle caspasi*).

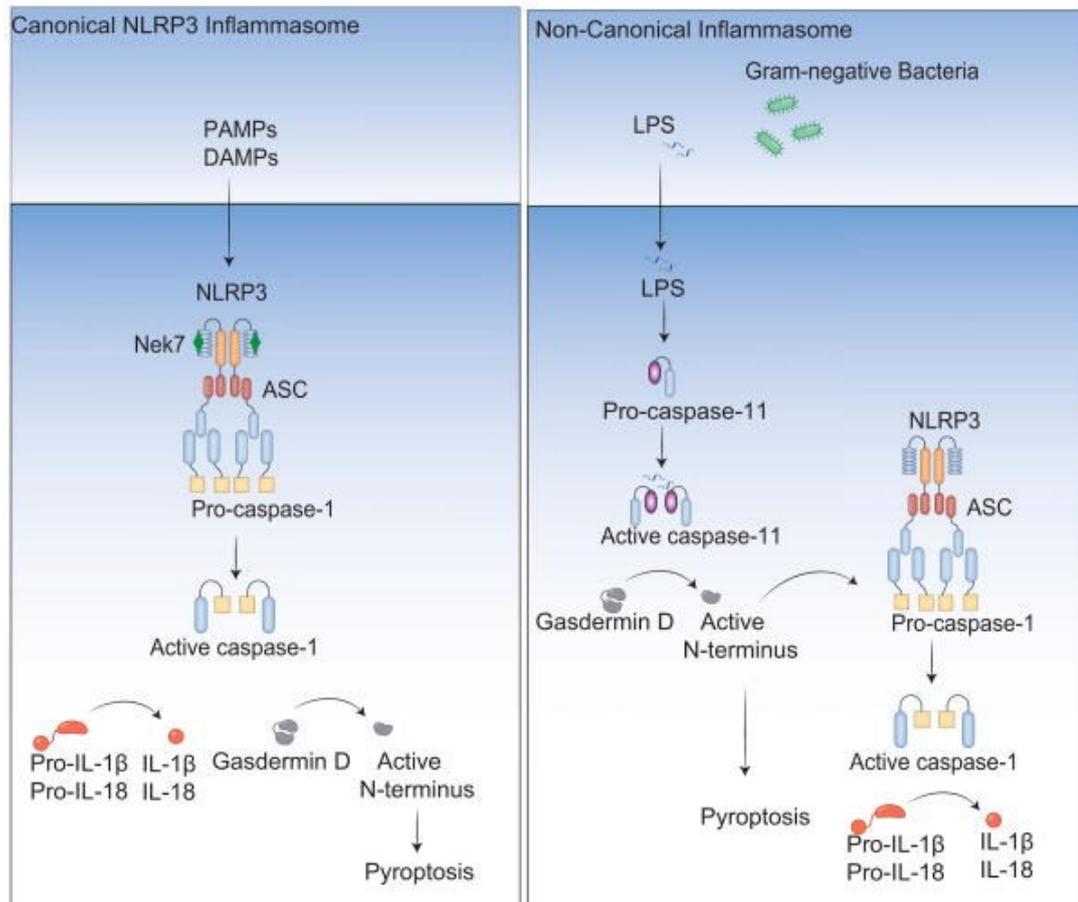
- la pro-caspasi 1, terzo ed ultimo componente e precursore della caspasi-1. Viene reclutata dalla proteina adattatrice ASC.

A seconda del tipo di NLRP contenuta in questo complesso macromolecolare esistono diversi tipi di inflammasoma. Ad esempio, l'inflammasoma di tipo 1 presenta una proteina NLRP1 con un dominio CARD al C-terminale atipico, tramite il quale recluta le caspasi. Questo complesso riconosce principalmente PAMPs.

L'inflammasoma di tipo 3 (NALP3) è quello coinvolto nelle malattie autoinfiammatorie. Questa tipologia di inflammasoma è formata da NLRP3 che non possiedono il dominio CARD per cui reclutano le caspasi tramite la proteina adattatrice ASC.

I segnali attivatori per questo inflammasoma sono molteplici: l'efflusso di ioni potassio, la rottura dei lisosomi, la fagocitosi di cristalli di alluminio o l'alterazione dell'omeostasi del calcio. A differenza dell'inflammasoma di tipo 1, NALP3 riconosce principalmente DAMPs. (8)

In seguito al legame con il ligando specifico i recettori NLRP oligomerizzano grazie al reclutamento della proteina adattatrice ASC. Una volta oligomerizzati la proteina ASC permette di reclutare la pro-caspasi-1 che si attiva a caspasi-1. Quest'ultima effettua la trasformazione dei precursori di IL-1 $\beta$  e IL-18 nella loro forma attiva. IL-1 e IL-18 vengono poi liberate all'esterno, dove medieranno gli step successivi del processo infiammatorio. IL-1 è considerata la citochina "chiave" della risposta infiammatoria perché è quella che dà origine alle manifestazioni cliniche delle patologie. (9)



**Figura 2.** Meccanismi di attivazione dell'inflammasoma NLRP3 (9)

Svolta la sua funzione, l'Inflammasoma di tipo 3 va incontro ad un particolare tipo di morte cellulare chiamata piroptosi, che si associa all'infiammazione caspasi-1 mediata. Dall'Inflammasoma viene tagliata una proteina chiamata Gasdermina-D che polimerizza e poi si inserisce all'interno della membrana plasmatica. Qui forma un poro che permette l'uscita di IL-1. La piroptosi è un tipo di morte simile alla necroptosi: a livello istologico è simile alla necrosi colliquativa, con la cellula che “esplode” all'esterno liberando i suoi componenti intracellulari. Al contrario della necrosi, però, non è una morte passiva, ma mediata da una serie di segnali intracellulari, legati alla forte infiammazione ed alla conseguente attivazione massiva dei NLRP (11).

Un altro tipo di Inflammasoma coinvolto nella patogenesi delle malattie autoinfiammatorie è quello mediato dalla Pirina. La Pirina fa parte della famiglia di proteine antivirali TRIM e viene espressa nei granulociti, nei monociti, nelle cellule

dendritiche e nei fibroblasti sinoviali. La Pirina regola l'attivazione della caspasi-1 e la conseguente attivazione di IL-1 $\beta$  attraverso l'interazione tra il suo dominio N-terminale PYRIN ed il suo dominio C-terminale B30.2 rispettivamente con una proteina adattatrice ASC e con la caspasi-1. (12) Normalmente la Pirina si trova in uno stato inattivo e viene mantenuta tale dalle chinasi PNK1/2 che la fosforilano su due residui di serina. Le chinasi PNK1/2 funzionano grazie all'azione della RhoA GTPasi: una volta che quest'ultima viene inattivata si ha una defosforilazione dei residui di serina e la Pirina è libera di svolgere la sua azione pro-infiammatoria. A differenza dei pathways già descritti, non vi è un riconoscimento diretto tra PRR e PAMPs/DAMPs. In questo caso le tossine responsabili dell'attivazione di questa piattaforma molecolare, come la citotossina TcdB del *Clostridium Difficile*, agiscono mediando l'inattivazione della RhoA GTPasi, alla quale solo in un secondo momento seguirà la defosforilazione e la conseguente liberazione della Pirina. (13)

Tutti i meccanismi che sono stati finora descritti risultano disregolati nei pazienti con malattie autoinfiammatorie. Questi ultimi, infatti, presentano spesso un'eccessiva attivazione del sistema immunitario, che esita in danno cellulare e provoca lo spettro sintomatologico caratterizzato da periodi di riacutizzazione alternati a periodi di remissione dell'infiammazione.

### **Patogenesi**

La patogenesi delle malattie autoinfiammatorie può essere associata a mutazioni genetiche di uno o più geni che regolano i meccanismi dell'immunità innata. Anche se coinvolgono diversi tipi di proteine, la maggior parte delle mutazioni converge in un meccanismo che porta ad un aumento della produzione e del rilascio di IL-1 $\beta$ .

La prima mutazione scoperta fu quella a carico del gene MEFV nel 1997 che codifica per una proteina nota come Pirina, espressa esclusivamente nelle cellule mieloidi e monociti, ed in grado di down-regolare il sistema infiammatorio. Nel momento in cui essa viene a mancare, come nei pazienti affetti da Febbre Mediterranea Familiare, si ha una iper-attivazione del sistema immunitario innato, con produzione massiccia delle citochine IL-1 $\beta$  e IL-18. (14)

Un'altra mutazione scoperta successivamente fu quella del recettore di TNF (TNFR1), nel 1999, causa della Sindrome Periodica Associata al Recettore 1 del TNF (TRAPS). A questa ne seguirono poi molte altre, tra cui quella dell'enzima mevalonato chinasi (MVK), la PSTP1P1 e NLRP3; rispettivamente associate al deficit di mevalonato chinasi, alla sindrome PAPA ed alle Criopirinopatie. Generalmente queste mutazioni si associano ad un esordio precoce, già in epoca neonatale o infantile. Molte di queste patologie, infatti, vengono studiate principalmente in ambito pediatrico.

Esistono anche le cosiddette forme poligeniche o a bassa penetranza, in cui vi sono tutte le caratteristiche cliniche di malattia autoinfiammatoria ma non si hanno familiarità o evidenti alterazioni genetiche.

Solitamente esse danno le prime manifestazioni in età adulta e/o si associano ad una sintomatologia più lieve. Tra queste troviamo il Morbo di Still dell'Adulto (AOSD), il Morbo di Behçet, l'Artrite Idiopatica Giovanile ad esordio sistemico (soJIA), la Sindrome di Schnitzler e la Sindrome PFAPA. Queste patologie sono tutte accomunate dal fatto di non avere ancora una precisa eziologia nota.

Negli ultimi tempi stanno emergendo sempre di più le forme indifferenziate, ovvero quadri patologici con clinica suggestiva per patologia auto-infiammatoria (febbre ricorrente, indici di flogosi elevati, sierositi, artriti), ma senza evidenza genetica. Inoltre rispondono bene ai farmaci impiegati per il trattamento delle malattie autoinfiammatorie come colchicina, steroidi o inibitori di IL-1. Ad oggi, si stima che circa il 60% dei soggetti che presentano sintomatologia tipica delle MAIS non presenta una rispettiva mutazione genetica ascrivibile ad una patologia già nota.

Le malattie autoinfiammatorie sono patologie a carattere genetico, soprattutto monogeniche. Per questo motivo ci si aspetterebbe una comparsa precoce dei sintomi in epoca neonatale o infantile, tuttavia, le MAIS non sono patologie di esclusivo interesse pediatrico. I pazienti adulti possono essere pazienti pediatrici cresciuti con una mancata o non corretta diagnosi; soggetti che presentano mutazioni a bassa penetranza che hanno necessità di più fattori ambientali per potersi manifestare; oppure soggetti con mutazioni di tipo post-zigotico che danno quadri di mosaicism.

Negli adulti possiamo trovare, quindi, mosaicism, forme poligeniche, forme indifferenziate, mutazioni a bassa penetranza e ritardo diagnostico.

## Classificazione

Non esiste ancora una classificazione univoca e condivisa delle malattie autoinfiammatorie. Una delle prime classificazioni proposte fu quella basata sulle manifestazioni cliniche, per cui possiamo distinguere quattro diversi gruppi di patologie (*vedi Fig. 3*) (15).

Tab. 1. Le malattie autoinfiammatorie.				
	Malattia	Gene cromosoma	Proteina	Trasmissione
Febbri periodiche	Febbre Mediaterranea Familiare (FMF)	MEVF 16p13.3	Pirina	Autosomica recessiva
	Deficit di mevalonato chinasi (MKD) (o sindrome da Iper IgD)	MVK 12q24	Mevalonato chinasi	Autosomica recessiva
	TNF receptor associated periodic syndrome (TRAPS)	TNFRSF1A 12p13	Recettore p55 del TNF	Autosomica dominante
Malattie legate alla famiglia NLRP	CINCA, MWS, FCAS	NLRP3/CIAS1 1q44	Criopirina	Autosomica dominante
	FCAS2	NLRP12	NLRP12	Autosomica dominante
Malattie granulomatose	Sindrome di Blau	CARD15/NOD2 16q12	CARD15	Autosomica dominante
Disordini piogenici	Sindrome PAPA	PSTPIP1 15q24-q25.1	PSTPIP1	Autosomica dominante
	Sindrome DIRA	IL1RN 2q	Antagonista del recettore dell'IL1	Autosomica recessiva
	Sindrome di Majeed	LPIN2 18p	LPIN2	Autosomica recessiva

Figura 3. Prima classificazione delle MAIS basata sulla clinica (15)

- Febbri periodiche (FMF, MDK, TRAPS): caratterizzate da attacchi febbrili acuti, improvvisi ed apparentemente spontanei, elevazione degli indici di flogosi e manifestazioni cutanee (rash).
- Criopirinopatie (CINCA, MWS, FCAS): quadri clinici caratterizzati da flogosi sistemica, cronica o ricorrente, che si manifesta con febbre ed altre manifestazioni cliniche variabili a seconda della gravità del quadro. Peculiarità di queste forme è il rash orticarioide non pruriginoso.
- Sindromi granulomatose (S. di Blau): caratterizzate da un infiltrato infiammatorio di tipo granulomatoso che coinvolge cute, articolazioni ed occhio.
- Sindromi piogeniche (PAPA, DIRA, S. Majeed): disturbi ereditari caratterizzati da ascessi sterili piogenici che coinvolgono principalmente la cute, le articolazioni e le ossa.

Grazie all'aiuto delle moderne tecnologie genetiche un numero sempre più elevato di patologie con precedenti meccanismi patogenetici sconosciuti è stato scoperto

negli ultimi anni. Per questo motivo si è anche potuta proporre una nuova suddivisione su base molecolare/immunologica. (16)

Secondo questa classificazione le principali famiglie di patologie autoinfiammatorie si dividono in: Inflammasomopatie/Patologie IL-1 dipendenti, Interferonopatie, Patologie riguardanti il pathway NFκB/TNF ed infine autoinfiammazione mediata da altri meccanismi (17).

	Mechanism	Disease	Gene	Inheritance	Clinical presentation	Targeted therapy
Inflammasomopathies and other IL-1 family conditions	Pyrin activation	FMF	<i>MEFV</i>	AR or AD	fever, pain, (abdominal, chest, joint), rash	IL-1, colch.
		PAAND	<i>MEFV</i>	AD	fever, myalgia, myositis, rash, abscesses	IL-1, colch.
		MKD	<i>MVK</i>	AR	fever, pain (abdominal, extremity), vomiting, rash	IL-1
		PAPA	<i>PSTPIP1</i>	AD	pyoderma gangrenosum, arthritis	IL-1, TNF
		Hz/Hc <sup>12</sup>	<i>PSTPIP1</i>	AD	rash, FTT, hepatosplenomegaly, neutropenia	IL-1, TNF
		PFIT <sup>13</sup>	<i>WDR1</i>	AR	fever, infection, oral inflammation, perianal ulceration	IL-18
	Cryopyrin activation	FCAS	<i>NLRP3</i>	AD	cold urticaria, extremity pain, conjunctivitis, fever	IL-1
		MWS	<i>NLRP3</i>	AD	urticarial rash, extremity pain, hearing loss, conjunctivitis, fever	IL-1
		NOMID	<i>NLRP3</i>	AD	CNS inflammation, urticaria, knee arthropathy, fever	IL-1
		Majeed's <sup>14</sup>	<i>LPIN2</i>	AR	osteomyelitis, fevers, rash, dyserythropoietic anemia	IL-1
	NLRP4 activation	AIFEC	<i>NLRP4</i>	AD	enterocolitis, rash, arthritis, fever	IL-1, IL-18
		FCAS/ NOMID	<i>NLRP4</i>	AD	cold urticaria, extremity pain, fever, CNS disease	IL-1
	NLRP12 activation	FCAS	<i>NLRP12</i>	AD	cold urticaria, extremity pain, fever	TNF, IL-1
	NLRP1 activation	NAIAD <sup>15</sup>	<i>NLRP1</i>	AD	Ocular, laryngeal, skin dyskeratosis, fever, arthritis	IL-1, TNF
Receptor antagonist deficiency	DIRA	<i>IL1RN</i>	AR	pustular rash, osteomyelitis, periostitis, fever,	IL-1	
	DITRA	<i>IL36RN</i>	AR	pustular psoriasis, fever, malaise	TNF, IL-17/12/23?	
Type I interferonopathies	Nucleic acid processing and degradation	Aicardi-Goutières syndrome	<i>TREX1, ADAR1, RNASEH2A/B/C, SAMHD1, IFIH1</i>	AR (AD: <i>IFIH1</i> )	fever, neurologic decline, encephalopathy, cerebral calcification, chilblains, autoantibodies	JAK, RTI?
		monogenic SLE	<i>DNASE1/2/1L3, complements</i>	AR (AD: <i>DNASE1</i> )	autoantibodies, cytopenias, glomerulonephritis, skin rash, oral ulcers, arthritis	JAK?
	Nucleic acid sensing	SMS	<i>IFIH1, DDX58a</i>	AD	calcification of aorta / cardiac valves, osteopenia, acro-osteolysis, dental anomalies	JAK?
		SAVI	<i>TMEM137</i>	AD	Chilblain's rash, small vessel vasculitis, arthritis, ILD	JAK
	Proteasome	CANDLE / PRAAS, PRAID <sup>16</sup>	<i>PSMB4, PSMA3, PSMB8, POMP, PSMG2, PSMB9, PSMB10</i>	Digenic, AR (AD: POMP)	fever, joint contractures, annular plaques, eyelid swelling, hepatosplenomegaly, lipodystrophy, FTT, developmental delay, anemia	JAK
	IFN signaling	AGS-like	<i>USP18, ISG15, STAT2</i>	AR	skin ulcerations, seizures, hydrocephalus, cerebral calcifications, respiratory failure	JAK
other	SPENCD <sup>17</sup>	<i>ACP5</i>	AR	skeletal dysplasia, short stature, cerebral calcification, cytopenias, autoantibodies	?	
NF-κB and/or aberrant TNF activity	dysregulation of NFκB signaling	HA20	<i>TNFAIP3</i>	AD	oral, gastrointestinal and genital ulcerations, fever, arthritis, recurrent infection	TNF, IL-1, JAK?
		RELA haploinsuf. <sup>18</sup>	<i>RELA</i>	AD	oral and gastrointestinal ulcerations, cytopenias, lymphoproliferative disease	TNF
		ORAS	<i>OTULIN</i>	AR	fever, panniculitis, diarrhea, arthritis, FTT	TNF
		LUBAC deficiency <sup>19,20</sup>	<i>HOIL1, HOIP</i>	AR	fever, recurrent infection, FTT, hepatosplenomegaly, amylopectin-like deposits in muscles	TNF?
	Dysregulation of TNF	Blau	<i>NOD2</i>	AD	granulomatous dermatitis, uveitis, polyarticular arthritis	TNF
		TRAPS	<i>TNFRSF1A</i>	AD	episodic fever, abdominal pain, headache, conjunctivitis, painful centrifugal rash	IL-1, TNF
		DADA2	<i>ADA2</i>	AR	systemic vasculitis, fever, rash, stroke, cytopenias, hypogammaglobulinemia	TNF, HSCT
		CRIA <sup>21,22</sup>	<i>RIPK1</i>	AD	fever, lymphadenopathy, hepatosplenomegaly	IL-6?

Figura 4. Classificazione molecolare/immunologica delle MAIS (18)

Le Inflammammasomopatie sono patologie alla cui base vi sono mutazioni delle proteine dell'Inflammasoma o in generale delle proteine che regolano il pathway che porta alla produzione di IL-1 $\beta$ , provocando una iper-attivazione della risposta infiammatoria.

Esse sono:

- Febbre Mediterranea Familiare (FMF): mutazione missenso a carico del gene MEFV, codificante per la Pirina/Marenostina e localizzato sul braccio corto del cromosoma 16. Questa proteina è implicata nell'attivazione dell'inflammasoma NLRP3. Generalmente la FMF è a trasmissione autosomica recessiva, tuttavia vari studi descrivono anche l'esistenza di forme autosomiche dominanti a penetranza incompleta di cui risulterebbero affetti circa il 30% dei pazienti (18). Nella patogenesi della FMF è coinvolto soprattutto l'esone 10 ed in misura minore anche gli esoni 2, 3, 5. Le diverse mutazioni a carico dello stesso gene possono dare fenotipi clinici molto diversi. Ad esempio, la mutazione R202Q si associa ad un quadro molto più lieve di malattia, con episodi più brevi, meno intensi, intervallati da periodi maggiori di remissione e con minor rischio di sviluppare complicanze quali l'amiloidosi. In queste forme non è tanto importante il ruolo della componente genetica, quanto quello dei trigger ambientali nello scatenamento degli attacchi.
- Deficit di Mevalonato Chinasi (MVK) o Sindrome da iper-IgD: mutazione loss of function del gene v3771, localizzato sul braccio corto del cromosoma 12 ed implicato nella produzione di Mevalonato Chinasi (MVK), enzima chiave nella sintesi del colesterolo e degli isoprenoidi. In queste patologie si ha un accumulo di acido mevalonico ed una conseguente riduzione degli isoprenoidi come il geranil-geranil pirofosfato. Quest ultimo è un elemento chiave nel processo di produzione di proteine inibitrici dell'inflammasoma Pirina, in particolare del fattore RhoA (18). Una sua disregolazione porta quindi ad una iper-attivazione della cascata infiammatoria. Esistono vari tipi di mutazioni del gene MVK che si associano ad una differente gravità clinica. Esiste un gruppo di mutazioni monogeniche che riducono in maniera drastica l'attività del gene, provocando aciduria mevalonica, una forma gravissima della patologia che è incompatibile con la vita.

- **Sindrome di PAPA:** artrite sterile piogenica associata ad acne e pioderma gangrenoso a trasmissione autosomica dominante, legata alla mutazione del gene PSTPIP 1 che codifica per la CD2-binding protein 1. Quest'ultima è una proteina che si lega alla Pirina e ne promuove l'attività.
- **Sindromi Periodiche Associate alla Criopirina (CAPS)/Criopirinopatie:** patologie caratterizzate da uno spettro di mutazioni somatiche gain-of-function e mutazioni della linea germinale eterozigote del gene NLRP3/CIAS1. Quest'ultimo è localizzato a livello dell'esone 3 e codifica per la Criopirina, proteina che ha un ruolo chiave all'interno dell'Inflammosoma e nell'attivazione da pro-caspasi 1 in caspasi-1, con conseguente rilascio di IL-1 $\beta$ . In base al tipo specifico di mutazione si riconoscono tre forme diverse, elencate in ordine crescente rispetto al grado di severità clinica:
  - **Orticaria familiare da freddo (FACS):** forma a prognosi benigna caratterizzata da episodi di rash orticarioide non pruriginoso accompagnato da febbre elevata di breve durata, con risoluzione entro le 24 ore.
  - **Sindrome di Muckle2-Wells (MKW):** forma intermedia con clinica ascrivibile a quella della FACS ma con possibilità di avere delle complicanze tardive quali la sordità neurosensoriale e l'amiloidosi AA.
  - **Chronic Infantile Neurological Cutaneous and Articular Syndrome (CINCA):** forma molto grave che insorge in età neonatale e che comporta disturbi articolari e neurologici compromettenti lo sviluppo del bambino, come ipertensione endocranica ed encefalite marcata sin dai primi giorni di vita, artropatia cronica con conseguenti erosioni ossee e dismorfismo tipico del volto, sovracrescita ossea a livello di ginocchia, mani e piedi.
- **Sindrome DIRA:** patologia autosomica recessiva in cui è mutato il gene UL1RN che codifica per l'antagonista del recettore per IL-1. Nella DIRA viene a mancare l'antagonista del recettore. Esordisce generalmente alla nascita ed è caratterizzata da osteomielite multifocale, periostite e pustolosi, associate ad un persistente aumento degli indici di flogosi.
- **Sindrome DITRA:** patologia autosomica recessiva in cui è mutato il gene IL36RN che codifica per l'antagonista del recettore per IL-36, un inibitore dell'attivazione di NF- $\kappa$ B. IL-36 fa parte della famiglia di IL-1.

Il secondo gruppo di patologie appartenenti alla più recente classificazione sono le patologie determinate dalla disregolazione della via di NFκB/TNF:

- TRAPS (febbre periodica associata al recettore del TNF): patologia autosomica dominante in cui è mutato il gene TNFRSF1A, che codifica per il recettore solubile del tipo 1A del TNFα. Da un punto di vista clinico, a differenza della FMF o della MVK, la durata degli episodi ricorrenti è molto più variabile e con tempi più lunghi. Essi durano almeno una settimana fino ad arrivare a mesi interi di permanenza. Anche l'intervallo tra un episodio e l'altro può andare da pochi giorni ad alcuni mesi. Il quadro clinico di questa patologia è caratterizzato da episodi febbrili ricorrenti, dolore addominale, manifestazioni cutanee (in particolar modo la pseudocellulite), mialgie molto dolorose, artrite ed infine interessamento neurologico, sia periferico che centrale.

Vi sono tre ipotesi alla base della mutazione del recettore del TNF in questa patologia (19):

- Shedding: il recettore è fisiologicamente clivato dalla superficie cellulare, una volta rilasciato dalla cellula funge da scavenger e lega il TNFα in soluzione, neutralizzando quindi il TNFα circolante. Questo shedding potrebbe non avvenire in maniera efficace perché potrebbe esserci un clivaggio errato del recettore.

- Misfolding: le proteine che non hanno assunto la loro conformazione tridimensionale corretta possono accumularsi all'interno del reticolo endoplasmatico. Nel caso del recettore del TNF, questo si accumula nel reticolo sotto forma di oligomeri provocando l'attivazione di una risposta immunitaria cellulare.

- Attivazione costitutiva di NFκB: il recettore mutato trasduce costitutivamente il segnale che va ad attivare NFκB.

Verosimilmente questi tre meccanismi sono tutti attivi e conducono all'aumento di produzione di IL-1β e ad un incremento dell'attività infiammatoria.

- Sindrome di Blau (granulomatosi sistemica familiare giovanile): patologia autosomica dominante con mutazione *gain of function* del gene codificante per il recettore NOD2, che risulta costitutivamente attivo. Gli organi più

colpiti sono la pelle, gli occhi e le articolazioni. A lungo andare questa patologia può portare a cecità e a distruzione delle articolazioni (20).

Proseguendo con la classificazione troviamo le Interferonopatie, patologie alla cui base vi è una eccessiva produzione di interferoni. Gli interferoni (21) sono proteine prodotte naturalmente dalle cellule in risposta a svariati trigger e fanno parte della famiglia delle citochine. Sono molecole che, legandosi a specifici recettori presenti sulla superficie cellulare, permettono la comunicazione a distanza tra le cellule. Sono state identificate tre classi di interferoni:

- IFN $\alpha$  e  $\beta$  (di tipo I): possono essere prodotti da tutti i tipi di cellule e possiedono attività antivirale, capacità di regolazione del sistema immunitario e della crescita e/o del differenziamento cellulare.

- IFN $\gamma$  (di tipo II): prodotto dalle cellule del sistema immunitario, agisce principalmente per combattere infezioni e tumori.

- IFN $\lambda$  (di tipo III): di più recente identificazione, ha funzione simile agli IFN di tipo 1, ma differisce per sequenza amminoacidica e recettori cellulari. Ad oggi, il suo utilizzo non è ancora stato approvato a scopo clinico.

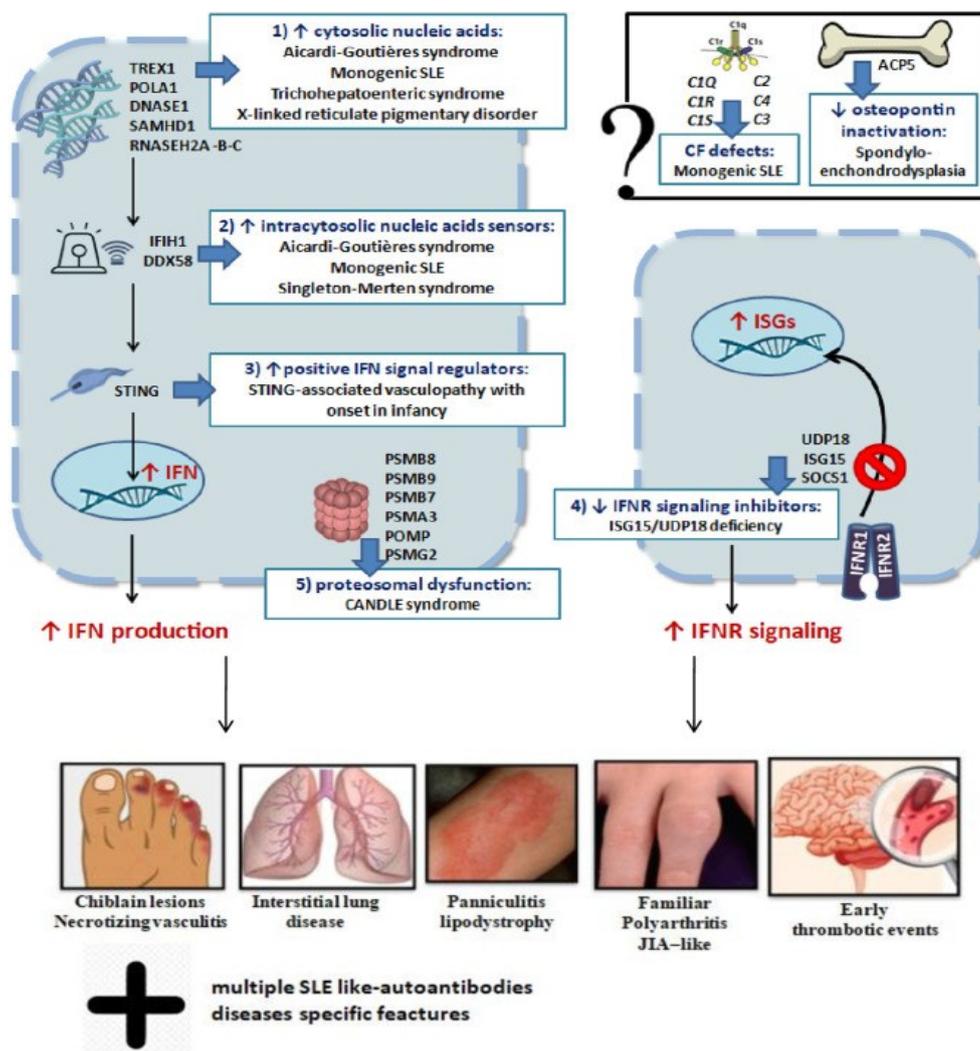


Figura 4. Meccanismi genetici e manifestazioni cliniche principali nelle Interferonopatie (22)

Le Interferonopatie riguardano principalmente gli interferoni di tipo I e sono patologie prevalentemente presenti in età pediatrica. Un esempio è la sindrome di Aicardi-Goutières, dove la mutazione del gene TREX va ad inficiare sulla sintesi di 3'-5' DNA esonucleasi. La malattia si manifesta sin dai primi giorni di vita con ritardo psicomotorio, microcefalia progressiva, problemi alimentari ed irritabilità (22).

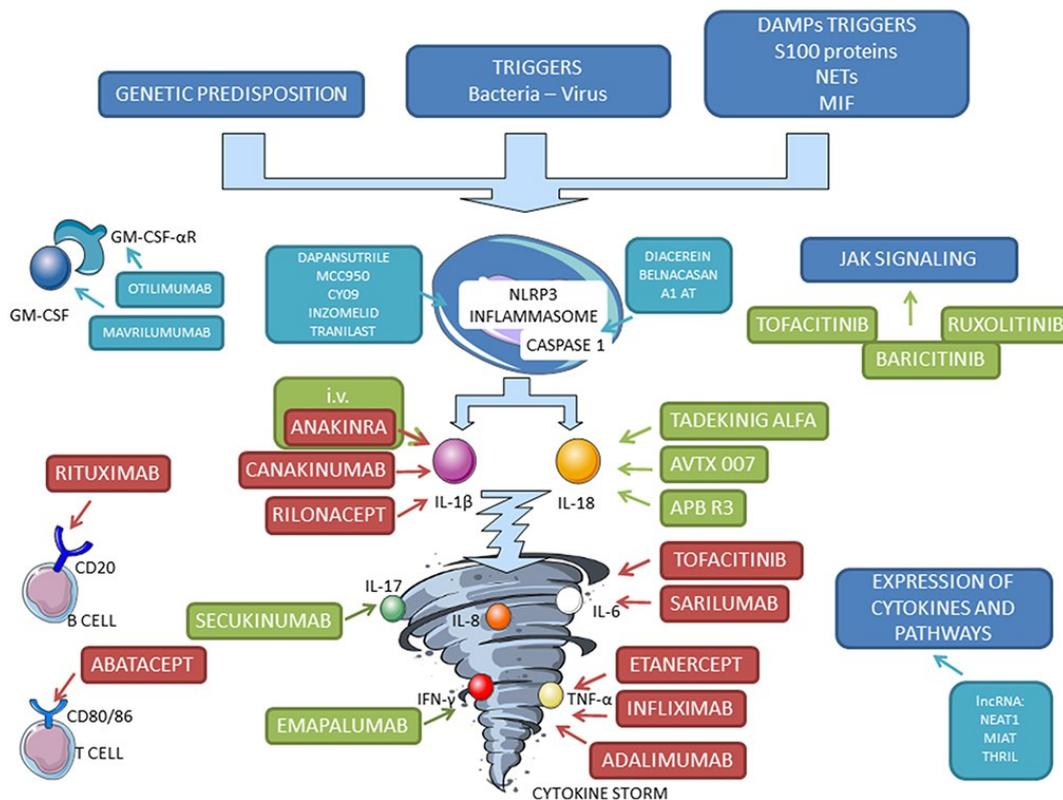
Infine, nell'ultimo gruppo di questa classificazione troviamo un gruppo eterogeneo di patologie legate ad altri tipi di alterazioni del complemento e del signalling citochinico, come l'emoglobinuria parossistica notturna (PNH) e la sindrome uremico emolitica atipica (aHus).

Oltre alle forme ascrivibili ad una determinata patogenesi, vi sono anche le forme indifferenziate, i cui meccanismi molecolari sono ancora in gran parte sconosciuti.

Tra queste ricordiamo:

- Morbo di Behçet: malattia infiammatoria sistemica cronica ad eziologia sconosciuta, le cui manifestazioni più caratteristiche sono l'aftosi orale e genitale ricorrente, l'artrite e l'infiammazione oculare. La patogenesi è ancora sconosciuta, ma ci sono dei fattori ambientali, perlopiù infettivi (in particolare *H. Pylori*, streptococchi e *Mycoplasma*), che possono innescare la malattia in individui geneticamente predisposti. L'ipotesi della predisposizione genetica è sostenuta sia dal fatto che sono maggiormente colpiti individui di un'area geografica ben precisa (Turchia), sia che gli individui con positività per HLA-B51 sono più soggetti a sviluppare questa patologia (23).
- Morbo di Still dell'Adulto (AOSD): patologia caratterizzata da episodi spontanei ricorrenti di febbre molto elevata, artralgie e rash cutaneo. Non è una patologia di facile identificazione perché esistono forme monocicliche, ovvero episodi singoli, che potrebbero essere facilmente interpretati come una manifestazione infettiva. L'eziologia è tuttora sconosciuta, ma pare ci sia una predisposizione genetica con particolari geni HLA e con un polimorfismo a carico di IL-18 (prevalentemente in Giappone).

IL-18 ha verosimilmente un ruolo importante in questa patologia perché ne sono stati evidenziati livelli elevati nelle fasi acute. In particolare, pare che moduli e favorisca, oltre alla cascata infiammatoria, la sindrome da attivazione macrofagica (MAS). La MAS è la complicanza più grave del Morbo di Still. Si tratta di una sorta di tempesta citochinica che vede a monte la produzione di IL-18 ed IL-1 e a valle un'iperproduzione di tantissime citochine responsabili di danni severi come IL-6 e TNF $\alpha$ , legate ad una forma distruttiva che esita in artrite cronica vera e propria. La produzione cronica aberrante di IL-1 favorisce lo sviluppo di una risposta immunitaria adattativa da parte dei linfociti T Helper 17 (Th17). (24) Quindi IL-1 gioca un ruolo dicotomico chiave in questa patologia: da un lato regola l'immunità innata, dall'altro stimola l'immunità adattativa, segnando il passaggio dalla forma sistemica alla forma cronica articolare.



**Figura 5.** Patogenesi del morbo di Still e rispettivi target terapeutici con farmaci associati (24)

- **Sindrome di Schnitzler:** patologia poligenica che viene classificata come criopirinopatia ad esordio tardivo. È tipica dell'adulto e si presenta con rash simil-orticarioide cronico, febbre periodica intermittente, artrite/artromialgie, linfadenopatia, epato/splenomegalia.

Una particolarità che contraddistingue i pazienti affetti da questa sindrome è il fatto di avere una gammopatia monoclonale IgM. Caratteristica è anche l'attivazione dei neutrofili a livello sanguigno e cutaneo, con produzione delle citochine IL-1 $\beta$ , IL-18 e IL-6. Questa malattia condivide molti aspetti patogenetici con le CAPS, causate da una mutazione *gain of function* del gene NLRP3, che a sua volta contiene svariate informazioni per la sintesi delle componenti del rispettivo inflammasoma. (25)

- **Sindrome PFAPA:** frequente in età pediatrica, è caratterizzata da febbre periodica associata a stomatite aftosa, faringite e adenite cervicale. Tende a risolversi spontaneamente con la crescita. È una patologia poligenica.

### 1.1.3. Sintomatologia delle MAIS

Le manifestazioni cliniche delle MAIS sono molto variabili e spesso aspecifiche, la diagnosi di molte di loro è di esclusione. Tuttavia, vi è uno spettro di sintomi che ricorre in queste patologie, in particolare la febbre, i dolori articolari e i rash cutanei. La maggior parte degli esordi avviene in età pediatrica, anche se vi è un gruppo di patologie che si manifesta principalmente in età adulta (AOSD, Sindrome di Schnitzler, Morbo di Behçet, TRAPS).

Vengono di seguito illustrate le manifestazioni cliniche principali di alcune MAIS:

- Febbre Mediterranea Familiare (FMF): patologia autosomica recessiva rara, con prevalenza di circa 1-5/100.000. È stata dimostrata un'incidenza molto più elevata in alcune zone geografiche come la regione est del bacino Mediterraneo, in particolare nella popolazione degli ebrei libici (1/238). (26) In Italia è prevalentemente diffusa nelle regioni meridionali. Clinicamente si associa a febbre elevata, con valori compresi tra 38 e 40 °C (presente nel 97% dei casi), nel 30% dei casi è preceduta da brivido. Le caratteristiche di questa febbre sono la durata, massimo tre giorni, e la ricorrenza, si presenta tipicamente ogni trenta giorni. Successivamente al primo attacco e tra una ricorrenza e l'altra vi è una *restitutio ad integrum*. Nella maggior parte dei casi questi episodi febbrili si associano ad un dolore addominale acuto, di tipo colico, simile ad un attacco di appendicite, con la quale la FMF può essere facilmente confusa. Può esservi la presenza di una sierosite sterile e non batterica, che si differenzia dalla peritonite poiché in quest'ultima il liquido peritoneale è ricco di granulociti neutrofili.

Un altro sintomo a cui si ricollega frequentemente questa patologia è l'artrite (75%). Nel 7-40% dei pazienti è presente una pseudo-erisipela che dà un quadro clinico totalmente sovrapponibile a quello di una classica erisipela, se non per il fatto di avere una base infiammatoria e non infettiva (26).

La FMF rappresenta la patologia auto-infiammatoria che più frequentemente si complica con lo sviluppo di Amiloidosi AA, specialmente a livello renale (27).

La diagnosi è clinica e si basa sui criteri di Tel-Hashomer (*Tab. I*)

**Tabella I.** Criteri di Tel-Hashomer

<b>Table 1.</b> Tel-Hashomer diagnosis criteria	
Major criteria	Minor criteria
Recurrent febrile episodes with serositis (peritonitis, synovitis or pleuritis)	Recurrent febrile episodes
Amyloidosis of AA type without a predisposing disease	Erysipelas-like erythema
Favourable response to regular colchicine treatment	FMF in a first-degree relative

Definitive diagnosis: 2 major or 1 major and 2 minor criteria. Probable diagnosis: 1 major and 1 minor criteria

Questi criteri comprendono la familiarità, ma non prendono in considerazione la genetica. Questo per diversi motivi:

- l'analisi genetica approfondita con sequenziamento dei geni coinvolti non è disponibile in tutti i laboratori
- a parità di mutazione possono esserci fenotipi clinici molto diversi
- nonostante la FMF sia una patologia autosomica recessiva esistono casi di pazienti eterozigoti che sviluppano la malattia
- esistono pazienti che presentano il classico quadro clinico della FMF, ma non hanno la mutazione a carico del gene MEFV

Più recentemente, nel 2009 (28), sono stati definiti i criteri diagnostici pediatrici (tab 2).

**Tabella II.** Criteri pediatrici di Yalçinkaya (28)

Criteria	Description
Fever	Axillary temperature of $>38^{\circ}\text{C}$ , 6–72 h of duration, $\geq 3$ attacks
Abdominal pain	6–72 h of duration, $\geq 3$ attacks
Chest pain	6–72 h of duration, $\geq 3$ attacks
Arthritis	6–72 h of duration, $\geq 3$ attacks, oligoarthritis
Family history of FMF	

➤ Morbo di Still dell'Adulto (AOSD): patologia rara, con prevalenza di circa 1-34/1.000.000 abitanti in Europa e Giappone. Oltre ad essere poco frequente è anche difficile da riconoscere perché esistono presentazioni monocicliche, ovvero episodi singoli, che possono essere facilmente interpretate come episodi infettivi. Nel 75% dei casi l'età di insorgenza è tra i 16 ed i 35 anni, però può manifestarsi a tutte le età, anche negli anziani. (29) È una patologia caratterizzata da episodi spontanei ricorrenti di febbre molto elevata, associata a rash cutaneo ed artralgie. La febbre è particolarmente elevata (raggiunge o supera i 39 °C) e solitamente non è preceduta da brivido. Nell'arco della giornata si possono verificare fino a 3 picchi febbrili della durata di alcune ore, seguiti da una defervescenza spontanea. Il rash cutaneo è color rosa salmone, evanescente e non pruriginoso. Possono esserci anche altre manifestazioni cutanee come lesioni simil-vasculitiche ed altre lesioni di tipo orticarioide papulare.

La faringodinia è un sintomo assolutamente aspecifico che in AOSD è una costante, sia all'esordio, sia durante le fasi di riacutizzazione nelle forme policicliche. La sintomatologia articolare è presente nel 100% dei casi sotto forma di artrite o artralgie. L'artrite vera e propria tende a manifestarsi nelle forme che cronicizzano e generalmente coinvolge simmetricamente le articolazioni, soprattutto dei polsi e del tratto cervicale, talvolta delle ginocchia. Il coinvolgimento epatico è molto comune (75%) e spesso lieve, si mostra con un aumento degli enzimi di epatocitolisi. Nel 50% dei casi può esserci un coinvolgimento splenico e linfonodale: si va da una lieve linfadenopatia ad una linfadenomegalia generalizzata, che entra in diagnosi differenziale con le malattie linfoproliferative. Le sierositi non sono molto frequenti (25%), ma quando ci sono possono essere gravi, ad esempio una pleuropericardite severa che può determinare a sua volta un tamponamento cardiaco (29).

La diagnosi è clinica, come per la FMF, e si basa anch'essa su dei criteri diagnostici. I criteri di Yamaguchi sono i più utilizzati in assoluto (*tab. 3*).

**Tabella III.** *Criteri di Yamaguchi, per la diagnosi sono necessari 5 criteri, di cui almeno 2 maggiori*

<b><i>Criteri maggiori</i></b>	<b><i>Criteri minori</i></b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Febbre &gt; 39 ° C intermittente, da più di una settimana</li> <li>- Artralgie &gt; 2 settimane</li> <li>- Rash tipico</li> <li>- GB &gt; 10.000 mmc (N&gt;80%)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Mal di gola</li> <li>- Linfo/splenomegalia</li> <li>- Alterazione transaminasi</li> <li>- Negatività di ANA/FR</li> </ul>

Oltre a questi ci sono anche i criteri di Fautrel (*tab. 4*), che hanno la particolarità di considerare anche la ferritina aumentata con la frazione glicosilata < 20% come criterio diagnostico. Sono meno utilizzati perché il dosaggio della frazione glicosilata della ferritina è un esame che pochissimi laboratori fanno.

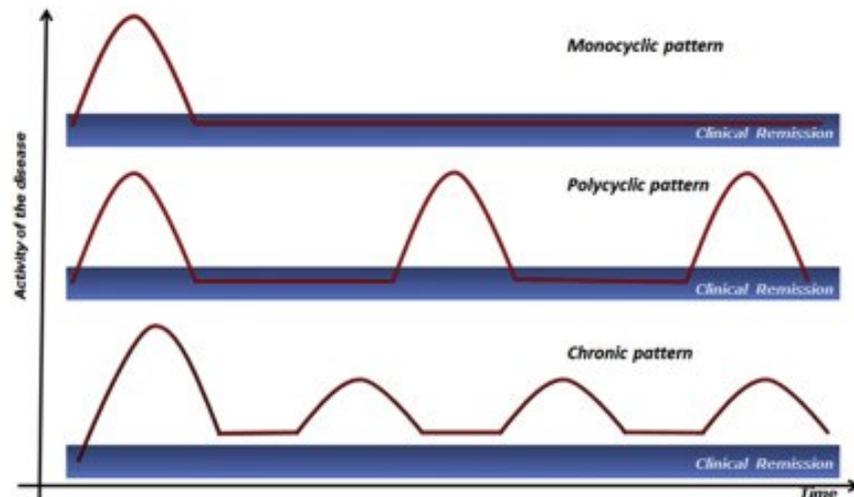
**Tabella IV.** *Criteri di Fautrel, per la diagnosi sono necessari 4 criteri maggiori oppure 3 criteri maggiori + 2 criteri minori*

<b><i>Criteri maggiori</i></b>	<b><i>Criteri minori</i></b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Picchi febbrili &gt; 39 °C</li> <li>- Artralgie</li> <li>- Eritema transitorio</li> <li>- Faringite</li> <li>- N &gt; 80%</li> <li>- Ferritina glicosilata &lt; 20%</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Rash maculopapulare</li> <li>- GB &gt; 10.000 mmc</li> </ul>

Sia i criteri di Yamaguchi che quelli di Fautrel necessitano dell'esclusione di patologie autoimmuni, infettive e linfoproliferative.

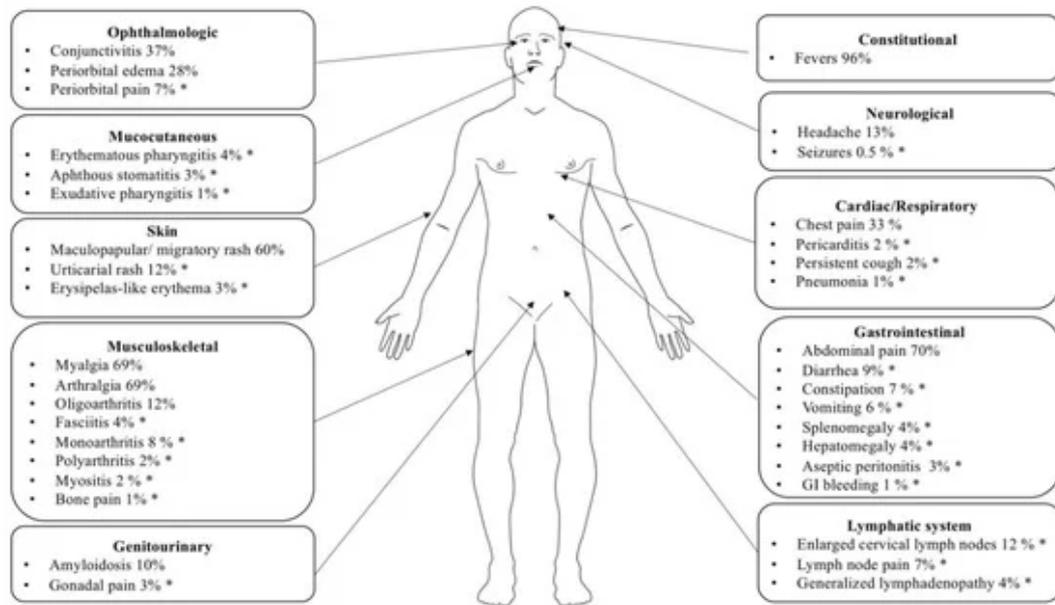
Sono state individuate tre evoluzioni cliniche principali del Morbo di Still:

- Forma monociclica: dopo l'episodio acuto il paziente sta bene e verosimilmente non ripresenterà più le manifestazioni patologiche.
- Forma policiclica: ci sono ricadute ed il periodo di benessere tra una fase acuta e l'altra è variabile (settimane, mesi o anni). In linea di massima si considera un periodo di due anni senza sintomatologia per definire se la forma sia monociclica.
- Forma cronica articolare: in cui si ha una vera e propria artrite con sinovite ed andamento erosivo, che tende a peggiorare con il tempo.



**Figura 6.** Andamento clinico delle diverse forme di AOSD (29)

- TRAPS: è una febbre periodica associata al recettore del TNF con incidenza pari a 5.6/10.000.000 soggetti all'anno. L'esordio avviene tipicamente in età pediatrica, con mediana a 4.3 anni. Circa il 10% dei pazienti, però, manifesta i primi sintomi dopo i 30 anni. (19) Gli episodi febbrili durano dai 5 giorni alle 3 settimane ed hanno una ricorrenza di circa 4-6 settimane. Altri sintomi presenti sono il dolore addominale (70%), mialgie molto dolorose (69%), manifestazioni cutanee (in particolare la pseudocellulite) (60%), congiuntivite acuta (37%), edema periorbitale (28%), artrite (22%), dolore toracico (33%), linfoadenopatie (16%) ed epato/splenomegalie (4%). L'amiloidosi AA è la complicanza più frequente dei pazienti affetti da TRAPS ed è associata ad un aumento di morbidità e mortalità. I depositi più frequenti di proteina sieroamiloide-A sono a livello renale, l'80-90% di questi pazienti va incontro a proteinuria ed IR (19).



**Figura 7.** Overview delle principali manifestazioni cliniche della TRAPS (19)

➤ **Morbo di Behçet:** patologia auto-infiammatoria in cui prevalgono gli aspetti di tipo vasculitico che possono coinvolgere qualsiasi vaso, di piccolo, medio e grande calibro. L'incidenza è molto variabile perché dipende dall'area geografica: in Europa e Nord America è circa 0,38-0,75/100.000 abitanti, in Turchia di 420/100.000 abitanti. L'esordio avviene solitamente tra i 18 ed i 40 anni (23).

L'aftosi orale è un elemento caratteristico del Behçet e si riscontra nel 98% dei casi. L'aftosi genitale è meno frequente (60-65%), ma molto specifica di tale patologia. L'aftosi può essere diffusa anche all'apparato digerente, coinvolgendo esofago, stomaco ed intestino. In questo caso la sua presenza viene dimostrata tramite EGDS o colonscopia. L'impegno cutaneo è vario: tra le manifestazioni presenti ricordiamo l'eritema nodoso e la pseudofollicolite.

Le manifestazioni oculari si verificano nel 70% dei pazienti e possono portare a danno severo, fino a cecità nel 25% dei casi. Esse si presentano come uveiti oppure, nelle forme iniziali, come iridociclitidi. Le artralgie e le artriti sono presenti nel 50% dei casi ed il 30% di questi sviluppa una sacroileite. Le manifestazioni neurologiche sono importanti ai fini della prognosi e determinano il cosiddetto "neuro-Behçet", presente in circa il 10% dei pazienti. È un quadro clinico insidioso che può verificarsi in qualsiasi momento dall'esordio della malattia ed è caratterizzato da cefalee,

meningite asettica o meningoencefalite, convulsioni, emiplegia, paralisi dei nervi cranici, ipertensione endocranica e sintomi psichiatrici. Nel 15% dei casi si hanno manifestazioni polmonari, il quadro più severo è quello degli aneurismi polmonari che possono rompersi provocando emottisi massiva, ad elevata mortalità. (23)

- **Sindrome di Schnitzler:** patologia che viene classificata come criopirinopatia ad esordio tardivo, con prevalenza < 1: 1.000.000.

È caratterizzata da rash simil-orticarioide cronico, febbre periodica intermittente, artrite e/o artromialgie, linfadenopatia, epato e/o splenomegalia.

Ha una particolarità che la contraddistingue dalle altre MAIS: i pazienti affetti da questa sindrome, infatti, presentano una gammopatia monoclonale IgM e/o IgG. Circa il 15-20% dei pazienti sviluppa poi un disturbo linfoproliferativo, principalmente la macroglobulinemia di Waldenström (MW) (25).

La diagnosi è clinica ed è basata sui criteri di Strasburgo (*tab.5*).

**Tabella V.** Criteri di Strasburgo, per la diagnosi di S. Schnitzler sono richiesti 2 criteri maggiori ed almeno 2 criteri minori se la gammopatia è IgM, 3 criteri minori se è IgG.

<b><i>Criteri maggiori</i></b>	<b><i>Criteri minori</i></b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Rash orticarioide cronico</li> <li>- Gammopatia monoclonale IgM/IgG</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Febbre ricorrente</li> <li>- Reperti oggettivi di rimodellamento osseo con o senza dolori ossei</li> <li>- Infiltrato neutrofilico nel derma alla biopsia cutanea</li> <li>- Leucocitosi e/o aumentata PCR</li> </ul>

#### 1.1.4. Terapia

##### Corticosteroidi

I corticosteroidi sono farmaci antiinfiammatori particolarmente efficaci nel controllo della sintomatologia dei soggetti affetti da flogosi sistemica. Essi sono un gruppo di ormoni sintetizzati dalla corteccia del surrene. Oltre alle proprietà antiinfiammatorie possiedono anche caratteristiche immunosoppressive.

Vengono integrati alla terapia con colchicina nella FMF e nelle sue eventuali riacutizzazioni, soprattutto quando quest'ultima è insufficiente a controllare l'attività di malattia. (26) I corticosteroidi sono utilizzati come terapia di prima linea nell'80% dei pazienti affetti da AOSD. Il prednisone viene somministrato alla dose iniziale di 0,5-1 mg/kg/giorno. È stato dimostrato che pazienti che vengono trattati con dosi più alte di corticosteroidi (0,8 mg/kg/giorno) riescano ad avere remissioni più veloci di coloro che ricevono una dose più bassa. (24) Un'altra patologia in cui rivestono un ruolo importante è la PFAPA: gli studi dimostrano che i glucocorticoidi somministrati per via orale sono in grado di migliorare nettamente la sintomatologia di questi pazienti. Una singola dose di prednisone (1-2 mg/kg) o betametasona (0,1-0,2 mg/kg) somministrati all'inizio di un singolo episodio riescono a spegnere la flogosi in poche ore. (32)

I corticosteroidi esogeni presentano svariati effetti collaterali, per questo motivo è sempre bene somministrare la posologia corretta ed effettuare un *decalage* ponderato nel momento in cui si decide di sospenderli come terapia. La crisi di astinenza da glucocorticoidi può essere letale. Tra gli effetti avversi ricordiamo l'iperglicemia, l'ipertensione, l'osteoporosi, la sindrome di Cushing, il morbo di Addison e i danni permanenti alla retina.

##### FANS

I farmaci antiinfiammatori non steroidei (FANS) sono farmaci con effetto antiinfiammatorio, analgesico ed antipiretico. Vengono utilizzati principalmente per trattare la sintomatologia in acuto, ad esempio per far scendere la febbre alta. Eventualmente si possono associare alla terapia cronica, da utilizzare al bisogno. Essi agiscono bloccando in maniera più o meno reversibile le Ciclo-ossigenasi

(COX1 e/o COX2). Gli effetti collaterali più frequenti sono ulcere e sanguinamenti gastrointestinali, seguiti da un aumento del rischio di infarto e malattie renali.

### **Colchicina**

Farmaco fondamentale per il trattamento delle febbri periodiche, in particolare per la Febbre Mediterranea Familiare. La Colchicina è un alcaloide in origine estratto dalle piante del genere *Colchicum*. Si lega alla tubulina, subunità dei microtubuli, provocando la loro depolimerizzazione. Determina, quindi, un blocco della cellula allo stadio di metafase per mancata genesi del fuso mitotico. Viene somministrata per via orale ed ha un'emivita di circa 65 minuti. Il dosaggio minimo è di circa 1 mg/die, ma può essere aumentato fino a 3 mg/die.

La Colchicina è un farmaco molto comune, utilizzato in primo luogo nel trattamento della gotta, dove agisce spegnendo l'infiammazione nel giro di pochi giorni. Nella FMF i meccanismi e i tempi d'azione sono molto diversi. Sono infatti necessari 3-4 mesi di assunzione per vedere la sua efficacia poiché si accumula nei neutrofili e, solo dopo aver raggiunto determinati livelli intracellulari, regola attivamente l'attività di NLRP3. Nella FMF la Colchicina, oltre a trattare gli attacchi acuti, permette di prevenire (nel 70-80% dei casi) l'insorgenza di amiloidosi.

La risposta alla sua somministrazione rappresenta anche un criterio *ex-adiuvantibus* per la diagnosi di FMF: se c'è il sospetto di FMF e dopo somministrazione di colchicina avviene una remissione dei sintomi della malattia, si può confermare la diagnosi.

La colchicina viene anche utilizzata come farmaco off-label per il trattamento delle aftosi orali e genitali del morbo di Behçet.

Presenta diversi effetti collaterali, i più comuni sono la comparsa di nausea, diarrea, vomito e dolori addominali. Se la somministrazione è prolungata nel tempo possono comparire anche alopecia, neuriti, miopatia ed alterazioni midollari.

### **DMARDs**

I DMARDs (Disease Modifying Antirheumatic Drugs) sono farmaci antireumatici che modificano l'andamento della malattia. Non sono correlati chimicamente tra di loro, ma presentano una comune azione nel ridurre la progressione dell'Artrite Reumatoide. Nelle MAIS questi farmaci non vengono solitamente utilizzati, l'unica

eccezione è costituita dal Methotrexate (MXT), una molecola antagonista della sintesi di acido folico. Il Methotrexate viene somministrato nel Morbo di Still nel caso in cui vi sia resistenza alle altre terapie, principalmente ai corticosteroidi, e nel caso in cui vi sia un importante impegno sistemico della patologia (24). La posologia è pari a 15-25 mg a settimana, con emivita compresa tra 3 e 15 ore sulla base della dose somministrata.

### **Farmaci biologici**

Nel caso in cui le precedenti soluzioni terapeutiche non dovessero risultare efficaci si può passare alla somministrazione di farmaci biologici, di recente scoperta ed introduzione nella pratica clinica.

Quando si parla di farmaci biologici si intendono prodotti proteici costruiti con la tecnica del DNA ricombinante o anticorpi monoclonali. I principali bersagli dei farmaci biologici nelle malattie autoinfiammatorie sono:

- Recettori cellulari: implicati nella regolazione del sistema immunitario, attraverso processi di attivazione e trasduzione del segnale dato dal legame con il corrispettivo ligando. In particolare, i recettori di IL-1 e IL-6.
- Citochine: molecole in grado di trasferire il segnale tra cellula e cellula, la più importante nella patogenesi delle MAIS è IL-1 $\beta$ .

Ad oggi i farmaci biologici utilizzati nelle MAIS sono:

- Anakinra (Kineret): recettore solubile, antagonista ricombinante del recettore di IL-1 (IL-1Ra), tra i primi farmaci approvati nella cura dell'artrite reumatoide per ridurre l'infiammazione e poi sostituito dagli anti-TNF. Oggi il suo utilizzo è stato approvato nei pazienti affetti da Morbo di Still dell'Adulto che non rispondono agli altri farmaci (colchicina, corticosteroidi), nei pazienti affetti da artrite idiopatica giovanile e nelle CAPS. La via di somministrazione è sottocutanea ed il suo dosaggio base è di 100 mg/die, presenta inoltre un'emivita compresa tra le 4 e le 6 ore. Gli effetti indesiderati sono rari, solitamente si tratta di reazioni cutanee localizzate nel sito di iniezione del farmaco. (31) A dicembre 2021 è stato approvato per il trattamento delle forme più severe di COVID-19, in particolare la sua somministrazione EV ha trovato beneficio nei pazienti ospedalizzati riducendo sia la necessità di ventilazione meccanica sia la

comparsa di eventi avversi che avrebbero potuto condurre ad una maggiore probabilità di decesso. (70,71)

- Canakinumab (Ilaris): anticorpo monoclonale di tipo umano diretto verso IL-1 $\beta$ . Il suo utilizzo è stato approvato per le CAPS, per la TRAPS, per il deficit di Mevalonato Chinasi (MVK), per la FMF ed infine per il Morbo di Still dell'Adulto. Viene somministrato sottocute con dosaggio minimo di 150 mg ogni 4/8 settimane. Ha un'emivita di 26 giorni.
- Tocilizumab (Actemra/RoActemra): anticorpo monoclonale umanizzato con azione inibitoria su IL-6R che può essere somministrato per via endovenosa o più frequentemente per via sottocutanea. Viene utilizzato off label nel momento in cui non vi è risposta agli inibitori di IL-1. Nel luglio 2021 è stato approvato dall'OMS per il trattamento dei malati di COVID-19, assieme ai corticosteroidi e al Sarilumab (anti IL-6R).

## 1.2 COVID-19

### 1.2.1 Definizione ed eziopatogenesi

Il COVID-19, acronimo di *Coronavirus Disease 19*, è una sindrome respiratoria acuta causata dal virus SARS-CoV-2, appartenente alla famiglia dei *Coronaviridae*.

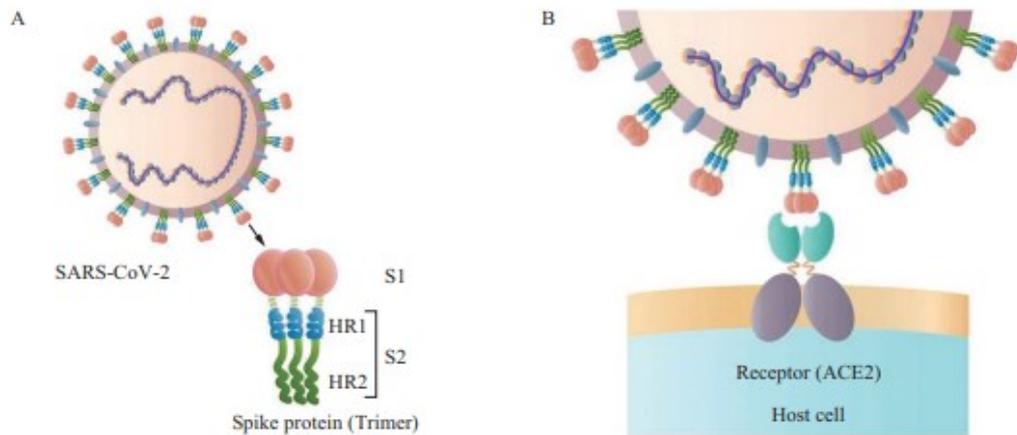
I primi casi accertati sono stati nella città di Wuhan, in Cina, nell'autunno del 2019; questi pazienti avevano manifestato tutti una "polmonite di causa sconosciuta". Inizialmente si era pensato ad una zoonosi da pipistrello, animale che veniva venduto spesso sulle bancarelle del mercato umido locale. Il virus ha iniziato poi a diffondersi tra uomo ed uomo, principalmente attraverso goccioline respiratorie (*droplets*) che vengono emesse tossendo o starnutando. (33) Ad oggi l'origine del virus è ancora incerta. Nel marzo 2020 l'OMS ha dichiarato lo stato di pandemia.

Il virus SARS-CoV-2 appartiene al genere Betacoronavirus della famiglia dei *Coronaviridae* ed è il settimo Coronavirus scoperto in grado di infettare gli esseri umani. Nell'uomo i Coronavirus più comuni (HCov-229E, -NL63, -OC43 e -HKU1) circolano continuamente nella popolazione, principalmente nella stagione invernale e all'inizio della stagione primaverile, causando raffreddori, a volte associati a febbre e mal di gola. Ciò che differenzia SARS-CoV-2 dagli altri membri della famiglia è il periodo di incubazione, che va dai 2 ai 14 giorni, durante i quali non vi è sintomatologia. Per il resto presenta molte similarità con il SARS-CoV-1 che fu responsabile dell'epidemia di SARS nel 2003 e con il MERS-CoV, responsabile dell'epidemia di MERS (*Middle East Respiratory Syndrome*) in Arabia Saudita nel 2012.

I Coronavirus sono un gruppo eterogeneo di virus a RNA a singolo filamento e provvisti di capsula. Gli elementi chiave del processo patologico alla base della malattia sono la membrana, l'envelope (E), il nucleocapside (N) e le proteine Spike (S). Sia SARS-CoV-1 che SARS-CoV-2 si legano al recettore ACE2 (Angiotensin-converting enzyme 2).

SARS-CoV-2 si lega al recettore ACE2 attraverso la proteina S, che è composta da due subunità: S1 e S2 (*fig. 8*). La subunità S1 è responsabile del legame con ACE2

nel suo dominio RBD, mentre la subunità S2 contiene il peptide di fusione ed il dominio transmembrana. (34)



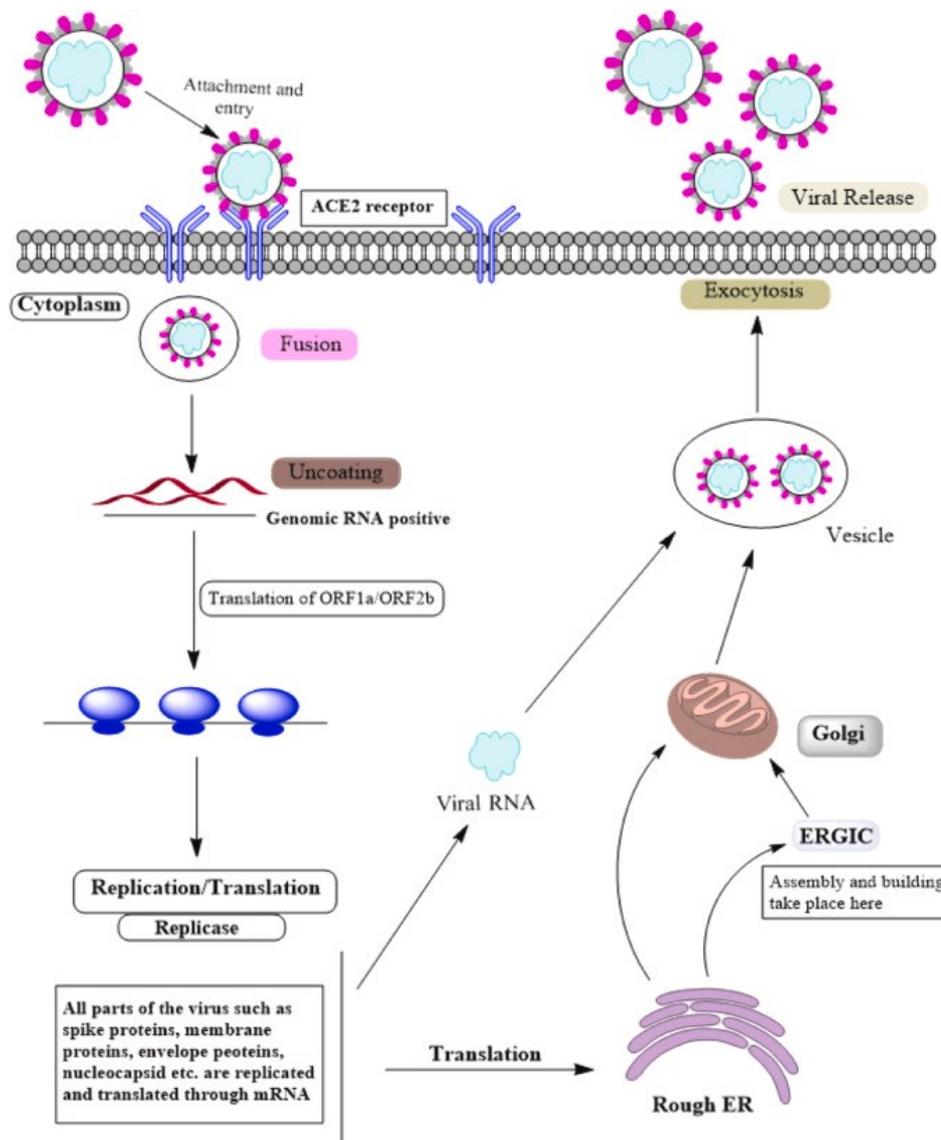
**Figura 8.** Struttura schematica di SARS-CoV-2. A: struttura della proteina S; B: relazione tra proteina virale S e recettore ACE2 della cellula ospite (34)

ACE2 è una metalloproteasi che ha il compito di convertire l'angiotensina II in angiotensina, ed è noto per essere un regolatore della pressione sanguigna attraverso il sistema renina-angiotensina-aldosterone. ACE2 non è presente unicamente a livello degli pneumociti di tipo II, ma anche in molti altri distretti corporei come i reni, l'endotelio vascolare, i testicoli, la cornea, la mucosa orale, il distretto cardiovascolare ed il tratto gastrointestinale (in enterociti e colangiociti). Questo spiega le manifestazioni extra-polmonari dell'infezione da SARS-CoV-2. (35)

TMPRSS2, invece, è una proteasi espressa sulla membrana delle cellule epiteliali polmonari in contiguità ad ACE2. Il suo ruolo è quello di attivare la proteina Spike mediante taglio proteolitico e facilitare così l'ingresso del virus. La sua espressione sembra essere regolata dal recettore degli androgeni, (35) per questo motivo si è ipotizzato come il sesso maschile possa essere un fattore di rischio significativo per una maggiore gravità ed un aumentato rischio di mortalità nel decorso della patologia. (36)

Una volta che l'RNA virale si è integrato all'interno della cellula ospite viene avviata la traduzione delle poliproteine. L'RNA genomico nCoV codifica per le proteine non strutturali (NSP), a loro volta importanti per la sintesi dell'RNA virale e per le proteine strutturali necessarie all'assemblaggio del virione. Per replicare la proteina strutturale viene reclutato il complesso RNA replicasi-trascrittasi. Con

l'aiuto del reticolo endoplasmatico che lega i ribosomi, le proteine strutturali S1 e S2, la membrana (M) e l'envelope (E) vengono traslate ed esposte sulla sua superficie per l'innescò dell'assemblaggio del virione. I nucleocapsidi (N) rimangono nel citoplasma e si uniscono al precursore del virione, trasportato sulla superficie del RE attraverso l'apparato del Golgi in piccole vescicole. Infine, per esocitosi i virioni maturi vengono rilasciati dalla superficie della cellula infetta e liberati per infettare altre cellule ospiti. (37)



**Figura 9.** Fasi del ciclo vitale di SARS-CoV-2 all'interno dell'organismo umano (37)

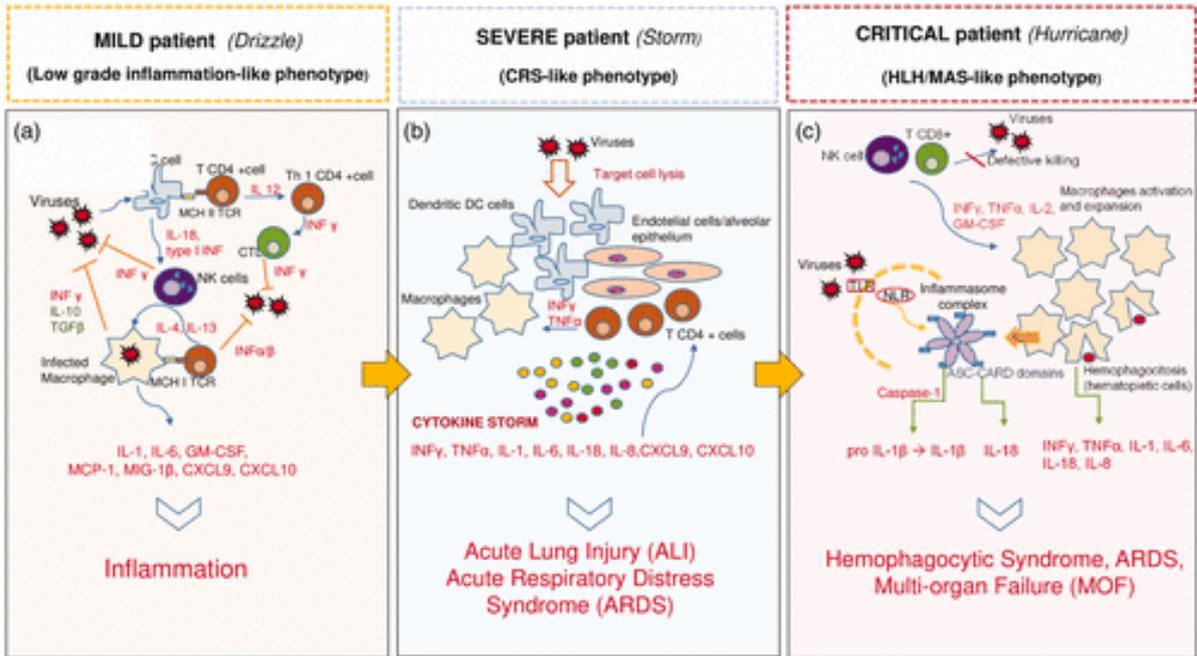
Una volta entrato nella cellula, il virus a singolo filamento può scatenare una risposta infiammatoria, dal momento che le sue componenti vengono riconosciute come PAMPs. L'invasione virale provoca il reclutamento di diverse cellule infiammatorie come macrofagi, neutrofilii e cellule natural killer (NK) che sono i principali produttori di citochine pro-infiammatorie per la difesa contro i patogeni. Tra queste vi sono gli interferoni di tipo I, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL-1, IL-2 e IL-6. Successivamente vengono quindi attivati i TLR 3, 7, 8 e 9 e l'inflammasoma NLRP3. Di solito la risposta è auto-limitante e l'infezione si risolve senza danni ai tessuti. Questo avviene grazie alla produzione di citochine anti-infiammatorie come IL-10 ed il fattore di crescita trasformante TGF- $\beta$  che contribuiscono a frenare il danno dopo l'ingresso del virus. Tipicamente questo si verifica nei pazienti che presentano uno stadio lieve della patologia.

I pazienti con forma severa della patologia hanno un fenotipo immunologico che assomiglia molto ad una Sindrome da Rilascio di Citochine (CRS). Questo fenomeno si osserva nelle leucemie e nei linfomi, quando i linfociti T e B sono presi di mira da vari anticorpi monoclonali provocando il rilascio di una grande quantità di citochine pro-infiammatorie. Similmente, nell'infezione severa da SARS-CoV-2, una volta che i macrofagi sono attivati da IFN $\gamma$  avviene un rilascio massiccio di IL-6, IL-1, IL-18, MCP-1, MIP-1 $\beta$ , GM-CSF, CCL, CXCL9 e CXCL10. Tra queste, IL-6 sembra essere il mediatore fondamentale della CRS perché è in grado di attivare direttamente i linfociti T e potenziare ancora di più la tempesta citochinica. A livello clinico questa "tempesta citochinica" si traduce in danno polmonare acuto e sindrome da distress respiratorio (ARDS). (38)

Occasionalmente la CRS può diventare grave e incontrollata, questo fenotipo clinico si associa alla forma critica dell'infezione da SARS-CoV-2 e ricorda una forma secondaria di linfoistiocitosi emofagocitica primaria (HLH) o la sindrome da attivazione macrofagica (MAS). La MAS è la complicanza più grave di alcune malattie autoinfiammatorie ed autoimmuni come il Morbo di Still dell'Adulto, il Lupus Eritematoso Sistemico e l'Artrite Idiopatica Giovanile.

È stato dimostrato che i Coronavirus attivano NLRP3 in modo forte e persistente portando ad un rilascio di IL-18 e IFN- $\gamma$ . Inoltre l'attivazione dell'inflammasoma può indurre la piroptosi, un tipo di morte cellulare programmata caratterizzata da rigonfiamento cellulare, formazione di bolle e rilascio finale del contenuto

cellulare. Pertanto, sembra il fenotipo critico di SARS-Cov-2 sia in grado di aumentare il rilascio di citochine a tal punto da innescare il processo di piroptosi (38).



**Figura 10.** Fenotipi immunologici di SARS-CoV-2 sulla base della gravità clinica dell'infezione: paziente con sintomatologia lieve [a], paziente con fenotipo simile a CRS e conseguente "tempesta" citochinica [b], paziente con fenotipo simile ad HLH/MAS e conseguente "uragano" citochinico (38)

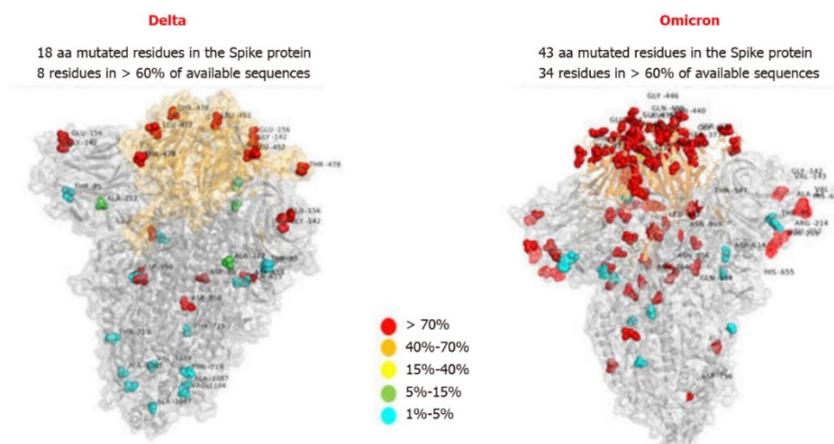
### 1.2.2 Varianti genomiche

Il virus SARS-CoV-2 possiede la capacità di mutare molto rapidamente generando sempre nuove varianti. Questo avviene perché la sua circolazione è molto alta e quindi subisce una pressione selettiva operata dal sistema immunitario che lo porta a favorire le varianti che non vengono bloccate da quest'ultimo. La sequenza originale o sequenza zero è la sequenza WIV04/2019. A settembre 2022 sono state individuate più di 200 sequenze di virus mutate. (39) Tra queste, l'OMS ne ha individuate alcune in particolare che ha definito preoccupanti, le cosiddette *Variants of Concern (VoC)*, tra parentesi la nomenclatura PANGO (40):

- Variante Alfa/Variante Inglese (B.1.1.7.), identificata per la prima volta in UK nel novembre 2020. Risulta essere del 30-80% più trasmissibile rispetto a SARS-CoV-2, ma non più letale. Vi è una differenza nella sintomatologia con aumento della presenza di tosse e la segnalazione di nuovi sintomi quali dolori muscolari, affaticamento e mal di gola. Non vi sono evidenze di interferenza con l'efficacia della vaccinazione. (41) Ad oggi questa variante risulta essere quasi estinta, soppiantata dalla presenza delle varianti Delta ed Omicron.
- Variante Beta (B.1.351): segnalata dal dipartimento sanitario sudafricano a dicembre 2020. Ha una velocità di trasmissione maggiore rispetto a SARS-CoV-2 ed alla Variante Alfa; pare che la sua diffusione sia prevalente tra i giovani senza comorbidità, nei quali ha conseguenze più gravi. Sono state individuate tre mutazioni che le permettono di legarsi più facilmente alla cellula ospite nel dominio RBD nella glicoproteina S del virus: N501Y, K417N, E484. (42) L'efficacia della vaccinazione è ridotta contro la malattia grave, mentre è mantenuta contro la malattia sintomatica.
- Variante Gamma (P.1.): identificata per la prima volta a Tokyo nel gennaio 2021, ma presente in Brasile da dicembre 2020. Essa presenta multiple mutazioni amminoacidiche, tra cui 12 nella proteina S. Questa variante è circa 1.4/2.2 volte più infettiva dell'originale. Le sue mutazioni sembrano ridurre lievemente l'efficacia dei vaccini ad oggi in commercio. (41)
- Variante Delta (B.1.617.2): identificata per la prima volta in India a ottobre 2020 e classificata come VoC a maggio 2021, dopo aver causato nello stato una seconda ondata di COVID-19 tre volte superiore a quella dell'autunno 2020. Nell'estate 2021 si è poi espansa a livello globale risultando, a metà

novembre 2021, la variante predominante in tutto il mondo. Oltre ad essere il doppio più infettiva delle altre varianti, il suo tempo di incubazione è ridotto in media da sei a quattro giorni. Moderna è il vaccino più efficace contro questa variante, seguito da Pfizer-BioNTech (88% di efficacia) ed Oxford-AstraZeneca (67% di efficacia). (42)

- Variante Omicron (B.1.1.529): rilevata per la prima volta in Sud Africa a novembre 2021, attualmente è la variante predominante in Italia ed in Europa. Presenta la velocità di espansione maggiore, tanto che a dicembre 2021 era già estesa a livello globale. È il doppio più contagiosa della variante Delta ed il quadruplo più contagiosa della versione originale di SARS-CoV-2. Inoltre, è anche quella con il numero maggiore di mutazioni fino ad ora. Tuttavia, la sintomatologia causata dall'infezione sembra essere più lieve con Omicron rispetto a Delta. Tendenzialmente colpisce una popolazione più giovane rispetto alla variante Delta e causa minor rischio di ospedalizzazione. Il rischio di reinfezione dopo aver contratto Omicron è molto più alto rispetto alle altre varianti. Si è dimostrata una ridotta efficacia del vaccino contro questo ceppo, molti soggetti che sono stati vaccinati con Pfizer-BioNTech, Johnson&Johnson e Oxford-AstraZeneca in sudafrica l'hanno contratta. (43) Alcuni studi più recenti hanno evidenziato, però, come la dose booster del vaccino riuscirebbe invece a garantire un livello di protezione adeguato (44).



**Figura 9.** Confronto delle proteine Spike in Delta e Omicron, con rispettivi siti di mutazione (43)

**Tabella VI.** *Confronto tra le principali caratteristiche delle varianti Omicron e Delta, attualmente le più presenti a livello globale (43).*

<b>Caratteristiche</b>	<b>Omicron (B.1.1.529)</b>	<b>Delta (B.1.617.2)</b>
Regione di identificazione	Sudafrica	India
Data di identificazione	24 novembre 2021	5 dicembre 2020
Residui di mutazione	43	18
Trasmissibilità	3-6 fold	1 fold
Morbilità	Mild	Severe
Morte	Rara	Comune
Età dei pazienti	Mezza età	Bambini o anziani
Effetto del vaccino (%)	33%	80%

### 1.2.3 Vaccinazione

Normalmente il processo per lo sviluppo di un vaccino richiede circa 10-15 anni. Nonostante il SARS-CoV-2 sia un virus di recente comparsa, si è riusciti ad ottenere il sequenziamento dell'RNA ad inizio 2020 (45). L'effectiveness che si osserva nell'ambito dei vaccini contro il Covid è molto più alta rispetto alla norma. I dati clinici hanno dimostrato che i vaccini contro SARS-CoV-2 assicurano un'efficace protezione dalla malattia e dai suoi sintomi più gravi. Per quanto riguarda la prevenzione dell'infezione e la possibilità di trasmissione a terzi, invece, non ci sono ancora dati universalmente condivisi. (46)

La campagna vaccinale in Italia è iniziata ufficialmente il 27 dicembre 2020. Al 29 settembre 2022 sono state somministrate 140.732.854 dosi. Attualmente sono 50.463.649 (93,46% della popolazione under 12) gli italiani ad aver completato il ciclo vaccinale primario e 42.380.865 (88,84% della platea dose booster) ad aver effettuato la dose addizionale/dose booster. Infine, sono 5.159.365 gli italiani ad aver effettuato la seconda dose booster. (47)

Attualmente le tipologie di vaccino autorizzate ed approvate in Italia sono le seguenti:

- Vaccino a mRNA (Comirnaty BNT162b2/ Spikevax 1273) l'mRNA viene incapsulato in nanoparticelle lipidiche ed inoculato. Si ha una produzione diretta delle particelle virali. L'mRNA viene degradato in tempi molto rapidi, quindi non c'è possibilità che si verifichi il suo incorporamento nelle cellule umane. Questa tipologia di vaccino ha mostrato un'efficacia

complessiva del 95% per Comirnaty BNT162b2 e del 94,5% per Spikevax 1273 (48). Per raggiungere questa percentuale sono necessarie due somministrazioni, che devono avvenire a distanza di 21 giorni per Comirnaty BNT162b2 e 28 giorni per Spikevax 1273. Entrambi garantiscono immunogenicità per almeno 119 giorni dopo la prima vaccinazione. L'evidenza di effetti avversi (dolore, gonfiore e rossore nel sito di iniezione, febbre, malessere, mal di testa, nausea, vomito, etc) sembra essere maggiore nei soggetti vaccinati con Spikevax 1273 rispetto a Comirnaty BNT162b2. Tuttavia, il vaccino Spikevax 1273 è più facilmente trasportabile perché è meno sensibile alle variazioni di temperatura. (49)

- Vaccino a subunità glicoproteica (NVX-CoV2373): si utilizzano parti del SARS-CoV-2, principalmente la proteina Spike, oppure solo il rivestimento esterno. Tale approccio era stato utilizzato nella SARS con buoni risultati a livello animale. NVX-CoV2373 ha un'efficacia complessiva del 90,4%.
- Vaccino a vettore virale *Adenoviridae* (AZD1222-ChAdOx1/JNJ-78436735): si utilizza un virus attenuato geneticamente modificato, ad esempio un adenovirus, in modo da produrre le proteine del virus interessato, ad esempio il Covid. Questa tipologia di vaccino era già stata impiegata contro l'ebola (50). AZD1222-ChAdOx1 utilizza un vettore virale di scimpanzè, mentre JNJ-78436735 un vettore virale di origine umana. AZD1222-ChAdOx1 necessita di doppia somministrazione come i precedenti vaccini, mentre JNJ-78436735 è l'unico vaccino, ad oggi, ad essere somministrato in singola dose. Nei primi mesi del 2021 questi vaccini erano stati indicati dal Ministero della Salute per essere utilizzati nelle persone di età superiore ai 60 anni. Tuttavia, dopo qualche tempo l'AIFA ha deciso di limitarne l'utilizzo dal momento che alcuni studi avevano riportato casi di trombosi con sindrome trombocitopenica (TTS) in soggetti che avevano effettuato questi vaccini. (49)

Inoltre, coloro che si sono vaccinati con JNJ-78436735 dovranno effettuare un richiamo con mRNA BNT162b2 a distanza di 6 mesi dall'inoculazione della monodose.

### **Dose addizionale e dose “booster”**

Il Ministero della Salute ha proposto la suddivisione in dose addizionale e dose booster. Per dose addizionale si intende una dose aggiuntiva di vaccino a completamento del ciclo vaccinale primario, somministrata al fine di raggiungere un adeguato livello di risposta immunitaria. Per dose “booster” si intende invece una dose di richiamo dopo il completamento del ciclo vaccinale primario, a distanza di un determinato intervallo temporale, somministrata al fine di mantenere nel tempo o ripristinare un adeguato livello di risposta immunitaria. Questo risulta particolarmente utile in popolazioni ad alto rischio, per condizioni di fragilità che si associano allo sviluppo di malattia grave o per esposizione professionale. Diversi studi hanno dimostrato l'efficacia della dose booster anche contro le varianti più recenti (Omicron e Delta) (44), (51).

Con la circolare dell'11 luglio 2022 il Ministero della Salute Italiana raccomanda la somministrazione della seconda dose di richiamo (*second booster o quarta dose*) dopo un intervallo minimo di almeno quattro mesi (120 gg) dalla prima dose di richiamo o dall'ultima infezione successiva al richiamo negli anziani over 60 anni, negli ospiti di RSA e nelle persone, a partire dai 12 anni, con elevata fragilità motivata da patologie concomitanti o preesistenti. (52)

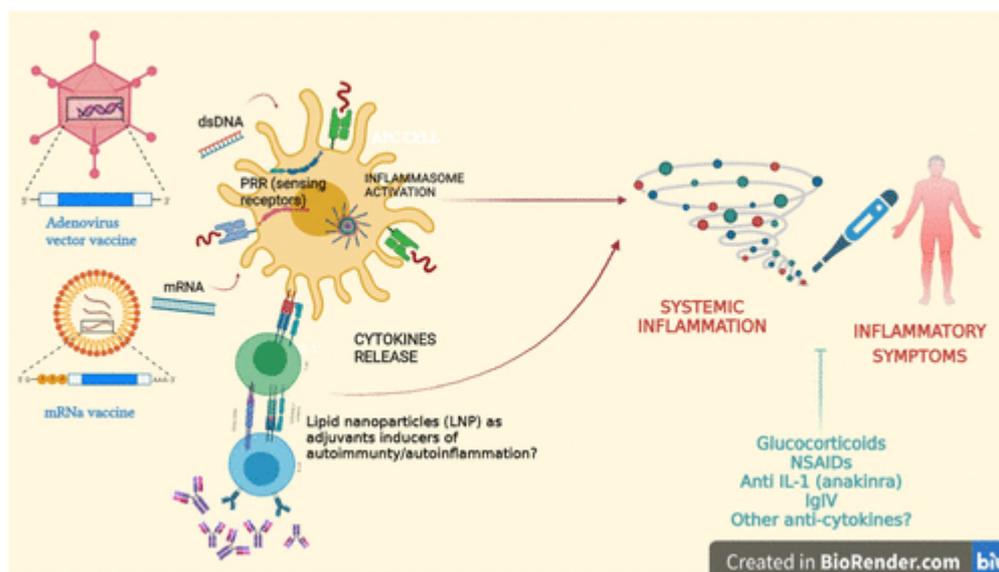
### **Vaccinazione nei pazienti con Malattie Autoinfiammatorie**

Ad oggi i vaccini maggiormente utilizzati e raccomandati sono quelli a mRNA (Comirnaty BNT162b2/Spikevax 1273), anche i pazienti affetti da MAIS hanno indicazione principale all'utilizzo di questa tipologia di vaccino.

La vaccinazione deve essere effettuata preferibilmente quando la malattia è sotto controllo e quando non vi sono riacutizzazioni della stessa. L'immunosoppressione di basso grado non sembra diminuire le risposte anticorpali vaccinali. (53) I pazienti in trattamento con tofacitinib in combinazione con methotrexate necessitano della sospensione del trattamento prima di effettuare la vaccinazione perché questi farmaci riducono la risposta anticorpale. La terapia può essere ripresa dopo 14 giorni dalla somministrazione del vaccino.

Anche i pazienti in trattamento con rituximab devono fare attenzione al timing di somministrazione: il farmaco deve essere sospeso almeno 4 settimane prima della vaccinazione e deve essere ripreso almeno sei mesi dopo. (53)

È possibile che alcune persone affette da MAIS sviluppino un'inflammation incontrollata dopo aver ricevuto la vaccinazione anti-SARS-CoV-2. In tali soggetti i vaccini potrebbero precipitare o esacerbare malattie infiammatorie subcliniche o non riconosciute. In letteratura è stata descritta una suscettibilità genetica con associazioni HLA riconosciute o polimorfismi su IL-18. Pertanto, è ipotizzabile che un trigger esterno come il vaccino possa indurre una risposta infiammatoria esagerata in individui predisposti. (54)



**Figura 10.** Interazioni tra vaccini SARS-CoV-2 a DNA/mRNA e sistema immunitario in pazienti predisposti. (54)

### 1.2.3 Clinica

I soggetti che contraggono l'infezione da SARS-CoV-2 vanno incontro ad un periodo di incubazione che dura in media 5-6 giorni. Dopodiché si possono iniziare a sviluppare i primi sintomi oppure rimanere asintomatici. Questo virus, infatti, ha la capacità di diffondersi anche tra i soggetti clinicamente sani, che diventano carrier a tutti gli effetti dell'infezione. Le stime dell'incidenza delle infezioni asintomatiche chiariscono il potenziale epidemiologico della trasmissione di COVID-19 e la natura universale di tale patologia. (55)

La patologia sintomatica viene suddivisa in quattro stadi, sulla base della gravità dei sintomi e della necessità o meno di ospedalizzazione.

**Tabella VII.** *Stadi clinici dell'infezione da COVID-19 (54)*

<b>Stadio</b>	<b>Caratteristiche cliniche</b>	<b>RT-PCR test</b>
Asintomatico	Nessun sintomo clinico e risultato anormale di imaging al torace.	Positivo
Lieve	Sintomi clinici lievi come febbre, affaticamento, tosse, anoressia, malessere, dolori muscolari, mal di gola, dispnea, congestione nasale, mal di testa. Nessun risultato anormale all'imaging del torace.	Positivo
Moderata	Caratteristiche cliniche lievi o moderate. L'imaging del torace mostra una lieve manifestazione di polmonite.	Positivo
Severa	Sospetti sintomi di infezione respiratoria più uno dei seguenti criteri: mancanza di respiro; RR>30 respiri/min; SpO2 < 94% a riposo; PaO2/FiO2 < 300 mmHg; progressione significativa delle lesioni al torace (> 50%) entro 24-48 h, visibile all'imaging.	Positivo
Critica	Rapido progresso della malattia più uno dei seguenti criteri: insufficienza respiratoria e necessità di ventilazione meccanica; shock; insufficienza multiorgano.	Positivo

Lo stadio clinico lieve è caratterizzato da una sintomatologia di tipo influenzale: febbre, febricola, tosse, faringodinia, cefalea, congestione nasale e dolori muscolari. A questi si può associare la perdita dell'olfatto (anosmia) e la perdita del gusto (ageusia). Alle volte questi due sintomi possono essere gli unici presenti e fungere da campanello d'allarme per riconoscere l'infezione da SARS-CoV-2. (55) Dal 3 al 30% dei pazienti sviluppa anche sintomi gastrointestinali come diarrea, nausea, vomito ed anoressia. In diversi pazienti è stato riscontrato anche un rialzo degli indici di epatocitolisi. (56)

Nello stadio clinico moderato, oltre ai sintomi già descritti, troviamo anche una positività all'imaging: nel 56% delle TC sono riscontrate "opacità a vetro smerigliato", solitamente bilaterali e periferiche. Inizialmente le lesioni si trovano su un solo polmone, con il progredire della malattia si manifestano bilateralmente nell'88% dei pazienti. (57) I soggetti in questo stadio presentano una SpO<sub>2</sub> > 94% in aria ambiente.

**Figures**



**Figura 11.** [A] TC con mdc intravenoso in paziente maschio di 36 anni con polmonite da COVID-19. Opacità a vetro smerigliato bilaterali nel lobo superiore. [B] TC con mdc intravenoso in paziente maschio di 45 anni, con opacità bilaterali a vetro smerigliato più grandi. [C] TC con mdc intravenoso in paziente femmina di 65 anni con opacità a vetro smerigliato e con notevole distribuzione periferica. (57)

La malattia viene considerata severa quando si verifica almeno una delle seguenti condizioni:

- Mancanza di respiro
- SPO<sub>2</sub> < 94% in aria ambiente
- RR > 30 respiri/min
- PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> < 300 mmHg

- Progressione significativa delle lesioni al torace (> 50%) entro 24-48 h, visibile all'imaging

Questo stadio si associa anche ad una coagulopatia, evidenziabile da un aumento del D-dimero e dei prodotti di degradazione della fibrina e del fibrinogeno. La coagulopatia associata a COVID-19 deve essere gestita utilizzando la profilassi tromboembolica e le misure standard di terapia di supporto per i pazienti con coagulopatia indotta da sepsi o CID.

La patologia vascolare diffusa, a sua volta, conduce a svariate manifestazioni extra-polmonari tra cui danno miocardico, lesioni neurologiche con encefalite e mialgia, manifestazioni cutanee con eruzione cutanea ed orticaria e danno renale acuto. (58) Infine, lo stadio critico di malattia si raggiunge quando c'è insufficienza respiratoria e necessità di ventilazione meccanica, shock o insufficienza multiorgano. Un fattore predittivo fondamentale per la necessità di ventilazione meccanica è la circonferenza del collo, con aumento del rischio di intubazione del 26% per ogni centimetro in più. (59)

Al momento del ricovero ospedaliero, nella maggior parte dei casi, i segni vitali risultano essere stabili. Gli esami del sangue, invece, mostrano una diminuzione della conta dei globuli bianchi (leucopenia e linfopenia) in più dell'80% dei pazienti.

Risultano diminuite tutte le sottopopolazioni linfocitarie, compresi linfociti T CD4+, T CD8+, T regolatori, B e NK. Valori che risultano spesso aumentati, invece, sono: D-Dimero, proteina-C reattiva, Velocità di Eritrosedimentazione, transaminasi e Ferritina. L'aumento di queste ultime due, in particolare, viene attribuito al danno epatico.

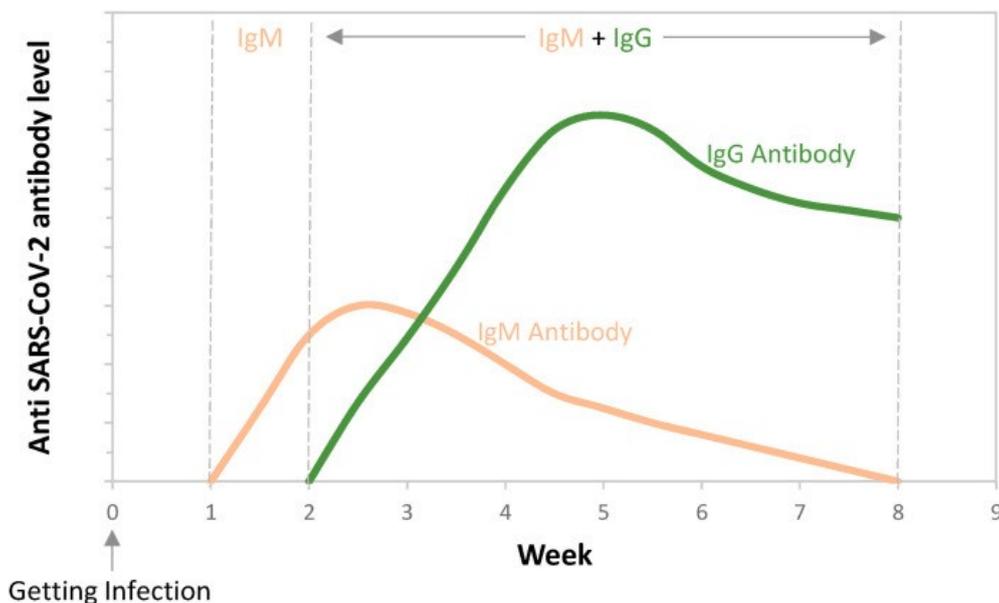
Secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) il tempo medio di guarigione è di circa due settimane per le infezioni lievi e di 3/6 settimane per i casi più gravi.

### 1.2.4 Dosaggio anticorpale

Il primo test anticorpale è stato dimostrato dall'istituto di virologia di Wuhan il 17 febbraio 2020. (60)

I pazienti che hanno contratto l'infezione da SARS-CoV-2 sviluppano anticorpi IgM anti-N, IgG anti-N, IgG anti-S1 e IgA anti-S1.

Le IgA anti-S1 sono presenti principalmente nelle membrane mucose come le vie respiratorie e digerenti, la saliva, le lacrime, il sangue, il tratto genito-urinario ed il rinofaringe. Le IgA anti-S1 iniziano a diminuire dopo un mese dalla diagnosi, ma rimangono rilevabili anche in seguito. Le IgM anti-N sono un segno di infezione recente o attiva, dopo circa due mesi dalla diagnosi non sono più rilevabili nel siero del paziente. Le IgG anti-N e anti-S1 sono gli anticorpi che iniziano a svilupparsi circa due/tre settimane dopo l'infezione e sono i più specifici perché rimangono nel tempo. Per questo motivo i test sierologici tendenzialmente vanno a ricercare le IgG. Solitamente i titoli anticorpali IgG anti-S1 e IgG anti-N dei soggetti sintomatici sono più alti rispetto ai soggetti che hanno contratto l'infezione senza mostrare sintomatologia. (61)



**Figura 12.** Andamento della risposta anticorpale di un individuo che ha contratto SARS-CoV-2. La sieroconversione da IgM a IgG avviene circa al dodicesimo giorno dopo l'esordio sintomatologico. (61).

Secondo un recente studio gli anticorpi generati dal vaccino Comirnaty BNT162b2 aumentano più lentamente e diminuiscono più rapidamente di quelli generati dal vaccino Spikevax 1273. Inoltre, gli anziani che hanno ricevuto il vaccino Comirnaty BNT162b2 hanno sviluppato meno anticorpi dei giovani a cui era stato somministrato lo stesso vaccino. Non è ancora chiaro, però, se la maggiore risposta anticorpale a Spikevax 1273 si traduca in una migliore protezione da SARS-CoV-2 nel mondo reale. (62)

### 1.2.5 Gestione e terapia della COVID-19

Il primo passo è garantire che l'infezione non venga ulteriormente trasmessa ai familiari, ai pazienti e al personale sanitario, se il soggetto si trova in un presidio ospedaliero. Questo avviene mediante un adeguato isolamento. Secondo le ultime linee guida (aggiornate al 31 agosto 2022) (63), per i casi che sono sempre stati asintomatici oppure sono stati dapprima sintomatici ma risultano asintomatici da almeno 2 giorni, l'isolamento può terminare dopo 5 giorni, purché venga effettuato un test, antigenico o molecolare, che risulti negativo, al termine del periodo d'isolamento. In caso di positività persistente si può interrompere l'isolamento al termine del quattordicesimo giorno dal primo tampone positivo, a prescindere dall'effettuazione del test.

Per il funzionamento ottimale degli organi vitali le procedure terapeutiche esistenti per la diagnosi ed il recupero del paziente si concentrano principalmente sul trattamento sintomatico e sulla successiva terapia di supporto. Una malattia lieve dovrebbe essere trattata a casa, seguendo rigorosamente le indicazioni degli operatori sanitari. La sua gestione comprende il trattamento dei sintomi con l'utilizzo di Paracetamolo e/o FANS al bisogno, insieme ad un'adeguata idratazione. La vitamina C ed i probiotici possono essere utilizzati per migliorare la risposta immunitaria. (64)

Per i pazienti ospedalizzati le linee guida attuali (65) (aggiornate all'8 agosto 2022), suddividono i pazienti in quattro categorie in base alla loro condizione clinica:

- Pazienti ricoverati in ospedale per COVID-19 e che non richiedono ossigeno supplementare: è raccomandato l'utilizzo di Remdesivir per cinque giorni o fino alla dimissione ospedaliera. In questi pazienti non è raccomandato l'uso di Desametasone o altri corticosteroidi sistemici.
- Pazienti che richiedono ossigeno convenzionale: in pazienti che richiedono dosi minime di ossigeno convenzionale è sufficiente l'utilizzo di Remdesivir, per pazienti che richiedono dosi superiori si raccomanda l'associazione con Desametasone oppure altri corticosteroidi a dosi equivalenti (Prednisone, Metilprednisone, Idrocortisone) se quest'ultimo non è disponibile. Nel caso in cui Remdesivir non fosse disponibile è comunque raccomandato l'utilizzo del Desametasone. Inoltre in pazienti

che presentano infiammazione sistemica e rapido incremento della necessità di ossigeno è possibile associare alla terapia un secondo farmaco immunomodulante come Baracitinib o Tocilizumab. Nei pazienti che presentano livelli di D-Dimero superiori alla soglia viene raccomandato l'uso di eparina a dose profilattica.

➤ Pazienti che richiedono ossigeno con cannula nasale ad alto flusso o NIV: le Linee Guida attuali raccomandano l'utilizzo di una delle seguenti combinazioni:

- Desametasone più Baricitinib OS, se non disponibile sostituibile con Tofacitinib OS
- Desametasone più Tocilizumab IV, se non disponibile sostituibile con Sarilumab IV
- Desametasone singolarmente se i farmaci precedenti non risultano essere disponibili

In caso di eventi tromboembolici si somministra eparina a dose profilattica.

➤ Pazienti che richiedono ventilazione meccanica o ECMO: le raccomandazioni sono le stesse del paragrafo precedente. In aggiunta, a partire da Dicembre 2021 le linee guida internazionali hanno approvato l'utilizzo di Anakinra, inibitore di IL-1, per il trattamento di questi pazienti.

Patient Disposition	Recommendations for Antiviral or Immunomodulator Therapy		Recommendations for Anticoagulant Therapy
	Clinical Scenario	Recommendation	
Hospitalized for Reasons Other Than COVID-19	Patients with mild to moderate COVID-19 who are at high risk of progressing to severe COVID-19 <sup>a</sup>	See <a href="#">Therapeutic Management of Nonhospitalized Adults With COVID-19</a> .	For patients without an indication for therapeutic anticoagulation: • <b>Prophylactic dose of heparin</b> , unless contraindicated (A1); (B11) for pregnant patients
Hospitalized but Does Not Require Oxygen Supplementation	All patients	The Panel <b>recommends against</b> the use of <b>dexamethasone (A1a)</b> or other systemic corticosteroids (A11) for the treatment of COVID-19. <sup>3</sup>	
Hospitalized and Requires Conventional Oxygen <sup>d</sup>	Patients who are at high risk of progressing to severe COVID-19 <sup>a</sup>	<b>Remdesivir<sup>e</sup> (B11)</b>	For nonpregnant patients with D-dimer levels above the ULN who do not have an increased bleeding risk: • <b>Therapeutic dose of heparin<sup>f</sup> (C1a)</b>  For other patients: • <b>Prophylactic dose of heparin</b> , unless contraindicated (A1); (B11) for pregnant patients
	Patients who require minimal conventional oxygen	<b>Remdesivir<sup>e</sup> (B1a)</b>	
	Most patients	Use <b>dexamethasone plus remdesivir<sup>e</sup> (B1a)</b> . If remdesivir cannot be obtained, use <b>dexamethasone (B1)</b> .	
Hospitalized and Requires HFNC Oxygen or NIV	Patients who are receiving dexamethasone and who have rapidly increasing oxygen needs and systemic inflammation	Add <b>PO baricitinib<sup>g</sup> or IV tocilizumab<sup>g</sup></b> to 1 of the options above (B1a).	For patients without an indication for therapeutic anticoagulation: • <b>Prophylactic dose of heparin</b> , unless contraindicated (A1); (B11) for pregnant patients  For patients who are started on a therapeutic dose of heparin in a non-ICU setting and then transferred to the ICU, the Panel recommends switching to a <b>prophylactic dose of heparin</b> , unless there is another indication for therapeutic anticoagulation (B11).
Most patients	Promptly start 1 of the following, if not already initiated: • <b>Dexamethasone plus PO baricitinib<sup>g</sup> (A1)</b> • <b>Dexamethasone plus IV tocilizumab<sup>g</sup> (B1a)</b>  If <b>baricitinib, tofacitinib, tocilizumab, or sarilumab</b> cannot be obtained: • <b>Dexamethasone<sup>h</sup> (A1)</b>  Add <b>remdesivir</b> to 1 of the options above in certain patients (C1a). <sup>1</sup>		

Figura 13. Gestione terapeutica dei pazienti adulti ricoverati con COVID-19 (65)

## **2. SCOPO DELLO STUDIO**

Lo scopo di questo studio è valutare se la risposta anticorpale alla vaccinazione anti SARS-CoV-2 sia ridotta nei pazienti affetti da malattie autoinfiammatorie in trattamento. È stato inoltre indagato il grado di protezione, nei confronti dell'infezione e delle sue complicanze, raggiunto nei pazienti trattati rispetto ai non trattati. Infine, come scopo secondario dello studio, sono state analizzate le caratteristiche cliniche dei pazienti affetti da malattie autoinfiammatorie che hanno contratto l'infezione da SARS-CoV-2 nel periodo compreso tra marzo 2020 e agosto 2022.

### **3. PAZIENTI E METODI**

#### **3.1. ANALISI DELLA RISPOSTA ANTICORPALE POST VACCINAZIONE**

I soggetti inclusi sono pazienti affetti da diverse malattie autoinfiammatorie (AOSD, FMF, TRAPS, CINCA, SCHNITZLER, CRIO NALP12) seguiti presso l'Ambulatorio Malattie Autoinfiammatorie dell'UOC di Reumatologia dell'Azienda Ospedaliera-Universitaria di Padova.

Lo studio ha coinvolto quarantatré pazienti (età media pari a 48.4 ( $\pm$ 13.9) anni, 60,5% (n=26), femmine) sottoposti a vaccinazione anti-SARS-CoV-2 con vaccino a mRNA BNT162b2 e vaccino a mRNA-1273. Un solo paziente ha effettuato la vaccinazione con AZD1222 (ChAdOx1).

L'analisi sierologica per valutare la risposta anticorpale è stata effettuata in media 39.19 ( $\pm$  32.03) giorni dopo la seconda dose di vaccino (T3). A sei mesi dal primo dosaggio ne è stato effettuato un secondo (T6). I pazienti dello studio che hanno effettuato i primi due dosaggi sono trentatré (76,7%).

I pazienti che hanno effettuato l'analisi sierologica per valutare la risposta anticorpale dopo la dose booster sono ventiquattro (55,8%). Il terzo prelievo è stato indicato con T9 ed è stato effettuato in media 89.6 ( $\pm$  24.1) giorni dopo la dose booster.

I pazienti hanno fornito un consenso informato scritto e, a ciascuno di loro, è stato assegnato un codice di riconoscimento univoco.

Le informazioni che sono state raccolte nel database sono:

- Età
- Genere
- Tipologia di Malattia Autoinfiammatoria di cui sono affetti
- Terapia in atto, suddivisa in:
  - Inibitori di IL-1 (anakinra, canakinumab)
  - Non Inibitori di IL-1 (colchicina, corticosteroidi, nessuna terapia, altro)
- Comorbidità
- Date di somministrazione delle dosi di vaccino

- Tipologia di vaccino
- Eventuale pregressa positività a COVID-19

Si è provveduto ad effettuare dei prelievi di sangue ai soggetti e ad isolare i rispettivi sieri. Presso il Laboratorio Centrale è stato effettuato Immunoassay in Chemiluminescenza (CLIA) per ottenere l'analisi quantitativa delle IgG anti-SARS-CoV-2-RBD.

Tutte le determinazioni sono state effettuate tramite KIT MAGLUMI™ 2000 Plus Snibe Diagnostics (ref: 130219017M). I risultati sono espressi in kAU/L (Arbitrary units/mL) e in unità internazionale WHO BAU/mL (Binding antibody unit/mL).

Il test presenta sensibilità del 100% e specificità del 99.6%. Il test presenta limite di rilevabilità (LoD) pari a 0.180 AU/mL.

### **3.2. ANALISI DELL'ANDAMENTO CLINICO DELL'INFEZIONE DA SARS-CoV-2**

Quattordici pazienti (età media 48.1 (±14.8) anni) sono risultati positivi al test molecolare per COVID-19 tra marzo 2020 e agosto 2022.

I pazienti inclusi sono affetti da FMF, AOSD, Sindrome di Schnitzler e Sindrome TRAPS.

Le informazioni sociodemografiche e i dati clinici relativi all'infezione di ogni singolo paziente sono stati raccolti all'interno di un database:

- Età
- Sesso
- Tipologia di MAIS di cui sono affetti
- Terapia in atto:
  - IL-1i
  - Colchicina
  - Entrambi (IL-1i + Colchicina)
  - Corticosteroidi
  - Nessuna terapia
- Attività di malattia autoinfiammatoria al momento dell'infezione:

- Low
- Moderate
- High
- Remission
- Sintomi manifestati durante l'infezione da SARS-CoV-2
- Esposizione:
  - Ambiente lavorativo
  - Ambiente domestico
  - Ambiente ospedaliero
  - Altro
- Somministrazione vaccino anti SARS-CoV-2
- Eventuali terapie intraprese:
  - Paracetamolo
  - FANS
  - Altro
- Sospensione della terapia reumatologica durante l'infezione virale
- Outcome: domiciliare o ospedalizzato

### 3.3. STATISTICA

L'analisi statistica dei dati raccolti è stata effettuata mediante l'utilizzo del programma *GraphPad Prism9*. L'età in anni dei soggetti e i titoli anticorpali dopo i prelievi sono stati definiti come media  $\pm$  deviazione standard, mentre le variabili demografiche e le caratteristiche cliniche sono state riportate come statistica descrittiva. Per il confronto tra variabili continue è stato utilizzato il test non parametrico Mann-Whitney ( $p < 0.05$  significativo).

## 4. RISULTATI

### 4.1 ANALISI DELLA RISPOSTA ANTICORPALE POST VACCINAZIONE

#### 4.1.1 Dati demografici e clinici

Fra i soggetti che hanno aderito allo studio venti (46.5%) sono affetti da AOSD, diciassette (39.5%) da FMF tre (7%) da TRAPS, due (4.7%) da CAPS di cui una sindrome CINCA ed una Criopirinopatia da NALP12; un paziente è affetto dalla Sindrome di Schnitzler (*Tab VIII*). L'attività di malattia dei pazienti è rimasta stabile durante l'indagine.

Il 72.1% (n=31) dei pazienti è in terapia con inibitori di IL-1; di questi diciotto (18/31) assumono anakinra (Kineret) 100mg/die s.c., mentre tredici (13/31) assumono canakinumab (Ilaris) 150-300mg/4sett s.c. Oltre all'inibitore di IL-1 sei pazienti assumono anche colchicina 1 mg/die. Sette pazienti associano all'anti-IL-1 prednisone (con valore medio di 10mg/die). Due pazienti associano all'anti-IL-1 methotrexate 15 mg/settimana, un paziente associa all'inibitore di IL-1 un JAK inibitore (Ruxolitinib) 30 mg/die e prednisone 5 mg/die.

Sette pazienti (16.2%) assumono colchicina 1 mg/die; un paziente assume prednisone 2 mg/die; quattro pazienti non assumono attualmente alcuna terapia. In totale, il 27.9% (n=12) non è in terapia con inibitori di IL-1.

Cinque pazienti (11.6%) presentano delle comorbidità. Vi sono due pazienti con ipertensione arteriosa, di cui uno affetto anche da artrite reumatoide ed artrite gottosa ed uno affetto anche da ipercolesterolemia. Un soggetto è affetto da Tiroidite di Hashimoto, un altro è affetto da fibromialgia. Un paziente ha una malformazione arterovenosa cerebrale.

Il 93% dei soggetti (n = 40) è stato vaccinato con vaccino a mRNA Comirnaty BNT162b2 ed il richiamo è avvenuto ad una media di 22.57 ( $\pm$  1.94) giorni dalla prima somministrazione. Due pazienti (4.7%) sono stati vaccinati con vaccino a mRNA Spikevax 1273 ed il richiamo è avvenuto ad una media di 24.5 ( $\pm$  3.5) giorni dalla prima somministrazione. Un solo paziente è stato vaccinato con vaccino AZD1222 ChAdOx1 ed il richiamo è avvenuto a 14 giorni dalla prima somministrazione.

I pazienti riferiscono di aver avuto nessuno o lievi effetti indesiderati a seguito della somministrazione vaccinale, principalmente dolore in sede di inoculazione, astenia e febbre della durata di 1-2 giorni.

**Tabella VIII.** Caratteristiche demografiche, cliniche e terapia in atto dei pazienti affetti da MAIS sottoposti a vaccinazione anti Sars-CoV-2. AOSD: Adult-Onset Still's Disease; FMF: Familial Mediterranean Fever; TRAPS: TNF receptor-associated periodic syndrome; CAPS: Cryopyrin-Associated Autoinflammatory Syndromes.

<b>N (%)</b>	
<b>TOT.</b>	
<b>43</b>	
<b>Caratteristiche demografiche</b>	
Età, anni (DS)	48.4 (± 13.9)
Sesso femminile	26 (60.5)
Sesso maschile	17 (39.5)
<b>Tipo di MAIS</b>	
AOSD	20 (46.5)
FMF	17 (39.5)
TRAPS	3 (7)
CAPS	2 (4.7)
Schnitzler	1 (2.3)
<b>Terapia immunomodulante</b>	
Inibitori IL-1	31 (72.1)
Colchicina	13 (30.2)
JAK inibitori	1 (2.3)
Methotrexate	2 (4.7)
Glucocorticoidi < 10 mg/die	8 (18.6)
Glucocorticoidi > 10 mg/die	1 (2.3)
Nessuna terapia	4 (9.3)
<b>Tipologia di vaccino</b>	
mRNA Comirnaty BNT162b2	40 (93)
mRNA Spikevax 1273	2 (4.7)
AZD1222 ChAdOx1	1 (2.3)

#### 4.1.2. Risultati dell'analisi sierologica

##### T3: ANALISI SIEROLOGICA DOPO LE PRIME DUE DOSI DI VACCINO

L'analisi sierologica è stata effettuata ad una media di 39.19 ( $\pm 32.03$ ) giorni dopo la seconda dose di vaccino.

*Tabella IX.* Per ogni partecipante sono indicate le date della somministrazione della prima dose vaccinale, della seconda dose, il giorno dell'effettuazione del prelievo per l'analisi sierologica e il tempo trascorso tra questo e l'ultima vaccinazione.

ID	1 DOSE (2021)	2 DOSE (2021-2022)	PRELIEVO	INTERVALLO
C001	14-apr	no	27-mag	43 giorni
C001-est	7-mar	22-mar	21-mag	60 giorni
C002-est	17-mar	no	17-mag	61 giorni
C003	27-apr	22-mag	28-mag	6 giorni
C005	28-apr	19-mag	1-giu	13 giorni
C006	28-apr	19-mag	31-mag	12 giorni
C007	28-apr	19-mag	1-giu	13 giorni
C008	27-apr	18-mag	4-giu	17 giorni
C009	8-apr	29-apr	4-giu	36 giorni
C010	26-apr	17-mag	7-giu	21 giorni
C011	22-apr	16-mag	7-giu	22 giorni
C012	8-mag	23-mag	7-giu	15 giorni
C013	28-apr	21-mag	9-giu	13 giorni
C014	23-apr	7-mag	9-giu	32 giorni
C015	3-apr	18-apr	9-giu	52 giorni
C016	3-mag	22-mag	10-giu	19 giorni
C017	29-apr	20-mag	11-giu	23 giorni
C018	23-apr	16-mag	11-giu	27 giorni
C019	26-apr	22-mag	15-giu	25 giorni
C020	27-apr	18-mag	16-giu	28 giorni
C021	27-apr	22-mag	19-giu	27 giorni
C022	1-apr	30-apr	18-giu	48 giorni
C023	26-mar	16-apr	18-giu	62 giorni
C025	No	6-giu	21-giu	15 giorni
C026	23-mag	7-giu	21-giu	14 giorni
C027	23-mag	7-giu	23-giu	16 giorni
C028	3-mag	31-mag	23-giu	23 giorni
C029	23-apr	19-mag	24-giu	35 giorni
C030	14-mag	17-giu	24-giu	7 giorni
C031	11-gen	4-feb	25-giu	140 giorni
C032	6-mag	21-mag	20-giu	60 giorni
C033	25-mag	15-giu	28-giu	13 giorni
C034	23-mar	no	5-lug	102 giorni
C035	7-giu	22-giu	13-lug	21 giorni
C036	11-giu	26-giu	16-lug	20 giorni
C037	6-giu	27-giu	26-lug	31 giorni
C038	6-mag	21-mag	4-ago	74 giorni
C041	13-mag	3-giu	20-ago	77 giorni
C042	16-apr	7-mag	27-ago	110 giorni
C043	15-apr	no	27-ago	130 giorni
C048	8-ago	23-ago	30-set	37 giorni
C049	6-giu	11-lug	8-ott	27 giorni
C064	5-set	20-set	19-nov	58 giorni

**Tabella X.** Titoli anticorpali di IgG anti-Sars-CoV-2-RBD di ogni partecipante dopo la seconda dose vaccinale. I valori sono riportati in kAU/L (K Arbitrary units/L) e in BAU/mL (Binding antibody unit/L)

<b>ID</b>	<b>T3 SARS-CoV-2 SRBD BAUmL</b>	<b>T3 SARS-CoV-2 SRBD kAU/L</b>
C001	1778.796	411.8
C001-est	1400	323.32
C002-est	381.04	88
C003	49.3	11.41
C005	6764.7	1565.9
C006	4211.6	974.9
C007	4395.2	1017.4
C008	7158.67	1657.1
C009	59.57	13.79
C010	1260.58	291.8
C011	2324.592	538.1
C012	1273.104	294.7
C013	2889.216	668.8
C014	636.678	147.4
C015	41.9688	9.715
C016	1545.696	357.8
C017	4769.28	1104
C018	1654.56	383
C019	1201.824	278.2
C020	4059.72	939.6
C021	2611.82	607.4
C022	2699.322	623.4
C023	1224.091	282.7
C025	2285.374	527.8
C026	768.142	177.4
C027	284.308	65.66
C028	3548.002	819.4
C029	2728.333	630.1
C030	1105.449	255.3
C031	943.074	217.8
C032	594.509	137.3
C033	2608.392	602.4
C034	2381.933	550.1
C035	3205.932	740.4
C036	3650.623	843.1
C037	7870.208	1817.6
C038	330.855	76.41
C041	215.4175	49.65
C042	359.69	83.07
C043	792.78	183.09
C048	2545.174	587.8
C049	989.838	228.6
C064	644.3	148.8

Gli anticorpi IgG anti-Sars-CoV-2-RBD sono stati riscontrati in tutti i soggetti partecipanti allo studio, come riportato in *tabella X*. Il valore del titolo anticorpale a T3 risulta in media pari a 2145.20 BAU/ml ( $\pm$  1901.22), 495.43 KAU/L.

La tabella XI. mostra i valori dei pazienti in base alla terapia assunta in:

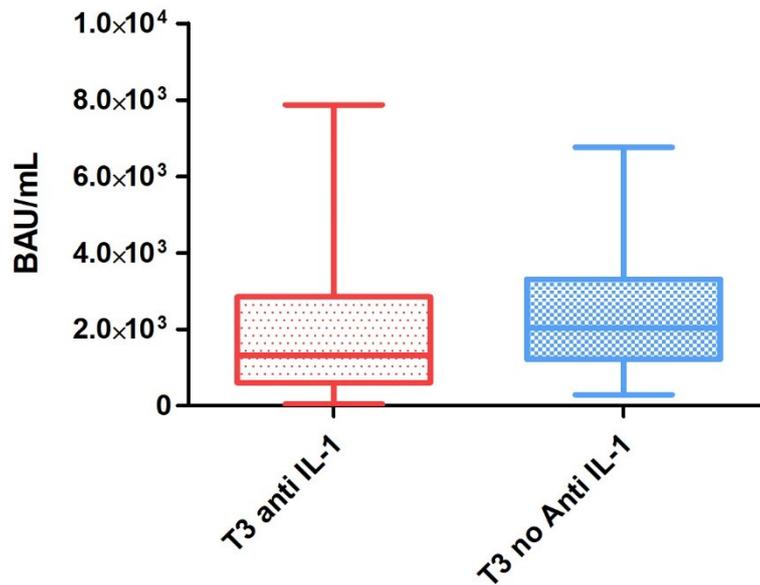
- Gruppo 1: pazienti in terapia con inibitori di IL-1 (anakinra, canakinumab)
- Gruppo 2: pazienti non in terapia con farmaci anti IL1 (in trattamento con colchicina o cortisone < 10 mg o nessuna terapia).

I pazienti in terapia con anti-IL1 hanno mostrato un titolo di IgG anti-Sars-CoV-2 medio pari a 2049.636 BAU/mL ( $\pm$ 1965.01), 473.36 kAU/L. I pazienti del gruppo 2 hanno mostrato un titolo anticorpale medio pari a 2392.077 BAU/ml ( $\pm$  1700.87), 552.44 kAU/L.

Come illustrato in *figura 14*, la differenza tra i due gruppi non è risultata statisticamente significativa ( $p= 0.3495$ ).

**Tabella XI.** Titoli anticorpali suddivisi a seconda della terapia assunta per la malattia autoinfiammatoria. In dettaglio, si sono divisi i pazienti che assumono IL1i (anakinra o canakinumab), da coloro che non assumono questi farmaci. I valori sono riportati in kAU/L (K Arbitrary units/L) e in BAU/mL (Binding antibody unit/mL). (\*): con l'asterisco sono segnati i pazienti che associano methotrexate (MTX) alla terapia in corso.

GRUPPO IN TERAPIA CON IL-1i			GRUPPO NON IN TERAPIA CON IL-1i		
ID	BAU/mL	kAU/L	ID	BAU/mL	kAU/L
C001-est	1400	323.32	C001	1778.796	411.8
C002-est*	381.04	88	C005	6764.7	1565.9
C003	49.3	11.41	C006	4211.6	974.9
C007	4395.2	1017.4	C010	1260.58	291.8
C008	7158.67	1657.1	C012	1273.104	294.7
C009	59.57	13.79	C019	1201.824	278.2
C011	2324.592	538.1	C025	2285.374	527.8
C013	2889.216	668.8	C027	284.308	65.66
C014*	636.678	147.4	C028	3548.002	819.4
C015	41.9688	9.715	C031	943.074	217.8
C016	1545.696	357.8	C033	2608.392	602.4
C017	4769.28	1104	C048	2545.174	587.8
C018	1654.56	383			
C020	4059.72	939.6			
C021	2611.82	607.4			
C022	2699.322	623.4			
C023	1224.091	282.7			
C026	768.142	177.4			
C029	2728.333	630.1			
C030	1105.449	255.3			
C032	594.509	137.3			
C034	2381.933	550.1			
C035	3205.932	740.4			
C036	3650.623	843.1			
C037	7870.208	1817.6			
C038	330.855	76.41			
C041	215.4175	49.65			
C042	359.69	83.07			
C043	792.78	183.09			
C049	989.838	228.6			
C064	644.3	148.8			



**Figura 14.** Titoli anticorpali dei pazienti in terapia con inibitori di IL-1 e dei pazienti non in terapia con inibitori di IL-1 al tempo T3. La differenza tra i due gruppi non è statisticamente significativa,  $p= 0.3495$ .

#### **T6: ANALISI SIEROLOGICA DOPO SEI MESI DALLA SOMMINISTRAZIONE DELLA SECONDA DOSE DI VACCINO**

L'analisi sierologica dopo sei mesi dalla somministrazione della seconda dose di vaccino è stata effettuata su un campione di 28/43 partecipanti allo studio, ad una media di 182.28 ( $\pm 11.95$ ) giorni dopo la seconda dose di vaccino.

Tre pazienti non hanno effettuato la seconda dose poiché hanno contratto l'infezione da SARS-CoV-2 prima della vaccinazione, pertanto, per calcolare l'intervallo si fa riferimento alla prima dose di somministrazione vaccinale (vedi Tab. IX).

**Tabella XII.** Per ogni partecipante sono indicate le date della somministrazione della seconda dose vaccinale, il giorno dell'effettuazione del secondo prelievo per l'analisi sierologica e il tempo trascorso tra questo e l'ultima vaccinazione.

ID	2 DOSE (2021)	PRELIEVO (2021)	INTERVALLO
C001	no	29-sett	168 giorni
C002-est	no	23-sett	190 giorni
C003	22-mag	19-nov	181 giorni
C005	19-mag	22-nov	187 giorni
C006	19-mag	22-nov	187 giorni
C007	19-mag	9-nov	174 giorni
C008	18-mag	19-nov	185 giorni
C009	29-apr	26-ott	180 giorni
C010	17-mag	13-nov	180 giorni
C011	16-mag	13-nov	181 giorni
C012	23-mag	12-nov	173 giorni
C013	21-mag	23-nov	186 giorni
C015	18-apr	9-nov	205 giorni
C017	20-mag	22-nov	186 giorni
C018	16-mag	3-nov	171 giorni
C019	22-mag	5-nov	167 giorni
C020	18-mag	15-nov	181 giorni
C021	22-mag	22-nov	184 giorni
C022	30-apr	27-ott	180 giorni
C023	16-apr	25-ott	192 giorni
C026	7-giu	13-dic	189 giorni
C027	7-giu	14-dic	190 giorni
C028	31-mag	6-dic	189 giorni
C031	4-feb	8-sett	216 giorni
C032	21-mag	25-ott	157 giorni
C033	15-giu	6-dic	174 giorni
C034	no	29-sett	190 giorni
C038	21-mag	29-ott	161 giorni

Gli anticorpi IgG anti-Sars-CoV-2-RBD sono stati riscontrati in tutti i soggetti partecipanti allo studio, come riportato in *tabella XIII*. Il valore del titolo anticorpale a sei mesi dalla seconda dose vaccinale risulta in media pari a 237.96 BAU/ml ( $\pm 283.47$ ), 54.96 KAU/L.

**Tabella XIII.** Titoli anticorpali di IgG anti-Sars-CoV-2-RBD di ogni partecipante a sei mesi dalla seconda dose vaccinale. I valori sono riportati in kAU/L (K Arbitrary units/L) e in BAU/mL (Binding antibody unit/mL).

ID	T6 SARS-CoV-2 SRBD BAU/mL	T6 SARS-CoV-2 SRBD kAU/L
C001	519.6	120.04
C002-est	345.4041	79.77
C003	12.2	2.81
C005	32.7	7.545
C006	376.5	86.94
C007	67.5	15.58
C008	213.3	49.26
C009	2.5	0.574
C010	41.9	9.677
C011	490.6	113.3
C012	39.2	9.063
C013	116.4	26.89
C015	60.187	13.9
C017	383	88.45
C018	113	26.09
C019	74	17.08
C020	146	33.72
C021	379.6	87.66
C022	53.4	12.34
C023	142.9	33.01
C026	14.6	3.37
C027	84.2	19.45
C028	467.6	108
C031	1010.89	233.3
C032	87.3	20.16
C033	73	16.86
C034	1163.904	268.8
C038	151.6	35.01

La tabella XIV. mostra i valori dei pazienti in base alla terapia assunta in:

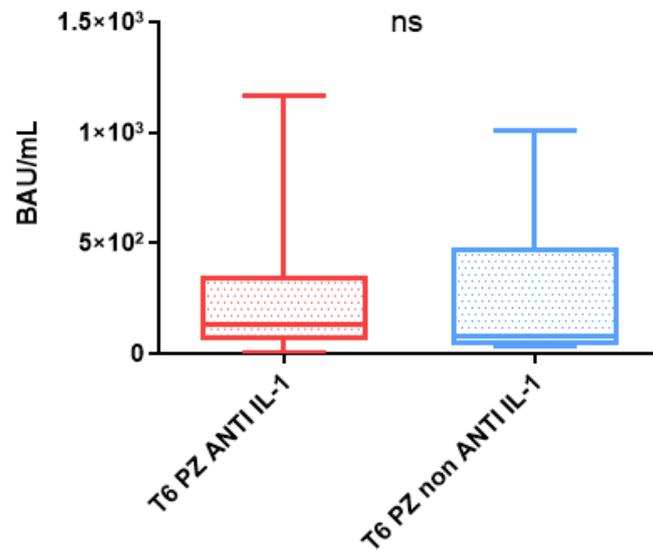
- Gruppo 1: pazienti in terapia con inibitori di IL-1 (anakinra, canakinumab)
- Gruppo 2: pazienti non in terapia con farmaci anti IL1 (in trattamento con colchicina o cortisone < 10 mg o nessuna terapia).

I pazienti in terapia con anti-IL1 hanno mostrato un titolo di IgG anti-Sars-CoV-2 medio pari a 219.08 BAU/mL ( $\pm$  268.44), 50.76 kAU/L. I pazienti del gruppo 2 hanno mostrato un titolo anticorpale medio pari a 271.96 BAU/ml ( $\pm$ 305.76), 62.8 kAU/L.

Come illustrato in *figura 15*, la differenza tra i due gruppi non è risultata statisticamente significativa ( $p = 0.6510$ ).

*Tabella XIV. Titoli anticorpali suddivisi a seconda della terapia assunta per la malattia autoinfiammatoria. In dettaglio, si sono divisi i pazienti che assumono IL1i (Anakinra o Canakinumab), da coloro che non assumono questi farmaci. I valori sono riportati in kAU/L (K Arbitrary units/L) e in BAU/mL (Binding antibody unit/mL). (\*): con l'asterisco sono segnati i pazienti che associano Methotrexate (MTX) alla terapia in corso.*

GRUPPO IN TERAPIA CON IL-1i			GRUPPO NON IN TERAPIA CON IL-1i		
ID	BAU/mL	kAU/L	ID	BAU/mL	kAU/L
C002-est*	345.4041	79.77	C001	519.6	120.04
C003	12.2	2.81	C005	32.7	7.545
C007	67.5	15.58	C006	376.5	86.94
C008	213.3	49.26	C010	41.9	9.677
C009	2.5	0.574	C012	39.2	9.063
C011	490.6	113.3	C019	74	17.08
C013	116.4	26.89	C027	84.2	19.45
C015	60.187	13.9	C028	467.6	108
C017	383	88.45	C031	1010.89	233.3
C018	113	26.09	C033	73	16.86
C020	146	33.72			
C021	379.6	87.66			
C022	53.4	12.34			
C023	142.9	33.01			
C026	14.6	3.37			
C032	87.3	20.16			
C034	1163.904	268.8			
C038	151.6	35.01			



**Figura 15.** Titoli anticorpali dei pazienti in terapia con anti IL.1 e dei pazienti non in terapia con inibitori di IL-1 al tempo T6. La differenza tra i due gruppi non è statisticamente significativa, con  $p= 0.9809$ .

## T9: ANALISI SIEROLOGICA DOPO LA DOSE BOOSTER DI VACCINO

L'analisi sierologica dopo la dose booster è stata condotta su un campione di 22/43 pazienti. Il terzo prelievo (T9) è stato effettuato ad una media di 89.6 ( $\pm$  24.1) giorni dopo la dose booster di vaccino.

*Tabella XV. Per ogni partecipante sono indicate le date della somministrazione della dose booster vaccinale, il giorno dell'effettuazione del terzo prelievo per l'analisi sierologica e il tempo trascorso tra questo e l'ultima vaccinazione.*

ID	Dose Booster (2021-2022)	Prelievo (2022)	Intervallo
C002-est	4-ott	15-feb	134 giorni
C001	9-nov	15-feb	98 giorni
C003	7-dic	10-mar	93 giorni
C005	3-dic	11-mar	98 giorni
C006	3-dic	11-mar	98 giorni
C007	26-dic	8-mar	72 giorni
C008	4-dic	9-mar	95 giorni
C011	28-nov	25-feb	89 giorni
C013	30-dic	15-mar	75 giorni
C015	2-dic	16-mar	104 giorni
C017	15-dic	21-feb	68 giorni
C019	6-dic	17-feb	73 giorni
C021	30-nov	22-feb	84 giorni
C022	15-dic	22-feb	69 giorni
C023	24-gen-22	15-mar	50 giorni
C031	4-dic	9-mar	95 giorni
C032	23-dic	27-apr	125 giorni
C033	15-dic	4-mar	79 giorni
C038	11-nov	18-feb	99 giorni
C042	27-sett	18-feb	144 giorni
C049	3-gen-22	4-apr	91 giorni
C064	15-gen-22	22-feb	38 giorni

Gli anticorpi IgG anti-Sars-CoV-2-RBD sono stati riscontrati in tutti i soggetti partecipanti allo studio, come riportato in *tabella XVI*. Il valore del titolo anticorpale risulta in media pari a 3354.07 BAU/ml ( $\pm$  3703.66), 774.6 kAU/L.

**Tabella XVI.** Titoli anticorpali di IgG anti-Sars-CoV-2-RBD di ogni partecipante dopo la dose booster del vaccino. I valori sono riportati in kAU/L (K Arbitrary units/L) e in BAU/mL (Binding antibody unit/mL).

ID	T9 SARS-CoV-2 SRBD BAU/mL	T9 SARS-CoV-2 SRBD kAU/L
C002-est	340.16	78.56
C001	1364.82	315.2
C019	667.25	154.1
C038	2404.45	555.3
C042	376.15	86.87
C017	1814.27	419
C064	1162.6	268.5
C021	2316.1	534.9
C022	2522.2	582.5
C011	7971.5	1841
C033	403.86	93.27
C007	1361.35	314.4
C031	1397.72	322.8
C008	9586.62	2214
C003	5625.54	1299.2
C005	15220.8	3515.2
C006	1154.8	266.7
C013	3144.88	726.3
C023	6937.5	1602.2
C015	6880.8	1589.1
C049	1518.96	350.8
C032	157.96	36.48

La tabella XVII. mostra i valori dei pazienti in base alla terapia assunta in:

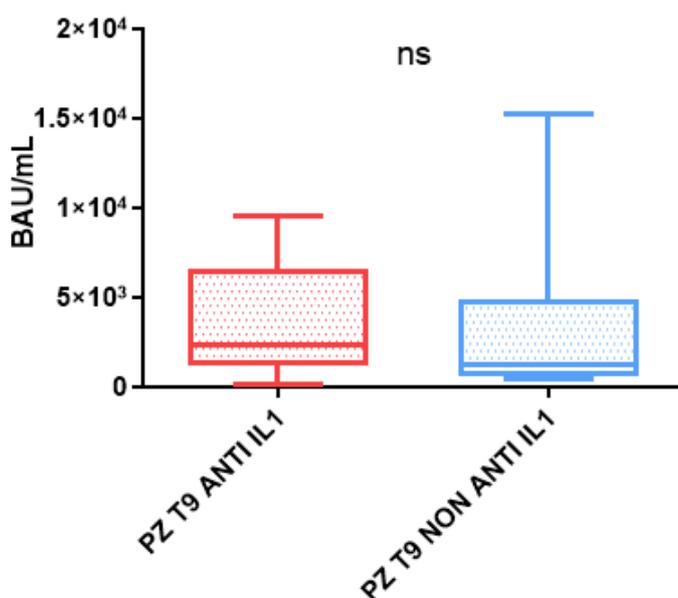
- Gruppo 1: pazienti in terapia con inibitori di IL-1 (anakinra, canakinumab)
- Gruppo 2: pazienti non in terapia con farmaci anti IL1 (in trattamento con colchicina o cortisone < 10 mg o nessuna terapia).

I pazienti in terapia con anti-IL1 hanno mostrato un titolo di IgG anti-Sars-CoV-2 medio pari a 3348.8 BAU/mL ( $\pm$  2876.83), 773.39 KAU/L. I pazienti del gruppo 2 hanno mostrato un titolo anticorpale medio pari a 3368.2 BAU/ml ( $\pm$  5312.9), 777.88 KAU/L.

Come illustrato in *figura 16*, la differenza tra i due gruppi non è risultata statisticamente significativa ( $p = 0.9940$ ).

**Tabella XVII.** Titoli anticorpali suddivisi a seconda della terapia assunta per la malattia autoinfiammatoria. In dettaglio, si sono divisi i pazienti che assumono IL1i (anakinra o canakinumab), da coloro che non assumono questi farmaci. I valori sono riportati in kAU/L (K Arbitrary units/L) e in BAU/mL (Binding antibody unit/mL). (\*): con l'asterisco sono segnati i pazienti che associano methotrexate (MTX) alla terapia in corso.

GRUPPO 1 – TERAPIA CON IL-1i			GRUPPO 2 – NON IN TERAPIA CON IL-1i		
ID	BAU/mL	kAU/L	ID	BAU/mL	kAU/L
C002-est*	340.16	78.56	C001	1364.82	315.2
C003	5625.54	1299.2	C005	15220.8	3515.2
C007	1361.35	314.4	C006	1154.8	266.7
C008	9586.62	2214	C019	667.25	154.1
C011	7971.5	1841	C031	1397.72	322.8
C013	3144.88	726.3	C033	403.86	93.27
C015	6880.8	1589.1			
C017	1814.27	419			
C021	2316.1	534.9			
C022	2522.2	582.5			
C023	6937.5	1602.2			
C032	157.96	36.48			
C038	2404.45	555.3			
C042	376.15	86.87			
C049	1518.96	350.8			
C064	1162.6	268.5			



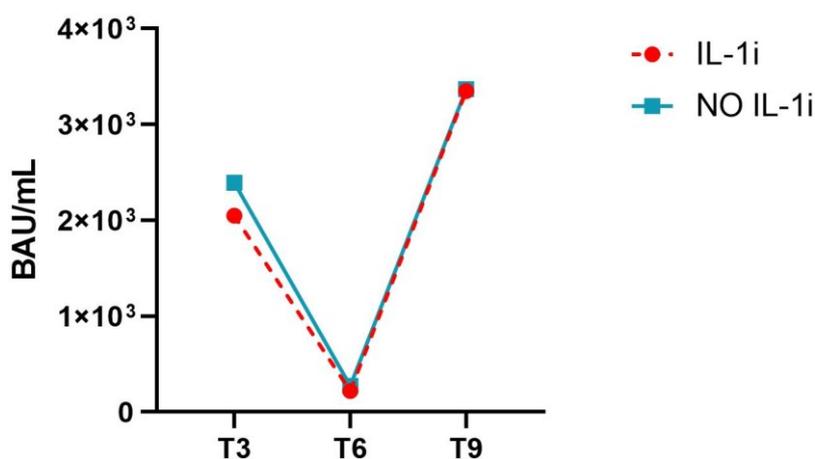
**Figura 16.** Titoli anticorpali dei pazienti in terapia con inibitori di IL-1 e dei pazienti non in terapia con inibitori di IL-1 al tempo T9. La differenza tra i due gruppi non è statisticamente significativa,  $p= 0.3568$ .

## Confronto finale ai tempi T3, T6 e T9

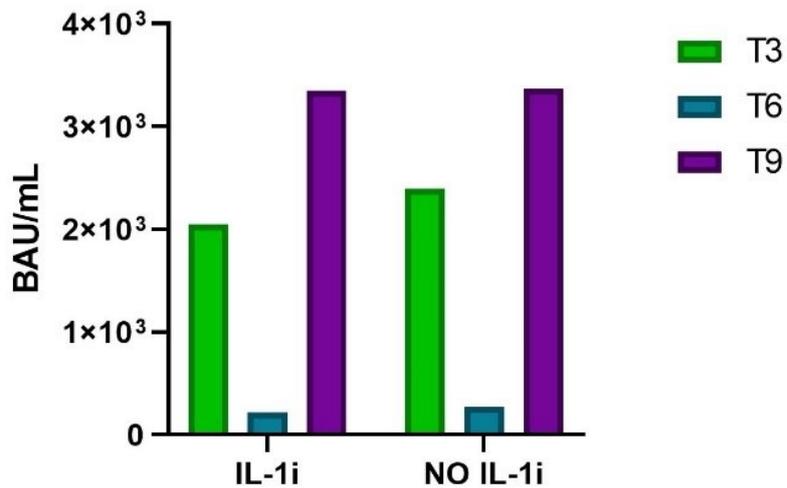
*Tabella XVIII. Livelli anticorpali medi dopo le prime due dosi di vaccino, a sei mesi dalle prime due dosi e dopo la dose booster in pazienti in terapia con inibitori di IL-1 ed in pazienti non in terapia con inibitori di IL-1. I dati sono espressi in BAU/mL.*

	T3 (BAU/mL)	T6 (BAU/mL)	T9 (BAU/mL)
<b>IL-1i</b>	2049.6	219	3348.8
<b>No IL-1i</b>	2392	271	3368.2

Da questi risultati possiamo concludere che non c'è differenza significativa tra i livelli anticorpali medi sviluppati dai pazienti in terapia con inibitori di IL-1 e quelli dei pazienti non trattati con questi farmaci, dopo le prime due dosi del vaccino, a sei mesi dalle prime due dosi e dopo la dose booster,  $p = 0.3112$ .



*Figura 17. Confronto finale delle medie dei titoli anticorpali dopo le prime due dosi di vaccino, a sei mesi dalle prime due dosi e dopo la dose booster in pazienti in terapia con inibitori di IL-1 e in pazienti non in terapia con inibitori di IL-1. A T6 e a T9 i valori sono quasi del tutto sovrapponibili.*



**Figura 18.** Confronto finale delle medie dei titoli anticorpali dopo le prime due dosi di vaccino (T3), a sei mesi dalle prime due dosi (T6) e dopo la dose booster (T9) in base alla terapia assunta dai pazienti.

#### 4.1.3. Confronto con controlli sani

##### Controlli sani (HC)

È stato selezionato un gruppo di controlli sani (*Healthy Controls, HC*), ovvero soggetti non affetti da patologie autoinfiammatorie, con il quale confrontare i titoli anticorpali nei tempi T3, T6 e T9.

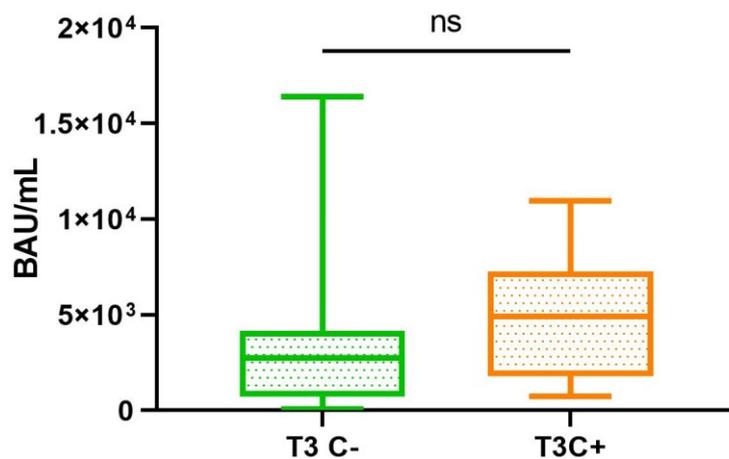
Si tratta di 55 soggetti di età media 39.7 ( $\pm$  11.26) anni. Tutti hanno effettuato la vaccinazione per SARS-CoV-2. Il prelievo dopo le prime due dosi di vaccino (T1) è stato effettuato a 28 giorni dal vaccino. Invece il prelievo dopo la terza dose di vaccino (T9) è stato effettuato in media a 99.46 ( $\pm$  23.39) giorni.

Di questi pazienti, ventidue (40%) hanno contratto l'infezione da SARS-CoV-2: dieci durante la prima ondata, otto durante la seconda ondata, uno durante la terza ondata e due durante la quarta ondata.

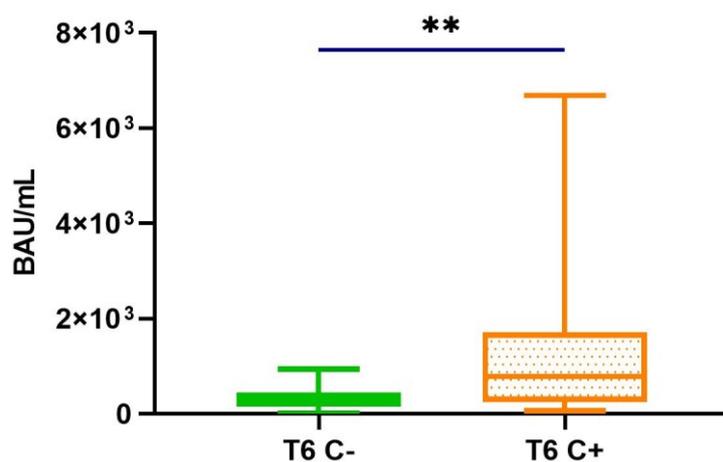
*Tabella XIX. Titolo anticorpale dei controlli sani espresso in BAU/mL dopo le prime due dosi di vaccino (T3), a sei mesi dalle prime due dosi (T6) e dopo la dose booster di vaccino (T9).*

ID	T3 SARS-CoV-2 SRBD BAU/mL	T6 SARS-CoV-2 SRBD BAU/mL	T9 SARS-CoV-2 SRBD BAU/mL
1	363.0705	250.01	352.16
2	4016.075	<b>2489.75*</b>	6027.36
3	9293.046	783.73	2921.451
4		1201.14	810.576
5		168.87	644.304
6		<b>5364.87*</b>	2978.607
7	4045.519	58.022	271.10
8	1786.125	276.1	457.681
9	4931.87	287.6	835.257
10	591.911	153.715	1160.007
11	1620.286	355.36	481.929
12	2827.49	190.82	889.815
13	2999.31	660.325	3093.35
14	5330.23	501.847	955.63
15	7238.461	1493.85	858.2
16	2003.491	261.23	902.37
17	727.007	61.66	9144.96
18	280.6706	111.281	370.2
19	854.742	116.477	450.75
20	3772.296	10.87	84.87
21	1760.145	87.466	545.15
22	2355.953	907.568	3874.05
23	2339.066	197.015	764.68
24	564.199	196.582	634.34
25	<b>11052.325*</b>	710.12	1587.378
26	7621.41	1708.62	467.64
27	<b>16407.669*</b>	532.59	8265.97
28		386.2793	8472.944
29	1843.714	455.516	4529.613
30		<b>6691.582*</b>	9264.9
31	5343.22	507.043	1013.22
32	4888.57	190.52	1428.467
33	51.9167	30.548	2447.749
34	<b>10123.54*</b>	1051.324	743.461
35	369.2624	223.60	1327.578
36	3391.256	339.039	236.03
37	198.6604	55.81	975.55
38	<b>10946.24*</b>	<b>3443.65*</b>	4685.06
39	<b>13338.998*</b>	936.58	10889.95
40		<b>2933.14*</b>	1342.3
41	77.8534	297.9	5897.46
42	2933.575	188.09	3715.14
43	824.432	78.98	462.44
44	3522.888	217.54	11383.57
45	5488.275	832.226	599.27
46	7261.41	<b>1708.62*</b>	1470.9
47	1911.695	359.39	762.08
48	2718.807	438.629	292.66
49	2895.904	330.985	4412.27
50	4261.586	350.037	1139.66
52	4931.87	287.598	3306.82
53	3502.97	131.632	1849.78
54	802.782	346.14	1404.22
55	3166.096	224.77	6352.11

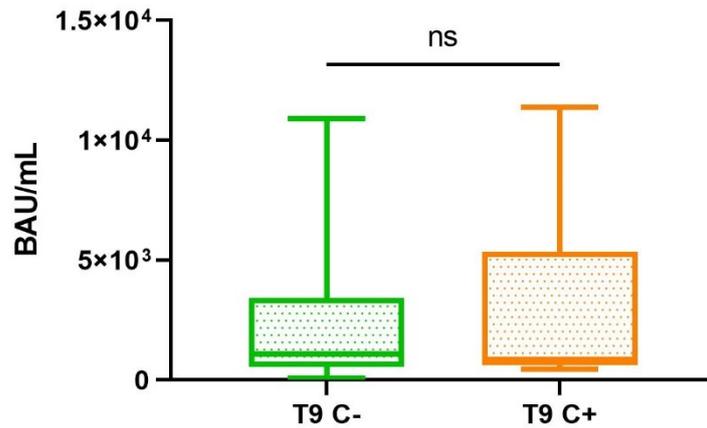
Confrontando i titoli anticorpali dopo le prime due dosi di vaccino (T3), a sei mesi dalle prime due dosi di vaccino (T6) e dopo la dose booster (T9) nei controlli sani si è evidenziato come generalmente i pazienti COVID positivi presentassero una media anticorpale più alta rispetto ai soggetti che non hanno mai contratto l'infezione.



**Figura 19.** Confronto tra livelli anticorpali dopo le prime due dosi di vaccino (T3) nei controlli sani che hanno avuto l'infezione da SARS-CoV-2 rispetto a quelli che non l'hanno avuta. La differenza tra i due gruppi non è risultata statisticamente significativa,  $p = 0.1512$ .



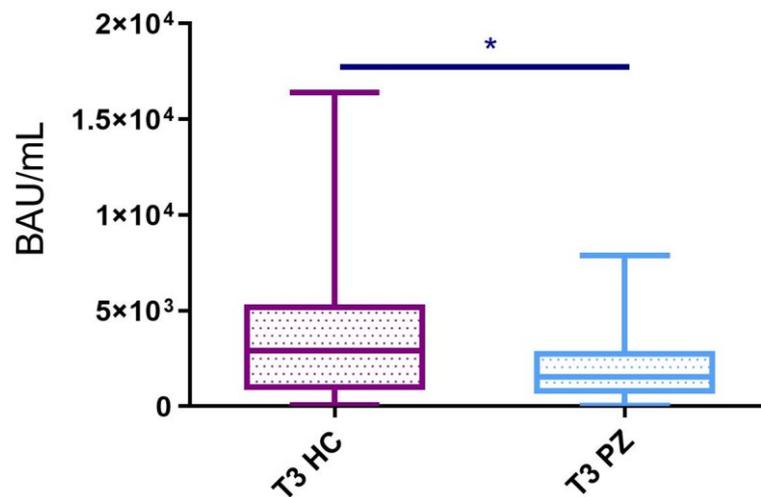
**Figura 20.** Confronto tra livelli anticorpali a sei mesi dalle prime due dosi di vaccino (T6) nei controlli sani che hanno avuto l'infezione da SARS-CoV-2 rispetto a quelli che non l'hanno avuta. La differenza tra i due gruppi è risultata statisticamente significativa,  $p < 0.05$ .



**Figura 21.** Confronto tra livelli anticorpali dopo la dose booster (T9) nei controlli sani che hanno avuto l'infezione da SARS-CoV-2 rispetto a quelli che non l'hanno avuta. La differenza tra i due gruppi non è risultata statisticamente significativa,  $p = 0.3904$ .

### T3: ANALISI SIEROLOGICA DOPO LE PRIME DUE DOSI DI VACCINO

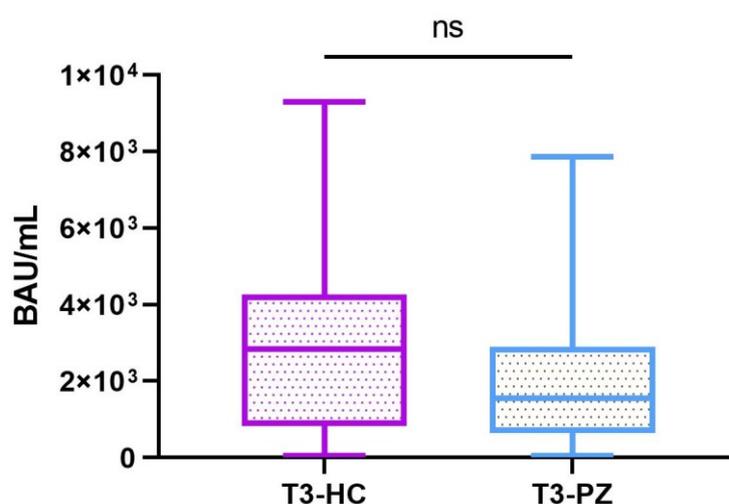
I controlli sani hanno presentato un titolo anticorpale medio a T3 di  $3641.92 (\pm 3942.04)$  BAU/mL. Confrontando questo risultato con il titolo anticorpale a T3 dei soggetti affetti da MAIS (vedi *Tab. X*) si è evidenziato come la differenza tra i due gruppi sia statisticamente significativa ( $p < 0.05$ ).



**Figura 22.** Titoli anticorpali dei pazienti affetti da MAIS e dei controlli sani (HC) al tempo T3. La differenza tra i due gruppi è risultata statisticamente significativa,  $p < 0.05$ .

Questo risultato potrebbe essere correlato con il fatto che nella coorte di controlli sani vi sono alcuni soggetti che hanno effettuato la vaccinazione subito prima o subito dopo aver contratto l'infezione da SARS-CoV-2. Per questo motivo il loro titolo anticorpale risulta nettamente superiore alla media.

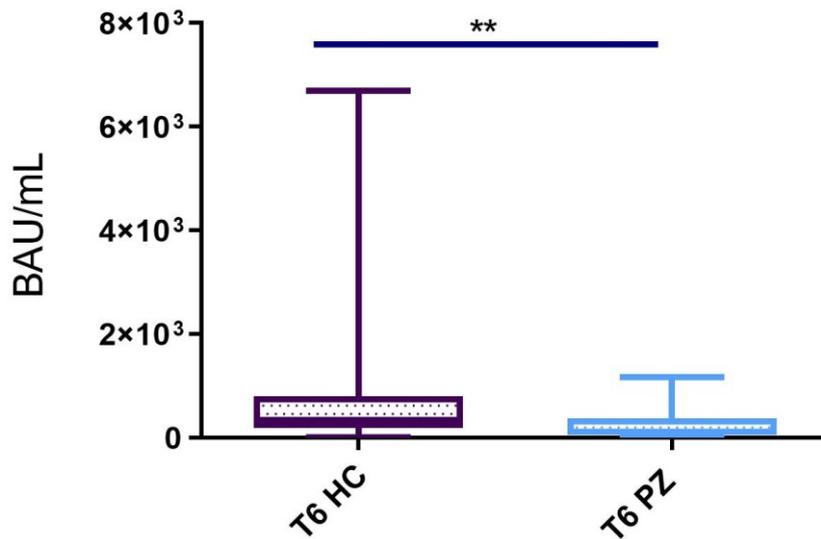
Escludendo cinque controlli sani con livello anticorpale a T3 > 10.000 BAU/mL (segnati con \* in Tab. XIX), il titolo anticorpale medio è di 2969.97 ( $\pm$  2246.65) BAU/mL. Confrontando questo risultato con il titolo anticorpale a T3 dei soggetti affetti da MAIS la differenza tra i due gruppi non è risultata statisticamente significativa,  $p = 0.0729$ .



**Figura 23.** Titoli anticorpali dei pazienti affetti da MAIS e dei controlli sani con livello anticorpale < 10.000 BAU/mL (HC) al tempo T3. La differenza tra i due gruppi non è risultata statisticamente significativa,  $p = 0.0729$ .

#### **T6: ANALISI SIEROLOGICA DOPO SEI MESI DALLA SOMMINISTRAZIONE DELLA SECONDA DOSE DI VACCINO**

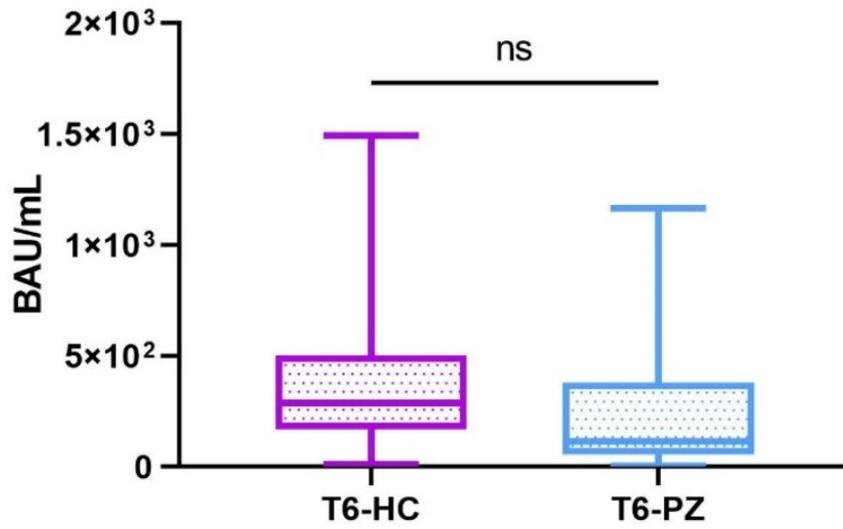
I controlli sani hanno presentato un livello anticorpale medio a T6 di 1253.33 ( $\pm$  781.03) BAU/mL. Confrontando questo risultato con il titolo anticorpale a T6 dei soggetti affetti da MAIS (vedi Tab. XIII) si è evidenziato come la differenza tra i due gruppi sia statisticamente significativa,  $p < 0.05$ .



**Figura 24.** Titoli anticorpali dei pazienti affetti da MAIS e dei controlli sani (HC) al tempo T6. La differenza tra i due gruppi è risultata statisticamente significativa, con  $p < 0.05$ .

Questo risultato può essere correlato con il fatto che nella coorte di controlli sani vi sono alcuni soggetti che hanno effettuato la vaccinazione subito prima o subito dopo aver contratto l'infezione da SARS-CoV-2. Per questo motivo il loro titolo anticorpale risulta nettamente superiore alla media.

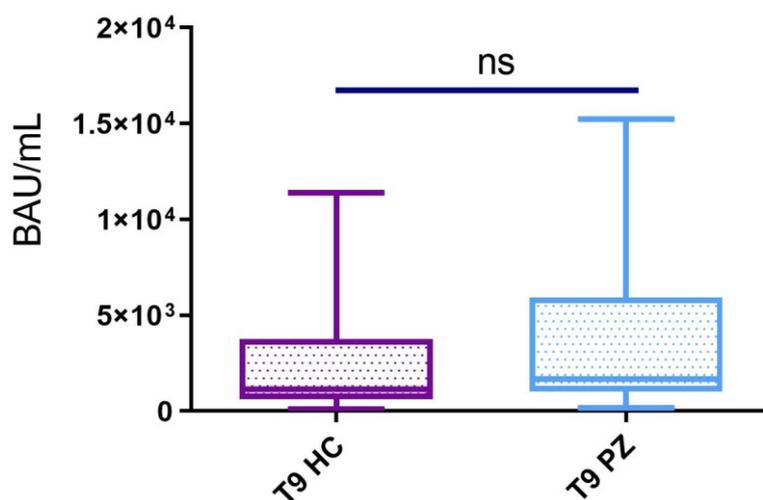
Escludendo sei controlli sani con titolo anticorpale a T6  $> 1.500$  BAU/mL (segnati con \* in tab. XIX), il titolo anticorpale medio è di  $407.15 (\pm 372.75)$  BAU/mL. Confrontando questo risultato con il titolo anticorpale a T6 dei soggetti affetti da MAIS la differenza tra i due gruppi non è risultata statisticamente significativa,  $p = 0.0629$ .



**Figura 25.** Titoli anticorpali dei pazienti affetti da MAIS e dei controlli sani (HC) con livello anticorpale  $< 1500$  BAU/ml al tempo T6. La differenza tra i due gruppi non è risultata statisticamente significativa,  $p = 0.0629$ .

## T9: ANALISI SIEROLOGICA DOPO LA DOSE BOOSTER DI VACCINO

I controlli sani hanno presentato un livello anticorpale medio a T9 di 2948.17 ( $\pm$  2596.94) BAU/mL. Confrontando questo risultato con il titolo anticorpale a T9 dei soggetti affetti da MAIS (vedi *Tab. XVI*) si è evidenziato come la differenza tra i due gruppi non sia statisticamente significativa,  $p = 0.34259$ .



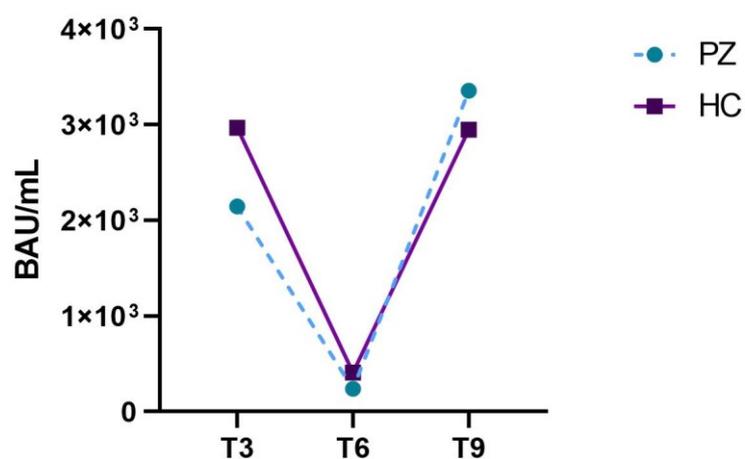
**Figura 26.** Titoli anticorpali dei pazienti affetti da MAIS e dei controlli sani (HC) al tempo T9. La differenza tra i due gruppi non è risultata statisticamente significativa,  $p = 0.34259$ .

## Confronto finale ai tempi T3, T6, T9

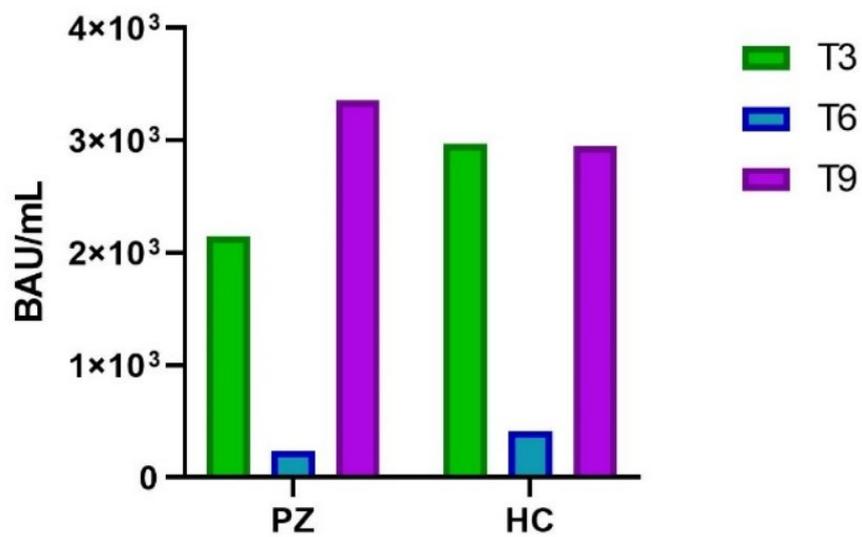
*Tabella XX. Livelli anticorpali medi dopo le prime due dosi di vaccino, a sei mesi dalle prime due dosi e dopo la dose booster in pazienti affetti da MAIS ed in pazienti sani (HC).*

	T3 (BAU/mL)	T6 (BAU/mL)	T9 (BAU/mL)
<b>PZ</b>	2145.20	237.96	3354.07
<b>HC</b>	2969.97	407.15	2948.17

Da questi risultati possiamo concludere che non c'è differenza significativa tra i livelli anticorpali medi sviluppati dai pazienti con malattie autoinfiammatorie e quelli sviluppati dai pazienti sani dopo le prime due dosi del vaccino (T3), a sei mesi dalle prime due dosi (T6) e dopo la dose booster (T9),  $p = 0.1296$ .



**Figura 27.** Confronto finale delle medie dei titoli anticorpali dopo le prime due dosi di vaccino, a sei mesi dalle prime due dosi e dopo la dose booster in pazienti con malattie autoinfiammatorie e nella popolazione sana. La differenza non è statisticamente significativa,  $p = 0.1296$ .



**Figura 28.** *Confronto finale delle medie dei titoli anticorpali dopo le prime due dosi di vaccino, a sei mesi dalle prime due dosi e dopo la dose booster nei pazienti affetti da MAIS e nella popolazione sana.*

## 4.2 ANALISI DELL'ANDAMENTO CLINICO DELL'INFEZIONE DA SARS-CoV-2

### 4.2.1 Dati demografici e clinici

Sono state analizzate le caratteristiche di quattordici pazienti affetti da malattia autoinfiammatoria risultati positivi al test molecolare per la ricerca di SARS-CoV2 nel periodo compreso tra marzo 2020 e agosto 2022. I pazienti inclusi nello studio presentano età media di 48.1 anni ( $\pm 14.8$ ); il 78.6% (n=11) dei partecipanti è di sesso femminile (*Tab. XXII*).

Otto pazienti (57.1%) hanno contratto l'infezione prima di effettuare il ciclo vaccinale, nel periodo di tempo compreso tra i primi sei mesi del 2020 e i primi sei mesi del 2021. Invece, sei pazienti (42.8%) hanno contratto l'infezione da SARS-CoV-2 dopo aver effettuato il ciclo vaccinale, tra gli ultimi sei mesi del 2021 e gli ultimi sei mesi del 2022.

*Tab. XXI* Periodo in cui i soggetti hanno contratto l'infezione da Sars-CoV-2.

	N (%)
<b>PERIODO</b>	
Primi 6 mesi 2020	2
Ultimi 6 mesi 2020	4
Primi 6 mesi 2021	2
Ultimi 6 mesi 2021	1
Primi 6 mesi 2022	4
Ultimi 6 mesi 2022	1

Di questi pazienti sei (42.8%) sono affetti da AOSD, sei (42.8%) da FMF, uno da TRAPS ed uno da sindrome di Schnitzler.

Tra i pazienti con AOSD quattro sono in terapia con inibitori di IL-1, due di questi assumono anakinra 100 mg/die s.c., uno anakinra 200 mg/die s.c. ed uno canakinumab 300 mg/4sett s.c. Due pazienti sono in follow-up per forma monociclica di AOSD e non assumono alcuna terapia.

Tra i pazienti con FMF quattro sono in terapia con inibitori di IL-1 associati a colchicina. Due associano canakinumab 300 mg/4 settimane s.c. a colchicina 1 mg/die, mentre gli altri due associano anakinra 100 mg s.c. a colchicina 0.5 mg/die. Un paziente è in terapia solo con canakinumab 300 mg/4 settimane s.c. ed un paziente è in terapia solo con colchicina 1 mg/die.

Un paziente affetto da TRAPS assume canakinumab 300mg/4 settimane. Un paziente affetto da sindrome di Schnitzler assume anakinra 100mg/die.

*Tab. XXII* Dati demografici, clinici, terapia in atto ed esposizione ambientale dei quattordici partecipanti affetti da MAIS con pregressa infezione da SARS-CoV-2. AOSD: Adult-Onset Still's Disease; FMF: Familial Mediterranean Fever; TRAPS: TNF receptor-associated periodic syndrome. (\*) Tutti i pazienti di questo studio hanno effettuato il ciclo vaccinale per SARS-CoV-2, con "non vaccinati" si intendono quei pazienti che hanno contratto l'infezione prima di effettuare la vaccinazione. Questo dato va quindi relazionato al periodo di esposizione alla patologia, illustrato alla Tab. XXI.

	<b>N</b>	<b>AOSD</b>	<b>FMF</b>	<b>TRAPS</b>	<b>SCHNITZLER</b>
	<b>14</b>	<b>6 (42.8)</b>	<b>6 (42.8)</b>	<b>1 (0.07)</b>	<b>1 (0.07)</b>
Donne	11 (78.6)	4 (66.6)	6 (100)	1 (100)	0
Uomini	3 (21.4)	2 (33.3)	0	0	1 (100)
Età, media (DS)	48.1 (±14.8)	49.8 (±6.8)	43.5 (±17.1)	36	72
<b>Vaccinazione*</b>					
Non vaccinati	8	4	3	0	1
Vaccinati	6	2	3	1	0
<b>Esposizione</b>					
Ambiente ospedaliero	4	2	2	0	0
Ambiente domestico	8	3	4	1	0
Altro	2	1	0	0	1
<b>Terapia in atto (%)</b>					
IL-1i	8	4	2	1	1
IL-1i + colchicina	3	0	3	0	0
Colchicina	1	0	1	0	0
Non in terapia	2	2	0	0	0
<b>Attività di malattia al momento dell'infezione</b>					
Low	7	2	3	1	1
Low/Remission	2	0	2	0	0
Remission	5	4	1	0	0

L'attività di malattia autoinfiammatoria al momento dell'infezione da Sars-CoV-2 è stata indagata valutando sia la condizione clinica riportata da ciascun paziente, sia gli indicatori biumorali di flogosi sistemica (PCR e SAA).

I pazienti affetti da AOSD presentano malattia attiva di grado lieve (25%) o malattia in fase di remissione (75%). Tre pazienti affetti da FMF (83.3%) presentano malattia attiva di grado lieve; due pazienti malattia di grado lieve ed in fase di remissione ed uno malattia in fase di remissione. I pazienti affetti da TRAPS e sindrome di Schnitzler presentano malattia di grado lieve.

#### **4.2.2 Dati associati all'infezione da SARS-CoV-2**

##### **Sintomatologia (Tab. XXIII)**

Due soggetti nell'arco dell'infezione hanno presentato rinosinusite, due hanno manifestato febbre  $\geq 38^{\circ}$  TC, mentre tre hanno manifestato febbre  $< 38^{\circ}$  TC.

Tre pazienti hanno manifestato tosse non espettorante, due pazienti faringodinia. Sei pazienti hanno riferito anosmia o ageusia, un paziente ha riferito disgeusia. Tre pazienti hanno manifestato sintomi gastrointestinali, due pazienti artromialgia e tre pazienti astenia. Un paziente ha manifestato faringotonsillite associata all'infezione da SARS-CoV-2, un altro paziente ha riferito diversi episodi di cefalea durante il decorso della patologia. Un solo paziente ha presentato dispnea.

Un paziente, per un quadro iniziale di polmonite virale, è stato ospedalizzato e sottoposto a terapia con ossigeno a bassi flussi (2L/min in nasocannula), idrossiclorochina e Ceftriaxone ed ha proseguito regolarmente l'assunzione di anakinra 100 mg/die.

**Tab. XXIII** Manifestazioni cliniche e sintomatologia riferibile all'infezione da Sars-CoV-2 nei soggetti affetti da MAIS; AOSD: Adult Onset Still's Disease; FMF: Familial Mediterranean Fever; TRAPS: TNF receptor-associated periodic syndrome.

	<b>N</b>	<b>AOSD</b>	<b>FMF</b>	<b>TRAPS</b>	<b>SCHINTIZLER</b>
	<b>14</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>1</b>	<b>1</b>
<b>Rinosinusite</b>	2	0	1	1	0
<b>Febbre &gt; 38°</b>	2	0	1	0	1
<b>Febbre &lt; 38°</b>	3	2	1	0	0
<b>Tosse</b>	3	1	2	0	0
<b>Faringodinia</b>	2	0	1	1	0
<b>Anosmia</b>	6	2	4	0	0
<b>Ageusia</b>	6	2	4	0	0
<b>Sintomi G.I.</b>	3	1	2	0	0
<b>Artromialgia</b>	2	1	1	0	0
<b>Astenia</b>	3	0	3	0	0
<b>Dispnea</b>	1	1	0	0	0
<b>Polmonite</b>	1	0	0	0	1
<b>Altro</b>	3	2	0	0	1

Quattro pazienti sono ricorsi all'utilizzo di farmaci per il controllo della sintomatologia (*Tab. XXIV*): tre pazienti hanno assunto paracetamolo, un paziente ha assunto ketoprofene sale di lisina.

Nessun paziente durante il decorso dell'infezione ha sospeso la terapia immunomodulante.

**Tab. XXIV** Terapia sintomatica per COVID-19; outcome dell'infezione; eventuale sospensione della terapia per la malattia autoinfiammatoria; AOSD: Adult Onset Still's Disease; FMF: Familial Mediterranean Fever; TRAPS: TNF receptor-associated periodic syndrome.

	<b>N</b>	<b>AOSD</b>	<b>FMF</b>	<b>TRAPS</b>	<b>SCHNITZLER</b>
<b>Tp domiciliare per COVID-19:</b>	<b>4</b>	2	2	0	0
<b>Paracetamolo</b>	3	1	2	0	0
<b>Altri FANS</b>	1	1	0	0	0
<b>Outcome:</b>	<b>14</b>				
<b>Domicilio</b>	13	6	6	1	0
<b>Ospedalizzato</b>	1	0	0	0	1
<b>Sospensione terapia MAIS</b>	<b>0</b>	0	0	0	0

Osservando gli stessi dati dal punto di vista della vaccinazione, sono stati suddivisi i pazienti in due gruppi:

- *Gruppo A*: pazienti che hanno contratto l'infezione da SARS-CoV-2 prima di effettuare la vaccinazione
- *Gruppo B*: pazienti che hanno contratto l'infezione da SARS-CoV-2 dopo aver effettuato la vaccinazione

I soggetti del gruppo B hanno presentato minor sintomatologia rispetto ai soggetti del gruppo A. In particolare, nessuno ha manifestato sintomi gastrointestinali, artromialgie, dispnea e polmonite (*Tab. XXV*).

Inoltre, un solo paziente del gruppo B è ricorso a terapia domiciliare per il controllo della sintomatologia del COVID-19, contro i tre pazienti del gruppo A.

Ogni gruppo è stato a sua volta suddiviso in base alla terapia assunta: dai risultati si può evincere come i pazienti trattati con inibitori di IL-1 presentassero una sintomatologia minore sia prima che dopo la vaccinazione. Inoltre i soggetti che hanno fatto ricorso alla terapia domiciliare in trattamento con IL-1i sono meno rispetto a quelli con terapia diversa. Questo sostiene l'ipotesi di un possibile ruolo protettivo di questi farmaci biologici nella prevenzione delle forme più severe di COVID-19.

Non è stato registrato nessun decesso per COVID-19. Tutti e quattordici i soggetti hanno avuto un decorso di malattia da COVID-19 benigno, senza complicanze, in un solo caso è stata necessaria l'ospedalizzazione.

L'andamento clinico dell'infezione da SARS-CoV-2 nei soggetti partecipanti allo studio è il seguente:

- Il 7.14% dei pazienti è rimasto asintomatico
- L'85.7% dei pazienti ha mostrato un fenotipo lieve di COVID-19
- Il 7.14% dei pazienti ha manifestato un fenotipo moderato di COVID-19

Tutti i casi, al momento dell'indagine, non hanno visto una riacutizzazione della malattia di base. In tutti i soggetti è stato possibile rilevare i livelli anticorpali di IgG anti-Sars-CoV2-RBD.

**Tab. XXV** Caratteristiche dell'infezione da Sars-CoV-2 suddivise in base allo stato di vaccinazione al momento dell'infezione. AOSD: Adult Onset Still's Disease; FMF: Familial Mediterranean Fever; TRAPS: TNF receptor-associated periodic syndrome. La sintomatologia è stata ulteriormente divisa a seconda della terapia assunta dal paziente al momento dell'infezione.

	N	GRUPPO A: PRE-VACCINAZIONE			GRUPPO B: POST-VACCINAZIONE		
	14	8			6		
		TOT.	IL-1i	No IL-1i	TOT.	IL-1i	No IL-1i
<b>Rinosinusite</b>	4	0	0	0	4	1	3
<b>Febbre &gt; 38°</b>	2	1	0	1	1	0	1
<b>Febbre &lt; 38°</b>	3	3	1	2	0	0	0
<b>Tosse</b>	4	1	1	0	3	1	2
<b>Faringodinia</b>	2	0	0	0	2	0	2
<b>Anosmia</b>	6	5	1	4	1	0	1
<b>Ageusia</b>	6	5	1	4	1	0	1
<b>Sintomi G.I.</b>	3	3	1	2	0	0	0
<b>Artromialgia</b>	2	2	0	2	0	0	0
<b>Astenia</b>	3	2	1	1	1	1	0
<b>Dispnea</b>	1	1	0	1	0	0	0
<b>Polmonite</b>	1	1	1	0	0	0	0
<b>Altro</b>	3	2	1	1	1	0	1
<b>Tp domiciliare per COVID-19</b>	4	3	1	2	1	1	0
Paracetamolo	3	2	0	2	1	0	1
Altri FANS	1	1	0	1	0	0	0
<b>Sospensione terapia MAIS</b>	0	0	0	0	0	0	0
<b>Outcome</b>							
Domiciliare	13	7	4	3	6	4	2
Ospedalizzato	1	1	1	0	0	0	0

## 5. DISCUSSIONE

Le Malattie Autoinfiammatorie sono patologie rare, ed attualmente esistono pochi studi clinici che dimostrino l'impatto della vaccinazione e l'andamento dell'infezione clinica di SARS-CoV-2 in questa categoria di pazienti. In particolare, lo stato dell'immunità umorale dopo la dose booster del vaccino anti-SARS-CoV-2 non è stato ancora ampiamente indagato (66).

In questo studio è stato valutato il livello degli anticorpi nei pazienti affetti da MAIS dopo le prime due dosi di vaccino (T3), a sei mesi dalle prime due dosi (T6) e dopo la dose booster (T9) del vaccino anti-SARS-CoV-2. Tutti i pazienti hanno sviluppato un'adeguata risposta anticorpale, superando il valore di cut-off diagnostico del test di 33 BAU/mL e non vi è stato nessun *non responder*.

Sono stati messi a confronto i risultati dei pazienti in terapia con inibitori di IL-1 con quelli dei soggetti non in terapia o in trattamento con altri farmaci, ovvero colchicina e cortisone < 10 mg. Dall'analisi effettuata non sono emerse differenze statisticamente significative tra i due gruppi e pertanto questo supporta l'ipotesi che il trattamento con inibitori di IL-1 non comporti una riduzione della risposta anticorpale a seguito della vaccinazione, come avviene ad esempio con altri farmaci utilizzati in ambito reumatologico (67, 68).

Questo era stato già suggerito in precedenza dallo studio di *Ugurlu et al*, che aveva descritto come la maggior parte dei pazienti affetti da Febbre Mediterranea Familiare ed in trattamento con inibitori di IL-1 sviluppa una risposta umorale significativa e paragonabile a quella della popolazione sana dopo la seconda dose del vaccino anti-SARS-CoV-2 (69).

Sono stati confrontati i livelli anticorpali a T3, T6 e T9 dei pazienti affetti da MAIS con un gruppo di controlli sani. In un primo momento è emerso che, a T3 e T6, la differenza tra i due gruppi era statisticamente significativa. Si è verificato, poi, che alcuni soggetti sani hanno contratto l'infezione da SARS-CoV-2 a ridosso della vaccinazione, o nel periodo immediatamente successivo, per questo motivo il loro titolo anticorpale è risultato nettamente superiore alla media. Escludendo i titoli anticorpali di tali soggetti, la differenza tra i due gruppi non è statisticamente significativa né dopo le prime due dosi di vaccino, né a sei mesi dalle prime due

dosi. La significatività iniziale può, quindi, essere spiegata dalla presenza di livelli anticorpali anomali nella coorte dei controlli sani dovuti ad una pregressa infezione da SARS-CoV-2.

Un'altra precisazione da fare è che il timing del prelievo nei due gruppi non è stato lo stesso. I controlli sani, infatti, hanno effettuato i prelievi T3 e T6 ad una distanza media di giorni minore rispetto a quella dei pazienti affetti da MAIS. Questo è un bias che potrebbe aver influenzato la significatività iniziale. Sarebbe quindi opportuno effettuare i prelievi alla stessa distanza di giorni sia nei pazienti affetti da malattie autoinfiammatorie, sia nei controlli sani e poi verificare nuovamente i risultati.

Per quanto riguarda, invece, il risultato al tempo T9, la differenza non è risultata statisticamente significativa. Questo è un dato interessante perché potrebbe suggerire l'importanza della dose booster nei pazienti con questo tipo di patologie, oltre che nella popolazione sana. Lo studio di *Padoan et al* (66) infatti mostra come la terza dose del vaccino sia necessaria per aumentare il titolo anticorpale ed avere quindi un livello di protezione adeguato nei confronti dell'infezione. I dati che abbiamo raccolto in questo studio dimostrano come anche i pazienti affetti da MAIS riescano a raggiungere questi livelli allo stesso modo dei controlli sani dopo la dose booster.

Anche lo studio di *Mauro et al* ha dimostrato come i pazienti affetti da MAIS con vaccino a mRNA BNT162b2 riescano a raggiungere gli stessi titoli anticorpali della popolazione sana. Inoltre, i pazienti di questo studio in terapia con inibitori di IL-1 non hanno presentato una riduzione del titolo anticorpale rispetto alla popolazione sana. (70)

Come scopo secondario dello studio sono state analizzate le caratteristiche cliniche dei pazienti che hanno contratto l'infezione da SARS-CoV-2 nel periodo di tempo compreso tra marzo 2020 e agosto 2022. A tal proposito si è operata una distinzione in pazienti che avevano contratto l'infezione prima di effettuare la vaccinazione e pazienti che avevano contratto l'infezione dopo aver effettuato la vaccinazione. Si è evidenziato come i pazienti del secondo gruppo presentassero una sintomatologia più lieve, in più meno soggetti avevano ricorso all'utilizzo di una terapia domiciliare per il controllo della sintomatologia rispetto al primo gruppo. Dunque, la vaccinazione si è dimostrata efficace nel mantenere un titolo anticorpale adeguato

e prevenire un fenotipo più severo di infezione. Questo è stato dimostrato anche nello studio di *Bakasis et al*, che ha messo a confronto, in pazienti affetti da MAIS, l'outcome dei vaccinati con quello dei non vaccinati. I primi hanno presentato un minor tasso di ospedalizzazione, ipossiemia e necessità di trattamento in terapia intensiva (71).

La sintomatologia dei pazienti è stata poi analizzata in base al tipo di terapia che stavano effettuando al momento dell'infezione. Dai dati raccolti c'è evidenza che i pazienti in terapia con inibitori dell'IL-1 abbiano manifestato sintomi minori rispetto alla controparte non in terapia con questi farmaci biologici. Nessuno dei pazienti in terapia con inibitori di IL-1 ha inoltre necessitato una sospensione della stessa. La terapia immunomodulante non sembra, quindi, implicare né un rischio aumentato di contrarre l'infezione, né un rischio di manifestare un fenotipo più grave di malattia rispetto alla popolazione generale.

Nella malattia da COVID-19 diversi studi hanno dimostrato che il trattamento con anakinra riduce sia la necessità di ventilazione meccanica sia la mortalità nei pazienti ospedalizzati non intubati senza aumento del rischio di effetti avversi. (72, 73) Lo studio di *Başaran et al* illustra anche come l'impiego di tocilizumab, anakinra e prednisolone per il trattamento delle forme più severe di COVID-19 non influenzi in alcun modo la produzione anticorpale dei soggetti nei confronti del virus. (74)

La nostra indagine si è conclusa valutando gli effetti scatenati a seguito della somministrazione vaccinale: i pazienti riferiscono di aver avuto nessuno o lievi effetti indesiderati, principalmente dolore in sede di inoculazione, astenia e febbre della durata di uno-due giorni. Anche lo studio di *Peet et al* ha dimostrato la sicurezza della vaccinazione nei pazienti affetti da MAIS in terapia con inibitori di IL-1. I soggetti partecipanti allo studio non avevano riscontrato nessun tipo di effetto avverso grave a seguito della vaccinazione (75). Infine, nessun paziente del nostro studio ha sviluppato manifestazioni riferibili a long COVID.

## 6. CONCLUSIONI

I pazienti affetti da MAIS sviluppano un'adeguata risposta anticorpale a seguito di vaccinazione anti-SARS-CoV-2. Il trattamento con inibitori di IL-1 non riduce i livelli anticorpali dei pazienti affetti da malattia autoinfiammatoria, che invece risultano paragonabili a quelli della popolazione sana sia dopo le prime due dosi di vaccino, a sei mesi dalle prime due dosi e dopo la dose booster.

La vaccinazione nei pazienti con MAIS è efficace nel prevenire una sintomatologia più grave nei soggetti che contraggono l'infezione. In particolare, i pazienti trattati con inibitori di IL-1 presentavano sintomi più lievi rispetto ai non trattati, sia prima che dopo la vaccinazione; si può quindi ipotizzare che i farmaci che comportano un'inibizione dell'asse di IL-1 possano avere un ruolo protettivo nei confronti delle forme più severe di infezione. In nessun caso vi è stata indicazione a sospendere la terapia con inibitori di IL-1.

I risultati di questo studio suggeriscono di indagare più nel dettaglio, e in una casistica più ampia di pazienti affetti da MAIS, l'ipotesi di un ruolo protettivo dei farmaci inibitori dell'IL-1 nei confronti delle complicanze infiammatorie correlate all'infezione da SARS-CoV-2. Inoltre, sono necessari altri studi per monitorare i livelli anticorpali dei pazienti affetti da malattie autoinfiammatorie nel tempo, per confrontare il loro andamento rispetto a quello della popolazione sana a fronte di eventuali nuovi richiami alla vaccinazione.

Il limite principale di questo studio è la relativa scarsa numerosità del campione: questo è dovuto alla bassa incidenza che le patologie autoinfiammatorie hanno nella popolazione generale. Per il futuro potrebbe essere necessario ampliare la casistica dello studio, comprendendo anche pazienti provenienti da altri centri.

## BIBLIOGRAFIA

1. McDermott MF, Aksentijevich I, Galon J, McDermott EM, Ogunkolade BW, Centola M, Mansfield E, Gadina M, Karenko L, Pettersson T, McCarthy J, et al. Germline mutations in the extracellular domains of the 55 kDa TNF receptor, TNFR1, define a family of dominantly inherited autoinflammatory syndromes. *Cell*. 1999;97:133–144.
2. Georgin-Lavialle S, Fayand A, Rodrigues F, Bachmeyer C, Savey L, Grateau G. Autoinflammatory diseases: State of the art. *Presse Med*. 2019;48:e25-e48.
3. Manthiram K, Zhou Q, Aksentijevich I, Kastner DL. The monogenic autoinflammatory diseases define new pathways in human innate immunity and inflammation. *Nat Immunol*. 2017;18(8):832–42.
4. Hillion S, Arleevskaya M, Blanco P, Bordron A, Brooks HW, Cesbron JY, Kaveri S, Vivier E, Renaudineau Y. The Innate Part of the Adaptive Immune System. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2020;58(2):151-154.
5. Pathak S, McDermott MF, Savic S. Autoinflammatory diseases: update on classification diagnosis and management. *J Clin Pathol*. 2017;70(1):1-8.
6. Stoffels M, Simon A. *The Autoimmune Diseases*. Academic Press. 2014;4:39-50.
7. Turvey SE, Broide DH. Innate immunity. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;125:S24-32.
8. Martinon F, Burns K, Tschopp J. The Inflammasome: A Molecular Platform Triggering Activation of Inflammatory Caspases and Processing of proIL- $\beta$ . *Molecular Cell*. 2002;10:417-426.
9. Huang Y, Xu W, Zhou R. NLRP3 inflammasome activation and cell death. *Cell Moll Immunol*. 2021;18(9):2114-2127.
10. Rathinam VAK, Fitzgerald KA. Inflammasome Complexes: Emerging Mechanisms and Effector Functions. *Cell*. 2016;165(4):792-800.
11. Shi J, Gao W, Shao F. Pyroptosis: Gasdermin-Mediated Programmed Necrotic Cell Death. *Trends Biochem Sci*. 2017;42(4):245-254.

12. Chae JJ, Aksentijevich I, Kastner DL. Advances in in the understanding of Familial Mediterranean Fever and possibilities for targeted therapy. *Br J Haematol.* 2009;146(5):467-78.
13. Xu H, Yang J, Gao W, Li L, Li P, Zhang L, et al. Innate immune sensing of bacterial modifications of Rho GTPases by the Pyrin inflammasome. *Nature.* 2014;513(7517):237–41.
14. Orbach H, Ben-Chetrit E. Familial mediterranean fever – a review and update. *Minerva Med.* 2001;92(6):421-30.
15. Gattorno M, Caorsi R. Le malattie autoinfiammatorie: quando sospettarle e come orientarsi. *RIAP.* 2011;6:16-26.
16. Kallinich T, Hinze C, Wittowski H. Classification of autoinflammatory diseases based on pathophysiological mechanisms. *Z Rheumatol.* 2020; 79(7): 624-38.
17. Nigrovic PA, Lee PY, Hoffmann HM. Monogenic autoinflammatory disorders: Conceptual overview, phenotype and clinical approach. *J Allergy Clin Immunol.* 2020; 146(5):925-37.
18. Park YH, Wood G, Kastner DL, Chae JJ. Pyrin inflammasome activation and RhoA signaling in the autoinflammatory diseases FMF and HIDS. *Nat Immunol.* 2016;17: 914-21.
19. Cudrici C, Deutch N, Aksentijevich I. Revisiting TNF Receptor-Associated Periodic Syndrome (TRAPS): Current Perspectives. *Int J Mol Sci.* 2020;21:3263.
20. Takada S, Saito MK, Kambe N. Blau Syndrome: NOD-2 related systemic autoinflammatory granulomatosis. *G Ital Dermatol Venereol.* 2020;155(5): 537-41.
21. Chow KT, Gale MJ. Cell. SnapShot: Interferon Signaling. 163(7):1808-1808.
22. D'Angelo DM, Di Filippo P, Breda L, Chiarelli F. Type I Interferonopathies in Children: An Overview. *Front Pediatr.* 2021;31(9):631329.
23. Yazici Y, Hatemi G, Bodaghi B, Cheon JH, Suzuki N, Ambrose N, Yazici H. Behçet Syndrome. *Nat Rev Dis Primers.* 2021;7(1):67.
24. Galozzi P, Bindoli S, Doria A, Sfriso P. Progress in Biological Therapies for Adult-Onset Still's Disease. *Biologics.* 2022;16: 21 – 34.
25. Gellrich FF, Günter C. Schnitzler Syndrome. *Hautarzt.* 2019;5.

26. Tufan A, Lachmann HJ. Familial Mediterranean Fever, from pathogenesis to treatment: a contemporary review. *Turk J Med Sci.* 2020;50:1591-1610.
27. Yonem O, Bayraktar Y. Secondary amyloidosis due to FMF. *Hepatogastroenterology.* 2007;54:1061-5.
28. Yalçinkaya F, Ozen S, Ozçakar ZB, Aktay N, Cakar N, Düzova A, Kasapçopur O et al. A new set of criteria for the diagnosis of familial Mediterranean fever in childhood. *Rheumatology (Oxford).* 2009;48:395-8.
29. Giacomelli R, Ruscitti P, Shoenfeld R. A comprehensive review on adult onset Still's disease. *J Autoimmun.* 2018;93:24-36.
30. Cudrici C, Deutch N, Aksentijevich I. Revisiting TNF Receptor-Associated Periodic Syndrome (TRAPS): Current Perspectives. *Int J Mol Sci.* 2020;21:3263.
31. Vastert SJ, Jamilloux Y, Quartier P, Ohlman S, Koskinen Osterling L, Kullenberg T et al. Anakinra in children and adults with Still's disease. *Rheumatology (Oxford).* 2019;58:9-22.
32. Vanoni F, Theodoropoulou K, Hofer M. PFAPA Syndrome: a review on treatment and outcome. *Pediatr Rheumatol Online J.* 2016;14:38.
33. Rothan HA, Byrareddy SN. The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak. *J Autoimmun.* 2020;109:102-433.
34. Forchette L, Sebastian W, Liu T. A Comprehensive Review of COVID-19 Virology, Vaccines and Therapeutics. *Curr Med Sci.* 2021;41(6): 1037-1051.
35. Mjaess G, Karam A, Aoun F, Albisinni S, Roumeguère T. COVID-19 and the male susceptibility: the role of ACE2, TMPRSS2 and the androgen receptor. *Prog Urol.* 2020; 30(10): 484-487.
36. Mourosi JT, Anwar S, Hosen MJ. The sex and gender dimensions of COVID-19: a narrative review of the potential underlying factors. *Infect Genet Evol.* 2022;18103: 105338.
37. Rehman SU, Rheman SU, Yoo HH. COVID-19 challenges and its therapeutics. *Biomed Pharmacother.* 2021;142: 112015.
38. Bindoli S, Felicetti M, Sfriso P, Doria A. The amount of cytokine-release defines different shades of Sars-Cov2 infection. *Exp Biol Med (Maywood).* 2020;245(11): 970 – 976.

39. O' Toole A, Hill V, Pybus OG et al. Tracking the international spread of SARS-CoV-2 lineages B.1.1.7. and B.1.351/501Y-V2. *Wellcome Open Res.* 2021;10:12688.
40. Rambaut A, Holmes EC, O' Toole A, Mc Crone JT et al. A dynamic nomenclature proposal for SARS-CoV-2 lineages to assist genomic epidemiology. *Nature Microbiology.* 2020;5: 1403 – 1407.
41. Singh DD, Parveen A, Yadav DK. SARS-CoV-2: Emergence of New Variants and Effectiveness of Vaccines. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021;14(11): 777212.
42. Burki TK. Lifting of COVID-19 restrictions in the UK and the Delta variant. *Lancet Respir Med.* 2021;9(8):e85.
43. Rent SY, Wang BW, Gao RD, Zhou AM. Omicron variant (B.1.1.529) of SARS-CoV-2: mutation, infectivity, transmission and vaccine resistance. *World J Clin Cases.* 2022;10(1): 1 – 11.
44. Chenchula S, Karunakaran P, Sharma S, Chavan M. Current evidence on efficacy of COVID-19 booster dose vaccination against the Omicron variant: a systematic review. 2022; 94(7): 2969 – 2976.
45. <https://virological.org/t/novel-2019-coronavirus-genome/319>
46. Tregoning JS, Flight KE, Higham SL, Wang Z, Pierce BF. Progress of the COVID-19 vaccine effort: viruses, vaccines and variants versus efficacy, effectiveness and escape. *Nat Rev Immunol.* 2021; 21(10): 626 – 636.
47. Governo Italiano. Report vaccini Anti Covid-19 [Internet]. Disponibile su: <https://www.governo.it/it/cscovid19/report-vaccini/>
48. Meo SA, Bukhari IA, Meo AS, Klonoff DC. COVID-19 vaccines: comparison of biological, pharmacological characteristics and adverse effect of Pfizer/BioNTech and Moderna vaccines. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2021; 25(3): 1663 – 1669.
49. Oliver SE, Wallace M, See I, Mbaeyi S, Godfrey M et al. Use of the Janssen (Johnson&Johnson) COVID-19 Vaccine: Updated Interim Recommendations from the Advisory Committee on Immunization Practices. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2022; 71(3): 90 – 95.
50. Gilbert SC. Adenovirus-vectored Ebola vaccines. *Expert Rev Vaccines.* 2015;14(10): 1347 – 57.

51. Thompson MG, Natarajan K, Irving SA, Rowley EA, Griggs EP et al. Effectiveness of a third dose of mRNA vaccines against COVID-19-associated emergency department and urgent care encounters and hospitalizations among adults during periods of Delta and Omicron variant predominance. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2022;71(4): 139 -145.
52. Ministero della Salute. Covid-19 – Campagna di vaccinazione anti Covid-19 [Internet]. Disponibile su:  
<https://www.salute.gov.it/portale/nuovocoronavirus/dettaglioContenutiNuovoCoronavirus.jsp?lingua=italiano&id=5452&area=nuovoCoronavirus&menu=vuoto>
53. Soy M, Keser G, Atagunduz P, Mutlu MY, Gunduz A et al. A practical approach for vaccinations including COVID-19 in autoimmune/autoinflammatory diseases: a non-systematic review. *Clin Reumatol.* 2021; 40(9): 3533 – 3545.
54. Bindoli S, Giollo A, Galozzi P, Doria A, Sfriso P. Hyperinflammation after anti-SARS-CoV-2 mRNA/DNA vaccines successfully treated with anakinra: case series and literature review. *Exp Biol Med (Maywood).* 2022;247(7): 338 – 344.
55. Gao Z, Xu Y, Sun C, Wang X, Ye G et al. A systematic review of asymptomatic infections with COVID-19. *J Microbiol Immunol Infect.* 2021; 54(1): 12 – 16.
56. De Maria A, Varese P, Dentone C, Barisone E, Bassetti M. High prevalence of olfactory and taste disorder during SARS-CoV-2 infection in outpatients. *J Med Virol.* 2020;92(11): 2310 – 2311.
57. Gu J, Han B, Wang J. COVID-19: Gastrointestinal Manifestations and Potential Fecal-Oral transmissions. 2020;158(6): 1518 – 1519.
58. Bernehim A, Mei X, Huang M, Yang Y, Fayd Z, Zhang N et al. Chest CT Findings in Coronavirus Disease-19 (COVID-19): Relationship to Duration of Infection. *Radiology.* 2020;295(3): 200463.
59. Di Bella S, Cesareo R, De Cristofaro P, Palermo A, Sanson G et al. Neck circumference as a reliable predictor of mechanical ventilation support in adult inpatients with COVID-19: a multicentric prospective evaluation. *Diabetes Metab Res Rev.* 2021;37(1): e3354.

60. Wei Zhang, Rong-Hui Du, Bei Li, Xiao-Shuang Zheng, Xing-Lou Yang, Ben Hu, Yan-Yi Wang et al. (2020) Molecular and serological investigation of 2019-nCoV infected patients: implication of multiple shedding routes, *Emerging Microbes & Infections*. 2020;9(1): 386 – 389.
61. Taleghani N, Taghipour F. Diagnosis of COVID-19 for controlling the pandemic: a review of the state-of-art. *Biosens Bioelectron*. 2021;174: 112830.
62. Benham K, Richards NE, Workman LJ, Patel J, Muehling LM, Canderan G, Murphy DD et al. Trajectory of IgG to SARS-CoV-2 After Vaccination With BNT162b2 or mRNA-1273 in an Employee Cohort and Comparison With Natural Infection. *Front Immunol*. 2022;13: 850987.
63. Ministero della Salute. Covid-19 – Test diagnostici, contact tracing, isolamento e autosorveglianza. [Internet] Disponibile su: <https://www.salute.gov.it/portale/nuovocoronavirus/dettaglioFaqNuovoCoronavirus.jsp?lingua=italiano&id=244>
64. Rehman SU, Rehman SU, Yoo HH. COVID-19 challenges and its therapeutics. *Biomed Pharmacoter*. 2021;142: 112015.
65. National Institute of Health (NIH) – Covid-19 Treatment Guidelines [Internet] Disponibile su: <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/management/clinical-management-of-adults/hospitalized-adults--therapeutic-management/>
66. Padoan A, Cosma C, Della Rocca F, Barbaro F, Santarossa C, Dall’Olmo L, Galla C, Cattelan A et al. A cohort analysis of SARS-CoV-2 anti-spike protein receptor binding domain (RBD) Ig levels and neutralizing antibodies in fully vaccinated healthcare workers. *Clin Chem Lab Med*. 2022;60(7): 1110-1115.
67. Haberman RH, Herati R, Simon D, Samanovic M, Blank RB, Tuen M, Koralov SB, Atreya R, Tascilar K, Allen JR, Castillo R et al. Methotrexate hampers immunogenicity to BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine in immune-mediated inflammatory disease. *Ann Rheum Dis*. 2021;80 (10): 1339-1344.
68. Spiera R, Jinich S, Jannat-Khah D. Rituximab, but not other antirheumatic therapies, is associated with impaired serological response to SARS-CoV-2

- vaccination in patients with rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis.* 2021; 80 (10): 1357 – 1359.
69. Ugurlu S, Akcin R, Yagiz A, Kocazeybeck B, Oztas M, Can G, Mustafayeva L et al. Antibody responses to inactivated and mRNA SARS-CoV-2 vaccines in familial Mediterranean fever patients treated with interleukin-1 inhibitors. *Rheumatology (Oxford).* 2022;61(SI2): SI194-SI196.
  70. Mauro D, Ciancio A, Di Vico C, Passariello L, Rozza G, Pasquale MD, Pantano I et al. Serological Response to BNT162b2 Anti-SARS-CoV-2 Vaccination in Patients with Inflammatory Rheumatic Diseases: Results From the RHEUVAX Cohort. *Front Immunol.* 2022;13: 901055.
  71. Bakasis AD, Mavragani CP, Voulgari PV, Gerolymatou N, Argyropoulou OD et al. COVID-19: Clinical features and outcomes in unvaccinated 2-dose and 3-dose vaccinated against SARS-CoV-2 patients with systemic autoimmune and autoinflammatory rheumatic diseases. *J Autoimmun.* 2022;131: 102846.
  72. Kyriazopoulou E, Panagopoulos P, Metallidis S, Dalekos GN, Poulakou G, Gatselis N, Karakike E et al. An open label trial of anakinra to prevent respiratory failure in COVID-19. *Elife.* 2021;8(10): e66125.
  73. Karakike E, Dalekos GN, Koutsodimitropoulos I, Saridaki CP, Papathanakos G, Kotsaki A, Chalvatzis S, Dimakopoulou G et al. ESCAPE: An open label trial of personalized immunotherapy in critically ill COVID-19 patients. *J Innate Immunol.* 2022;14(3): 218 – 228.
  74. Başaran S, Şişmek-Yavuz S, Meşe S et al. The effect of Tocilizumab, anakinra and prednisolone on antibody response to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19: a prospective cohort study with multivariate analysis of factors affecting the antibody response. *Int J Infect Dis.* 2021;105: 756-762.
  75. Peet C, Papadopoulou C, Sombrito BR, Wood MR, Lachmann HJ. COVID-19 and autoinflammatory diseases: prevalence and outcomes of infection and early experience of vaccination in patients on biologics. *Rheumatol Adv Pract.* 2021;5(2):rkab043.

