



**Estudio para evaluar la eficacia
clínica de plasma convaleciente
frente a tratamiento estándar en
pacientes hospitalizados por
COVID 19**

TESIS DOCTORAL

Elena Isabel Diago Sempere

Madrid, 2022

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
Departamento de Medicina



ESTUDIO PARA EVALUAR LA EFICACIA CLÍNICA DE PLASMA
CONVALECIENTE FRENTE A TRATAMIENTO ESTÁNDAR EN
PACIENTES HOSPITALIZADOS POR COVID-19

TESIS DOCTORAL presentada por D^a. Elena Isabel Diago Sempere, para optar al grado de Doctor en Medicina por la Universidad Autónoma de Madrid.

DIRECTORES: Prof. Dra. Cristina Avendaño Solá

Madrid, 2022

A Cristina Avendaño, por acogerme en el Servicio de Farmacología de Puerta de Hierro . Por su sabiduría, por iniciarme en el mundo de la Farmacología, por su capacidad de trabajo y vocación por esta especialidad. Por esta oportunidad y por las futuras que vengan para poder seguir colaborando juntas.

A mi tutor, Antonio Ramos, por haber sido el primero con el que inicié mi camino como médico en Puerta de Hierro en mi primera rotación. Por haberme tratado de forma inmejorable, por sus bromas y chistes y por querer seguir aprendiendo y enseñando siempre.

A Belén Ruiz Antorán, por haber sido mi tutora de residencia, amiga, y familia en Madrid. Por su humildad, ayuda, cariño y generosidad. Por ser un ejemplo de todo. Porque no importa donde estemos que siempre estaremos juntas. Porque su puerta siempre está abierta y porque todos los agradecimientos se quedan cortos.

A Arantxa Sancho, por su alegría y dedicación. Por sus consejos y por darme la oportunidad de crecer de forma profesional y personal. Por haberme dado fuerzas cuando las necesitaba. Por ser un referente para mí , por haber sido una gran tutora y por haber sido y ser una gran amiga.

A mi gran amigo y hermano en Madrid, Antonio Caballero, por haber sido el mejor compañero de despacho que podría haber imaginado, por enseñarme a trabajar y vivir con alegría, porque cuando nos jubilemos nos iremos juntos a la ópera. Porque sé que siempre caminaremos juntos.

Al servicio de Farmacología Clínica, a todos y cada uno de los adjuntos, residentes y enfermeras. En especial a Rocío por su risa contagiosa, trabajo incansable y cariño. A Paloma por ser el alma del servicio. A Laura, porque siempre será mi residente mayor. Ha sido una suerte formar parte de este gran equipo y familia, gracias por todo lo que me habéis enseñado.

Al servicio de Urgencias que ha sido mi segunda casa.

A todos los profesionales que han participado en este proyecto.

A los pacientes, que es por lo que decidí y luché por ser médico.

Al Dr. Diago por su labor como médico y por haberme transmitido la pasión por el mundo de la investigación desde que era una niña.

A mis padres, por enseñarme el valor del esfuerzo, la constancia y la responsabilidad. Por su amor y apoyo incondicional. Porque gracias a ellos soy todo lo que soy y sin ellos nada sería posible.

A Teresa y Joan, por su cariño y apoyo en este camino, y en todos. Porque siempre han sido mi ejemplo a seguir, porque ha sido y es un privilegio tenerlos como hermanos.

A Teresa Vicedo por ser la alegría de la casa.

A mis abuelos, a los que se han ido y a los que están porque sé que se sienten muy orgullosos.

INDICE

RESUMEN	14
INTRODUCCIÓN	17
1.1. INFECCIÓN POR EL VIRUS SARS CoV-2.....	18
1.1.1. Epidemiología de la infección por el virus SARS-CoV-2.....	18
1.1.2. Características de SARS-CoV-2: Información microbiológica	21
1.1.3. Enfermedad por coronavirus: COVID-19	23
1.1.4 Diagnóstico microbiológico.....	26
1.1.5. Tratamiento COVID-19	26
1.1.6. Estrategia de vacunación	33
1.2. USO DE PLASMA DE CONVALECIENTES (PC).....	34
1.2.1. Uso de plasma de convalecientes en enfermedades infecciosas.....	34
1.2.2. Uso de plasma de convalecientes en COVID-19.....	35
JUSTIFICACIÓN	39
OBJETIVOS	41
MATERIAL Y MÉTODOS	43
4.1. DISEÑO Y ÁMBITO DEL ESTUDIO.....	44
4.2. POBLACIÓN DEL ESTUDIO	45
4.2.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	45
4.2.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.....	45
4.3. VARIABLES DEL ESTUDIO E INSTRUMENTOS DE MEDIDA	46
4.3.1. VARIABLE PRINCIPAL.....	46
4.3.2. VARIABLES SECUNDARIAS	46
4.4. PRODUCTO DEL ESTUDIO.....	47
4.4.1. PRODUCTO DE INVESTIGACIÓN.....	47
4.4.2. PREPARACIÓN / MANIPULACIÓN / ALMACENAMIENTO	48
4.4.3. FORMULACIÓN, APARIENCIA, EMPAQUETAMIENTO Y ETIQUETADO	49
4.4.4. ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD DEL PRODUCTO	49
4.5. MEDIDAS PARA MINIMIZAR EL SESGO: ALEATORIZACIÓN Y CIEGO.....	49
4.6. EVALUACIONES Y PROCEDIMIENTOS	49
4.6.1. PROCEDIMIENTOS DE SCREENING	50
4.6.2. VISITA 1 (TRATAMIENTO).....	50
4.6.3. EVALUACIONES DE EFICACIA (VISITAS DE SEGUIMIENTO).....	51
4.6.4. EVALUACIÓN VIROLÓGICA (VISITAS DE SEGUIMIENTO).....	51

4.6.5.	EVALUACIÓN DE SEGURIDAD	51
4.7.	SEGURIDAD/HEMOVIGILANCIA.....	53
4.7.1.	DEFINICIÓN DE EVENTO ADVERSO (EA).....	53
4.7.2.	DEFINICIÓN DE SERIOUS ADVERSE EVENT (SAE)	53
4.7.3.	EVENTOS ADVERSOS DE INTERÉS ESPECIAL.....	54
4.7.4.	RELACIÓN CON LA INTERVENCIÓN DEL ESTUDIO.....	54
4.7.5.	HEMOVIGILANCIA	54
4.8.	ESTADÍSTICA Y GESTIÓN DE DATOS	54
4.8.1.	OBSERVACIONES GENERALES	54
4.8.2.	CÁLCULO TAMAÑO MUESTRAL	55
4.8.3.	REVISIÓN DE DATOS (DR).....	56
4.8.4.	ANÁLISIS DE POBLACIONES	56
4.8.5.	PROCEDIMIENTO DE RANDOMIZACIÓN	56
4.8.6.	ANÁLISIS DESCRIPTIVO	56
4.8.7.	VARIABLE PRINCIPAL.....	56
4.8.8.	VARIABLES SECUNDARIAS Y DE SEGURIDAD	57
4.8.9.	ESTRATEGIA GENERAL PARA EL RESTO DE VARIABLES.....	57
4.8.10.	AJUSTES DE MULTIPLICIDAD Y ANÁLISIS INTERMEDIOS	57
4.8.11.	ESTIMACIÓN DEL ESTUDIO Y MANEJO DE LAS PÉRDIDAS	58
4.8.12.	ANÁLISIS DE SUBGRUPOS	58
4.9.	ENMIENDAS Y MODIFICACIONES DEL ENSAYO	59
4.10.	CONSIDERACIONES REGULATORIAS Y ÉTICAS.....	61
4.10.1.	PROCESO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO	61
4.10.2.	RETIRADA DEL ESTUDIO	61
4.10.3.	CONFIDENCIALIDAD Y PRIVACIDAD.....	61
4.10.4.	SUPERVISIÓN Y SEGUIMIENTO DE LA SEGURIDAD	62
4.11.	CUMPLIMIENTO DE BPC	62
4.11.1	MONITORIZACIÓN.....	62
RESULTADOS	64
5.1.	POBLACIÓN DEL ESTUDIO	65
5.1.1.	POBLACIÓN INCLUIDA.....	65
5.1.2.	POBLACIÓN DONANTE	67
5.2.	EVALUACIÓN DE LA EFICACIA	70
5.2.1.	VARIABLE PRINCIPAL	70
5.2.2	VARIABLES SECUNDARIAS.....	71

5.3.	ANÁLISIS DE SUBGRUPOS	75
5.3.1	ANÁLISIS DE SUBGRUPOS: SEROCONVERSIÓN BASAL	79
5.3.2	ANÁLISIS DE SUBGRUPOS: EDAD	81
5.3.3	ANÁLISIS DE SUBGRUPOS: PERIODO DE INCLUSIÓN	81
5.3.4	ANÁLISIS DE SUBGRUPOS: TIEMPO DE SÍNTOMAS	82
5.3.5	ANÁLISIS DE SUBGRUPOS: TÍTULOS DE ANTICUERPOS COVID-19 EN EL PC DE DONANTES .	83
5.4.	EVALUACIÓN DE LA SEGURIDAD.....	84
5.5.	EVALUACIÓN DE LA NEGATIVIZACIÓN VIROLÓGICA Y SEROCONVERSIÓN	85
5.5.1	ANÁLISIS DE LA NEGATIVIZACIÓN VIROLÓGICA	85
5.5.2	ANÁLISIS DE LA CONVERSIÓN SEROLÓGICA	87
	DISCUSIÓN	89
	CONCLUSIONES.....	97
	BIBLIOGRAFÍA.....	99
	ANEXOS.....	112

ANEXO 1. Listado de Centros participantes

ANEXO 2. Protocolo del estudio

ANEXO 3. Autorización del CEIm/AEMPS

ANEXO 4. Publicaciones

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Variantes de SARS-COV2 actualmente designadas. (17).....	22
Tabla 2. Esquema Tratamientos COVID-19	28
Tabla 3. Vacunas frente a la COVID-19 autorizadas en la Unión Europea (UE).(77).....	33
Tabla 4. Procedimientos del estudio.....	52
Tabla 5. Límites de detención para la eficacia y la futilidad.....	55
Tabla 6. Enmiendas y modificaciones durante el estudio.....	59
Tabla 7. Características clínicas y demográficas de los pacientes en visita basal	66
Tabla 8. Uso de tratamiento estándar previo a la inclusión en el estudio. Analisis temporal.....	67
Tabla 9. Características clínicas y demográficas de los donantes evaluados	68
Tabla 10. Características del plasma recibido por los pacientes del estudio.....	69
Tabla 11. Pacientes en las distintas categorías de la escala OMS a día 15.....	70
Tabla 12. Mortalidad a día 15, día 29 y 60	73
Tabla 13. Tratamiento concomitante instaurado tras la aleatorización.....	75
Tabla 14. Subgrupos según IgG Basal. Pacientes hospitalizados con ventilación no invasiva o dispositivos de oxígeno de alto flujo, hospitalizados con ventilación mecánica invasiva o ECMO o muertos (categorías 5, 6 y 7 de la escala ordinal de la OMS de 7 puntos) en el día 15, 29 y 60.	79
Tabla 15. Subgrupo por edad. Pacientes hospitalizados con ventilación no invasiva o dispositivos de oxígeno de alto flujo, hospitalizados con ventilación mecánica invasiva o ECMO o muertos (categorías 5, 6 y 7 de la escala ordinal de la OMS de 7 puntos) en el día 15, 29 y 60.....	81
Tabla 16. Subgrupo Periodo de inclusión. Pacientes hospitalizados con ventilación no invasiva o dispositivos de oxígeno de alto flujo, hospitalizados con ventilación mecánica invasiva o ECMO o muertos (categorías 5, 6 y 7 de la escala ordinal de la OMS de 7 puntos) en el día 15, 29 y 60.	82
Tabla 17. Subgrupo Tiempo de síntomas. Pacientes hospitalizados con ventilación no invasiva o dispositivos de oxígeno de alto flujo, hospitalizados con ventilación mecánica invasiva o ECMO o muertos (categorías 5, 6 y 7 de la escala ordinal de la OMS de 7 puntos) en el día 15, 29 y 60.	82
Tabla 18. Análisis del impacto de los títulos de anticuerpos COVID-19 en el PC de donantes. Pacientes hospitalizados con ventilación no invasiva o dispositivos de oxígeno de alto flujo, con ventilación mecánica invasiva o ECMO o muertos (categorías 5, 6 y 7 de la escala ordinal de la OMS de 7 puntos) en el día 15, 29 y 60.	83
Tabla 19. Eventos adversos graves (grado 3-4).....	84
Tabla 20. Eventos trombóticos (arteriales y venosos).....	85
Tabla 21. Descripción de las reacciones infusionales	85

Tabla 22. Negativización de PCR en sangre	86
Tabla 23. Titulos de IgG Anti SARS-CoV-2 (Euroimmun) en sangre durante el periodo de seguimiento	88

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa mundial con casos por cada 100000 habitantes de COVID-19	18
Figura 2. Periodos epidemiológicos de COVID-19 en España.(5)	19
Figura 3. Número de hospitalizados , número de ingreso en UCI entre hospitalizados, número de defunciones, por periodos y grupo de edad. Casos de COVID-19 notificados a la RENAVE diagnosticados a partir de 22 de Junio de 2020 hasta 5 Enero 2022.	20
Figura 4. Estructura genómica de SARS CoV2 y dianas terapéuticas. (14)	21
Figura 5. Emisión de secreciones respiratorias por parte del caso índice (emisor) a un contacto expuesto (receptor) a una distancia inferior a dos metros, con y sin mascarilla.	23
Figura 6. Fases de COVID-19 y potenciales dianas terapéuticas .(25)	24
Figura 7. Abordajes terapéuticos COVID-19 (38)	27
Figura 8. Cronología del estudio	63
Figura 9. Diagrama de flujo.....	65
Figura 10. Diagrama de flujo para la población donante	68
Figura 11. Resultados eficacia. Variable principal	70
Figura 12. Proporción de pacientes en las categorías 5, 6 o 7 en la escala ordinal de 7 puntos a día 29.....	71
Figura 13. Proporción de pacientes en las categorías 5, 6 o 7 en la escala ordinal de 7 puntos a día 60.....	72
Figura 14. Pacientes en las distintas categorías de la escala OMS a día 29.....	72
Figura 15. Pacientes en las distintas categorías de la escala OMS a día 60.....	73
Figura 16. Supervivencia global.....	74
Figura 17. Tiempo hasta el alta hospitalaria	74
Figura 18. Forest Plot. Análisis de subgrupos. Pacientes hospitalizados con ventilación no invasiva o dispositivos de oxígeno de alto flujo, con ventilación mecánica invasiva o ECMO o muertos (categorías 5, 6 y 7 de la escala ordinal de la OMS de 7 puntos) en el día 15.....	76
Figura 19. Forest Plot. Análisis de subgrupos. Pacientes hospitalizados con ventilación no invasiva o dispositivos de oxígeno de alto flujo, con ventilación mecánica invasiva o ECMO o muertos (categorías 5, 6 y 7 de la escala ordinal de la OMS de 7 puntos) en el día 29.....	77
Figura 20. Forest Plot. Análisis de subgrupos. Pacientes hospitalizados con ventilación no invasiva o dispositivos de oxígeno de alto flujo, con ventilación mecánica invasiva o ECMO o muertos (categorías 5, 6 y 7 de la escala ordinal de la OMS de 7 puntos) en el día 60.....	78
Figura 21. Subgrupo IgG anti-SARS-CoV-2 basal positiva. Supervivencia global.....	80

Figura 22. Subgrupo IgG anti-SARS-CoV-2 basal negativa. Supervivencia global 80

Figura 23. Negativización PCR sangre en pacientes positivos en momento basal (% acumulado) .. 87

ABREVIATURAS

AAG: Eventos adversos graves
ACE 2: Enzima convertidora de la angiotensina 2
ADE: Intensificación de la enfermedad dependiente de anticuerpos
ADO: Datos Disponibles Únicamente
AEMPS: Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios
ARN: Ácido ribonucleico
AUE : Autorización de Uso de Emergencia
CEIm: Comité de Ética de Investigación con medicamentos
CHMP: Comité de Medicamentos de Uso Humano
CK: Creatinkinasa
CN: Donantes Convalecientes
CNE: Centro Nacional de Estadística
COVID-19: Infección por coronavirus 2019/Coronavirus Infectious Disease 2019
DD: Dímero-D
DM: Diabetes Mellitus
DSMB: Comité de seguimiento de la seguridad de los datos
EA: Eventos Adversos
EC: Ensayos clínicos
IFN-b: Interferón Beta-1
IL: Interleuquina
ISCIII: Instituto de Salud Carlos III
LDH: lactato deshidrogenasa
MERS: Middle East Respiratory Syndrome
Nab: Anticuerpos Neutralizantes
OMS: Organización Mundial de la Salud
PC : Plasma Convaleciente
PCR: proteína C reactiva
RENAVE: Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica
RSI: Comité de Emergencias del Reglamento Sanitario Internacional
SAE: Evento Adverso Serio
SARI: Infecciones Respiratorias Agudas Graves
SARS-COV-2 : Coronavirus SARS-2
SatO2: saturación arterial de oxígeno
SC: Steering Comitee/ Comité Director
SDRA: síndrome de distrés respiratoria del adulto
SOC: Estándar de tratamiento (“standard of care” en inglés)
TC: tomografía computarizada
TCZ: Tocilizumab
TNF: factor de necrosis tumoral
UCI: Unidad de Cuidados Intensivos
VIH: Virus de la Inmunodeficiencia Humana

A large, solid yellow rectangular block occupies the right side of the page, extending from the top header area down to just above the 'RESUMEN' text.

RESUMEN

A smaller, solid yellow rectangular block is positioned below the 'RESUMEN' text, likely serving as a placeholder for a summary or abstract.

La inmunoterapia pasiva con plasma convaleciente (PC) es un tratamiento potencial para COVID-19, para el cual la evidencia de ensayos clínicos controlados no es concluyente.

Objetivo: Determinar si la terapia con PC agregada al estándar de tratamiento es clínicamente superior al estándar de tratamiento solo.

Diseño: Ensayo clínico multicéntrico, aleatorizado, abierto, realizado en 27 hospitales de España. Los pacientes hospitalizados por neumonía COVID-19 dentro de los 7 días desde el inicio de los síntomas y sin ventilación mecánica o dispositivos de alto flujo de oxígeno fueron asignados al azar para recibir PC como terapia adicional al tratamiento estándar utilizando un sistema de asignación oculto. El estado clínico del paciente se evaluó con una escala COVID-19 ordinal de siete categorías diariamente hasta el alta y los días 15, 29 y 60. La variable principal de eficacia se estableció como el porcentaje de pacientes en categorías 5 (hospitalizados, con ventilación no invasiva o dispositivos de oxígeno de alto flujo), 6 (hospitalizado, con ventilación mecánica invasiva o ECMO) o 7 (muerte) a los 14 días.

Resultados: 350 pacientes fueron aleatorizados entre abril de 2020 y febrero de 2021, 179 asignados a PC y 171 a grupo control. La proporción de pacientes que en el día 15 habían empeorado a categorías 5, 6 o 7 fue del 11,7% en el grupo PC frente al 16,4% en el grupo control el día 15 ($p = 0,20$) y del 8,4% frente al 16,4%, respectivamente, el día 29 ($p = 0,02$). La diferencia en la supervivencia global no alcanzó significación estadística (HR 0,46, IC 0,19-1,14, rango logarítmico $p=0,09$). No hubo diferencias significativas en otras variables secundarias. Los análisis de subgrupos planificados previamente no confirman la hipótesis de un mayor beneficio del PC en los pacientes hospitalizados y tratados a los pocos días de los síntomas, pero sugieren beneficio del PC en pacientes mayores de 75 años y en aquellos sin anticuerpos anti-SARS-CoV-2 en el momento de la inclusión.

Conclusiones y relevancia: El PC añadido al estándar de tratamiento no mostró un beneficio estadísticamente significativo en la variable principal predefinida. El beneficio estadísticamente significativo a día 29 y los resultados del análisis de subgrupos planificado previamente sugieren que se debe completar su evaluación para aclarar cuál puede ser el momento oportuno para su administración, las poblaciones concretas en las que puede existir beneficio y la dosis que se debería administrar, con un umbral mínimo de anticuerpos con la afinidad adecuada.

Registro del ensayo: ClinicalTrials.gov Identificador: NCT04345523
<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04345523>

Financiación: Instituto de Salud Carlos III.

Passive immunotherapy with convalescent plasma (CP) is a potential treatment for COVID-19 for which evidence from controlled clinical trials is inconclusive.

Objective: Determine if CP therapy added to standard of care treatment (SOC) is clinically superior to SOC alone.

Methods: We conducted a randomized, open-label, controlled clinical trial at 27 hospitals in Spain. Patients had to be admitted for COVID-19 pneumonia within 7 days from symptom onset and not on mechanical ventilation or high flow oxygen devices. Patients were randomized 1:1 to treatment with CP in addition to standard of care (SOC) or to the control arm receiving only SOC.

The primary endpoint was the proportion of patients in categories 5 (non-invasive ventilation or high-flow oxygen), 6 (invasive mechanical ventilation or extracorporeal membrane oxygenation [ECMO]), or 7 (death) at 14 days, and primary analysis was performed in the intention-to-treat population.

Results: Between April 4, 2020 and February 5, 2021, 350 patients were randomly assigned to either CP (n=179) or SOC (n=171). At 14 days, proportion of patients on categories 5, 6 or 7 was 11.7% in CP group versus 16.4% in control group (p=0.205). The difference was greater at 28 days, with 8.4% of patients in categories 5-7 in CP group versus 17.0% in control group (p=0.021). The difference in overall survival did not reach statistical significance (HR 0.46, 95%CI 0.19-1.14, log-rank p=0.087). There were no differences in other secondary outcomes. Pre-planned subgroup analysis do not confirm the hypothesis of a greater benefit of PC in patients hospitalized and treated within days of symptoms, but suggest benefit with PC use in patients older than 75 and those without anti-SARS-CoV-2 antibodies at the time of inclusion.

Conclusion: The effect of PC added to SOC did not show a statistically significant benefit in the predefined primary variable. A statistically significant benefit at day 29 and the results of preplanned subgroup analysis suggest that its evaluation should be completed to clarify what may be the right time for its administration, the specific populations in which there may be benefits and the dose that should be administered, with a minimum threshold of antibodies with adequate affinity.

Trial registration: [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT04345523), NCT04345523

Funding: Government of Spain, Instituto de Salud Carlos III.

INTRODUCCIÓN

1.1. INFECCIÓN POR EL VIRUS SARS CoV-2

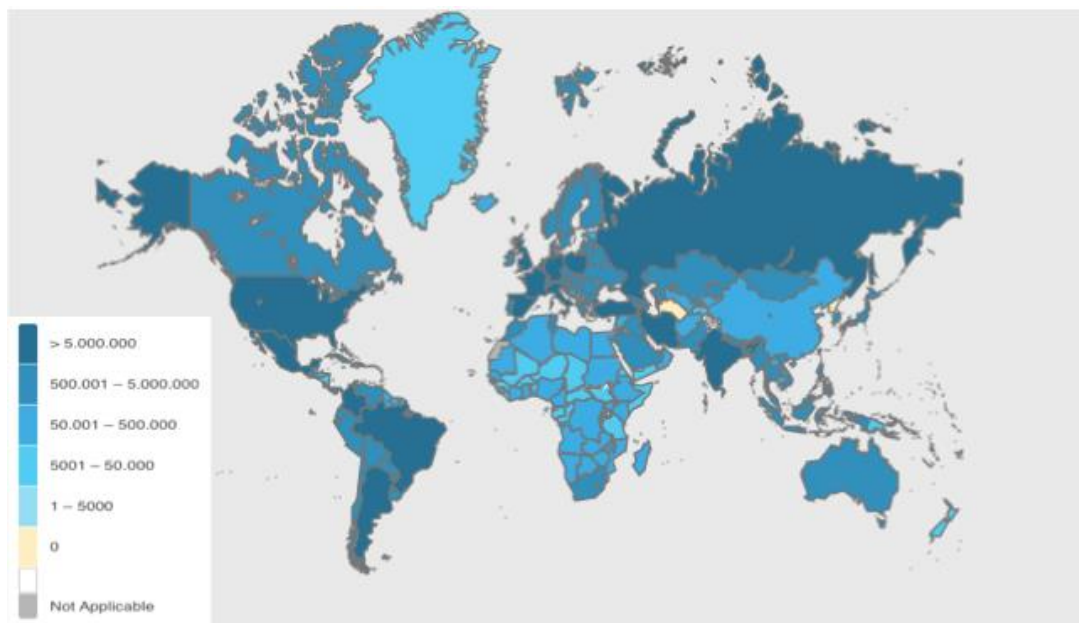
1.1.1. Epidemiología de la infección por el virus SARS-CoV-2

En diciembre de 2019 surgió un grupo de casos de neumonía en la ciudad de Wuhan (provincia de Hubei, China).(1) Las autoridades chinas identificaron, el 7 de enero de 2020, como agente causante del brote un nuevo virus de la familia Coronaviridae que posteriormente fue denominado SARS-CoV-2.(2) La enfermedad causada por este nuevo coronavirus se denominó por consenso internacional COVID-19. El Comité de Emergencias del Reglamento Sanitario Internacional (RSI, 2005) declaró el brote como una Emergencia de Salud Pública de Importancia Internacional (ESPII) el 30 de enero de 2020. Posteriormente, fue reconocida por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una pandemia global el 11 de marzo de 2020.(3)

Datos por continentes

Según el recuento de la Organización Mundial de la Salud, a fecha de Febrero 2022, se han registrado 410.565.868 casos de infección por el nuevo coronavirus SARS-CoV-2, responsable de la enfermedad COVID-19, y 5.810.880 fallecimientos.(4) El país con más contagios en términos absolutos sigue siendo Estados Unidos, seguido de la India y de Brasil. (Figura 1).

Figura 1. Mapa mundial con casos por cada 100000 habitantes de COVID-19



Fuente : World Health Organization (4)

Datos en España

Desde el inicio de la pandemia de COVID-19, la vigilancia de la enfermedad en España se ha basado en la notificación universal de todos los casos confirmados de COVID-19 que se identifican. Se realiza mediante notificación individualizada por parte de las CCAA a la RENAVE a través de la plataforma informática que gestiona el CNE.

En la evolución de la pandemia de COVID-19 en España se diferencian seis periodos: (5) (Figura 2).

Primer periodo: desde el inicio de la pandemia hasta el 21 de junio de 2020, fecha en la que se terminó el estado de alarma en España, tras finalizar la primera ola epidémica de COVID-19.

Segundo periodo: desde el 22 de junio hasta el 6 de diciembre de 2020.

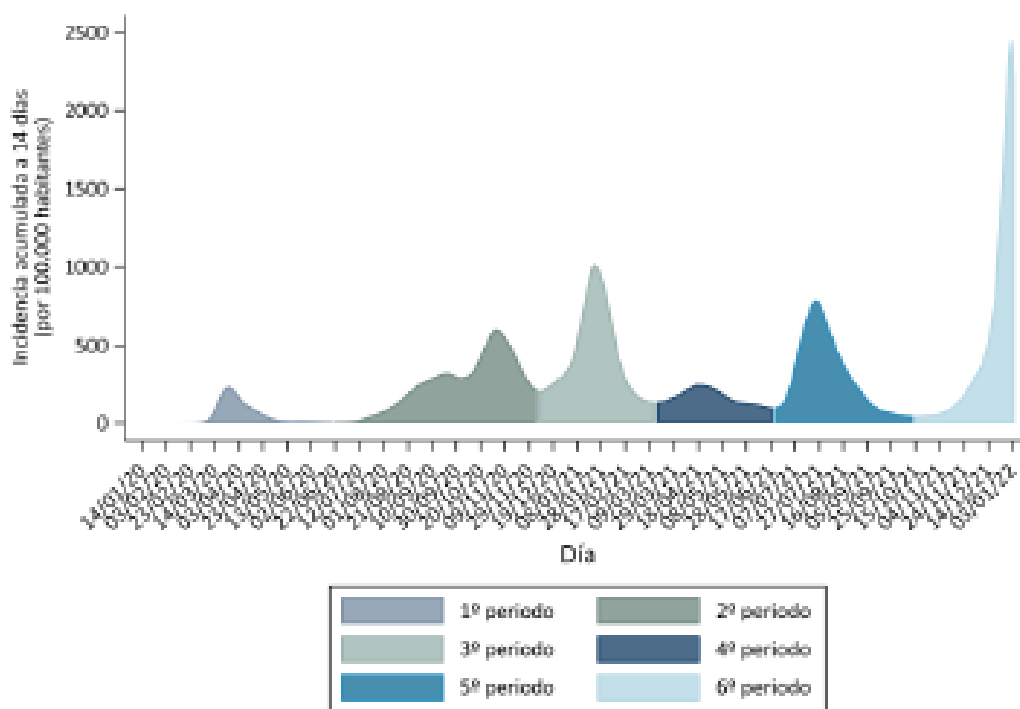
Tercer periodo: desde el 7 de diciembre de 2020 hasta el 14 de marzo de 2021.

Cuarto periodo: desde el 15 de marzo de 2021 hasta el 19 de junio.

Quinto periodo: desde el 20 de junio de 2021 hasta el 13 de octubre.

Sexto periodo: desde el 14 de octubre de 2021 hasta la actualidad.

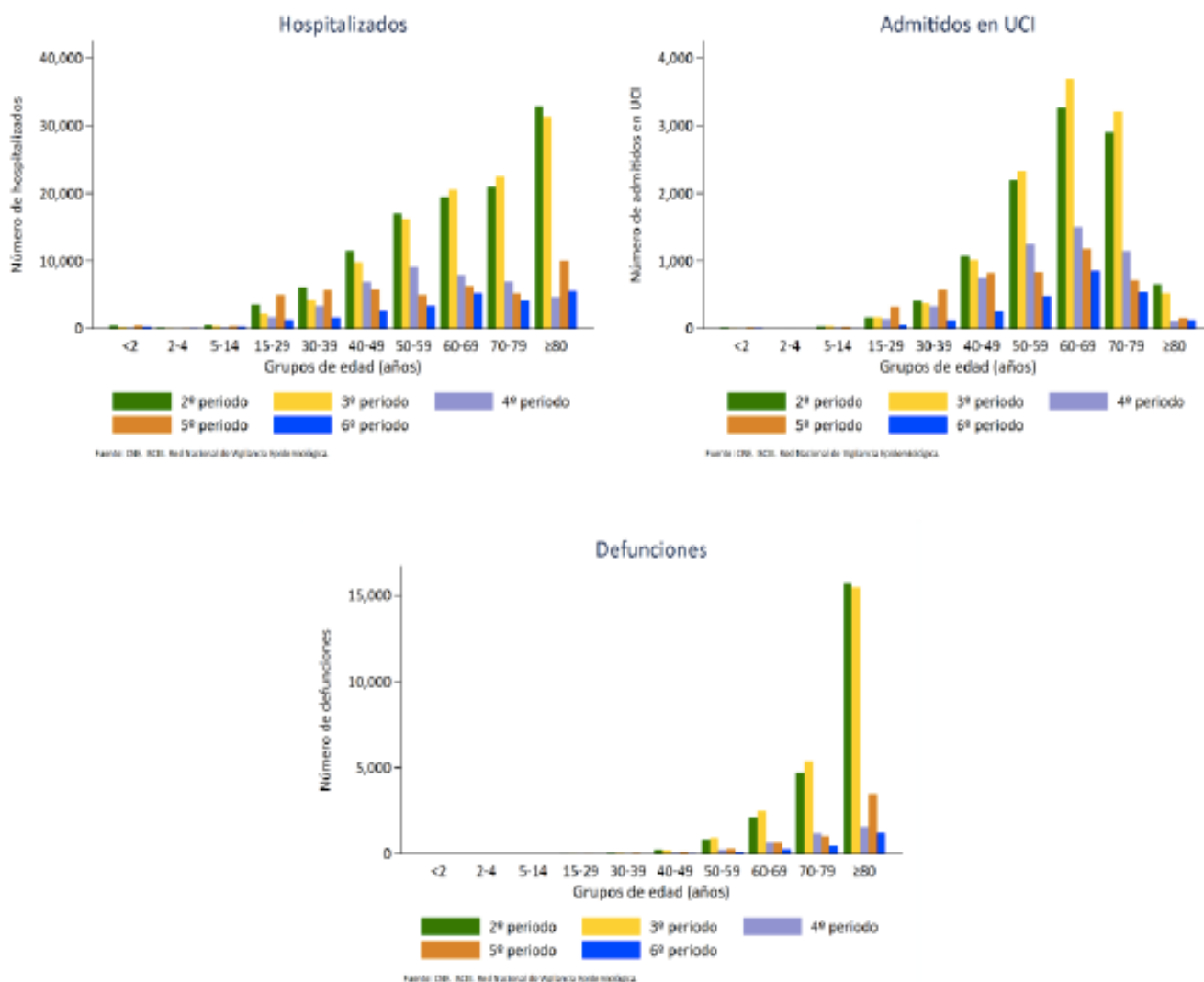
Figura 2. Periodos epidemiológicos de COVID-19 en España.(5)



Fuente : CNE. ISCIII. Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica.

A continuación se detallan el número de hospitalizados , número de ingreso en UCI entre hospitalizados, número de defunciones, por periodos y grupo de edad, con datos a partir de Junio de 2020 hasta 5 Enero 2022. (figura 3).

Figura 3. Número de hospitalizados , número de ingreso en UCI entre hospitalizados, número de defunciones, por periodos y grupo de edad. Casos de COVID-19 notificados a la RENAVE diagnosticados a partir de 22 de Junio de 2020 hasta 5 Enero 2022.



Fuente: CNE. ISCIII. Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica.

Aunque la mayoría de casos se reportan, se considera que la incidencia de infección por SARS-CoV-2 está infraestimada en las estadísticas globales a nivel mundial. Al inicio de la pandemia debido a la falta de test diagnósticos los casos no eran diagnosticados oficialmente y por tanto notificados. En el primer período, el elevado número de casos registrados de hospitalización por COVID19 y el exceso de mortalidad, el mayor de todos los periodos, indica que el registro de casos de infección fue incompleto. En Estados Unidos y en Europa se realizaron estudios de seroprevalencia que muestran una infraestimación de los casos de COVID19 de aproximadamente 10 veces los casos que presentan anticuerpos (6, 7), aunque actualmente, al menos en estos territorios, los casos sí se notifican.

1.1.2. Características de SARS-CoV-2: Información microbiológica

Los coronavirus pertenecen a la familia *Coronaviridae*, son miembros de la subfamilia *Orthocoronavirinae* (orden *Nidovirales*). Esta subfamilia comprende cuatro géneros: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus* y *Deltacoronavirus* de acuerdo a su estructura genética. (8)

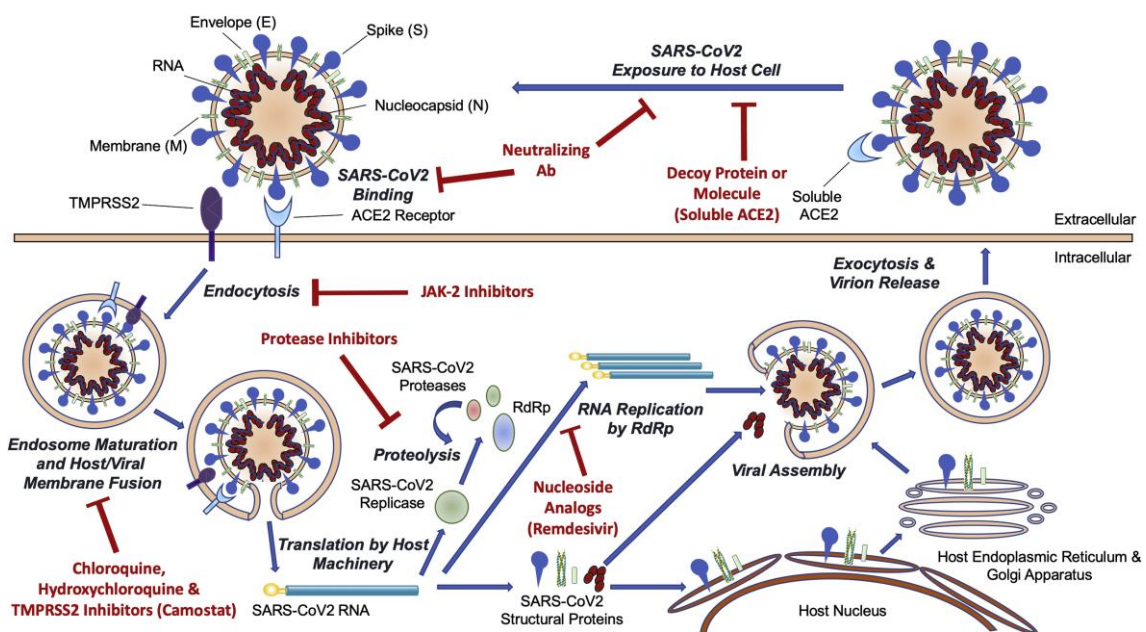
Hasta la aparición del SARS-CoV-2, se habían descrito seis coronavirus en seres humanos (HCoV-NL63, HCoV-229E, HCoV-OC43 y HKU1) que son responsables de un número importante de las infecciones leves del tracto respiratorio superior más graves en niños y ancianos. (9)

El SARS-CoV y MERS-CoV, emergentes a partir de reservorio animal, son responsables de infecciones respiratorias graves con gran repercusión internacional debido a su morbilidad y mortalidad. (10).

El virus que causó los primeros 9 casos de neumonía descritos en ciudadanos de Wuhan (China) fue aislado y secuenciado. En total, se pudo obtener la secuencia genómica completa de 7 de estas muestras, más dos secuencias parciales de las otras dos muestras. Los genomas completos secuenciados de estos eran prácticamente idénticos entre sí con un porcentaje de homología del 99%, lo que apoya la idea de que es un virus de muy reciente introducción en la población humana. (11)

En referencia a la estructura de los coronavirus (figura 4), se trata de virus esféricos de 100-160 nm de diámetro, con envuelta y que contienen ARN monocatenario (ssRNA) de polaridad positiva, con una longitud de entre 26 y 32 kilobases. El genoma del virus SARS-CoV-2 codifica 4 proteínas estructurales: S (espícula), E (envoltura), M (membrana) y N (nucleocápside). La proteína N está en el interior del virión asociada al RNA viral, y las otras cuatro proteínas están asociadas a la envuelta viral. La proteína S se ensambla en homotrímeros, y forma las estructuras que sobresalen de la envuelta del virus. La proteína S contiene el dominio de unión al receptor celular y por tanto es la proteína que determina el tropismo del virus y además es la que tiene la actividad de fusión de la membrana y así permite liberar el genoma viral en el interior de la célula que va a infectar (12, 13).

Figura 4. Estructura genómica de SARS CoV2 y dianas terapéuticas. (14)



Para penetrar en la célula hospedadora, el SARS-CoV-2 se vale de la proteína S (espícula), que se acopla al receptor ACE2 (enzima convertidora de la angiotensina 2) de la célula (15).

Cuando los virus se replican, en especial los virus de ARN como el SARS-CoV-2, se producen cambios (mutaciones) en su genoma.

Los estudios de genómica han permitido analizar la evolución de la pandemia de COVID-19. En este sentido, distintas iniciativas a nivel nacional e internacional han sido ampliamente utilizadas para el estudio de las numerosas secuencias publicadas. (16)

En la tabla 1 se muestran las variantes de SARS-COV-2 designadas por la OMS a fecha de enero 2022.

Tabla 1. Variantes de SARS-COV2 actualmente designadas. (17)

Denominación de la OMS	Linaje Pango*	Clado/linaje GISAID	Clado Nextstrain	Otros cambios en aminoácidos que se están examinando°	Primeras muestras documentadas samples	Fecha de designación
Alpha	B.1.1.7	GRY	20I (V1)	+S:484K +S:452R	Reino Unido, septiembre 2020	18 diciembre 2020
Beta	B.1.351	GH/501Y.V2	20H (V2)	+S:L18F	Sudáfrica, mayo 2020	18 diciembre 2020
Gamma	P.1	GR/501Y.V3	20J (V3)	+S:681H	Brasil, noviembre 2020	11 enero 2021
Delta	B.1.617.2	G/478K.V1	21A, 21I, 21J	+S:417N	India, octubre 2020	VOI: 4 abril 2021 VOC: 11 mayo 2020
Omicron*	B.1.1.529	GR/484A	21K		Varios países noviembre 2021	VUM: 24-nov-2021 VOC: 26-nov-2021

Fuente: WHO. <https://www.who.int/es/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants>

Fuente y tipo de transmisión

Como en el caso de otros brotes causados por coronavirus, la fuente primaria más probable de la enfermedad producida por el SARS-CoV-2 es de origen animal. Se considera que SARS-COV-2 puede transmitirse de persona a persona por diferentes vías con un período de incubación medio de 5,1 días y un número de reproducción básico de 2,24-3,58 (18, 19).

La principal la vía de transmisión es la vía aérea, se produce por el contacto mediante la inhalación de gotas y aerosoles emitidos por enfermo hasta vías respiratorias superiores e inferiores de una persona susceptible. Aunque menos probable también se puede producir el contagio por contacto indirecto a través de las manos u objetos contaminados. La transmisión vertical a través de la placenta también es posible aunque muy poco frecuente (20).

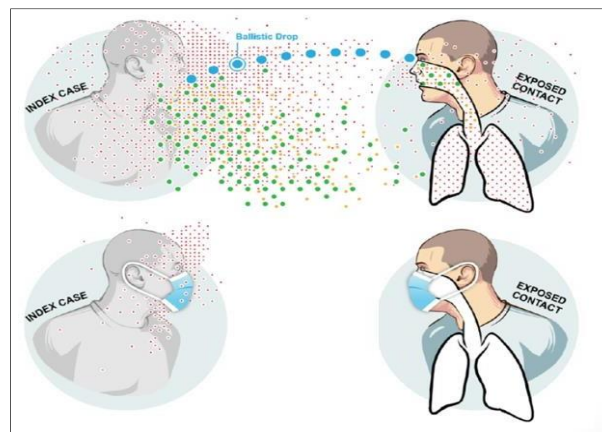
Los aerosoles producidos al hablar o al respirar son en más de 80-90 % de tamaño muy pequeño ($<2,5 \mu\text{m}$), generalmente se generan de promedio más de 500 por litro de aire espirado procediendo de los pulmones. Cuando tosemos se producen aproximadamente 3000 partículas y al estornudar 40000, éstas son de forma mayoritaria de tamaño pequeño ($1-10 \mu\text{m}$) y proceden de las vías respiratorias superiores (21). (figura 5).

Los criterios de Jones y Brosseau (22) establecen las condiciones para demostrar la transmisión de SARS-CoV-2 mediante aerosoles, estos engloban las siguientes condiciones:

- Que los aerosoles generados contengan microorganismos viables;
- Que los microorganismos contenidos en los aerosoles estén en cantidad suficiente y demuestren su capacidad de generar infección;
- Que los tejidos diana a estos microorganismos sean accesibles

Figura 5. Emisión de secreciones respiratorias por parte del caso índice (emisor) a un contacto expuesto (receptor) a una distancia inferior a dos metros, con y sin mascarilla.

Puntos azules: gotas balísticas ($\geq 100 \mu\text{m}$); puntos verdes: aerosoles grandes ($>15 \mu\text{m}$ hasta $100 \mu\text{m}$); puntos naranjas: aerosoles intermedios ($>5 \mu\text{m}$ hasta $15 \mu\text{m}$); puntos rojos: aerosoles de pequeño tamaño ($\leq 5 \mu\text{m}$)



Fuente: Milton et al.(23)

Al considerarse ésta actualmente la principal vía de transmisión las medidas de eficacia más contrastada para evitar contagios son la ventilación adecuada de espacios cerrados, el distanciamiento social y las mascarillas. La duración durante la que un paciente puede ser infectivo es aún objeto de controversia, motivo por el que los protocolos de aislamientos van cambiando continuamente.

1.1.3. Enfermedad por coronavirus: COVID-19

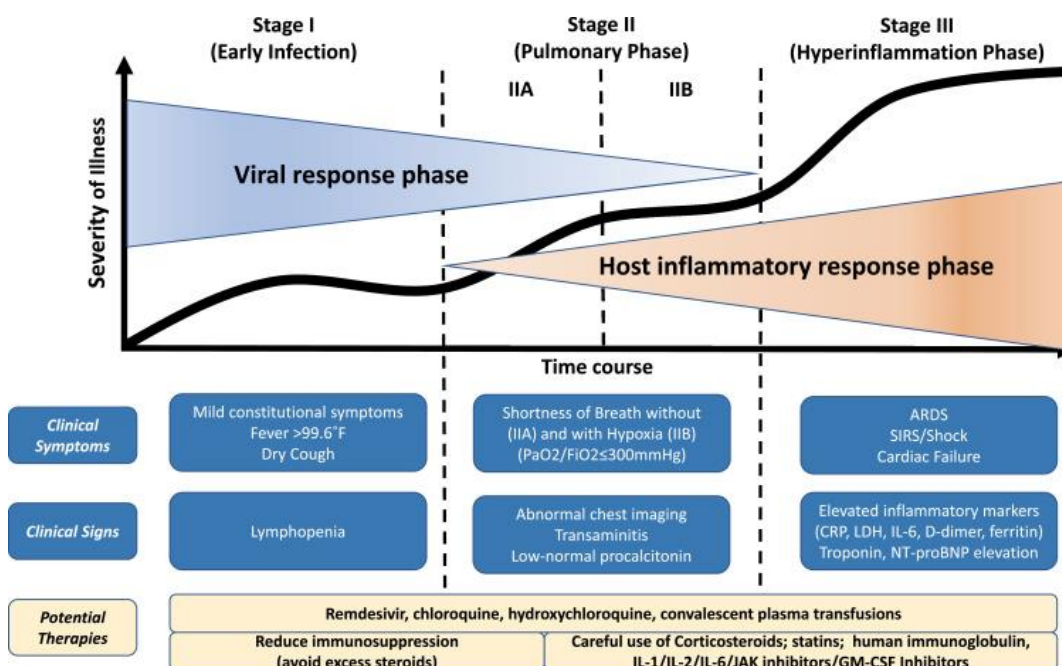
La pandemia causada por el coronavirus SARS-CoV-2 que comenzó en Wuhan, China, a finales del 2019 se ha extendido por todo el mundo, infectando a millones de personas y cuyo cuadro clínico varía desde asintomáticos hasta cuadros con síndrome respiratorios graves.

En los últimos meses se han descrito numerosos síntomas que indican que la enfermedad por COVID-19 es una enfermedad compleja, que no consiste sólo en una infección respiratoria. Muchos de los síntomas son inespecíficos, de manera que el diagnóstico diferencial abarca una amplia variedad de infecciones, enfermedades respiratorias y de otro tipo.

En una serie de casos multicéntrica de 1099 pacientes hospitalizados en China, los síntomas más comunes fueron fiebre en el 90 % de los casos seguido de tos, fatiga, producción de esputo y dificultad para respirar (24).

La progresión de la enfermedad se divide en 3 fases patológicas: la fase de infección temprana, una fase pulmonar y una fase de hiperinflamación grave (25). Cada una de estas tres fases está asociada con signos, síntomas específicos y posibles terapias dirigidas (figura 6).

Figura 6. Fases de COVID-19 y potenciales dianas terapéuticas .(25)



La primera fase de infección se caracteriza por la infiltración y duplicación viral. La linfocitopenia es el hallazgo de laboratorio característico en esta fase. La enfermedad evoluciona hasta la fase pulmonar, caracterizada por afectación respiratoria y alteración de las pruebas de imagen pulmonar. La tercera fase es la de hiperinflamación grave y se caracteriza por una respuesta inflamatoria exagerada, producida por la inmunidad del huésped, que puede conducir a fallo multiorgánico y coagulación intravascular diseminada (CID) en algunos casos (24).

Durante esta fase se produce un aumento de las citoquinas proinflamatorias como IL-1, IL-2, IL-6, IL-7, TNF alfa o factor estimulante de colonias de granulocitos entre otros. Así mismo existe también una elevación de parámetros como la proteína C reactiva (PCR), ferritina y dímero –D (DD).

Algunas de las complicaciones descritas que se asocian a COVID-19 son:

- Síndrome de distrés respiratorio agudo: es la complicación más grave que comienza tras el inicio de la disnea.
- Cardíacas: arritmias, cardiopatía isquémica, shock, cardiomiopatía
- Tromboembólicas: tromboembolismo pulmonar, accidente cerebrovascular
- Respuesta inflamatoria: similar al síndrome de liberación de citoquinas con fiebre persistente

En los pacientes con neumonía grave y SDRA , la hipoxia observada puede conllevar a un mayor daño secundario de los órganos y la muerte de los pacientes en estado crítico.

A pesar de que las principales manifestaciones clínicas de esta infección son las respiratorias que van desde síntomas leves hasta complicaciones graves como las descritas anteriormente , cualquier órgano puede verse afectado habiéndose observado múltiples manifestaciones clínicas. Se describen a continuación clasificadas por órganos o aparatos :

Afectación digestiva

Las manifestaciones digestivas son frecuentes, llegando a estar presente casi en un 40 % de los pacientes afectados por COVID-19 (26). Los síntomas más frecuentes son diarrea, vómitos, aunque también hay descritos casos de pancreatitis agudas.

La elevación de las transaminasas es común, con una incidencia que puede llegar incluso al 62 % en los pacientes graves ingresados en UCI.

Afectación renal

La incidencia oscila entre el 0,5 y el 15%.

La lesión renal aguda suele ocurrir en los primeros días de ingreso en pacientes con insuficiencia renal crónica y en pacientes con función renal previa normal se ha descrito a partir de la primera semana de ingreso. Entre las hipótesis propuestas en relación a los mecanismos de daño renal se incluye desde efectos citotóxicos del virus y el daño inmunomediado como la necrosis tubular aguda (27).

Afectación cutánea

Se han observado manifestaciones muy variadas, desde erupciones urticarianas vesiculosas similares a varicela o púrpura a erupciones tipo rash. En los dedos de manos y pies se han observado lesiones acrocianóticas parcheadas, de pequeño tamaño, en ocasiones con ampollas. Estas lesiones son similares a la perniosis y han aparecido con más frecuencia en niños y adolescentes sin otros síntomas (28).

Afectación otorrinolaringológica

Los síntomas más frecuentes observados en esta área son : obstrucción nasal,

disfunción olfatoria y del gusto (29). La hiposmiaanosmia y la hipogeusia-disgeusia se han descrito entre el 5% y el 65% de los casos según las series de casos publicadas, siendo en muchos casos el primer síntoma (30).

Afectación ocular

Al inicio de la pandemia se publicaron en una serie casos de 534 pacientes confirmados en Wuhan que él se detectaron en 20,9% presentó ojo seco, el 12,7% refería visión borrosa, el 11,8% hacía referencia a sensación de cuerpo extraño y el 4,7% presentaba congestión conjuntival (en el 0,5% de los casos fue el primer síntoma) (31).

Afectación cardiovascular

Las manifestaciones cardiovasculares de esta enfermedad son variables, puede presentarse con síntomas relacionados con el infarto agudo de miocardio, arritmias, pericarditis, insuficiencia cardiaca, ... incluso en ausencia de fiebre y síntomas respiratorios (32).

Afectación neurológica

Se han descrito diferentes manifestaciones neurológicas. En series de casos publicadas describen mareo (17%), alteración del nivel de conciencia (7%), accidente cerebrovascular (2,8%), ataxia (0,5%), epilepsia (0,5%) y neuralgia (2,3%) (33).

Afectación hematológica

Se han descrito mayor incidencia de fenómenos tromboticos asociados a los casos de COVID-19 tanto al inicio, como durante y tras el alta hospitalaria de pacientes ingresado por neumonía COVID-19. También se han observado una mayor incidencia de hemorragias.

Como consecuencia de esta enfermedad se han descrito algunas entidades. La diferencia entre la COVID-19 persistente o las secuelas derivadas de COVID-19, no queda clara en muchas definiciones a nivel internacional, por lo que es frecuente que los estudios superpongan estas entidades.

Algunas de estas se detallan a continuación:

COVID persistente o “Long COVID”. Se trata de una entidad que afecta a un gran número de personas y que está teniendo un gran impacto sanitario y social en la pandemia. Un porcentaje de personas presentan síntomas prolongados y de forma recurrente, durante semanas o meses, tras el primer episodio de COVID-19, independientemente de la gravedad de éste (34).

Reinfecciones. Tras el verano de 2020 se publicaron las primeras series de casos de posibles reinfecciones sintomáticas (35) y desde entonces se han ido publicando otras series de cohortes que muestran casos de reinfecciones en todo el mundo (36).

La probabilidad de reinfección ha de ponerse en relación con la duración total de la inmunidad protectora después de la infección por SARS-CoV-2, así como la intensidad con la que el virus circula en la comunidad, la susceptibilidad individual así como el nivel de exposición y la susceptibilidad individual (34).

Un factor importante que podría aumentar la tasa de reinfecciones es la circulación de nuevas variantes con escape a la inmunidad natural o generada tras las vacunas, como es la variante ómicron que está produciendo numerosas reinfecciones en la población.

Siguiendo el curso de la infección por COVID-19 se generan anticuerpos IgM e IgG detectables desde días a semanas posteriores a la aparición de los síntomas en la mayoría de las personas infectadas.

Algunos pacientes parecen no desarrollar una respuesta inmune humoral. Por otro lado existe incertidumbre sobre la relación que parece poco clara entre la respuesta de anticuerpos y la mejoría clínica.

1.1.4 Diagnóstico microbiológico

El diagnóstico microbiológico de COVID-19 se basa principalmente en la detección del material genético (ARN) viral del SARS-CoV-2 mediante técnicas de RT-PCR (siglas de Reacción en Cadena de la Polimerasa con Transcriptasa Inversa) en exudado nasofaríngeo u orofaríngeo. La RT-PCR es una técnica muy específica y sensible, ampliamente utilizada y estandarizada en los laboratorios de Microbiología para el diagnóstico de diversas infecciones, por lo que se considera la técnica de referencia para el diagnóstico de infección activa tanto en pacientes tanto sintomáticos como asintomáticos (37).

Por otro lado están las pruebas rápidas, son técnicas capaces de detectar proteínas del virus. La mayoría se basan en la técnica de inmunocromatografía de difusión (lateral-flow).

Su potencial es la capacidad de proporcionar un diagnóstico rápido (15-20 min), en el lugar de atención sanitaria y mediante un procedimiento sencillo y con un bajo coste.

1.1.5. Tratamiento COVID-19

Las estrategias de tratamiento de la COVID19 engloban el tratamiento sintomático y de soporte de la infección, incluyendo el manejo en Unidades de Cuidados Intensivos con soporte

respiratorio en aquellos casos más graves junto con tratamientos específicos guiados por la fisiopatología de la enfermedad.

En base a la teoría en que se presentan varias fases evolutivas para la enfermedad se han propuesto diferentes abordajes terapéuticos (tabla 2) (figura 7).

En la fase inicial caracterizada por una carga viral elevada se ha postulado el uso de tratamientos antivirales. En la segunda fase posterior en la que predominaría la respuesta inflamatoria los fármacos antiinflamatorios tendrían mayor importancia (25).

Figura 7. Abordajes terapéuticos COVID-19 (38)

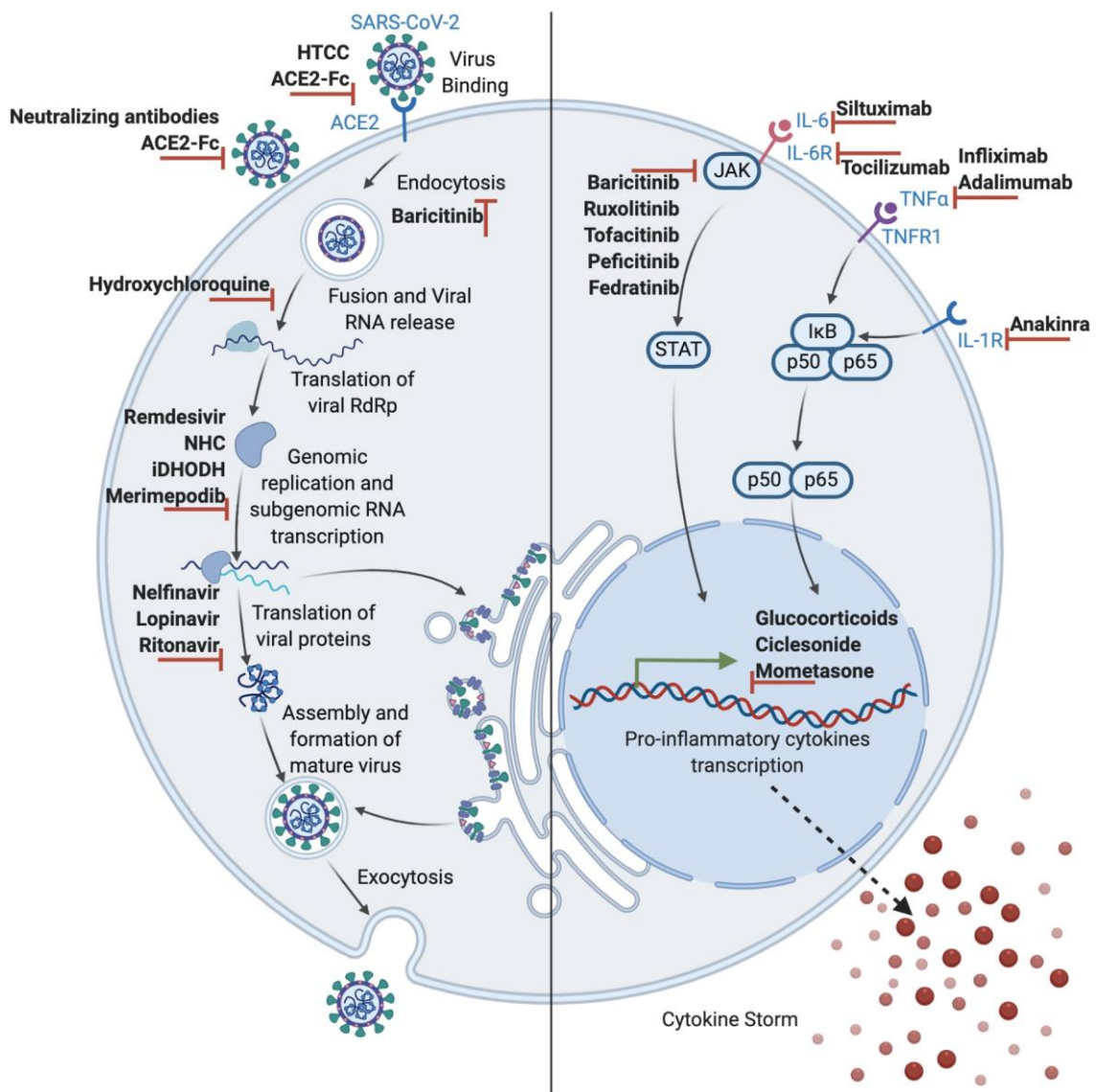


Tabla 2. Esquema Tratamientos COVID-19

Terapia antiviral		
Inhibidores de la síntesis de ARN	Inhibidores de RdRp (ARN polimerasa dependiente de ARN, RNA-dependent RNA polymerase)	Remdesivir
	Inhibidores de la proteasa	Paxlovid (PF-07321332 /ritonavir)
Otros agentes antivirales	Otros	Molnupiravir
Anticuerpos	Anticuerpos monoclonales	Casirivimab, Indevimab Regdanvimab Sotrovimab Tixagevimab / cilgavimab
	Plasma convaleciente	
Terapia inmunomoduladora		
Inmunomoduladores	Corticosteroides	
	Inhibidores de JAK	Baricitinib, Ruxolitinib
	Bloqueadores de citoquinas y terapias anticomplemento	Anakinra Canakinumab Infliximab Mavrilimumab Tocilizumab Siltuximab Sarilumab Vilobelimab

A día de hoy sigue sin existir una evidencia clara sobre el tratamiento más eficaz para esta enfermedad, aunque algunos tratamientos sí han demostrado un beneficio clínico con disminución de la tasa de mortalidad como es el caso de los glucocorticoides asociados a tocilizumab o baricitinib.

También el uso de Remdesivir ha demostrado un posible efecto beneficioso en pacientes con neumonía y que requerían oxígeno.

A pesar de los avances en la información disponible a día de hoy para el mejor conocimiento de la enfermedad, las recomendaciones internacionales actuales siguen manteniendo la importancia de incluir a los pacientes en ensayos clínicos (39).

De inicio fueron investigados y se utilizaron tratamientos que se han ido desestimando porque no han demostrado eficacia, como es el caso de la hidroxiclороquina, lopinavir-ritonavir, favipiravir, interferón, ivermectina.

Lopinavir/ritonavir (LPV/r)

Es un inhibidor de la proteasa del VIH indicado en combinación con otros agentes antiretrovirales para el tratamiento del VIH en adultos y en población pediátrica desde los 14 días de edad.

Presenta actividad in vitro ante el virus SARS-CoV-1, causante en 2003 del Síndrome de distrés respiratorio agudo severo (SARS). También presenta actividad contra el coronavirus causante del MERS-CoV (Middle East Respiratory Syndrome).

Se han publicado los resultados de un ensayo clínico aleatorizado, controlado y abierto en pacientes adultos hospitalizados con infección por SARS-CoV-2 y enfermedad respiratoria. Se

incluyeron 199 pacientes que recibieron una dosis de LPV/r de 400/100mg cada 12 horas vía oral y se compararon con el estándar de tratamiento (del inglés, “SoC”).

La variable principal de este estudio fue el “tiempo hasta la mejoría clínica”, que en ambos brazos fue 16 días. La población mostró tan solo un día de diferencia, pero el número de pacientes en cada subgrupo era muy pequeño y la potencia del estudio baja (40).

Cloroquina/Hidroxiclороquina

Son medicamentos que inicialmente han sido utilizados como antimaláricos que, posteriormente, han encontrado su mayor uso en el contexto de diferentes enfermedades autoinmunes.

Fue el primer fármaco que se utilizó al inicio de la pandemia, en monoterapia o combinado con Lopinavir/ritonavir.

A pesar de que la hidroxiclороquina había demostrado inhibir la replicación de SARS-CoV-2 in vitro, se realizaron diferentes ensayos clínicos que demostraron que no era eficaz en el tratamiento de COVID19 (41).

Favipiravir

Otros terapias antivirales, como favipiravir no han demostrado beneficio en la mortalidad en los estudios publicados recientemente (42).

Interferón Beta-1B (IFN β)

El interferón- β 1b tiene actividad antivírica e inmunorreguladora, siendo un tratamiento empleado en la esclerosis múltiple. Ha demostrado presentar actividad in vitro contra SARS-CoV y MERS (43, 44).

Ha sido utilizado en monoterapia o asociado a lopinavir/ritonavir. Una publicación sobre un ensayo clínico de fase II ha comparado la combinación de lopinavir/ritonavir junto a ribavirina e interferón- β 1b frente a lopinavir/ritonavir en 127 pacientes en Hong Kong (45).

Los resultados mostraron que la triple terapia temprana fue segura y superior a lopinavir-ritonavir solo para aliviar los síntomas y acortar la duración de la replicación viral y la estancia hospitalaria en pacientes con COVID-19 de leve a moderado.

En el estudio RECOVERY parece que el INF no tiene efecto sobre la mortalidad en 28 días o el curso hospitalario de COVID-19 entre pacientes hospitalizados (46).

Ivermectina

La ivermectina es un agente antiparasitario utilizado para tratar infestaciones parasitarias que inhibe la replicación de virus in vitro. La hipótesis inicial era que podía tener un efecto inhibitorio sobre el síndrome respiratorio agudo severo coronavirus 2 (SARS-CoV-2) en las primeras etapas de la infección.

En un ensayo clínico en el que se incluyeron pacientes en la fase inicial de la enfermedad (primeros 7 días de síntomas), el tratamiento con 5 días de ivermectina, en comparación con placebo, no mejoró significativamente el tiempo hasta la resolución de los síntomas (47).

Terapia antiviral

Remdesivir

Es un pro-fármaco, perteneciente al grupo de análogos de nucleótidos que interfiere con la polimerización del ARN del virus. Metaboliza intracelularmente en un análogo de adenosina trifosfato que inhibe las ARN polimerasas víricas. Se desarrolló inicialmente como tratamiento para la enfermedad del virus del Ébola, pero presenta también actividad in vitro frente a éste y

otros virus, incluyendo el coronavirus. En modelos de experimentación animal frente al coronavirus causante del MERS ha mostrado mejores resultados que el tratamiento con lopinavir/ritonavir más interferón β 1b (48). El remdesivir demostró actividad in-vitro frente a SARS-CoV-2 (49).

Remdesivir fue el primer medicamento que obtuvo autorización condicional para el tratamiento de COVID19 por parte de la Comisión Europea (50) y de la FDA.

La eficacia y seguridad de remdesivir en adultos que no requieren oxígeno suplementario y que presentan un mayor riesgo de progresar a COVID-19 grave se han evaluado mediante un estudio fase III aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo y multicéntrico para evaluar el tratamiento con remdesivir en un entorno ambulatorio en 562 pacientes adultos con COVID-19, no vacunados y al menos un factor de riesgo de mala evolución (51).

Presenta una dudosa eficacia clínica en el tratamiento de los pacientes con neumonía por SARS-CoV-2 y que requieren oxígeno (52, 53) y nulo efecto sobre la mortalidad al compararlo con el estándar de tratamiento (46).

Actualmente, se ha ampliado la indicación de remdesivir para el tratamiento de adultos que no requieren oxígeno suplementario y que presentan un riesgo más alto de evolucionar a COVID-19 grave.

PF-07321332/Ritonavir (Paxlovid)

Paxlovid es un medicamento antiviral que reduce la capacidad del SARS-CoV-2 de replicarse.

Recibió autorización condicional por parte de la EMA a finales de Enero de 2022 ya que el estudio principal en el que participaron pacientes con COVID-19 y al menos una afección subyacente que los ponía en riesgo de padecer COVID-19 grave analizó los efectos de Paxlovid dentro de los 28 días posteriores al tratamiento en comparación con un placebo. El análisis se realizó en pacientes que recibieron el tratamiento dentro de los 5 días posteriores al inicio de los síntomas de COVID-19 y que no recibieron ni se esperaba que recibieran tratamiento con anticuerpos. Durante el mes posterior al tratamiento, la tasa de hospitalización o muerte fue del 0,8 % (8 de 1039) para los pacientes que recibieron Paxlovid, en comparación con el 6,3 % (66 de 1046) para los que recibieron placebo (54).

Molnupiravir

Otro tratamiento antiviral surgido posteriormente es molnupiravir, que debe administrarse en los 5 días posteriores al inicio de los síntomas.

Los datos en los que se ha basado esta recomendación derivan del estudio MOVE-OUT, que incluyó a pacientes con enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19) de leve a moderada con una prueba de diagnóstico de SARS-CoV-2 positiva y con un alto riesgo de progresión a COVID-19 grave, incluida la hospitalización o la muerte (55).

El Comité de Medicamentos de Uso Humano de la EMA ha emitido recomendaciones sobre el uso de Lagevrio (molnupiravir) para el tratamiento de COVID-19. El medicamento no está autorizado en la UE pero se puede usar para tratar a adultos con COVID-19 que no requieren oxígeno suplementario y que tienen un mayor riesgo de desarrollar COVID-19 grave.

Anticuerpos

La administración de anticuerpos contra el virus SARS-Cov-2 es el fundamento del uso de plasma convaleciente, inmunoglobulinas específicas o los anticuerpos monoclonales específicamente desarrollados contra componentes de la proteína S del virus SARS CoV 2.

Existen numerosos estudios en marcha que ensayan el tratamiento con anticuerpos monoclonales anti SARS-CoV-2. A fecha de Febrero de 2022, están aprobados en la UE Ronapreve (casirivimab/imdevimab), Xevudy (sotrovimab) y Regkirona (regdanvimab) (56, 57).

Ronapreve es una combinación de dos anticuerpos monoclonales neutralizantes (casirivimab e imdevimab, administrados juntos), se une a epítomos no competitivos del dominio de unión al receptor de la proteína espiga del SARS-CoV-2. En pacientes ambulatorios con Covid-19, se ha demostrado que el uso de REGEN-COV reduce la incidencia de hospitalización o muerte por cualquier causa en aproximadamente un 70 %, reduce la carga viral y acorta la duración de los síntomas (58).

Sotrovimab es un anticuerpo monoclonal IgG1 humanizado que se une a un epítipo altamente conservado en el dominio de unión al receptor de la proteína spike del SARS-CoV-2. Está indicado en el tratamiento de la COVID19 en adultos y adolescentes que no requieren oxígeno suplementario y que tienen un mayor riesgo de progresar a estadios más graves de la COVID-19. Entre los pacientes de alto riesgo con covid-19 de leve a moderado, el sotrovimab redujo el riesgo de progresión de la enfermedad (59).

En el estudio de fase III en el que se basa su aprobación, que se realizó en adultos no vacunados con menos de 5 días de síntomas, muestra que el tratamiento intravenoso con sotrovimab resultó en una reducción del 79% (reducción del riesgo relativo ajustado) ($p < 0,001$) en las hospitalizaciones por cualquier causa durante más de 24 horas o muerte por cualquier causa el día 29 en comparación con placebo.

El regdanvimab fue aprobado por la EMA en noviembre de 2021. Se trata de un anticuerpo monoclonal de tipo IgG1 humano recombinante que se fija al dominio de unión del receptor (RBD) de la proteína de las espículas del SARS-CoV-2 y, por consiguiente, bloquea su introducción en la célula y la infección por SARS-CoV-2.

En el ensayo pivotal se incluyeron 1.315 pacientes con COVID-19 que demostraron que los pacientes con mayor riesgo de que su enfermedad se volviera grave, el 3,1% de los pacientes tratados con Regkirona (14 de 446) fueron hospitalizados, requirieron oxígeno suplementario o fallecieron dentro de los 28 días de tratamiento en comparación con el 11,1% de los pacientes con placebo (48 de 434) (60).

En Octubre de 2021 el comité de medicamentos humanos (CHMP) de la EMA inició una revisión continua de la combinación de dos anticuerpos monoclonales (tixagevimab y cilgavimab), que se ha desarrollado para la prevención de la COVID-19 en adultos (61).

Como principal limitación de los anticuerpos monoclonales (mABs) es que son complejos y caros de producir, a diferencia del plasma de donante convaleciente, al que nos referiremos más adelante.

Terapia inmunomoduladora

Glucocorticoides

La respuesta inmunitaria del paciente parece tener un papel muy importante en la fisiopatología tanto de la lesión pulmonar aguda como en el SDRA. Los pacientes con COVID-19, tienen niveles elevados de citoquinas proinflamatorias y otros biomarcadores inflamatorios, por lo que éste es el motivo principal por el que algunos autores apoyan el uso de esteroides (62).

Se han llevado a cabo numerosos estudios observacionales tanto prospectivos como retrospectivos, que ya mostraron al inicio de la pandemia la potencial eficacia de los glucocorticoides en el tratamiento de la COVID19 en pacientes que requerían oxígeno (63) y que posteriormente lo han confirmado varios ensayos clínicos (64, 65).

Esta evidencia viene reflejada en diversos ensayos clínicos randomizados (65, 66), destacando principalmente el estudio RECOVERY (64).

La dexametasona redujo la tasa de mortalidad a 28 días en un 17% (0,83; IC del 95% 0,74 a 0,92; $p = 0,0007$) con un mayor beneficio entre aquellos pacientes que necesitaron ventilación mecánica. La dexametasona disminuyó la mortalidad hasta en un tercio en los pacientes con ventilación mecánica (0,65; IC del 95% 0,48 a 0,88; $p = 0,0003$) y hasta en un quinto en pacientes que recibieron únicamente oxigenoterapia (0,80; IC del 95% 0,67 a 0,96; $p = 0,0021$).

Inhibidores de JAK

Baricitinib

Baricitinib, que está indicado para el tratamiento de la artritis reumatoide y la dermatitis atópica ha demostrado disminución de mortalidad en pacientes con enfermedad grave, incluso en pacientes que estuvieran previamente en tratamiento con dexametasona (67).

A finales de Abril de 2021 se inició la evaluación acelerada por parte de la EMA para la extensión del uso de baricitinib y así incluir el tratamiento de COVID-19 en pacientes hospitalizados mayores de 10 años que requieren oxígeno suplementario (68).

Ruxolitinib

Ruxolitinib es un inhibidor selectivo de las quininas (JAK1 y JAK 2), se trata de mediadores que están implicados en la hematopoyesis y la respuesta inmune (participan en la transducción de otras citosinas proinflamatorias y antiinflamatorias).

Se utiliza en el tratamiento de la AR, la mielofibrosis y la policitemia vera y se ha propuesto su uso en la enfermedad por SARS-CoV-2 para reducir la tormenta de citoquinas proinflamatorias (69).

Bloqueadores de citoquinas y terapias anticomplemento

Algunas publicaciones han descrito que la causa más probable de la progresión a fallo respiratorio grave ocurre en algunos pacientes con COVID19 debido a una tormenta de citoquinas (70).

Aunque la IL-6 ha sido la principal diana en la que se han desarrollado diversos ensayos clínicos para demostrar la eficacia de estos tratamientos, otra diana terapéutica ha sido IL-12. Cabe destacar los siguientes :

Anakinra

Anakinra es un fármaco anti-IL-1 aprobado para el tratamiento de la artritis reumatoide, todas las formas de síndromes periódicos asociados a la criopirina, para la enfermedad de Still y para fiebre mediterránea familiar. Tras los buenos resultados aportados en los pacientes con neumonía y con requerimientos de oxígeno en la enfermedad por COVID-19 fue aprobado a finales de diciembre de 2021 (71).

Tocilizumab (TCZ)

Es un agente inmunosupresor, inhibidor de la IL-6, autorizado para el tratamiento de la artritis reumatoide y el síndrome de liberación de citosinas asociado al tratamiento con CART (69).

En el estudio RECOVERY en el que se incluyeron 4116 pacientes ingresados por COVID19 con hipoxemia, el uso de tocilizumab asociado al SOC redujo del 35 al 31% la mortalidad a día 28, en comparación con el grupo que sólo recibió SOC. Cabe destacar que muchos de estos pacientes recibieron glucocorticoides como parte del SOC (72).

Recientemente, a principios de diciembre de 2021, el Comité de Medicamentos de Uso Humano de la EMA (CHMP) propuso la extensión de la indicación de tocilizumab para el tratamiento de

adultos con COVID19, que estén en tratamiento con glucocorticoides y tengan requerimientos de oxígeno suplementario o ventilación mecánica (73).

Sarilumab

Es un agente inmunosupresor, inhibidor de la IL-6, que está autorizado para el tratamiento de la artritis reumatoide activa de moderada a grave en pacientes adultos que no han respondido adecuadamente, o que son intolerantes a uno o más fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad (74).

También se han desarrollado varios ensayos clínicos para evaluar la eficacia clínica de sarilumab en pacientes con infección respiratoria por SARS-CoV-2 (75).

En un estudio (REMAP-CAP) donde se incluyeron 2274 pacientes con COVID19, 972 fueron aleatorizados a tocilizumab y 485 a sarilumab, cuyos resultados han concluido que tocilizumab y sarilumab son igualmente efectivos en cuanto a disminución de la mortalidad (76).

1.1.6. Estrategia de vacunación

La principal estrategia utilizada para combatir la pandemia producida por el SARS-CoV-2 ha sido la vacunación, que ha mostrado eficacia clara en la reducción de la hospitalización y enfermedad grave en caso de infección.

Desde finales de 2020 se han comercializado en Europa 5 vacunas frente al SARS-CoV-2 (tabla 3).

Tabla 3. Vacunas frente a la COVID-19 autorizadas en la Unión Europea (UE).(77)

Vacuna	Laboratorio	Fecha de autorización	Indicaciones
Comirnaty	BioNTech/Pfizer	22 de diciembre de 2020	<ul style="list-style-type: none"> ■ 30 microgramos/dosis: Inmunización activa para prevenir la COVID-19 causada por el virus SARS-CoV-2, en personas de 12 años de edad y mayores. ■ 10 microgramos/dosis: Inmunización activa para prevenir la COVID-19 causada por el virus SARS-CoV-2, en niños de entre 5 y 11 años de edad.
Spikevax (antes COVID-19 Vaccine Moderna)	Moderna	8 de enero de 2021	Inmunización activa para prevenir la COVID-19 causada por el virus SARS-CoV-2, en personas de 12 años de edad y mayores.
Vaxzevria (antes COVID-19 Vaccine AstraZeneca)	AstraZeneca	1 de febrero de 2021	Inmunización activa para prevenir la COVID-19 causada por el virus SARS-CoV-2, en personas de 18 años de edad y mayores.
COVID-19 Vaccine Janssen	Janssen	15 de marzo de 2021	Inmunización activa para prevenir la COVID-19 causada por el virus SARS-CoV-2, en personas de 18 años de edad y mayores.
Nuvaxovid	Novavax	20 de diciembre de 2021	Inmunización activa para prevenir la COVID-19 causada por el virus SARS-CoV-2, en personas de 18 años de edad y mayores.

1.2. USO DE PLASMA DE CONVALECIENTES (PC)

El plasma hiperinmune o convaleciente (PC) es aquel que se obtiene de donantes que se han recuperado de una infección y cuyo plasma contiene anticuerpos contra el agente de interés. Su administración a pacientes como inmunización pasiva a pacientes que se enfrentan a la infección aguda por dicho agente ha sido una herramienta terapéutica utilizada desde el siglo pasado para la prevención y el tratamiento de algunas enfermedades infecciosas. En ocasiones, el uso terapéutico establecido evoluciona a la preparación, a partir del plasma, de concentrados purificados de inmunoglobulinas específicas, ya como medicamentos de fabricación industrial. Las inmunoglobulinas convencionales e hiperinmunes tienen menor disponibilidad ya que requieren una fabricación más compleja que el plasma. Estas se utilizan en la práctica clínica en infecciones como la hepatitis B, el virus respiratorio sincitial, y otras enfermedades infecciosas (78).

1.2.1. Uso de plasma de convalecientes en enfermedades infecciosas

La inmunoterapia pasiva se ha estado utilizando desde finales del siglo XIX. En 1901, el primer Premio Nobel de Fisiología y Medicina se le otorgó a Behring por su contribución con la terapia de suero para pacientes con difteria (79) y desde entonces se ha ensayado su uso en diversas enfermedades infecciosas, buscando el efecto terapéutico de la acción de los anticuerpos neutralizantes del donante (NAb) contra el virus en el receptor.

Durante la pandemia de Gripe Española de 1918, se utilizó suero de pacientes convalecientes como tratamiento (80).

Así mismo la terapia de plasma convaleciente se ha utilizado para tratar pacientes con virus Machupo (fiebre hemorrágica boliviana) (81), virus Junín (fiebre hemorrágica argentina) (82), fiebre de Lassa (83) y virus Ébola (84).

En el caso de la encefalitis del Nilo Occidental ha demostrado efectos protectores en ratones infectados (85) y beneficios clínicos en pacientes (86).

Se ha utilizado con éxito variable en diferentes enfermedades por virus respiratorios, incluso en las últimas décadas para el síndrome respiratorio de Oriente Medio (87), la gripe H1N1 (88), aunque la evidencia que respalda su eficacia sigue siendo limitada.

Además ha sido utilizado en las epidemias más recientes por coronavirus, SARS1 en 2003 y MERS en 2012. Se realizó un metaanálisis, en el que se evaluó la eficacia clínica del plasma convaleciente o inmunoglobulinas hiperinmune para el tratamiento de enfermedades graves agudas respiratorias de etiología viral, para ayudar al manejo clínico de la infección de MERS-CoV (89). Los resultados de este estudio sugirieron el potencial impacto en la reducción de la mortalidad y de la carga viral en los pacientes con SARI de etiología viral.

El plasma convaleciente humano que se utilizó en los pacientes con SARS-1 en 2003 mostró que es seguro y es probable que reduzca la mortalidad en pacientes con SARI por coronavirus. Cabe destacar el estudio que se realizó en Hong-Kong en 2003 que incluyó 80 pacientes y obtuvo buenos resultados (90).

Los riesgos del PC incluyen los inherentes a la transfusión de plasma (91):

- Lesión pulmonar aguda relacionada con transfusiones (TRALI)
- Sobrecarga cardíaca asociada a la transfusión (TACO)
- Reacciones alérgicas/anafilácticas
- Reacciones transfusionales febriles no hemolíticas
- Infecciones transmitidas por transfusiones

- Reacciones hemolíticas

Por otro lado, el éxito de la terapia con plasma puede verse limitado porque no todos los pacientes que se recuperan de una enfermedad viral desarrollan anticuerpos neutralizantes. (por ejemplo, el 12% de los pacientes con SARS-1 no lo hicieron). Esto sugiere que el contenido de anticuerpos debe analizarse en pacientes convalecientes para seleccionar donantes adecuados.

Otra limitación es el riesgo potencial que existe de que la IgG específica del virus, a pesar de su probable contribución al aclaramiento viral, también pueda estar involucrada en el daño inflamatorio pulmonar severo. Este proceso se debe a la potenciación de la infección dependiente de anticuerpos o ADE, que se trata de un fenómeno no deseado y bastante raro que ocurre con algunas enfermedades infecciosas. Se produce cuando la presencia de anticuerpos frente a un agente infeccioso empeora la enfermedad cuando la persona se infecta, en lugar de mitigarla (92). Este fenómeno ocurre porque los anticuerpos reconocen al virus pero no lo neutralizan. Se ha descrito previamente en otras enfermedades como el dengue (93).

La eficacia de la terapia con PC también podría verse afectada por la infusión tardía del mismo. Las respuestas inflamatorias primarias ocurren tras la infección viral, antes de la aparición de anticuerpos neutralizantes (NAb), por lo que su uso una vez se hayan desarrollado anticuerpos limitaría su éxito.

1.2.2. Uso de plasma de convalecientes en COVID-19

En el momento inicial, el plasma se postuló como una opción de tratamiento, por lo que se dispararon varios programas de uso, entre otros el Programa de acceso expandido de la FDA en EE.UU, en el que fueron incluidos más de 100 000 pacientes (94), así como numerosos ensayos clínicos que han ido publicando sus resultados a lo largo de estos dos años.

En Europa, la comisión europea emitió el 8 de abril de 2020 unas primeras directrices para el uso de plasma convaleciente, que actualizó en junio de ese mismo año (95).

La FDA, por su parte, emitió una autorización de uso de emergencia (AUE 26382) el 23 de agosto de 2020 para el uso de PC para el tratamiento de pacientes hospitalizados con COVID-19 (96).

Hasta el momento la evidencia científica era limitada, por lo que surgieron los diferentes ensayos clínicos, estudios observacionales y adicionalmente otros en pacientes ambulatorios que intentaron aportar una demostración definitiva de si el PC era eficaz.

El primer estudio publicado fue el de Li et al (97) que no logró demostrar un beneficio significativo con la transfusión de PC, pero que se detuvo antes de tiempo debido a la baja inclusión y a que los pacientes fueron tratados relativamente tarde, en una mediana de 30 días después del inicio de los síntomas.

Un estudio retrospectivo sugirió que el plasma convaleciente era una terapia potencialmente beneficiosa en pacientes hospitalizados con Covid-19. El principal hallazgo fue que entre los pacientes con Covid-19 que no recibían ventilación mecánica, la transfusión de plasma con niveles altos de anticuerpos se asoció con un menor riesgo de muerte que la transfusión de plasma con niveles bajos de anticuerpos (98).

En los meses siguientes se fueron publicando resultados de otros ensayos clínicos sobre el uso de plasma convaleciente para pacientes de COVID-19.

Un estudio multicéntrico argentino (PlasmAr) publicado en Noviembre de 2020 por Simonovich et al (99), no mostró un impacto en la reducción de la mortalidad de los pacientes incluidos en el estudio en comparación con placebo.

El estudio PLACID (100), un ensayo clínico realizado en India utilizó PC sin anticuerpos contra el SARS-CoV-2 en un tercio de los casos y títulos muy bajos en los dos tercios restantes (mediana de 40 días). El plasma convaleciente no se asoció con una reducción en la progresión a COVID-19 grave o mortalidad por todas las causas. Este estudio sugiere que la medición a priori de los títulos de anticuerpos neutralizantes en donantes y participantes podría aclarar aún más el papel del plasma convaleciente en el manejo de COVID-19.

En el caso del ensayo randomizado RECOVERY (101), que fue un gran ensayo clínico de pacientes hospitalizados con COVID-19 en el Reino Unido, donde 16 287 sujetos fueron aleatorizados al azar a una transfusión de dos unidades de PC o a estándar de tratamiento, el plasma no mejoró la supervivencia ni en los pacientes hospitalizados por COVID-19

También fue publicado el REMAP-CAP (102), un ensayo clínico multinacional, aleatorizado, abierto realizado en el Reino Unido, Canadá, Australia y Estados Unidos, en el que se incluyeron 4763 pacientes. Es curioso que en este estudio no se informó de la duración de los síntomas en el momento de la inclusión o la aleatorización y sólo el 31 % de los sujetos del grupo PC y el 26,7 % de los sujetos del grupo de control no presentaban anticuerpos anti-SARS-CoV-2 al inicio del estudio. A los sujetos se les transfundieron 2 unidades de PC que habían sido calificadas con criterios variables serológicos o de neutralización según la región de estudio. El estudio no encontró ningún beneficio significativo en la variable primaria o cualquiera de las variables secundarias preespecificadas en los sujetos tratados con PC. No se observaron diferencias significativas en la variable primaria en el análisis de subgrupos preespecificados, incluidos los sujetos sin anticuerpos anti-SARS-CoV-2 detectables inicialmente.

CONCOR-1 fue otro ensayo controlado, aleatorizado, abierto que se realizó en Canadá, Estados Unidos y Brasil. Se incluyeron 940 adultos con COVID-19 que recibieron oxígeno dentro de los 12 días posteriores al inicio de los síntomas respiratorios (mediana de 7,9 días desde el inicio de los síntomas). Los sujetos se aleatorizaron 2:1 a 500 ml de PC o al estándar de tratamiento. El ensayo se detuvo antes de tiempo por futilidad y no encontró ningún beneficio significativo con PC. Los resultados del estudio sugieren que el efecto del PC fue modulado por el contenido de anticuerpos (103).

Menichetti et al, realizaron en Italia el estudio TSUNAMI que fue un ensayo aleatorizado, abierto (104) Incluyeron a 487 pacientes hospitalizados con neumonía por COVID-19 (mediana de 7 días desde el inicio de los síntomas, IQR 5-9) asignados al azar a PC de título alto más terapia estándar o terapia estándar sola. Entre los sujetos con pruebas de anticuerpos basales disponibles, se encontró que el 25 % de los sujetos eran seropositivos en el brazo PC. Los sujetos recibieron una transfusión de 200 ml de CCP hasta un máximo de tres infusiones (el 15,1 % recibió 1 infusión, el 75,4 % recibió 2 infusiones y el 9,5 % recibió 3 infusiones). El resultado de la variable primaria, una combinación de empeoramiento de la insuficiencia respiratoria (relación Pao₂/Fio₂ <150 mm Hg) o muerte dentro de los 30 días, ocurrió en el 25,5 % de los pacientes tratados con PC y en el 28,0 % de los pacientes tratados con terapia estándar. No se observaron diferencias significativas en los subgrupos preespecificados, incluidos los pacientes tratados dentro de los 5 días posteriores al inicio de los síntomas, pacientes con anticuerpos anti-S IgG negativos al inicio del estudio o pacientes transfundidos con unidades de PC de un título de al menos 1:320.

También el estudio de O'Donnell et al fue un ensayo controlado aleatorizado, doble ciego entre adultos hospitalizados con COVID-19 grave en Nueva York y Río de Janeiro. Los pacientes presentaron una mediana de 10 días desde el inicio de los síntomas en el brazo del PC. La mayoría de los sujetos requirieron soporte de oxígeno en el momento de la aleatorización, aunque solo entre el 11 y el 15 % requerían ventilación mecánica invasiva, ECMO o ambos. Los pacientes fueron aleatorizados 2:1 para recibir una sola transfusión (200-250 ml) de PC. No se observó una mejora significativa en la escala clínica en los sujetos aleatorizados a PC. En el análisis por subgrupos se observó una tendencia hacia un mejor estado clínico en pacientes

dentro de los 7 días posteriores al inicio de los síntomas y en aquellos que recibieron títulos más altos de PC (105).

El estudio CAPSID que fue un ensayo aleatorizado y abierto realizado en Alemania, incluyó a 106 pacientes hospitalizados que requerían oxígeno suplementario o ventilación o tratamiento de cuidados intensivos. Estos pacientes presentaron una mediana de 7 días desde el inicio de los síntomas. A los pacientes se les transfundió un volumen medio de 846 ml de PC, un volumen relativamente mayor que en ensayos comparables. No hubo diferencias significativas en el resultado de la variable principal medida en el día 21 (106).

CONTAIN fue otro ensayo aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo de PC, en 21 hospitales en EE.UU. El estudio incluyó a 941 adultos tratados dentro de los 3 días posteriores a la hospitalización o menos de 7 días después del inicio de los síntomas (mediana de 7 días de síntomas) y que requerían suplementos de oxígeno no invasivos. El estudio no encontró un beneficio significativo para la variable primaria, medida por la escala de gravedad ordinal de 11 puntos en el día 14 (107).

Bar et al también publicaron sus resultados del estudio PennCCP2, un ensayo aleatorizado y abierto realizado en Filadelfia, Pensilvania, en 80 adultos hospitalizados con neumonía por COVID-19 (mediana de 6 días de síntomas), con una mediana de puntuación de gravedad de la enfermedad de 5 y que requerían oxígeno suplementario. Los participantes tenían una alta frecuencia de comorbilidades iniciales y el 60 % de los sujetos eran seronegativos al inicio. El estudio encontró que el tratamiento con PC produjo beneficios tanto en la puntuación de gravedad clínica (variable primaria) como en la mortalidad a los 28 días (26 % en el brazo de control, 5 % en el brazo de PC, $p = 0,013$) en comparación con la aleatorización al estándar de tratamiento en aquel momento (108).

Libster et al (109) publicó los resultados de un ensayo clínico que evaluó el uso de PC en el ámbito ambulatorio en Argentina. Fue doble ciego, controlado con placebo, aleatorizado a de 250 ml de PC frente a placebo en adultos de alto riesgo. Los sujetos del estudio incluyeron personas de 75 años o más, o de 65 a 74 años con al menos una comorbilidad (hipertensión, diabetes, obesidad, insuficiencia renal crónica, enfermedad cardiovascular y EPOC) con síntomas leves de COVID-19 dentro de las 72 horas posteriores al inicio de los síntomas.

Los resultados mostraron que el plasma convaleciente disminuyó el desarrollo de enfermedad respiratoria grave del 31% (grupo control) al 16% (grupo PC) en pacientes de edad avanzada tratados dentro de las 72 horas posteriores al inicio del Covid-19 leve.

Aunque las variables secundarias parecían que tenían efecto beneficioso en el caso del grupo PC, las diferencias no fueron estadísticamente significativas, con amplios intervalos de confianza debido al pequeño número de eventos en ambos grupos. Se describió un efecto dependiente de la dosis.

El estudio de Gharbharan et al resultó negativo, se caracterizó por presentar títulos altos de anticuerpos en los sujetos antes de la transfusión y por una mediana de 10 días desde el inicio de los síntomas (110).

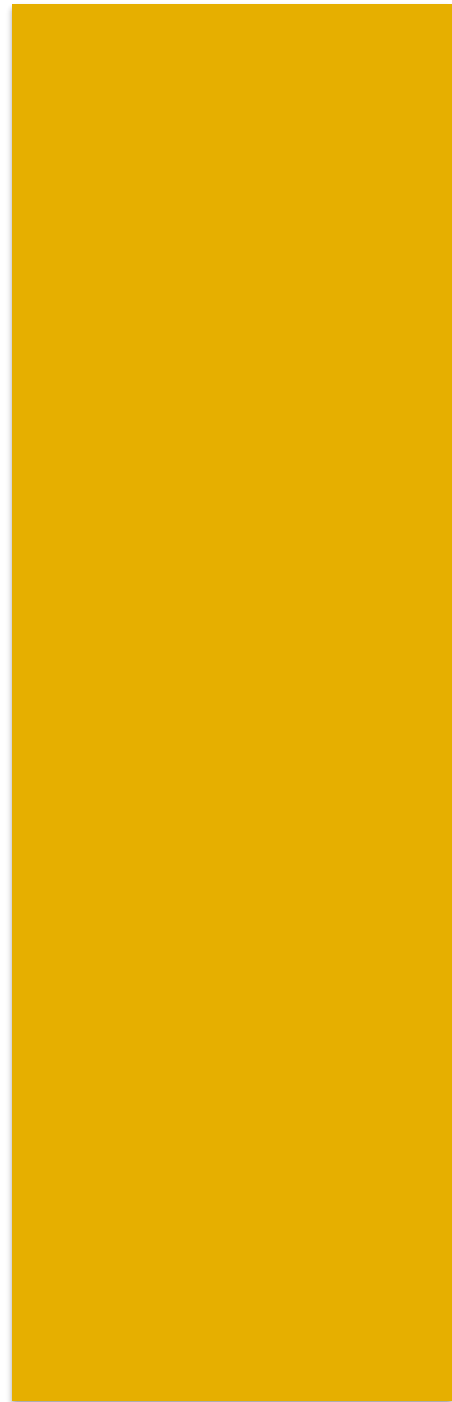
Ninguno de los estudios mostró problemas significativos en cuanto a la seguridad de la terapia con PC.

También se publicaron estudios observacionales y no aleatorizados que demostraron el beneficio potencial con títulos de PC altos o en subgrupos específicos, pero los hallazgos fueron variables (111-113). Se observó un beneficio mínimo o nulo en la enfermedad tardía, particularmente una vez que la insuficiencia respiratoria había progresado hasta el punto de requerir ventilación mecánica/intubación.

Adicionalmente se realizaron ensayos clínicos en pacientes ambulatorios (109, 114, 115) a diferencia de los previos que fueron en pacientes hospitalizados.

La información derivada de los ensayos clínicos en curso de PC, en particular los ensayos controlados aleatorizados, así como los resultados de ensayos clínicos de estudios de otros productos en investigación para tratar COVID-19 continúan informando acerca de los beneficios y riesgos de PC.

La OMS publicó unas recomendaciones (116) ,entre otras, desaconsejó el uso de PC, como consecuencia de los ensayos negativos publicados. Otros autores sugirieron la necesidad de afinar en qué pacientes podía ser útil el plasma ya que todavía se trata de un recurso a investigar y utilizar en determinados casos (117).



JUSTIFICACIÓN



En marzo de 2020, ante la aparición de la nueva enfermedad COVID-19, con elevada morbimortalidad y ausencia de pruebas de eficacia con los antivíricos existentes, el plasma convaleciente se identificaba como un recurso potencial que debía demostrar su eficacia y seguridad en estudios bien diseñados, inexistentes en ese momento.

Por ello, se inició en el Hospital Puerta de Hierro Majadahonda el diseño y organización de un ensayo clínico controlado multicéntrico nacional al mismo tiempo que se realizó una solicitud de financiación al Fondo COVID19 de Proyectos de Investigación sobre SARS-CoV-2 y la enfermedad COVID-19 para un proyecto cuyo objetivo principal era la obtención de evidencia de alto nivel sobre eficacia y seguridad del plasma hiperinmune para el tratamiento de la neumonía por COVID-19 que requiere hospitalización, mediante la realización de un ensayo multicéntrico nacional. Los objetivos secundarios del proyecto eran establecer procedimientos para una rápida generalización de su uso en los hospitales del sistema sanitario, basado en resultados que establezcan las condiciones de uso adecuadas y aportar conocimiento relevante sobre el aclaramiento viral y conversión inmunológica en pacientes con COVID-19.

Para el diseño del ensayo que constituye el presente trabajo, realizado en un momento en el que no se disponía todavía de los datos que luego se fueron publicando, se ponderaron los beneficios y los riesgos potenciales del PC en pacientes con COVID-19.

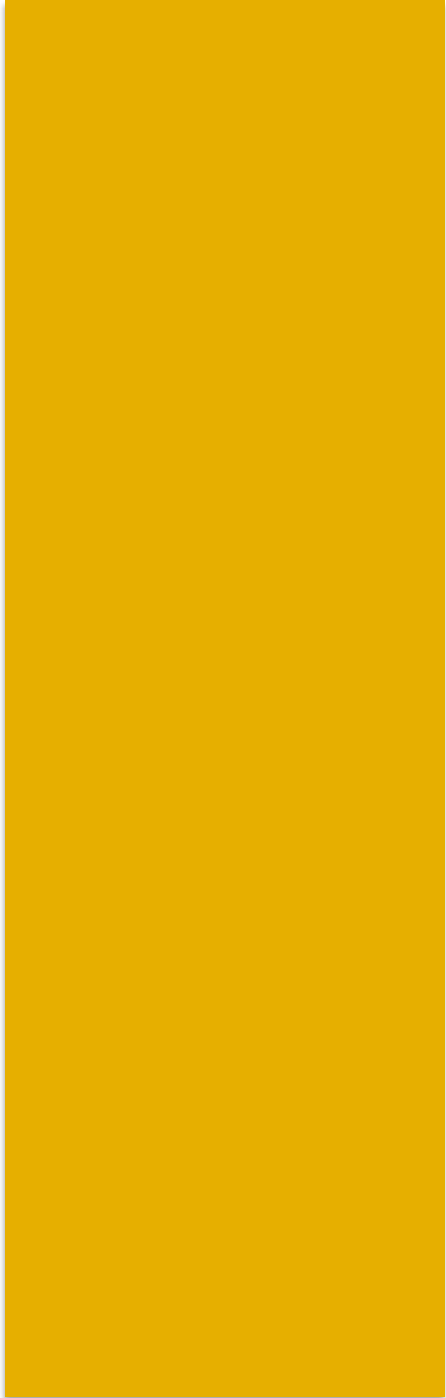
En cuanto a los riesgos, se consideraron muy bajos los asociados a la transfusión de plasma fresco congelado, gracias a las técnicas seguidas en los bancos de sangre y al amplio conocimiento sobre el mismo. Asimismo, se tuvo en cuenta que en pacientes con enfermedad pulmonar como los que se iban a incluir en este ensayo, podía ser especialmente relevante uno de los posibles riesgos del uso de plasma humano, el desarrollo de TRALI (lesión pulmonar aguda relacionada con transfusión), riesgo que podría minimizarse mediante criterios estrictos para seleccionar donantes de PC. Finalmente, se valoró el riesgo potencial de que la IgG específica frente al virus, a pesar de su probable contribución al aclaramiento viral, también pudiera estar involucrada en la aparición de la denominada intensificación de la enfermedad dependiente de anticuerpos (ADE, por sus siglas en inglés).

En el apartado de los beneficios, se consideró que el beneficio del PC podría ser más evidente en un uso precoz, antes de llegar a estado hiperinflamatorio y de daño tisular.

Por lo tanto, para el diseño de nuestro ensayo, excluimos a los pacientes críticos con compromiso pulmonar más avanzado en ventilación mecánica, que tendrían menos probabilidades de responder a la inmunoterapia pasiva y más vulnerabilidad ante los riesgos mencionados y se decidió una intervención más temprana con PC en el curso de la enfermedad en función de la gravedad y el tiempo desde el ingreso al hospital y el inicio de los síntomas.

En medio de una pandemia mundial de SARS-CoV-2 y COVID-19, el PC representaba una potencial opción terapéutica con un balance beneficio/riesgo favorable y que podría estar rápidamente disponible en cualquier área donde hubiera ya un número suficiente de pacientes que se hubieran recuperado.

En resumen, los datos históricos sugerían que el uso de PC era seguro en la infección por coronavirus y que existía una potencial eficacia en COVID-19, no demostrada, y ello justificaba la realización de un ensayo clínico controlado que permitiera determinar la aportación terapéutica del PC añadido al tratamiento estándar y decidir sobre el uso adecuado de un recurso terapéutico fácilmente accesible.



OBJETIVOS



Objetivo primario

- Evaluar la eficacia clínica del plasma convaleciente frente al estándar de tratamiento, medido por la proporción de pacientes en las categorías 5, 6 o 7 en la escala ordinal de 7 puntos a día 15.

Objetivos secundarios

- Evaluar la eficacia clínica del plasma convaleciente frente al estándar de tratamiento medido por:
 - o proporción de pacientes en las categorías 5, 6 o 7 en la escala ordinal de 7 puntos a día 28 y 60 días
 - o La mortalidad a los 14 , 28 y 60 días
 - o El tiempo para obtener las categorías 5, 6 o 7 en la escala ordinal de COVID-19 de 7 puntos
 - o El cambio en el status clínico a 28 días
 - o La duración de la hospitalización en días.
 - o Los reingresos hospitalarios.
- Evaluar la seguridad y tolerabilidad del plasma convaleciente frente al estándar de tratamiento medido por:
 - o La incidencia acumulada de eventos adversos graves (AAG).
 - o Evaluar la Incidencia acumulada de eventos adversos (EA) de grado 3 y 4.
 - o Evaluar las reacciones adversas relacionadas con la infusión.
 - o Evaluar la incidencia de eventos arteriales y venosos trombóticos.

Objetivos exploratorios

- Evaluar la eficacia virológica del PC en comparación con el estándar.
- Evaluar los títulos de anticuerpos COVID-19 en el PC de donantes y su impacto en los resultados.

MATERIAL y MÉTODOS

4.1. DISEÑO Y ÁMBITO DEL ESTUDIO

Este estudio es un ensayo clínico multicéntrico, aleatorizado, con dos brazos para estudiar la eficacia y seguridad de la inmunoterapia pasiva con plasma de convalecientes (PC) en comparación con un control de tratamiento estándar en pacientes adultos hospitalizados con diagnóstico de COVID-19.

La aleatorización entre los brazos ha sido 1: 1, estratificándose por centros. Los pacientes fueron aleatorizados a:

- Grupo de tratamiento: Plasma inactivado de pacientes recuperados de COVID-19 añadido al tratamiento estándar
- Brazo de control: Tratamiento estándar para COVID-19.

Como tratamiento estándar se aceptó cualquier medicamento que se estuviese utilizando en la práctica clínica (por ejemplo, remdesivir, corticosteroides, tocilizumab, etc.). No se estableció ninguna restricción con respecto al tratamiento concomitante excepto el uso de medicamentos como parte de otro ensayo clínico.

Solo se registró el tratamiento concomitante clínicamente relevante relacionado con COVID-19 para los fines del ensayo. La lista de medicamentos se evaluó sólo desde 7 días antes de la inclusión hasta el final del estudio.

Organización del estudio

Comité director (Steering Committee)

El comité director del estudio se compuso de los coordinadores y el promotor.

Fue el responsable de la validez científica del estudio. El SC fue responsable de la decisión de hacer recomendaciones sobre la inclusión o eliminación de brazos de tratamiento así como cambios en el diseño del estudio.

DSMB (Comité de seguimiento de la seguridad de los datos)

La supervisión de la seguridad ha estado a cargo del DSMB que es un grupo independiente de expertos que supervisó la seguridad del sujeto y asesoró al promotor.

Los miembros de DSMB fueron independientes del personal del estudio que participó en este ensayo y no tienen conflictos de intereses científicos, financieros o de otro tipo relacionados con el estudio.

El DSMB ha estado formado por miembros con la experiencia adecuada para contribuir a la interpretación de los datos de este ensayo: un médico especialista en farmacología clínica, un médico especialista en hematología, un médico especialista en medicina Interna, un médico especialista en Inmunología y un estadístico.

El DSMB realizó las siguientes revisiones:

- Tras la inclusión de los primeros 20 pacientes.
- Reunión ad hoc tras análisis intermedios.
- Reunión de revisión final después del bloqueo final de la base de datos clínica, para revisar los datos de seguridad acumulativos no ciegos para este ensayo.

El DSMB revisó los datos agrupados y no ciegos. Como resultado de cada revisión / reunión, el DSMB realizó recomendaciones sobre la conveniencia de continuar con las intervenciones del estudio según correspondiera.

Centros participantes

El ensayo se ha llevado a cabo en 32 centros de investigación clínica (ver Anexo I).

En los Servicios de Transfusión Hospitalarios y Centros Regionales de Transfusión se llevó a cabo la evaluación de los donantes, la recolección, la inactivación y la producción de plasma, y fueron coordinados por el Comité Director del ensayo. Las diferencias logísticas se adaptaron a la estructura a nivel regional.

Financiación

El ensayo CONPLAS-19 ha sido financiado por el Instituto Carlos III, con número COV20_00072, de la ayuda para la ejecución de proyectos de investigación SARS-COV-2 y la enfermedad COVID19 en el marco del Real Decreto-ley 8/2020, de 17 de marzo, de medidas urgentes extraordinarias para hacer frente al impacto económico y social del COVID-19.

Duración del estudio

Inicio del estudio: 2 Abril 2020.

Duración del seguimiento y tratamiento de cada paciente: 60 días

Duración total del estudio (reclutamiento + seguimiento + análisis): 12 meses.

4.2. POBLACIÓN DEL ESTUDIO

Los criterios de selección de la población a estudio se enumeran a continuación.

4.2.1. Criterios de inclusión

- Consentimiento informado por escrito antes de realizar los procedimientos del estudio. Se aceptó el consentimiento verbal atestiguado para evitar la manipulación del papel. Se obtuvo el consentimiento por escrito del paciente o sus representantes a posteriori, lo antes posible.
- Paciente adulto masculino o femenino ≥ 18 años de edad al momento de la inclusión.
- Tiene infección por SARS-CoV-2 confirmada por laboratorio según lo determinado por la prueba de PCR en hisopos naso / orofaríngeos o cualquier otra muestra relevante obtenida en el período sintomático de COVID-19 en curso. Las pruebas alternativas (es decir, pruebas antigénicas rápidas) también fueron aceptadas como confirmación del laboratorio.
- Pacientes que requirieran hospitalización por COVID-19 sin ventilación mecánica (invasiva o no invasiva) o dispositivos de oxígeno de alto flujo, y al menos uno de los siguientes:
 - o Evidencia radiográfica de infiltrados pulmonares por imágenes (radiografía de tórax, tomografía computarizada, etc.).
 - o Evaluación clínica (evidencia de estertores / crepitantes en el examen) Y $SpO_2 \leq 94\%$ en aire ambiente que requiere oxígeno suplementario.
 - o No más de 7 días entre el inicio de los síntomas (fiebre o tos) y el día de administración del tratamiento.

4.2.2. Criterios de exclusión

- Requerimiento de ventilación mecánica (invasiva o no invasiva) o dispositivos de oxígeno de alto flujo en la selección.
- Más de 7 días desde los síntomas (fiebre o tos).
- Participación en cualquier otro ensayo clínico de un tratamiento experimental para COVID-19.

- En opinión del equipo clínico, la progresión a la muerte fuera inminente e inevitable en las siguientes 24 horas, independientemente de la provisión de tratamientos.
- Cualquier incompatibilidad o alergia a la administración de plasma humano.
- Enfermedad renal crónica grave en etapa 4 o que requiriera diálisis (es decir, eGFR <30).

4.3. VARIABLES DEL ESTUDIO E INSTRUMENTOS DE MEDIDA

4.3.1. Variable principal

La variable principal de estudio fue la proporción de pacientes en categorías 5,6 o 7 de la escala ordinal de la OMS de 7 puntos a los 14 días (día 15 del estudio).

Escala ordinal:

1. No hospitalizados, sin limitaciones de actividades.
2. No hospitalizados, limitación de actividades.
3. Hospitalizado, no requiriendo oxígeno suplementario.
4. Hospitalizados, requiriendo oxígeno suplementario.
5. Hospitalizados, con ventilación no invasiva o dispositivos de oxígeno de alto flujo.
6. Hospitalizado, con ventilación mecánica invasiva o ECMO.
7. Muerte.

4.3.2. Variables secundarias

Las variables secundarias del estudio se enumeran a continuación:

En relación con la evaluación de la eficacia :

- Cambio en la Escala Ordinal a los 28 días. (día 29 del estudio):
- Cambio en status clínico a los 28 días.
- Tiempo hasta la categoría 5, 6 o 7 de la escala ordinal.
- Duración de la hospitalización (días).
- Tasa de reingresos hospitalarios.
- Mortalidad a los días 14 (día 15) y a los 28 (día 29).
- Tratamiento concomitante.

Adicionalmente se recogieron variables relacionadas con la seguridad:

- Eventos adversos relacionados con la infusión
- Incidencia acumulada de eventos adversos graves (AAG)
- Incidencia acumulada de eventos adversos (EA) de grado 3 y 4.
- Incidencia de eventos arteriales trombóticos
- Incidencia de eventos venosos trombóticos

En relación con la evaluación de las variables inmunológicas y virológicas :

- PCR cualitativa y cuantitativa para SARS-CoV-2 en sangre al inicio del estudio y los días 3, 5, 8, 11, 15, 29 (durante la hospitalización).
- Anticuerpos totales cuantitativos al inicio del estudio y los días 8, 15, 29 (durante la hospitalización).

4.4. PRODUCTO DEL ESTUDIO

4.4.1. Producto de Investigación

La selección de donantes convalecientes y la producción de plasma fueron coordinadas por el Comité Directivo del ensayo. Las diferencias logísticas adaptaron a la estructura a nivel regional:

La identificación y captación de donantes de COVID-19 convalecientes se realizó en colaboración entre Servicios de Transfusión Hospitalarios, Centros de Transfusión, Departamentos de Salud Pública y Consejerías de Sanidad.

La valoración de donantes, recogida, inactivación y producción de plasma se ha realizado en colaboración entre Servicios de Transfusión Hospitalarios y Centros de Transfusión.

Todos los centros participantes siguieron un protocolo común para la producción de PC.

Los criterios para que los pacientes recuperados de COVID-19 fueran seleccionados como donantes de PC fueron los siguientes:

- Criterios de inclusión:
 - Dispuesto y capaz de proporcionar un consentimiento informado por escrito.
 - Cumplir con todos los requisitos vigentes para ser donante de aféresis de plasma según nuestra normativa de donación de hemoderivados (Directrices Europeas y RD 1088/2005 en España).
 - Ausencia de síntomas de COVID-19 en los últimos 14 días.
 - Anticuerpos anti-SARS-CoV-2 detectables en sangre periférica.
 - ≥ 18 años de edad al momento de la donación.
 - Peso > 50 kg y buen acceso venoso son criterios estándar, por lo que se podrían considerar excepciones de acuerdo con el criterio del banco de sangre y del hematólogo.
- Criterio de exclusión:
 - Plasmaféresis en los siete días anteriores.
 - Donación de sangre total en los 30 días anteriores.
 - Donación de más de 25 litros de plasma en los últimos 12 meses.

Con la intención de minimizar el riesgo de TRALI (lesión pulmonar aguda relacionada con la transfusión), un criterio de exclusión relativo adicional fue la exclusión de donantes previamente transfundidos y mujeres embarazadas actualmente o previamente, incluidos los abortos espontáneos.

El producto del estudio (PC) era administrado bajo la supervisión del hematólogo miembro del equipo de investigación en cada centro.

Los pacientes del grupo de tratamiento recibieron una sola unidad de PC (250-300 ml) por vía intravenosa, después de la aleatorización el día 1.

El número de identificación único de la unidad de plasma se registró en la historia clínica del paciente y en el formulario de reporte de casos (eCRF), así como la hora de administración y las incidencias.

La técnica para medir los anticuerpos en las muestras de suero de donantes que se utilizó fue Euroimmun anti-SARS-CoV-2 ELISA IgG, que se llevó a cabo en el laboratorio centralizado del estudio (Centro Nacional de Microbiología [CNM]), de acuerdo con las instrucciones del

fabricante. Los pocillos de las microplacas estaban recubiertos con la proteína estructural recombinante 1 (S1) del SARS-CoV-2 y la técnica detectaba IgG anti-SARS-CoV-2 contra la proteína de pico viral. Los resultados se evaluaron semicuantitativamente mediante el cálculo de la relación entre la extinción de la muestra y el calibrador. Un cociente $< 0,8$ se considera negativo, $\geq 0,8$ y $< 1,1$ están en el límite y $\geq 1,1$ es positivo.

Las unidades de PC utilizadas en el ensayo se caracterizaron aún más en el laboratorio centralizado del estudio utilizando un segundo método para los niveles de IgG anti-SARS-CoV-2 (VITROS) y una determinación de anticuerpos neutralizantes. El ensayo VITROS Immunodiagnostic Anti-SARS-CoV-2 ELISA IgG (Ortho-Clinical Diagnostics) es un inmunoensayo quimioluminiscente (CLIA) que utiliza una proteína estructural recombinante 1 (S1) de SARS-CoV-2 para medir la presencia total de anticuerpos en suero y plasma. El sistema lee la señal luminosa y los resultados se interpretan cualitativamente. Un índice S/C $< 1,0$ se considera negativo, $\geq 1,0$ positivo. Finalmente, como tercera técnica, en el CNM se midieron los anticuerpos neutralizantes en todas las unidades de plasma administradas. Las diluciones de las muestras de plasma de los participantes se preincubaron durante 1 hora con pseudovirus D614-SARS-CoV2 (10 ng p24Gag/pocillo) y se agregaron a células Vero E6 en placas de 96 pozos. A las 48 horas después de la infección, se evaluó la infectividad viral midiendo la actividad de luciferasa (Renilla Luciferase Assay, Promega) utilizando un luminómetro de placa de 96 pocillos "Orion II" (Berthold Technologies). El título de anticuerpos neutralizantes se calculó como una dosis inhibidora del 50 % (NT50), expresada como el recíproco de una dilución en serie doble de sueros inactivados por calor (rango 1:16–1:8192), lo que resultó en una reducción del 50 % de la infección por pseudovirus en comparación con control sin suero. La neutralización ≤ 32 se considera negativa. Se incluyeron controles positivos y negativos en el ensayo y se evaluó la neutralización no específica utilizando un pseudovirus no relacionado que expresa la envoltura del virus de la estomatitis vesicular. Los resultados del título de anticuerpos neutralizantes y del nivel de IgG mediante el ensayo VITROS solo estuvieron disponibles al final del estudio y no estuvieron disponibles para la selección de unidades de CP durante el estudio.

4.4.2. Preparación / Manipulación / Almacenamiento

Se siguieron los procedimientos estándar establecidos para donantes de plasma sanos en los centros de transfusión. En particular:

- Consentimiento informado por escrito
- El día de la recolección, los donantes convalécientes (CD) fueron nuevamente evaluados como donantes de plasmaféresis de forma altruista, realizándose una prueba de hemoglobina en los dedos, presión arterial y frecuencia cardíaca.
- A cada donación de plasmaféresis se le asignaba un único número de identificación (SIN) según la codificación ISBT128.
- Los donantes convalécientes se sometieron a un proceso de aféresis utilizando máquina de aféresis validada para recolectar plasma, y un kit de aféresis de un solo uso para la obtención de 600 ml de plasma empobrecido en leucocitos ($< 1 \times 10^6$ leucocitos por bolsa) de acuerdo con los procedimientos locales.
- Los donantes convalécientes en algunos casos recibieron una infusión de solución salina de 500 ml a través del acceso de la vena de aféresis en línea, después de la recolección de plasma, de acuerdo con los procedimientos locales (no obligatorio).
- Las unidades de plasma podían conservarse a temperatura ambiente (20°C), hasta 8 h antes del proceso de reducción de patógenos (inactivación). Si no era posible, las unidades debían congelarse para realizar un procedimiento adicional de reducción de patógenos.
- La colección de 600 ml se separaron en dos bolsas de 300 ml, para reducir aún más los

patógenos (inactivación), o inactivarse por completo, si el sistema permitía realizar el proceso de reducción de patógenos con ese volumen.

- Si el plasma se había congelado previamente, se descongelaba, inactivaba y se volvía a congelar antes de las 2 horas.
- El proceso de inactivación se realizó utilizando cualquier sistema de reducción (inactivación) de patógenos validado para plasma transfusional (es decir, azul de metileno, amotosaleno, riboflavina...). El procedimiento se realizó de acuerdo con los procedimientos locales.
- Toda la transferencia de plasma entre diferentes bolsas se realizaba mediante un sistema cerrado y preferiblemente con un soldador de tubos estériles.

4.4.3. Formulación, apariencia, empaquetamiento y etiquetado

Las unidades de PC se identificaban y etiquetaban preferiblemente de acuerdo con los requisitos de ISBT128.

A cada donación se le asignaba un código identificativo único (Single Identification Number, SIN). El producto recolectado generalmente se separaba en dos alícuotas; el producto incluía un subcódigo SIN como 01 y 02.

Este código se utilizaba para asignar los datos de análisis de anticuerpos del donante, de manera que dos pacientes distintos podían recibir plasma de ese donante. Cada paciente tenía identificado en su CRF el SIN 01 ó 02 que había recibido.

Las bolsas de 300 ml con reducción de patógenos se etiquetarán con el número SIN primario seguido de un código de subconjunto (01 y 02).

4.4.4. Almacenamiento y estabilidad del producto

Las bolsas de plasma inactivado se congelaron por debajo de -25°C y se almacenaron y enviaron siguiendo las directrices europeas para el almacenamiento de componentes sanguíneos. (36 meses por debajo de -25°C o 3 meses por debajo de -18°C).

Para el transporte, las bolsas de plasma debían mantenerse congeladas. No se necesitaban recipientes especiales si las unidades de plasma se mantenían congeladas en el momento de la entrega.

Todos los datos del procedimiento se registraron utilizando el CRF definido para esta prueba. Además, se utilizó el software del banco de sangre de cada Servicio de Transfusión hospitalario para registrar las unidades de plasma transfundidas.

Los plasmas solo se utilizaron para este proyecto de investigación.

4.5. MEDIDAS PARA MINIMIZAR EL SESGO: ALEATORIZACIÓN Y CIEGO

En este ensayo se aleatorizó a los pacientes en una proporción de 1: 1 a PC o estándar de tratamiento y se estratificó por centro y usando bloques múltiples de 2. La lista de aleatorización se generó con el programa RERAND.

La asignación fue ciega y se preservó el ciego a través de un sistema centralizado integrado en eCRF (Oracle Clinical). Solo tras obtener el consentimiento informado e introducir los datos demográficos y clínicos basales del paciente, el sistema permitía la aleatorización y asignación irreversible de grupo.

Una vez asignado el grupo el ensayo no era ciego para los pacientes ni los investigadores.

4.6. EVALUACIONES Y PROCEDIMIENTOS

En la tabla 4 se detallan los procedimientos del estudio.

Los sujetos fueron evaluados diariamente mientras estaban hospitalizados. El seguimiento fue de 60 días.

Los pacientes dados de alta antes del final del seguimiento recibieron llamadas telefónicas del estudio.

Todos los sujetos se sometieron a una serie de evaluaciones de eficacia, seguridad y datos de laboratorio. Se obtuvieron hisopos naso / orofaríngeos (NP / OP) al inicio del estudio y al alta en todos los pacientes. Las muestras de sangre para PCR se extrajeron al inicio y al día 3, en todos los pacientes.

Mientras estaban hospitalizados, se obtuvieron muestras de sangre los días 3, 5, 8, 11, 15, 29 y 60 siempre que hubiera un resultado positivo. Si había 2 resultados consecutivos de PCR negativas, no fueron necesarias más muestras de sangre para PCR.

Las muestras de sangre para serología se obtuvieron al inicio del estudio en todos los pacientes y, mientras estaban hospitalizados, los días 8, 15, 29 y 60.

4.6.1. Procedimientos de Screening

Después de la obtención del consentimiento informado, se realizaron las siguientes evaluaciones para determinar los requisitos de elegibilidad según se especifica en los criterios de inclusión y exclusión:

- Resultado positivo de la prueba de SARS-CoV-2. Infección por SARS-CoV-2 confirmada por laboratorio según lo determinado por la prueba de PCR en hisopos naso / orofaríngeos o cualquier otro relevante. Los resultados de laboratorio tanto local (hospital) como central (ISCIII) eran aceptables para su inclusión, aunque siempre se tomó una muestra basal para el laboratorio central. Las pruebas alternativas (es decir, pruebas antigénicas rápidas) también fueron aceptadas.
- Historial médico enfocado, incluyendo la siguiente información:
 - o Día de inicio de los síntomas de COVID-19 (fiebre y / u otros síntomas).
 - o Historial de condiciones médicas crónicas relacionadas con los criterios de inclusión y exclusión y factores de riesgo conocidos para COVID-19.
 - o Imágenes radiográficas recientes, con un máximo de 7 días de antigüedad (radiografía o tomografía computarizada).
 - o Confirmación del período desde la hospitalización por COVID.

La elegibilidad general del sujeto para participar en el estudio se evaluó una vez que estaban disponibles todos los valores de detección. El proceso de selección se podía suspender antes de completar la evaluación en cualquier momento si el equipo del estudio identificaba las exclusiones. Los sujetos del estudio que cumplieron los criterios eran aleatorizados de inmediato y el tratamiento se administró el mismo día de la aleatorización.

4.6.2. Visita 1 (Tratamiento)

Esta visita se podía realizar al mismo tiempo que la visita de selección.

Durante la misma se llevó a cabo el procedimiento de aleatorización, en el cual los participantes se asignaban aleatoriamente a:

- Grupo de tratamiento: PC inactivada de pacientes recuperados de COVID-19,
- Brazo de control: SOC para COVID-19.

Las siguientes evaluaciones se realizaban antes de la administración de la terapia:

- Escala ordinal.
- Signos vitales, incluidos SpO2 y Tª.
- Examen físico dirigido a la auscultación pulmonar.
- Hisopo naso / orofaríngeo.
- Sangre para PCR SARS-CoV-2.
- Muestras de sangre (grupo ABO, hematología, química, CRP, LDH, ferritina, IL-6, coagulación, dímero D, CPK, plaquetas y troponina).
- Sangre para determinación de anticuerpos.
- Revisar medicamentos y terapias relacionados con COVID-19 (SOC).

4.6.3. Evaluaciones de eficacia (visitas de seguimiento)

Diariamente durante la hospitalización, se evaluaron los siguientes apartados:

- Requerimiento de oxígeno.
- Dispositivo de suministro de oxígeno: dispositivo nasal, mascarilla con bolsa reservorio.
- Ventilación mecánica no invasiva (mediante máscara) u oxígeno de alto flujo.
- Requisito de ventilador mecánico (mediante tubo endotraqueal o cánula de traqueotomía).
- Requisito de ECMO.
- SpO2.
- Tª .
- Mortalidad.

4.6.4. Evaluación virológica (visitas de seguimiento)

Los hisopos NP / OP se recolectaron al inicio y al momento del alta.

Las muestras de sangre para PCR se recolectarán al inicio y al día 3, en todos los pacientes. Durante la hospitalización también se realizó la PCR en los días 5, 8, 11, 15, 29 y 60, salvo que dos PCR consecutivas sean negativas.

Las muestras de sangre para serología se recolectaron al inicio y al alta, en todos los pacientes. Además, durante la hospitalización, se recogieron muestras de sangre los días 8, 15, 29 y 60.

4.6.5. Evaluación de seguridad

La evaluación de seguridad se realizó durante todo el seguimiento, hasta el final del estudio, los eventos adversos y las complicaciones.

- Examen físico: se realizó un examen físico dirigido a los síntomas para evaluar cualquier posible evento adverso. No fue necesario un examen físico para las visitas de rutina.
- Evaluaciones de laboratorio clínico: La sangre se recolectó en los siguientes momentos: días 3, 5, 8, 11, 15, 29 y 60.

Los parámetros de laboratorio clínico incluyeron PCR, linfocitos, neutrófilos, LDH, D-Dímero, ferritina, IL-6, prueba de coagulación, CPK, plaquetas y troponina.

Tabla 4. Procedimientos del estudio

VISITAS	Screening ¹	Basal ¹	Seguimiento	Día15 ⁴	Día29 ⁴	Día60 ⁴ (Final de estudio)
Día +/- Ventana	-3 to 1	1	Diario hasta alta hospitalaria	± 2	± 3	± 3
EVALUACIONES/PROCEDIMIENTOS						
Consentimiento informado	X					
Criterios de inclusión y exclusión	X	X				
Demografía e historial médico	X					
PCR SARS-CoV-2 o test de antígenos	X ²					
Rx Tórax	X ⁷					
Randomización		X				
Administración Plasma Convalescente		X				
Recogida de datos clínicos		X	Diario hasta alta hospitalaria	X	X	X
Signos Vitales: SpO ₂ /T ^a	X	X	Diario hasta alta hospitalaria	X	X	X
Requerimiento de oxígeno		X	Diario hasta alta hospitalaria	X	X	
Requerimiento de Ventilación Mecánica		X	Diario hasta alta hospitalaria	X	X	
Mortalidad			Diario hasta alta hospitalaria	X	X	
Medicación concomitante (Sólo relacionada con COVID-19)		X		X	X	X
AE /SAE (eCRF reporte)			Diario hasta alta hospitalaria	X	X	X
Muestras de sangre (grupo ABO)		X				
Muestras de sangre rutinarias (hematología y bioquímica) ³		X	(Días 3, 5, 8 y 11) ⁵	X ⁵	X ⁵	X ⁵
Muestra de sangre para PCR SARS-CoV-2 ⁶		X	(Días 3, 5, 8 y 11) ⁵	X ⁵	X ⁵	X ⁵
Muestra de sangre para determinación de anticuerpos		X	(Días 8, 15, 29 y 60) ⁵			
Muestras naso/orofaríngeas		X ²	Al alta			

(1) Esta visita puede hacerse al mismo tiempo que la visita de screening. (2) PCR positiva o test de antígeno para COVID-19 (aceptado por el sponsor), en hisopos naso / orofaríngeos o cualquier otra muestra relevante es necesaria a antes de la aleatorización. Si la inclusión se basa en un hisopo local anterior, se necesitará un nuevo hisopo basal que se enviará al CNM-ISCIH. Si la prueba anterior de SARS-CoV-2 + no está disponible y el hisopo se obtiene como procedimiento de detección, el hisopo basal podría obtenerse al mismo tiempo, teniendo en cuenta que el hisopo basal DEBE SER ENVIADO a la central del laboratorio del CNM-ISCIH. (3) Hematología, bioquímica, ferritina, PCR, LDH, IL-6, coagulación, dimérom D, CPK, plaquetas y troponina. (4) Estas visitas pueden realizarse por teléfono. En este caso, las muestras de sangre y los signos vitales no estarán disponibles. (5) Sólo durante la hospitalización.(6) Si se obtienen dos resultados negativos consecutivos, no se necesitan más pruebas de PCR. (7) RX obtenido durante el período sintomático de COVID-19 en curso (máximo 7 días de vida).

4.7. SEGURIDAD/HEMOVIGILANCIA

4.7.1. Definición de Evento Adverso (EA)

EA significa cualquier acontecimiento médico adverso asociado con el uso de una intervención en humanos, se considere o no relacionado con la intervención. Por lo tanto, un EA puede ser cualquier signo desfavorable e involuntario (incluido un hallazgo anormal de laboratorio), síntoma o enfermedad asociada temporalmente con el uso del producto en investigación.

Cualquier condición médica que estaba presente en el momento en que se evaluó al sujeto se consideró como basal y no se informó como un EA. Sin embargo, si aumentaba la gravedad de cualquier condición médica preexistente, se registró como un EA.

Dada la naturaleza de la gravedad de la enfermedad subyacente, los sujetos tendrán muchos síntomas y anomalías en los signos vitales y datos de laboratorio. Solo los EA de grado 3 y 4 se identificaron como EA en este ensayo, de acuerdo con la siguiente clasificación:

- Leve (Grado 1): Eventos que generalmente son transitorios y pueden requerir solo un tratamiento mínimo o ningún tratamiento o intervención terapéutica y generalmente no interfieren con las actividades habituales de la vida diaria del sujeto.
- Moderado (Grado 2): Eventos que generalmente se alivian con una intervención terapéutica específica adicional. El evento interfiere con las actividades habituales de la vida diaria, causando malestar pero no presenta un riesgo significativo o permanente de daño al sujeto de la investigación.
- Grave (grado 3): los eventos interrumpen las actividades habituales de la vida diaria o afectan significativamente el estado clínico o pueden requerir una intervención terapéutica intensiva. Los eventos graves suelen ser incapacitantes.
- Grave (Grado 4): eventos que pueden poner en peligro la vida.

4.7.2. Definición de Serious Adverse Event (SAE)

Se definió SAE como "Un EA o una sospecha de reacción adversa se considera grave si, en opinión del investigador o del promotor, da lugar a cualquiera de los siguientes resultados:

- Muerte,
- EA potencialmente mortal,
- hospitalización o prolongación de la hospitalización existente,
- una incapacidad persistente o significativa o una interrupción sustancial de la capacidad para realizar las funciones de la vida normal,
- o una anomalía congénita / defecto congénito.

Los eventos médicos importantes que pueden provocar la muerte, poner en peligro la vida o requerir hospitalización pueden considerarse graves cuando, según el criterio médico apropiado, pueden poner en peligro al paciente o al sujeto y pueden requerir una intervención médica o quirúrgica para prevenir uno de los resultados, enumerados en esta definición.

"Peligroso para la vida" se refiere a un EA que, al ocurrir, representa un riesgo inmediato de muerte para un sujeto. Un evento que puede causar la muerte si ocurre en una forma más severa no se considera potencialmente mortal. Del mismo modo, un ingreso hospitalario para un procedimiento electivo no se considera un SAE.

Se evaluó la gravedad de todos los SAE y su relación con la intervención del estudio.

Todos los SAE fueron registrados.

4.7.3. Eventos Adversos de Interés Especial

Se instruyó a los investigadores para que controlen activamente la aparición de:

- TRALI: lesión pulmonar aguda relacionada con la transfusión
- ADE: mejora de la infección dependiente de anticuerpos
- TACO: sobrecarga cardíaca asociada a transfusiones.

4.7.4. Relación con la Intervención del Estudio

Para cada reacción adversa informada, el IP o la persona designada se evaluó la relación del evento con el producto del estudio utilizando la siguiente guía:

- Relacionados: se sabe que el EA ocurre con la intervención del estudio, existe una posibilidad razonable de que la intervención del estudio haya causado el EA o existe una relación temporal entre la intervención del estudio y el evento. Posibilidad razonable significa que existe evidencia que sugiere una relación causal entre la intervención del estudio y el EA.
- No relacionado: no existe una posibilidad razonable de que la administración de la intervención del estudio haya causado el evento, no existe una relación temporal entre la intervención del estudio y el inicio del evento, o se ha establecido una etiología alternativa.

4.7.5. Hemovigilancia

Los eventos adversos relacionados con PC fueron evaluados por una enfermera o médico capacitado en Hemovigilancia, quien documentó y registró cualquier evento adverso que pudiera estar relacionado con la transfusión de PC a lo largo de las 24 h posteriores a la finalización de la transfusión de plasma de investigación. Esto se define como un Programa de Hemovigilancia en Cuarentena Activa 24 horas (programa HEMACUA).

Los informes de eventos adversos registraron tres campos individuales de acuerdo con las reglas de hemovigilancia:

1. Tipo de evento (los eventos se definen como concordantes con las definiciones EU y SHOT, (<https://www.shotuk.org>))
2. Gravedad
3. Imputabilidad

4.8. ESTADÍSTICA Y GESTIÓN DE DATOS

4.8.1. Observaciones generales

El análisis estadístico se ha llevado a cabo de acuerdo con los principios de la Guía E9 de la Conferencia Internacional de Armonización (ICH) (CPMP / ICH / 363/96) (118).

Un Plan de Análisis Estadístico (SAP) detallado fue acordado por el Comité Directivo del ensayo. Este SAP ha seguido las recomendaciones reglamentarias generales dadas en la guía ICH E9, así como otras guías específicas sobre cuestiones metodológicas y estadísticas. Además, se tuvieron en cuenta las recomendaciones dadas por los documentos de consenso de las revistas científicas (119), para mejorar la confiabilidad y el valor de la literatura de investigación médica mediante la promoción de informes transparentes y precisos de los estudios de investigación clínica.

El sistema SAS (versión 9.4) fue el software estadístico utilizado para analizar los conjuntos de datos.

4.8.2. Cálculo tamaño muestral

El diseño estadístico, incluyendo el tamaño de la muestra y la regla de parada, se calculó utilizando el software v6.5 validado por East de Cytel Inc.

Dado la existencia de incertidumbres sobre la tasa esperada en la variable principal del estudio y en base al criterio de valoración de la mejora clínica recomendado por el grupo de expertos de I + D Blueprint de la OMS (120) y los datos de un ensayo negativo (40), las proporciones del estándar de atención fueron:

	Descripción	% en SOC
1	No hospitalizado, sin limitaciones de actividades	0
2	No hospitalizado, limitación de actividades	28
3	Hospitalizado, no requiriendo oxígeno suplementario.	24
4	Hospitalizado, requiriendo oxígeno suplementario.	20
5	Hospitalizados, con ventilación no invasiva o dispositivos de oxígeno de alto flujo.	6
6	Hospitalizado, con ventilación mecánica invasiva o ECMO.	5
7	Muerte	17

Se esperaba que los resultados finales para el grupo control en nuestro medio fueran inferiores a los observados en ese estudio descrito, ya que con datos internos sugerían que obtendríamos cifras de alrededor del 20% al agrupar las categorías de 4 a 7.

A pesar de estos datos, y dadas las altas incertidumbres, se establecieron dos estrategias en el estudio:

- (1) una serie de análisis intermedios de futilidad y eficacia y
- (2) una reestimación del tamaño de la muestra cuando se evaluó el 60% de los criterios de valoración.

Por lo tanto, se propuso un ensayo clínico abierto, controlado con el estándar de tratamiento, aleatorizado con una proporción de 1: 1, con límites de detención para la eficacia y la futilidad al 20%, 40%, 60 y 80% del tamaño de la muestra final. Los límites de parada se calcularon utilizando la función de Rho con $\rho = 7$ y se muestran en la tabla 5

Tabla 5. Límites de detención para la eficacia y la futilidad

Escenario	Porcentaje	Valor p	
		Límite de eficacia	Límite de futilidad
1	20%	0.0000003	0.9995467
2	40%	0.0000413	0.9480048
3	60%	0.0006785	0.6436939
4	80%	0.0051563	0.2154427
5	100%	0.0243397	0.0243397

Con este diseño, se estimó que se requerían 278 pacientes (139 por brazo) asumiendo una tasa del 20% en el grupo de control y una reducción absoluta del 10% (tasa del 10% en el grupo experimental), con un poder estadístico del 80% y un alfa unilateral del 2.5%. nivel (5% bilateral).

Con respecto al tamaño final de la muestra se realizó un nuevo cálculo del tamaño de la muestra cuando el 60% de los pacientes estuvieron disponibles para ser evaluados y posteriormente se realizó el tercer análisis.

4.8.3. Revisión de Datos (DR)

La revisión de datos (DR) se realizó antes del cierre de la base de datos. El monitor y el administrador de datos examinaron los datos para verificar el cumplimiento del protocolo. Las desviaciones se enviaban al estadístico del proyecto para planificar listados para la Revisión de datos (DR). El objetivo era realizar la selección de la población y la definición de las poblaciones de estudio finales, así como una evaluación preliminar de la calidad de los datos del ensayo.

4.8.4. Análisis de poblaciones

Hubo las siguientes poblaciones de análisis para este estudio:

- 1) Conjunto de análisis completo (FAS): todos los pacientes asignados al azar al estudio se incluyeron en la población FAS.
- 2) Población por protocolo: Los conjuntos de pacientes por protocolo (PP) se definen como aquellos pacientes incluidos en el conjunto FAS sin desviaciones importantes del protocolo que puedan afectar las evaluaciones principales del estudio. Estas desviaciones se evaluaron durante la revisión de datos antes del bloqueo de la base de datos.
- 3) La población de seguridad se define como todos los participantes asignados al azar que recibieron el producto en investigación.

Las razones precisas para excluir a los participantes de cada población estaban completamente definidas y documentadas independientemente de los códigos de aleatorización durante la revisión de datos y antes del cierre de la base de datos.

4.8.5. Procedimiento de Randomización

Los códigos de aleatorización se elaboraron mediante RERAND. El programa de asignación al azar se administró desde el eCRF de manera oculta.

4.8.6. Análisis descriptivo

Se realizó un análisis descriptivo para todos los parámetros en general y por brazo en cada momento del estudio. Los parámetros categóricos se presentan mediante frecuencias y porcentajes. Los parámetros continuos se resumirán mediante la estadística descriptiva adecuada (media \pm desviación estándar o mediana y rango intercuartílico).

Los criterios de valoración de eficacia y seguridad se compararon de forma descriptiva entre los brazos del estudio. Los cambios con respecto al valor inicial, también se resumieron por rama de estudio.

4.8.7. Variable principal

La proporción de pacientes con fracaso, definida como categorías 5, 6 o 7 de la escala ordinal de 7 puntos en el día 15, se ha estimado utilizando un modelo de regresión log-binomial que incluye variables de estratificación.

4.8.8. Variables secundarias y de seguridad

Variables binarias

Los resultados binarios de eficacia y seguridad se han analizado utilizando un modelo de regresión log-binomial que incluye variables de estratificación como en el caso de la variable principal.

Variables de cambio en la escala de la OMS

El análisis de la variable de cambio de valoración de la escala ordinal propuesto por OMS se ha analizado utilizando el modelo de probabilidades proporcionales y las variables de estratificación.

La razón de probabilidades común también se puede interpretar como el cambio promedio sobre la escala de resultado ordinal total causado por el tratamiento en estudio. La prueba de van Elteren no paramétrica, que utiliza puntuaciones de rídit modificadas, que es una extensión directa de la extensión de la prueba de suma de rangos de Wilcoxon para 2 muestras, se calculó como un análisis de sensibilidad para comparar la escala como ordinal en lugar de una variable binaria, sin asumir probabilidades proporcionales.

La mediana de los valores absolutos, el intervalo de confianza del 95% (IC del 95%) se calculó utilizando los métodos de Hodges-Lehmann (es decir, la mediana de todas las diferencias cruzadas entre los tratamientos según la distribución de Mann-Whitney).

Variables continuas

Las variables continuas se han analizado mediante Modelos Mixtos, incluyendo en el modelo la medición de la línea de base, las variables de estratificación, el tratamiento así como la interacción entre tratamiento y tiempo, declarando el tiempo como categórico.

La matriz de varianza-covarianza se fijó como no estructurada.

Los contrastes entre los grupos de estudio se realizaron por tiempo.

El efecto del tratamiento se estimó a través de medias ajustadas: medias de mínimos cuadrados (LSMeans), su error estándar, error estándar de media (SEM), y su IC del 95%.

Las diferencias entre tratamientos se han estimado a través de las diferencias entre LSMean, SEM e IC 95%.

Variables de supervivencia

La función de supervivencia, así como la mediana [intervalo de confianza del 95%-IC del 95%], el tiempo transcurrido hasta el evento se calculó mediante el método de Kaplan-Meier. Las comparaciones de grupos se han realizado mediante la prueba de rango logarítmico (estratificada) y las razones de riesgo estratificadas (HR), con IC del 95%, que se tomaron del modelo de Cox.

4.8.9. Estrategia General para el resto de variables

El resto de variables se han analizado de acuerdo con la siguiente estrategia: la prueba exacta de Fisher utilizada para variables categóricas, la prueba t para variables distribuidas gaussianas y, para variables continuas u ordinales no gaussianas, métodos no paramétricos (prueba de Mann-Whitney).

4.8.10. Ajustes de multiplicidad y análisis intermedios

El análisis ha seguido los principios especificados en la ICHE9, las directrices reglamentarias sobre cuestiones de multiplicidad.

Para mantener el error de tipo I general en el contexto de un ajuste del tamaño de la muestra, se utilizará el método de Cui, Hung y Wang (CHW, 1999).

4.8.11. Estimación del estudio y manejo de las pérdidas

El manejo de los pérdidas siguió los principios especificados en el ICH-E9 y el CPMP/ EWP/ 1776/99 Rev1.

En principio, se estimaba que la tasa de los datos faltantes sería muy baja debido al tipo de criterio de valoración, fácilmente disponible con una evaluación clínica rápida, por lo que no se esperaba ningún impacto en el análisis primario.

A continuación se describen los eventos intercurrentes relevantes que se esperaba que ocurrieran en este estudio y los métodos para manejarlos:

Eventos intercurrentes:

A. No inicio de tratamiento :Se utilizó la evaluación de eficacia observada independientemente de este evento intercurrente.

B. Suspensión del tratamiento: estrategia de “Política de tratamiento”, es decir, se utilizará la evaluación de la eficacia observada independientemente de este evento intercurrente.

C. Muerte antes del momento de la evaluación: se manejó como la estrategia “Compuesta”, y la variable primaria se consideró como fracaso.

D. Otras razones para no evaluar la variable primaria:

- Causas probablemente relacionadas con el tratamiento (es decir, por problemas de eficacia o seguridad) o por una mala evolución clínica: se manejaron como en 3.c utilizando la estrategia “Compuesta”.
- Motivos no relacionados con el tratamiento. Se utilizó una aplicación conservadora de la estrategia “Hipotética”. Las técnicas de imputación múltiple implementadas utilizaron la tasa de fallo observado en el brazo de control.
- Cualquier medicamento adicional o cualquier otro motivo potencial para la interrupción del estudio: estrategia de "política de tratamiento", es decir, se utilizó la evaluación de la eficacia observada independientemente de este evento intercurrente.

En el caso de ausencia de datos para el resultado de fracaso derivado de la escala ordinal de la OMS de 7 puntos (puntuaciones de 5, 6 o 7) en puntos de tiempo posteriores a 15 días, se llevó a cabo la siguiente estrategia secuencial para la evaluación primaria:

Primero, se hicieron todos los intentos para recuperar información sobre el estado en la escala ordinal de la OMS (de registros clínicos o visitas adicionales o seguimiento telefónico). Si no era factible evaluar la escala de la OMS la falta se imputó como fallo, excepto en los casos en que la ausencia de dato ocurría tras el alta hospitalaria. Se consideró razonable suponer que el empeoramiento clínico hubiera dado lugar a un reingreso hospitalario, por lo que se imputó la última información disponible al alta hospitalaria.

No se realizaron imputaciones formales para el resto de variables y los análisis se basaron en el enfoque de datos disponibles únicamente.

4.8.12. Análisis de subgrupos

Se planificaron a priori determinados análisis de subgrupos para evaluar el impacto en la eficacia de algunos factores clave:

(a) el nivel de anticuerpos neutralizantes en el plasma administrado y

(b) Momento de la enfermedad, es decir, etapas tempranas o tardías considerando 4 días o menos, 5-6 o 7 o más como corte.

(c) Carga viral

(d) Positividad de anticuerpos al inicio del estudio

(e) Período de reclutamiento de pacientes según las diferentes oleadas de la pandemia

4.9. ENMIENDAS Y MODIFICACIONES DEL ENSAYO

Durante el desarrollo del estudio se llevaron a cabo diversas modificaciones en el diseño del estudio, con las consiguientes autorizaciones por el CEIm.

Estas modificaciones se detallan en la tabla 6.

Tabla 6. Enmiendas y modificaciones durante el estudio

Versiones del protocolo	Descripción de la enmienda
v.1 22/03/2020	Versión aprobada por primera vez por el CEIm. No fue necesaria la aprobación de la autoridad competente en medicamentos (AEMPS) al tratarse de un producto sanguíneo.
v.2 06/04/2020	<p>Enmienda para modificar los criterios de inclusión:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Se retiró el límite máximo de tres días desde el ingreso hasta la aleatorización. Se consideró que los límites relevantes eran los basados en los días transcurridos desde el inicio de los síntomas hasta la aleatorización. <p>La ventana de 72 horas para la RT-PCR positiva para SARS-CoV-2 se retiró y se cambió por una RT-PCR positiva válida obtenida en el curso actual de la enfermedad. Esto fue motivado por el hecho de que algunos pacientes experimentaron un empeoramiento e ingreso a los pocos días de su diagnóstico junto con la enorme sobrecarga de los laboratorios locales. Se debía recolectar una nueva RT-PCR basal y enviarla al laboratorio central del ensayo, pero no había necesidad de repetir la RT-PCR local para su inclusión.</p> <ul style="list-style-type: none"> -El límite de 10 días de síntomas se amplió a 12 días de síntomas. Esto se debió a la evidencia de ingreso de varios pacientes candidatos alrededor de los 10 días de sintomatología junto con datos publicados de series de casos que informan de ausencia de riesgo en pacientes con mayor evolución de la enfermedad. <p>Se eliminó la necesidad de confirmar que los anticuerpos contra el SARS-CoV-2 fueran negativos para los pacientes con más de 10 días de síntomas .</p> <ul style="list-style-type: none"> -Se agregó una mención explícita a la necesidad de incluir la determinación del grupo ABO en el momento basal.
v.2.1 14/04/2020	-Se reformuló la descripción de las categorías 4 y 5 de la escala ordinal para indicar que los pacientes con máscara de oxígeno con bolsa reservorio se consideraban categoría 4.

	-Se agregó la determinación de IL-6 a los parámetros de laboratorio.
v.2.2 22/04/2020	-Se eliminó el requisito de que los donantes de plasma presenten una PCR negativa para SARS-CoV2 en frotis nasofaríngeos u orofaríngeos. El cambio siguió a la publicación de la Guía de la UE revisada sobre recolección, análisis, procesamiento, almacenamiento, distribución y uso monitoreado del plasma convaleciente COVID-19, que no incluye este requisito de su Versión 1.0 del 4 de abril de 2020. Como ya no se requería, es una prueba molesta para el donante y la inactivación del plasma da más seguridad sobre la eliminación viral, la prueba fue eliminada del protocolo. -Se incluyó en el protocolo la descripción de Eventos Adversos de Especial Interés (TRALI, ADE y TACO)
26/05/2020. No cambio en la versión del protocolo	La enmienda tiene como objetivo permitir un seguimiento prolongado de los pacientes mediante la adición de un subestudio sobre recrudescencias de COVID-19. El objetivo de este subestudio era describir la frecuencia y las características clínicas, analíticas, radiológicas y microbiológicas de las recrudescencias en pacientes con Covid-19. La enmienda incluye una nueva versión del Consentimiento informado con la mención al subestudio y un breve protocolo para el subestudio. El protocolo original no fue modificado.
v.3.0 31/08/2020	-Selección de pacientes con un tiempo máximo de evolución de 7 días de síntomas (en lugar de un máximo de 12) con el fin de disminuir la tasa de pacientes ya seroconvertidos en la inclusión. -Extensión del seguimiento de los pacientes de 28 días a 60 días para captar mejor los eventos trombóticos y otras complicaciones y reingresos del COVID-19. -Significativa simplificación de las determinaciones de virus y serología en pacientes: Eliminación de PCR seriadas en frotis naso / orofaríngeo, molesto para los pacientes y con escasa contribución a la caracterización del aclaramiento del virus. Solo la PCR en serie se mantendrá en sangre en aquellos pacientes (10% o menos) que muestren ARN viral en sangre, lo que permite un análisis cuantitativo más confiable para el aclaramiento viral. - Colección de raza y etnia (latinoamericana sí / no), factores de riesgo potenciales vinculados a factores raciales y étnicos. -Se agregaron algunas variables secundarias que no involucraban procedimientos adicionales más allá de la llamada telefónica a los 60 días o nuevas determinaciones en extracciones para analíticas ya planificadas, agregando CPK y troponina, que no fueron incluidas. Recolección de variables adicionales de dificultad respiratoria en pacientes intubados (pO2 / FiO2 o SpO2 / FiO2, uso de vasopresores, diálisis).
v.3.1 30/09/2020	- Los criterios de inclusión de la confirmación del laboratorio local para el SARS-CoV-2 se modificaron para aceptar la positividad

	<p>con nuevas pruebas (es decir, pruebas antigénicas rápidas) alternativas a la RT-PCR, siempre que el promotor hubiera aceptado una especificidad adecuada de esa prueba en particular. Sin embargo, una RT-PCR en hisopado oro / nasofaríngeo en el laboratorio centralizado seguía siendo un procedimiento de referencia obligatorio para todos los pacientes.</p>
--	---

4.10. CONSIDERACIONES REGULATORIAS Y ÉTICAS

Este estudio se ha llevado a cabo conforme a los principios establecidos en la declaración de Helsinki.

Un Comité de Ética en Investigación Clínica (CEIC) revisó y aprobó el protocolo, los documentos de consentimiento informado asociados previamente al reclutamiento, selección y participación de los sujetos.

El CEIC posteriormente aprobó enmiendas al protocolo y a los documentos de consentimientos informados antes de que se implementaran.

4.10.1. Proceso de Consentimiento Informado

El consentimiento informado es un proceso que se inicia antes de que una persona acepte participar en un ensayo y continúa durante toda la participación del individuo en el ensayo. Los investigadores obtuvieron el consentimiento informado del sujeto de acuerdo con la Ley 14/2007 de Investigación Biomédica y las directrices aceptadas internacionalmente.

Los sujetos recibieron una presentación concisa y enfocada de la información clave sobre el ensayo clínico, de forma oral. Debido a la limitación de manejo de papel en las salas COVID, se aceptó el consentimiento oral antes de incluirse en el estudio. El formulario de consentimiento por escrito se obtenía posteriormente del propio paciente o de representantes legales lo antes posible. La información clave sobre el estudio se organizó y presentó en terminología y un lenguaje adecuado que facilitara la comprensión de por qué uno podría o no querer participar.

4.10.2. Retirada del estudio

Los pacientes fueron libres de retirarse de la participación del estudio en cualquier momento. Se indicó que los pacientes que retiraban el consentimiento solo cuando ya no deseaban participar en el estudio, ya no autorizaban a los investigadores para continuar obteniendo sus datos. En el caso de que un paciente se perdiera durante el seguimiento, se realizaron intentos de contactar al paciente y se documentaban en los registros médicos del paciente.

El motivo de la interrupción del estudio por parte del paciente se registró en el formulario de informe de caso correspondiente.

4.10.3. Confidencialidad y Privacidad

La confidencialidad del sujeto se mantuvo de forma estricta por los investigadores participantes, su personal y el promotor. Esta confidencialidad se extendió para cubrir la información clínica relacionada con los sujetos, los resultados de las pruebas de muestras biológicas y toda la información generada durante la participación en el estudio. No se divulgará información identificable sobre los sujetos del estudio a terceros no autorizados.

El monitor del estudio, otros representantes autorizados del promotor, los representantes del CEIC y/o las agencias reguladoras pueden inspeccionar todos los documentos y registros que debe mantener el investigador, incluidos, entre otros, los registros médicos (clínica u hospital)

para los sujetos de este estudio. El centro del estudio clínico permitió el acceso a dichos registros.

Todos los registros de origen, incluidos los datos electrónicos, se han almacenado en sistemas seguros.

Todos los datos del estudio y las muestras de investigación que abandonen el centro (incluida cualquier transmisión electrónica de datos) se han identificado solo por un número codificado que está vinculado a un sujeto a través de una clave de código que se mantiene en el centro.

4.10.4. Supervisión y seguimiento de la Seguridad

El DSMB realizó una evaluación, restringida a los objetivos de seguridad, después de los primeros 20 pacientes y emitió una recomendación para seguir con el estudio. El 10 de junio, el DSMB realizó el primer análisis de futilidad y seguridad planificado (al 20 % de reclutamiento). El análisis se basó en el corte de datos del 3 de junio con 77 pacientes reclutados. La recomendación del DSMB fue seguir sin cambios. Sin embargo, el 10 de julio, el Comité de Dirección decidió detener el reclutamiento debido a la drástica caída del reclutamiento relacionado con el control de la pandemia en España (sólo 6 nuevos pacientes en 5 semanas). Se realizó una modificación en caso de reinicio del ensayo, con la intención de seleccionar pacientes con enfermedad anterior (7 días o menos) y ampliar el seguimiento de los pacientes para captar el efecto potencial sobre las complicaciones graves y tardías de la COVID-19. El ensayo se reanudó efectivamente el 7 de septiembre de 2020 con el aumento de la segunda ola.

La segunda reunión del DSMB tuvo lugar el 13 de noviembre y la última el 3 de diciembre de 2020. En su última reunión, el DSMB recomendó aumentar el tamaño de la muestra en al menos un 20 % para mantener un poder estadístico razonable y el nuevo tamaño de la muestra fue fijado por el Comité Directivo en 350 pacientes.

4.11. CUMPLIMIENTO DE BPC

4.11.1 Monitorización

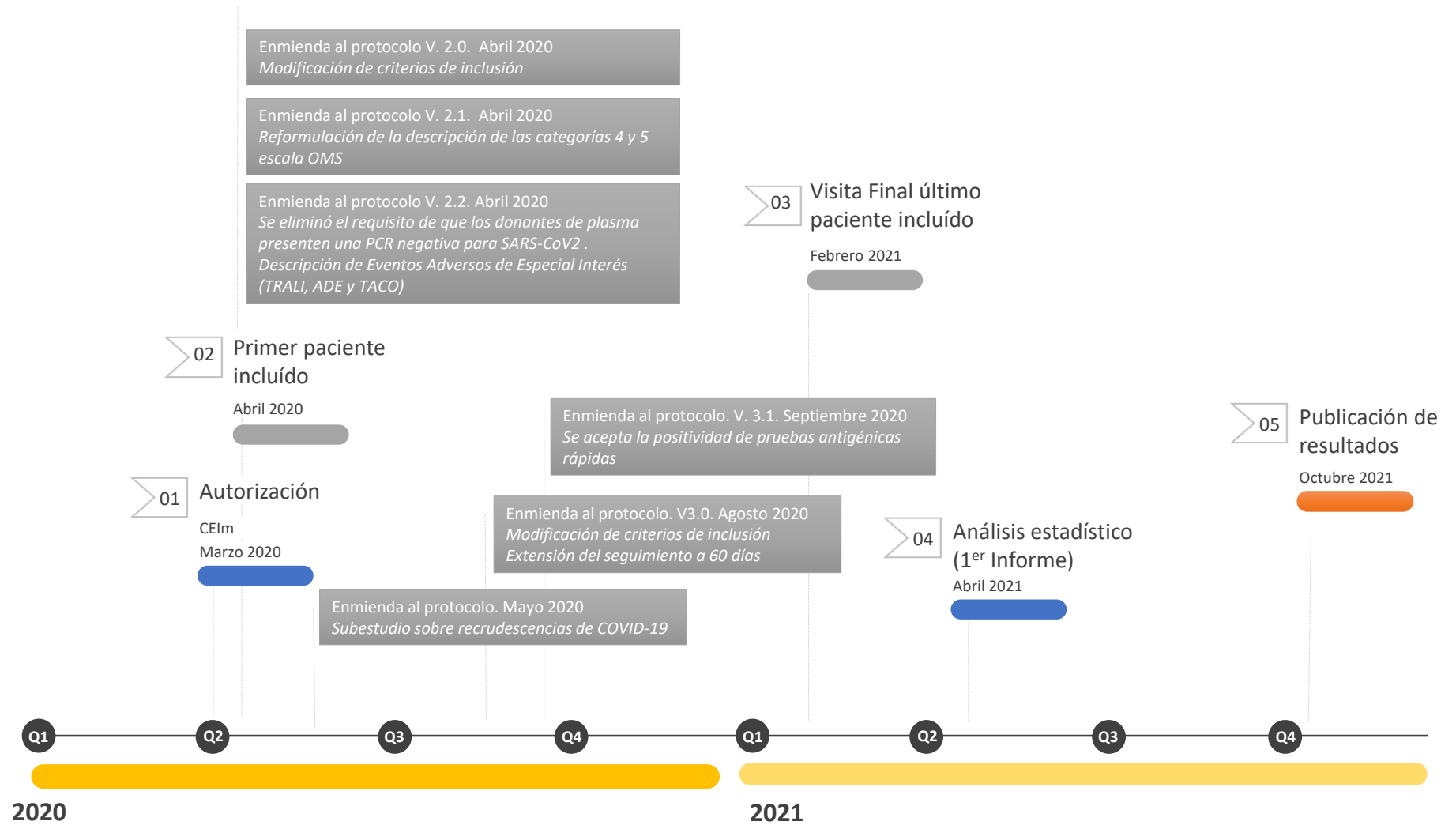
La monitorización del estudio se llevó a cabo para garantizar que los derechos y el bienestar de los sujetos del ensayo estuviesen protegidos, que los datos del ensayo informados fueran precisos, completos y verificables.

La monitorización también garantizó que la realización del ensayo cumpliera con los protocolos y las enmiendas aprobadas, ICH, GCP y con los requisitos reglamentarios aplicables y los requisitos del promotor.

Se llevó a cabo un plan de monitorización por parte de la plataforma SCRen del ISCIII.

Las visitas de monitorización incluyeron, entre otras, la revisión de archivos reglamentarios, registros de responsabilidad, CRF, ICF, informes médicos y de laboratorio, registros de almacenamiento de intervenciones de estudios del sitio, registros de capacitación y cumplimiento de protocolos y GCP.

Figura 8. Cronología del estudio





RESULTADOS

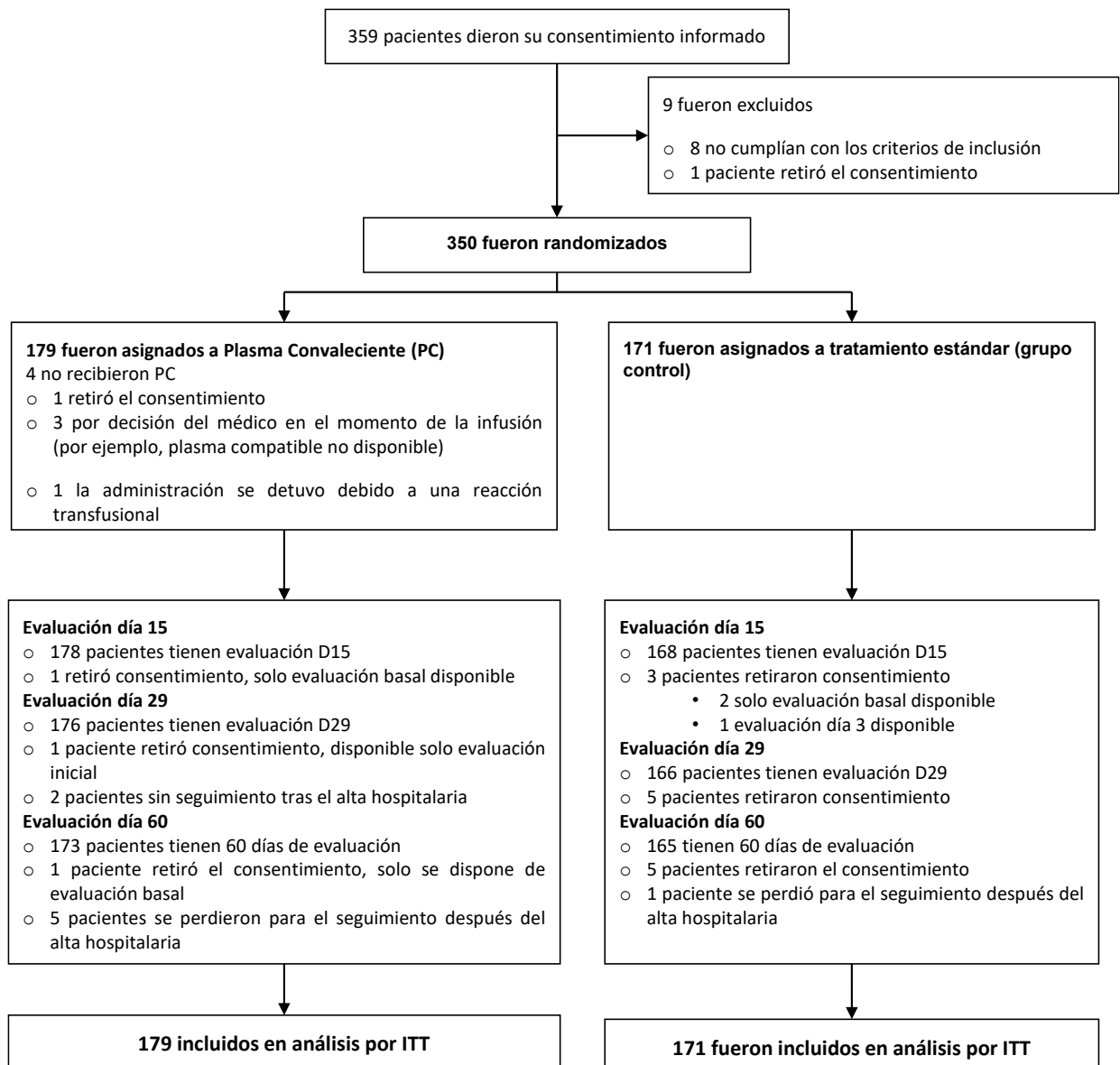


5.1. POBLACIÓN DEL ESTUDIO

5.1.1. Población incluida

Entre el 4 de abril de 2020 y el 5 de febrero de 2021, 359 pacientes fueron incluidos en el estudio tras la firma del consentimiento informado. De estos 350 fueron aleatorizados, 179 fueron asignados a recibir Plasma convaleciente (CP) y 171 a tratamiento estándar (grupo control). De los pacientes aleatorizados para recibir plasma, 175 (97,8%) recibieron el tratamiento asignado. Los motivos de retirada de pacientes se detallan en la Figura 9.

Figura 9. Diagrama de flujo



Las características basales demográficas y de enfermedad se distribuyeron de forma uniforme en ambos grupos de tratamiento (Tabla 7). La mediana de edad (IQR) fue de 62 años (53-75), el

65,4% eran hombres. El intervalo de tiempo medio entre el inicio de los síntomas y la aleatorización fue de 6 días.

Las comorbilidades más frecuentes fueron HTA (47,1%), Diabetes mellitus (25,7%) y alteraciones cardiovasculares (20,6%). 276 pacientes (78,9%) requerían oxígeno suplementario con máscara o gafas nasales (escala OMS 4).

Al inicio del estudio, 109 de 350 pacientes (31,1%) presentaban anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 positivos.

Tabla 7. Características clínicas y demográficas de los pacientes en visita basal

	Plasma (N=179)	Control (N=171)	Total (N=350)
Edad, Media \pm SD (Años)	62,7 \pm 15,7	63,4 \pm 14,9	63,0 \pm 15,3
Edad, Mediana (IQR) (Años)	63,0 (50,0, 75,0)	61,0 (55,0, 75,0)	62,0 (53,0, 75,0)
Sexo, Masculino, N (%)	118 (65,9)	111 (64,9)	229 (65,4)
Índice de Masa Corporal media \pm SD	28,6 \pm 6,2	28,6 \pm 5,8	28,6 \pm 6,0
Tiempo de inicio de síntomas hasta la randomización, Media (IQR) (días)	6,0 (4,0, 6,0)	6,0 (4,0, 7,0)	6,0 (4,0, 7,0)
Comorbilidades, N (%)			
Diabetes mellitus	52 (29,1)	38 (22,2)	90 (25,7)
Obesidad	31 (17,3)	27 (15,8)	58 (16,6)
Hipertensión	90 (50,3)	75 (43,9)	165 (47,1)
Dislipemia	12 (6,7)	10 (5,8)	22 (6,3)
Trastorno Cardiovascular	39 (21,8)	33 (19,3)	72 (20,6)
Enfermedad crónica pulmonar	33 (18,4)	24 (14,0)	57 (16,3)
Enfermedad renal crónica	9 (5,0)	11 (6,4)	20 (5,7)
Cáncer	15 (8,4)	11 (6,4)	26 (7,4)
Inmunodeficiencia**	10 (5,6)	11 (6,4)	21 (6,0)
Neumonía Bilateral en Rx, N (%)	148 (82,68)	142 (83,04)	290 (82,86)
Tratamientos en visita basal, N (%)			
Glucocorticoides	127 (70,9)	122 (71,3)	249 (71,1)
Anticoagulantes	95 (53,1)	85 (49,7)	180 (66,9)
Remdesivir	41 (22,9)	48 (28,1)	89 (25,4)
Azitromicina	49 (27,4)	45 (26,3)	94 (26,9)
Tocilizumab	10 (5,6)	16 (9,4)	26 (7,4)
Escala ordinal OMS, N (%)			
3. Hospitalizado, no requerimiento de oxígeno	40 (22,3)	34 (19,9)	74 (21,1)
4. Hospitalizado, requerimiento de oxígeno suplementario con máscara o gafas nasales.	139 (77,6)	137 (80,1)	276 (78,9)
IgG positiva por anti SARS-Cov-2 anticuerpos (ELISA), N (%)	48 (26,8)	61 (35,7)	109 (31,1)

*Población por Intención de Tratar. Todos los pacientes randomizados han sido incluidos

**Inmunodeficiencia común variable, pacientes en tratamiento con fármacos inmunosupresores e inmunodeficiencias secundarias.

En relación al tratamiento dirigido frente a la infección por SARS-CoV-2, en el momento de la inclusión en el estudio un 71,1% de los pacientes recibían tratamiento con corticoesteroides, un

25,4% recibieron tratamiento con remdesivir, y el 7,4% pacientes habían recibido tocilizumab antes de su inclusión. Ante la situación cambiante de las recomendaciones de tratamiento a lo largo de la pandemia, se llevó a cabo un análisis del tratamiento basal recibido en relación con los diferentes periodos “olas” de la pandemia. Los resultados de este análisis se muestran en la tabla 8. Se observa que el uso de corticosteroides aumentó a lo largo del periodo del estudio pasando del 50,6 % de los pacientes en la primera ola al 87,8% de los pacientes en la 3^{era} ola. El uso de hidroxicloroquina y lopinavir/ritonavir descendió a lo largo del estudio.

Tabla 8. Uso de tratamiento estándar previo a la inclusión en el estudio. Analisis temporal

N (%)	Primera ola	Segunda ola	Tercera ola	Total
	4 Abril 2020 a 9 Julio 2020 N= 81	7 sept 2020 a 5 Dic 2020 N= 187	10 Dic2020 a 5 Feb2021 N= 82	N= 350
Corticosteroides	41 (50,6)	136 (72,7)	72 (87,8)	249 (71,1)
Anticoagulantes	ND†	119 (63,6)	61 (74,4)	180 (66,9)
Remdesivir	2 (2,5)	60 (32,1)	27 (32,9)	89 (25,4)
Hidroxicloroquina	71 (87,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	71 (20,3)
Lopinavir / Ritonavir	34 (42,0)	1 (0,5)	1 (1,2)	36 (10,3)
Tocilizumab	15 (18,5)	6 (3,2)	5 (6,1)	26 (7,4)

†Datos no disponibles de los primeros 81 pacientes. La anticoagulación se incluyó como variable obligatoria para ser registrada en el eCRF con la enmienda de septiembre de 2020.

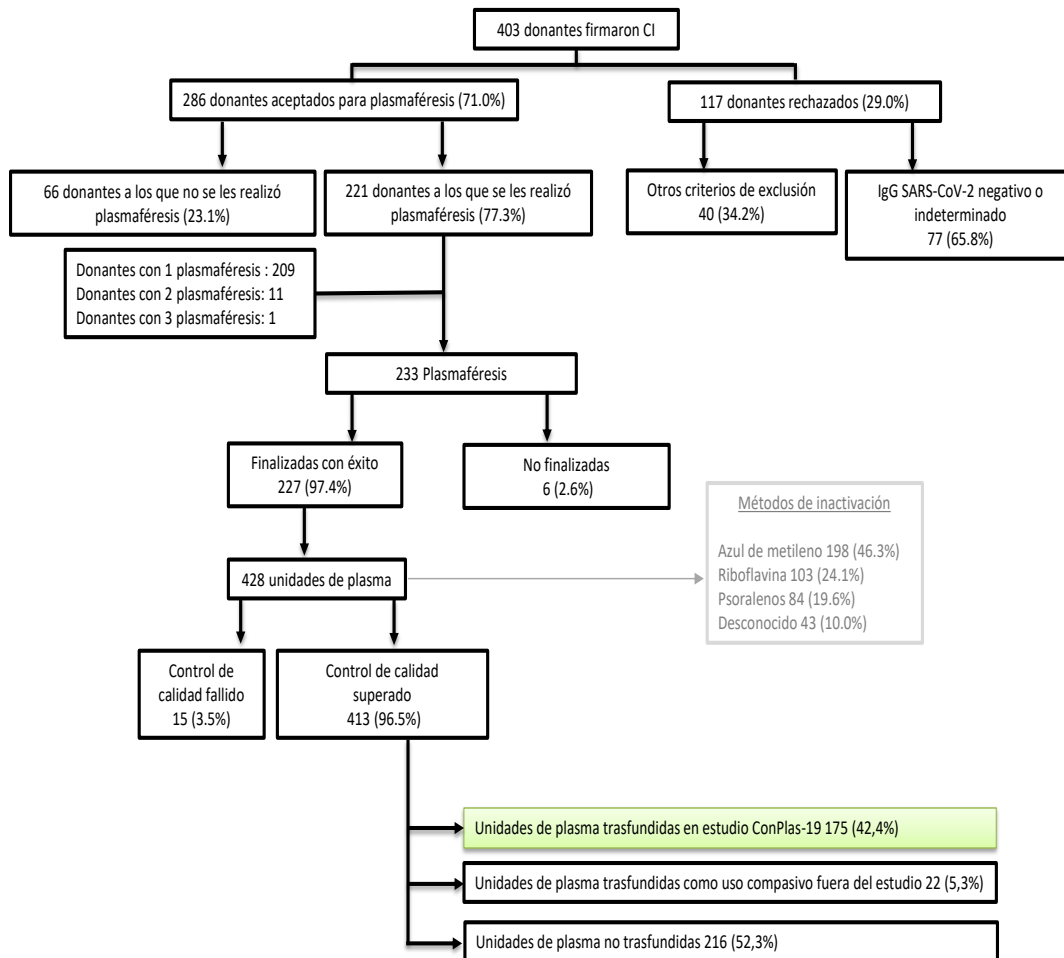
5.1.2. Población donante

Se evaluaron 403 donantes elegibles para el cribado, en 221 pacientes se realizó plasmaféresis, finalmente se llevaron a cabo 233 aféresis de PC con éxito, ya que en algunos donantes se repitió el procedimiento hasta en tres ocasiones (figura 10).

A partir de las plasmaféresis realizadas, se obtuvieron 413 unidades de plasma, de las cuales 175 unidades fueron utilizadas en el contexto del estudio. Las 175 unidades de PC administradas en el estudio se obtuvieron de 116 donantes diferentes.

Los donantes eran pacientes con infección previa por SARS-CoV-2 confirmada por laboratorio, que se hubieran mantenido asintomáticos durante al menos 14 días y con niveles de IgG anti-SARS-CoV-2 ratio $\geq 1,1$ determinados con ELISA Euroimmun.

Figura 10. Diagrama de flujo para la población donante



Los donantes fueron en su mayoría hombres (87,1%) con una mediana de edad de 41,0 años (IQR 30,5 - 52,0]. La mediana de tiempo transcurrido desde el final de los síntomas hasta la plasmaféresis fue de 45,0 días (IQR 32,0 - 54,0) (Tabla 9).

Tabla 9. Características clínicas y demográficas de los donantes evaluados

N=403	
Edad (años)	
Media (SD)	40,5 (11,4)
Mediana [Q1,Q3]	40,0 [30,0, 50,0]
Min, Max	19,0, 64,0
Sexo, n (%)	
Mujer	75 (21,4)
Varón	274 (78,3)
Duración de síntomas (días)	
Media (SD)	13,6 (10,3)
Mediana [Q1,Q3]	13,0 [7,0, 18,0]

SARS-Cov2 anticuerpos IgG ,n (%)	
Positivo	273 (78,0)
Negativo	53 (15,1)
No realizado	6 (1,7)
Indeterminado	12 (3,4)
No disponible	6 (1,7)
Pacientes con SARS-Cov2 anticuerpos IgG positivos N=273	
SARS-Cov2 anticuerpos IgG (U/ml)	
Media (SD)	1115,6 (220,9)
Mediana [Q1,Q3]	1110,0 [972,0, 1257,0]
Min, Max	30,0, 1700,0
SARS-Cov2 anticuerpos IgA (U/ml)	
Media (SD)	242,3 (89,8)
Mediana [Q1,Q3]	234,0 [174,0, 290,0]
Min, Max	44,0, 529,0
SARS-Cov2 anticuerpos IgM (U/ml)	
Media (SD)	111,7 (52,9)
Mediana [Q1,Q3]	102,0 [74,0, 137,0]
Min, Max	24,00; 400,00

En relación con la determinación de anticuerpos plasmáticos se realizaron tres técnicas diferentes para su cuantificación: Euroimmun, ORTHO y neutralización de pseudovirus D614.

La tabla 10 muestra las características del plasma recibido por los pacientes del estudio, en relación con los títulos de IgG analizados a través de las tres técnicas descritas. Los títulos de IgG anti-SARS-CoV-2 en las unidades de PC tuvieron un valor medio de 8.2 (IQR 4.5-12) (ORTHO). La determinación de anticuerpos neutralizantes mediante el ensayo de pseudovirus D614 mostró un título medio de 157 (IQR 64-502). Un 36,6 % y 33,7% de los pacientes recibieron PC con títulos altos de anticuerpos según estos dos métodos.

Tabla 10. Características del plasma recibido por los pacientes del estudio.

Unidad es de plasma N=175 pacientes tratados	Euroimmun	ORTHO	Pseudovirus D614
Mediana (IQR)	3,4 (1,9-5,9)	8,2 (4,5- 12,0)	157 (64-502)
Rango	0,4 -12,1	0,0 -15,4	12-3.421
Pacientes con títulos altos de anticuerpos n (%)	83 (47,4%)*	64 (36,6%)**	59 (33,7%***)

*Euroimmun Ratio ≥ 3.5 Puntos de corte basados en Investigational COVID-19 Convalescent Plasma. Guidance for Industry. US Food and Drug Administration. Convalescent plasma EUA letter of authorization. [https:// www.fda.gov/media/141477/download.](https://www.fda.gov/media/141477/download))

**ORTHO Clinical S/C ≥ 9.5 (Puntos de corte basados en Investigational COVID-19 Convalescent Plasma. Guidance for Industry. US Food and Drug Administration. Convalescent plasma EUA letter of authorization. [https:// www.fda.gov/media/141477/download.](https://www.fda.gov/media/141477/download))

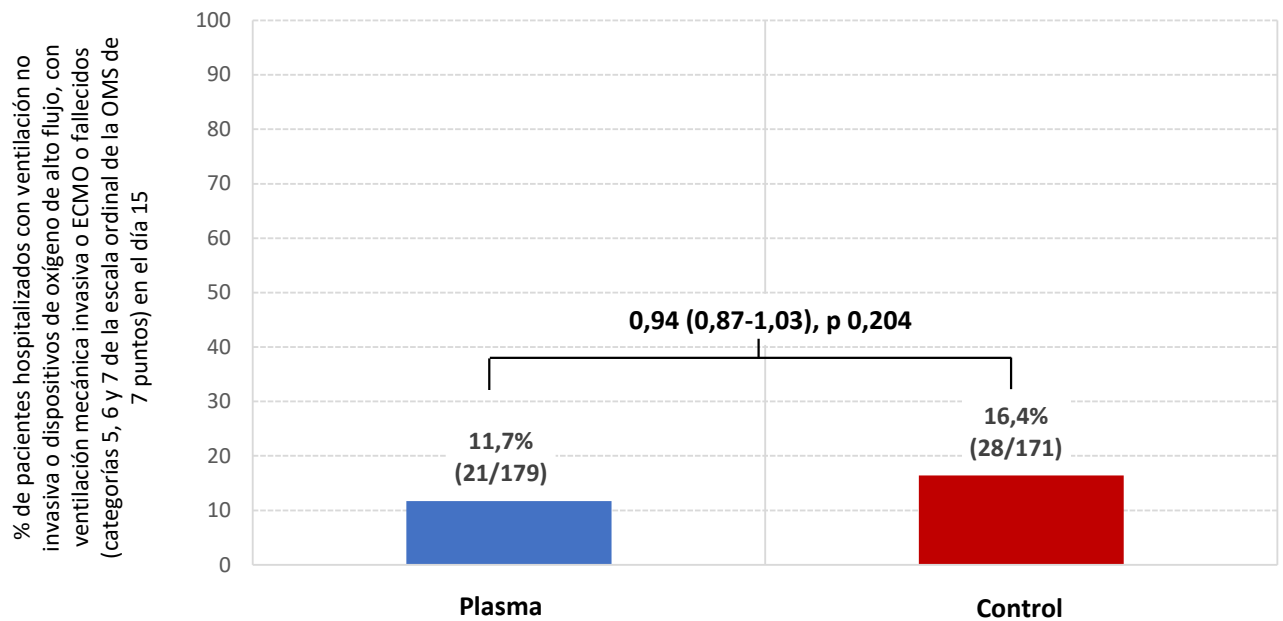
***Pseudovirus D614 : Título Ac >336 decidido por investigadores del estudio.

5.2. EVALUACIÓN DE LA EFICACIA

5.2.1. Variable principal

El porcentaje de pacientes hospitalizados con ventilación no invasiva o dispositivos de oxígeno de alto flujo, con ventilación mecánica invasiva o ECMO o fallecidos (categorías 5, 6 y 7 de la escala ordinal de la OMS de 7 puntos) en el día 15 fue del 11,7% en el grupo que había recibido plasma frente al 16,4% en el grupo control (RR 0,94; IC95% 0,87-1,03, p = 0,204) (Figura 11).

Figura 11. Resultados eficacia. Variable principal



En el día 15 la mayoría de los pacientes de ambas ramas de tratamiento se encontraban en la categoría 2 de la escala de la OMS, no hospitalización con limitación de la actividad, el 45,3% de los pacientes que recibió plasma y el 51,5 de los pacientes del grupo control (tabla 11).

Tabla 11. Pacientes en las distintas categorías de la escala OMS a día 15.

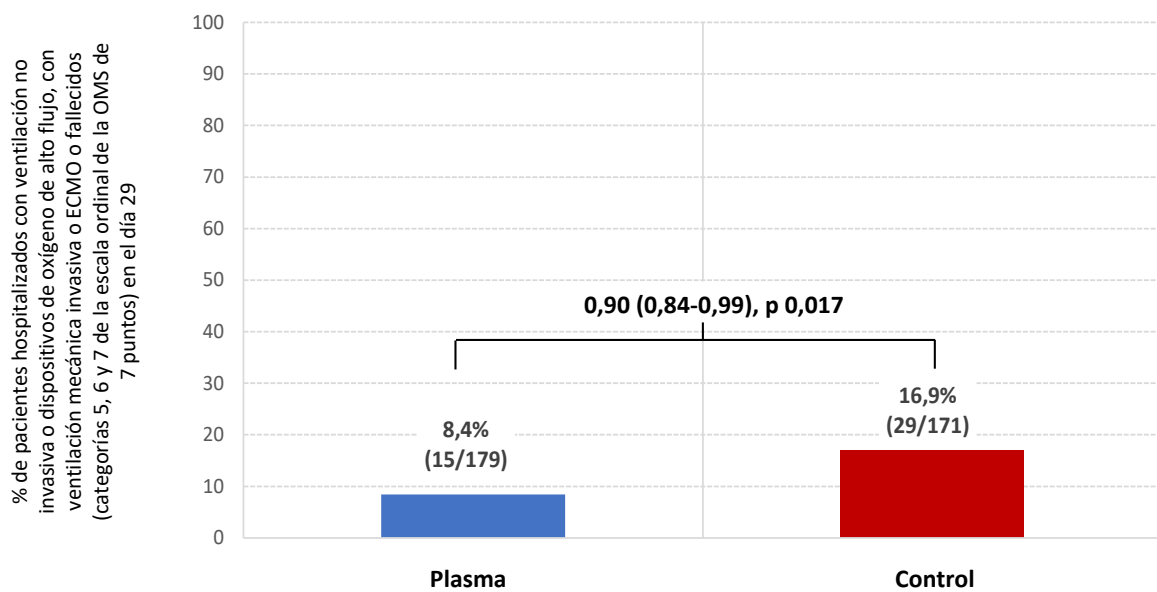
N (%)	Plasma N=179	Control N=171
1. No hospitalizados, no limitaciones en las actividades.	81 (45,3)	88 (51,5)
2. No hospitalizados, limitación en la actividad.	41 (22,9)	37 (21,6)
3. Hospitalizados, no requerimiento de oxígeno suplementario.	8 (4,5)	4 (2,3)
4. Hospitalizados, requerimiento oxígeno suplementario.	28 (15,6)	14 (8,2)
5. Hospitalizados, ventilación no invasiva o dispositivos de oxígeno de alto flujo.	4 (2,2)	6 (3,5)
6. Hospitalizados, ventilación mecánica invasiva o ECMO.	11 (6,1)	12 (7,0)
7. Muerte	6 (3,4)	10 (5,8)

5.2.2 Variables secundarias

Proporción de pacientes en las categorías 5, 6 o 7 en la escala ordinal de 7 puntos a día 29 y día 60.

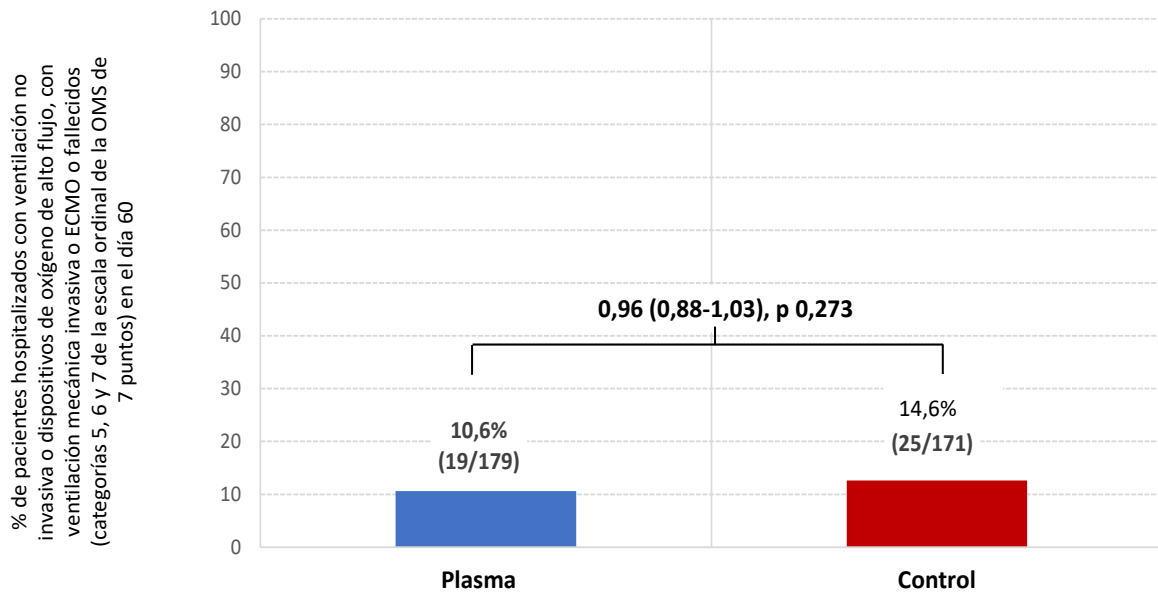
La tasa de pacientes hospitalizados con ventilación no invasiva o dispositivos de oxígeno de alto flujo, hospitalizados con ventilación mecánica invasiva o ECMO o muertos (categorías 5, 6 y 7 de la escala ordinal de la OMS de 7 puntos) en el en el día 29 fue del 8,4 % en el grupo que recibió plasma frente al 16,4% en el grupo control (RR 0,91;IC 95% 0,84-0,99; p 0,017) (figura 12).

Figura 12. Proporción de pacientes en las categorías 5, 6 o 7 en la escala ordinal de 7 puntos a día 29



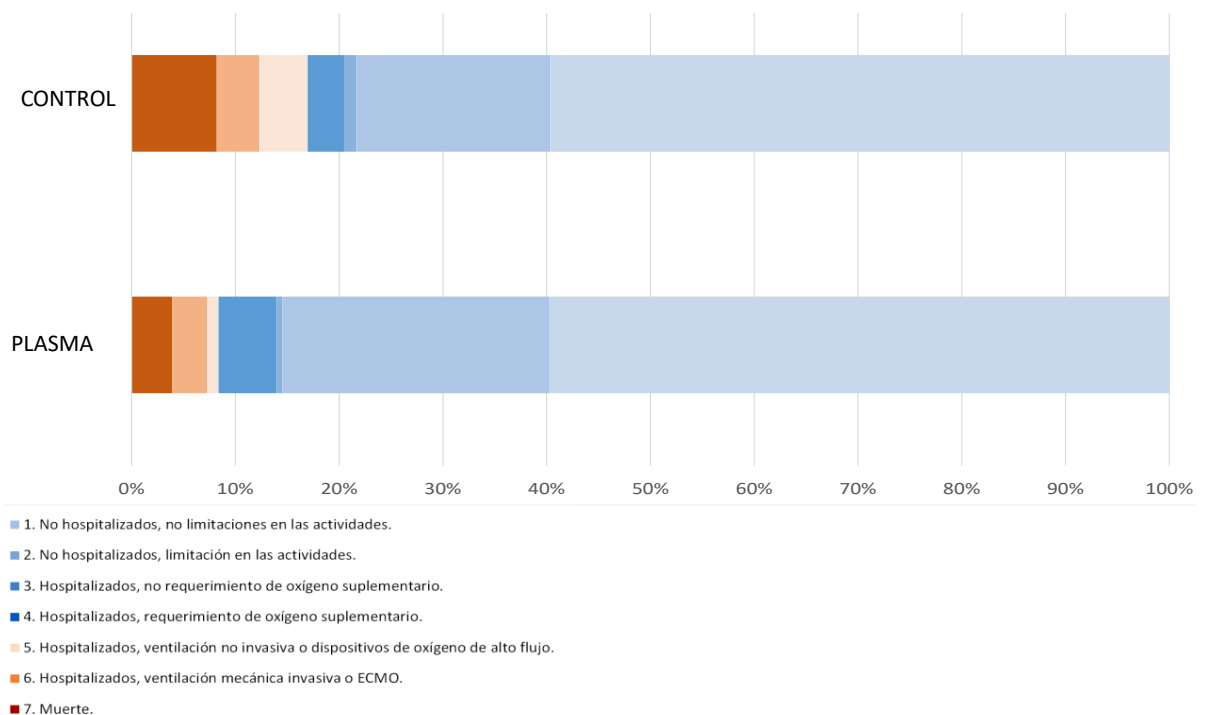
La tasa de pacientes hospitalizados con ventilación no invasiva o dispositivos de oxígeno de alto flujo, hospitalizados con ventilación mecánica invasiva o ECMO o muertos (categorías 5, 6 y 7 de la escala ordinal de la OMS de 7 puntos) en el en el día 60 fue del 10,6 % en el grupo que recibió plasma frente al 14,6 % en el grupo control (RR 0,96 ;IC 95% 0,88-1,03; p 0,273) (figura 13).

Figura 13. Proporción de pacientes en las categorías 5, 6 o 7 en la escala ordinal de 7 puntos a día 60



La distribución del estado clínico según la escala ordinal de 7 puntos de la OMS en el día 29 se muestra en la figura 13. En el día 29 la mayoría de los pacientes de ambos grupos, 59,8% en el grupo de plasma y 59,6% en el grupo control se encontraban en la categoría 1 de la escala de la OMS, no hospitalizados sin limitaciones en las actividades de la vida diaria (figura 14).

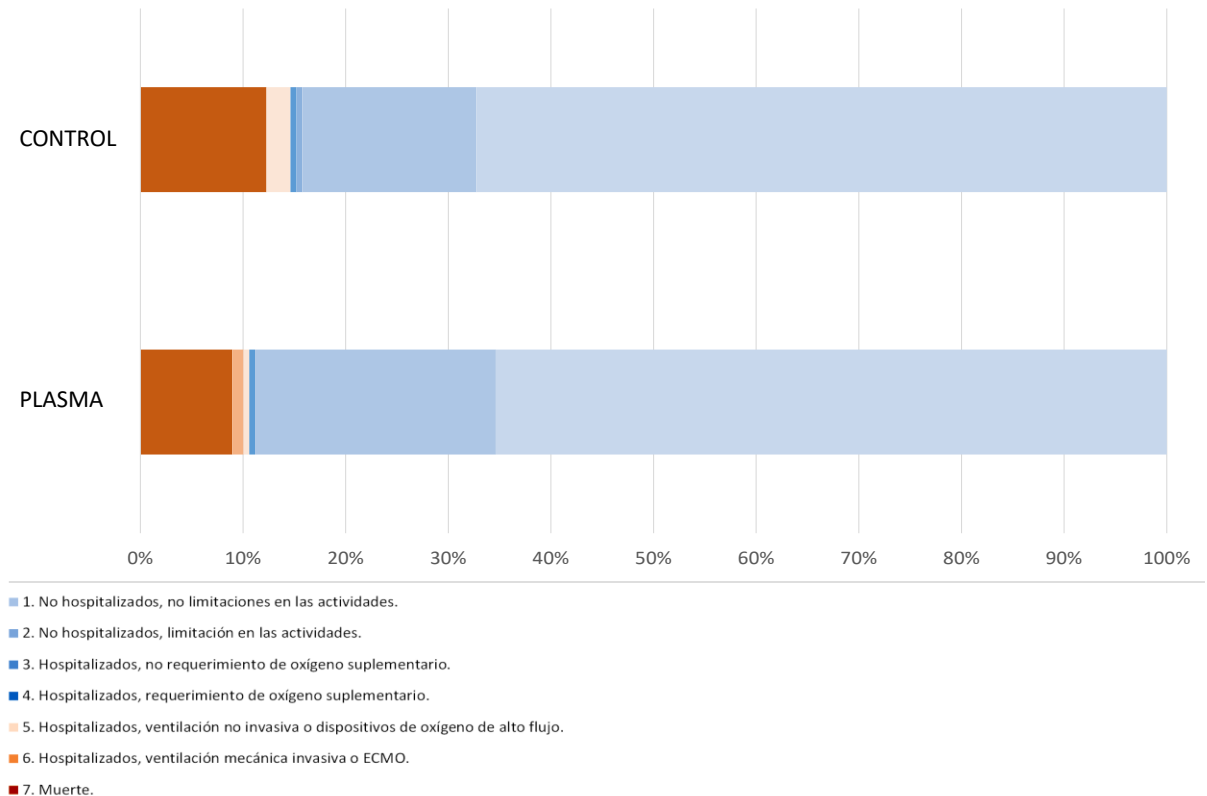
Figura 14. Pacientes en las distintas categorías de la escala OMS a día 29



La distribución del estado clínico según la escala ordinal de 7 puntos en el día 60 se muestra en la figura 14. La mayoría de los pacientes de ambos grupos se encontraban no hospitalizados y sin limitaciones, 65,4% en el grupo de plasma vs 67,3% en el grupo control.

A día 60, 4 pacientes del grupo plasma permanecían hospitalizados, 3 de estos con requerimientos de oxígeno con dispositivos de alto flujo o ventilación mecánica invasiva. En el grupo control, 5 pacientes permanecían hospitalizados, 4 de estos con requerimiento de oxígeno de alto flujo o ventilación mecánica invasiva (figura 15).

Figura 15. Pacientes en las distintas categorías de la escala OMS a día 60



Mortalidad a los 15, 29 y 60 días

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las tasas de mortalidad en ninguno de los momentos temporales analizados, días 15, 29 y 60 (tabla 12).

Las tasas de mortalidad en el día 15 fueron del 3,4% en el grupo que recibió plasma y del 5,9% en el grupo de control en el día 15 (RR 0,58; IC 95% 0,22-1,56; p 0,282).

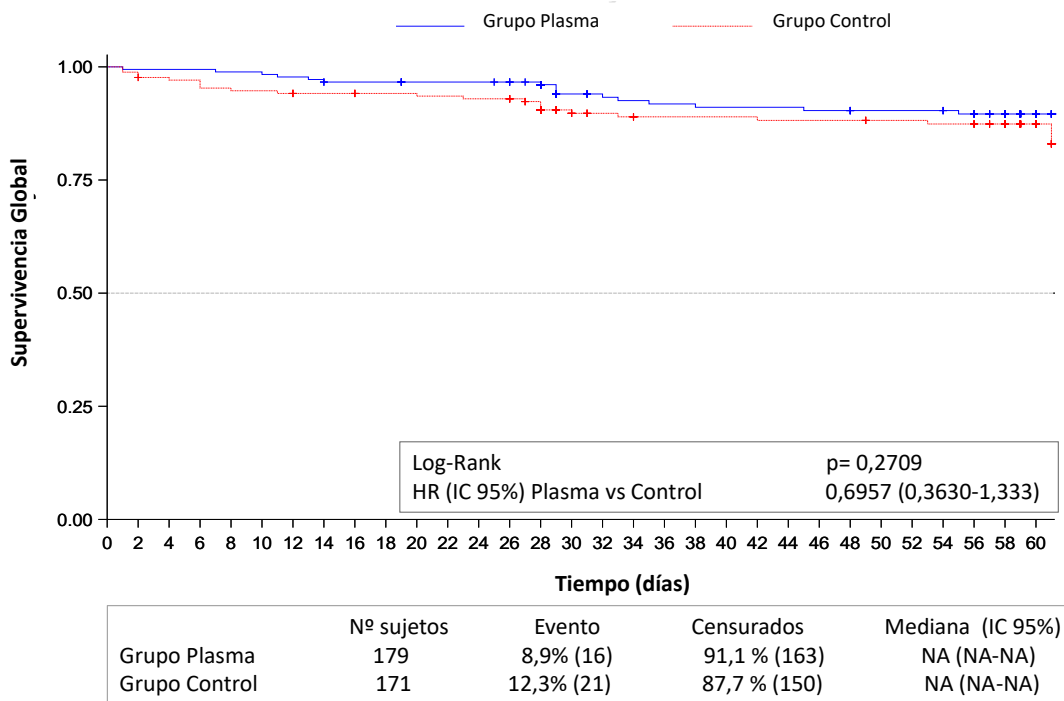
La tasa de mortalidad en el día 29 en el grupo plasma fue del 3,9% y del 8,2% en el grupo control (RR 0,49; IC 95% 0,20-1,17; p 0,109).

Tabla 12. Mortalidad a día 15, día 29 y 60

N (%)	Plasma (N=179)	Control (N=171)	RR (95% IC)	p
Mortalidad a día 15	6 (3,4)	10 (5,9)	0,58 (0,22-1,56)	0,282
Mortalidad a día 29	7 (3,9)	14 (8,2)	0,49 (0,20-1,17)	0,109
Mortalidad a día 60	16 (8,9)	21 (12,3)	0,74 (0,40-1,36)	0,329

La tasa de mortalidad hasta el día 60 en el grupo de PC fue del 8,9 % y del 12,3% en el grupo control (HR 0,69 ; IC 95% 0,36-1,33;log Rank 0,270) (figura 16).

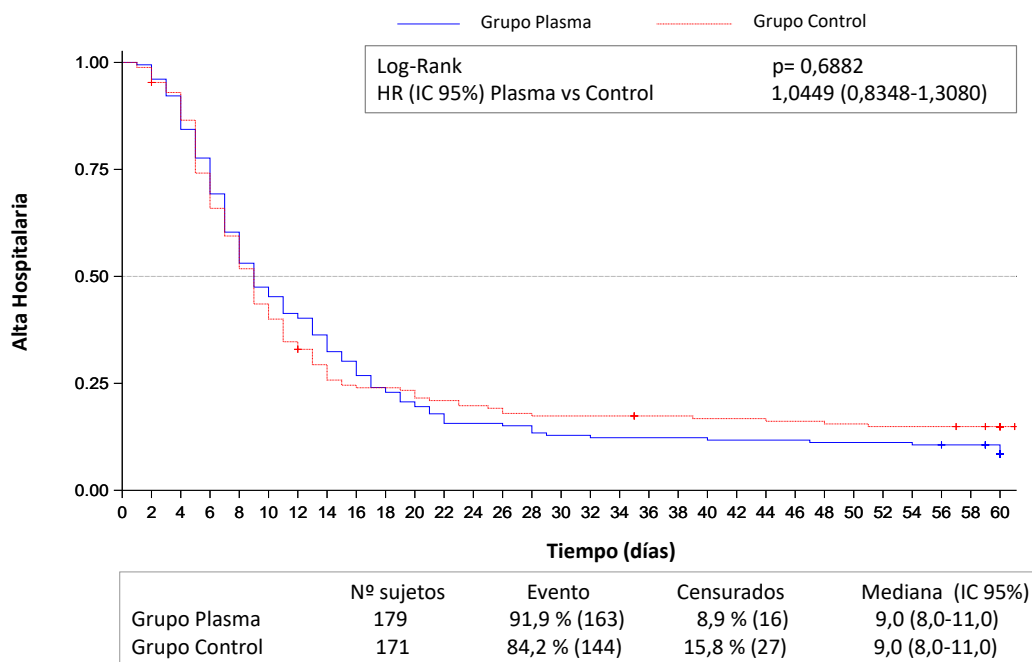
Figura 16. Supervivencia global



Tiempo hasta el alta

En relación con el tiempo hasta el alta, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (p 0,688). La mediana de tiempo desde la inclusión hasta el alta fue de 9 días en ambas ramas de tratamiento (HR 1,044; IC 95%, 0,83-1,31) (figura 17)

Figura 17. Tiempo hasta el alta hospitalaria



Rehospitalizaciones

La tasa de rehospitalizaciones fue baja en ambos grupos, y sin diferencias significativas: 3,3% (6/179) en el grupo PC y 4,1% (7/171) en el grupo control.

Tratamiento de rescate

En la tabla 13 se muestran los tratamientos de rescate prescritos a los pacientes después de la aleatorización, siguiendo los protocolos y decisiones locales.

El 48% de los pacientes del grupo tratado con plasma recibió tratamiento concomitante relacionado con el COVID, frente al 46,8% del grupo control.

Los tratamientos más frecuentemente prescritos en ambos grupos fueron tocilizumab y corticosteroides.

Tabla 13. Tratamiento concomitante instaurado tras la aleatorización

N (%)	Plasma (N=179)	Control (N=171)
Total	86 (48,0)	80 (46,8)
Tratamientos de especial interés		
Anakinra	2 (1,1)	3 (1,8)
Anticoagulación	13 (7,3)	9 (5,3)
Baricitinib	1 (0,6)	0 (0,0)
Colchicina	2 (1,1)	0 (0,0)
Corticosteroides	24 (13,4)	20 (11,7)
Immunoglobulinas	0 (0,0)	1 (0,6)
Interferon Beta	0 (0,0)	1 (0,6)
Plasma	1 (0,6)	5 (2,9)
Remdesivir	19 (10,6)	13 (7,6)
Sarilumab	1 (0,6)	0 (0,0)
Tocilizumab	28 (15,6)	23 (13,5)

5.3. ANÁLISIS DE SUBGRUPOS

Los subgrupos analizados fueron:

- Estado serológico de los pacientes en el momento de la inclusión: IgG positiva/negativa
- Edad: < 75 años / ≥ 75 años
- Periodo de inclusión en el estudio: periodo 1: 4 Abril 2020 a 8 Julio 2020/ periodo 2: 7 Septiembre 2020 a 5 Diciembre 2020/ Periodo 3: 10 Diciembre 2020 a 5 Febrero 2021.
- Tiempo desde el inicio de la sintomatología: ≤4 días/ 5-6 días/ ≥ 7 días

Las figuras 18, 19, y 20 muestran los resultados del análisis por subgrupos en relación a la variable principal los días 15, 29 y 60.

A día 29, se encontraron diferencias estadísticamente significativas para los siguientes subgrupos de pacientes: subgrupo de pacientes en la categoría 4 de la escala de la OMS en el momento basal (10,8% en grupo Plasma vs 19,7% en el grupo control), subgrupo de pacientes con IgG negativa basal (10,7% vs 20,6%), subgrupo de pacientes con IgG Plasma ORTHO < 9,5 (4,5% vs 16,9%), subgrupo de pacientes con IgG Plasma Euroimmun < 3,5 (4,4% vs 16,9%) y por último en el subgrupo de pacientes con Ac neutralizantes basales ≤ 80 (3,8% vs 16,9%):

Figura 18. Forest Plot. Análisis de subgrupos. Pacientes hospitalizados con ventilación no invasiva o dispositivos de oxígeno de alto flujo, con ventilación mecánica invasiva o ECMO o muertos (categorías 5, 6 y 7 de la escala ordinal de la OMS de 7 puntos) en el día 15

Odds Ratio no calculada para subgrupos con valor cero. (A) n indica pacientes en las categorías 5-7 (ventilación no invasiva o dispositivos de oxígeno de alto flujo; ventilación mecánica invasiva o ECMO; muerte) en ese momento, mientras que N indica el número total de pacientes en el grupo. (B) Los períodos se establecieron de acuerdo con la información oficial sobre las olas y el reclutamiento real del ensayo. Primer periodo: 4 de abril de 2020 al 9 de julio de 2020; segundo periodo: del 7 de septiembre de 2020 al 5 de diciembre de 2020; tercer periodo: 10 de diciembre de 2020 al 5 de febrero de 2021. (C) Incluye pacientes que recibieron corticosteroides el día de la aleatorización o antes. (D) En cuatro pacientes faltaban valores serológicos, 146 pacientes incluidos. (E) Cuatro pacientes del grupo plasma no recibieron plasma (retirada del consentimiento, plasma no disponible) y solo están disponibles los resultados de 175 unidades de plasma utilizadas.

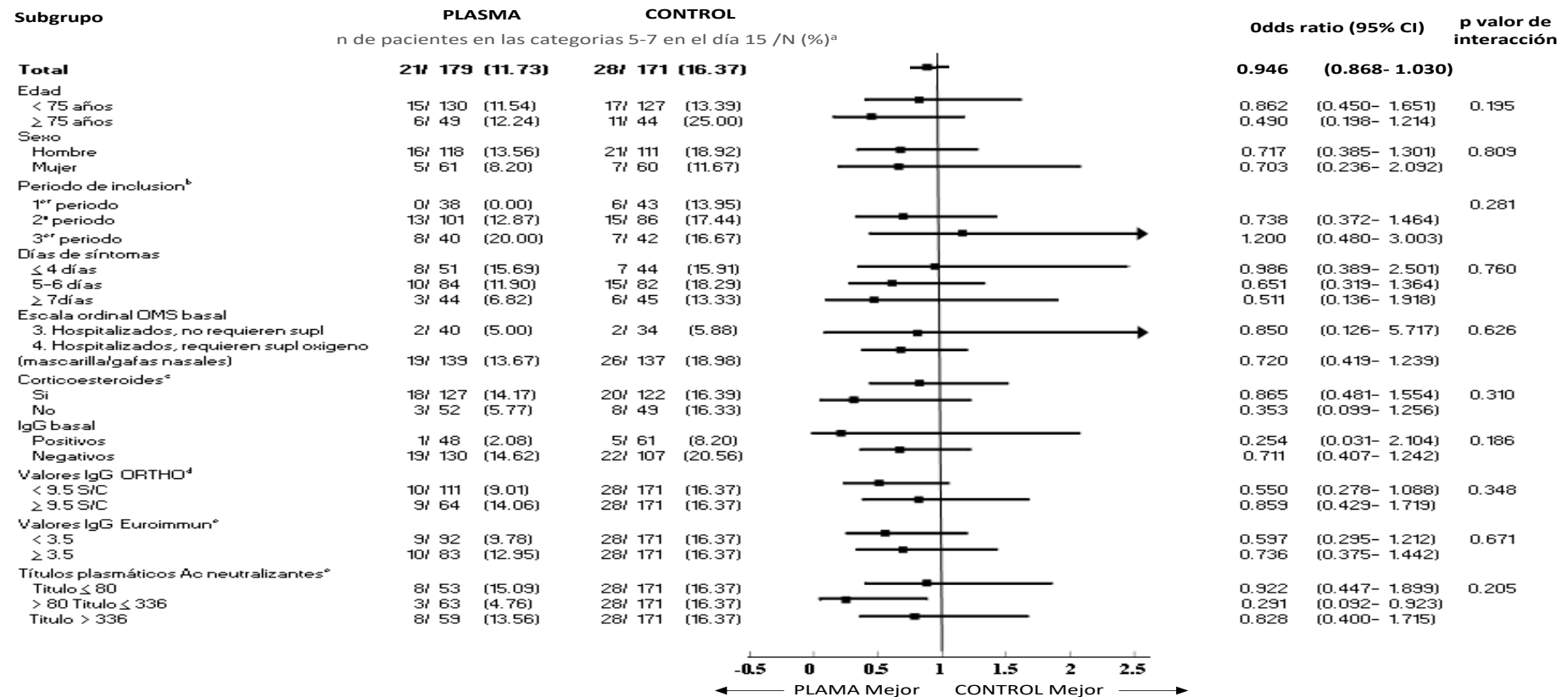


Figura 19. Forest Plot. Análisis de subgrupos. Pacientes hospitalizados con ventilación no invasiva o dispositivos de oxígeno de alto flujo, con ventilación mecánica invasiva o ECMO o muertos (categorías 5, 6 y 7 de la escala ordinal de la OMS de 7 puntos) en el día 29

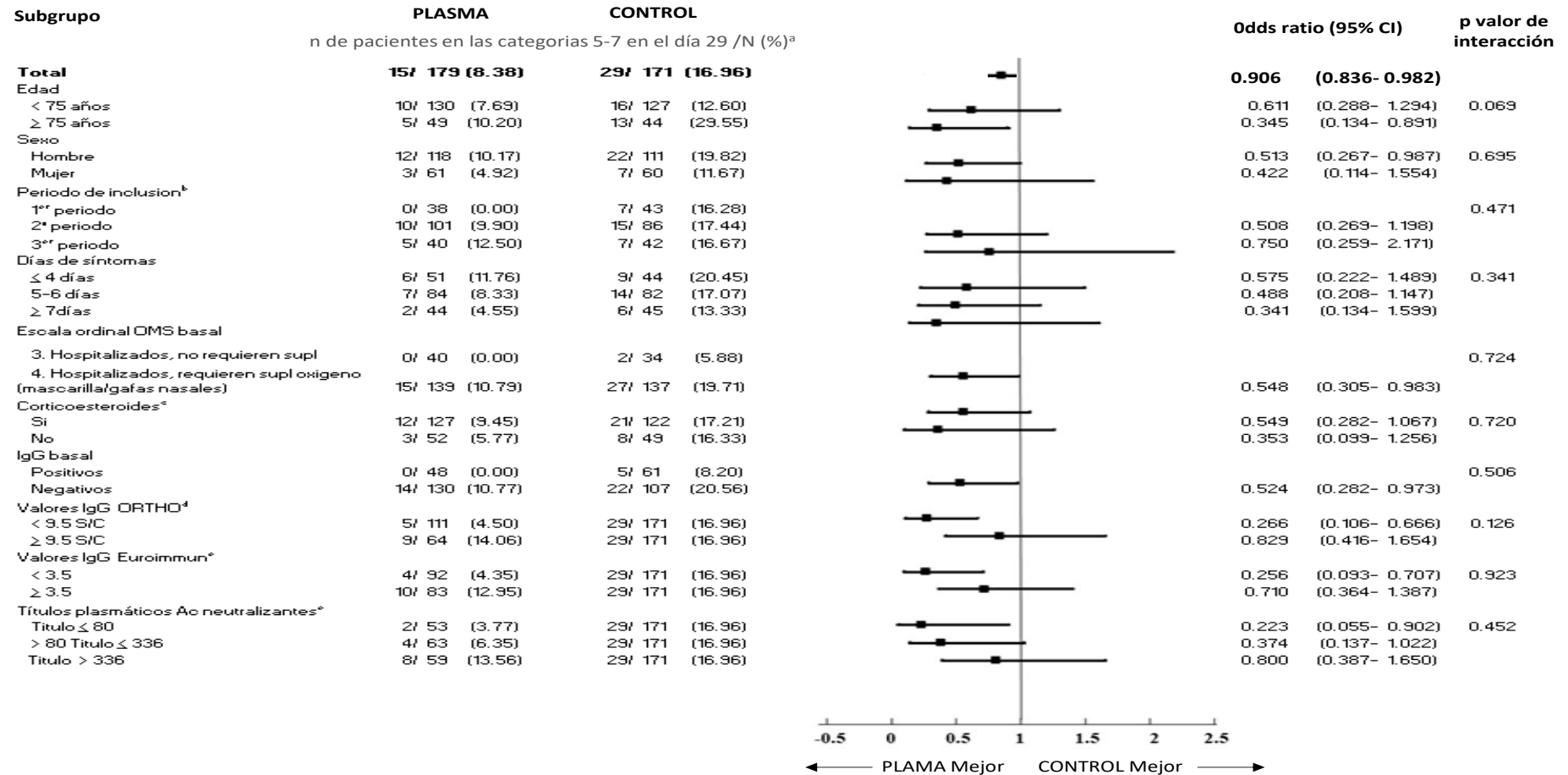
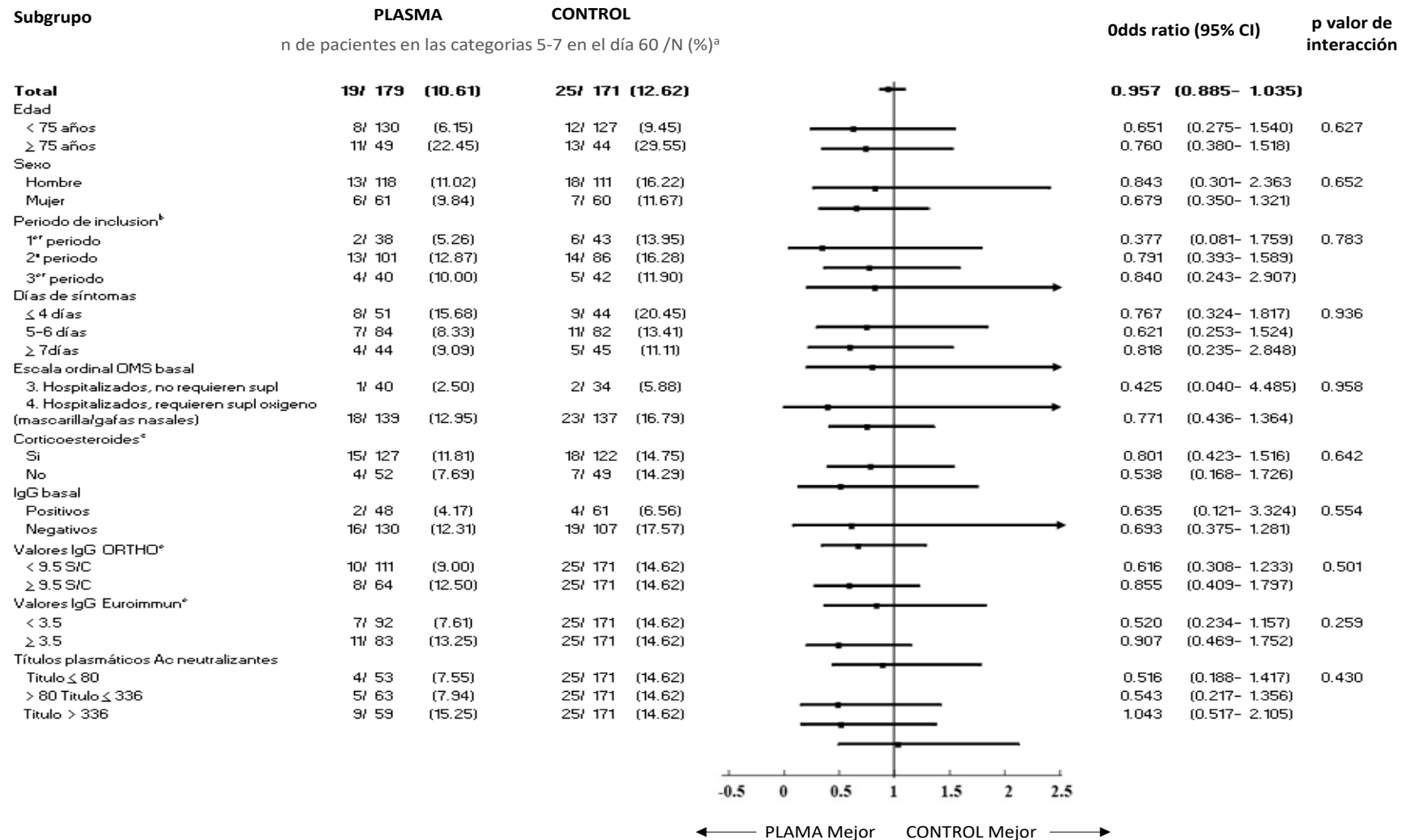


Figura 20. Forest Plot. Análisis de subgrupos. Pacientes hospitalizados con ventilación no invasiva o dispositivos de oxígeno de alto flujo, con ventilación mecánica invasiva o ECMO o muertos (categorías 5, 6 y 7 de la escala ordinal de la OMS de 7 puntos) en el día 60



5.3.1 Análisis de subgrupos: Seroconversión basal

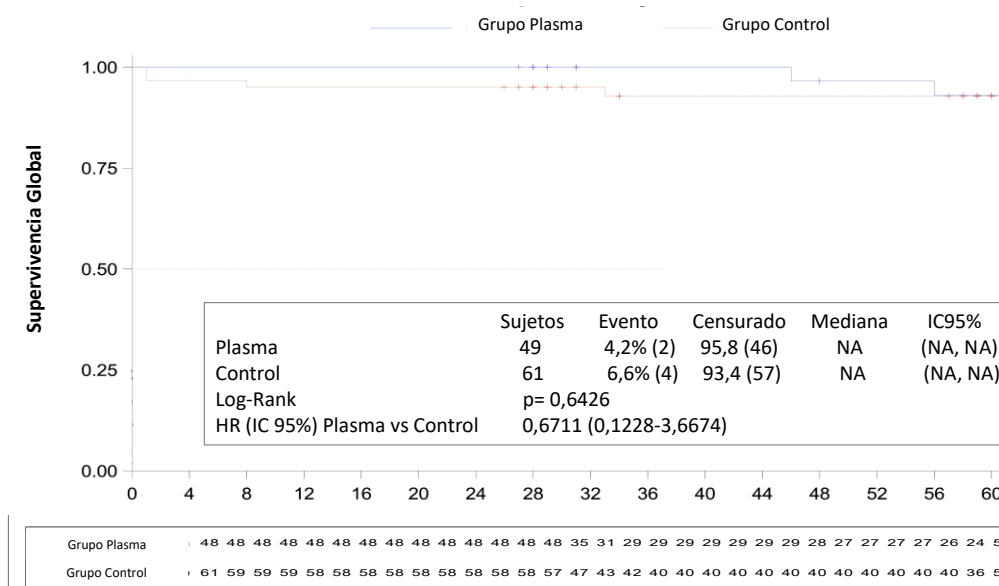
En relación al análisis según el estado serológico basal de los pacientes en el momento de la inclusión, los pacientes con IgG negativa en el momento de la inclusión presentaron diferencias estadísticamente significativas para la variable principal en el día 29 de seguimiento (10,8% para el grupo plasma frente al 20,6% del grupo control, p 0,036). Para el resto de tiempos no se encontraron diferencias estadísticamente significativas para la variable principal, en ninguno de los subgrupos analizados (Tabla 14).

Tabla 14. Subgrupos según IgG Basal. Pacientes hospitalizados con ventilación no invasiva o dispositivos de oxígeno de alto flujo, hospitalizados con ventilación mecánica invasiva o ECMO o muertos (categorías 5, 6 y 7 de la escala ordinal de la OMS de 7 puntos) en el día 15, 29 y 60.

SUBGRUPO DE PACIENTES CON IgG anti-SARS-CoV-2 POSITIVA EN EL MOMENTO DE LA INCLUSIÓN			
N (%)	Plasma (N=48)	Control (N=61)	p
día 15	1 (2,08)	5 (8,20)	Fisher:0,226
día 29	0 (0)	5 (8,20)	Fisher:0,066
día 60	2 (4,17)	4 (4,17)	Fisher:0,693
SUBGRUPO DE PACIENTES CON IgG anti-SARS-CoV-2 NEGATIVA EN EL MOMENTO DE LA INCLUSIÓN			
N (%)	Plasma (N=130)	Control (N=107)	p
día 15	19 (14,62)	22 (20,56)	Chi:0,228
día 29	14 (10,77)	22 (20,56)	Chi:0,037
día 60	16 (12,31)	19 (17,76)	Chi:0,239

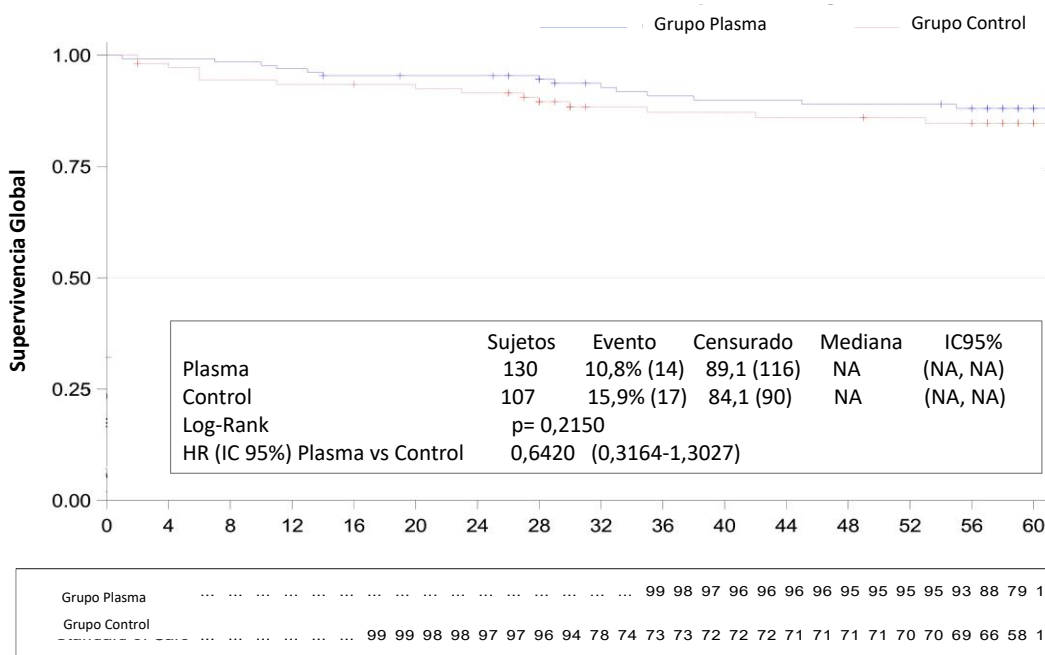
En los pacientes con IgG positiva, la tasa de mortalidad en el grupo que recibió plasma fue del 4,17 % vs el 6,56 % de los pacientes que recibieron tratamiento estándar (p 0,642) (figura 21).

Figura 21. Subgrupo IgG anti-SARS-CoV-2 basal positiva. Supervivencia global



En los pacientes con IgG negativa, la tasa de mortalidad en el grupo de pacientes que recibió plasma fue del 10,8 % vs el 15,9% de los pacientes que recibieron tratamiento estándar (p 0,215) (figura 22).

Figura 22. Subgrupo IgG anti-SARS-CoV-2 basal negativa. Supervivencia global



5.3.2 Análisis de subgrupos: Edad

En relación al análisis de los subgrupos por edad, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas para la variable principal en el día 15, ni en los pacientes menores de 75 años, ni en los mayores de 75 años (Tabla 15).

En el subgrupo de pacientes mayores de 75 años la proporción de pacientes hospitalizados con ventilación no invasiva o dispositivos de oxígeno de alto flujo, hospitalizados con ventilación mecánica invasiva o ECMO o muertos en el día 29 fue significativamente menor en el grupo que recibió plasma, 10,2% frente al grupo control 29,5 %, p 0,018.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el análisis de la variable principal a día 60 para ninguno de los subgrupos de edad analizados.

Tabla 15. Subgrupo por edad. Pacientes hospitalizados con ventilación no invasiva o dispositivos de oxígeno de alto flujo, hospitalizados con ventilación mecánica invasiva o ECMO o muertos (categorías 5, 6 y 7 de la escala ordinal de la OMS de 7 puntos) en el día 15, 29 y 60.

SUBGRUPO DE PACIENTES < 75 años			
N (%)	Plasma (N=130)	Control (N=127)	p
día 15	15 (11,54)	17 (13,39)	Chi:0,654
día 29	10 (7,69)	16 (12,60)	Chi:0,192
día 60	8 (6,15)	12 (9,45)	Chi:0,324
SUBGRUPO DE PACIENTES ≥ 75 años			
N (%)	Plasma (N=49)	Control (N=44)	p
día 15	6 (12,24)	11 (25,00)	Chi:0,112
día 29	5 (10,20)	13 (29,55)	Chi:0,018
día 60	11 (22,45)	13 (29,55)	Chi:0,435

5.3.3 Análisis de subgrupos: Periodo de inclusión

En relación al análisis de los subgrupos según el periodo temporal de la inclusión, se encontraron diferencias estadísticamente significativas para la variable principal a los 15 y 29 días en la primera ola. En este periodo (4 abril a 8 julio 2020) el porcentaje de pacientes en las categorías 5, 6 o 7 de la escala de la OMS en el día 15 y en el día 29 fue significativamente inferior en el grupo de pacientes que recibió plasma (0% vs 13,9% , p 0,0273 en el día 15 y 0% vs 16,3% p 0,0129 en el día 29).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas para la variable principal, en el segundo y tercer periodo analizados (Tabla 16).

Tabla 16. Subgrupo Periodo de inclusión. Pacientes hospitalizados con ventilación no invasiva o dispositivos de oxígeno de alto flujo, hospitalizados con ventilación mecánica invasiva o ECMO o muertos (categorías 5, 6 y 7 de la escala ordinal de la OMS de 7 puntos) en el día 15, 29 y 60.

SUBGRUPO DE PACIENTES INCLUIDOS EN EL PERIODO 1 (4 Abril a 8 Julio 2020)			
N (%)	Plasma (N=38)	Control (N=43)	p
día 15	0 (0)	6 (13,95)	Fisher:0,027
día 29	0 (0)	7 (16,28)	Fisher:0,013
día 60	2 (5,26)	6 (13,95)	Fisher:0,272
SUBGRUPO DE PACIENTES INCLUIDOS EN EL PERIODO 2 (7 Septiembre a 5 Diciembre 2020)			
N (%)	Plasma (N=101)	Control (N=86)	p
día 15	13 (12,87)	15 (17,44)	Chi:0,383
día 29	10 (9,9)	15 (17,40)	Chi:0,130
día 60	13 (12,87)	14 (16,28)	Chi:0,509
SUBGRUPO DE PACIENTES INCLUIDOS EN EL PERIODO 3 10 Diciembre 2020 a 5 Febrero 2021)			
N (%)	Plasma + SOC (N=40)	SOC (N=42)	P
día 15	8 (20,0)	7 (16,67)	Chi:0,696
día 29	5 (12,5)	7 (16,67)	Chi:0,594
día 60	4 (10,0)	5 (11,9)	Fisher:1,000

5.3.4 Análisis de subgrupos: tiempo de síntomas

En relación al análisis de los subgrupos según el tiempo desde el inicio de síntomas hasta el momento de la aleatorización, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas para la variable principal, en ninguno de los grupos analizados (Tabla 17).

Tabla 17. Subgrupo Tiempo de síntomas. Pacientes hospitalizados con ventilación no invasiva o dispositivos de oxígeno de alto flujo, hospitalizados con ventilación mecánica invasiva o ECMO o muertos (categorías 5, 6 y 7 de la escala ordinal de la OMS de 7 puntos) en el día 15, 29 y 60.

SUBGRUPO DE PACIENTES CON TIEMPO DESDE INICIO DE SÍNTOMAS ≤4 DÍAS			
N (%)	Plasma (N=51)	Control (N=44)	p
día 15	8 (15,69)	7 (15,91)	Chi:0,976
día 29	6 (11,76)	9 (20,45)	Chi:0,247
día 60	8 (15,69)	9 (20,45)	Chi:0,544
SUBGRUPO DE PACIENTES CON TIEMPO DESDE INICIO DE SÍNTOMAS 5-6 DÍAS			
N (%)	Plasma (N=84)	Control (N=82)	p
día 15	10 (11,90)	15 (18,29)	Chi:0,250
día 29	7 (8,33)	14 (17,07)	Chi:0,090
día 60	7 (8,33)	11 (13,41)	Chi:0,292
SUBGRUPO DE PACIENTES CON TIEMPO DESDE INICIO DE SÍNTOMAS ≥ 7 DÍAS			
N (%)	Plasma (N=44)	Control (N=45)	p
día 15	3 (6,82)	6 (13,33)	Fisher:0,484

día 29	2 (4,55)	6 (13,33)	Fisher:0,266
día 60	4/(9,09)	5 (11,11)	Fisher:1,000

5.3.5 Análisis de subgrupos: Títulos de anticuerpos COVID-19 en el PC de donantes

Se llevo a cabo el análisis de la variable principal a día 15, 29 y 60, considerando los títulos de IgG en el plasma infundido. Los anticuerpos del plasma de convalecientes se determinaron a través de diferentes técnicas analíticas.

Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 18

Tabla 18. Análisis del impacto de los títulos de anticuerpos COVID-19 en el PC de donantes. Pacientes hospitalizados con ventilación no invasiva o dispositivos de oxígeno de alto flujo, con ventilación mecánica invasiva o ECMO o muertos (categorías 5, 6 y 7 de la escala ordinal de la OMS de 7 puntos) en el día 15, 29 y 60.

Día 15							
	Plasma (N=179)			Control (N=171)			
IgG Plasma ORTHO	n	N	%	n	N	%	p
< 9.5 S/C	10	111	9,01	28	171	16,37	0,0768
≥ 9.5 S/C	9	64	14,06	28	171	16,37	0,6649
IgG Plasma Euroimmun	n	N	%	n	N	%	p
< 3.5	9	92	9,78	28	171	16,37	0,1426
≥ 3.5	10	83	12,05	28	171	16,73	0,3646
Ac neutralizantes	n	N	%	n	N	%	p
≤ 80	8	53	15,09	28	171	16,37	0,8246
> 80 / ≤ 336	3	63	4,76	28	171	16,37	0,0201
> 336	8	59	13,56	28	171	16,37	0,6079
Día 29							
	Plasma (N=179)			Control (N=171)			
IgG Plasma ORTHO	n	N	%	n	N	%	p
< 9.5 S/C	5	111	4,50	29	171	16,96	0,0017
≥ 9.5 S/C	9	64	14,06	29	171	16,96	0,5913
IgG Plasma Euroimmun	n	N	%	n	N	%	p
< 3.5	4	92	4,35	29	171	16,96	0,032
≥ 3.5	10	83	12,05	29	171	16,96	0,3086
Ac neutralizantes	n	N	%	n	N	%	p
≤ 80	2	53	3,77	29	171	16,96	0,0151
> 80 / ≤ 336	4	63	6,35	29	171	16,96	0,0386
> 336	8	59	13,56	29	171	16,96	0,5400
Día 60							
	Plasma + SOC (N=179)			SOC (N=171)			
IgG Plasma ORTHO	n	N	%	n	N	%	p
< 9.5 S/C	10	111	9,01	25	171	14,62	0,1627
≥ 9.5 S/C	8	64	12,50	25	171	14,62	0,6771
IgG Plasma Euroimmun	n	N	%	n	N	%	p
< 3.5	7	92	7,61	25	171	14,62	0,0972
≥ 3.5	11	83	13,25	25	171	14,62	0,7696

Ac neutralizantes							
≤ 80	4	53	7,55	25	171	14,62	0.1802
> 80 / ≤ 336	5	63	7,94	25	171	14,62	0,1750
> 336	9	59	15,25	25	171	14,62	0,9058

5.4. EVALUACIÓN DE LA SEGURIDAD

Se notificaron 34 EA graves (grado 3-4) en 31 pacientes, 15 en el grupo plasma y 16 en el grupo control (Tabla 19).

Los investigadores consideraron que ninguno de ellos estaba relacionado con el tratamiento del estudio, sino debido a su enfermedad subyacente o complicaciones relacionadas.

Tabla 19. Eventos adversos graves (grado 3-4)

Clasificación de órganos del sistema MedDRA	Término preferido	Plasma (N=179) N (%)	Control (N=172) N (%)
Pacientes con al menos un evento adverso grado 3-4.		15 (8,38)	16 (9,30)
Trastornos cardiacos	Insuficiencia cardiaca	1 (0,56)	0 (0,00)
	Infarto de miocardio	1 (0,56)	0 (0,00)
Trastornos gastrointestinales	Hemorragia digestiva	0 (0,00)	1 (0,58)
Trastornos generales	Pirexia	1 (0,56)	0 (0,00)
Infecciones	Neumonía	2 (01,12)	0 (0,00)
Trastornos del Sistema Nervioso	Infarto cerebral	0 (0,00)	1 (0,58)
	Encefalopatía hipóxica-isquémica	1 (0,56)	0 (0,00)
Trastornos renales	Disfunción renal	0 (0,00)	1 (0,58)
	Síndrome de distrés respiratorio agudo	1 (0,56)	1 (0,58)
Trastornos respiratorios, torácicos y mediastínicos.	Fallo respiratorio	2 (1,12)	5 (2,91)
	Embolismo pulmonar	1 (0,56)	4 (2,33)
	Disnea	0 (0,00)	1 (0,58)
	Estridor	0 (0,00)	1 (0,58)
Trastornos de la piel y del tejido subcutáneo	Rash cutáneo	1 (0,56)	0 (0,00)
Trastornos vasculares	Tromboembolismo	1 (0,56)	0 (0,00)

Con respecto a los eventos trombóticos en 8 pacientes se informó de un evento, 3 del grupo PC y 5 del grupo control. Los eventos notificados con más frecuencia fueron las embolias pulmonares (5 pacientes) (Tabla 20).

Tabla 20. Eventos tromboticos (arteriales y venosos)

N (%)		Plasma (N=179)	Control (N=172)
Eventos tromboticos arteriales	Infarto de miocardio	1 (0.56)	0 (0.00)
	Infarto cerebral	0 (0.0)	1 (0.58)
Eventos tromboticos venosos	Embolismo pulmonar	1 (1.12)	4 (2.33)
	Tromboembolismo	1 (1.12)	0 (0.00)

Se informaron eventos relacionados con la infusión del plasma en 10 pacientes, 5 de ellos fueron un empeoramiento grave de la disnea. Tres de los eventos relacionados con la infusión del plasma se notificaron como sospecha de TRALI (lesión pulmonar aguda relacionada con la transfusión). (tabla 21)

En los tres casos se descartó TRALI tras una evaluación completa, incluyendo anticuerpos anti-HLA y anti-neutrófilos negativos en pacientes y donantes. Todos los pacientes se recuperaron sin secuelas excepto un paciente que murió el día 31 debido a una enfermedad subyacente según la evaluación de causalidad del investigador.

Tabla 21. Descripción de las reacciones infusionales

	N (%)
Fiebre	2 (1.12)
Náusea/vómitos	1 (0.56)
Disnea	5 (2.79)
Reacción alérgica (inmediata)	2 (1.12)
TRALI	0 (0.00)

5.5. EVALUACIÓN DE LA NEGATIVIZACIÓN VIROLÓGICA Y SEROCONVERSIÓN

5.5.1 Análisis de la negativización virológica

Se llevó a cabo la determinación de muestras orofaríngeas y en sangre de acuerdo con los tiempos y procedimientos establecidos en el protocolo.

En relación a la determinación de muestras orofaríngeas existía un gran número de determinaciones no disponibles, motivo por el cuál finalmente los datos no fueron analizados.

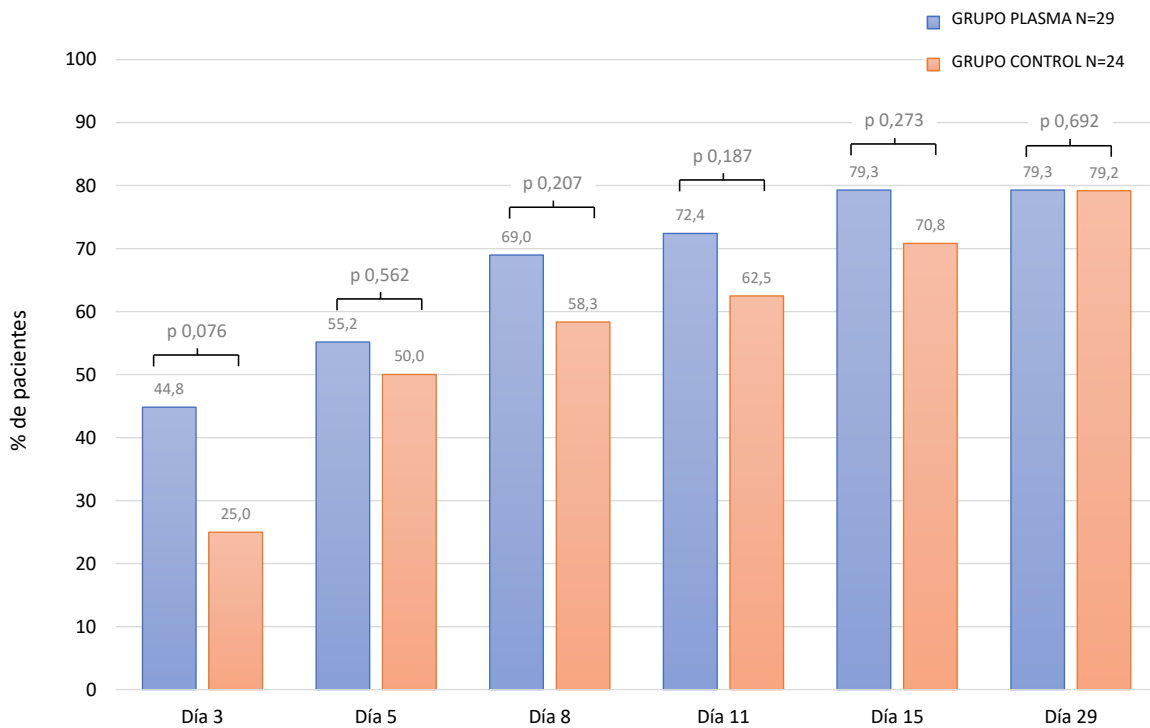
En la tabla 22 se muestran los resultados en relación a la negativización de la PCR en sangre en ambos grupos de tratamiento. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en relación con la negativización del virus entre ambos grupos de tratamiento.

Tabla 22. Negativización de PCR en sangre.

		Plasma (N=179)	Control (N=171)	Valor p
Basal				
NEGATIVO	n (%)	146 (81,56)	141 (82,46)	Fisher: 0,655
POSITIVO	n (%)	29 (16,20)	24 (14,04)	
No disponible	n (%)	4 (2,23)	6 (3,51)	
Día 3				
NEGATIVO	n (%)	118 (65,92)	101 (59,06)	Fisher: 0,179
POSITIVO	n (%)	24 (13,41)	31 (18,13)	
No disponible	n (%)	37 (20,67)	39 (22,81)	
Día 5				
NEGATIVO	n (%)	108 (60,34)	101 (59,06)	Fisher: 0,865
POSITIVO	n (%)	20 (11,17)	20 (11,70)	
No disponible	n (%)	51 (28,49)	50 (29,24)	
Día 8				
NEGATIVO	n (%)	97 (54,19)	68 (39,77)	Fisher: 0,494
POSITIVO	n (%)	11 (6,15)	11 (6,43)	
No disponible	n (%)	71 (39,66)	92 (53,80)	
Día 11				
NEGATIVO	n (%)	60 (33,52)	41 (23,98)	Fisher: 1,000
POSITIVO	n (%)	8 (4,47)	5 (2,92)	
No disponible	n (%)	111 (62,01)	125 (73,10)	
Día 15				
NEGATIVO	n (%)	70 (39,11)	53 (30,99)	Fisher: 0,089
POSITIVO	n (%)	1 (0,56)	5 (2,92)	
No disponible	n (%)	108 (60,34)	113 (66,08)	
Día 29				
NEGATIVO	n (%)	46 (25,70)	34 (19,88)	Fisher: 0,289
POSITIVO	n (%)	3 (1,68)	6 (3,51)	
No disponible	n (%)	130 (72,63)	131 (76,61)	

53 pacientes presentaban PCR positiva en sangre en el momento de la inclusión en el estudio, 29 en el grupo de pacientes tratados con plasma y 24 en el grupo de pacientes control. En la figura 23 se muestra el porcentaje acumulado de pacientes que presentaron negativización de la PCR en sangre a lo largo del seguimiento del estudio. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos de tratamiento en ninguno de los tiempos analizados. La mayor diferencia entre ambos grupos de tratamiento se encontró en el día 3, 44,8% para el grupo plasma frente al 25,0% en el grupo control.

Figura 23. Negativización PCR sangre en pacientes positivos en momento basal (% acumulado)



5.5.2 Análisis de la conversión serológica

Los resultados en relación al título de IgG en cada uno de los tiempos de evaluación para cada uno de los grupos de tratamiento se muestran en la tabla 23.

La media de los títulos de IgG en los diferentes tiempos de muestra fueron similares para ambos grupos de tratamiento.

Los títulos más altos de IgG se encontraron en el día 15 y en el día 29 desde la aleatorización tanto en el grupo de pacientes que había recibido plasma como en el grupo de pacientes con tratamiento estándar.

Tabla 23. Títulos de IgG Anti SARS-CoV-2 (Euroimmun) en sangre durante el periodo de seguimiento

	Plasma (N=179)	Control (N=171)	Valor p
Basal			
n	178	168	
No disponible	1	3	
Media (SD)	1,16 (1,69)	1,73 (2,35)	Wilcoxon: 0,009
Mediana [Q1,Q3]	0,33 [0,20, 1,32]	0,52 [0,23, 2,36]	
Min, Max	0,05, 7,15	0,08, 9,39	
Día 3			
n	58	61	
No disponible	121	110	
Media (SD)	2,96 (2,67)	3,24 (2,58)	Wilcoxon: 0,844
Mediana [Q1,Q3]	1,89 [0,77, 4,66]	3,19 [0,57, 5,30]	
Min, Max	0,28, 9,78	0,07, 10,00	
Día 5			
n	58	67	
No disponible	121	104	
Media (SD)	4,06 (2,92)	4,60 (3,27)	Wilcoxon: 0,689
Mediana [Q1,Q3]	4,37 [1,03, 6,54]	5,35 [0,93, 6,90]	
Min, Max	0,23, 10,36	0,08, 11,83	
Día 8			
n	102	72	
No disponible	77	99	
Media (SD)	5,34 (3,38)	5,68 (3,51)	Wilcoxon: 0,505
Mediana [Q1,Q3]	5,21 [2,39, 7,63]	6,36 [2,55, 8,02]	
Min, Max	0,19, 14,20	0,07, 13,17	
Día 11			
n	45	34	
No disponible	134	137	
Media (SD)	5,49 (2,82)	6,00 (2,32)	Wilcoxon: 0,273
Mediana [Q1,Q3]	5,78 [3,30, 7,37]	6,49 [5,25, 7,71]	
Min, Max	0,26, 11,78	0,07, 9,27	
Día 15			
n	75	58	
No disponible	104	113	
Media (SD)	6,90 (2,89)	7,41 (2,87)	Wilcoxon: 0,287
Mediana [Q1,Q3]	7,20 [5,44, 8,59]	7,49 [6,41, 8,89]	
Min, Max	0,16, 13,60	0,15, 13,80	
Día 29			
n	51	39	
No disponible	128	132	
Media (SD)	6,87 (3,25)	7,44 (3,38)	Wilcoxon: 0,304
Mediana [Q1,Q3]	7,12 [5,33, 8,93]	7,62 [5,65, 9,43]	
Min, Max	0,19, 14,73	0,30, 14,58	

DISCUSIÓN

Nuestro estudio fue un ensayo clínico multicéntrico, aleatorizado, no ciego y controlado en el que se comparó la administración de PC añadido al mejor estándar de tratamiento disponible frente a dicho estándar sin PC, en pacientes hospitalizados debido a neumonía por COVID-19. .

En nuestro ensayo la disminución en el grupo PC de la proporción de pacientes que empeoraban hasta necesitar oxígeno en alto flujo, ventilación no invasiva, ventilación mecánica invasiva o ECMO o fallecimiento no fue estadísticamente significativa en el día 15 (11,7% en PC versus 16,4% en control, $p = 0,20$). Sin embargo, la diferencia fue mayor y alcanzó significación estadística en el día 29 (8,4% pacientes empeoraron en el grupo PC frente a 16,4% en el grupo control, $p=0,02$). En nuestro ensayo, la variable principal se había establecido a las 2 semanas, siguiendo las recomendaciones iniciales para el diseño de ensayos clínicos en COVID-19, pero el resultado obtenido a los 29 días debe considerarse relevante puesto que posteriormente se ha establecido que cuatro semanas es el momento más adecuado para evaluar la eficacia del tratamiento y capturar el efecto en mortalidad (121). Así, la mayoría de los ensayos clínicos han utilizado el resultado a las cuatro semanas como variable principal (99, 101, 103-105, 107, 109). En cualquier caso, nuestro resultado positivo a las 4 semanas debe interpretarse con cautela, debido a que no era la variable predefinida como principal y también porque al día 60, la diferencia no mantiene en nuestro estudio la significación estadística.

Las mortalidad en el día 15 fue del 3,4% en el grupo de PC y del 5,9% en el grupo control (RR 0,58; IC 95% 0,22-1,56; $p 0,28$) y de nuevo la diferencia fue algo mayor en el día 29, con una mortalidad en el grupo de PC del 3,9% frente a un 8,2% en el grupo control (RR 0,49; IC 95% 0,20-1,17; $p 0,11$). Dichas diferencias no alcanzaron sin embargo significación estadística ni tampoco se alcanzó significación estadística en el análisis global de la supervivencia. Cabe destacar que nuestro ensayo tenía un poder estadístico insuficiente para demostrar diferencias en supervivencia que pudieran ser relevantes.

Nuestros resultados están en la misma línea que los obtenidos en el conjunto de los ensayos clínicos con PC en COVID-19 (99-108, 122) que no han demostrado beneficio del PC en el tratamiento de pacientes hospitalizados por COVID-19 de forma consistente en la población global. Sin embargo, tal como analizaremos a continuación, es necesario examinar con detalle el efecto del plasma según las características diferenciales de los pacientes incluidos en los distintos estudios realizados, que han sido heterogéneos. Es posible que la precisión en identificar la población que puede mejorar con PC así como otros factores relacionados con el diseño del estudio o las características del plasma administrado sean determinantes para poder aclarar si el PC es o no eficaz en algún momento de la COVID-19. En ese sentido, no necesariamente los ensayos con un número muy elevado de pacientes son los más adecuados para resolver la cuestión si no son capaces de caracterizar adecuadamente a los pacientes y de responder a una hipótesis de eficacia anclada en el conocimiento del medicamento y de la enfermedad. Por ello que se han cuestionado las conclusiones sobre la ineficacia del PC basadas en metaanálisis de ensayos en pacientes heterogéneos (117).

Posible influencia del momento de la enfermedad en el que se administra el PC

Un aspecto importante a evaluar es el que se refiere al momento adecuado para la administración de PC. La justificación para administrar PC lo antes posible en el curso de la COVID-19 se deriva del propio mecanismo de acción y de la patogenia de la enfermedad, puesto que la inmunoterapia pasiva busca un efecto antivírico inmediato que frene la replicación viral y el efecto patogénico del virus en los tejidos. El beneficio de la inmunoterapia pasiva es menos probable cuando se administra en pacientes que ya han desarrollado su propia respuesta inmune o están ya en fases de la enfermedad en la que predominan las consecuencias de una inflamación y daño tisular ya ocurridos. Adicionalmente, la propia teoría de neutralización indica que cuanto mayor sea el número de viriones activos replicado en el cuerpo, mayor será la dosis de anticuerpos neutralizantes necesaria para la neutralización (123).

Nuestra hipótesis fue desde un primer momento que el PC beneficiaría a los pacientes en una etapa temprana del curso de la enfermedad y no a aquellos en estadios más avanzados o en críticos. Posteriormente, tras varios ensayos publicados con resultados negativos se insistió en esta hipótesis, barajando la administración tardía del PC a como un factor explicativo de la ausencia de beneficio (97, 101, 102, 110). Sin embargo, el diseño de los ensayos para identificar correctamente los pacientes en etapas tempranas ha sido un reto en esta enfermedad y se ha recurrido con éxito variable a parámetros como tiempo desde el inicio de los síntomas, desde el diagnóstico molecular, desde el ingreso, la gravedad en el momento del ingreso o, más recientemente, al estado serológico del paciente.

En nuestro caso se fijó inicialmente una población de pacientes en sus primeros 10 días de síntomas y menos de tres días de ingreso en el hospital, pero enseguida se realizó una primera enmienda para ampliar el periodo de síntomas a 12 días, debido a que un número sustancial de pacientes ingresaban precisamente alrededor de los 10 días de sintomatología y a la evidencia de series de casos que informaban de ausencia de riesgo por la administración de PC en pacientes con mayor evolución de la enfermedad. La segunda enmienda se realizó al finalizar la inclusión de los pacientes de la primera ola pandémica, reduciendo el periodo a un máximo de 7 días de síntomas, con el objetivo de disminuir la proporción de pacientes ya seroconvertidos en el momento de la inclusión. Esta decisión se tomó a la vista de los datos que se iban publicando sobre el porcentaje de pacientes seroconvertidos a partir de una semana de evolución y de nuestro propio porcentaje de seroconvertidos en el primer análisis intermedio. Los días de síntomas constituyen posiblemente una medida inexacta de la duración real de la enfermedad, dado que el inicio de los síntomas es subjetivo y a menudo los primeros síntomas pasan desapercibidos. Además, un menor número de días transcurridos entre el inicio de la enfermedad y la atención hospitalaria también se podría relacionar con un deterioro rápidamente progresivo y un peor pronóstico, en lugar de con un momento más precoz de la enfermedad. En esta línea, nuestro estudio no encuentra relación entre una menor duración de los síntomas informados por el paciente y la eficacia del PC y lo mismo sucede en los metaanálisis que han analizado este factor (124). Este hallazgo es muy relevante, porque a pesar de estos datos, los días de síntomas siguen siendo un parámetro utilizado en el diseño de los ensayos clínicos de antivíricos e inmunoterapia pasiva y se han incorporado también en las indicaciones establecidas para el tratamiento con algunos anticuerpos monoclonales, determinando por tanto una selección de pacientes a tratar que podría no ser la óptima.

Los días transcurridos desde el ingreso es otro parámetro que también se podría utilizar para establecer el uso precoz del PC. Algunos metaanálisis (125) y grandes estudios observacionales (111) encuentran un efecto reductor de la mortalidad con el uso precoz de PC tras el ingreso (en los primeros tres días) y no con el uso tardío. Nuestro estudio no permite analizar este factor puesto que, de acuerdo con nuestra hipótesis, todos los pacientes se trataron en su primer día de ingreso.

La gravedad podría ser también un factor para identificar a los pacientes candidatos a uso precoz de PC. De nuevo en varios de los ensayos negativos, se ha argumentado la mayor gravedad de los pacientes como un factor determinante para la falta de efecto del PC (97, 99, 101, 102). Por ejemplo, el ensayo RECOVERY incluyó pacientes más graves que los de nuestro, puesto que su tasa de mortalidad es muy elevada, un 24% a los 28 días (101), frente a una mortalidad global en nuestra serie del 6% a los 28 días.

Nuestro estudio no permite explorar diferencias según gravedad, pero nuestros datos se han incluido en un metaanálisis que ha explorado este factor (124) y sugiere un mayor efecto del PC en los pacientes menos graves en el momento del tratamiento. Este hallazgo coincide con los resultados del primer ensayo clínico con resultados positivos para el PC, que demostró disminución del desarrollo de enfermedad respiratoria grave del 31% al 16% en pacientes

tratados dentro de las 72 horas posteriores al inicio de los síntomas por Covid-19 leve (109). Así, la línea de desarrollo más reciente para la inmunoterapia pasiva (PC y anticuerpos monoclonales) es su posible indicación en pacientes ambulatorios recién diagnosticados, con enfermedad leve pero con riesgo de desarrollo de enfermedad grave (58-60).

Estado inmunitario del paciente

Un parámetro con mayor potencial de predicción de la población candidata a PC y un fundamento biológico directo es la determinación de laboratorio de la conversión serológica frente al SARS-CoV-2 en los pacientes. Varios de los ensayos negativos tenían un porcentaje de pacientes con títulos basales de anticuerpos anti SARS-CoV-2 superiores al 30% (101) ya en el momento de recibir el PC, o incluso superiores al 50% (99, 102, 106, 107, 110), mientras que en otros ensayos y metaanálisis no se informa de este dato (103, 105, 122, 124). En nuestro ensayo, el beneficio del plasma se mostró de manera más consistente en el subgrupo de pacientes seronegativos, con una reducción significativa del porcentaje de pacientes con empeoramiento a los 28 días (10,8 % frente a 20,6 %; $P = 0,037$), y 14,6 % frente a 20,6 % a los 14 días. días ($P = 0,23$). El subgrupo de pacientes seropositivos, presentó un número menor de pacientes y un número muy bajo de eventos, lo que resulta en un IC muy amplio y nos impide concluir sobre los diferentes efectos del PC según el estado serológico. Los resultados a días 15 y 60 son coherentes con lo expresado para día 29 pero sin alcanzar significación estadística. Varios estudios observacionales indican el valor particular de la terapia con plasma para COVID-19 en pacientes inmunodeprimidos, sugiriendo que en ellos tendría un efecto positivo en la mejora de la supervivencia global (126, 127). Cabe destacar además, que un retraso en el desarrollo de anticuerpos contra el SARS-CoV-2 es un factor conocido de mal pronóstico (100) y, en efecto, nuestros resultados en pacientes sin seroconversión muestran una mayor proporción de pacientes que evolucionan a las categorías 5,6,7 de la escala ordinal de la OMS de 7 puntos (17.3% y 15.2% pacientes en los días 15 y 29) en comparación con aquellos que ya habían desarrollado su propia respuesta inmune en el momento de la inclusión (5.5% y 4,6% los días 15 y 29). Esto es relevante porque indica que el PC conseguiría mayor efecto en la población con peor pronóstico, contribuyendo a aumentar la magnitud del beneficio del PC e identificando un subgrupo de pacientes muy interesante para el eventual uso de la inmunoterapia pasiva. De hecho, esta subpoblación está siendo objeto de investigación y desarrollo con los anticuerpos monoclonales comerciales y ya se contempla en algunos protocolos de tratamiento con anticuerpos.

Edad de los pacientes

La edad de los pacientes es otro factor a considerar. El primer ensayo clínico positivo publicado mostró que el PC disminuyó el desarrollo de enfermedad respiratoria grave del 31% al 16% en pacientes de edad avanzada (edad media 77 años) tratados dentro de las 72 horas posteriores al inicio de los síntomas por Covid-19 leve (109). Nuestro ensayo incluyó pacientes más jóvenes, con una mediana de edad de 62 años, un valor muy similar al de los otros ensayos con PC publicados, y mostró un efecto beneficioso más consistente en pacientes mayores que en los más jóvenes ($P = 0,069$ para el efecto de la edad). En pacientes de 75 años o más, la progresión de la enfermedad a ventilación no invasiva u oxígeno de alto flujo, ventilación mecánica invasiva o ECMO, o la muerte a los 28 días fue del 10,2 % en el grupo PC frente al 29,6 % en el grupo control ($p = 0,018$) y 12,24% en el grupo PC y 25% en el grupo control a los 14 días ($p = 0,112$).

Características del plasma convaleciente

Se ha sugerido que el PC necesita altos títulos de anticuerpos neutralizantes para ser eficaz (98). Los ensayos publicados tienen una heterogeneidad considerable en la caracterización de los títulos de anticuerpos en el PC, tanto en los métodos como en los resultados. Algunos incluso han utilizado PC sin anticuerpos contra el SARS-CoV-2 en un tercio de los casos y títulos muy

bajos en los dos tercios restantes (mediana 1:40, IQR 1: 30- 1:80) como en el caso de Agarwal et al (100).

En el momento del diseño de nuestro ensayo, no era posible tener resultados de títulos de anticuerpos neutralizantes en tiempo real para usarlos para seleccionar unidades de plasma. La correlación entre las pruebas semicuantitativas disponibles para anti-SARS IgG y el título de anticuerpos neutralizantes funcionales y los puntos de corte aceptados, aún no estaban claros. Se decidió usar plasma con demostración de presencia de anticuerpos IgG anti-S, pero con un amplio espectro de títulos, entendiendo además que esta aproximación era la más ajustada a las futuras necesidades pandémicas, con PC recolectado cercano al momento de su uso y la falta de disponibilidad de test específicos de anticuerpos neutralizantes. El resultado es un diseño más pragmático destinado a demostrar la eficacia de la PC en el mundo real.

En nuestro estudio se garantizó el uso de PC con anticuerpos específicos, pero no un título alto de anticuerpos neutralizantes. Solo un tercio de los pacientes (36,6%) recibieron plasma con altos títulos de anticuerpos, según el punto de corte establecido posteriormente por agencias reguladoras (92) (ORTHO anti-SARS-CoV-2 IgG \geq 9,5) o títulos de anticuerpos neutralizantes superiores a 336 (33,7%). El análisis de subgrupos según títulos de anticuerpos en el PC administrado no mostró un mayor beneficio con el uso de PC de alto título. El tamaño de muestra limitado de nuestro estudio no nos permite extraer conclusiones robustas a partir de estos resultados, que no coinciden con lo esperado ni con lo indicado previamente por algunos estudios observacionales (98, 111). En cualquier caso, sí se puede concluir que la dosis de anticuerpos neutralizantes administrados en nuestro estudio fue relativamente baja, si tenemos en cuenta que se administró una única dosis de 250-300 ml de plasma con unos títulos no muy elevados. En comparación, la administración de los anticuerpos monoclonales comerciales aporta una dosis de anticuerpos neutralizantes mucho mayor.

Otra característica del PC que puede afectar a su eficacia es la correspondencia entre los anticuerpos anti-SARS-CoV-2 en el plasma del donante y la variante del virus en el paciente. Se ha postulado que para asegurar la actividad neutralizante del PC contra la variante del virus circulante, el PC para uso en pandemias debería obtenerse de fuentes locales y a tiempo real.

Un análisis realizado de las potenciales variables asociadas con la eficacia del PC relacionó el abastecimiento de plasma local con una mortalidad reducida, de forma que el efecto en la disminución de la mortalidad caía de forma drástica cuando la fuente de plasma estaba a más de 240 Km (150 millas) de donde se utilizó (125), indicando que las variantes de SARS-CoV-2 en algunas ubicaciones geográficas podrían generar respuestas de anticuerpos que fueran menos eficaces contra otras variantes en diferentes ubicaciones (128, 129).

El PC utilizado en nuestro estudio fue de origen local y se obtuvo principalmente de pacientes infectados durante la primera ola. Los pacientes se incluyeron en el periodo transcurrido entre el 4 Abril de 2020 y el 5 Febrero de 2021. En este sentido un análisis muy interesante que permite nuestro estudio es la evaluación de la eficacia del PC obtenido en la primera ola y utilizado en las sucesivas olas pandémicas. Los datos muestran una tendencia a un mayor beneficio del PC en la primera ola y una disminución en las olas segunda y tercera. Existe la posibilidad de que la explicación sea que el PC obtenido en la primera ola tuviera un potencial neutralizante reducido en oleadas posteriores de COVID-19 causadas por otras variantes del SARS-CoV-2. Sin embargo, al final del ensayo (tercera ola), la cepa dominante en la mayoría de las regiones de España era la variante B.1.1.7 y algunos estudios de laboratorio han demostrado una retención aceptable de la actividad neutralizante del PC frente a esta variante (130). Una explicación alternativa para la tendencia hacia un efecto decreciente del plasma en períodos sucesivos de la pandemia podría estar relacionada con la creciente calidad de la atención médica de COVID-19, debida al mejor conocimiento de la enfermedad. Así, en nuestro ensayo, se aprecia un incremento del uso de corticosteroides a lo largo de las tres olas junto con una desaparición del uso de los

medicamentos antivíricos iniciales, que se han acabado demostrando ineficaces y que podrían incluso haber generado yatrogenia.

Teniendo en cuenta estas consideraciones sobre las características del PC, algunos autores han sugerido ciertas recomendaciones para evitar su infradosificación (131). Algunas de éstas son que el uso de PC sea de dos donantes diferentes, que se utilice únicamente plasma con la certeza de que neutraliza la variante con la que está infectado el paciente, que se utilicen 2 unidades de plasma convaleciente con un título de NAb $\geq 1/1250$ y, en caso de que se disponga de una sola unidad de plasma, se recomienda un título de NAb $\geq 1/2500$. También que se use una prueba de anticuerpos que tenga buena correlación con la neutralización del virus. El uso de donantes poco después de una tercera vacunación con ARNm puede simplificar el proceso de selección de donantes. Asimismo, de cara al futuro, es interesante señalar que los vacunados convalecientes pueden tener títulos de anticuerpos neutralizantes aún más altos que los no vacunados convalecientes (132), y más eficaces para las variantes del virus más recientes (133).

Seguridad del plasma convaleciente

En relación a la seguridad, no se han detectado eventos adversos graves relacionados con la administración de plasma, que siguen la línea de lo reportado en ensayos clínicos similares. Se notificaron 34 EA graves o grado 3-4 en 31 pacientes, 15 en el grupo PC y 16 en el grupo control. Los investigadores consideraron que ninguno de ellos estaba relacionado con el tratamiento del estudio, sino debido a su enfermedad subyacente o complicaciones relacionadas con la misma. En particular, y puesto que se instruyó activamente a los investigadores para estar especialmente alerta ante las sospechas de determinados eventos de especial interés (TRALI, TACO, sospechas de empeoramiento de la enfermedad relacionado con la transfusión) consideramos que la ausencia de casos identificados es un dato robusto sobre la seguridad del PC en este ensayo.

Otras aportaciones del ensayo

Nuestro estudio aporta también información de gran interés sobre algunos aspectos de la organización de la investigación clínica en España. Nuestro ensayo se diseñó, financió y puso en marcha en un tiempo récord, si se tiene en cuenta que el primer paciente se trató el 4 de abril de 2020. Para ello, además del papel relevante del equipo de Hematología y Banco de Sangre, fue imprescindible el esfuerzo personal de los médicos de Enfermedades Infecciosas que creyeron en la necesidad de realizar un ensayo clínico controlado y se implicaron en ello al tiempo que estaban sometidos a una notable presión asistencial. Se pudo llevar a cabo gracias al funcionamiento consolidado de una estructura de ensayos clínicos en el Servicio de Farmacología Clínica y la existencia de la Plataforma de apoyo a la investigación clínica (SCReN) financiada por el Instituto de Salud Carlos III. También fue crucial la financiación específica del ISCIII para COVID-19 que permitió subcontratar determinadas tareas (por ejemplo el transporte de muestras o el cuaderno electrónico de recogida de datos). A pesar de ello, el ensayo reclutó a sus 350 participantes con mayor dificultad de la esperada y se alargó más de lo debido, al competir el reclutamiento en nuestro ensayo con programas de uso de PC fuera de ensayo auspiciados por algunos Centros de Transfusión e incluso con otras iniciativas de ensayos de ámbito más local. Sin embargo, no se han publicado hasta ahora resultados españoles ni de esos programas de uso ni de otros ensayos españoles en pacientes hospitalizados. Por ello, creemos que este estudio pone de manifiesto que en nuestro país es necesario potenciar la organización de la investigación clínica colaborativa a nivel del SNS, con estructuras estables de apoyo a los ensayos clínicos. Esto podría facilitar, ante nuevos retos o crisis sanitarias, la realización de ensayos clínicos imbricados en la asistencia, de ámbito nacional, con el tamaño muestral suficiente, que generan información de mayor valor científico y en un tiempo mucho menor que los estudios observacionales o los pequeños ensayos clínicos dispersos en el territorio nacional. De hecho, en todo el mundo, mientras algunos investigadores luchaban por llevar a

buen puerto una docena de ensayos clínicos controlados y bien diseñados, muchos miles de pacientes fueron tratados en programas de acceso abierto. Según la evidencia disponible ahora, muchos de estos pacientes no se beneficiaron del tratamiento con PC. Debemos reflexionar sobre el hecho de que solo con que un pequeño porcentaje de estos pacientes se hubieran incluido en los ensayos clínicos controlados y organizados en el primer mes de la pandemia, la evidencia científica necesaria se hubiera recopilado y generado mucho antes.

Por otro lado, la realización de este estudio también nos ha permitido participar en nuevas iniciativas internacionales de gran interés para compartir datos de forma eficiente a nivel global. Sin duda la pandemia supuso un impulso muy importante a la colaboración internacional de los grupos de investigación y, en el campo específico de los ensayos con PC, rápidamente surgieron iniciativas para agrupar los datos de los diferentes estudios y averiguar si había evidencia de la efectividad del PC en grupos específicos de pacientes, con el fin de orientar los ensayos dirigidos a la población correcta de pacientes con COVID-19 y determinar las características del PC que debía de utilizarse.

Una iniciativa muy interesante en este sentido fue un metaanálisis con datos de pacientes individuales que ha sido publicado recientemente (124), que surgió de la agrupación de los datos individuales de los pacientes de 8 ensayos clínicos de plasma seleccionados por tener un diseño similar y criterios de calidad demostrable en su realización, y en el que pudimos participar aportando los datos de nuestro estudio (134). El aspecto más notable de este estudio, con financiación pública de los NIH de los EE.UU, fue que se diseñó para ir agrupando y analizando los datos de pacientes individuales a tiempo real y realizando análisis seriados de los resultados hasta que la evidencia acumulada permitiera establecer conclusiones con respecto a los resultados clínicos asociados con PC o hasta su finalización. Se incluyeron 2.369 pacientes, que no demostraron beneficio en la administración de plasma en la población global incluida aunque identificaron algunos factores predictores de eficacia (PARK), estando todavía pendientes los análisis de otros factores como los títulos de anticuerpos en el plasma administrado o el estado de seroconversión basal en los pacientes. Pero lo que sí ha demostrado este estudio es que la recopilación global de datos de pacientes individuales en tiempo real durante una pandemia es factible, que los grupos investigadores están dispuestos a compartir los datos en paralelo al desarrollo de su propio estudio y que es un modelo que permite proporcionar información muy valiosa y que puede ser útil en futuras investigaciones.

Limitaciones

Nuestro estudio tiene algunas limitaciones. No es ciego en su desarrollo, pero, sin embargo, mantuvo estrictamente el carácter ciego de la asignación aleatoria, gracias a las garantías de un sistema de asignación centralizada a través del cuaderno electrónico de recogida de datos y solo después de que se registraran los datos iniciales completos de los pacientes incluidos. Después de la aleatorización, el seguimiento de los pacientes no fue ciego, pero se minimizó el sesgo potencial de tratar a los pacientes de forma diferente porque durante la pandemia los pacientes se sometían a decisiones médicas estándar bien establecidas, siguiendo los protocolos aplicados en todos los centros participantes. De hecho, no se observaron diferencias evidentes entre los grupos en el tratamiento recibido durante el ensayo, ya sea en tratamientos generales o en tratamientos específicos que podrían considerarse terapias de rescate, como corticosteroides, anti-IL-6, anti-IL-1 o inhibidores de JAK. Además, los principales resultados se basan en variables objetivas. Otra limitación del estudio es que el tamaño de la muestra no fue suficiente para abordar los análisis de subgrupos o las diferencias en algunas variables secundarias, como la mortalidad general. Finalmente, el título de anticuerpos neutralizantes y el volumen de plasma administrado en nuestro estudio estuvo en el rango bajo, con más de un 50% de los pacientes recibiendo plasma con un título de anticuerpos por debajo del ahora recomendado. Aunque no se detecta relación en nuestro estudio entre el título más elevado de anticuerpos neutralizantes

o de IgG anti-SARS-CoV-2 en el plasma administrado y una mejor respuesta de los pacientes, no puede descartarse que nuestro estudio haya utilizado dosis subóptimas.

Consideraciones finales y propuestas para el futuro

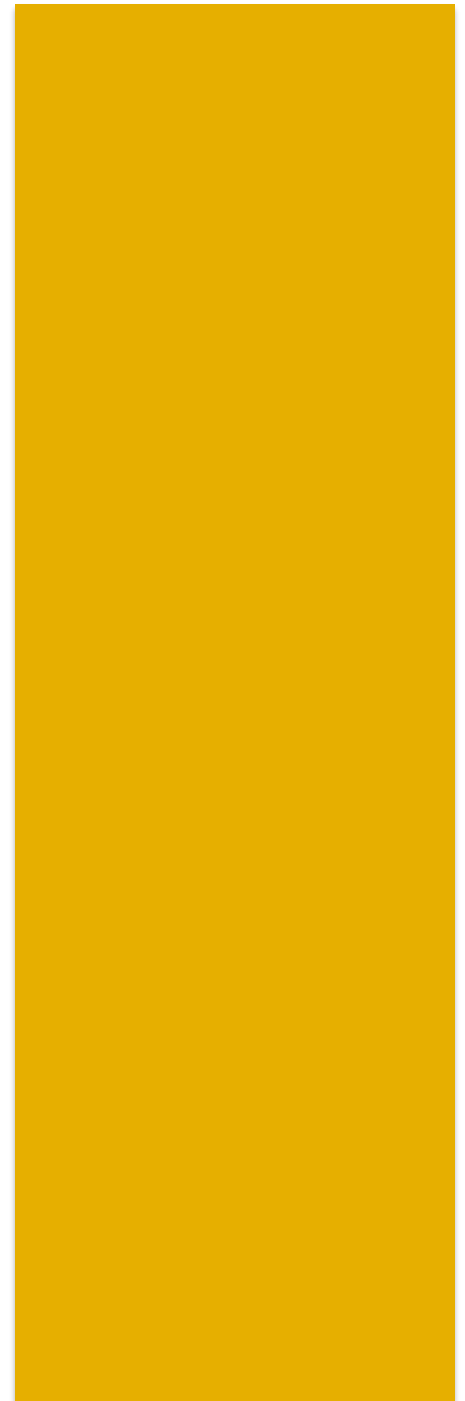
Por tanto, los datos de nuestro estudio no muestran eficacia del plasma convaleciente, de forma general, en los pacientes hospitalizados por COVID-19, sin que pueda descartarse el impacto que en este resultado haya tenido el limitado tamaño de nuestra muestra y la selección de pacientes junto con otros factores como la mejora evolutiva del tratamiento de la enfermedad a lo largo de las distintas oleadas, la aparición de variantes del SARS-Cov-2 o la utilización de dosis insuficientes de plasma. El resto de información actualmente disponible sobre el PC coincidente en la ausencia de demostración de beneficio del PC en la población general hospitalizada por COVID-19, sin que pueda obviarse el posible impacto de la unión que se ha realizado los grandes ensayos y metaanálisis de unos datos heterogéneos y a menudo mal definidos en cuanto a selección de pacientes o las características del plasma administrado.

Nuestro estudio sugiere que algunos subgrupos de pacientes, predefinidos en el plan estadístico de análisis y con un fuerte sustrato biológico, tales como los seronegativos sí pudieran obtener beneficio del tratamiento con PC. Esto coincide con lo sugerido por otros estudios, que identifican a los pacientes con deficiencias en su respuesta inmunitaria al virus y a pacientes mayores o con alto riesgo de evolución grave como los candidatos al tratamiento con PC y a la inmunoterapia pasiva en general. Dado que no existe en este momento demostración clara de la eficacia en estos subgrupos de pacientes, es razonable seguir evaluando el potencial beneficio del PC, en ensayos controlados realizados en poblaciones adecuadamente definidas y utilizando un PC correctamente caracterizado.

Debe tenerse en cuenta que el desarrollo del conocimiento en estos subgrupos de pacientes, por ejemplo aquellos con respuesta inmunitaria deficiente, se sigue completando con los resultados de estudios en marcha del desarrollo de anticuerpos monoclonales neutralizantes o inmunoglobulinas purificadas. Y no debemos olvidar que los anticuerpos monoclonales son un producto comercial costoso y poco accesible, y a menudo específicos para determinadas variantes, mientras que el PC es un recurso fácilmente disponible a un coste aceptable en todo el mundo y con ajuste natural a los virus y variantes circulantes en cada epidemia. De hecho sería la única opción disponible en países con menos recursos como reflexionan algunos autores (117).

Así, aunque las dudas en cuanto a la eficacia del PC se mantienen en este momento, todo indica que el PC volverá a ser considerado un recurso ante próximos retos en la epidemia actual, así como para futuras epidemias. Uno de los legados de la pandemia de COVID-19 es el enorme esfuerzo de investigación que se ha llevado a cabo y que ha producido una gran cantidad de datos. Estos deberían ser reanalizados para identificar mejor las características del paciente y del PC que confieren beneficio clínico, y se deberían realizar los nuevos ensayos controlados que sean necesarios para completar la investigación y así garantizar la disponibilidad de terapias seguras y efectivas en esta y posibles pandemias futuras.

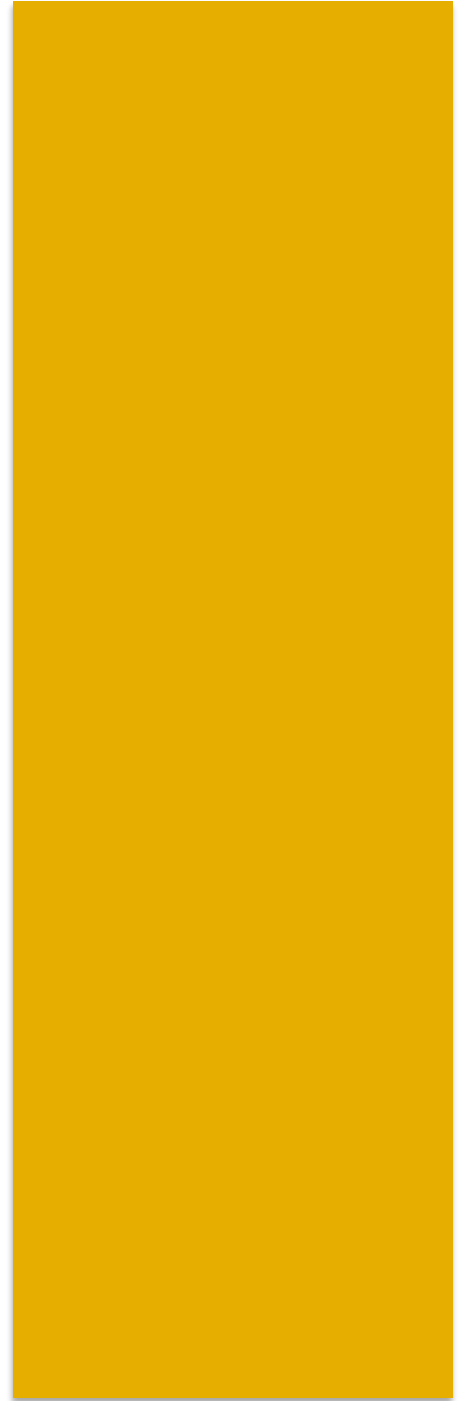
De nuestro trabajo se pueden extraer también recomendaciones de cara a futuras pandemias en cuanto a la importancia del buen diseño de los ensayos clínicos, que deben estar anclados en el mejor conocimiento posible de la enfermedad y en el mecanismo de acción postulado para el producto, así como a la necesidad de estructuras de apoyo estable a los ensayos clínicos no comerciales, que faciliten la realización eficaz de grandes ensayos clínicos integrados en la asistencia en el SNS y que puedan tener ámbito nacional e internacional.



CONCLUSIONES



1. Nuestro estudio no demuestra que el plasma convaleciente añadido al tratamiento estándar en los pacientes recién hospitalizados por neumonía COVID-19 sea eficaz para disminuir el porcentaje de pacientes que han empeorado a los 14 días del ingreso. Un 11,7% empeoran en el grupo plasma hasta necesitar dispositivos de oxígeno de alto flujo o ventilación mecánica invasiva o ECMO o fallecer frente a un 16,4% que empeoran en el grupo control ($p = 0,20$).
2. Encontramos una diferencia mayor y estadísticamente significativa a los 28 días (8,4% empeoraron en el grupo plasma frente a 16,4% en el grupo control, $p = 0,02$). Este es un dato relevante, que debe sin embargo interpretarse con cautela puesto que no era la variable predefinida como primaria.
3. En el subgrupo de pacientes sin IgG anti-SARS-CoV-2 detectables al inicio del estudio, las diferencias a favor del plasma son consistentes a los 14, 28 y 60 días y la diferencia es estadísticamente significativa a los 28 días (10,8% empeoraron en el grupo plasma frente a 20,6% en el grupo control, $p = 0,04$). Este resultado es relevante porque se trata de un subgrupo definido a priori en el plan de análisis estadístico del estudio, con un fuerte sustrato biológico para definirlo como una indicación en la que esperar un mayor beneficio del plasma.
4. Las diferencias a favor del plasma son consistentes a los 14, 28 y 60 días también en el subgrupo de pacientes mayores de 75 años y la diferencia es estadísticamente significativa a los 28 días (10,2% empeoraron en el grupo plasma frente a 29,6% en el grupo control, $p = 0,02$).
5. El menor número de días transcurridos entre el inicio de síntomas y el ingreso no se relaciona con una mejor respuesta al plasma convaleciente, en contra de lo esperado. Probablemente los días de síntomas no sean un buen predictor del estadio de la enfermedad en pacientes que requieren hospitalización.
6. Más del 50% de los pacientes de nuestro estudio recibieron plasma con un título de anticuerpos por debajo del ahora recomendado. Aunque no se detecta relación en nuestro estudio entre el título más elevado de anticuerpos neutralizantes o de IgG anti-SARS-CoV-2 en el plasma administrado y una mejor respuesta de los pacientes, no puede descartarse que nuestro estudio haya utilizado dosis subóptimas.
7. Se confirma un muy buen perfil de seguridad del plasma convaleciente, sin sospechas de casos de enfermedad empeorada por anticuerpos ni reacciones pulmonares agudas relacionadas con transfusiones (TRALI), lo que también respalda que puedan utilizarse dosis más elevadas de plasma y con una mayor riqueza de anticuerpos.
8. El plasma convaleciente sigue siendo un potencial recurso terapéutico para COVID-19, y se debe completar su evaluación para aclarar cuál puede ser el momento oportuno para su administración, las poblaciones concretas en las que puede existir beneficio y la dosis que se debería administrar, con un umbral mínimo de anticuerpos con la afinidad adecuada.
9. La realización de ensayos clínicos controlados, incluso en momentos de crisis sanitaria como la pandemia de COVID-19, es factible si están ya establecidas las estructuras adecuadas de apoyo. Su realización en estas situaciones debe promoverse puesto que aportan evidencia de alto nivel para resolver la incertidumbre terapéutica y los resultados pueden estar disponibles en un plazo muy breve de tiempo si se promueven ensayos colaborativos a nivel nacional, adaptados en su diseño y procedimientos para realizarse sin sobrecargar la actividad asistencial en la que deben integrarse.



BIBLIOGRAFÍA



1. Li, Q.; Guan, X.; Wu, P.; Wang, X.; Zhou, L.; Tong, Y.; Ren, R.; Leung, K.S.M.; Lau, E.H.Y.; Wong JY. et al. Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus-Infected Pneumonia. *N Engl J Med* [Internet]. 2020;382:1199–207. Available from: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/nejmoa2001316>
2. Director-General W. General's remarks at the media briefing on 2019-nCoV on 11 February 2020 [Internet]. World Health Organization (WHO). 2020 [cited 2022 Jan 8]. p. 6–9. Available from: <https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-remarks-at-the-media-briefing-on-2019-ncov-on-11-february-2020>
3. Director-General W. General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 - 11 March 2020 [Internet]. [cited 2022 Jan 8]. Available from: <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020>
4. World Health Organization. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard [Internet]. [cited 2022 Feb 14]. Available from: <https://covid19.who.int/>
5. Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Informe no 112. Situación de COVID-19 en España. [Internet]. 2022 [cited 2022 Jan 8]. Available from: <https://www.isciii.es/QueHacemos/Servicios/VigilanciaSaludPublicaRENAVE/EnfermedadesTransmisibles/Documents/INFORMES/Informes COVID-19/INFORMES COVID-19 2022/Informe no 112 Situación de COVID-19 en España a 5 de enero de 2022.pdf>
6. Stringhini S, Wisniak A, Piumatti G, Azman AS, Lauer SA, Baysson H, et al. Seroprevalence of anti-SARS-CoV-2 IgG antibodies in Geneva, Switzerland (SEROCoV-POP): a population-based study. *Lancet* [Internet]. 2020 Aug;396(10247):313–9. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673620313040>
7. Havers FP, Reed C, Lim T, Montgomery JM, Klena JD, Hall AJ, et al. Seroprevalence of Antibodies to SARS-CoV-2 in 10 Sites in the United States, March 23-May 12, 2020. *JAMA Intern Med* [Internet]. 2020 Dec 1;180(12):1576. Available from: <https://jamanetwork.com/journals/jamainternalmedicine/fullarticle/2768834>
8. Ciotti M, Angeletti S, Minieri M, Giovannetti M, Benvenuto D, Pascarella S, et al. COVID-19 Outbreak: An Overview. *Chemotherapy* [Internet]. 2019;64(5–6):215–23. Available from: <https://www.karger.com/Article/FullText/507423>
9. Choi EH, Lee HJ, Kim SJ, Eun BW, Kim NH, Lee JA, et al. The Association of Newly Identified Respiratory Viruses with Lower Respiratory Tract Infections in Korean Children, 2000–2005. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2006 Sep;43(5):585–92. Available from: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1086/506350>
10. Cui J, Li F, Shi Z-L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol* [Internet]. 2019 Mar 10;17(3):181–92. Available from: <http://www.nature.com/articles/s41579-018-0118-9>
11. Ministerio de Sanidad. Información microbiológica acerca de SARS-CoV-2 [Internet]. [cited 2022 Jan 9]. Available from: https://www.sanidad.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/20210621_MICROBIOLOGIA.pdf
12. Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet* [Internet]. 2020 Feb;395(10224):565–74. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673620302518>

13. Wu C, Liu Y, Yang Y, Zhang P, Zhong W, Wang Y, et al. Analysis of therapeutic targets for SARS-CoV-2 and discovery of potential drugs by computational methods. *Acta Pharm Sin B* [Internet]. 2020 May;10(5):766–88. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2211383520302999>
14. Atri D, Siddiqi HK, Lang JP, Nauffal V, Morrow DA, Bohula EA. COVID-19 for the Cardiologist. *JACC Basic to Transl Sci* [Internet]. 2020 May;5(5):518–36. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2452302X20301571>
15. Yan R, Zhang Y, Li Y, Xia L, Guo Y, Zhou Q. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science* (80-) [Internet]. 2020 Mar 27;367(6485):1444–8. Available from: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.abb2762>
16. WHO. Genomic sequencing of SARS-CoV-2: a guide to implementation for maximum impact on public health [Internet]. [cited 2022 Jan 13]. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240018440>
17. World Health Organization. Tracking variants of SARS-COV-2 [Internet]. [cited 2022 Jan 3]. Available from: <https://www.who.int/es/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants>
18. Lauer SA, Grantz KH, Bi Q, Jones FK, Zheng Q, Meredith HR, et al. The Incubation Period of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) From Publicly Reported Confirmed Cases: Estimation and Application. *Ann Intern Med* [Internet]. 2020 May 5;172(9):577–82. Available from: <https://www.acpjournals.org/doi/10.7326/M20-0504>
19. Lai A, Bergna A, Acciarri C, Galli M, Zehender G. Early phylogenetic estimate of the effective reproduction number of SARS - CoV - 2. *J Med Virol* [Internet]. 2020 Jun 3;92(6):675–9. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jmv.25723>
20. Meyerowitz EA, Richterman A, Gandhi RT, Sax PE. Transmission of SARS-CoV-2: A Review of Viral, Host, and Environmental Factors. *Ann Intern Med* [Internet]. 2021 Jan;174(1):69–79. Available from: <https://www.acpjournals.org/doi/10.7326/M20-5008>
21. Tang S, Mao Y, Jones RM, Tan Q, Ji JS, Li N, et al. Aerosol transmission of SARS-CoV-2? Evidence, prevention and control. *Environ Int* [Internet]. 2020 Nov;144:106039. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0160412020319942>
22. Jones RM, Brosseau LM. Aerosol Transmission of Infectious Disease. *J Occup Environ Med* [Internet]. 2015 May;57(5):501–8. Available from: <https://journals.lww.com/00043764-201505000-00004>
23. Milton DK. A Rosetta Stone for Understanding Infectious Drops and Aerosols. *J Pediatric Infect Dis Soc* [Internet]. 2020 Sep 17;9(4):413–5. Available from: <https://academic.oup.com/jpids/article/9/4/413/5875939>
24. Guan W, Ni Z, Hu Y, Liang W, Ou C, He J, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med* [Internet]. 2020 Apr 30;382(18):1708–20. Available from: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa2002032>
25. Siddiqi HK, Mehra MR. COVID-19 illness in native and immunosuppressed states: A clinical–therapeutic staging proposal. *J Hear Lung Transplant* [Internet]. 2020 May;39(5):405–7. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S105324982031473X>
26. Wong SH, Lui RN, Sung JJ. Covid - 19 and the digestive system. *J Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2020 May 19;35(5):744 – 8. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jgh.15047>

27. Cheng Y, Luo R, Wang K, Zhang M, Wang Z, Dong L, et al. Kidney disease is associated with in-hospital death of patients with COVID-19. *Kidney Int* [Internet]. 2020 May;97(5):829–38. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0085253820302556>
28. L’Huillier AG, Torriani G, Pigny F, Kaiser L, Eckerle I. Shedding of infectious SARS-CoV-2 in symptomatic neonates, children and adolescents. *medRxiv* [Internet]. 2020 Jan 1;2020.04.27.20076778. Available from: <http://medrxiv.org/content/early/2020/05/01/2020.04.27.20076778.abstract>
29. Lechien JR, Chiesa-Estomba CM, De Siaty DR, Horoi M, Le Bon SD, Rodriguez A, et al. Olfactory and gustatory dysfunctions as a clinical presentation of mild-to-moderate forms of the coronavirus disease (COVID-19): a multicenter European study. *Eur Arch Oto-Rhino-Laryngology* [Internet]. 2020 Aug 6;277(8):2251–61. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00405-020-05965-1>
30. Haehner A, Draf J, Dräger S, de With K, Hummel T. Predictive Value of Sudden Olfactory Loss in the Diagnosis of COVID-19. *ORL* [Internet]. 2020;82(4):175–80. Available from: <https://www.karger.com/Article/FullText/509143>
31. Chen L, Deng C, Chen X, Zhang X, Chen B, Yu H, et al. Ocular manifestations and clinical characteristics of 534 cases of COVID-19 in China: A cross-sectional study. *medRxiv* [Internet]. 2020 Jan 1;2020.03.12.20034678. Available from: <http://medrxiv.org/content/early/2020/03/16/2020.03.12.20034678.abstract>
32. Zheng Y-Y, Ma Y-T, Zhang J-Y, Xie X. COVID-19 and the cardiovascular system. *Nat Rev Cardiol* [Internet]. 2020 May 5;17(5):259–60. Available from: <http://www.nature.com/articles/s41569-020-0360-5>
33. Mao L, Jin H, Wang M, Hu Y, Chen S, He Q, et al. Neurologic Manifestations of Hospitalized Patients With Coronavirus Disease 2019 in Wuhan, China. *JAMA Neurol* [Internet]. 2020 Jun 1;77(6):683. Available from: <https://jamanetwork.com/journals/jamaneurology/fullarticle/2764549>
34. Ministerio de Sanidad. Información científica-técnica. Información clínica COVID-19 [Internet]. [cited 2022 Jan 10]. Available from: https://www.sanidad.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/20210528_CLINICA.pdf
35. To KK-W, Hung IF-N, Ip JD, Chu AW-H, Chan W-M, Tam AR, et al. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Re-infection by a Phylogenetically Distinct Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Strain Confirmed by Whole Genome Sequencing. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2021 Nov 2;73(9):e2946–51. Available from: <https://academic.oup.com/cid/article/73/9/e2946/5897019>
36. Hansen CH, Michlmayr D, Gubbels SM, Mølbak K, Ethelberg S. Assessment of protection against reinfection with SARS-CoV-2 among 4 million PCR-tested individuals in Denmark in 2020: a population-level observational study. *Lancet* [Internet]. 2021 Mar;397(10280):1204–12. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673621005754>
37. Ministerio de Sanidad., Instituto de Salud Carlos III. Estrategia de detección precoz, vigilancia y control de COVID-19. [Internet]. 2021 [cited 2022 Jan 10]. Available from: https://www.sanidad.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/COVID19_Estrategia_vigilancia_y_control_e_indicadores.pdf
38. Anka AU, Tahir MI, Abubakar SD, Alsabbagh M, Zian Z, Hamedifar H, et al. Coronavirus

- disease 2019 (COVID - 19): An overview of the immunopathology, serological diagnosis and management. *Scand J Immunol* [Internet]. 2021 Apr 3;93(4). Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/sji.12998>
39. IDSA. Guidelines on the Treatment and Management of Patients with COVID-19. Available from: <https://www.idsociety.org/practice-guideline/covid-19-guideline-treatment-and-management/>
 40. Cao B, Wang Y, Wen D, Liu W, Wang J, Fan G, et al. A Trial of Lopinavir–Ritonavir in Adults Hospitalized with Severe Covid-19. *N Engl J Med* [Internet]. 2020 May 7;382(19):1787–99. Available from: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa2001282>
 41. Effect of Hydroxychloroquine in Hospitalized Patients with Covid-19. *N Engl J Med* [Internet]. 2020 Nov 19;383(21):2030–40. Available from: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa2022926>
 42. Solaymani-Dodaran M, Ghanei M, Bagheri M, Qazvini A, Vahedi E, Hassan Saadat S, et al. Safety and efficacy of Favipiravir in moderate to severe SARS-CoV-2 pneumonia. *Int Immunopharmacol* [Internet]. 2021 Jun;95:107522. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1567576921001582>
 43. Chen F, Chan K., Jiang Y, Kao RY., Lu H., Fan K., et al. In vitro susceptibility of 10 clinical isolates of SARS coronavirus to selected antiviral compounds. *J Clin Virol* [Internet]. 2004 Sep;31(1):69–75. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1386653204000551>
 44. Morra ME, Van Thanh L, Kamel MG, Ghazy AA, Altibi AMA, Dat LM, et al. Clinical outcomes of current medical approaches for Middle East respiratory syndrome: A systematic review and meta-analysis. *Rev Med Virol* [Internet]. 2018 May;28(3):e1977. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/rmv.1977>
 45. Hung IF-N, Lung K-C, Tso EY-K, Liu R, Chung TW-H, Chu M-Y, et al. Triple combination of interferon beta-1b, lopinavir–ritonavir, and ribavirin in the treatment of patients admitted to hospital with COVID-19: an open-label, randomised, phase 2 trial. *Lancet* [Internet]. 2020 May;395(10238):1695–704. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673620310424>
 46. Repurposed Antiviral Drugs for Covid-19 — Interim WHO Solidarity Trial Results. *N Engl J Med* [Internet]. 2021 Feb 11;384(6):497–511. Available from: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa2023184>
 47. López-Medina E, López P, Hurtado IC, Dávalos DM, Ramirez O, Martínez E, et al. Effect of Ivermectin on Time to Resolution of Symptoms Among Adults With Mild COVID-19. *JAMA* [Internet]. 2021 Apr 13;325(14):1426. Available from: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2777389>
 48. Agencia Española de medicamentos y productos sanitarios. Tratamientos disponibles sujetos a condiciones especiales de acceso para el manejo de la infección respiratoria por SARS-CoV-2 [Internet]. 2020 [cited 2021 Apr 5]. Available from: <https://www.aemps.gob.es/laAEMPS/docs/medicamentos-disponibles-SARS-CoV-2-28-5-2020.pdf?x33934>
 49. Wang M, Cao R, Zhang L, Yang X, Liu J, Xu M, et al. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. *Cell Res* [Internet]. 2020 Mar 4;30(3):269–71. Available from: <http://www.nature.com/articles/s41422-020-0282-0>
 50. AEMPS. Nota informativa. MUH, 17/2020 [Internet]. 2020. Available from:

- <https://www.aemps.gob.es/informa/notasInformativas/medicamentosUsoHumano/2020/NI-MUH-17-2020-Remdesivir.pdf?x57200>
51. Gottlieb RL, Vaca CE, Paredes R, Mera J, Webb BJ, Perez G, et al. Early Remdesivir to Prevent Progression to Severe Covid-19 in Outpatients. *N Engl J Med* [Internet]. 2022 Jan 27;386(4):305–15. Available from: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa2116846>
 52. Beigel JH, Tomashek KM, Dodd LE, Mehta AK, Zingman BS, Kalil AC, et al. Remdesivir for the Treatment of Covid-19 — Final Report. *N Engl J Med* [Internet]. 2020 Nov 5;383(19):1813–26. Available from: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa2007764>
 53. Wilt TJ, Kaka AS, MacDonald R, Greer N, Obley A, Duan-Porter W. Remdesivir for Adults With COVID-19. *Ann Intern Med* [Internet]. 2021 Feb;174(2):209–20. Available from: <https://www.acpjournals.org/doi/10.7326/M20-5752>
 54. European Medicines Agency. EPAR Product Information Paxlovid [Internet]. [cited 2022 Feb 15]. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/paxlovid-epar-product-information_en.pdf
 55. MERCK. Merck and Ridgeback Biotherapeutics Provide Update on Results from MOVE-OUT Study of Molnupiravir, an Investigational Oral Antiviral Medicine, in At Risk Adults With Mild-to-Moderate COVID-19 [Internet]. Available from: <https://www.merck.com/news/merck-and-ridgeback-biotherapeutics-provide-update-on-results-from-move-out-study-of-molnupiravir-an-investigational-oral-antiviral-medicine-in-at-risk-adults-with-mild-to-moderate-covid-19/>
 56. Tuccori M, Ferraro S, Convertino I, Cappello E, Valdiserra G, Blandizzi C, et al. Anti-SARS-CoV-2 neutralizing monoclonal antibodies: clinical pipeline. *MAbs* [Internet]. 2020 Jan 1;12(1):1854149. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/19420862.2020.1854149>
 57. O'Brien MP, Forleo-Neto E, Musser BJ, Isa F, Chan K-C, Sarkar N, et al. Subcutaneous REGEN-COV Antibody Combination to Prevent Covid-19. *N Engl J Med* [Internet]. 2021 Sep;385(13):1184–95. Available from: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa2109682>
 58. Weinreich DM, Sivapalasingam S, Norton T, Ali S, Gao H, Bhore R, et al. REGN-COV2, a Neutralizing Antibody Cocktail, in Outpatients with Covid-19. *N Engl J Med* [Internet]. 2021 Jan 21;384(3):238–51. Available from: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa2035002>
 59. Gupta A, Gonzalez-Rojas Y, Juarez E, Crespo Casal M, Moya J, Falci DR, et al. Early Treatment for Covid-19 with SARS-CoV-2 Neutralizing Antibody Sotrovimab. *N Engl J Med* [Internet]. 2021 Nov 18;385(21):1941–50. Available from: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa2107934>
 60. European Medicines Agency. EPAR Product Information Regkirona [Internet]. 12 Noviembre 2021. [cited 2022 Feb 17]. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/regkirona-epar-product-information_en.pdf
 61. European Medicines Agency. EMA starts rolling review of Evusheld (tixagevimab and cilgavimab) [Internet]. 14 Octubre 2021. [cited 2022 Feb 17]. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/news/ema-starts-rolling-review-evusheld-tixagevimab-cilgavimab>
 62. Chen G, Wu D, Guo W, Cao Y, Huang D, Wang H, et al. Clinical and immunological features

- of severe and moderate coronavirus disease 2019. *J Clin Invest* [Internet]. 2020 Apr 13;130(5):2620–9. Available from: <https://www.jci.org/articles/view/137244>
63. Ruiz-Antorán B, Sancho-López A, Torres F, Moreno-Torres V, de Pablo-López I, García-López P, et al. Combination of Tocilizumab and Steroids to Improve Mortality in Patients with Severe COVID-19 Infection: A Spanish, Multicenter, Cohort Study. *Infect Dis Ther* [Internet]. 2021 Mar 6;10(1):347–62. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s40121-020-00373-8>
 64. Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19. *N Engl J Med* [Internet]. 2021 Feb 25;384(8):693–704. Available from: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa2021436>
 65. Siemieniuk RA, Bartoszko JJ, Ge L, Zeraatkar D, Izcovich A, Kum E, et al. Drug treatments for covid-19: living systematic review and network meta-analysis. *BMJ* [Internet]. 2020 Jul 30;m2980. Available from: <https://www.bmj.com/lookup/doi/10.1136/bmj.m2980>
 66. Sterne JAC, Murthy S, Diaz J V., Slutsky AS, Villar J, Angus DC, et al. Association Between Administration of Systemic Corticosteroids and Mortality Among Critically Ill Patients With COVID-19. *JAMA* [Internet]. 2020 Oct 6;324(13):1330. Available from: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2770279>
 67. Marconi VC, Ramanan A V, de Bono S, Kartman CE, Krishnan V, Liao R, et al. Efficacy and safety of baricitinib for the treatment of hospitalised adults with COVID-19 (COV-BARRIER): a randomised, double-blind, parallel-group, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet Respir Med* [Internet]. 2021 Dec;9(12):1407–18. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213260021003313>
 68. European Medicines Agency. EMA starts evaluating use of Olumiant in hospitalised COVID-19 patients requiring supplemental oxygen [Internet]. 29 April 2021. [cited 2022 Feb 17]. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/news/ema-starts-evaluating-use-olumiant-hospitalised-covid-19-patients-requiring-supplemental-oxygen>
 69. Díaz E, Amézaga Menéndez R, Vidal Cortés P, Escapa MG, Suberviola B, Serrano Lázaro A, et al. Tratamiento farmacológico de la COVID-19: revisión narrativa de los Grupos de Trabajo de Enfermedades Infecciosas y Sepsis (GTEIS) y del Grupo de Trabajo de Transfusiones Hemoderivados (GTTH). *Med Intensiva* [Internet]. 2021 Mar;45(2):104–21. Available from: %0D
 70. Blanco-Melo D, Nilsson-Payant BE, Liu W-C, Uhl S, Hoagland D, Møller R, et al. Imbalanced Host Response to SARS-CoV-2 Drives Development of COVID-19. *Cell* [Internet]. 2020 May;181(5):1036–1045.e9. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S009286742030489X>
 71. Committee for Medicinal Products for Human Use. EMA. EMA/CHMP/697130/2021. Summary of opinion (post authorisation) Kineret [Internet]. 16 Diciembre 2021. [cited 2022 Feb 17]. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/smop/chmp-post-authorisation-summary-opinion-kineret-ii-86_en.pdf
 72. RECOVERY Collaborative Group. Tocilizumab in patients admitted to hospital with COVID-19 (RECOVERY): a randomised, controlled, open-label, platform trial. *Lancet* (London, England) [Internet]. 2021 May 1;397(10285):1637–45. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33933206>
 73. European Medicines Agency. EMA recommends approval for use of RoActemra in adults with severe COVID-19 [Internet]. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/news/ema-recommends-approval-use-roactemra>

- adults-severe-covid-19
74. AEMPS. Ficha técnica Kevzara [Internet]. Available from: https://cima.aemps.es/cima/dohtml/ft/1171196001/FT_1171196001.html#2-composici-n-cualitativa-y-cuantitativa
 75. Sancho-López A, Caballero-Bermejo AF, Ruiz-Antorán B, Múñez Rubio E, García Gasalla M, Buades J, et al. Efficacy and Safety of Sarilumab in patients with COVID19 Pneumonia: A Randomized, Phase III Clinical Trial (SARTRE Study). *Infect Dis Ther* [Internet]. 2021 Dec 17;10(4):2735–48. Available from: <https://link.springer.com/10.1007/s40121-021-00543-2>
 76. Investigators TR-C, Derde LPG. Effectiveness of Tocilizumab, Sarilumab, and Anakinra for critically ill patients with COVID-19 The REMAP-CAP COVID-19 Immune Modulation Therapy Domain Randomized Clinical Trial. *medRxiv*. 2021 Jan;2021.06.18.21259133.
 77. Agencia Española de medicamentos y productos sanitarios. 12o Informe de Farmacovigilancia sobre Vacunas COVID-19 [Internet]. 16 Enero 2022. [cited 2022 Feb 15]. Available from: <https://www.aemps.gob.es/informa/boletines-aemps/boletin-fv/2022-fv/12o-informe-de-farmacovigilancia-sobre-vacunas-covid-19/>
 78. DesJardin JA, Snyderman DR. Antiviral Immunotherapy: a review of current status. *BioDrugs* [Internet]. 1998;9(6):487–507. Available from: <http://link.springer.com/10.2165/00063030-199809060-00006>
 79. Marco RH. De la sueroterapia a los anticuerpos monoclonales: Nuevas perspectivas en el tratamiento de las enfermedades infecciosas del niño [Internet]. Available from: https://www.uv.es/ramcv/2014/057_VIII.I_Dr_Hernandez.pdf
 80. Gallo MIP. SUEROS Y VACUNAS EN LA LUCHA CONTRA LA PANDEMIA DE GRIPE DE 1918-1919 EN ESPAÑA. *Asclepio Rev Hist la Med y la Cienc*. 2008;LX no2(0210–4466):261–88.
 81. Stinebaugh BJ, Schloeder FX, Johnson KM, Mackenzie RB, Entwisle G, De Alba E. Bolivian hemorrhagic fever. *Am J Med* [Internet]. 1966 Feb;40(2):217–30. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0002934366901033>
 82. Ruggiero HA, Pérez Isquierdo F, Milani HA, Barri A, Val A, Maglio F, et al. [Treatment of Argentine hemorrhagic fever with convalescent's plasma. 4433 cases]. *Presse Med* [Internet]. 1986 Dec 20;15(45):2239–42. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2949253>
 83. Frame JD, Verbrugge GP, Gill RG, Pinneo L. The use of Lassa fever convalescent plasma in Nigeria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* [Internet]. 1984 Jan;78(3):319–24. Available from: [https://academic.oup.com/trstmh/article-lookup/doi/10.1016/0035-9203\(84\)90107-X](https://academic.oup.com/trstmh/article-lookup/doi/10.1016/0035-9203(84)90107-X)
 84. Mupapa K, Massamba M, Kibadi K, Kuvula K, Bwaka A, Kipasa M, et al. Treatment of Ebola Hemorrhagic Fever with Blood Transfusions from Convalescent Patients. *J Infect Dis* [Internet]. 1999 Feb;179(s1):S18–23. Available from: <https://academic.oup.com/jid/article-lookup/doi/10.1086/514298>
 85. Ben - Nathan D, Lustig S, Tam G, Robinson S, Segal S, Rager - Zisman B. Prophylactic and Therapeutic Efficacy of Human Intravenous Immunoglobulin in Treating West Nile Virus Infection in Mice. *J Infect Dis* [Internet]. 2003 Jul;188(1):5 - 12. Available from: <https://academic.oup.com/jid/article-lookup/doi/10.1086/376870>
 86. Solomon T. West Nile encephalitis. *BMJ* [Internet]. 2003 Apr 19;326(7394):865–9. Available from: <https://www.bmj.com/lookup/doi/10.1136/bmj.326.7394.865>
 87. Arabi YM, Hajeer AH, Luke T, Raviprakash K, Balkhy H, Johani S, et al. Feasibility of Using

- Convalescent Plasma Immunotherapy for MERS-CoV Infection, Saudi Arabia. *Emerg Infect Dis* [Internet]. 2016 Sep;22(9):1554–61. Available from: http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/22/9/15-1164_article.htm
88. Hung IF, To KK, Lee C-K, Lee K-L, Chan K, Yan W-W, et al. Convalescent Plasma Treatment Reduced Mortality in Patients With Severe Pandemic Influenza A (H1N1) 2009 Virus Infection. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2011 Feb 15;52(4):447–56. Available from: <https://academic.oup.com/cid/article/52/4/447/378553>
89. Mair-Jenkins J, Saavedra-Campos M, Baillie JK, Cleary P, Khaw F-M, Lim WS, et al. The Effectiveness of Convalescent Plasma and Hyperimmune Immunoglobulin for the Treatment of Severe Acute Respiratory Infections of Viral Etiology: A Systematic Review and Exploratory Meta-analysis. *J Infect Dis* [Internet]. 2015 Jan 1;211(1):80–90. Available from: <https://academic.oup.com/jid/article-lookup/doi/10.1093/infdis/jiu396>
90. Cheng Y, Wong R, Soo YOY, Wong WS, Lee CK, Ng MHL, et al. Use of convalescent plasma therapy in SARS patients in Hong Kong. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* [Internet]. 2005 Jan 23;24(1):44–6. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s10096-004-1271-9>
91. America's Blood Center. Circular of information for the use of human blood and blood components. [Internet]. October 2017. [cited 2022 Feb 17]. Available from: <https://www.aabb.org/docs/default-source/default-document-library/resources/circular-of-information-10-17.pdf>
92. Fu Y, Cheng Y, Wu Y. Understanding SARS-CoV-2-Mediated Inflammatory Responses: From Mechanisms to Potential Therapeutic Tools. *Virol Sin* [Internet]. 2020 Jun 3;35(3):266–71. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s12250-020-00207-4>
93. Ajmeriya S, Kumar A, Karmakar S, Rana S, Singh H. Neutralizing Antibodies and Antibody-Dependent Enhancement in COVID-19: A Perspective. *J Indian Inst Sci* [Internet]. 2022 Feb 4; Available from: <https://link.springer.com/10.1007/s41745-021-00268-8>
94. FDA. Convalescent Plasma EUA letter of Authorization [Internet]. [cited 2020 May 5]. Available from: <https://www.fda.gov/media/141477/download>
95. European Commission. An EU programme of COVID-19 convalescent plasma collection and transfusion. Guidance on collection, testing, processing, storage, distribution and monitored use [Internet]. 10 March. 2021. Available from: https://ec.europa.eu/health/system/files/2021-03/guidance_plasma_covid19_en_0.pdf
96. FDA. EUA for the use of CCP [Internet]. 23 Agosto 2020. [cited 2022 Feb 16]. Available from: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/la-fda-emite-una-autorizacion-de-uso-de-emergencia-para-el-plasma-convaleciente-como-un-tratamiento>
97. Li L, Zhang W, Hu Y, Tong X, Zheng S, Yang J, et al. Effect of Convalescent Plasma Therapy on Time to Clinical Improvement in Patients With Severe and Life-threatening COVID-19. *JAMA* [Internet]. 2020 Aug 4;324(5):460. Available from: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2766943>
98. Joyner MJ, Carter RE, Senefeld JW, Klassen SA, Mills JR, Johnson PW, et al. Convalescent Plasma Antibody Levels and the Risk of Death from Covid-19. *N Engl J Med* [Internet]. 2021 Mar 18;384(11):1015–27. Available from: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa2031893>
99. Simonovich VA, Burgos Pratz LD, Scibona P, Beruto M V., Vallone MG, Vázquez C, et al. A Randomized Trial of Convalescent Plasma in Covid-19 Severe Pneumonia. *N Engl J Med*

- [Internet]. 2021 Feb 18;384(7):619–29. Available from: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa2031304>
100. Agarwal A, Mukherjee A, Kumar G, Chatterjee P, Bhatnagar T, Malhotra P. Convalescent plasma in the management of moderate covid-19 in adults in India: open label phase II multicentre randomised controlled trial (PLACID Trial). *BMJ* [Internet]. 2020 Oct 22;m3939. Available from: <https://www.bmj.com/lookup/doi/10.1136/bmj.m3939>
 101. RECOVERY Collaborative Group. Convalescent plasma in patients admitted to hospital with COVID-19 (RECOVERY): a randomised controlled, open-label, platform trial. *Lancet* (London, England) [Internet]. 2021 May 29;397(10289):2049–59. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34000257>
 102. Writing Committee for the REMAP-CAP Investigators, Estcourt LJ, Turgeon AF, McQuilten ZK, McVerry BJ, Al-Beidh F, et al. Effect of Convalescent Plasma on Organ Support-Free Days in Critically Ill Patients With COVID-19: A Randomized Clinical Trial. *JAMA* [Internet]. 2021 Nov 2;326(17):1690–702. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34606578>
 103. Bégin P, Callum J, Jamula E, Cook R, Heddle NM, Timmouth A, et al. Convalescent plasma for hospitalized patients with COVID-19: an open-label, randomized controlled trial. *Nat Med* [Internet]. 2021 Nov 9;27(11):2012–24. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41591-021-01488-2>
 104. Menichetti F, Popoli P, Puopolo M, Spila Alegiani S, Tiseo G, Bartoloni A, et al. Effect of High-Titer Convalescent Plasma on Progression to Severe Respiratory Failure or Death in Hospitalized Patients With COVID-19 Pneumonia. *JAMA Netw Open* [Internet]. 2021 Nov 29;4(11):e2136246. Available from: <https://jamanetwork.com/journals/jamanetworkopen/fullarticle/2786680>
 105. O'Donnell MR, Grinsztejn B, Cummings MJ, Justman JE, Lamb MR, Eckhardt CM, et al. A randomized double-blind controlled trial of convalescent plasma in adults with severe COVID-19. *J Clin Invest* [Internet]. 2021 Jul 1;131(13). Available from: <https://www.jci.org/articles/view/150646>
 106. Körper S, Weiss M, Zickler D, Wiesmann T, Zacharowski K, Corman VM, et al. Results of the CAPSID randomized trial for high-dose convalescent plasma in patients with severe COVID-19. *J Clin Invest* [Internet]. 2021 Oct 15;131(20). Available from: <https://www.jci.org/articles/view/152264>
 107. Ortigoza MB, Yoon H, Goldfeld KS, Troxel AB, Daily JP, Wu Y, et al. Efficacy and Safety of COVID-19 Convalescent Plasma in Hospitalized Patients. *JAMA Intern Med* [Internet]. 2022 Feb 1;182(2):115. Available from: <https://jamanetwork.com/journals/jamainternalmedicine/fullarticle/2787090>
 108. Bar KJ, Shaw PA, Choi GH, Aquí N, Fesnak A, Yang JB, et al. A randomized controlled study of convalescent plasma for individuals hospitalized with COVID-19 pneumonia. *J Clin Invest* [Internet]. 2021 Dec 15;131(24). Available from: <https://www.jci.org/articles/view/155114>
 109. Libster R, Pérez Marc G, Wappner D, Coviello S, Bianchi A, Braem V, et al. Early High-Titer Plasma Therapy to Prevent Severe Covid-19 in Older Adults. *N Engl J Med* [Internet]. 2021 Feb 18;384(7):610–8. Available from: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa2033700>
 110. Gharbharan A, Jordans CCE, GeurtsvanKessel C, den Hollander JG, Karim F, Mollema FPN, et al. Effects of potent neutralizing antibodies from convalescent plasma in patients

- hospitalized for severe SARS-CoV-2 infection. *Nat Commun* [Internet]. 2021 Dec 27;12(1):3189. Available from: <http://www.nature.com/articles/s41467-021-23469-2>
111. Arnold Egloff SA, Junglen A, Restivo JSA, Wongsakhaluang M, Martin C, Doshi P, et al. Convalescent plasma associates with reduced mortality and improved clinical trajectory in patients hospitalized with COVID-19. *J Clin Invest* [Internet]. 2021 Oct 15;131(20). Available from: <https://www.jci.org/articles/view/151788>
 112. Cho K, Keithly SC, Kurgansky KE, Madenci AL, Gerlovin H, Marucci-Wellman H, et al. Early Convalescent Plasma Therapy and Mortality Among US Veterans Hospitalized With Nonsevere COVID-19: An Observational Analysis Emulating a Target Trial. *J Infect Dis* [Internet]. 2021 Sep 17;224(6):967–75. Available from: <https://academic.oup.com/jid/article/224/6/967/6307367>
 113. Chauhan L, Pattee J, Ford J, Thomas C, Lesteberg K, Richards E, et al. A Multicenter, Prospective, Observational, Cohort-Controlled Study of Clinical Outcomes Following Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Convalescent Plasma Therapy in Hospitalized Patients With COVID-19. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2021 Sep 21; Available from: <https://academic.oup.com/cid/advance-article/doi/10.1093/cid/ciab834/6373512>
 114. Korley FK, Durkalski-Mauldin V, Yeatts SD, Schulman K, Davenport RD, Dumont LJ, et al. Early Convalescent Plasma for High-Risk Outpatients with Covid-19. *N Engl J Med* [Internet]. 2021 Nov 18;385(21):1951–60. Available from: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa2103784>
 115. Sullivan DJ, Gebo KA, Shoham S, Bloch EM, Lau B, Shenoy AG, et al. Randomized Controlled Trial of Early Outpatient COVID-19 Treatment with High-Titer Convalescent Plasma. *medRxiv* [Internet]. 2021 Jan 1;2021.12.10.21267485. Available from: <http://medrxiv.org/content/early/2021/12/21/2021.12.10.21267485.abstract>
 116. World Health Organization. Therapeutics and COVID-19: living guideline. [Internet]. 7 December 2021. [cited 2022 Mar 3]. Available from: <https://app.magicapp.org/#/guideline/nBkO1E/section/nJB6MR>
 117. Paneth N, Casadevall A, Pirofski L, Henderson JP, Grossman BJ, Shoham S, et al. WHO covid-19 drugs guideline: reconsider using convalescent plasma. *BMJ* [Internet]. 2022 Feb 8;o295. Available from: <https://www.bmj.com/lookup/doi/10.1136/bmj.o295>
 118. European Medicines Agency. CPMP/ICH/363/96. ICH E9 Statistical Principles for Clinical Trials [Internet]. [cited 2021 Jul 30]. Available from: http://www.ema.europa.eu/ema/pages/includes/document/open_document.jsp?webContentId=WC500002928,
 119. Schulz KF, Altman DG, Moher D. CONSORT 2010 Statement: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *BMJ* [Internet]. 2010 Mar 23;340(mar23 1):c332–c332. Available from: <https://www.bmj.com/lookup/doi/10.1136/bmj.c332>
 120. World Health Organization. R&D Blueprint and COVID-19 [Internet]. [cited 2022 Feb 15]. Available from: <https://www.who.int/teams/blueprint/covid-19>
 121. International Coalition of Medicines Regulatory Authorities. ICMRA COVID-19 Treatments and Clinical Trials Workshop #2 - Summary [Internet]. Available from: <https://icmra.info/drupal/en/news/20july2020/summary>
 122. Devos T, Van Thillo Q, Compennolle V, Najdovski T, Romano M, Dauby N, et al. Early high antibody titre convalescent plasma for hospitalised COVID-19 patients: DAWn-plasma. *Eur Respir J* [Internet]. 2022 Feb;59(2):2101724. Available from: <http://erj.ersjournals.com/lookup/doi/10.1183/13993003.01724-2021>

123. Focosi D, Maggi F, Franchini M, Aguzzi A, Lanza M, Mazzoni A, et al. Patient-blood management for COVID19 convalescent plasma therapy: relevance of affinity and donor–recipient differences in concentration of neutralizing antibodies. *Clin Microbiol Infect* [Internet]. 2021 Jul;27(7):987–92. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1198743X21001713>
124. Troxel AB, Petkova E, Goldfeld K, Liu M, Tarpey T, Wu Y, et al. Association of Convalescent Plasma Treatment With Clinical Status in Patients Hospitalized With COVID-19. *JAMA Netw Open* [Internet]. 2022 Jan 25;5(1):e2147331. Available from: <https://jamanetwork.com/journals/jamanetworkopen/fullarticle/2788377>
125. Kunze KL, Johnson PW, van Helmond N, Senefeld JW, Petersen MM, Klassen SA, et al. Mortality in individuals treated with COVID-19 convalescent plasma varies with the geographic provenance of donors. *Nat Commun* [Internet]. 2021 Dec 11;12(1):4864. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41467-021-25113-5>
126. Senefeld JW, Klassen SA, Ford SK, Senese KA, Wiggins CC, Bostrom BC, et al. Use of convalescent plasma in <scp>COVID</scp> - 19 patients with immunosuppression. *Transfusion* [Internet]. 2021 Aug;61(8):2503 - 11. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/trf.16525>
127. Thompson MA, Henderson JP, Shah PK, Rubinstein SM, Joyner MJ, Choueiri TK, et al. Association of Convalescent Plasma Therapy With Survival in Patients With Hematologic Cancers and COVID-19. *JAMA Oncol* [Internet]. 2021 Aug 1;7(8):1167. Available from: <https://jamanetwork.com/journals/jamaoncology/fullarticle/2780916>
128. Rochman ND, Wolf YI, Faure G, Mutz P, Zhang F, Koonin E V. Ongoing global and regional adaptive evolution of SARS-CoV-2. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 2021 Jul 20;118(29):e2104241118. Available from: <http://www.pnas.org/lookup/doi/10.1073/pnas.2104241118>
129. Focosi D, Tuccori M, Baj A, Maggi F. SARS-CoV-2 Variants: A Synopsis of In Vitro Efficacy Data of Convalescent Plasma, Currently Marketed Vaccines, and Monoclonal Antibodies. *Viruses* [Internet]. 2021 Jun 23;13(7):1211. Available from: <https://www.mdpi.com/1999-4915/13/7/1211>
130. Ministerio de Sanidad. Actualización de la situación epidemiológica de las variantes de SARS-CoV-2 de importancia en salud pública en España [Internet]. 18 Marzo 2021. [cited 2022 Feb 7]. Available from: https://www.sanidad.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/COVID19_Actualizacion_variantes_20210318.pdf
131. Rijnders BJ, Huygens S, Mitjà O. Evidence based dosing of convalescent plasma for COVID-19 in future trials. *Clin Microbiol Infect* [Internet]. 2022 Feb; Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1198743X22000507>
132. Vickers MA, Sariol A, Leon J, Ehlers A, Locher A V., Dubay KA, et al. Exponential increase in neutralizing and spike specific antibodies following vaccination of <scp>COVID</scp> - 19 convalescent plasma donors. *Transfusion* [Internet]. 2021 Jul 15;61(7):2099–106. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/trf.16401>
133. Di Germanio C, Simmons G, Thorbrogger C, Martinelli R, Stone M, Gniadek T, et al. Vaccination of <scp>COVID</scp> - 19 convalescent plasma donors increases binding and neutralizing antibodies against <scp>SARS - CoV</scp> - 2 variants. *Transfusion* [Internet]. 2022 Feb 13; Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/trf.16823>

134. Avendaño-Solá C, Ramos-Martínez A, Muñoz-Rubio E, Ruiz-Antorán B, Malo de Molina R, Torres F, et al. A multicenter randomized open-label clinical trial for convalescent plasma in patients hospitalized with COVID-19 pneumonia. *J Clin Invest* [Internet]. 2021 Oct 15;131(20). Available from: <https://www.jci.org/articles/view/152740>



ANEXOS



ANEXO 1. LISTADO DE CENTROS PARTICIPANTES EN EL ESTUDIO

CENTROS	LOCALIZACIÓN
H. U. Marqués de Valdecilla	Santander, CACant, SPAIN
H. San Pedro	Logroño, CALR, SPAIN
H. General U. de Ciudad Real	Ciudad Real, CACM, SPAIN
H. Sant Joan de Deu de Manresa. Fundación Althaia	Manresa, CACat, SPAIN
Banc de Sang i Teixits de Catalunya	Barcelona, CACat, SPAIN
H. U.12 de Octubre	Madrid, CAM, SPAIN
H. General U. de Ciudad Real	Ciudad Real, CACM, SPAIN
H. U. Gregorio Marañón	Madrid, CAM, SPAIN
Complejo H. de Navarra	Pamplona, CAN, SPAIN
Centro de Transfusión de Valencia	Valencia, CAV, SPAIN
H. U. Marqués de Valdecilla	Santander, CACant, SPAIN
H. del Mar	Barcelona, CACat, SPAIN
Banco de Sangre y Tejidos de Cantabria	Santander, CACant, SPAIN
Centro de Transfusión de la Comunidad de Madrid	Madrid, CAM, SPAIN
H. U. Puerta de Hierro Majadahonda	Madrid, CAM, SPAIN
H. U. Arnau de Vilanova	Lleida, CACat, SPAIN
H. U. Son Espases	Palma, CAIB, SPAIN
H. U. Salamanca	Valladolid, CACyL, SPAIN
H. U. Severo Ochoa	Madrid, CAM, SPAIN
H. General U. de Albacete	Albacete, CACM, SPAIN
Centro Hemoterapia y Hemodonación de Castilla y León	Valladolid, CACyL, SPAIN
Clínica Universidad de Navarra	Pamplona, CAN y CAM, SPAIN
Banc de Sang i Teixits de Catalunya	Barcelona, CACat, SPAIN
H. U. Puerta de Hierro Majadahonda	Madrid, CAM, SPAIN
H. U. Miguel Servet	Zaragoza, CAA, SPAIN
H. U. Puerta de Hierro Majadahonda	Madrid, CAM, SPAIN
H. U. Puerta de Hierro Majadahonda	Madrid, CAM, SPAIN
H. General U. de Albacete	Albacete, CACM, SPAIN
H. U. Donostia	Donostia, CAPV, SPAIN
H. U. Son Espases	Palma, CAIB, SPAIN
H. Dr Josep Trueta	Girona, CACat, SPAIN
H. U. Puerta de Hierro Majadahonda	Madrid, CAM, SPAIN
H. U. Clínico San Carlos	Madrid, CAM, SPAIN
Centro de Transfusión-Banco de Sangre de La Rioja	Logroño, CALR, SPAIN
H. Clínico U. de Valladolid	Valladolid, CACyL, SPAIN
H. C. U. Lozano Blesa Zaragoza	Zaragoza, CAA, SPAIN
H. U. La Princesa	Madrid, CAM, SPAIN
H. San Pedro	Logroño, CALR, SPAIN
H. U. Puerta de Hierro Majadahonda	Madrid, CAM, SPAIN
H. U. Puerta de Hierro Majadahonda	Madrid, CAM, SPAIN
Banco de Sangre y Tejidos Aragón	Zaragoza, CAA, SPAIN
H. Dr. Negrín	Las Palmas, CACan, SPAIN
H. U. Puerta de Hierro Majadahonda	Madrid, CAM, SPAIN
H. Clínico U. de Valladolid	Valladolid, CACyL, SPAIN
H. U. Puerta de Hierro Majadahonda	Madrid, CAM, SPAIN
H. del Mar	Barcelona, CACat, SPAIN
H. U. Donostia	Donostia, CAPV, SPAIN

H. U. Clinico San Carlos	Madrid, CAM, SPAIN
H. U. Marqués de Valdecilla	Santander, CACant, SPAIN
H. U. Puerta de Hierro Majadahonda	Madrid, CAM, SPAIN
H. U. Príncipe de Asturias	Madrid, CAM, SPAIN
H. Sant Joan de Deu de Manresa. Fundació Althaia	Manresa, CACat, SPAIN
H. U. Donostia	Donostia, CAPV, SPAIN
Complejo H. de Navarra	Pamplona, CAN, SPAIN
H. San Pedro	Logroño, CALR, SPAIN
Banco de Sangre y Tejidos de Navarra	Pamplona, CAN, SPAIN
H. U. La Princesa	Madrid, CAM, SPAIN
Plataforma ISCIII de apoyo a los ensayos clínicos	Madrid, CAM, SPAIN
H. General U. de Ciudad Real	Ciudad Real, CACM, SPAIN
Centro de Transfusión de Albacete y Cuenca	Albacete, CACM, SPAIN
H. Dr. Negrin	Las Palmas, CACan, SPAIN
H. del Mar	Barcelona, CACat, SPAIN
Centro Hemoterapia y Hemodonación de Castilla y León	Valladolid, CACyL, SPAIN
H. General U. de Ciudad Real	Ciudad Real, CACM, SPAIN
H. U. Marqués de Valdecilla	Santander, CACant, SPAIN
H. U. Miguel Servet	Zaragoza, CAA, SPAIN
H. Dr. Negrín	Las Palmas, CACan, SPAIN
H. General U. de Albacete	Albacete, CACM, SPAIN
Centro de Transfusión de Albacete y Cuenca	Albacete, CACM, SPAIN
H. U. Donostia	Donostia, CAPV, SPAIN
Banc de Sang i Teixits de Catalunya	Barcelona, CACat, SPAIN
H. U. Miguel Servet	Zaragoza, CAA, SPAIN
H. General U. de Ciudad Real	Ciudad Real, CACM, SPAIN
Fundacio Banc de Sang i Teixits Illes Balears	Palma, CAIB, SPAIN
Centro de Transfusión de Albacete y Cuenca	Albacete, CACM, SPAIN
H. U. Arnau de Vilanova	Lleida, CACat, SPAIN
H. del Mar	Barcelona, CACat, SPAIN
H. U. Puerta de Hierro Majadahonda	Madrid, CAM, SPAIN
H. U. Salamanca	Valladolid, CACyL, SPAIN
Centro de Transfusión de las Fuerzas Armadas	Madrid, CAM, SPAIN
H. U.12 de Octubre	Madrid, CAM, SPAIN
H.U. HM Sanchinarro	Madrid, CAM, SPAIN
H. U.12 de Octubre	Madrid, CAM, SPAIN
H. U. Gregorio Marañón	Madrid, CAM, SPAIN
Centro de Transfusión de Ciudad Real	Ciudad Real, CACM, SPAIN
H. U. Puerta de Hierro Majadahonda	Madrid, CAM, SPAIN
H. U.12 de Octubre	Madrid, CAM, SPAIN
H. U. Arnau de Vilanova	Lleida, CACat, SPAIN
Centro Hemoterapia y Hemodonación de Castilla y León	Valladolid, CACyL, SPAIN
H. U. Ramón y Cajal	Madrid, CAM, SPAIN
Complejo Asistencial U. de León	León, CACyL, SPAIN
H. U.12 de Octubre	Madrid, CAM, SPAIN
Instituto Canario de Hemodonación	Las Palmas, CACan, SPAIN
H. General U. de Albacete	Albacete, CACM, SPAIN
H. General U. de Valencia	Valencia, CAV, SPAIN
H. Dr Josep Trueta	Girona, CACat, SPAIN
Complejo H. de Navarra	Pamplona, CAN, SPAIN

H. C. U. Lozano Blesa Zaragoza	Zaragoza, CAA, SPAIN
H. U. Ramón y Cajal	Madrid, CAM, SPAIN
Complejo Asistencial U. de León	León, CACyL, SPAIN
H. U. Puerta de Hierro Majadahonda	Madrid, CAM, SPAIN
Banc de Sang i Teixits de Catalunya	Barcelona, CACat, SPAIN
Centro de Transfusión de Ciudad Real-H G U Ciudad Real	Ciudad Real, CACM, SPAIN
H. U. Son Espases	Palma, CAIB, SPAIN
Centro Comunitario de Sangre y Tejidos de Asturias	Oviedo, CAPA, SPAIN
H. San Pedro	Logroño, CALR, SPAIN
H. U.12 de Octubre	Madrid, CAM, SPAIN
Complejo Hospitalario de Toledo	Toledo, CACM, SPAIN
H. C. U. Lozano Blesa Zaragoza	Zaragoza, CAA, SPAIN
H. U. Puerta de Hierro Majadahonda	Madrid, CAM, SPAIN
Clínica Universidad de Navarra	Pamplona, CAN y CM, SPAIN
H.U. HM Sanchinarro	Madrid, CAM, SPAIN
H. Clínico U. de Valladolid	Valladolid, CACyL, SPAIN
H. U. Puerta de Hierro Majadahonda	Madrid, CAM, SPAIN
Centro de Transfusión-Banco de Sangre de La Rioja	Logroño, CALR, SPAIN
H. General U. de Ciudad Real	Ciudad Real, CACM, SPAIN
H. General U. de Valencia	Valencia, CAV, SPAIN
Clínica Universidad de Navarra	Pamplona, CAN y CAM, SPAIN
Centro de Transfusión de las Fuerzas Armadas	Madrid, CAM, SPAIN
H. U. Puerta de Hierro Majadahonda	Madrid, CAM, SPAIN
H. U. Gregorio Marañón	Madrid, CAM, SPAIN
Complejo Hospitalario de Toledo	Toledo, CACM, SPAIN
H. U. Puerta de Hierro Majadahonda	Madrid, CAM, SPAIN
H. U. Marqués de Valdecilla	Santander, CACant, SPAIN
Centro de Transfusión de Albacete y Cuenca	Albacete, CACM, SPAIN
Complejo H. de Navarra	Pamplona, CAN, SPAIN
H. U. Puerta de Hierro Majadahonda	Madrid, CAM, SPAIN
Centro de Transfusión-Banco de Sangre de La Rioja	Logroño, CALR, SPAIN
Clínica Universidad de Navarra	Pamplona, CAN y CAM, SPAIN
H. U. Clínico San Carlos	Madrid, CAM, SPAIN
H. U. Puerta de Hierro Majadahonda	Madrid, CAM, SPAIN
H. U. Salamanca	Valladolid, CACyL, SPAIN
Complejo Hospitalario de Toledo	Toledo, CACM, SPAIN
H. U. Arnau de Vilanova	Lleida, CACat, SPAIN
H. Dr. Negrín	Las Palmas, CACan, SPAIN
H. U. Clínico San Carlos	Madrid, CAM, SPAIN
H. San Pedro	Logroño, CALR, SPAIN
Centro de Transfusión-Banco de Sangre de La Rioja	Logroño, CALR, SPAIN
H. U. Clinic	Barcelona, CACat, SPAIN
Centro Vasco de Transfusiones y Tejidos Humanos	San Sebastian, CAPV, SPAIN
Plataforma ISCIII de apoyo a los ensayos clínicos	Madrid, CAM, SPAIN
Plataforma ISCIII de apoyo a los ensayos clínicos	Madrid, CAM, SPAIN
H. U. La Princesa	Madrid, CAM, SPAIN
Complejo Asistencial U. de León	León, CACyL, SPAIN
H.U. HM Sanchinarro	Madrid, CAM, SPAIN
H. U.12 de Octubre	Madrid, CAM, SPAIN

ANEXO 2. PROTOCOLO DEL ESTUDIO

Multi-center, Randomized Clinical Trial of Convalescent Plasma Therapy Versus Standard of Care for the Treatment of COVID-19 in Hospitalized Patients

Sponsor Code: ConPlas-19
Version: v3.1
Date: 30/09/2020
Sponsor: Fundación para la Investigación Biomédica del Hospital
Universitario Puerta de Hierro Majadahonda
CT Number: NCT04345523
Funded by: Instituto de Salud Carlos III

CONFIDENTIAL

This document contains confidential information belonging to FIBHUPH. Acceptance of this document constitutes your agreement that the information contained herein will not be disclosed or anyway communicated to any third part.

PROTOCOL APPROVAL SIGNATURES

Sponsor Representative:

Name: Cristina Avendaño Solá

Position: Project Co-Coordinator

Date: 30/09/2020

Signature:

Principal Investigators:

Name: Cristina Avendaño Solá Rafael F. Duarte Palomino

Date: 30/09/2020 30/09/2020

Signature:

Clinical Trial National Coordinator:

Name: Antonio Ramos Martínez

Date: 30/09/2020

Signature:

Clinical Site Principal Investigator:

Name:

Clinical site:

Date:

Signature:



KEY TRIAL CONTACTS

Sponsor	<p>Fundación para la Investigación Biomédica del Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda C/ Joaquín Rodrigo, 2 Edificio Laboratorios Planta Baja. 28222 Majadahonda. Madrid Phone: 91 191 76 45 Sponsor Representative : Cristina Avendaño Solà, MD, PhD Servicio de Farmacología Clínica. Hospital Univ. Puerta de Hierro Majadahonda Phone: 91 191 64 79 E-mail: cavendano@salud.madrid.org</p>
Project Principal Investigators:	<p>Cristina Avendaño Solà, MD, PhD Servicio de Farmacología Clínica. Hospital Univ. Puerta de Hierro Majadahonda C/ Manuel de Falla 1. 28222 Majadahonda, Madrid Phone: 91 191 64 79 E-mail: cavendano@salud.madrid.org</p> <p>Rafael F. Duarte Palomino, MD, PhD, FRCP(Lon) Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Univ. Puerta de Hierro Majadahonda C/ Manuel de Falla 1, 28222 Majadahonda, Madrid Phone: 91 191 6662 E-mail: rafael.duarte@salud.madrid.org</p>
Clinical Trial National Coordinator Coordinator WP #1: Clinical Management of COVID-19 Patients	<p>Antonio Ramos MD, PhD Servicio de Medicina Interna. Unidad de Enfermedades Infecciosas. Hospital Univ. Puerta de Hierro Majadahonda C/ Manuel de Falla 1. 28222 Majadahonda, Madrid E-mail: aramos220@gmail.com</p>
Coordinator WP #2: COVID-19 Convalescent Plasma Production	<p>José Luis Bueno, MD Unidad de Hemoterapia No transfusional y Aféresis terapéutica. Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Univ. Puerta de Hierro Majadahonda C/ Joaquín Rodrigo, 2 Edificio Laboratorios, Segunda Planta. 28222 Majadahonda, Madrid E-mail: joseluis.bueno@salud.madrid.org</p>



Coordinator WP #4: Virology and Immunology Analysis. Central Lab facilities	Inmaculada Casas Flecha, PharmD, PhD Unidad de Gripe y Virus Respiratorios, Laboratorio de Referencia de Gripe. Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III. Carretera Majadahonda-Pozuelo km2 Majadahonda 28220 Madrid Phone: 91 822 34 15. E-mail: icasas@isciii.es
Statistical Analysis	Ferrán Torres, MD, PhD Servicio de Farmacología Clínica. Hospital Clínic Barcelona. E-mail: Ferran.Torres@uab.cat
Project Manager and Monitoring	Ana Velasco Iglesias, MSc, PhD Tel: +34 91 191 7867 E-mail: ana.velasco@scren.es Alvaro Veiga Tel: +34 91 191 6669 E-mail: alvaro.veiga@scren.es SCREn, IIS Puerta de Hierro - Segovia de Arana C/ Joaquín Rodrigo 2. 28222. Majadahonda. Madrid

COMMITTEES AND TRIAL ORGANIZATION

Steering Committee	<p>Dr. Rafael Duarte Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda</p> <p>Dr. Antonio Ramos Departamento de Medicina Interna. Unidad de Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda</p> <p>Dr. José Luis Bueno Unidad de Hemoterapia No transfusional y Aféresis terapéutica. Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda</p> <p>Dr. Elena Múñez Departamento de Medicina Interna. Unidad de Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda</p> <p>Dr. Cristina Avendaño Solà Servicio de Farmacología Clínica. Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda</p> <p>Dr. Belén Ruiz-Antorán Servicio de Farmacología Clínica. Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda</p>
---------------------------	--



	<p>Dr. Rosa Malo de Molina Servicio de Neumología. Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda</p> <p>Dr. Ferrán Torres Servicio de Farmacología Clínica. Hospital Clínic Barcelona. Medical Statistics core facility - IDIBAPS.</p> <p>Dr. Inmaculada Casas Flecha Unidad de Gripe y Virus Respiratorios, Laboratorio de Referencia de Gripe. Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III</p>
<p>Data Safety Monitoring Board (DSMB)</p>	<p>Dr. Arantxa Sancho López Servicio de Farmacología Clínica. Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda</p> <p>Dr. Emilio Ojeda Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda</p> <p>Dr. José Ríos Unidad de Bioestadística. Universidad Autónoma de Barcelona Medical Statistics core facility - IDIBAPS.</p> <p>Dr. Carlos Vilches Inmunogenética – HLA. Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda</p> <p>Dr. Juan Antonio Vargas Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda</p>

Steering Committee (SC)

Composed by the coordinators and the sponsor representative. The SC will supervise the trial conduct and is responsible for the scientific validity of the study. The SC is responsible for the decision to make recommendations about including adding or removing treatment arms.

Data Safety and Monitoring Board (DSMB)

A Data Safety Monitoring Board (DSMB), independent from the clinical trial, will be appointed to perform an independent supervision of the safety aspects of the trial. The DSMB will have 5 members including at least one expert in clinical trial methodology and statistics, and one infectious diseases specialist independent from the study team. The DSMB will be established before the start of the trial and will follow the procedures established in the “DSMB Charter”.

The DSMB will review safety data after first 20 subjects are entered into the trial and when 20%, 40%, 60% and 80% of the patients have reached the 15 days follow up. Ad hoc reviews will be undertaken at any time if there are other specific safety concerns. The study will not stop enrollment awaiting these DSMB reviews, though the DSMB may recommend temporary or permanent cessation of enrollment based on their safety reviews.

The DSMB will be also in charge to review the efficacy and futility analysis which will be conducted when 20%, 40%, 60% and 80% of the patients have been assessed the principal endpoint. Statistical stopping boundaries are predefined and described in this working protocol (see section 11.2), and the study may be stopped prematurely if either the efficacy or the futility of the boundaries are crossed. Although the DSMB will review data in an unblinded manner, the date of the SAP closure will be set before the first unblinded review so that the study will maintain the integrity and will avoid any operational bias. Any potential analysis amendment will be traced and justified, if applicable. The study followed the regulatory recommendations regarding the functions and procedures of these committees¹.

1 CHMP/EWP/5872/03 Corr. Guideline on Data Monitoring Committees. URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-data-monitoring-committees_en.pdf, last access: 20-Mar-2020.



TABLE OF CONTENTS

1 TRIAL SUMMARY	9
2 INTRODUCTION	15
2.1 Study Rationale.....	15
2.2 Background.....	15
3 OBJETIVES AND ENDPOINTS.....	17
4 TRIAL DESIGN	20
4.1 Overall Design.....	20
4.2 Scientific Rationale for Study Design.....	21
4.3 Study settings	21
4.4 Duration of Study Participation.....	21
5 STUDY POPULATION	21
5.1 Inclusion Criteria.....	21
5.2 Exclusion Criteria	22
6 STUDY PRODUCT	22
6.1 Investigational Therapeutic.....	22
6.2 Preparation/Handling/Storage/Accountability	24
6.3 Formulation, Appearance, Packaging, and Labelling	24
6.4 Product Storage and Stability.....	25
7 MEASURES TO MINIMIZE BIAS: RANDOMIZATION AND BLINDING.....	25
7.1 Study Intervention Compliance.....	25
7.2 Concomitant Therapy.....	25
7.3 Rescue Medicine.....	25
7.4 Non-Research Standard of Care	25
8 STUDY INTERVENTION DISCONTINUATION AND SUBJECT DISCONTINUATION/WITHDRAWAL	26
8.1 Study Halting for Safety.....	26
8.2 Withdrawal from Randomized Treatment or from the Study	26
8.3 Discontinuation of Study Drug	26
8.4 Withdrawal of Patients from the Study.....	26
9 ASSESSMENTS AND PROCEDURES	27
9.1 Screening Procedures	27
9.2 Visit 1 (Treatment).....	27



9.3	Efficacy Assessments (follow-up visits)	28
9.4	Viral and Immunology Shedding.....	28
9.5	Safety Assessments	28
9.6	Schedule of Procedures	29
9.7	Rehospitalization Substudy	30
10	PHARMAOVIGILANCE/HEMOVIGILANCE.....	30
10.1	Definition of Adverse Event (AE)	30
10.2	Definition of Serious Adverse Event (SAE)	31
10.3	Adverse events of Special Interest	31
10.4	Relationship to Study Intervention.....	32
10.5	Hemovigilance	32
11	STATISTICS AND DATA ANALYSIS.....	32
11.1	General Remarks	32
11.2	Sample size calculation.....	33
11.3	Data Review (DR)	34
11.4	Analysis populations	34
11.5	Randomisation Procedure	35
11.6	Descriptive analysis	35
11.7	Inferential analysis.....	35
11.8	Primary endpoint.....	35
	11.8.1 Secondary endpoints and safety outcomes.....	36
	11.8.2 General strategy for the rest of variables.....	37
11.9	Multiplicity adjustments and interim analysis	37
11.10	Study Estimand and Handling of Missing Data.....	37
11.11	Subgroup analysis	38
12	SUPPORTING DOCUMENTATION AND OPERATIONAL CONSIDERATIONS.....	38
12.1	Regulatory, Ethical, and Study Oversight Considerations.....	38
12.2	Informed Consent Process.....	39
12.3	Study Termination and Closure	39
12.4	Confidentiality and Privacy	39
12.5	Safety Oversight.....	40
12.6	Clinical Monitoring.....	40
12.7	Publication	41
13	APPENDICES	41
	Appendix 1. Participating Investigation sites	42
	Appendix 2. Regional Transfusion Centers	45
	Appendix 3. Rehospitalization Substudy Protocol.....	47
14	REFERENCES	52



1 TRIAL SUMMARY

Study Title	Multi-center, Randomized Clinical Trial of Convalescent Plasma Therapy Versus Standard of Care for the Treatment of COVID-19 in Hospitalized Patients
CT Number	NCT04345523
Rationale and Justification Summary	<p>Convalescent plasma (CP) from infected patients who have developed an immune response is likely to be an option for the treatment of patients with a variety of severe acute respiratory infections (SARI) of viral etiology. This would include patients in the most recent epidemics with coronaviruses, SARS1 in 2003 and MERS in 2012, and potentially as well patients in the current COVID-19 pandemic. Despite suggesting safety and potential efficacy, the evidence available has a major limitation of being based on predominantly low-quality uncontrolled studies. Here we present a summary of the rationale and justification to carry out a multicenter, randomized clinical trial of CP therapy in COVID-19 hospitalized patients.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Passive Immunotherapy of viral SARI with CP: Passive immunotherapy involves the administration of antibodies against a given agent to a susceptible individual for the purpose of preventing or treating an infectious disease caused by that agent. CP has been historically used in outbreaks of poliomyelitis, measles, mumps, influenza (1918 H1N1 and 2009-2010 H1N1), 2013 Ebola. In addition, although less readily available and requiring more complex manufacturing than CP, conventional and hyperimmune immunoglobulins are used in clinical practice in a number of infections such as respiratory syncytial virus, hepatitis B and others. <ul style="list-style-type: none"> ▪ Currently, the only source of antibody available for immediate use against SARS-CoV-2 is human CP. ▪ In addition, as more individuals contract COVID-19 and recover, the number of potential donors will continue to increase in all areas where COVID-19 epidemic is present. - Use of CP against coronavirus diseases: The experience with SARI caused by coronavirus is rather recent in a number of epidemics in the twenty-first century: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Human CP was used in patients from both SARS-1 in 2003 and MERS in 2012. Overall, the experience showed that CP is safe and likely to reduce mortality in patients with SARI by coronaviruses. Of note, the largest study with 80 patients with SARS in Hong-Kong in 2003, and subsequent meta-analyses, showed that earlier administration after symptom onset is more effective, in particular before day 14, before seroconversion in patients who remain PCR positive. ▪ The success of CP therapy may be limited by the fact that not all patients who recover from viral disease develop neutralizing antibodies. (e.g. 12% of SARS-1 patients do not). Thus, antibody content should be tested in convalescent patients to select adequate donors. ▪ Finally, in the current SARS-CoV-2 epidemic, China has recently communicated in the media that 245 COVID-19 patients have received CP, starting with the first patient on February 9th, and with preliminary reports of improvement in clinical indicators and symptoms [http://www.xinhuanet.com/english/2020-02/28/c_138828177.htm].



- **Balancing benefit and potential risks of CP in COVID-19 patients:** The efficacy and safety of the therapeutic use of CP in COVID-19 patients cannot be inferred without carrying out a controlled clinical trial. In the current scenario of low-quality uncontrolled studies, treatment appears to be safe and well tolerated, and to associate with improved outcomes. However, a number of potential risks must be considered in the planning of this trial:

- With modern blood banking techniques, the **risks of transfusion would be low.**
- In patients with pulmonary disease as the ones we will include in this trial, a particular risk of the use of human plasma is the **development of TRALI** (transfusion-related acute lung injury), which should be considered in the criteria to select CP donors.
- There is a potential risk that virus-specific IgG, despite its likely contribution to viral clearance, could also be involved in the severe lung inflammatory damage seen in a minority of infected patients. This process, named **antibody-dependent enhancement of disease (ADE)**, has been normally seen at later stages of infection in critical patients in intensive care units, and in Asian COVID-19 patients who may have been exposed before and had antibodies against other coronaviruses. Of note, **large anecdotal evidence from CP use in 245 patients with COVID-19 in China suggest it is safe.** However, this is in a non-controlled fashion and without a full scientific report as yet.

Hence, for the design of our trial, we **exclude critical patients with more advanced lung involvement** on mechanical ventilation, who are overall less likely to respond to passive immunotherapy and more likely to develop ADE, and propose an **earlier intervention with CP in the course of the disease** based on severity and time from admission to hospital and onset of symptoms.

In summary, historical and current anecdotal data suggest that the use of **CP is safe in coronavirus infection** and the high severity and mortality of COVID-19 suggests that the **benefits of its use in those with early disease clearly outweigh the risks** to be tested in a clinical trial.

From this background and rationale, we aim to focus this study on **hospitalized patients with severe COVID-19 who still have an early form of the disease**, rather than as a last resort in patients with critical illness who require mechanical ventilation in whom it may be less effective and more prone to immune-mediated adverse-events. In the midst of a worldwide pandemic of SARS-CoV-2 and COVID-19, for which we currently have no available vaccines or drugs, CP represents a potential therapeutic option with a **favorable benefit/risk balance for these patients.** CP could be **rapidly available in any areas where there are sufficient numbers of patients** who have recovered. Its potential efficacy and safety should be tested in a randomized, controlled study, as recommended by the WHO R&D Blueprint and Master Protocol for COVID-19 Therapeutic Trials, from which we can obtain **strong evidence to inform decisions worldwide.**

Key References:

- Arabi YM, et al. Feasibility of using convalescent plasma immunotherapy for MERS-CoV infection, Saudi Arabia. *Emerging Infect Dis.* 2016;22 (9):1554–1561. PMID: 27532807.
- Casadevall A and Pirofski LA. The convalescent sera option for containing COVID-19. *J Clin Invest.* 2020 Mar 13; PMID: 32167489.



	<ul style="list-style-type: none"> - Cheng Y, et al. Use of convalescent plasma therapy in SARS patients in Hong Kong. <i>Eur J Clin Microbiol Infect Dis</i>. 2005;24(1):44–46. PMID: 15616839. - Fu Y, et al. Understanding SARS-CoV-2-Mediated Inflammatory Responses: From Mechanisms to Potential Therapeutic Tools. <i>Virologica Sinica</i>. 2020 Mar 3; PMID: 32125642. - Mair-Jenkins J, et al. The effectiveness of convalescent plasma and hyperimmune immunoglobulin for the treatment of severe acute respiratory infections of viral etiology: a systematic review and exploratory meta-analysis. <i>J Infect Dis</i>. 2015;211:80-90. PMID: 25030060. - Tetro JA. Is COVID-19 receiving ADE from other coronaviruses? <i>Microbes Infect</i>. 2020;22(2):72-73. PMID: 32092539. - Zhang JS, et al. A serological survey on neutralizing antibody titer of SARS convalescent sera. <i>J Med Virol</i>. 2005;77(2):147–150. PMID: 16121363.
Trial Design	<p>A multi-center, randomized, clinical trial with two arms to study the efficacy and safety of passive immunotherapy with CP compared to a control of standard of care (SOC).</p> <p>All trial participants will receive SOC:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Treatment arm: Pathogen-reduced CP from patients recovered from COVID-19, whom, for the purpose of this trial, are herein designated as donors. - Control arm: SOC for COVID-19. <p>Randomization among the two arms will be 1:1 and will be stratified per center.</p> <p>Of note, in the current status of a worldwide pandemic for which we have no approved vaccines or drugs, for the purpose of this trial SOC would also accept any drugs that are being used in clinical practice (e.g. remdesivir, corticosteroids, tocilizumab, etc.), other than those used as part of another clinical trial.</p> <p>The study is planned with a sequential design. Interim analyses: comprehensive safety data monitoring analyses will be conducted when 20%, 40%, 60% and 80% of patients, or at the discretionary DSMB criteria when needed. A DSMB charter will be set before the trial initiation where criteria for prematurely stopping the trial due to safety issues will be set. Interim analyses will be predefined upfront based on the DSMB recommendations.</p>
Participant centers	<p>32 hospitals of regions in Spain with a high incidence of COVID-19.</p> <p>Laboratorio de Virus Respiratorios, Laboratorio de Serología and AIDS Immunopathology Unit. Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III (ISCIII).</p> <p>Transfusion Centers.</p>
Trial Participants	Hospitalized adult (≥ 18 years old) patients with severe COVID-19 not requiring mechanical ventilation (invasive or non-invasive).
Planned Sample Size	278 patients (1:1 ratio for CP: Control arm). Also, approximately 140-200 CP donors.
Follow-up duration	60 days after randomization.
Trial Period	12 months in total
Primary Objective	To evaluate the clinical efficacy of CP plasma versus SOC



Secondary Objective	<ul style="list-style-type: none"> - To evaluate effects of CP on secondary efficacy endpoints, including all-cause mortality and respiratory deterioration with progression to mechanical ventilation, as compared to standard of care. - To evaluate safety of CP as compared to standard of care.
Exploratory Objective	<ul style="list-style-type: none"> - To evaluate the virologic efficacy of CP as compared to the SOC. - To evaluate the serologic conversion of COVID-19 patients. - To evaluate COVID-19 antibody titers in donor CP and impact on outcomes. - Impact of patient virologic state and seroconversion at the time of infusion on outcomes. - To study neutralizing antibodies against COVID-19 in donor and patients and their impact with the efficacy of CP and clinical outcomes - To evaluate feasibility of a model of CP timely procurement and supply in the Spanish National Health System.
Primary Endpoint	<p>Proportion of patients in categories 5, 6 or 7 of the 7-point ordinal scale at day 15.</p> <p>Ordinal scale:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Not hospitalized, no limitations on activities. 2. Not hospitalized, limitation on activities. 3. Hospitalized, not requiring supplemental oxygen. 4. Hospitalized, requiring supplemental oxygen. 5. Hospitalized, on non-invasive ventilation or high flow oxygen devices. 6. Hospitalized, on invasive mechanical ventilation or ECMO. 7. Death.
Secondary Endpoints	<p><u>Clinical Severity</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Ordinal scale (see 7-point ordinal scale above): <ul style="list-style-type: none"> o Status at day 30 o Time to category 5, 6 or 7 of the ordinal scale. o Time to an improvement of one category from admission on the ordinal scale. o Time to first deterioration o Mean change in the ranking on an ordinal scale from baseline to days 3, 5, 8, 11, 15, 29 and 60. - Ordinal scale of 11 points: <ul style="list-style-type: none"> o Mean change in the ranking on an ordinal scale from baseline to days 3, 5, 8, 11, 15, 29 and 60 o Status at day 15 and 30 o Ordinal scale of 11 points (Clinical progression scale) : <ol style="list-style-type: none"> 0. Uninfected ; no viral RNA detected. 1. Asymptomatic; viral RNA detected, limitation on activities. 2. Symptomatic; independent 3. Symptomatic; assistance needed 4. Hospitalized, no oxygen therapy. 5. Hospitalized, oxygen by mask or nasal prongs 6. Oxygen by mask or nasal prongs 7. Intubation and mechanical ventilation, pO₂/FiO₂ ≥150 or SpO₂/FiO₂ ≥200 8. Mechanical ventilation pO₂/FiO₂ <150 (SpO₂/FiO₂ <200) or vasopressors 9. Mechanical ventilation pO₂/FiO₂ <150 and vasopressors, dialysis, or ECMO 10. Dead



<p>Secondary Endpoints</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Mortality at 15, 29 and 60 days. - Oxygenation free days in the first 28 days (day 29). - Ventilator free days in the first 28 days (day 29). - Duration of hospitalization (days). - Incidence of thrombotic arterial events - Incidence of thrombotic venous events - Rate of rehospitalizations. - Serum level of CRP, lymphocyte count, LDH, D Dimer, IL-6, CPK, troponine, platelets, coagulation tests at baseline and days 3, 5, 8, 11, 15, 29 and 60. <p><u>Safety through day 60</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Infusion-related adverse events - Cumulative incidence of serious adverse events (SAEs) - Cumulative incidence of Grade 3 and 4 adverse events (AEs). <p><u>Virology and Immunology endpoints</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Qualitative and quantitative PCR for SARS-CoV-2 in naso/oropharyngeal swabs at baseline and at discharge. - Qualitative and quantitative PCR for SARS-CoV-2 in blood at baseline and on days 3, 5, 8, 11, 15, 29 and 60 (while hospitalization). - Quantitative total antibodies at baseline and on days 8, 15, 29 and 60 (while hospitalization). - Neutralizing titer in patients at baseline. - Assessment of the neutralizing antibody activity against SARS-CoV-2 in the sera from donors using viral pseudotypes. - Assessment of neutralizing antibodies against SARS-CoV-2 in the sera from donors using VMNT-ID50
<p>Main Inclusion Criteria</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Written informed consent prior to performing study procedures. Witnessed oral consent will be accepted in order to avoid paper handling. Written consent by patient or representatives will be obtained as soon as possible. 2. Male or female adult patient ≥ 18 years of age at time of enrolment. 3. Has laboratory-confirmed SARS-CoV-2 infection as determined by PCR test in naso/oropharyngeal swabs or any other relevant specimen obtained in the ongoing COVID-19 symptomatic period. Alternative tests (i.e rapid antigenic tests) are also acceptable as laboratory confirmation if their adequate specificity has been accepted by the sponsor 4. Patients requiring hospitalization for COVID-19 without mechanical ventilation (invasive or non-invasive) or high flow oxygen devices and at least one of the following: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Radiographic evidence of pulmonary infiltrates by imaging (chest x-ray, CT scan, etc.), OR ▪ Clinical assessment (evidence of rales/crackles on exam) AND SpO₂ \leq 94% on room air that requires supplemental oxygen. 5. No more than 7 days between the onset of symptoms (fever or cough) and treatment administration day.



Main Exclusion Criteria	<ol style="list-style-type: none"> 1. Requiring mechanical ventilation (invasive or non-invasive) or high flow oxygen devices at screening. 2. More than 7 days since symptoms (fever or cough). 3. Participation in any other clinical trial of an experimental treatment for COVID-19. 4. In the opinion of the clinical team, progression to death is imminent and inevitable within the next 24 hours, irrespective of the provision of treatments. 5. Any incompatibility or allergy to the administration of human plasma. 6. Stage 4 severe chronic kidney disease or requiring dialysis (i.e. eGFR <30).
Investigational Product	Convalescent plasma (CP) from patients recovered from COVID-19.
Dose	Patients will receive a single unit of plasma (250-300 mL; CP) after randomization on day 1.
Control arm	Standard of Care
Convalescent Plasma Donor Selection	<ul style="list-style-type: none"> - Convalescent donor selection and plasma production will be coordinated by the trial's WP #2 and Steering Committee. Logistic differences should adapt to the structure at a regional level: <ul style="list-style-type: none"> ○ Convalescent COVID-19 donor identification and recruitment will be carried out in collaboration among <i>Servicios de Transfusión Hospitalarios, Centros de Transfusión, Departamentos de Salud Pública</i> and <i>Consejerías de Sanidad</i>. ○ Donor assessment, plasma collection, inactivation and production will be carried out in collaboration between <i>Servicios de Transfusión Hospitalarios</i> and <i>Centros de Transfusión</i>. A common protocol for CP production will be shared and followed by all participating centers. As a general guidance for this synopsis, preliminary criteria for patients recovered from COVID-19 to be selected as CP donors would be: <ul style="list-style-type: none"> - Inclusion criteria: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Willing and able to provide written informed consent. ▪ Fulfilling all the current requirements to be a plasma apheresis donor according to our regulations for donation of blood products (European Guidelines and RD 1088/2005 in Spain). ▪ Absence of COVID-19 symptoms within the last 14 days. ▪ Anti SARS-CoV-2 antibodies detectable in peripheral blood. ▪ ≥18 years of age at time of donation. ▪ Weight >50 kg and good vein access are standard criteria, for which exceptions could be considered according to the criteria of the blood bank and hematologist. - Exclusion criteria: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Plasmapheresis in the previous seven days. ▪ Whole blood donation in the previous 30 days. ▪ Donation of more than 25 liters of plasma in the previous 12 months. ▪ With the intention to minimize the risk of TRALI (transfusion related acute lung injury), an additional exclusion criteria would be for previously transfused donors, and women currently or previously pregnant, including miscarriages.

2 INTRODUCTION

2.1 Study Rationale

COVID-19 is a respiratory disease caused by a novel coronavirus (SARS-CoV-2) and causes substantial morbidity and mortality. There is currently no vaccine to prevent COVID-19 or infection with SARS-CoV-2 or therapeutic agent to treat COVID-19. This clinical trial is designed to evaluate passive immunotherapy with Convalescent plasma for the treatment of adult patients hospitalized with COVID-19.

2.2 Background

Convalescent plasma (CP) from infected patients who have developed an immune response is **likely to be an option for the treatment of patients with a variety of severe acute respiratory infections (SARI) of viral etiology**. This would include patients in the most recent epidemics with coronaviruses, SARS1 in 2003 and MERS in 2012, and **potentially as well patients in the current COVID-19 pandemic**. Despite suggesting safety and potential efficacy, the evidence available has a major limitation of being based on **predominantly low-quality uncontrolled studies**. Here we present a summary of the **rationale and justification to carry out a multicenter, adaptive, randomized clinical trial of CP therapy in COVID-19 hospitalized patients**.

Passive Immunotherapy of viral SARI with CP: Passive immunotherapy involves the administration of antibodies against a given agent to a susceptible individual for the purpose of preventing or treating an infectious disease caused by that agent. CP has been historically used in outbreaks of poliomyelitis, measles, mumps, influenza (1918 H1N1 and 2009-2010 H1N1), 2013 Ebola. In addition, although less readily available and requiring more complex manufacturing than CP, conventional and hyperimmune immunoglobulins are used in clinical practice in a number of infections such as respiratory syncytial virus, hepatitis B and others.

- Currently, the **only source of antibody available for immediate use** against SARS-CoV-2 is human CP.
- In addition, as more individuals contract COVID-19 and recover, the **number of potential donors will continue to increase** in all areas where COVID-19 epidemic is present.

Use of CP against coronavirus diseases: The experience with SARI caused by coronavirus is rather recent in a number of epidemics in the twenty-first century:

- Human CP was used in patients from both SARS-1 in 2003 and MERS in 2012. Overall, the experience showed that **CP is safe and likely to reduce mortality in patients with SARI by coronaviruses**. Of note, the largest study with 80 patients with SARS in Hong-Kong in 2003, and subsequent meta-analyses, showed that **earlier administration after symptom onset**



is **more effective**, in particular before day 14, before seroconversion in patients who remain PCR positive.

- The success of CP therapy may be limited by the fact that **not all patients who recover from viral disease develop neutralizing antibodies**. As many as 12% of patients with SARS do not develop neutralizing antibodies. Thus, they should be tested to select adequate donors.
- Finally, in the current SARS-CoV-2 epidemic, China has recently communicated in the media that **245 COVID-19 patients have received CP**, starting with the first patient on February 9th, and with preliminary reports of improvement in clinical indicators and symptoms [http://www.xinhuanet.com/english/2020-02/28/c_138828177.htm].

Balancing benefit and potential risks of CP in COVID-19 patients: The efficacy and safety of the therapeutic use of CP in COVID-19 patients **cannot be inferred without carrying out a controlled clinical trial**. In the current scenario of low-quality uncontrolled studies, treatment appears to be safe and well tolerated, and to associate with improved outcomes. However, a number of potential risks must be considered in the planning of this trial:

- With modern blood banking techniques, the **risks of transfusion would be low**.
- In patients with pulmonary disease as the ones we will include in this trial, a particular risk of the use of human plasma is the **development of TRALI** (transfusion-related acute lung injury), which should be considered in the criteria to select CP donors.
- The theoretical risk of **antibody-dependent enhancement of disease (ADE)**, has been suggested in Asian COVID-19 patients who may have been exposed before to other coronaviruses. However, early use of CP and selection of donors with antibodies against SARS-CoV-2 make the risk of ADE very unlikely in our proposal. It will of course be analyzed, but anecdotal evidence from CP use in 245 patients with COVID-19 in China suggest it is safe. It has been speculated that appearance of virus-specific IgG, despite its likely contribution to virus clearance, could also be involved in the severe lung inflammatory damage seen in a minority of infected patients. In this situation, administration of convalescent plasma could be potentially harmful and potentiate ADE. This potential risk would be minimized selecting patients in whom seroconversion has not yet taken place and are not suffering from severe lung infiltration/inflammation. Of note, large anecdotal evidence from CP use in 245 patients with COVID-19 in China suggests that it is safe. However, this is in a non-controlled fashion and without a full scientific report as yet.

Hence, for the design of our trial, we **excluded critical patients with more advanced lung involvement** on mechanical ventilation, who are overall less likely to respond to passive immunotherapy and more likely to develop ADE, and **propose an earlier intervention with CP in the course of the disease** based on severity and time from admission to hospital and onset of symptoms.



In summary, the historical and current anecdotal data suggest that the use of **CP is safe in coronavirus infection**, and the high severity and mortality of COVID-19 suggests that the **benefits of its use in those with early disease clearly outweigh the risks**.

From this background and rationale, we aim to focus this study on **hospitalized patients still with an early form of COVID-19**, rather than as a last resort in patients with critical illness who require mechanical ventilation in whom it may be less effective and more prone to immune-mediated adverse-events. In the midst of a worldwide pandemic of SARS-CoV-2 and COVID-19, for which we currently have no available vaccines or drugs, CP represents a potential therapeutic option with a **favorable benefit/risk balance for these patients**. CP could be **rapidly available in any areas where there are sufficient numbers of patients** who have recovered. Its potential efficacy and safety should be tested in a randomized, controlled study, as recommended by the WHO R&D Blueprint and Master Protocol for COVID-19 Therapeutic Trials, from which we can obtain **strong evidence to inform decisions worldwide**.

3 OBJETIVES AND ENDPOINTS

The overall objective of the study is to evaluate the clinical efficacy and safety of Convalescent plasma versus SOC under a sequential design.

PRIMARY	
OBJECTIVES	ENDPOINTS (OUTCOME MEASURES)
<p>To evaluate the clinical efficacy of Convalescent plasma (CP) versus SOC, under a sequential design.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Proportion of patients in categories 5, 6 or 7 (of the 7-point ordinal scale) at day 15 	<p>Ordinal scale:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Not hospitalized, no limitations on activities. 2. Not hospitalized, limitation on activities. 3. Hospitalized, not requiring supplemental oxygen. 4. Hospitalized, requiring supplemental oxygen. 5. Hospitalized, on non-invasive ventilation or high flow oxygen devices. 6. Hospitalized, on invasive mechanical ventilation or ECMO². 7. Death.

² Extracorporeal membrane oxygenation

SECONDARY	
OBJECTIVES	ENDPOINTS (OUTCOME MEASURES)
<p>To evaluate effects of CP on secondary efficacy endpoints, including all-cause mortality and respiratory deterioration with progression to mechanical ventilation, as compared to standard of care as assessed by:</p> <p>Clinical Severity</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ordinal scale: <ul style="list-style-type: none"> ○ Status at day 29 and 60 ○ Time to get categories 5, 6 or 7 in the 7-points ordinal scale in the 29 days of follow up ○ Time to an improvement of one category from admission using an ordinal scale. ○ Time to first deterioration ○ Mean change in the ranking on an ordinal scale from baseline to days 3, 5, 8, 11, 15, 29 and 60. • Ordinal scale of 11 points: <ul style="list-style-type: none"> ○ Status at days 15, 29 and 60 ○ Mean change in the ranking on an ordinal scale from baseline to days 3, 5, 8, 11, 15, 29 and 60. • Incidence of thrombotic arterial events • Incidence of thrombotic venous events 	<ul style="list-style-type: none"> • Ordinal outcome assessed daily while hospitalized and on day 15 and 60.
<ul style="list-style-type: none"> • Oxygenation: <ul style="list-style-type: none"> ○ Oxygenation free days in the first 28 days (to day 29). ○ Mechanical Ventilation • Ventilator free days in the first 28 days (to day 29). • Hospitalization: <ul style="list-style-type: none"> ○ Duration of hospitalization (days) ○ Rate of rehospitalizations. 	<ul style="list-style-type: none"> • Duration of supplemental oxygen (if applicable). • Duration of mechanical ventilation (if applicable). • Duration of hospitalization.



<ul style="list-style-type: none"> • Mortality <ul style="list-style-type: none"> ○ 15-day mortality ○ 29-day mortality ○ 60-day mortality 	<ul style="list-style-type: none"> • Date and cause of death (if applicable).
<p>Serum level of CRP, lymphocyte count, LDH, D Dimer, IL-6, CPK troponine, platelets, coagulation tests at baseline and days 3, 5, 8, 11, 15 and 29</p>	<ul style="list-style-type: none"> • White cell count, CRP, D-Dimer, LDH, ferritin, CPK troponine, platelets, and coagulation test on days 3, 5, 8, 11 (while hospitalized); and Day 15 and 29 (if still hospitalized).
<p>To evaluate safety of CP as compared to SOC</p> <p>Safety through day 60</p> <ul style="list-style-type: none"> • Cumulative incidence of serious adverse events (SAEs) • Cumulative incidence of Grade 3 and 4 adverse events (AEs). • Infusion-related adverse reactions 	<ul style="list-style-type: none"> • Serious adverse events (SAEs). • Grade 3 or 4 Adverse events (AEs). • Infusion-related adverse reactions.
EXPLORATORY	
OBJECTIVES	ENDPOINTS (OUTCOME MEASURES)
<ul style="list-style-type: none"> • To evaluate the virologic efficacy of CP as compared to the SOC. • To evaluate the serologic conversion of COVID-19 patients. • To evaluate COVID-19 antibody titers in donor CP and impact on outcomes. • Impact of patient virologic state and seroconversion on outcomes. • To study neutralizing antibodies against COVID-19 in donor and patients and their impact with the efficacy of CP and clinical outcomes • To evaluate feasibility of a model of CP timely procurement and supply in the Spanish National Health System. 	<ul style="list-style-type: none"> • Qualitative and quantitative PCR for SARS-CoV-2 in NP/OP swabs at baseline and at discharge. • Qualitative and quantitative PCR for SARS-CoV-2 in blood on Days 3, 5, 8, 11, 15, 29 and 60 (while hospitalized) until two of them are negative consecutively. • Quantitative total antibody levels at baseline and at days 8, 15, 29 and 60 (while hospitalized). • Quantitative total antibodies and neutralizing titer in patients at baseline. • Assessment of the neutralizing antibody activity against SARS-CoV-2 in the sera from donors using viral pseudotypes. • Assessment of neutralizing antibodies against SARS-CoV-2 in the sera from donors using VMNT-ID50



4 TRIAL DESIGN

4.1 Overall Design

This study is a multi-center, randomized, clinical trial with two arms to study the efficacy and safety of passive immunotherapy with CP compared to a control of standard of care (SOC) in hospitalized adult patients diagnosed with COVID-19.

The study is a multi-centre trial that will be conducted in up to 25 sites globally.

Randomization among the three arms will be 1:1

All trial participants will receive SOC:

- Treatment arm: Inactivated CP from patients recovered from COVID-19, whom, for the purpose of this trial, are herein designated as donors.
- Control arm: SOC for COVID-19.

Of note, in the current status of a worldwide pandemic for which we have no approved vaccines or drugs, for the purpose of this trial SOC would also accept any drugs that are being used in clinical practice (e.g., remdesivir, corticosteroids, tocilizumab, etc.), other than those used as part of another clinical trial.

Randomization will be stratified by site.

Subjects will be assessed daily while hospitalized. Follow-up is for 60 days. Discharged patients before the end of follow up will be regularly phone called or asked to attend study visits. All subjects will undergo a series of efficacy, safety, and laboratory assessments. Naso/ oropharyngeal (NP/OP) swabs will be obtained on baseline and at discharge in all patients. Blood samples for PCR will be obtained on baseline and day 3, in all patients. While hospitalized, blood samples on days 3, 5, 8, 11, 15, 29 and 60 will be obtained as far as there is a positive result. If there are 2 consecutive negative PCR results, no more blood samples for PCR will be needed. Blood samples for serology will be obtained on baseline in all patients and, while hospitalized, on days 8, 15, 29 and 60.

A global independent data and safety monitoring board (DSMB) is proposed to monitor interim data to make recommendations about early study closure or changes to conduct.

Interim analyses for comprehensive efficacy and safety data monitoring analyses will be conducted when 20%, 40%, 60% and 80% of patients have been recruited, or at the discretionary DSMB criteria when needed. A DSMB charter will be set before the trial initiation.

The trial will be designed with intention to provide reliable evidence about the efficacy and safety of convalescent plasma therapy in addition to standard-of-care. The efficacy and safety of this experimental regimen will be assessed through comparison with the standard-of-care control arm.



4.2 Scientific Rationale for Study Design

This study utilizes a design that maximizes efficiency in identifying a safe and efficacious therapeutic agent for COVID-19 during the current outbreak by the implementation of a sequential design with 4 interim analyses (IA) for efficacy and futility, as well as a preplanned sample size re-estimation (see section 11 for more details). As the study will be a multicenter, randomized controlled study, it will be possible to acquire rigorous data about the safety and efficacy of investigational therapeutic agents for COVID-19 that will lead to generalizable evidence.

Randomization is essential for establishing efficacy of these new therapy. Also, collecting clinical and virologic data on enrolled patients using a standardized timeline and collection instruments provide valuable information about the clinical course of and morbidities associated with severe COVID-19 in a diverse group of hospitalized adult patients.

4.3 Study settings

The trial will be conducted in 32 clinical investigational sites (see Appendix 1) including additional centers from other regions in Spain with a high incidence of COVID-19.

Donor assessment, plasma collection, inactivation and production will be carried out by Servicios de Transfusión Hospitalarios and Centros Regionales de Transfusión and coordinated by the trial's WP #2 and Steering Committee (see Appendix 1 and 2 for details). Logistic differences should adapt to the structure at a regional level.

4.4 Duration of Study Participation

Duration of the recruitment: 4 months.

Duration of the follow-up and treatment for each patient: 60 days

Total study duration (enrolment + follow-up + analysis): 12 months.

5 STUDY POPULATION

5.1 Inclusion Criteria

To be eligible to enter the study candidates must satisfy all of the following criteria:

- Written informed consent prior to performing study procedures. Witnessed oral consent will be accepted in order to avoid paper handling. Written consent by patient or representatives will be obtained as soon as possible.
- Male or female adult patient ≥ 18 years of age at time of enrolment.
- Has laboratory-confirmed SARS-CoV-2 infection as determined by PCR test in naso/oropharyngeal swabs or any other relevant specimen obtained in the ongoing COVID-19 symptomatic period. Alternative tests (i.e rapid antigenic tests) are also acceptable as laboratory confirmation if their adequate specificity has been accepted by the sponsor.



- Patients requiring hospitalization for COVID-19 without mechanical ventilation (invasive or non-invasive) or high flow oxygen devices, and at least one of the following:
 - Radiographic evidence of pulmonary infiltrates by imaging (chest x-ray, CT scan, etc.), OR
 - Clinical assessment (evidence of rales/crackles on exam) AND SpO₂ ≤ 94% on room air that requires supplemental oxygen.
- No more than 7 days between the onset of symptoms (fever or cough) and treatment administration day.

5.2 Exclusion Criteria

- Requiring mechanical ventilation (invasive or non-invasive) or high flow oxygen devices at screening.
- More than 7 days since symptoms (fever or cough).
- Participation in any other clinical trial of an experimental treatment for COVID-19.
- In the opinion of the clinical team, progression to death is imminent and inevitable within the next 24 hours, irrespective of the provision of treatments.
- Any incompatibility or allergy to the administration of human plasma.
- Stage 4 severe chronic kidney disease or requiring dialysis (i.e. eGFR <30).

Patients fulfilling all the inclusion criteria and not presenting any of the exclusion criteria at time of trial screening will be invited to participate in the trial.

6 STUDY PRODUCT

6.1 Investigational Therapeutic

Study Product Description

Convalescent donor selection and plasma production will be coordinated by the trial's WP #2 and Steering Committee. Logistic differences should adapt to the structure at a regional level:

- Convalescent COVID-19 donor identification and recruitment will be carried out in collaboration among *Servicios de Transfusión Hospitalarios, Centros de Transfusión, Departamentos de Salud Pública* and *Consejerías de Sanidad*.
- Donor assessment, plasma collection, inactivation and production will be carried out in collaboration between *Servicios de Transfusión Hospitalarios* and *Centros de Transfusión*.

A common protocol for CP production will be shared and followed by all participating centers.



Criteria for patients recovered from COVID-19 to be selected as CP donors would be:

- Inclusion criteria:

- Willing and able to provide written informed consent.
- Fulfilling all the current requirements to be a plasma apheresis donor according to our regulations for donation of blood products (European Guidelines and RD 1088/2005 in Spain).
- Absence of COVID-19 symptoms within the last 14 days.
- Anti SARS-CoV-2 antibodies detectable in peripheral blood.
- ≥ 18 years of age at time of donation.
- Weight > 50 kg and good vein access are standard criteria, for which exceptions could be considered according to the criteria of the blood bank and hematologist.

- Exclusion criteria:

- Plasmapheresis in the previous seven days.
- Whole blood donation in the previous 30 days.
- Donation of more than 25 liters of plasma in the previous 12 months.

With the intention to minimize the risk of TRALI (transfusion related acute lung injury), an additional relative exclusion criteria would be for previously transfused donors and women currently or previously pregnant, including miscarriages.

Dosing and Administration.

Patients in the treatment arm will receive a single unit of CP (250-300 mL) after randomization on day 1 under control by the haematologist of the hospital.

Route administration: Intravenous.



6.2 Preparation/Handling/Storage/Accountability

Standard procedures in place for healthy plasma donors in transfusion centers will be followed. In particular:

- Written informed consent
- The collection day, convalescent donors (CD) will be again screened as an altruistic plasmapheresis donors, performed a finger hemoglobin test, blood pressure and cardiac rate.
- A single identification number (SIN) according to ISBT128 codification will be assigned to each plasmapheresis donation.
- Convalescent donors will undergo an apheresis process using any apheresis machine validated to collect plasma , and a single use apheresis kit to obtain 600 ml of leuko-depleted plasma ($< 1 \times 10^6$ leukocytes per bag) according to local procedures.
- Convalescent donors may receive a 500 ml saline infusion through the inline apheresis vein access, after the plasma collection, according to local procedures (not mandatory).
- Plasma units can be kept at room temperature (20°C), until 8h before the pathogen reduction process (inactivation). If not feasible, units must be frozen to perform a further pathogen reduction procedure.
- The 600 ml collection will be separated into two bags containing 300 ml, to be further pathogen reduced (inactivation), or whole inactivated, if the system allows to perform the pathogen reduction process with that volume
- If plasma has been previously frozen, it will be thawed, inactivated and refrozen before 2 hours.
- The inactivation process will be done using any pathogen reduction (inactivation) system validated for transfusional plasma, (i.e Methylene Blue, Amotosalen, Rivoflavin...). The procedure will be performed according to local procedures.
- All the plasma transference between different bags will be done using a closed system and preferably using a sterile tubing welder.

6.3 Formulation, Appearance, Packaging, and Labelling

- CP units will be preferably identified and labeled according to ISBT128 requirements.
- The following ISBT codes are recommended:
 - E9743 = Apheresis CONVALESCENT PLASMA|NS/XX/<=-25C|COVID-19
 - E9744 = Apheresis CONVALESCENT PLASMA|NS/XX/<=-25C|Methylene blue-treated|COVID-19
 - E9745 = Apheresis CONVALESCENT PLASMA|NS/XX/<=-25C|Psoralen-treated|COVID-19
 - E9746 = Apheresis CONVALESCENT PLASMA|NS/XX/<=-25C|Riboflavin-treated|COVID-19
- As the collected product will be usually spliced into two aliquots; the product will include a SIN subcode as 01 and 02.
- Pathogen reduced 300 ml bags will be labeled using the primary SIN number followed by a subset code (01 and 02).



6.4 Product Storage and Stability

- Inactivated plasma bags will be frozen below -25°C , and stored and shipping following European guidelines for blood components storage. (36 months below -25°C or 3 months below -18°C). For transport, plasma bags must be kept frozen. No special containers are needed if plasma units are kept frozen at the delivery.
- All the procedure data will be recorded using the defined CRF for this trial. Also, the blood bank software in each hospital Transfusion Service will be used for recording the plasma units transfused.
- The plasmas will be labelled with a code and will be only used for this research project or other related COVID-research projects.

7 MEASURES TO MINIMIZE BIAS: RANDOMIZATION AND BLINDING

This open-label trial will use blind randomization of patients in a 1:1 ratio to CP or SOC through a centralized system embedded in the eCRF (Oracle Clinical). Randomization will be stratified by site and the randomization procedure will be described in a SOP.

7.1 Study Intervention Compliance

The study product will be administered by a member of the clinical research team. The single identification number of the plasma unit will be recorded in the patient clinical record and case report form (eCRF) as well as the time of administration and incidences.

7.2 Concomitant Therapy

All concomitant therapies will be permitted. No restriction is established regarding concomitant treatment.

Only clinical relevant concomitant treatment related to COVID-19 will be recorded for the purposes of the trial. The list of medications will be assessed only from 7 days prior to enrolment to end of study.

7.3 Rescue Medicine

Not Applicable

7.4 Non-Research Standard of Care

Not Applicable



8 STUDY INTERVENTION DISCONTINUATION AND SUBJECT DISCONTINUATION/WITHDRAWAL

8.1 Study Halting for Safety

There are no pre-specified stopping rules. Instead, there will be a close oversight by the protocol team and frequent DSMB reviews.

8.2 Withdrawal from Randomized Treatment or from the Study

Patients are free to withdraw from participation in the study at any time. Patients are listed as having withdrawn consent only when they no longer wish to participate in the study and no longer authorize the Investigators to make efforts to continue to obtain their outcome data. Every effort should be made to encourage patients to remain in the study for the duration of their planned outcome assessments. In the case of a patients becoming lost to follow-up, attempts to contact the patient be made and documented in the patient's medical records.

8.3 Discontinuation of Study Drug

Not Applicable.

8.4 Withdrawal of Patients from the Study

A patient may be removed from the study treatment for the following reasons; however, whenever possible the patient should be followed regardless of their protocol adherence as per the efficacy and safety evaluations:

- Patient withdraws consent or requests discontinuation from the study for any reason
- Termination of the study
- Lost to follow-up.

Patients, who withdraw from this study or are lost to follow-up after signing the informed consent form (ICF) and administration of the study product, will not be replaced. The reason for patient discontinuation from the study will be recorded on the appropriate case report form.



9 ASSESSMENTS AND PROCEDURES

9.1 Screening Procedures

After the informed consent, all the following assessments are performed to determine eligibility requirements as specified in the inclusion and exclusion criteria:

- Positive SARS-CoV-2 test result. Laboratory-confirmed SARS-CoV-2 infection as determined by PCR test in naso/oropharyngeal swabs or any other relevant. Both local (hospital) or central (ISCI) laboratory results are acceptable for inclusion, although a basal sample for central laboratory will be always collected. Alternative tests (i.e rapid antigenic tests) are also acceptable as laboratory confirmation if their adequate specificity has been accepted by the sponsor.
- Focused medical history, including the following information:
 - Day of onset of COVID-19 symptoms (fever and/or other symptoms).
 - History of chronic medical conditions related to inclusion and exclusion criteria and known risk factors for COVID-19.
- Review recent radiographic imaging, maximum 7 days old (x-ray or CT scan).
- Confirm the period since hospitalization due to COVID.

The overall eligibility of the subject to participate in the study will be assessed once all screening values are available. The screening process can be suspended prior to complete assessment at any time if exclusions are identified by the study team. Study subjects who qualify will be immediately randomized and treatment should be administered the same day of randomization.

9.2 Visit 1 (Treatment)

This visit can be done at the same time as the screening visit.

RANDOMIZATION

Participants will be randomly assigned to:

- Treatment arm: Inactivated CP from patients recovered from COVID-19,
- Control arm: SOC for COVID-19.

The participants will be assigned using a central randomization service implemented in the eCRF. Randomization codes will be provided by the CRO and will be charged into the eCRF as to maintain the treatment concealment.

PROCEDURES PRE-ADMINISTRATION

The following assessments are performed before administration of therapy:

- Ordinal scale.
- Vital signs including SpO₂ and T_a.
- Targeted physical exam focused on lung auscultation.

- Naso/Oropharyngeal swab.
- Blood for PCR SARS-CoV-2.
- Blood samples (ABO group, hematology, chemistry, CRP, LDH, ferritin, IL-6, coagulation, D-dimer, CPK, platelets and troponine).
- Blood for antibodies determination.
- Review medications and therapies related to COVID-19 (SOC).

9.3 Efficacy Assessments (follow-up visits)

At each study day while hospitalized, the following measure of clinical support should be assessed:

- Hospitalization.
- Oxygen requirement.
- Oxygen supply device: nasal device, mask with reservoir bag.
- Non-invasive mechanical ventilation (via mask) or high flow oxygen.
- Mechanical ventilator requirement (via endotracheal tube or tracheostomy tub).
- ECMO requirement.
- SpO₂.
- T^oC.
- Death.

9.4 Viral and Immunology Shedding

NP/OP swabs will be collected on baseline and at discharge.

Blood samples for PCR will be collected on baseline and day 3, in all patients. While hospitalization, PCR on days 5, 8, 11, 15, 29 and 60 will be also be performed, unless two consecutive PCRs are negative.

Bloods samples for serology will be collected on baseline and at discharge, in all patients. Additionally, while hospitalization, blood samples on days 8, 15, 29 and 60 will be collected.

9.5 Safety Assessments

During the entire follow-up, until the end of the study, the adverse events and complications.

- Physical examination: A symptom-directed (targeted) physical examination will be performed to evaluate for any possible adverse event. No physical exam is needed for routine visits.
- Clinical laboratory evaluations: Blood will be collected at the following time points: days 3, 5, 8, 11, 15, 29 and 60.

Clinical laboratory parameters include CRP, lymphocyte, neutrophils, LDH, D-Dimer, ferritin, IL-6, coagulation test, CPK, platelets and troponine.

This testing will be performed at each clinical trial site in real time.



9.6 Schedule of Procedures

Table 1. Study timetable of ConPlas-19 clinical trial

VISITS	Screening ¹	Baseline ¹	Follow-Up VISITs ⁴	Day15 ⁴	Day29 ⁴	Day60 ⁴ (End of study)
Day +/- Window	-3 to 1	1	Daily until hospital discharge	± 2	± 3	± 3
ASSESSMENTS/PROCEDURES						
Informed consent	X					
Inclusion and exclusion criteria	X	X				
Demographics & Medical History	X					
SARS-CoV-2 PCR or antigen test	X ²					
Rx Thorax	X ⁷					
Randomization		X				
Administration Convalescent Plasma		X				
Clinical data collection		X	Daily until hospital discharge	X	X	X
Vital signs: SpO ₂ /T ^a	X	X	Daily until hospital discharge	X	X	X
Oxygen requirement		X	Daily until hospital discharge	X	X	
Mechanical ventilator requirement		X	Daily until hospital discharge	X	X	
Mortality			Daily until hospital discharge	X	X	
Concomitant medication (Only related with COVID-19)		X	Daily until hospital discharge	X	X	X
AE /SAE (eCRF reporting)			Daily until hospital discharge	X	X	X
Blood samples (ABO group)		X				
Routine blood samples (hematology and chemistry) ³		X	(3, 5, 8 and 11 days) ⁵	X ⁵	X ⁵	X ⁵
Blood for PCR SARS-CoV-2 ⁶		X	(3, 5, 8 and 11days) ⁵	X ⁵	X ⁵	X ⁵
Blood for antibodies determination		X	(8, 15, 29 and 60 days) ⁵			
Naso/Oropharyngeal swab		X ²	At discharge			

1. This visit can be done at the same time as the screening visit
2. Positive PCR or COVID-19 antigen test (accepted by the sponsor), in naso/oropharyngeal swabs or any other relevant specimen is needed prior to randomization. If inclusion is based on a previous local swab, a new basal swab to be sent to CNM-ISCIII will be needed. If previous SARS-CoV-2 test + is not available and the swab is obtained as a screening procedure, the basal swab could be obtained at the same time, taking into account that the basal swab HAS TO BE SENT to the CNM-ISCIII central lab.
3. Haematology, chemistry, ferritin, CRP, LDH, IL-6, coagulation, D-dimer, CPK, platelets and troponine.
4. These visits may be conducted by phone. In this case, blood samples and vital signs will not be available.
5. Only during hospitalization.
6. If two consecutive negative results are obtained, no more PCR tests needed.
7. XR obtained during the ongoing COVID-19 symptomatic period (maximum 7 days old).



9.7 Rehospitalization Substudy

Some COVID-19 patients can experience disease recrudescence approximately 3-6 weeks after the initial onset of symptoms and clinical improvement, which consists in a clinical, analytical and / or radiological deterioration of variable severity.

This disease recrudescence could be related to different causes (e.g., viral reactivation, reinfection, nosocomial superinfection, inflammatory response, thromboembolic disease...), several of which could coexist in the same patient.

There is a clear need to better characterize these recrudescence events, as well as to characterize the impact that they might have on the patient's plasma immunity pattern.

Those patients that have been discharged from the hospital and who require a new hospital admission within 60 days from their initial COVID-19 hospitalization, will be included in the ConPlas "Rehospitalization Substudy".

The objective of the Rehospitalization Substudy is to describe the clinical, analytical, radiological and microbiological features and frequency of late recrudescence in ConPlas COVID-19 patients, occurring no later than 6 weeks after the randomization in the main ConPlas-19 study.

See Appendix 3 for detailed information about the protocol and procedures of the Rehospitalization Substudy.

10 PHARMACOVIGILANCE/HEMOVIGILANCE

10.1 Definition of Adverse Event (AE)

AE means any untoward medical occurrence associated with the use of an intervention in humans, whether or not considered intervention related. An AE can therefore be any unfavourable and unintended sign (including an abnormal laboratory finding), symptom, or disease temporally associated with the use of investigational product.

Any medical condition that is present at the time that the subject is screened will be considered as baseline and not reported as an AE. However, if the severity of any pre-existing medical condition increases, it should be recorded as an AE.

Given the nature of severity of the underlying illness, subjects will have many symptoms and abnormalities in vitals and laboratory. Only Grade 3 and 4 AEs will be captured as AEs in this trial, according to the following classification:

- Mild (Grade 1): Events that are usually transient and may require only minimal or no treatment or therapeutic intervention and generally do not interfere with the subject's usual activities of daily living.
- Moderate (Grade 2): Events that are usually alleviated with additional specific therapeutic intervention. The event interferes with usual activities of daily living, causing discomfort but poses no significant or permanent risk of harm to the research subject.



- Severe (Grade 3): Events interrupt usual activities of daily living, or significantly affects clinical status, or may require intensive therapeutic intervention. Severe events are usually incapacitating.
- Severe (Grade 4): Events that are potentially life threatening.

10.2 Definition of Serious Adverse Event (SAE)

An SAE is defined as “An AE or suspected adverse reaction is considered serious if, in the view of either the investigator or the sponsor, it results in any of the following outcomes:

- Death,
- a life-threatening AE,
- inpatient hospitalization or prolongation of existing hospitalization,
- a persistent or significant incapacity or substantial disruption of the ability to conduct normal life functions,
- or a congenital anomaly/birth defect.

Important medical events that may not result in death, be life-threatening, or require hospitalization may be considered serious when, based upon appropriate medical judgment, they may jeopardize the patient or subject and may require medical or surgical intervention to prevent one of the outcomes listed in this definition.

“Life-threatening” refers to an AE that at occurrence represents an immediate risk of death to a subject. An event that may cause death if it occurs in a more severe form is not considered life-threatening. Similarly, a hospital admission for an elective procedure is not considered a SAE.

All SAEs, will be assessed for severity and relationship to study intervention.

All SAEs will be recorded

10.3 Adverse events of Special Interest

Investigators will be instructed to actively monitor the occurrence of:

- TRALI, *Transfusion-related acute lung injury*
- ADE, *Antibody-dependent enhancement of infection.*
- TACO, *Transfusion-associated cardiac overload.*



10.4 Relationship to Study Intervention

For each reported adverse reaction, the PI or designee must assess the relationship of the event to the study product using the following guideline:

- **Related** – The AE is known to occur with the study intervention, there is a reasonable possibility that the study intervention caused the AE, or there is a temporal relationship between the study intervention and event. Reasonable possibility means that there is evidence to suggest a causal relationship between the study intervention and the AE.
- **Not Related** – There is not a reasonable possibility that the administration of the study intervention caused the event, there is no temporal relationship between the study intervention and event onset, or an alternate aetiology has been established.

10.5 Hemovigilance

The adverse events related to the CP will be evaluated by a trained Hemovigilance nurse or physician, who will document and record any adverse event that could be related to the CP transfusion along the 24h after the end of the research plasma transfusion. This is defined as an Active 24h quarantine Hemovigilance Program (HEMACUA program).

Adverse event reporting will record three single fields according to the hemovigilance rules:

1. Type of event (Events are defined to be concordant to the EU and SHOT definitions, (<https://www.shotuk.org>))
2. Severity
3. Imputability

11 STATISTICS AND DATA ANALYSIS

11.1 General Remarks

The statistical analysis will be carried out in accordance with the principles specified in the International Conference on Harmonization (ICH) Topic E9 (CPMP / ICH / 363/96)³. A detailed Statistical Analysis Plan (SAP) agreed upon by the CT Executive Board and the Project Statistician will be available early during the recruitment phase. This SAP will follow the general regulatory recommendations given in the ICH E9 guidance, as well as other specific guidance on methodological and statistical issues⁴. Also, it will stick to the recommendations given by the consensus documents of the scientific journals^{5,6} to improve reliability and value of medical

3 CPMP/ICH/363/96. ICH E9 Statistical Principles for Clinical Trials. URL: http://www.ema.europa.eu/ema/pages/includes/document/open_document.jsp?webContentId=WC500002928, last access: 20-Mar-2020.

4 EMEA Scientific Guidelines for Human Medicinal Products, Clinical Efficacy and Safety Guidelines, General Guidelines. URL: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/research-development/scientific-guidelines/clinical-efficacy-safety/biostatistics>, last access: 20-Mar-2020.

5 Schulz KF, Altman GD, Moher D for the CONSORT Group*. CONSORT 2010 Statement: Updated Guidelines for Reporting Parallel Group Randomized Trials. *Ann Intern Med.* 2010;152:726-732.

6 EQUATOR-network (Enhancing the Quality and Transparency of Health Research). URL: <http://www.equator-network.org/resource-centre/library-of-health-research-reporting/>, last access 20-Mar-2020



research literature by promoting transparent and accurate reporting of clinical research studies.

The SAS System⁷ (Release 9.4, or an upgraded version), or equivalent validated statistical software, will be the statistical software used to analyse the data sets.

A summary of the overall approach to statistical analysis is presented hereafter.

11.2 Sample size calculation

There are uncertainties on the expected rate of study endpoint. As per the end point of clinical improvement recommended by the WHO R&D Blueprint expert group⁸, in a recent negative trial⁹ the rates for the standard of care were:

	Description	Rate in SOC %
1	Not hospitalized, no limitations on activities	0
2	Not hospitalized, limitation on activities	28
3	Hospitalized, not requiring supplemental oxygen	24
4	Hospitalized, requiring supplemental oxygen	20
5	Hospitalized, on non-invasive ventilation or high flow oxygen devices	6
6	Hospitalized, on invasive mechanical ventilation or ECMO	5
7	Death	17

The final rates for a standard of care group in our setting are expected to be inferior to those observed in that study, with internal data suggesting figures $\approx 20\%$ when grouping categories from 4 to 7. Given the high uncertainties two strategies will be put in place in this study: (a) a series of futility and efficacy interim analyses and (b) a sample size re-estimation when 60% of endpoints are assessed.

Therefore, we propose an open-labelled, standard of care controlled, randomised with a 1:1 ratio, clinical trial with stopping boundaries for efficacy and futility at 20%, 40%, 60 and 80% of the final sample size. The statistical design including the sample size and stopping have been calculated using the East validated software v6.5 by Cytel Inc.¹⁰. The stopping boundaries for

7 SAS version 9.4 software, SAS Institute Inc., Cary, NC, URL: <http://www.sas.com/>, last access: 20-Mar-2020

8 Coronavirus disease (Covid-19) R&D. Geneva: World Health Organization (<http://www.who.int/blueprint/priority-diseases/key-action/novel-coronavirus/en/>).

9 Cao B, Wang Y, Wen D, Liu W, Wang J, Fan G, Ruan L, Song B, Cai Y, Wei M, Li X, Xia J, Chen N, Xiang J, Yu T, Bai T, Xie X, Zhang L, Li C, Yuan Y, Chen H, Li H, Huang H, Tu S, Gong F, Liu Y, Wei Y, Dong C, Zhou F, Gu X, Xu J, Liu Z, Zhang Y, Li H, Shang L, Wang K, Li K, Zhou X, Dong X, Qu Z, Lu S, Hu X, Ruan S, Luo S, Wu J, Peng L, Cheng F, Pan L, Zou J, Jia C, Wang J, Liu X, Wang S, Wu X, Ge Q, He J, Zhan H, Qiu F, Guo L, Huang C, Jaki T, Hayden FG, Horby PW, Zhang D, Wang C. A Trial of Lopinavir-Ritonavir in Adults Hospitalized with Severe Covid-19. *N Engl J Med.* 2020 Mar 18. doi: 10.1056/NEJMoa2001282. Epub ahead of print. PMID: 32187464.

10 East 6.4 (2016). Statistical software for the design, simulation and monitoring clinical trials. Cytel Inc., Cambridge MA.



superiority and inferiority have been calculated using the Rho family Spending functions with ($\alpha=7$) and shown below:

Look #	Info. Fraction	p-values	
		Efficacy Boundary	Futility Boundary
1	20%	0.0000003	0.9995467
2	40%	0.0000413	0.9480048
3	60%	0.0006785	0.6436939
4	80%	0.0051563	0.2154427
5	100%	0.0243397	0.0243397

With this design, 278 patients (139 per arm) will be required assuming 20% rate in the control group and an absolute reduction of 10% (10% rate in experimental group), with 80% statistical power a 2.5% one-sided alpha level (5% two-sided).

With regards to the final sample size, it is predefined that a sample size recalculation will be put in place when 60% of the patients with assessed events are available and the 3rd analysis are conducted. Please refer to section on multiplicity adjustments with regards to the type-I error control due to this potential adaptation. The detailed methodology will be described in the SAP. No withdrawal rates are considered to compensate the sample size since all patients will count in the analysis conducted under the intention to treat principle.

11.3 Data Review (DR)

The Data Review (DR) will be performed before lock of database. Data will be examined for compliance with the trial protocol by the monitor and the data manager. Deviations will be sent to the project statistician to plan listings for the Data Review (DR). The objective is to carry out the population selection and definition of the final study populations as well as a preliminary assessment of the quality of the trial data.

11.4 Analysis populations

There will be the following analysis populations for this study:

- 1) Full Analysis Set (FAS): All patients who are randomized into the study will be included in the FAS population.
- 2) Per Protocol Population: Per protocol (PP) patient sets will be defined as those patients included in the FAS set without major protocol deviations that might impact the study's main assessments. These deviations will be assessed during the data review prior to database lock.
- 3) The Safety population is defined as all randomized participants who received the investigational product.



The precise reasons for excluding participants from each population will be fully defined and documented independently of the randomization codes during the data blinder review and before data lock.

11.5 Randomisation Procedure

Randomisation codes were produced by means of the PROC PLAN of the SAS system, with a 1:1 ratio of assignment between both arms, stratifying by centre, blocks multiple of 2 elements. The randomisation schedule will be released to the manufacturer site, will be managed from the eCRF in a concealed manner.

11.6 Descriptive analysis

A descriptive analysis will be performed for all parameters overall and by arm at every study time-point. Categorical parameters will be presented by means of frequencies and percentages. Continuous parameters will be summarized by means of the appropriate descriptive statistics (mean \pm standard deviation or median and interquartile range).

The efficacy and safety endpoints will be descriptively compared between study arms. Changes from baseline, when applicable, will also be summarized by study arm.

11.7 Inferential analysis

No inferential analysis will be performed for the baseline comparability. The inferential analyses will be limited to the efficacy variables, and the adverse events.

11.8 Primary endpoint

The proportion of patients with failure, defined as categories 5, 6 or 7 of the 7-point ordinal scale at day 15, will be estimated using a log-binomial regression model including stratification variables. In the unexpected event that the model does not fit, the Poisson regression model with long-link and robust variance estimator will be used instead^{11,12,13,14,15}.

-
- 11 Spiegelman D, Hertzmark E. Easy SAS calculations for risk or prevalence ratios and differences. *Am J Epidemiol*. 2005 Aug 1;162(3):199-200. Epub 2005 Jun 29.
 - 12 Wacholder S. Binomial regression in GLIM: estimating risk ratios and risk differences. *Am J Epidemiol* 1986;123: 174-84.
 - 13 Greenland S. Model-based estimation of relative risks and other epidemiologic measures in studies of common outcomes and in case-control studies. *Am J Epidemiol* 2004; 160:301-5.
 - 14 Huber PJ. The behavior of maximum likelihood estimates under non-standard conditions. In: *Proceedings of the Fifth Berkeley Symposium on Mathematical Statistics and Probability Vol 1*. Berkeley, CA: University of California Press, 1967:221-33.
 - 15 Zou G. A modified Poisson regression approach to prospective studies with binary data. *Am J Epidemiol* 2004;159:702-6.



11.8.1 Secondary endpoints and safety outcomes

Binary outcomes

Binary efficacy and safety outcomes will be analysed as described for the primary endpoint.

Shift outcomes

The shift analysis of OMS proposed ordinal scale endpoint will be analysed using the proportional odds model¹⁶ and the stratification variables. The common odds ratio can also be interpreted as the average shift over the total ordinal outcome scale caused by the treatment under study^{17,18,19}. The stratified non-parametric van Elteren test²⁰, using modified ridit scores which is as a direct extension of the extension of the Wilcoxon's rank-sum test for 2-samples, will be calculated as a sensitivity analysis to compare the scale as an ordinal rather than a binary outcome, without assuming proportional odds^{21,22}

The median of the absolute values the 95% confidence interval (95%CI) will be calculated using the Hodges-Lehmann methods (i.e. median of all cross differences between treatments based on the Mann-Whitney distribution)^{23,24}.

Continuous outcomes

Continuous variables will be analysed using Mixed Models²⁵, including in the model the baseline measurement, the stratification variables, treatment as well as the interaction between treatment and time, declaring time as categorical. The variance-covariance matrix will be fixed initially as unstructured. If this analysis fails to converge, the following structures will be tested in the following order until convergence: AR(1) (Auto- Regressive first order), Toeplitz and CS (Compound Symmetry). Contrasts between study groups will be performed by time-point. The treatment effect will be estimated through adjusted means –Least Square Means (LSMeans) – its standard error – Standard Error of Mean (SEM)- and its 95%CI. Differences between treatments will be estimated through the differences between LSMs, SEM and 95%CI.

16 Agresti, A. (2002) Categorical Data Analysis, Second Edition. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.

17 McHugh GS, Butcher I, Steyerberg EW, Marmarou A, Lu J, Lingsma HF, Weir J, Maas AI, Murray GD. A simulation study evaluating approaches to the analysis of ordinal outcome data in randomized controlled trials in traumatic brain injury: results from the IMPACT Project. Clin Trials. 2010 Feb;7(1):44-57. doi: 10.1177/1740774509356580.

18 Saver JL: Novel end point analytic techniques and interpreting shifts across the entire range of outcome scales in acute stroke trials. Stroke 2007, 38:3055-3062.

19 Valenta Z, Pitha J, Poledne R: Proportional odds logistic regression— effective means of dealing with limited uncertainty in dichotomizing clinical outcomes. Stat Med 2006, 25:4227-4234.

20 van Elteren PH. On the combination of independent two-sample tests of Wilcoxon. Bulletin of the International Statistical Institute, 1960;37:351-361.

21 Stokes ME, Davis CS, Koch GG. Categorical data analysis using the SAS system. 2nd ed. Cary, NC: SAS Institute, 2000.

22 Koch GG, Edwards S. Clinical efficacy trials with ordinal data. In: Peace KK, ed. Biopharmaceutical statistics for drug development. New York: Marcel Dekker, 1988:403-57.

23 Hollander M, Wolfe DA. Nonparametric statistical methods. New York: Wiley, 1973

24 Hodges JL, Lehmann EL. Estimates of location based on rank tests. The Annals of Mathematical Statistics 1963; 34:598-611

25 Verbeke G, Molenberghs G. Linear Mixed Models for longitudinal Data. 1st Ed., New York: Springer-Verlag; 2000.



Survival endpoints

The survival function as well as the median [95% confidence interval -95%CI-] time to event will be estimated by means of the Kaplan-Meier method. Group comparisons will be done using the (stratified) log-rank test and the (stratified) hazard ratios -HR- (95%CI) were taken from the Cox model.²⁶

11.8.2 General strategy for the rest of variables

The rest of variables will be analysed according to the following strategy: The Fisher's exact test used for categorical variables, the t-test for Gaussian distributed variables and, for non-Gaussian continuous or ordinal variables, non-parametric methods (Mann-Whitney test).

11.9 Multiplicity adjustments and interim analysis

The analysis will follow the principles specified in the ICHE9²⁷, the regulatory guidelines on multiplicity issues^{28,29}.

Please refer to the sample size calculation section for the interim analysis boundaries. To maintain the overall type I error in the context of a sample size adjustment, the method of Cui, Hung and Wang (CHW, 1999³⁰) will be used.

11.10 Study Estimand and Handling of Missing Data

The handling of missing data will follow the principles specified in the ICH-E9 and the CPMP/EWP/1776/99 Rev1. Guideline on Missing Data in confirmatory trials Guidelines³¹.

As per the ICH E9(R1) (*Addendum on estimands and sensitivity analysis in clinical trials EMA/CHMP/ICH/436221/2017*)³², the plan for the assessment of the Primary endpoint (PEP) will be fully described in the SAP. In principle, the rate of missing data is estimated to be very low due to the type of endpoint, easily available with a fast-clinical assessment, so no impact is expected in the primary analysis. In any case, a very conservative strategy will be implemented consisting of imputing any missing data or other binary efficacy secondary outcomes will be

26 Therneau T, Grambsch P. Modeling Survival Data: Extending the Cox Model (Statistics for Biology and Health). Springer-Verlag New York Inc.; Edición: 1st ed. 2000.

27 CPMP/ICH/363/96. ICH E9 Statistical Principles for Clinical Trials. URL: http://www.ema.europa.eu/ema/pages/includes/document/open_document.jsp?webContentId=WC500002928, last access: 20-Mar-2020.

28 CPMP/EWP/908/99. Points to Consider on Multiplicity issues in Clinical Trials. URL: https://www.ema.europa.eu/documents/scientific-guideline/draft-guideline-multiplicity-issues-clinical-trials_en.pdf, last access: 20-Mar-2020.

29 EMA/CHMP/44762/2017. Draft Guideline on multiplicity issues in clinical trials. URL: https://www.ema.europa.eu/documents/scientific-guideline/draft-guideline-multiplicity-issues-clinical-trials_en.pdf, last access: 20-Mar-2020.

30 Cui L, Hung HM, Wang SJ. Modification of sample size in group sequential clinical trials. Biometrics 1999; 55:853--857

31 CPMP/EWP/1776/99 Rev1. Guideline on Missing Data in confirmatory trials. URL: https://www.ema.europa.eu/documents/scientific-guideline/guideline-missing-data-confirmatory-clinical-trials_en.pdf, last access: 20-Mar-2020.

32 EMA/CHMP/ICH/436221/2017. ICH E9(R1) (Addendum on estimands and sensitivity analysis in clinical trials. URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-e9-r1-addendum-estimands-sensitivity-analysis-clinical-trials-guideline-statistical-principles_en.pdf, last Access 20-03-2020



considered to failures, irrespectively to the reason for missingness. With regards to the continuous variables, mixed models^{33,34,35} are robust to the presence of missing at random (MAR) and conducts the analysis with all participants despite the presence of missingness. Of note, this method calculates the estimations based on the variance- covariance structure but without any formal imputations.

No formal imputations will be performed for the rest of variables and the analyses will be based on the Available Data Only (ADO) approach.

11.11 Subgroup analysis

Subgroup analyses will be performed to assess the impact on efficacy of two different key factors: (a) the level of neutralizing antibodies in the administered plasma and (b) timing of the disease i.e. early or late stages . In case of any post-hoc subgroup analysis, they will be justified and identified as data-driven and, they will follow the principles and regulatory recommendations³⁶.

The following strategy will be conducted before splitting the analysis into subgroups:

1. Test of the overall treatment effect
2. Test of the treatment-by-subgroup interaction at the 10% level of significance
3. Test of the treatment effect in each subgroup category

If the three criteria are met, then the subgroup analysis will be given the maximal level of evidence for this analysis. However, this subgroup analysis is predefined as exploratory and the interpretation should be taken with caution. If any of the criterion are not meet, the chances of type I error increase are higher and this will have an impact in the interpretation.

12 SUPPORTING DOCUMENTATION AND OPERATIONAL CONSIDERATIONS

12.1 Regulatory, Ethical, and Study Oversight Considerations

This study will be conducted in conformity with the principles set forth in the declaration of Helsinki.

A Research Ethics Committee (REC) will review and approve this protocol, associated informed consent documents, prior to the recruitment, screening, and enrolment of subjects.

Any amendments to the protocol or consent materials will be approved by the REC before they are implemented.

33 Verbeke G, Molenberghs G. Linear Mixed Models for longitudinal Data. New York: Springer- Verlag, 2000

34 Brown H, Prescott R. Applied Mixed Models in Medicine. New York: J. Wiley & Sons, 1999.

35 Molenberghs G, Kenward MG. Missing data in clinical Studies. Chichester, West Sussex: John Wiley & Sons, Ltd., 2007

36 EMA/CHMP/EWP/117211/10. Guideline on the investigation of subgroups in confirmatory clinical trials (Draft). URL: https://www.ema.europa.eu/documents/scientific-guideline/guideline-investigation-subgroups-confirmatory-clinical-trials_en.pdf, last access: 20-Mar-2020.



12.2 Informed Consent Process

Informed consent is a process that is initiated prior to an individual agreeing to participate in a trial and continuing throughout the individual's trial participation. Investigators will obtain the subject's informed consent in accordance with the Ley 14/2007 de Investigación Biomédica and the internationally accepted guidances.

Subjects will receive a concise and focused presentation of key information about the clinical trial, orally. Due to paper handling limitation in COVID wards, oral witnessed consent will be accepted before entering into the trial. Written consent form will be obtained from the patient himself or acceptable representatives as soon as possible. The key information about the study will be organized and presented in lay terminology and language that facilitates understanding why one might or might not want to participate.

12.3 Study Termination and Closure

This study may be prematurely terminated if there is sufficient reasonable cause, including but not limited to:

- Determination of unexpected, significant, or unacceptable risk to subjects
- Results of interim analysis
- Insufficient compliance to protocol requirements
- Data that is not sufficiently complete and/or not evaluable
- Regulatory authorities

If the study is prematurely terminated, the site PI will inform study subjects and the REC as applicable.

The sponsor will notify regulatory authorities as applicable.

12.4 Confidentiality and Privacy

Subject confidentiality is strictly held in trust by the participating investigators, their staff, and the sponsor(s) and their agents. This confidentiality is extended to cover clinical information relating to subjects, test results of biological samples and all other information generated during participation in the study. No identifiable information concerning subjects in the study will be released to any unauthorized third party. Subject confidentiality will be maintained when study results are published or discussed in conferences.

The study monitor, other authorized representatives of the sponsor, representatives of the REC, and/or regulatory agencies may inspect all documents and records required to be maintained by the investigator, including but not limited to, medical records (office, clinic, or hospital) for the subjects in this study. The clinical study site will permit access to such records.

All source records including electronic data will be stored in secured systems.



All study data and research specimens that leave the site (including any electronic transmission of data) will be identified only by a coded number that is linked to a subject through a code key maintained at the clinical site.

12.5 Safety Oversight

Protocol team oversight

The protocol team will review pools of AE data daily to ensure there no significant number of unexpected AEs (AEs that do not fit with the known course of COVID-19). If there are a significant number of unexpected AEs, the DSMB will be asked to review safety data in an ad hoc meeting.

Data Safety Monitoring Committee

Safety oversight will be conducted by a DSMB that is an independent group of experts that monitors subject safety and advises the sponsor. The DSMB members will be independent of study personnel participating in this trial and should not have scientific, financial or other conflict of interest related to this trial.

The DSMB will consist of members with appropriate expertise to contribute to the interpretation of the data from this trial. The DSMB should be as broadly informed as possible regarding emerging evidence from related studies as well as from the conduct of this trial. The DSMB will operate under the guidelines of a charter that will be written at the organizational meeting of the DSMB.

The DSMB will conduct the following reviews:

- After first 20 subjects are included.
- Ad hoc meeting if any specific safety concern arises.
- A final review meeting after final clinical database lock, to review the cumulative unblinded safety data for this trial.

The study will not stop enrolment awaiting these DSMB reviews, though the DSMB may recommend temporary or permanent cessation of enrolment based on their safety reviews.

Additional data may be requested by the DSMB, and interim statistical reports may be generated as deemed necessary and appropriate by the sponsor. The DSMB may receive data in aggregate and presented by treatment arm. The DSMB may also be provided with expected and observed rates of the expected AEs in an unblinded fashion and may request the treatment assignment be unblinded for an individual subject if required for safety assessment. The DSMB will review grouped and unblinded data in the closed session only. As an outcome of each review/meeting, the DSMB will make a recommendation as to the advisability of proceeding with study interventions (as applicable), and to continue, modify, or terminate this trial.

12.6 Clinical Monitoring



Clinical site monitoring is conducted to ensure that the rights and well-being of trial subjects are protected, that the reported trial data are accurate, complete, and verifiable. Clinical Monitoring also ensures conduct of the trial is in compliance with the currently approved protocol/ amendment(s), ICH, GCP, and with applicable regulatory requirement(s) and sponsor requirements.

Monitoring for this study will be performed by the sponsor. Monitoring visits will include, but are not limited to, review of regulatory files, accountability records, CRFs, ICFs, medical and laboratory reports, site study intervention storage records, training records, and protocol and GCP compliance.

The monitoring visits can be made online.

12.7 Publication

Following completion of the study, the results will be published in a scientific journal. Nevertheless, due to the critical need of results during the current epidemic COVID-19 crisis, preliminary results will be released by the sponsor to the Health Authorities.

13 APPENDICES

Appendix 1. Participating Investigation sites

Appendix 2. Regional Transfusion Centers

Appendix 3. Rehospitalization Substudy protocol



Appendix 1. Participating Investigation sites (v30_09_2020)

SITE #	PRINCIPAL INVESTIGATORS (Co-IP)	CLINICAL SITE	CITY	CONTACT
1	Dra. Elena Múñez	H. U. Puerta de Hierro Majadahonda	Madrid	elmuru@gmail.com
	Dr. José Luis Bueno Cabrera			joseluis.bueno@salud.madrid.org
2	Dr. Jaime Lora Tamayo	H. U.12 de Octubre	Madrid	sirsilverdelea@yahoo.com
	Dra. María Liz Paciello			mariapaciello@gmail.com
3	Dr. Javier Martínez Sanz	H. U. Ramón y Cajal	Madrid	javier.jmas@gmail.com
	Dr. Gemma Moreno			gmj@richmond.es
4	Dr. Vicente Estrada Perez	H. U. Clínico San Carlos	Madrid	vicente.estrada@salud.madrid.org
	Dra. María Isabel Sáez Serrano			mariaisabel.saez@salud.madrid.org
5	Dr. Jose Ramón Paño Pardo	H. C. U. Lozano Blesa Zaragoza	Zaragoza	jrpanno@salud.aragon.es
	Dr. José Antonio Moreno Chulilla			jamoreno@salud.aragon.es
6	Dr. Miguel Cervero Jimenez	H. U. Severo Ochoa	Madrid	mcerveroj@gmail.com
	Dra. Margarita Berberana Fernández de Murias			margarita.berberana@salud.madrid.org
7	Dr. Cristina Hernández Gutiérrez	H. U. Príncipe de Asturias	Madrid	cris.hg.86@gmail.com
	Dra. Elena Flores Ballester			elenafloresballester@gmail.com
8	Dra. Marina Machado	H. U. Gregorio Marañón	Madrid	marinamachadov@gmail.com
	Dr. Javier Anguita Velasco			javier.anguita@salud.madrid.org
9	Dr. Ignacio de los Santos Gil	H. U. La Princesa	Madrid	isantosg@hotmail.com
	Dra. Isabel Vicuña Andrés			isabelvicunaandres@gmail.com
10	Dr. Hernando Knobel	H. del Mar	Barcelona	HKnobel@parcdesalutmar.cat
	Dra. Gabriela Ene			gsene@bst.cat
11	Dra. Dolores Colunga	H. U. de Asturias	Oviedo	lolacolunga@yahoo.es
	Dr. José María García Gala			jgarciaga@gmail.com
12	Dra. María del Carmen Fariñas	H. U. Marqués de Valdecilla	Santander	mcarmen.farinas@scsalud.es
	Dr. Iñigo Romón Alonso			joseinigo.romon@scsalud.es
13	Dr. Carlos Jesús Dueñas Gutierrez	H. Clínico U. de Valladolid	Valladolid	jduenas@saludcastillayleon.es
	Dr. Ignacio de la Fuente Graciani			ifuentegr@saludcastillayleon.es
14	Dr. Moncef Belhassen García	H. U. Salamanca	Salamanca	mbelhassen@saludcastillayleon.es
	Dra. Olga López Villar			olgalopez@usal.es
15	Dr. María Gracia Ruiz de Alda	Complejo H. de Navarra	Pamplona	maria.gracia.ruizdealda@navarra.es
	Dra. Alicia Aranguren Azparren			alicia.aranguren.azparren@navarra.es



SITE #	PRINCIPAL INVESTIGATORS (Co-IP)	CLINICAL SITE	CITY	CONTACT
16	Dra. Paula Villares	H.U. HM Sanchinarro	Madrid	pvillares@hmhospitales.com
	Dr. Jaime Pérez de Oteyza			jperezoteyza@hmhospitales.com
17	Dr. Angel Sánchez Castaño	Complejo hospitalario de Toledo	Toledo	ajsanchezc@sescam.jccm.es
	Dr Angel Luis Pajares Herraiz			alpajares@sescam.jccm.es
18	Dr. José Ramón Yuste	Clínica Universidad de Navarra (CUN). Sedes Pamplona y Madrid	Pamplona	jryuste@unav.es
	Dra. Esther Pena Carbó			epcarbo@unav.es
19	Dr. José Javier Blanch Sancho	H. General de Albacete	Albacete	jjblanchs@sescam.jccm.es
	Dra. Elena Gutiérrez Gamarra			egutierrezg@sescam.jccm.es
20	Dra. María Lourdes Porras Leal	H. General U. de Ciudad Real	Ciudad Real	mlporrasl@yahoo.es
	Dra. María del Castillo Jarilla Fernández			mcjarilla2005@yahoo.es
21	Dra. Estibaliz Jarauta Simón	H. U. Miguel Servet	Zaragoza	estijarauta@gmail.com
	Dra. Victoria Paz González Rodríguez			vpgonzalez@salud.aragon.es
22	Dr. José Luis Mostaza Fernández	Complejo Asistencial U. de León	León	jmostaza@saludcastillayleon.es
	Dra. Julia Vidán Estévez			jvidan@saludcastillayleon.es
23	Dr. Francisco Puchades Gimeno	Hospital General U. de Valencia	Valencia	francesc.puchades@gmail.com
	Dr. Armando V. Mena-Duran			avmenaduran@gmail.com
24	Dr. Alfredo Jover Saenz	H. U. Arnau de Vilanova	Lleida	ajover.lleida.ics@gencat.cat
	Dr. Juan Manuel Sanchez Villegas			jmsanchezv@bst.cat
25	Dra. Antonia Flor Pérez	H Sant Joan de Deu de Manresa. Fundación Althaia	Manresa	aflor.flor@gmail.com
	Dr. Albert Altés Hernández			aaltesh@althaia.cat
26	Dra. Simona Iftimie	H. U. Sant Joan de Reus	Reus	smiftimie@grupsgessa.com
	Dra. Tania Canals			tcanals@bst.cat
27	Dr. José Antonio Oteo Revuelta	H San Pedro	Logroño	jaoteo@riojasalud.es
	Dr. Carlos Sola Lapeña			csola@riojasalud.es
28	Dr. Antoni Castro	H. Dr Josep Trueta	Girona	acastro.girona.ics@gencat.cat
	Dra. Anna Millán			amillan@bst.cat
29	Dr. Oscar Sanz Pelaez	H. Dr. Negrín	Las Palmas	oscarsanzp@gmail.com
	Dra. Luisa Guerra Domínguez			luisaguerra@me.com
30	Dr. Pere Almagro Mena	H. U. Mútua Terrassa	Terrassa	palmagro@mutuaterrassa.es
	Dra. Anny Jaramillo Rodríguez			acjaramillo@bst.cat



SITE #	PRINCIPAL INVESTIGATORS (Co-IP)	CLINICAL SITE	CITY	
31	Dr. Daniel Carnevali	H. U. Quironsalud Pozuelo	Madrid	daniel.carnevali@quironsalud.es
	Dr. Adrián Alegre Amor			adrian.alegre@quironsalud.es
32	Dr. Jose Antonio Iribarren	H. U. Donostia	Donostia	JOSEANTONIO.IRIBARRENLOYARTE@osakidetza.eus
	Dr. Juan Carlos Vallejo			JUANCARLOS.VALLEJOLLAMAS@osakidetza.eus
33	Dr. Javier Murillas	H. U. Son Espases	Palma	javier.murillas@ssib.es
	Dr. Carmen Ballester			mc.ballester@ssib.es



Appendix 2. Regional Transfusion Centers (v30_09_2020)

PRINCIPAL INVESTIGATORS	REGIONAL TRANSFUSION CENTERS	CITY	CONTACT
Dra. Ana María Arruga Manzano	Centro de Transfusión de la Comunidad de Madrid (CTCM)	Madrid	anamaria.arruga@salud.madrid.org
Dra. Ascensión Ramos Garrido	Centro de Transfusión de las Fuerzas Armadas (CTFA)	Madrid	aramga7@oc.mde.es
Dr. José M ^a Domingo Morera	Banco de Sangre y Tejidos Aragón	Zaragoza	jmdomingo1@hotmail.es
Dr. Jose Luis Arroyo Rodríguez	Banco de Sangre y Tejidos de Cantabria	Santander	director@bscan.org
Dra. Ana M ^a Ojea Pérez	Centro Comunitario de Sangre y Tejidos de Asturias	Oviedo	amojeaperez@gmail.com
Dr. Enric Contreras	Banc de Sang i Teixits de Catalunya	Barcelona	econtreras@bst.cat
Dr. Carlos Sola Lapeña	Banco de Sangre de La Rioja	Logroño	csola@riojasalud.es
Dra. M. Isabel González Fraile	Centro de Hemoterapia y Hemodonación de Castilla y León	Valladolid	igonzafr@saludcastillayleon.es
Dr. José Antonio García Erce	Banco de Sangre y Tejidos de Navarra	Pamplona	ja.garcia.erce@navarra.es
Dr. Martin Rubio Batllés	Centro de Transfusión de Albacete y Cuenca	Albacete	mrubiob@sescam.jccm.es
Dr. Angel Luis Pajares Herraiz	Centro regional de Transfusión Toledo-Guadalajara	Toledo	alpajares@sescam.jccm.es
Dra. María Elena Madrigal Sánchez	Centro de Transfusión de Ciudad Real	Ciudad Real	memadrigal@sescam.jccm.es
Dr. Amador Martín Recio	Instituto Canario de Hemodonación	Las Palmas	amarrec@ichh.org
Dr. Juan Manuel Sanchez Villegas	BST Lleida	Lleida	jmsanchezv@bst.cat
Dra. Laura Analia Maglio	BST Manresa	Manresa	lamaglio@bst.cat
Dr. Albert Soley Garasa	BST Reus	Reus	asoley@bst.cat



PRINCIPAL INVESTIGATORS	Regional Transfusion Centers	CITY	CONTACT
Dra. Anna Millan	BST Girona	Girona	amillan@bst.cat
Dra. Anny Jaramillo Rodríguez	BST Terrassa	Terrassa	acjaramillo@bst.cat
Dra. Cristina Arbona Castaño	Centro de Transfusión de Valencia	Valencia	arbona_cris@gva.es
Dr. Sabin Urcelay Uranga	Centro Vasco de Transfusiones y Tejidos Humanos	San Sebastian	sabin.urcelayuranga@osakidetza.eus
Dra. Teresa Jimenez	Fundació Banc de Sang i Teixits Illes Balears	Palma	tjimenez@fbstib.org



Appendix 3. Rehospitalization Substudy Protocol (Investigador responsable: Dr. José Ramón Paño Pardo)

1. Objetivos

1.1. Objetivo general

Describir las frecuencias y características clínicas, analíticas, radiológicas y microbiológicas de las recrudescencias tardías en pacientes con Covid-19.

1.2. Objetivos específicos

- Identificar la frecuencia de enfermedad tromboembólica venosa (ETE) en las recrudescencias tardías de Covid-19
- Cuantificar y caracterizar las infecciones debidas a otros virus respiratorios y las sobreinfecciones bacterianas o fúngicas asociadas en pacientes Covid-19 con recrudescencia tardía.
- Identificar la presencia de SARS-CoV-2 y confirmar su viabilidad en pacientes Covid-19 con recrudescencia tardía.
- Describir la situación inmunológica en pacientes con Covid-19 y recrudescencia tardía.

2. Métodos

2.1. Diseño

Aplicación de un protocolo diagnóstico en recrudescencias de Covid-19 que requieren ingreso, en una cohorte prospectiva de pacientes con infección por SARS-CoV-2.

2.2. Definiciones

- **Reactivación viral:** Cuadro clínico causado por la reactivación de SARS-CoV-2 en el contexto de una infección no curada.
- **Reinfección:** Cuadro clínico causado por una nueva infección por SARS-CoV-2.

2.3. Criterios de inclusión

- Edad ≥ 18 años
- Infección por SARS-CoV-2 confirmada por PCR
- Pacientes Incluidos en el ensayo ConPlas-19, que hayan sido dados de alta hospitalaria
- Precisar un nuevo ingreso entre el alta hospitalaria y las 6 semanas tras la aleatorización en el estudio



- Presentar alguna de las siguientes características:
 - 1) **Síndrome pseudogripal de ≥ 24 horas de evolución (2 o más síntomas):** Fiebre, mialgias, cefalea, diarrea, astenia
 - 2) **Deterioro respiratorio (2 o más de los siguientes):** Aumento de la disnea basal, de la tos, de los requerimientos de O₂ o dolor torácico
 - 3) **Manifestación focal grave de potencial origen infeccioso:** meningitis, encefalitis, mielitis, mielo-meningo-encefalitis, polineuropatía, miocarditis o artritis.

3. Protocolo diagnóstico

A los participantes se les aplicará un protocolo diagnóstico para el despistaje de las principales etiologías potencialmente implicadas. **(Anexo I)**.

Se registrarán en el CRDe las variables basales, del episodio inicial y del episodio de recrudescencia descritas en el **Anexo II**

Categorización de los componentes de la recrudescencia

Cada uno de los componentes será categorizado de la siguiente manera:

Componente	0	+	++	+++	++++
Replicación viral	Ninguna evidencia	<ul style="list-style-type: none"> ● PCR + en frotis nasofaríngeo ● Serología - 	PCR + para SARS-CoV-2 en sangre	Cualquier cultivo + para SARS-CoV-2	Evidencia de efecto citopático en Anatomía Patológica
Inflamación	<ul style="list-style-type: none"> ● PCR < 10mg/L ● Ferritina <300 ● IL-6 <5 	<ul style="list-style-type: none"> ● PCR 10-50 mg/L ● Ferritina 300-500 ● IL-6: 6-10 	<ul style="list-style-type: none"> ● PCR 51-100 mg/L ● Ferritina 501-1000 ● IL-6:11-40 	<ul style="list-style-type: none"> ● PCR 101-200 mg/L ● Ferritina 1001-3000 ● IL-6:41-100 	<ul style="list-style-type: none"> ● PCR >200 mg/L ● Ferritina >3000 ● IL-6: > 100 ● Miocarditis
Daño tisular	● LDH <250	● LDH 251-350	● LDH 351-500	● LDH 501-700	● LDH > 700
Infección nosocomial / oportunista	Ninguna evidencia	● Cultivo de un patógeno bacteriano fúngico sitio no estéril +		<ul style="list-style-type: none"> ● PCR CMV + ● PCR virus respiratorios + ● Galactomanano + 	<ul style="list-style-type: none"> ● Hemocultivo o cultivo de sitio estéril + ● PCR + <i>M. tuberculosis</i> o <i>P. jirovecii</i> en muestra respiratoria baja
Trombosis	● DD < 500	● DD 500-3000	DD > 3000	<ul style="list-style-type: none"> ● TEP segmentario o subsegmentario ● TVP distal ● AIT ● SCASEST 	<ul style="list-style-type: none"> ● TEP lobar o central ● Ictus establecido ● SCACEST

Tabla 1. Componentes de la recrudescencia

Anexo I. Protocolo diagnóstico

El abordaje diagnóstico de los pacientes con deterioro clínico tardío debe adaptarse a la gravedad del paciente y a la existencia de una sospecha diagnóstica alternativa.

- **Evaluación clínica:** historia epidemiológica, focalidad y determinación de gravedad clínica
- **Evaluación analítica:**
 - Hemograma
 - Coagulación básica con DD
 - Bioquímica básica con perfil hepático, CPK, troponina, LDH, ferritina y PCR
 - Inmunología: inmunoglobulinas, poblaciones linfocitarias, IL-6
- **Evaluación radiológica:**
 - Rx simple de tórax
 - Otras pruebas radiológicas según sospecha
- **Evaluación microbiológica:**
 - PCR de SARS-CoV-2 y de múltiples virus respiratorios en frotis nasofaríngeo
 - Aislamiento en cultivos celulares de SARS CoV2 en condiciones BSL3 (y cultivo)
 - PCR de CMV, VEB y SARS-CoV-2 en sangre
 - Serología específica para detección de anticuerpos anti SARS CoV2
 - Cultivos y resto de pruebas microbiológicas en función de la sospecha y focalidad

Los criterios orientativos de gravedad:

		Leve	Moderado	Grave
Frecuencia respiratoria en reposo		<18	18-24	>24
SatO2 (aire ambiente)	Pacientes SIN comorbilidad cardio-respiratoria	≥96%	93-95%	<93%
	Pacientes CON comorbilidad cardio-respiratoria	Similar a la basal	Inferior a la basal o < 90%	
Rx tórax		Sin cambios o mejoría respecto a la última disponible	Progresión radiológica respecto a la última prueba disponible (misma técnica)	
LDH		< 300	300-500	>500
Otros biomarcadores:				
<ul style="list-style-type: none"> • PCR • CPK Rangos generales • Troponina (cualitativa) • Ferritina • DD • IL-6 		Normales o inferiores respecto a la última determinación disponible	Aumento <50% respecto a la última determinación disponible	Aumento >50% respecto a la última determinación disponible

Tabla 2. Criterios orientativos de gravedad

A considerar en la evaluación en pacientes con gravedad moderada / grave:

- ✓ **Evaluación de la situación del parénquima pulmonar con TC tórax**
- ✓ **Despistaje de ETEV según protocolo local del centro**
- ✓ **Broncoscopia con BAS/BAL:** Valorar de forma individualizada la realización de broncoscopia para BAS y BAL (Cultivo de bacterias, PCR SARS-CoV-2, PCR multiplex virus respiratorios, PCR CMV, PCR *P. jirovecii*, galactomanano, PCR de *M. tuberculosis* y cultivo de micobacterias)

Si la PCR SARS-CoV-2 es positiva (una muestra por paciente) se procesará para:

- ✓ Aislamiento de SARS CoV2 en Cultivo celular de SARS-CoV-2
- ✓ Secuenciación masiva mediante NGS de los virus detectados en las muestras clínicas directamente

Anexo II. Variables

- **Visita basal del episodio de recrudescencia**
 - Fenotipo clínico: Síndrome pseudogripal, Gastrointestinal, Neumonía, SDRA Neurológico, Miocarditis, Otros
 - Ingreso en UCI: Sí / No
 - Fecha de ingreso en UCI
 - Fecha de alta en UCI
 - Fecha de inicio de los síntomas
 - Fecha de ingreso
 - Registro de síntomas y datos de la exploración
 - Fenotipo clínico
 - Rx tórax al ingreso
 - Infiltrado S/N.
 - Tipo infiltrado
 - Lateralidad (izquierdo / derecho / bilateral)
 - Progresión (sin cambios / progresión / mejoría)
 - Datos analíticos.
 - Muestras enviadas al CNM
 - Muestra otro estudio enviadas por fuera de GIPI(no en ConPlas)
 - Gravedad al ingreso (ver Tabla 1)
 - Gravedad escala OMS al ingreso

- **Visita de alta del episodio de recrudescencia**
 - Fecha de alta hospitalaria
 - Motivo de alta hospitalaria
 - Gravedad escala OMS máxima
 - Fecha de gravedad máxima
 - Gravedad escala OMS al alta
 - Ingreso en UCI: Sí / No. Fecha ingreso/alta
 - Fecha de ingreso en UCI
 - IOT: Sí / No. Si Sí, indicar: Fecha de IOT/fecha extubación
 - ETEV documentada en este episodio
 - Coinfección / sobreinfección: Sí/No. Indicar: Síndrome y Microorganismo
 - Componentes de la recrudescencia
 - Priorización de los componentes de la recrudescencia
 - Tratamiento recibido

- **Resultados microbiológicos ISCIII**



14 REFERENCES

1. Arabi YM, et al. Feasibility of using convalescent plasma immunotherapy for MERS-CoV infection, Saudi Arabia. *Emerging Infect Dis.* 2016;22(9):1554–1561. PMID: 27532807.
2. Casadevall A and Pirofski LA. The convalescent sera option for containing COVID-19. *J Clin Invest.* 2020 Mar 13; PMID: 32167489.
3. Cheng Y, et al. Use of convalescent plasma therapy in SARS patients in Hong Kong. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2005;24(1):44–46. PMID: 15616839.
4. Fu Y, et al. Understanding SARS-CoV-2-Mediated Inflammatory Responses: From Mechanisms to Potential Therapeutic Tools. *Virologica Sinica.* 2020 Mar 3; PMID: 32125642.
5. Mair-Jenkins J, et al. The effectiveness of convalescent plasma and hyperimmune immunoglobulin for the treatment of severe acute respiratory infections of viral etiology: a systematic review and exploratory meta-analysis. *J Infect Dis.* 2015;211:80-90. PMID: 25030060.
6. Tetro JA. Is COVID-19 receiving ADE from other coronaviruses? *Microbes Infect.* 2020;22(2):72-73. PMID: 32092539.
7. Zhang JS, et al. A serological survey on neutralizing antibody titer of SARS convalescent sera. *J Med Virol.* 2005;77(2):147–150. PMID: 16121363.
8. CPMP/ICH/363/96. ICH E9 Statistical Principles for Clinical Trials. URL: http://www.ema.europa.eu/ema/pages/includes/document/open_document.jsp?webContentId=W C500002928, last access: 09-Dec-2016.
9. CPMP/ICH/363/96. ICH E9 Statistical Principles for Clinical Trials. URL: http://www.ema.europa.eu/ema/pages/includes/document/open_document.jsp?webContentId=W C500002928, last access: 09-Dec-2016.
10. EMEA Scientific Guidelines for Human Medicinal Products, Clinical Efficacy and Safety Guidelines, General Guidelines. URL: http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/general/general_content_000602.jsp&mid=WC0b01ac05807d91a4, last access: 09-Dec-2016.
11. Schulz KF, Altman GD, Moher D for the CONSORT Group*. CONSORT 2010 Statement: Updated Guidelines for Reporting Parallel Group Randomized Trials. *Ann Intern Med.* 2010;152:726-732.
12. EQUATOR-network (Enhancing the Quality and Transparency of Health Research). URL: <http://www.equator-network.org/resource-centre/library-of-health-research-reporting/>, last access 16-Jun-2014
13. EMA/CHMP/EWP/117211/10. Guideline on the investigation of subgroups in confirmatory clinical trials (Draft). URL: http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/general/general_content_001215.jsp&mid=WC0b01ac05807d91a4, last access: 09-Dec-2016.
14. CPMP/ICH/363/96. ICH E9 Statistical Principles for Clinical Trials. URL: http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/general/general_content_001228.jsp&mid=WC0b01ac05807d91a4, last access: 09-Dec-2016.
15. CHMP/EWP/5872/03 Corr. Guideline on Data Monitoring Committees. URL: http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/general/general_content_001225.jsp&mid=WC0b01ac05807d91a4, last access: 09-Dec-2016.



ANEXO 3. DICTAMEN CEIm

INFORME DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CON MEDICAMENTOS

Código de protocolo de promotor: ConPlas-19

Protocolo Version: V1.0 Date:22/03/2020

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA DONANTES CONVALECIENTES DE COVID-19
PARA LA OBTENCIÓN DE PLASMA CONVALECIENTE (CP) TÉCNICA DE PLASMAFÉRESIS
HID/CI DONANTES VERSION 1.0_22/03/2020

HIP ConPlas-19. Versión 1.0 del 22 de marzo de 2020

Título: Ensayo clínico multicéntrico, aleatorizado, de terapia de plasma convaliente versus terapia estándar para el tratamiento de COVID-19 en pacientes hospitalizados.

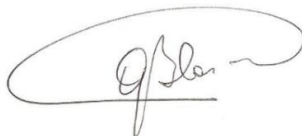
Tipo de estudio: Proyecto de Investigación

El Comité Ético de Investigación con Medicamentos del Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda en su reunión del 23/03/2020 (Acta nº 6/2020) tras la evaluación del estudio especificado, considera que:

1. El estudio evaluado cumple los requisitos metodológicos y técnicos.
2. La competencia de los investigadores y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.
3. Los riesgos y molestias previsibles de la investigación son aceptables en relación con los beneficios esperados.
4. El proceso de selección de los sujetos participantes es apropiado.
5. Se considera adecuado el procedimiento previsto para información y obtención del consentimiento informado o, alternativamente, se acepta la exención de consentimiento propuesta para este estudio.
6. Las compensaciones económicas previstas son adecuadas y no interfieren con el resto de postulados éticos.
7. El CEIm del Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda, tanto en su composición como en sus PNT's, cumple con las normas de BPC (CPMP/ICH/135/95).

Emite un **DICTAMEN FAVORABLE** para la realización del estudio.

Majadahonda, a 23 de marzo de 2020



Fdo.: Dra. Ana Blasco Lobo
Vicepresidenta del CEIm



Código de protocolo de promotor: ConPlas-19

Protocolo Version: V1.0 Date:22/03/2020

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA DONANTES CONVALECIENTES DE COVID-19
PARA LA OBTENCIÓN DE PLASMA CONVALECIENTE (CP) TÉCNICA DE PLASMAFÉRESIS
HID/CI DONANTES VERSION 1.0_22/03/2020

HIP ConPlas-19. Versión 1.0 del 22 de marzo de 2020

Título: Ensayo clínico multicéntrico, aleatorizado, de terapia de plasma convaliente versus terapia estándar para el tratamiento de COVID-19 en pacientes hospitalizados.

Promotor: FUNDACION PARA LA INVESTIGACION BIOMEDICA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO PUERTA DE HIERRO MAJADAHONDA

Investigador Coordinador: Dr. Antonio Ramos Martínez **Servicio:** Medicina Interna

Tipo de estudio: Proyecto de Investigación

A continuación, se relacionan los miembros del CEIm:

Presidente:

- CRISTINA AVENDAÑO SOLÁ (Farmacología Clínica - FARMACOLOGÍA - HOSPITAL PUERTA DE HIERRO)

Vicepresidente:

- ANA BLASCO LOBO (Cardiología - CARDIOLOGIA - HOSPITAL PUERTA DE HIERRO)

Secretario:

- BELEN RUIZ ANTORAN (Farmacología Clínica - FARMACOLOGÍA - HOSPITAL PUERTA DE HIERRO)

Vocales:

- ANA SÁNCHEZ RAMOS (Cirugía General y del Aparato Digestivo)
- LUIS MANUEL SAN FRUTOS LLORENTE (Ginecología y Obstetricia - GINECOLOGIA - HOSPITAL PUERTA DE HIERRO)



- CRISTINA ESCUDERO GOMEZ (Biblioteca)
- JORGE VEIGA DE CABO (Miembro lego, que representa los intereses de los pacientes)
- ANTONIO CARLOS SANCHEZ RUIZ (Oncología Médica - ONCOLOGÍA MÉDICA - HOSPITAL PUERTA DE HIERRO)
- BELEN RODRIGUEZ MARRODAN (Farmacia Hospitalaria)
- PALOMA MARTIN ACOSTA (Anatomía Patológica - ANATOMIA PATOLOGICA - HOSPITAL PUERTA DE HIERRO)
- ROCIO LAYUNTA ACERO (Enfermera - FARMACOLOGÍA - HOSPITAL PUERTA DE HIERRO)
- JAVIER MORENO ALEMAN (Abogado. Miembro ajeno al centro)
- MARTA RODRIGUEZ PRIETO (Abogada. Representante lego)
- PURIFICACION ROS PEREZ (Pediatria - PEDIATRIA - HOSPITAL PUERTA DE HIERRO)
- JUAN JOSE GRANIZO MARTINEZ (Responsable de investigación clínica y estadística - OTRO - HOSPITAL INFANTA CRISTINA PARLA)
- ELENA FUENTES RODRIGUEZ (Farmacéutica de Atención Primaria)
- PEDRO DURAN DEL CAMPO (Medicina Interna. C. Ética Asistencial)

Anexo I

CENTROS E INVESTIGADORES PRINCIPALES PARTICIPANTES EN ESPAÑA

CÓDIGO: ConPlas-19

TÍTULO: Ensayo clínico multicéntrico, aleatorizado, de terapia de plasma convalciente versus terapia estándar para el tratamiento de COVID-19 en

pacientes hospitalizados.

FECHA ACTUALIZACIÓN ANEXO I: 23/03/20

Investigador principal Medicina Interna	Investigador principal Médico Hematólogo	Centro de realización del estudio
Dra. Elena Múñez Rubio	Dr. José Luis Bueno Cabrera	Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda
Dr. Miguel Cervero Jiménez	Dra. Margarita Berberana Fernández de Murias	Hospital Universitario Severo Ochoa
Dra. Cristina Hernández Gutiérrez	Dra. Elena Flores Ballester	Hospital Universitario Príncipe de Asturias
Dra. Marina Machado	Dr. Javier Anguita Velasco	Hospital Universitario Gregorio Marañón
Dr. Sergio Serrano Villar	Dra. Gemma Moreno	Hospital Universitario Ramón y Cajal
Dr. Jaime Lora Tamayo	Dra. María Liz Paciello	Hospital Universitario 12 de Octubre
Dr. Ignacio De Los Santos Gil	Dra. Isabel Vicuña Andrés	Hospital Universitario Princesa
Dr. Vicente Estrada Pérez	Dra. Celina Rodríguez González	Hospital Universitario Clínico San Carlos
No aplica	Dra. Ana Arruga	Centro de Transfusión de la Comunidad de Madrid



- (1) El CEIm de Puerta de Hierro aprueba la realización de este estudio para los centros mencionados arriba y para todos los centros de España que el promotor del estudio incorpore al mismo, siempre que se mantenga una análoga competencia de los investigadores y de la dotación de los centros. Está bajo su responsabilidad verificar que los nuevos centros participantes cumplen con las garantías previstas.

- (2) En el caso de este estudio, sin embargo, y por las especiales condiciones del mismo, el promotor deberá remitir al CEIm la composición del equipo investigador de cada uno de los centros que se incorporan al estudio.

El CEIm revisará la documentación de cada centro y podrá solicitar al promotor información adicional si lo considera necesario o incluso, si la respuesta no fuera satisfactoria, suspender la realización del estudio en algún centro.

ANEXO 4. PUBLICACIONES

Diago-Sempere E, Bueno JL, Sancho-López A, Rubio EM, Torres F, de Molina RM, Fernández-Cruz A, de Diego IS, Velasco-Iglesias A, Payares-Herrera C, Flecha IC, Avendaño-Solà C, Palomino RD, Ramos-Martínez A, Ruiz-Antorán B.

Evaluation of convalescent plasma versus standard of care for the treatment of COVID-19 in hospitalized patients: study protocol for a phase 2 randomized, open-label, controlled, multicenter trial.

Trials. 2021 Jan 20;22(1):70.

doi: 10.1186/s13063-020-05011-9. PMID: 33472681; PMCID: PMC7816149.

STUDY PROTOCOL

Open Access



Evaluation of convalescent plasma versus standard of care for the treatment of COVID-19 in hospitalized patients: study protocol for a phase 2 randomized, open-label, controlled, multicenter trial

Elena Diago-Sempere¹, José Luis Bueno², Aránzazu Sancho-López^{1*}, Elena Muñoz Rubio³, Ferrán Torres⁴, Rosa Malo de Molina⁵, Ana Fernández-Cruz³, Isabel Salcedo de Diego¹, Ana Velasco-Iglesias⁶, Concepción Payares-Herrera¹, Inmaculada Casas Flecha⁷, Cristina Avendaño-Solà¹, Rafael Duarte Palomino⁸, Antonio Ramos-Martínez³ and Belén Ruiz-Antorán¹

Abstract

Background: COVID-19 is a respiratory disease caused by a novel coronavirus (SARS-CoV-2) and causes substantial morbidity and mortality. At the time this clinical trial was planned, there were no available vaccine or therapeutic agents with proven efficacy, but the severity of the condition prompted the use of several pharmacological and non-pharmacological interventions.

It has long been hypothesized that the use of convalescent plasma (CP) from infected patients who have developed an effective immune response is likely to be an option for the treatment of patients with a variety of severe acute respiratory infections (SARI) of viral etiology. The aim of this study is to assess the efficacy and safety of convalescent plasma in adult patients with severe COVID-19 pneumonia.

Methods/design: The ConPlas-19 study is a multicenter, randomized, open-label controlled trial. The study has been planned to include 278 adult patients hospitalized with severe COVID-19 infection not requiring mechanical ventilation (invasive or non-invasive). Subjects are randomly assigned in a 1:1 ratio (139 per treatment arm), stratified by center, to receive intravenously administered CP (single infusion) plus SOC or SOC alone, and are to be followed for 30 days. The primary endpoint of the study is the proportion of patients that progress to category 5, 6, or 7 (on the 7-point ordinal scale proposed by the WHO) at day 15. Interim analyses for efficacy and/or futility will be conducted once 20%, 40%, and 60% of the planned sample size are enrolled and complete D15 assessment.

(Continued on next page)

* Correspondence: Aranzazu.sancho@salud.madrid.org

¹Clinical Pharmacology Department, Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda, Instituto de Investigación Sanitaria Puerta de Hierro - Segovia de Arana, c/ Manuel de Falla 1, 28222 Madrid, Spain

Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s). 2021 **Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated in a credit line to the data.

(Continued from previous page)

Discussion: This clinical trial is designed to evaluate the efficacy and safety of passive immunotherapy with convalescent plasma for the treatment of adult patients hospitalized with COVID-19. The results of this study are expected to contribute to establishing the potential place of CP in the therapeutics for a new viral disease.

Trial registration: ClinicalTrials.gov [NCT04345523](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT04345523). Registered on 30 March, 2020. First posted date: April 14, 2020.

Keywords: COVID-19, Randomized, Controlled trial, Protocol, Convalescent plasma (CP), Antibodies, Neutralizing antibodies, Hospitalized patients

Background

COVID-19 is a respiratory disease caused by a novel coronavirus (SARS-CoV-2) and causes substantial morbidity and mortality. At the time the study was planned, there were no vaccines to prevent COVID-19 or infection with SARS-CoV or therapeutic agent with demonstrated efficacy as specific treatment for COVID-19.

Convalescent plasma (CP) from infected patients who have developed an immune response is likely to be an option for the treatment of patients with a variety of severe viral diseases. This would include patients in the most recent epidemics with coronaviruses, SARS1 in 2003 and MERS in 2012, and potentially as well patients in the current COVID-19 pandemic. Despite suggesting safety and potential efficacy, the available evidence has the major limitation of being based on predominantly low-quality uncontrolled studies [1]. Here we present a summary of the rationale and justification for conducting a multicenter, randomized clinical trial of CP therapy in COVID-19 hospitalized patients.

Passive immunotherapy involves the administration of antibodies against a given agent to a susceptible individual with the purpose of preventing or treating an infectious disease caused by that agent. Historically CP has been used in outbreaks of poliomyelitis, measles, mumps, influenza (1918 H1N1 and 2009–2010 H1N1), and 2013 Ebola [2]. In addition, although less readily available and requiring more complex manufacturing than CP, conventional and hyperimmune immunoglobulins are used in clinical practice on a number of infections such as respiratory syncytial virus, hepatitis B, and others [3].

Currently, the only source of antibodies available for immediate use against SARS-CoV-2 is human CP. This is a readily available resource during an epidemic crisis even in low-income countries, as it uses the infrastructure and means developed for blood transfusions. In addition, as more individuals contract COVID-19 and recover, the number of potential donors will continue to increase in all areas where COVID-19 epidemic is present [4].

The experience with severe acute respiratory infections (SARI) caused by a coronavirus is rather recent in a number of epidemics in the twenty-first century. Human

CP was used in patients from both SARS-1 in 2003 and MERS in 2012. Overall, the experience showed that CP is safe and likely to reduce mortality in patients with coronavirus-related SARI. The largest study with 80 patients with SARS in Hong Kong in 2003 [5] and subsequent publications [6, 7] point out that earlier administration after symptom onset is more effective, particularly before day 14, prior to seroconversion in patients remaining PCR test positive.

From this background and rationale, we have developed this study with the objective of evaluating the safety and efficacy of CP in hospitalized adult patients with severe COVID-19. In the midst of a worldwide pandemic of SARS-CoV-2 and COVID-19, CP was hypothesized to represent a potential effective therapeutic option with a favorable safety profile for these patients.

Objectives

The trial objective is to evaluate the clinical efficacy and safety of Convalescent Plasma combined with standard of care (SOC) compared with SOC alone in adult patients with severe COVID-19.

Study design

This is a phase 2, parallel group, randomized, open-label, controlled, superiority, multicenter clinical trial.

The protocol has been prepared in accordance with the SPIRIT (Standard Protocol Items: Recommendations for Interventional Trials) guidelines (Fig. 1).

Approximately 278 patients (139 per arm) with severe SARS-CoV-2 pneumonia will be enrolled at 32 centers. Individuals fulfilling selection criteria will be randomized to receive CP (+SOC) or SOC alone at a ratio of 1:1. Also, approximately 140–200 CP donors will be recruited.

The study has been planned with a sequential design. Interim analyses for safety monitoring and for comprehensive efficacy/futility will be conducted when 20%, 40%, 60%, and 80% of patients have been recruited and completed D15 primary endpoint assessment, or at the discretionary criteria of the Data Safety Monitoring Board (DSMB) when needed.



SPIRIT 2013 Checklist: Recommended items to address in a clinical trial protocol and related documents*

Section/item	Item No	Description	Addressed on page number
Administrative information			
Title	1	Descriptive title identifying the study design, population, interventions, and, if applicable, trial acronym	1,9
Trial registration	2a	Trial identifier and registry name. If not yet registered, name of intended registry	1
	2b	All items from the World Health Organization Trial Registration Data Set	1
Protocol version	3	Date and version identifier	1
Funding	4	Sources and types of financial, material, and other support	1
Roles and responsibilities	5a	Names, affiliations, and roles of protocol contributors	3-5
	5b	Name and contact information for the trial sponsor	3
	5c	Role of study sponsor and funders, if any, in study design; collection, management, analysis, and interpretation of data; writing of the report; and the decision to submit the report for publication, including whether they will have ultimate authority over any of these activities	3-6
	5d	Composition, roles, and responsibilities of the coordinating centre, steering committee, endpoint adjudication committee, data management team, and other individuals or groups overseeing the trial, if applicable (see Item 21a for data monitoring committee)	3-6
Introduction			
Background and rationale	6a	Description of research question and justification for undertaking the trial, including summary of relevant studies (published and unpublished) examining benefits and harms for each intervention	15-17
	6b	Explanation for choice of comparators	20
Objectives	7	Specific objectives or hypotheses	17
Trial design	8	Description of trial design including type of trial (eg, parallel group, crossover, factorial, single group), allocation ratio, and framework (eg, superiority, equivalence, non-inferiority, exploratory)	20
Methods: Participants, interventions, and outcomes			
Study setting	9	Description of study settings (eg, community clinic, academic hospital) and list of countries where data will be collected. Reference to where list of study sites can be obtained	21
Eligibility criteria	10	Inclusion and exclusion criteria for participants. If applicable, eligibility criteria for study centres and individuals who will perform the interventions (eg, surgeons, psychotherapists)	21-22
Interventions	11a	Interventions for each group with sufficient detail to allow replication, including how and when they will be administered	20
	11b	Criteria for discontinuing or modifying allocated interventions for a given trial participant (eg, drug dose change in response to harms, participant request, or improving/worsening disease)	N/A, this was a single dose intervention study
	11c	Strategies to improve adherence to intervention protocols, and any procedures for monitoring adherence (eg, drug tablet return, laboratory tests)	N/A, this was a single dose intervention study
	11d	Relevant concomitant care and interventions that are permitted or prohibited during the trial	25
Outcomes	12	Primary, secondary, and other outcomes, including the specific measurement variable (eg, systolic blood pressure), analysis metric (eg, change from baseline, final value, time to event), method of aggregation (eg, median, proportion), and time point for each outcome. Explanation of the clinical relevance of chosen efficacy and harm outcomes is strongly recommended	17-19

Fig. 1 SPIRIT 2013 Checklist: Recommended items to address in a clinical trial protocol and related documents*

Methods: participants, interventions, and outcomes

Participating centers

Study clinical sites included 33 public and private tertiary hospitals across the different regions in Spain. The only requirement for the participating study sites was a local research team that includes as co-principal investigators both a hematologist and an infectious diseases or internal

medicine investigator, together with participation in the trial of the reference Transfusion Center. Transfusion services or centers at the hospitals or Autonomous Communities and National Army Transfusion Center are essential participants in this trial. ISCIII (Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III) centralized the antibodies and PCR microbiological testing from patients and donors (Additional file 1).

Participant timeline	13	Time schedule of enrolment, interventions (including any run-ins and washouts), assessments, and visits for participants. A schematic diagram is highly recommended (see Table 1)	29
Sample size	14	Estimated number of participants needed to achieve study objectives and how it was determined, including clinical and statistical assumptions supporting any sample size calculations	33
Recruitment	15	Strategies for achieving adequate participant enrolment to reach target sample size	22
Methods: Assignment of interventions (for controlled trials)			
Allocation:			
Sequence generation	16a	Method of generating the allocation sequence (eg, computer-generated random numbers), and list of any factors for stratification. To reduce predictability of a random sequence, details of any planned restriction (eg, blocking) should be provided in a separate document that is unavailable to those who enrol participants or assign interventions	25, 27
Allocation concealment mechanism	16b	Mechanism of implementing the allocation sequence (eg, central telephone; sequentially numbered, opaque, sealed envelopes), describing any steps to conceal the sequence until interventions are assigned	25
Implementation	16c	Who will generate the allocation sequence, who will enrol participants, and who will assign participants to interventions	25
Blinding (masking)	17a	Who will be blinded after assignment to interventions (eg, trial participants, care providers, outcome assessors, data analysts), and how	25
	17b	If blinded, circumstances under which unblinding is permissible, and procedure for revealing a participant's allocated intervention during the trial	N/A, the study was open-label
Methods: Data collection, management, and analysis			
Data collection methods	18a	Plans for assessment and collection of outcome, baseline, and other trial data, including any related processes to promote data quality (eg, duplicate measurements, training of assessors) and a description of study instruments (eg, questionnaires, laboratory tests) along with their reliability and validity, if known. Reference to where data collection forms can be found, if not in the protocol	27-28
	18b	Plans to promote participant retention and complete follow-up, including list of any outcome data to be collected for participants who discontinue or deviate from intervention protocols	26
Data management	19	Plans for data entry, coding, security, and storage, including any related processes to promote data quality (eg, double data entry; range checks for data values). Reference to where details of data management procedures can be found, if not in the protocol	23/24
Statistical methods	20a	Statistical methods for analysing primary and secondary outcomes. Reference to where other details of the statistical analysis plan can be found, if not in the protocol	32-38, a separate SAP is available upon request to the corresponding author
	20b	Methods for any additional analyses (eg, subgroup and adjusted analyses)	38
	20c	Definition of analysis population relating to protocol non-adherence (eg, as randomised analysis), and any statistical methods to handle missing data (eg, multiple imputation)	34
Methods: Monitoring			
Data monitoring	21a	Composition of data monitoring committee (DMC); summary of its role and reporting structure; statement of whether it is independent from the sponsor and competing interests; and reference to where further details about its charter can be found, if not in the protocol. Alternatively, an explanation of why a DMC is not needed	40
	21b	Description of any interim analyses and stopping guidelines, including who will have access to these interim results and make the final decision to terminate the trial	37
Harms	22	Plans for collecting, assessing, reporting, and managing solicited and spontaneously reported adverse events and other unintended effects of trial interventions or trial conduct	30-31
Auditing	23	Frequency and procedures for auditing trial conduct, if any, and whether the process will be independent from investigators and the sponsor	40
Ethics and dissemination			
Research ethics approval	24	Plans for seeking research ethics committee/institutional review board (REC/IRB) approval	38

Fig. 1 SPIRIT 2013 Checklist: Recommended items to address in a clinical trial protocol and related documents*

Eligibility criteria

Eligibility criteria for patients

Inclusion criteria are as follows:

1. Written informed consent prior to performing study procedures. Witnessed oral consent will be accepted in order to avoid paper handling, which

increased the risk of transmission of the infection. Written consent by patient or representatives will be obtained as soon as possible.

2. Male or female adult patient ≥ 18 years of age at the time of enrolment.
3. Laboratory-confirmed SARS-CoV-2 infection as determined by PCR in naso/oropharyngeal swabs

Protocol amendments	25	Plans for communicating important protocol modifications (eg, changes to eligibility criteria, outcomes, analyses) to relevant parties (eg, investigators, REC/IRBs, trial participants, trial registries, journals, regulators)	38
Consent or assent	26a	Who will obtain informed consent or assent from potential trial participants or authorised surrogates, and how (see Item 32)	38
	26b	Additional consent provisions for collection and use of participant data and biological specimens in ancillary studies, if applicable	39
Confidentiality	27	How personal information about potential and enrolled participants will be collected, shared, and maintained in order to protect confidentiality before, during, and after the trial	39
Declaration of interests	28	Financial and other competing interests for principal investigators for the overall trial and each study site	N/A, this was an academic trial. Principal investigators received no payment for their participation.
Access to data	29	Statement of who will have access to the final trial dataset, and disclosure of contractual agreements that limit such access for investigators	40
Ancillary and post-trial care	30	Provisions, if any, for ancillary and post-trial care, and for compensation to those who suffer harm from trial participation	38
Dissemination policy	31a	Plans for investigators and sponsor to communicate trial results to participants, healthcare professionals, the public, and other relevant groups (eg, via publication, reporting in results databases, or other data sharing arrangements), including any publication restrictions	41
	31b	Authorship eligibility guidelines and any intended use of professional writers	N/A, the investigator team agreed to write all related papers. Authorship will be agreed based on contribution to the conception/design/conduct/analyses or data interpretation.
	31c	Plans, if any, for granting public access to the full protocol, participant-level dataset, and statistical code	Yes, access to this information can be granted by the principal coordinators upon adequate justification.
Appendices			
Informed consent materials	32	Model consent form and other related documentation given to participants and authorised surrogates	The Informed consent forms are available upon request to the corresponding author.
Biological specimens	33	Plans for collection, laboratory evaluation, and storage of biological specimens for genetic or molecular analysis in the current trial and for future use in ancillary studies, if applicable	24, 25 The protocol and the informed consent forms reflect actual plans for collections, evaluation and storage of biological specimens. There are also provisions for potential future uses of remaining specimens related to CoV-SARS-2 infection.

*It is strongly recommended that this checklist be read in conjunction with the SPIRIT 2013 Explanation & Elaboration for important clarification on the items. Amendments to the protocol should be tracked and dated. The SPIRIT checklist is copyrighted by the SPIRIT Group under the Creative Commons ["Attribution-NonCommercial-NoDerivs 3.0 Unported"](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/) license.

Fig. 1 SPIRIT 2013 Checklist: Recommended items to address in a clinical trial protocol and related documents*

or any other relevant specimen obtained in the ongoing COVID-19 symptomatic period. Alternative tests (i.e., rapid antigenic tests) are also acceptable as laboratory confirmation if their adequate specificity has been accepted by the sponsor.

4. Patients requiring hospitalization for COVID-19 without mechanical ventilation (invasive or non-invasive) or high flow oxygen devices and at least one of the following:
 - Radiographic evidence of pulmonary infiltrates by imaging (chest X-ray, CT scan, etc.) OR
 - Clinical assessment (evidence of rales/crackles on exam) and SpO₂ ≤ 94% on room air that requires supplemental oxygen.
5. No more than 12 days between the onset of symptoms (fever or cough) and treatment administration day. Following 31 August amendment, only patients with no more than 7 days between the onset of symptoms and treatment administration day are allowed for inclusion.

Exclusion criteria are as follows:

1. Requiring mechanical ventilation (invasive or non-invasive) or high flow oxygen devices at screening.
2. More than 12 days since symptoms (fever or cough) onset.
3. Participation in any other clinical trial of an experimental treatment for COVID-19.
4. In the opinion of the clinical team, progression to death is imminent and inevitable within the next 24 h, irrespective of the provision of treatments.
5. Any incompatibility or allergy to the administration of human plasma.
6. Stage 4 severe chronic kidney disease or requiring dialysis (i.e., eGFR < 30).

Eligibility criteria for donors

Inclusion criteria are as follows:

1. Subjects willing and able to provide written informed consent.
2. Fulfilling all the current requirements to be a plasma apheresis donor according to the regulations for donation of blood products (European Guidelines and RD 1088/2005 in Spain).
3. Absence of COVID-19 symptoms within the last 14 days.
4. Anti SARS-CoV-2 IgG antibodies detectable in peripheral blood.
5. ≥ 18 years of age at time of donation.

6. Weight > 50 kg and good vein access are standard criteria, for which exceptions could be considered according to the criteria of the blood bank and hematologist.

Exclusion criteria are as follows:

1. Plasmapheresis in the previous 7 days.
2. Whole blood donation in the previous 30 days.
3. Donation of more than 25 l of plasma in the previous 12 months.

Informed consent

Investigators will obtain the subject's informed consent in accordance with Spanish Law 14/2007 on Biomedical Investigation and the internationally ethical accepted guidelines.

Patients will receive a concise and focused presentation of key information about the clinical trial, orally, and a written informed consent form will be handled to the patient. Due to paper handling limitation in COVID wards, oral witnessed consent will be accepted before entering into the trial, with written documentation in the patient clinical record. If possible, written consent form will be obtained from the patient himself or acceptable representatives, at a later time.

Donors will receive concise information about the clinical trial and will give written informed consent before donating convalescent plasma.

Additional consent provisions

The consent form includes provisions for research data and residual samples to be stored for future scientific research on COVID-19. These future studies will be previously evaluated by a Research Ethics Committee and will comply with the applicable ethical and legal requirements.

Study interventions

Intervention description

All trial participants will receive SOC for COVID-19. The control arm is SOC for COVID-19. In the treatment arm, patients will also receive intravenous pathogen-reduced CP from patients recovered from COVID-19 (designated as donors) as add-on therapy to SOC.

In the current status of a worldwide pandemic for which we have no approved vaccines or drugs, for the purpose of this trial SOC will include any medicinal products being used in clinical practice (e.g., lopinavir/ritonavir; darunavir/cobicistat; hydroxy/chloroquine, tocilizumab, remdesivir, allowed as SOC when its use outside clinical trials was permitted), other than those used as part of another clinical trial.

Donor assessment, pathogen-reduced plasma collection, and production will be performed by hospital

Transfusion Services and Regional Transfusion Centers. Local organization will be adapted to the existing structure at the regional level.

Criteria for discontinuing or modifying allocated interventions

A patient may be removed from the study treatment for the reasons mentioned below, although whenever possible the patient should be followed regardless of their protocol adherence as per the efficacy and safety evaluations:

- Patient withdraws consent or requests discontinuation from the study for any reason
- Termination of the study.
- Lost to follow-up.

Patients who withdraw from this study or are lost to follow-up after signing the informed consent form (ICF) will not be replaced. The reason for patient discontinuation from the study will be recorded on the appropriate case report form.

Strategies to improve adherence to interventions

This item is not applicable, since the active agent is administered intravenously by health care professionals in a single-dose administration.

Relevant concomitant care permitted or prohibited during the trial

This study seeks to investigate the effects of CP in addition to standard of care. All concomitant care and interventions are permitted other than concomitant administration of any other experimental treatment.

Provisions for post-trial care

No special arrangements for post-trial care are anticipated.

Outcomes

Primary outcome measure

The primary outcome measure is the proportion of patients that progress to category 5, 6, or 7 (hospitalized severe disease or death categories) on the 7-point ordinal scale recommended in the Master Protocol of the WHO R&D Blueprint expert group, at day 15 (Table 1).

Secondary outcome measures

The secondary outcome measures include the following:
-Ordinal scale (see 7-point ordinal scale above):

Table 1 Ordinal scale for illness severity

1. Not hospitalized, no limitation of activities
2. Not hospitalized, limitation of activities
3. Hospitalized, not requiring supplemental oxygen
4. Hospitalized, requiring supplemental oxygen by mask or nasal prongs
5. Hospitalized, non-invasive ventilation or high flow oxygen
6. Hospitalized, intubation and mechanical ventilation or ECMO
7. Death

- Status at day 30
- Time to category 5, 6, or 7 of the ordinal scale.
- Time to an improvement of one category from admission on the ordinal scale.
- Time to first deterioration
- Mean change in the ranking on an ordinal scale from baseline to days 3, 5, 8, 11, 15, 29, and 60.

-Ordinal scale of 11 points (Additional file 2):

- Mean change in the ranking on an ordinal scale from baseline to days 3, 5, 8, 11, 15, 29, and 60
 - Status at day 15 and 30
- Mortality rate (all cause) at day 15, at day 29, and at day 60.
 - Oxygenation-free days in the first 28 days (day 29).
 - Ventilator-free days in the first 28 days (day 29).
 - Duration of hospitalization (days).
 - Incidence of thrombotic arterial events.
 - Incidence of thrombotic venous events.
 - Rate of rehospitalizations.
 - Serum level of CRP, lymphocyte count, LDH, D Dimer, IL-6, coagulation tests at baseline and at days 3, 5, 8, 11, 15, 29, and 60.
 - Safety assessments of CP + SOC as compared to SOC alone through day 60 considering cumulative incidence of serious adverse events (SAEs), cumulative incidence of Grade 3 and 4 adverse events (AEs), and infusion-related adverse reactions.

Exploratory outcomes include the following virology and immunology assessments

- a) Qualitative and quantitative RT-PCR for SARS-CoV-2 in nasopharyngeal/oropharyngeal swabs at baseline and at hospital discharge;
- b) Qualitative and quantitative RT-PCR for SARS-CoV-2 in blood on days 3, 5, 8, 11, 15, 29, and 60 (while hospitalized), until two of them are negative consecutively;

- c) Quantitative anti SARS-CoV-2 antibodies level at baseline and on days 8, 15, 29, and 60 (while hospitalized);
- d) Neutralizing antibodies study in plasma donors and a subset of patients at baseline.

Participant timelines

The schedule of interventions and visits can be found in Fig. 2.

Sample size

We propose an open-label, standard of care controlled, randomized (1:1 ratio) clinical trial with stopping boundaries for efficacy and futility at 20, 40, 60, and 80% of the final sample size. The statistical design including the sample size and stopping have been calculated using the East validated software v6.5 by Cytel Inc. The stopping boundaries for superiority and inferiority have been calculated using the rho family spending functions.

The primary outcome measure is the proportion of patients that progress to category 5, 6, or 7 (hospitalized with severe disease or death categories of the 7-point ordinal scale), at day 15. With this design, 278 patients (139 per arm) will be required assuming 20% rate in the control group and an absolute reduction of 10% (10% rate in experimental group), with 80% statistical power and a 2.5% one-sided alpha level (5% two-sided). Likewise, approximately 140–200 CP donors will be needed.

With regard to the final sample size, it is predefined that a sample size recalculation will be put in place when 60% of the patients with assessed events at day 15 are available and the 3rd analyses are conducted.

Recruitment

Patients with COVID-19 will be recruited at the participating clinical sites.

Assignment of interventions: allocations

Sequence generation

Randomization among the two arms will be 1:1 and will be stratified per center.

The randomization process has been developed using the RERAND system integrated within the RDC Onsite ECRF system based on Oracle.

Concealment mechanism

This open-label trial will use blind randomization of patients in a 1:1 ratio to CP (+SOC) or SOC alone through a centralized system embedded in the eCRF (Oracle Clinical). Baseline clinical data will be entered in the eCRF before the patient can be randomly assigned via the eCRF at 1:1 ratio to receive standard of care with or without CP as add-on therapy. The system will automatically notify the assigned treatment arm at the eCRF

screen and will send a confirmatory message at the email with the randomization information.

Implementation

Patients in the treatment arm will receive a single unit of CP (250–300 mL) after randomization on day 1 under control of the patient's clinician and the Transfusion Service's hematologist of the hospital.

Pathogen-reduced plasma bags will be frozen below -25°C and stored and shipped following European guidelines for blood components storage (36 months below -25°C or 3 months below -18°C). For transport, plasma bags must be kept frozen. No special containers are needed if plasma units are kept frozen at the delivery.

Assignment of interventions: blinding

This is an open-label study. To reduce treatment bias, the eCRF did not allow randomizing a subject until sufficient clinical information from the subject was already included, reducing the possibility that a given subject could be re-randomized. Additional measures were implemented to reduce assessment bias, e.g., clinical information was collected, and daily clinical decisions were taken by the medical staff at each study center, that in most cases were not part of the research team. The primary endpoint was restricted to WHO scores ≥ 5 in an attempt to not only focus on relevant outcomes, but also to increase the robustness of the endpoint; although some scores are subjected to clinical judgment, these are hardly influenced by the clinical trial participation and/or treatment assignment.

Data collection and management

Plans for assessment and collections of outcomes

Investigators are responsible for assessment and collection of outcomes, baseline, and other trial data. Data will be entered in the CRF by delegated team members and will be monitored by the clinical research associated. Subjects will be assessed daily while hospitalized. Patients discharged before the end of follow-up will be regularly phoned or asked to attend study visits. NP/OP swabs for virus analysis and blood samples for serological analysis will be sent to a central laboratory, where test will be performed according to laboratory standard operating procedures.

Plans to promote participants retention and complete follow-up

Patients are free to withdraw from participation in the study at any time. The decision must be communicated and reviewed by investigators. Staff at study sites should explain to these subjects the importance of staying in the study for the full duration of follow-up of this trial for safety reasons. The reason for patient

VISITS	Screening ¹	Baseline ¹	Follow-Up VISITS ⁴	Day15 ⁴	Day29 ⁴	Day60 ⁴ (End of study)
Day +/- Window	-3 to 1	1	Daily until hospital discharge	± 2	± 3	± 3
ASSESSMENTS/PROCEDURES						
Informed consent	X					
Inclusion and exclusion criteria	X	X				
Demographics & Medical History	X					
SARS-CoV-2 PCR or antigen test	X ²					
Rx Thorax	X ⁷					
Randomization		X				
Administration Convalescent Plasma		X				
Clinical data collection		X	Daily until hospital discharge	X	X	X
Vital signs: SpO ₂ /T ³	X	X	Daily until hospital discharge	X	X	X
Oxygen requirement		X	Daily until hospital discharge	X	X	
Mechanical ventilator requirement		X	Daily until hospital discharge	X	X	
Mortality			Daily until hospital discharge	X	X	
Concomitant medication (Only related with COVID-19)		X	Daily until hospital discharge	X	X	X
AE /SAE (eCRF reporting)			Daily until hospital discharge	X	X	X
Blood samples (ABO group)		X				
Routine blood samples (hematology and chemistry) ³		X	(3, 5, 8 and 11 days) ⁵	X ⁵	X ⁵	X ⁵
Blood for PCR SARS-CoV-2 ⁶		X	(3, 5, 8 and 11days) ^{5,6}	X ^{5,6}	X ^{5,6}	X ^{5,6}
Blood for antibodies determination		X	(8, 15, 29 and 60 days) ⁵			
Naso/Oropharyngeal swab		X ²	At discharge			
<ol style="list-style-type: none"> 1. This visit can be done at the same time as the screening visit 2. Positive PCR or COVID-19 antigen test (accepted by the sponsor), in naso/oropharyngeal swabs or any other relevant specimen is needed prior to randomization. If inclusion is based on a previous local swab, a new basal swab to be sent to CNM-ISCIH will be needed. If previous SARS-CoV-2 test + is not available and the swab is obtained as a screening procedure, the basal swab could be obtained at the same time, taking into account that the basal swab HAS TO BE SENT to the CNM-ISCIH central lab. 3. Haematology, chemistry, ferritin, CRP, LDH, IL-6, coagulation, D-dimer, CPK, platelets and troponine. 4. These visits may be conducted by phone. In this case, blood samples and vital signs will not be available. 5. Only during hospitalization. 6. If two consecutive negative results are obtained, no more PCR tests needed. 7. RX obtained during the ongoing COVID-19 symptomatic period (maximum 7 days old). 						

Fig. 2 Schedule of study procedures

discontinuation from the study will be recorded on the appropriate case report form.

In cases where that a patient becomes lost to follow-up, attempts to contact the patient should be made and documented in the patient's medical records. Patients who withdraw from this study or are lost to follow-up after signing the informed consent form (ICF) and receiving the study product, will not be replaced.

Data management

Data will be examined for compliance with the trial protocol by the monitor and the data manager. Deviations will be sent to the project statistician to plan listings for the data review (DR). The objective is to carry out the population selection and definition of the final study populations as well as a preliminary assessment of the quality of the trial data.

All data will be recorded using the defined CRF guidelines for this trial. Also, the blood bank software in each hospital Transfusion Service will be used for recording the plasma units transfused.

Confidentiality

Subject confidentiality is strictly held in trust by the participating investigators, their staff, and the sponsor and their agents. This confidentiality is extended to cover clinical information relating to subjects, test results of biological samples, and all other information generated during participation in the study. All study data and research specimens that leave the site (including any electronic transmission of data) will be identified only by a coded number that is linked to a subject through a code key maintained at the clinical site. All source records including electronic data will be stored in secured systems.

No identifiable information concerning subjects in the study will be released to any unauthorized third party. Subject confidentiality will be maintained when study results are published or discussed in conferences. The study monitor, other authorized representatives of the sponsor, representatives of the Research Ethics Committees (RECs), and/or regulatory agencies may inspect all documents and records required to be maintained by the investigator, including but not limited to medical records (office, clinic, or hospital) for the subjects in this study. The clinical study site will permit access to such records.

Plans for collection, laboratory evaluation, and storage of biological specimens for genetic or molecular analysis in this trial/future use

Samples will be collected by investigators or designees. After that, handling, labeling, processing, storage, and/or shipping according to protocol will be performed and

the samples will ultimately be sent to the central laboratory.

The Sponsor and the center may use data and samples for future research projects related with COVID-19, taking the appropriate measures to ensure the protection of their privacy and will not allow their encrypted data to cross with other databases that could allow their identification. Any future studies will be previously evaluated by a Research Ethics Committee and will comply with the applicable ethical and legal requirements.

Statistical methods

Statistical methods for primary and secondary outcomes

A detailed Statistical Analysis Plan (SAP) agreed upon by the CT Executive Board and the Project Statistician will be available early during the recruitment phase. This SAP will follow the general regulatory recommendations given in the ICH E9 (CPMP/ICH /363/96) guidance, as well as other specific guidance on methodological and statistical issues [8].

Likewise, it will stick to the recommendations given by the consensus documents of the scientific journals to improve reliability and value of medical research literature by promoting transparent and accurate reporting of clinical research studies.

The proportion of patients with failure, defined as category 5, 6, or 7 of the 7-point ordinal scale at day 15, will be estimated using a log-binomial regression model including stratification variables. In the unexpected event that the model does not fit, the Poisson regression model with long-link and robust variance estimator will be used instead.

Binary efficacy and safety outcomes will be analyzed as described for the primary endpoint.

Kaplan-Meier model will be used to analyze survival endpoints (TTF and OS). In all these analyses, in addition to the Kaplan-Meier curve, median, Q1, Q3, and their corresponding 95% CI, number of events, and censored case distribution will be shown. Group comparisons will be done using the (stratified) log-rank test and the (stratified) hazard ratios (HR) (95%CI) from the Cox model.

Interim analyses Interim analyses for comprehensive efficacy (or futility) and safety data monitoring analyses will be conducted when 20, 40, 60, and 80% of patients have been recruited and completed day 15 assessment, or at the discretionary criteria of the DSMB, when needed. The study may be stopped prematurely if either the efficacy or the futility boundaries are crossed. The boundaries will be adapted to the actual information rates in each inspection using the rho family spending functions ($\rho = 7$) implemented in the East validated software v6.5 (or later releases) by Cytel Inc..

Ad hoc reviews will be undertaken at any time if there are other specific safety concerns. The study will not stop enrolment awaiting these DSMB reviews, though the DSMB may recommend temporary or permanent cessation of enrolment based on their safety reviews.

Methods for additional analyses (e.g., subgroups)

Subgroup analyses will be performed to assess the impact on efficacy of two different key factors, i.e., the level of neutralizing antibodies in the administered plasma and the timing of the disease, i.e., early or late stages considering 7 days as cut-off, viral load, and IgG or IgM. The following strategy will be conducted before splitting the analysis into subgroups: test of the overall treatment effect, test of the treatment-by-subgroup interaction at the 10% level of significance, or test of the treatment effect in each subgroup category.

Methods to handle missing data In principle, the rate of missing data is estimated to be very low due to the type of endpoint, easily available with a fast-clinical assessment, so no impact on the primary analysis is expected. In any case, a very conservative strategy will be implemented consisting of imputing any missing data or other binary efficacy secondary outcomes will be considered to failures, irrespectively to the reason for missingness. With regard to the continuous variables, mixed models [9–11] are robust to the presence of missing at random (MAR) and conduct the analysis with all participants despite the presence of missingness. Of note, this method calculates the estimations based on the variance-covariance structure but without any formal imputations.

Plans to give access to the full protocol, participant-level data, and statistical code These plans are not yet in place.

Oversight and monitoring

Composition of the coordinating center and trial steering committee

- Coordinating center
The study is led by the Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda.
- Trial steering committee
The trial steering committee consists of the following members:
- Dr. Rafael Duarte, Hematology and Hemotherapy Department. Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda
- Dr. Cristina Avendaño Solà, Clinical Pharmacology Department. Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda

- Dr. Antonio Ramos-Martínez, Internal Medicine Department. Infectious diseases Unit. Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda
- Dr. José Luis Bueno, Hemotherapy and Apheresis Units. Hematology and Hemotherapy Department. Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda
- Dr. Elena Múñez, Internal Medicine Department. Infectious diseases unit. Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda
- Dr. Belén Ruiz-Antorán, Clinical Pharmacology Department. Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda
- Dr. Rosa Malo de Molina, Servicio de Pneumology. Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda
- Dr. Ferrán Torres, Clinical Pharmacology Department. Hospital Clínic Barcelona. Medical Statistics core facility - IDIBAPS.
- Dr. Inmaculada Casas Flecha, Flu and Respiratory Virus Unit. Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III

Trial monitoring

The Spanish Clinical Research Network (SCReN) is responsible for project management, regulatory compliance and trial monitoring.

Data management team

PIVOTAL is the CRO responsible for data management, preparation of the eCRD, quality assurance, and preparation of the SAP.

Composition of the data monitoring committee, its role and reporting structure

The independent DSMB in this study is responsible for reviewing the reports regarding the safety and efficacy of the study patients protocol adherence and making recommendations to continue or terminate the study or to modify the sample size of the basis of the results from the interim analysis. The DSMB members are all independent of the sponsor and have no financial or other conflict of interest.

Adverse event reporting

Serious adverse events (SAEs) and grade 3 or 4 adverse events will be collected from the time of informed consent to day 29. SAEs will be followed up until the SAE has subsided, returned to baseline, or is stable. Infusion-related adverse reactions will be recorded within 24 h after the end of plasma administration by a trained Hemovigilance nurse or physician, according to the Active 24 h quarantine Hemovigilance Program (HEMA CUA).

Investigators will be instructed to actively monitor the occurrence of prespecified adverse events of special interest: TRALI (transfusion-related acute lung injury), ADE (antibody-dependent enhancement of infection), and TACO (transfusion-associated cardiac overload).

Plans for auditing trial conduct

Monitoring for this study will be performed by the sponsor and SCReN. Monitoring online visits will include, but not limited to, review of regulatory files, accountability records, CRFs, ICFs, medical and laboratory reports, site study intervention storage records, training records, and protocol and GCP compliance.

On-site and off-site monitoring, central review of data collection, and remote source data verification will be allowed according to EMA and AEMPS guidance/guidelines on the management of clinical trials during the COVID-19 (coronavirus) pandemic.

Plans for communicating important protocol amendments to relevant parties (e.g., trial participants, ethical committees)

During the trial, any amendments to the protocol or consent materials will be approved by the REC before they are implemented.

Dissemination plans

Following completion of the study, the results will be published in a scientific journal. Nevertheless, due to the critical need of results during the current epidemic COVID-19 crisis, preliminary results will be released by the sponsor to the Health Authorities.

Ethical and regulatory

The clinical study will be conducted in accordance with the relevant national and international good clinical practice (GCP) guidelines, and the Declaration of Helsinki, each in the applicable version. The study protocol and the donors and the patients' written informed consent were submitted to and approved by the Research Ethics Committee of Hospital Puerta de Hierro Majadahonda on March 23th, 2020.

Discussion

COVID-19 is a respiratory disease caused by a novel coronavirus (SARS-CoV-2) and causes substantial morbidity and mortality. At the time the study protocol was designed, there were no vaccines to prevent COVID-19 or infection with SARS-CoV-2 or therapeutic agent to treat COVID-19. Indeed, as in any other health emergency, there was an enormous pressure to find cures and stop COVID-19 epidemic. This has prompted the extensive use of unproven treatments either on a

compassionate use basis, in observational studies, or even in small clinical trials, but these do not provide the required level of evidence to solve the existing uncertainties. Thus, there was a substantial need to conduct appropriately powered randomized controlled studies in order to generate a reliable and conclusive evidence regarding the benefits and risks of these therapies.

In this scenario, convalescent plasma was hypothesized to be a potential therapeutic option given its extensively recognized immunomodulatory and anti-inflammatory effects. However, the actual benefits and risks of the intervention remain to be established, particularly in this novel condition. Currently, there are over 250 studies registered in ClinicalTrials.gov about convalescent plasma as a treatment for respiratory disease caused by COVID-19 all over the world, most of which are non-controlled clinical studies that are ongoing. Therefore, in accordance with the WHO Blood Regulators Network position statement [12] and our commitment to generate compelling evidence, we planned to conduct the proposed randomized and controlled trial to establish the effectiveness and safety of convalescent plasma from disease survivors in the treatment of patients with severe COVID-19 pneumonia.

This clinical trial is designed to evaluate passive immunotherapy with convalescent plasma for the treatment of adult patients hospitalized with non-severe COVID-19. With regard to the regulatory aspect, convalescent plasma from a single donor is not considered a medicinal product but rather it is subject to the regulation applicable to blood transfusions at the EU level. Subject to demonstration of its efficacy, it was considered that CP would constitute a universally accessible treatment option given that it relies entirely on already existing transfusions systems and technical requirements that are already established in every country. This makes CP a particularly attractive potential therapeutic option; even more considering that it is possible that the results of this study will contribute to the establishment of clinical recommendations to treat similar conditions.

The study was designed as an open-label study due to implications of a sham transfusion in the context of COVID-19 pandemic. The study was also designed as a controlled clinical trial. Initially, a three-treatment arm study including no experimental treatment (only SOC), unspecific standard plasma (plus SOC), and CP(+SOC) was considered. The aim was to demonstrate that any potential benefit from CP treatment was due to the presence of neutralizing antibodies and any other related cytokines released in a successful immune response and not just to the existing non-specific immune components in SARS-CoV-2 non-exposed donors. The inclusion of a third treatment arm with unspecific plasma might have also allowed ruling out any potential

deleterious effect of transfusing an enriched plasma to a subject developing his/her own immune response. Nevertheless, a three-treatment arms trial was deemed unrealistic due to practical reasons and also to the well-known adverse events related to blood component transfusion, some of them even fatal, specially transfusion-related acute lung injury (TRALI).

Concerning the study population, a potential role of immunotherapy across the spectrum of COVID-19 disease has been suggested and several studies are ongoing to test different hypotheses. When defining the study population for our study, we considered that the best candidates for passive immunotherapy would be patients hospitalized due to COVID-19 pneumonia, thus in need for treatment, but early in the course of the disease when a primary immune response is not yet established. As a result, only patients requiring hospitalization for COVID-19 pneumonia without mechanical ventilation (invasive or non-invasive) or high flow oxygen devices, and with no more than 12 days between the onset of symptoms (fever or cough) and treatment administration day were allowed to enroll. It was believed that this early intervention would allow patients to benefit from the immune response of a subject who had developed a successful one, which might help clearing SARS-CoV-2 virus and to prevent progression to a more severe condition. On the other hand, patients requiring ventilation (mechanical or non-mechanical) were excluded given that they are less likely to respond to passive immunotherapy and more likely to develop ADE (antibody-dependent enhancement of disease), a worrisome complication seen previously in other viral infection [13] where a high specific antibody infusion could trigger a severe life-threatening immune response.

With regard to convalescent plasma donor's selection, processing, and storage, it has been performed following the European and Spanish guidelines (RD 1088/2005) for standard plasma donation, including a pathogen reduction (PR) treatment. Lack of process control and standardization has been raised as one of the reasons why clinical trials have failed so far. We will select CP with anti SARS-CoV-2 IgG antibodies using a validated enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), with an IgG amount above a standardized cut-off. These assays have been performed at the trial central laboratory. No previous determination for neutralizing antibody titers will be used to select CP in our trial, as this would be the norm in the use of CP in the midst of a pandemic. Titration of neutralizing antibodies in the administered plasma will be subsequently performed and its relation to the outcomes could provide useful information about efficacy and safety of CP.

An important issue in our trial is that we selected our CP donors from recovered mild COVID-19 conditions.

Although patients recovered from severe COVID-19 was not an exclusion criteria for donors in our trial, we chose mild donors based in two assumptions: first, severe patients could have a high anti SARS-CoV-2 IgG titer, but low neutralizing antibody titers; second, high neutralizing antibodies titers in CP could increase the risk of ADE (antibody-dependent enhancement of disease). Thus, our donor selection strategy is aimed to select CP with medium levels of antibody titers, which is thought to provide a fair balance of efficacy and safety.

CP will be administered as an add-on to the standard of care as defined in each study center. Based on the clinical practice recommendations in place at the time the study was designed, the standard of care could be based on any of the following: lopinavir/ritonavir, darunavir/cobicistat, hydroxy/chloroquine, tocilizumab. Remdesivir was added to standard of care once it was available outside clinical trials. Demonstration of efficacy in this context is particularly challenging, but ethical and feasibility issues were prioritized.

Defining the primary endpoint posed additional challenges given the existing uncertainties around the natural course of the disease, and the need to balance hard clinically relevant outcomes against outcomes that might occur earlier. The ordinal scale recommended by the WHO for clinical trials in COVID-19 was finally selected, as it was considered to provide a reasonable balance between these two criteria, while facilitating any external comparison with similar clinical trial outcomes. We also include a range of secondary endpoints to assess the scope of the disease and the potential benefits/risks of treatment in a broader spectrum, in an attempt to show consistency and the robustness of any potential effect shown in the primary endpoint.

Finally, to overcome practical difficulties due to paper handling limitations at COVID wards but to still comply with ethical requirements applied to clinical research, oral witnessed consent will be accepted before entering the trial. Written consent form will be obtained from the patient himself or acceptable representatives as soon as possible.

Conclusion

Due to the existing uncertainties on the potential role of convalescent plasma in adult patients with severe COVID-19 pneumonia, we consider that the publication of the study protocol will help other researchers to understand the rationale behind our clinical trial design and may contribute to define future research strategies with CP in the field of COVID-19 or other viral diseases.

Trial status

Patient's recruitment started on 4 April 2020, under conPlas-19 Protocol version 2.2 as of 22 April 2020. Donor's recruitment started on 2 April 2020. As of 10 July

2020, patients' recruitment was temporarily interrupted awaiting some study modifications. By 31 August, the study design was amended to restrict the inclusion to patients with no more than 7 days of symptoms, and the follow-up was extended up to 60 days. ConPlas-19 Protocol version 3.3 as of 30 September 2020 is now in place, allowing the use of rapid antigenic tests as laboratory confirmation test for SARS-CoV-2 infection.. It is anticipated that recruitment will be complete by end of 2020.

Supplementary Information

The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1186/s13063-020-05011-9>.

Additional file 1. Clinical Trial sites and Transfusion centers.

Additional file 2. Eleven Point Ordinal Scale.

Acknowledgements

Not applicable.

Authors' contributions

CAS, RDP, JLB, BRA, FT, EM, ARM, AFC, IC, CPH did the literature search and conceived the study design. CAS acted as the study sponsor and principal investigator. RDP acted as principal investigator. ARM also acted as clinical trial national coordinator. JLB acted as plasma production coordinator. AVI also acted as project manager. ISD was crucial for trial organization and execution and revised the manuscript. EDS, ASL, and BRA drafted the manuscript, made the tables and figures, and had final approval of the manuscript. All authors critically revised the manuscript. The authors read and approved the final manuscript.

Authors' information

Not applicable

Funding

This research is funded by the Government of Spain, Ministry of Science and Innovation, Instituto de Salud Carlos III, grant n° COV20/00072 (Royal Decree-Law 8/2020, of 17 March, on urgent extraordinary measures to deal with the economic and social impact of COVID-19), co-financed by the European Regional Development Fund (FEDER) "A way to make Europe," and supported by SCReN (Spanish Clinical Research Network), ISCIII, project PT17/0017/0009. The funding institutions do not have any role in the design of the study, data collection, analysis, or interpretation of data, nor in writing the manuscript.

Availability of data and materials

The datasets generated and/or analyzed during the current study will be made available. The corresponding authors will evaluate any request for data sharing and will consult with the steering committee after the publication of the main results. Requests can be sent to cavendano@salud.madrid.org.

Ethics approval and consent to participate

The study protocol and the donors and the patients' informed consent forms were submitted to and approved by the Research Ethics Committee of Hospital Puerta de Hierro Majadahonda on March 23, 2020 (REC number PI 57–20).

I herewith certify that this trial has received ethical approval from the appropriate ethical committee as described above. Consent from participants to participate in the study will be obtained before any study procedure.

Consent for publication

Not applicable.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Author details

¹Clinical Pharmacology Department, Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda, Instituto de Investigación Sanitaria Puerta de Hierro - Segovia de Arana, c/ Manuel de Falla 1, 28222 Madrid, Spain. ²Hemotherapy & Apheresis Units, Hematology and Hemotherapy Department, Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda, Madrid, Spain. ³Internal Medicine Department, Infectious diseases unit, Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda, Madrid, Spain. ⁴Clinical Pharmacology Department, Hospital Clinic Barcelona, Medical Statistics core facility – IDIBAPS, Barcelona, Spain. ⁵Pneumology Department, Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda, Madrid, Spain. ⁶IS Puerta de Hierro - Segovia de Arana, Madrid, Spain. ⁷Flu and Respiratory Virus Unit, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain. ⁸Hematology and Hemotherapy Department, Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda, Madrid, Spain.

Received: 31 July 2020 Accepted: 29 December 2020

Published online: 20 January 2021

References

- Mair-Jenkins J, Saavedra-Campos M, Baillie JK, Cleary P, Khaw FM, Lim WS, et al. The effectiveness of convalescent plasma and hyperimmune immunoglobulin for the treatment of severe acute respiratory infections of viral etiology: a systematic review and exploratory meta-analysis. *J Infect Dis*. 2015;211(1):80–90.
- Arabi YM, Hajeer AH, Luke T, Raviprakash K, Balkhy H, Johani S, et al. Feasibility of using convalescent plasma immunotherapy for MERS-CoV infection, Saudi Arabia. *Emerg Infect Dis*. 2016;22(9):1554–61.
- DesJardin JA, Snyderman DR. Antiviral immunotherapy: a review of current status. *BioDrugs*. 1998;9(6):487–507. <https://doi.org/10.2165/00063030-199809060-00006>.
- Casadevall A, Pirofski LA. The convalescent sera option for containing COVID-19. *J Clin Invest*. 2020;130(4):1545–8.
- Cheng Y, Wong R, Soo YOY, Wong WS, Lee CK, Ng MHL, et al. Use of convalescent plasma therapy in SARS patients in Hong Kong. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2005;24(1):44–6.
- Fu Y, Cheng Y, Wu Y. Understanding SARS-CoV-2-mediated inflammatory responses: from mechanisms to potential therapeutic tools. *Virology*. 2020; 35(3):266–71. <https://doi.org/10.1007/s12250-020-00207-4>. Accessed 15 July 2020.
- Casadevall A, Joyner MJ, Pirofski LA. A randomized trial of convalescent plasma for COVID-19-potentially hopeful signals [published online ahead of print, 2020 Jun 3]. *JAMA*. 2020; <https://doi.org/10.1001/jama.2020.10218>.
- ICH Topic E9 statistical principles for clinical trials. European Medicines Agency. [Internet]. 1998. http://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-e-9-statistical-principles-clinical-trials-step-5_en.pdf. Accessed 16 July 2020.
- Verbeke G, Molenberghs G. Linear mixed models for longitudinal data, springer series in statistics. 1st ed. New York: Springer-Verlag; 2000.
- Brown H, Prescott R. Applied mixed models in medicine. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, Ltd; 2006.
- Molenberghs G, Kenward MG. Missing data in clinical studies. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2007.
- An EU programme of COVID-19 convalescent plasma collection and transfusion. European Commission. [Internet] 2020. https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/blood_tissues_organos/docs/guidance_plasma_covid19_en.pdf. Accessed 12 February 2020.
- Tetro JA. Is COVID-19 receiving ADE from other coronaviruses? *Microbes Infect*. 2020;22(2):72–3. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32092539>. Accessed 12 February 2020.

Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Avendaño-Solá C, Ramos-Martínez A, Muñoz-Rubio E, Ruiz-Antorán B, Malo de Molina R, Torres F, Fernández-Cruz A, Calderón-Parra J, Payares-Herrera C, Díaz de Santiago A, Romera-Martínez I, Pintos I, Lora-Tamayo J, Mancheño-Losa M, Paciello ML, Martínez-González AL, Vidán-Estévez J, Nuñez-Orantos MJ, Saez-Serrano MI, Porrás-Leal ML, Jarilla-Fernández MC, Villares P, de Oteyza JP, Ramos-Garrido A, Blanco L, Madrigal-Sánchez ME, Rubio-Batlés M, Velasco-Iglesias A, Paño-Pardo JR, Moreno-Chulilla JA, Muñoz-Díaz E, Casas-Flecha I, Pérez-Olmeda M, García-Pérez J, Alcamí J, Bueno JL, Duarte RF; ConPlas-19 Study Group.

ConPlas-19 Study Group: Maria Abando, Jorge Alba Fernandez, Ines Almagro-Treviño, Albert Altes-Hernández, Laura Analia-Maglio, Borja Andrades, Giselle Victoria Andujar-Troncoso, Javier Anguita Velasco, Alicia Aranguren Azparren, Cristina Arbona-Castaño, Francisco Arnaiz, Itziar Arrieta, Jose Luis Arroyo Rodríguez, Ana M. Arruga-Manzano, Cristina Avendaño-Solá, Monica Baldrich, Carmen Ballester, Moncef Belhassen García, Margarita Berberana Fernández de Murias, José Javier Blanch Sancho, Lydia Blanco, Virginia Blasco, Alba Bosch, José Luis Bueno Cabrera, Ruth Caballero-Asensio, Antonio Caballero-Bermejo, Jorge Calderon Parra, Juan M. Calvo Mayo, Lourdes Carmona, Antoni Castro, Gustavo Adolfo Centeno Soto, Damián Cubillas, Cristina Daroca-Ponce de Leon, Ignacio de la Fuente Graciani, Marisa de la Rica, Ignacio de los Santos Gil, Dolores del Puerto García, **Elena Diago-Sempere**, Alberto Diaz de Santiago, José M Domingo-Morera, Oscar Sanz Pelaez, Rafael J Duarte Palomino, Carlos Jesús Dueñas Gutierrez, Pedro Durán del Campo, Gabriela Ene, Brigida Esteban, Vicente Estrada Perez, María del Carmen Fariñas, Ana Fernández-Cruz, Elena Flores Ballester, Antonia Flor-Pérez, Ainhoa Garaialde, Beatriz Garcia, Concepción Garcia García, José Antonio Garcia-Erce, Lucio Jesús García-Fraile, Marta Garcia-Martinez-Avial, Ana Maria Garcia-Pérez, Santiago Garcia-Ruiz, Luz M. Gonzalez del Castillo, Alicia Gonzalez Mena, M. Isabel Gonzalez-Fraile, Francisco Javier Gonzalez-Gasca, Claudia Gonzalez-Rico, Victoria Paz González-Rodríguez, María Gracia Ruiz de Alda, Luisa Guerra-Domínguez, Elena Gutierrez Gamarra, Natalia C. Hernandez-de-León-de-Castro, Jose Antonio Iribarren, Anny Jaramillo-Rodríguez, Estibaliz Jarauta-Simón, María del C. Jarilla-Fernández, Teresa Jimenez-Marco, Jesús Jimenez-Megias, Alfredo Jover-Saenz, Hernando Knobel, Rocio Layunta, Olga López Villar, Juan C. Lopez-Aguilar, Jaime Lora Tamayo, Pilar Lozano, Carlos Lumbreras-Bermejo, Marina Machado, María Elena Madrigal-Sánchez, Rosa Malo de Molina, Mikel Mancheño-Losa, Raquel Marti, M Carmen Martin-Alonso, Javier Martinez Sanz, Ángel L. Martinez-González, Joaquín Martínez-López, Amador Martín-Recio, Fernando Mateos Rodriguez, Armando V. Mena-Duran, Anna Millán, Itxaso Mora, José Antonio Moreno Chulilla, Gemma Moreno, José Luis Mostaza Fernández, Elena Muñoz Rubio, Eduardo Muñoz-Diaz, María Pilar Muñoz Valbuena, Javier Murillas, Ana M Ojea Perez, Irati Ormazábal Vélez, José Antonio Oteo Revuelta, María Liz Paciello, Angel Luis Pajares Herraiz, Jose Ramón Paño-Pardo, Concepcion Payares-Herrera, Esther Pena Carbo, Jaime Perez de Oteyza, Sonia Pérez Gonzalez, Ilduara Pintos Pascual, Ana B. Polo-Escriche, María Lourdes Porrás-Leal, Francisco Puchades-Gimeno, José Ramón Yuste Ara, Ascensión Ramos-Garrido, Antonio Ramos-Martinez, Sara Rodriguez, Andrea Rodriguez, Irene Romera, Iñigo Romon Alonso, Martín Rubio-Batlés, Belen Ruiz-Antoran, Maria L. Ruiz-Ayala, Belen Sabada-Diaz de Rada, María Isabel Sáez Serrano, Isabel Salcedo, Monica Sánchez, Angel Sanchez Castaño, Juan Manuel Sanchez Villegas, Santiago Sánchez, Raquel Sandoval, Paula Santibañez Saez, Carlos Sola Lapeña, Ferran Torres, Andrea Torres López, Sabin Urcelay-Uranga, Juan Carlos Vallejo, Alvaro Veiga-Alvarez, Ana Velasco-Iglesias, Isabel Vicuña Andrés, Julia Vidan Estévez, Paula Villares, Carolina Villegas Da Ros

A multicenter randomized open-label clinical trial for convalescent plasma in patients hospitalized with COVID-19 pneumonia.

J Clin Invest. 2021 Oct 15;131(20):e152740.

doi: 10.1172/JCI152740. PMID: 34473652; PMCID: PMC8516461.

A multicenter randomized open-label clinical trial for convalescent plasma in patients hospitalized with COVID-19 pneumonia

Cristina Avendaño-Solá, ... , Rafael F. Duarte, the ConPlas-19 Study Group

J Clin Invest. 2021;131(20):e152740. <https://doi.org/10.1172/JCI152740>.

Clinical Medicine

COVID-19

Passive immunotherapy with convalescent plasma (CP) is a potential treatment for COVID-19. Evidence from controlled clinical trials is inconclusive.

We conducted a randomized, open-label, controlled clinical trial at 27 hospitals in Spain. Patients had to be admitted for COVID-19 pneumonia within 7 days from symptom onset and not on mechanical ventilation or high-flow oxygen devices. Patients were randomized 1:1 to treatment with CP in addition to standard of care (SOC) or to the control arm receiving only SOC. The primary endpoint was the proportion of patients in categories 5 (noninvasive ventilation or high-flow oxygen), 6 (invasive mechanical ventilation or extracorporeal membrane oxygenation [ECMO]), or 7 (death) at 14 days. Primary analysis was performed in the intention-to-treat population.

Between April 4, 2020, and February 5, 2021, 350 patients were randomly assigned to either CP ($n = 179$) or SOC ($n = 171$). At 14 days, proportion of patients in categories 5, 6, or 7 was 11.7% in the CP group versus 16.4% in the control group ($P = 0.205$). The difference was greater at 28 days, with 8.4% of patients in categories 5–7 in the CP group versus 17.0% in [...]

Find the latest version:

<https://jci.me/152740/pdf>



A multicenter randomized open-label clinical trial for convalescent plasma in patients hospitalized with COVID-19 pneumonia

Cristina Avendaño-Solá,¹ Antonio Ramos-Martínez,² Elena Muñoz-Rubio,² Belen Ruiz-Antorán,¹ Rosa Malo de Molina,³ Ferran Torres,^{4,5} Ana Fernández-Cruz,² Jorge Calderón-Parra,² Concepcion Payares-Herrera,¹ Alberto Díaz de Santiago,² Irene Romera-Martínez,⁶ Ilduara Pintos,² Jaime Lora-Tamayo,⁷ Mikel Mancheño-Losa,⁷ María L. Paciello,⁸ A.L. Martínez-González,⁹ Julia Vidán-Estévez,¹⁰ María J. Nuñez-Orantos,¹¹ María Isabel Saez-Serrano,¹² María L. Porras-Leal,¹³ María C. Jarilla-Fernández,¹⁴ Paula Villares,¹⁵ Jaime Pérez de Oteyza,¹⁶ Ascension Ramos-Garrido,¹⁷ Lydia Blanco,¹⁸ María E. Madrigal-Sánchez,¹⁹ Martin Rubio-Batlles,²⁰ Ana Velasco-Iglesias,²¹ José R. Paño-Pardo,²² J.A. Moreno-Chulilla,²³ Eduardo Muñoz-Díaz,²⁴ Inmaculada Casas-Flecha,²⁵ Mayte Pérez-Olmeda,²⁶ Javier García-Pérez,²⁷ Jose Alcamí,²⁷ Jose L. Bueno,⁶ and Rafael F. Duarte⁶ for the ConPlas-19 Study Group²⁸

¹Clinical Pharmacology Department, Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda, Instituto de Investigación Sanitaria Hospital Puerta de Hierro-Segovia de Arana, SCReN Clinical Trials Platform, Madrid, Spain. ²Infectious Diseases Unit, Department of Internal Medicine and ³Respiratory Medicine Service, Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda, Madrid, Spain. ⁴Clinical Pharmacology Department, Hospital Clinic Barcelona, Barcelona, Spain. ⁵Biostatistics Unit, Faculty of Medicine, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain. ⁶Department of Hematology, Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda, Madrid, Spain. ⁷Department of Internal Medicine, Instituto de Investigación "i+12" and ⁸Department of Hematology, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid, Spain. ⁹Department of Internal Medicine, and ¹⁰Department of Hematology, Complejo Asistencial Universitario de León, León, Spain. ¹¹Infectious Diseases Unit, Department of Internal Medicine and ¹²Hematology Service, Hospital Universitario Clínico San Carlos, Madrid, Spain. ¹³Infectious Diseases Unit, Department of Internal Medicine, and ¹⁴Hematology and Hemotherapy Service, Hospital General Universitario de Ciudad Real, Ciudad Real, Spain. ¹⁵Department of Internal Medicine, Hospital Universitario HM Sanchinarro, Madrid, Spain. ¹⁶Department of Hematology, Hospital Universitario HM Sanchinarro, Universidad CEU San Pablo Madrid, Spain. ¹⁷Blood Transfusion Military Center, Ministry of Defense, Spain. ¹⁸Centro de Hemoterapia y Hemodonación de Castilla y León, Valladolid, Spain. ¹⁹Centro de Transfusión de Ciudad Real, Hospital General Universitario de Ciudad Real, Ciudad Real, Spain. ²⁰Centro de Transfusión de Albacete y Cuenca, Albacete, Spain. ²¹Spanish Clinical Research Network (ISCIII), IIS -Hospital Puerta de Hierro-Segovia de Arana, Madrid, Spain. ²²Division of Infectious Diseases and ²³Division of Hematology, Hospital Clínico Universitario Zaragoza-IIS Aragón, Zaragoza, Spain. ²⁴Inmunohematology Division, Banc de Sang i Teixits, Barcelona, Spain. ²⁵Respiratory Virus and Influenza Unit and ²⁶Laboratorio de Serología, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Madrid, Spain. ²⁷AIDS Immunopathogenesis Unit, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain. ²⁸The ConPlas-19 study group is detailed in the Supplemental Material.

BACKGROUND. Passive immunotherapy with convalescent plasma (CP) is a potential treatment for COVID-19. Evidence from controlled clinical trials is inconclusive.

METHODS. We conducted a randomized, open-label, controlled clinical trial at 27 hospitals in Spain. Patients had to be admitted for COVID-19 pneumonia within 7 days from symptom onset and not on mechanical ventilation or high-flow oxygen devices. Patients were randomized 1:1 to treatment with CP in addition to standard of care (SOC) or to the control arm receiving only SOC. The primary endpoint was the proportion of patients in categories 5 (noninvasive ventilation or high-flow oxygen), 6 (invasive mechanical ventilation or extracorporeal membrane oxygenation [ECMO]), or 7 (death) at 14 days. Primary analysis was performed in the intention-to-treat population.

RESULTS. Between April 4, 2020, and February 5, 2021, 350 patients were randomly assigned to either CP ($n = 179$) or SOC ($n = 171$). At 14 days, proportion of patients in categories 5, 6, or 7 was 11.7% in the CP group versus 16.4% in the control group ($P = 0.205$). The difference was greater at 28 days, with 8.4% of patients in categories 5–7 in the CP group versus 17.0% in the control group ($P = 0.021$). The difference in overall survival did not reach statistical significance (HR 0.46, 95% CI 0.19–1.14, log-rank $P = 0.087$).

CONCLUSION. CP showed a significant benefit in preventing progression to noninvasive ventilation or high-flow oxygen, invasive mechanical ventilation or ECMO, or death at 28 days. The effect on the predefined primary endpoint at 14 days and the effect on overall survival were not statistically significant.

TRIAL REGISTRATION. Clinicaltrials.gov, NCT04345523.

FUNDING. Government of Spain, Instituto de Salud Carlos III.

Conflict of interest: The authors have declared that no conflict of interest exists.

Role of funding source: The funder of the study (Government of Spain, Instituto de Salud Carlos III) had no role in the study design, data collection, data analysis, data interpretation, or writing of the report.

Copyright: © 2021, American Society for Clinical Investigation.

Submitted: June 29, 2021; **Accepted:** August 31, 2021; **Published:** October 15, 2021.

Reference information: *J Clin Invest.* 2021;131(20):e152740. <https://doi.org/10.1172/JCI152740>.

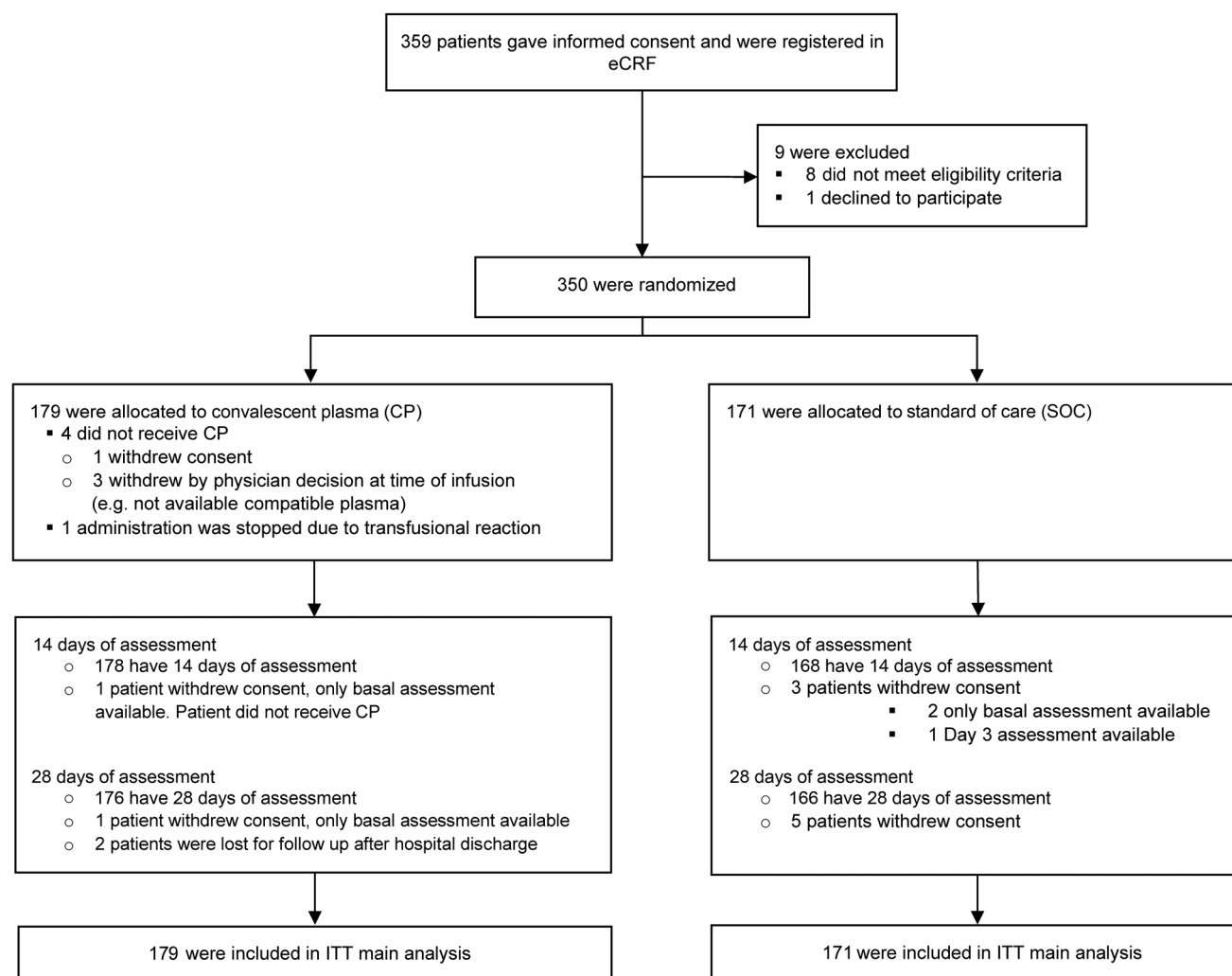


Figure 1. Trial flow diagram.

Introduction

The pressing need for treatments for the COVID-19 pandemic obliged the medical community and authorities to embrace the use of convalescent plasma (CP) as a potentially effective and easily accessible form of passive immunotherapy. Despite the rationale for use, and experience in other viral epidemics (1, 2), several controlled clinical trials and observational studies have provided inconclusive results regarding the beneficial effects of CP in patients hospitalized for COVID-19 (3–12). The evidence suggests that the potential beneficial effects of CP may be limited to the subgroup of noncritical patients who receive high titers of antibodies early in the course of the disease before developing their own humoral immune response (3–8), or to immunocompromised oncohematological patients who may fail to mount an effective immune response (9). Based on this premise, monoclonal and purified antibodies are being developed for outpatients with early and mild disease (13, 14). The ConPlas-19 randomized trial was designed to demonstrate the efficacy and safety of CP used to prevent progression to severe disease or death in noncritical hospitalized patients with early forms of COVID-19.

Results

Patients. Between April 4, 2020, and February 5, 2021, 359 patients were included in the study after giving informed consent, and 350 underwent randomization; 179 were assigned to receive CP in addition to Standard of Care (SOC) and 171 to the control group, which received only SOC. Of the patients randomized to CP, 175 (97.8%) received treatment as assigned (Figure 1) while 4 patients did not receive plasma due to consent withdrawal (1 patient) or physician decision (3 patients). One additional patient stopped CP infusion immediately after start, due to a transfusion-related reaction, and did not complete the treatment according to protocol. Four patients were lost for follow-up before trial day 15 due to consent withdrawal: 1 in the CP group and 3 in the SOC group, all of whom are included in the intention-to-treat analysis.

Patient characteristics are described in Table 1. Median age was 62 years (interquartile range [IQR] 53–75); 65.4% were men and 34.6% were women. Median time interval between symptom onset and randomization was 6 days (IQR 4–7). At baseline, 109 of 350 patients (31.1%) tested positive for anti-SARS-CoV-2 IgG antibodies (Euroimmun Assay, antibodies anti-S1 spike protein).

Table 1. Demographic and clinical characteristics of the patients at baseline

Characteristic	Plasma + SOC (n = 179)	SOC (n = 171)	All (N = 350)
Age, mean ± SD, years	62.7 ± 15.7	63.4 ± 14.9	63.0 ± 15.3
Age, median (IQR), years	63.0 (50.0–75.0)	61.0 (55.0–75.0)	62.0 (53.0–75.0)
Sex, n (%)			
Male	118 (65.9)	111 (64.9)	229 (65.4)
Female	61 (34.1)	60 (35.1)	121 (34.6)
Body mass index, mean ± SD	28.6 ± 6.2	28.6 ± 5.8	28.6 ± 6.0
Median time (IQR) from symptom onset to randomization, days	6.0 (4.0–6.0)	6.0 (4.0–7.0)	6.0 (4.0–7.0)
Coexisting conditions, n (%)			
Diabetes mellitus	52 (29.1)	38 (22.2)	90 (25.7)
Obesity	31 (17.3)	27 (15.8)	58 (16.6)
Hypertension	90 (50.3)	75 (43.9)	165 (47.1)
Cardiovascular disorder	39 (21.8)	33 (19.3)	72 (20.6)
Chronic lung disease	33 (18.4)	24 (14.0)	57 (16.3)
Chronic kidney disease	9 (5.0)	11 (6.4)	20 (5.7)
Cancer	15 (8.4)	11 (6.4)	26 (7.4)
Immunodeficiency	10 (5.6)	11 (6.4)	21 (6.0)
Neurological or neuromuscular disorder	17 (9.5)	16 (9.4)	33 (9.4)
Chronic liver disease	6 (3.4)	8 (4.7)	14 (4.0)
Bilateral pneumonia at Rx, n (%)	148 (82.7)	142 (83.04)	290 (82.9)
Standard of care treatments at baseline, n (%)			
Glucocorticoid therapy	127 (70.9)	122 (71.3)	249 (71.1)
Anticoagulants ^A	95 (67.4)	85 (66.4)	180 (66.9)
Remdesivir	41 (22.9)	48 (28.1)	89 (25.4)
Azithromycin	49 (27.4)	45 (26.3)	94 (26.9)
Tocilizumab	10 (5.6)	16 (9.4)	26 (7.4)
Score on ordinal scale, n (%)			
Hospitalized, not requiring supplemental oxygen	40 (22.3)	34 (19.9)	74 (21.1)
Hospitalized, requiring supplemental oxygen by mask or nasal prongs	139 (77.7)	137 (80.1)	276 (78.9)
IgG positive for anti SARS-CoV-2 antibodies (Euroimmun) at patient baseline, n (%)	48 (26.8)	61 (35.7)	109 (31.1)

^AData not available for first 81 patients. Anticoagulation was included as a mandatory variable to be registered in the eCRF with the September 2020 amendment. Data shown correspond to patients of the second (n = 187) and third (n = 82) waves.

Most patients (78.9%) were receiving supplemental oxygen by mask or nasal prongs and 71.1% were receiving corticosteroids. Baseline data (demographic characteristics, baseline laboratory test results, distribution of ordinal scale scores, and concomitant treatments) were similar in the 2 groups.

Selection of donors and convalescent plasma characteristics. Donors had a prior laboratory-confirmed SARS-CoV-2 infection, were asymptomatic for at least 14 days, and were positive for anti-SARS-CoV-2 IgG (ratio ≥ 1.1 with the Euroimmun assay). Over the course of the study, 233 successful CP apheresis

Table 2. Characteristics of convalescent plasma received by the patients

Characteristic	Patients, N = 175 ^A
Semiquantitative results for anti-SARS-CoV-2 IgG antibodies anti-S (Euroimmun assay), median (IQR), range	3.4 (1.9–5.9) 0.4 ^B –12.1
Patients receiving high-titer plasma (Euroimmun ratio ≥ 3.5) ^C	83/175 (47.4%)
Anti-SARS-CoV-2 IgG antibodies anti-S (ORTHO assay), median (IQR), range	8.2 (4.5–12.0) 0.0 ^D –15.4
Patients receiving high-titer plasma (ORTHO clinical S/C ≥ 9.5) ^C	64/175 (36.6%)
NT50 for D614 pseudovirus neutralizing assay ^E , median (IQR), range	157 (64–502) 12–3421
Patients receiving high-titer plasma neutralizing Ab ^F (Titer > 336)	59/175 (33.7%)

^AFour patients assigned to plasma did not receive plasma and are not included. ^BFirst donors were assessed with several IgG assays that were being validated before Euroimmun was set as the standard assay for the trial. Two donors (4 units) were accepted as positive but resulted negative when reanalyzed with EUROIMMUN. Those units were positive when assessed with ORTHO. ^CCut-off points proposed by the FDA (ref. 18). ^DOne patient received a plasma unit with IgG titer of 0 according to ORTHO assay. This plasma was positive by EUROIMMUN (1.24). All other administered plasma units were positive for anti-SARS-CoV-2 IgG with ORTHO assay. ^ETiters of neutralizing antibodies are expressed as the reciprocal dilution that inhibits 50% of the infection. Thirty-two or less was considered a negative result. High titer arbitrarily set at a titer >336.

Table 3. Main and key secondary outcomes

Outcome	Plasma + SOC (n = 179)	SOC (n = 171)	RR (95% CI) ^A	P value
Primary endpoint				
Noninvasive ventilation or high-flow oxygen, invasive mechanical ventilation or ECMO or death at 14 days ^B , n/N (%)	21/179 (11.7%)	28/171 (16.4%)	0.94 (0.87–1.03)	0.205
Noninvasive ventilation or high-flow oxygen, invasive mechanical ventilation or ECMO or death at 28 days, n/N (%)	15/179 (8.4%)	29/171 (17.0%)	0.91 (0.84–0.99)	0.021
Secondary endpoints				
Death at 14 days, n/N (%)	6/179 (3.4%)	10/171 (5.9%)	0.58 (0.22–1.56)	0.28
Death at 28 days, n/N (%)	7/179 (3.9%)	14/171 (8.2%)	0.49 (0.20–1.17)	0.11

^ARelative risk (RR) and P value obtained from binomial regression model adjusted by center. ^BPrimary time point of assessment.

sis procedures were performed after testing 403 donors eligible for screening, and 413 CP units were collected. More detailed information is available in Supplemental Figures 1 and 2; supplemental material available online with this article; <https://doi.org/10.1172/JCI152740DS1>. The 175 CP units administered in the study were obtained from 116 different donors. Donors were mostly men (87.1%) with a median age of 41.0 years (IQR 30.5–52.0) and the median time elapsed from the end of symptoms to plasmapheresis was 45.0 days (IQR 32.0–54.0).

Several assays were performed to assess antibodies in plasma (Table 2). Anti-SARS-CoV-2 IgG (anti-S) titers in CP units that were administered to trial patients had a median value of 8.2 (IQR 4.5–12.0) as measured by VITROS (Ortho-Clinical Diagnostics, Rochester, New York, USA) with 36.3% of patients receiving high-titer CP units (signal-to-cutoff [S/C] ≥ 9.5). Correlation between the 2 methods used to assess anti-SARS-CoV-2 IgG anti-Spike protein (VITROS Ortho and Euroimmun) are shown in Supplemental Figure 3. Neutraliz-

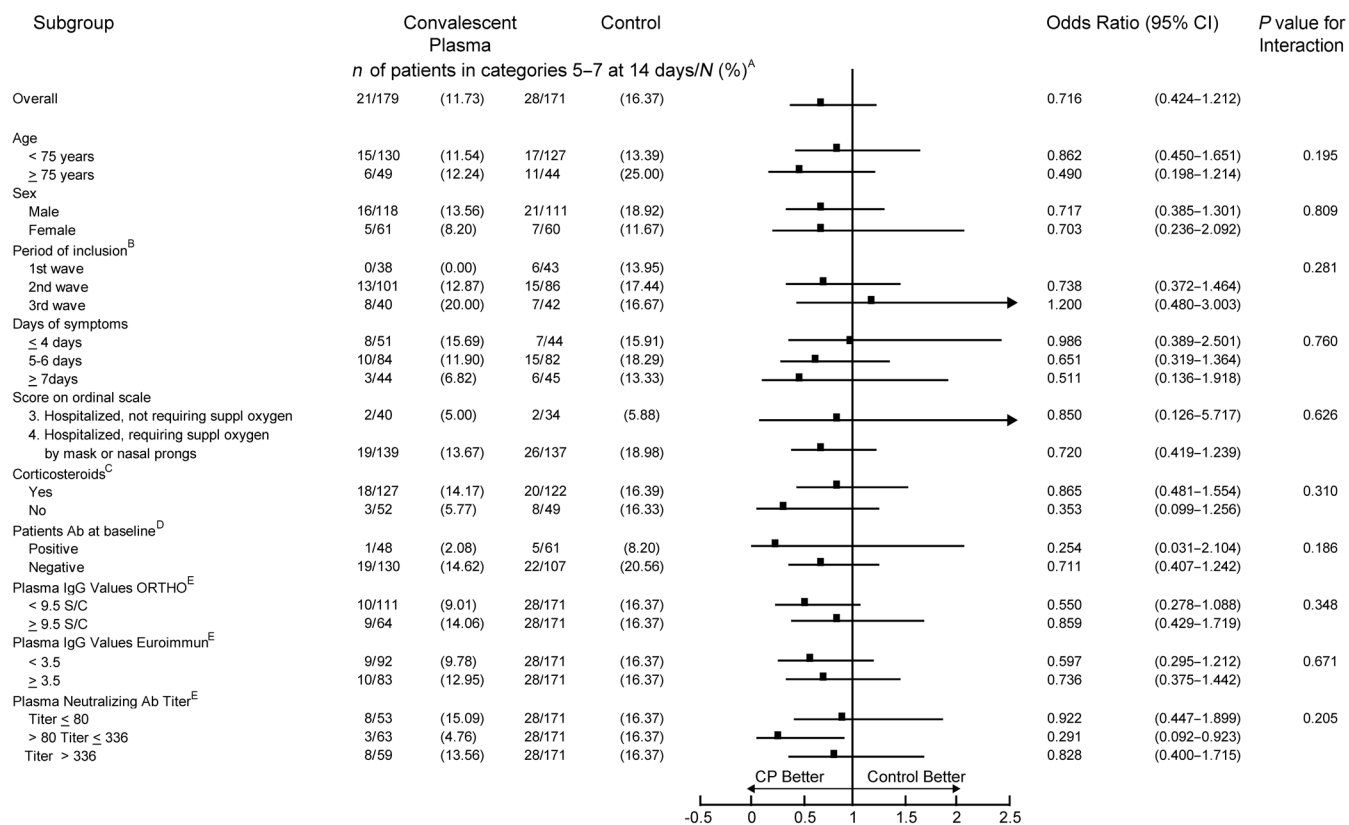


Figure 2. Patients on noninvasive ventilation or high-flow oxygen, invasive mechanical ventilation or ECMO, or who died, shown at 14 days according to subgroup analysis. Odds ratio not calculated for subgroups with a zero value. (A) n indicates patients in categories 5–7 (noninvasive ventilation or high flow oxygen devices; invasive mechanical ventilation or ECMO; death) at that time point, whereas N indicates the total number of patients in the group, following the intention-to-treat principle. (B) Periods were established according to official information on waves and actual trial recruitment. First wave: April 4, 2020, to July 9, 2020; second wave: September 7, 2020, to December 5, 2020; third wave: December 10, 2020, to February 5, 2021. (C) Includes patients receiving corticosteroids on the day of randomization or before. (D) Four patients had missing serology values, 146 patients included. (E) Four CP patients did not receive plasma (consent withdrawal, not plasma available) and only results from 175 used plasma units are available.

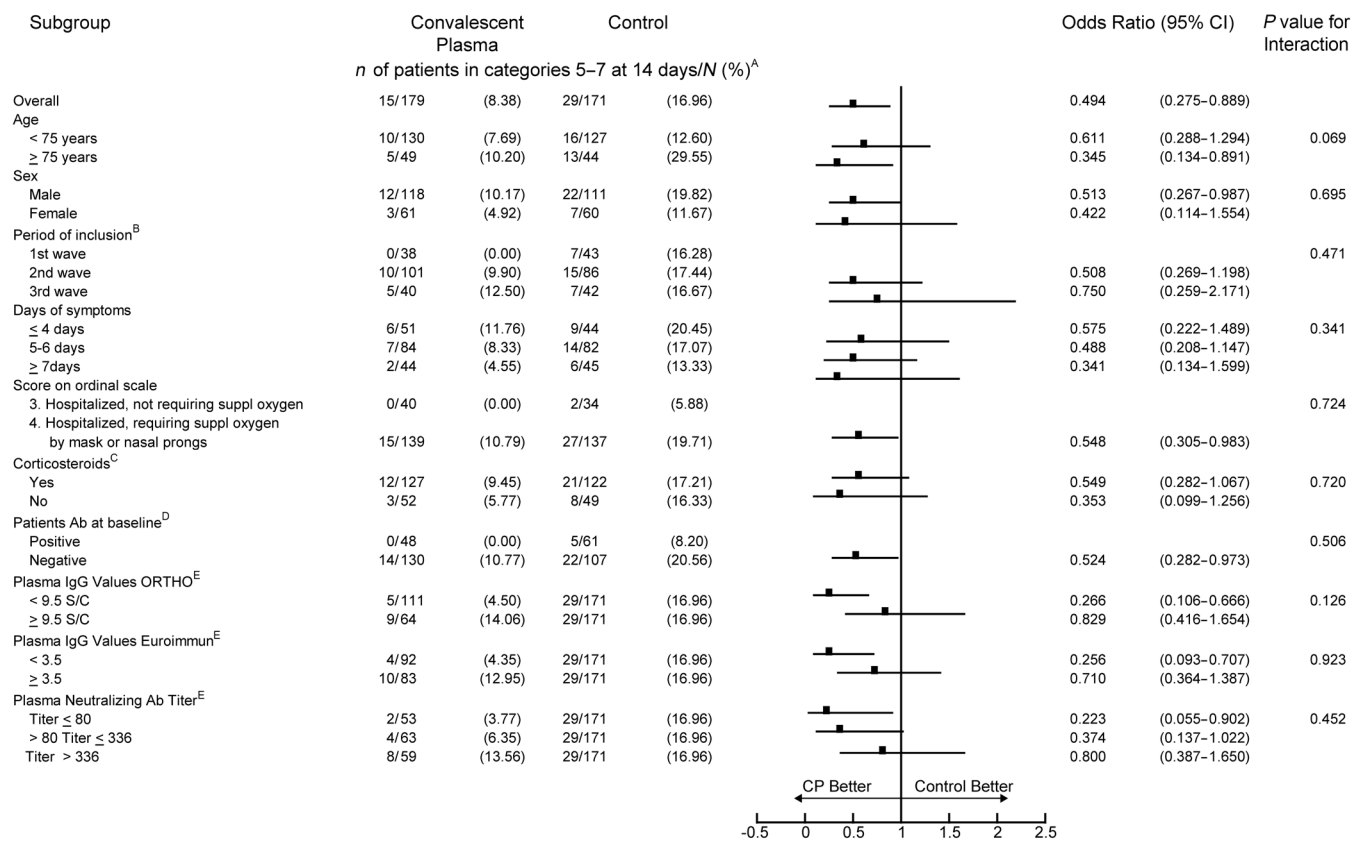


Figure 3. Patients on noninvasive ventilation or high-flow oxygen, invasive mechanical ventilation or ECMO, or who died, shown at 28 days according to subgroup analysis. Odds ratio not calculated for subgroups with a zero value. (A) *n* indicates patients in categories 5–7 (noninvasive ventilation or high-flow oxygen devices; invasive mechanical ventilation or ECMO; death) at that time point, whereas *N* indicates the total number of patients in the group, following the intention-to-treat principle. (B) Periods were established according to official information on waves and actual trial recruitment. First wave: April 4, 2020, to July 9, 2020; second wave: September 7, 2020, to December 5, 2020; third wave: December 10, 2020, to February 5, 2021. (C) Includes patients receiving corticosteroids on the day of randomization or before. (D) Four patients had missing serology values, 146 patients included. (E) Four CP patients did not receive plasma (consent withdrawal, not plasma available) and only results from 175 used plasma units are available.

ing antibody determination by pseudovirus neutralizing ID50 assay showed a median titer of 157 (IQR 64–502).

Primary outcome. The proportion of patients requiring noninvasive ventilation or high-flow oxygen, invasive mechanical ventilation or ECMO, or who died (i.e., categories 5–7) at the predefined primary time point of assessment (at 14 days) was 11.7% in the CP group versus 16.4% in the control group ($P = 0.205$). At 28 days, this proportion was 8.4% and 17.0% in the CP and control groups, respectively ($P = 0.021$; Table 3). A preplanned analysis according to basal SARS-CoV-2 antibody status showed that patients who were negative for antibodies at baseline had a worse clinical course. Among patients with anti-SARS-CoV-2 IgG antibodies at the time of inclusion, 2.1% in the CP group and 8.2% in control group were in categories 5–7 at 14 days ($P = 0.23$) and 0% and 8.2% at 28 days, respectively ($P = 0.066$). Among patients without antibodies at inclusion, 14.6% in the CP group and 20.6% in controls were in categories 5–7 at 14 days ($P = 0.23$) and 10.8% and 20.6% at 28 days, respectively ($P = 0.037$). The prespecified subgroup analyses by symptoms duration or anti-SARS-CoV-2 plasma titers did not show consistent findings. Results of the subgroup analyses are shown in Figures 2 and 3 and Supplemental Table 8. The distribution of the clinical sta-

tus of patients according to the 7-point ordinal scale at 14 and 28 days is shown in Figure 4 as well as in Supplemental Table 2.

Key secondary outcomes. Mortality rates were 3.4% in the CP arm and 5.9% in the control arm at 14 days ($P = 0.26$) and 3.9% in CP arm and 8.2% in control arm at 28 days ($P = 0.092$). Hazard ratio for death was 0.46 (95% CI 0.16–1.14, log-rank $P = 0.087$; Figure 5). Subgroup analysis, including patient’s seroconversion status at inclusion, did not show compelling differences in mortality (Supplemental Figure 7).

There were no significant differences between treatment groups in other secondary variables such as mean change in clinical status, odds of improvement on the ordinal scale, number of days alive and free from mechanical ventilation, time to first clinical deterioration, or time to first improvement (Supplemental Table 7 and Supplemental Figures 4–6). Time to hospital discharge was not different between groups, with a median time to discharge of 9 days in both groups, IQR 8–11 in the CP group, and IQR 8–10 in the control group. The number of rehospitalizations was low in both arms, 3.4% (6/179) in the CP group and 4.1% (7/171) in the control group.

Safety. Thirty-four serious, or grade 3 to 4, adverse events (AEs) were reported in 31 patients: 15 in the CP group and 16 in the control group (Supplemental Table 3). The investigators consid-

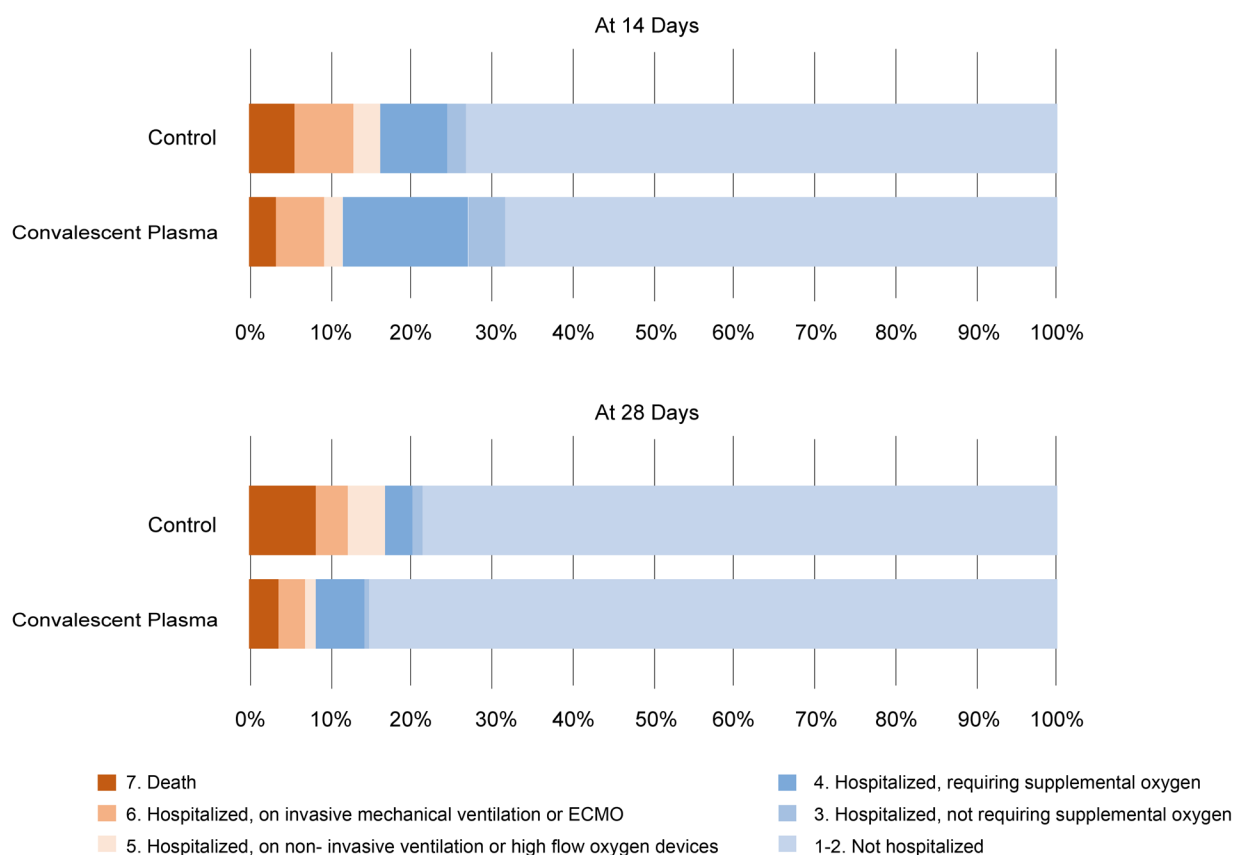


Figure 4. Clinical outcomes of patients treated with convalescent plasma as compared with standard of care. The distribution of the clinical status according to the 7-point ordinal scale is shown at 14 and 28 days. Outcomes at 14 and 28 days after randomization refer to the clinical status at that time, even if the patient was discharged and rehospitalized. In case of discharge before the end of study, patients were scheduled for a visit (either in an outpatient clinic or a phone visit) at 14, 29, and 60 days after randomization. Possible rehospitalizations were actively investigated. Categories 1 and 2 (nonhospitalized) are shown together.

ered all of these AEs to be related to underlying disease or related complications and not to the study treatment. Regarding thrombotic events, 8 patients reported an event, 3 in the CP group and 5 in the control group. The most commonly reported events were pulmonary embolisms ($n = 5$).

CP infusion-related events were reported in 10 patients; 5 were cases of severe worsening of dyspnea, 3 of which were reported by investigators as suspected TRALI (transfusion-related acute lung injury). In these 3 cases, TRALI was ruled out after a full assessment, including negative anti-HLA and antineutrophil antibodies in patients and donors. All patients recovered without sequelae except one patient who died on day 31 due to underlying disease as per investigator causality assessment.

Discussion

Our study suggests that the addition of a single unit of CP to the SOC therapy of patients hospitalized with COVID-19 may reduce their probability of disease progression to noninvasive ventilation or high-flow oxygen, invasive mechanical ventilation or ECMO, or death at 28 days (8.4% CP versus 17.0% control; $P = 0.021$). This difference was not significant for the predefined primary endpoint at 14 days (11.7% CP versus 16.4% control, $P = 0.205$). At the time of study design, the primary endpoint was set at 2 weeks based on the propos-

al made by the WHO R&D Blueprint initiative (15) and the outcome at 28 days was established as a key secondary endpoint. However, the outcome at 28 days is currently the most widely accepted outcome for COVID-19 trials in hospitalized patients and should be preferentially considered, in line with the recommendations from a broad international workshop on endpoints for COVID-19 trials including all major regulatory agencies (16). The 28-day overall survival did not reach a significant difference between treatment groups (HR 0.46, 95% CI 0.16–1.14, log-rank $P = 0.087$), but our trial was not powered enough to detect differences in mortality results. The rest of secondary variables also showed no differences between groups.

These findings add to results obtained in previous clinical trials with CP in COVID-19. Our hypothesis was that CP would benefit patients early in the course of the disease and who were not critically ill. A trial in elderly patients treated within 72 hours of onset of mild COVID-19 showed that CP decreased the development of severe respiratory disease from 31% to 16% (4). It has been suggested that negative results in some trials could arise from targeting patients with later or more severe forms of the disease, for whom the use of virus neutralizing antibodies comes too late to avoid the inflammatory phase of tissue damage, or in patients who had already developed their own immune response. For instance, the RECOVERY trial included patients with more advanced disease than our ConPlas-19 series,

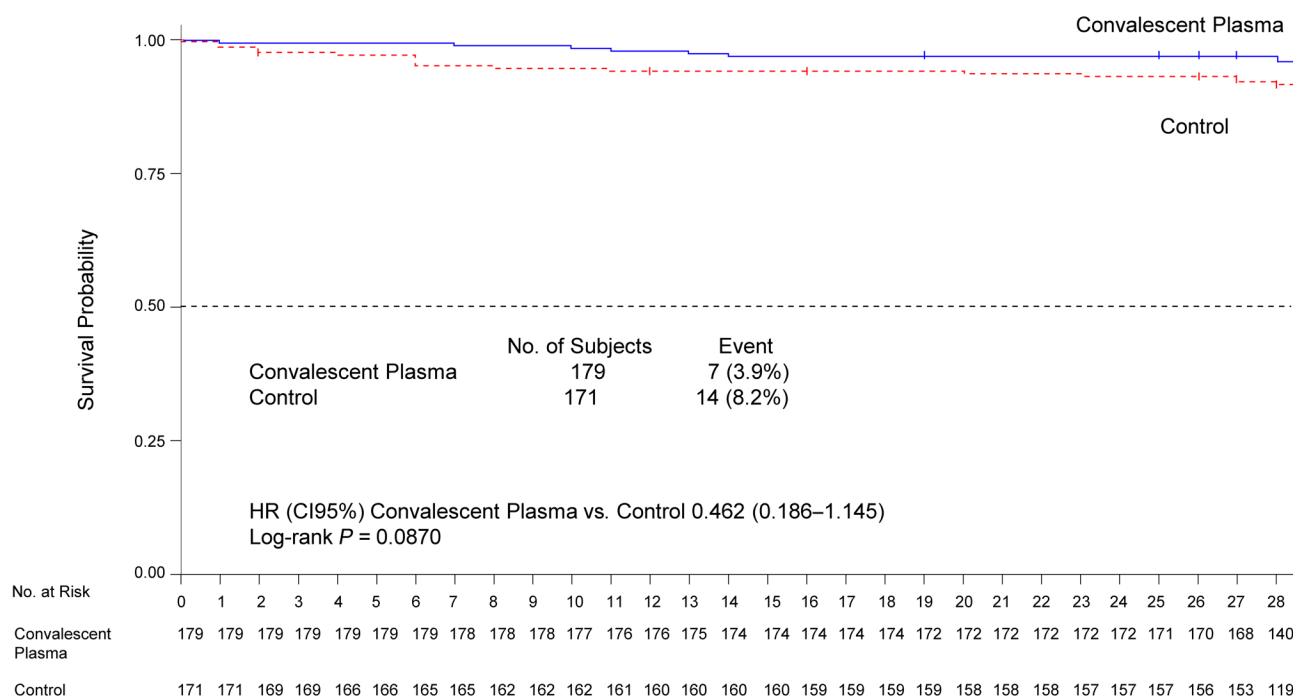


Figure 5. Overall survival by group.

as reflected by their high mortality rate (24% at 28 days) and longer duration of symptoms (median 9 days, IQR 6–12) (10). Likewise, nearly 50% of the patients treated by Simonovich et al. at a median of 8 (range 5–10) days from the onset of symptoms had SARS-CoV-2 antibodies at baseline (5). Other negative trials also included patients with a median duration of symptoms of 10 or more days (3, 8). Time from the onset of symptoms is a parameter frequently used in clinical trials with new medicinal products with antiviral activity, even though it is rather subjective and perhaps not well related to the real-time evolution of the disease, as initial symptoms often go unnoticed. In our trial, which had a median of 6 days after symptom onset, a preplanned subgroup analysis by time from disease onset was not associated with response to CP. Our trial suggests that days of symptoms as reported by patients may be an inaccurate parameter to define the window of opportunity for antiviral products intended for early treatment.

Laboratory assessment of patients' anti-SARS-CoV-2 serological status at the time of treatment might be a more accurate factor for predicting the benefit from passive immunotherapy with CP, as it is currently being explored in trials with commercial monoclonal antibodies. Additionally, a delayed development of SARS-CoV-2 antibodies is a known factor for poor prognosis (17), which could increase the magnitude of the CP benefit. Our results confirmed a higher occurrence of noninvasive ventilation or high-flow oxygen, invasive mechanical ventilation or ECMO, or death in patients with pneumonia who were seronegative at hospital admission (17.3% and 15.2% patients at 14 and 28 days, respectively) when compared with patients who had already developed their own immune response at inclusion (5.5% and 4.6% at 14 and 28 days, respectively). In our trial, the benefit from CP was shown in a consistent manner in the seronegative patient subgroup, with a reduced number of clinical worsening at 28 days (10.8% versus 20.6%; $P = 0.037$), and 14.6% versus 20.6% at 14 days ($P = 0.23$).

The subgroup of seropositive patients, however, had a lower number of patients and a very low number of events, which results in a very wide CI. This precludes us from concluding on different effects of CP according to serological status.

Our trial showed a more consistent beneficial effect in older patients than in younger ones ($P = 0.069$ for the age effect; Figure 3). In patients 75 years of age or older, disease progression to noninvasive ventilation or high-flow oxygen, invasive mechanical ventilation or ECMO, or death at 28 days was 10.2% in the CP group versus 29.6% in the control group ($P = 0.018$) and 12.24% in the CP group and 25% in the control group at 14 days ($P = 0.112$). This is consistent with some previously published results in elderly patients (4).

It has been suggested that CP needs high titers of neutralizing antibodies to be effective (7). Published trials have a substantial heterogeneity in CP characterization, and in some published trials negative results could be explained by the use of CP with very low titers. In one negative trial, no SARS-CoV-2 antibodies were present in one-third of administered plasma and very low titers were present in the remaining two-thirds (median 1:40, IQR 1:30–1:80; ref. 11). At the time of our trial design, it was not possible to have neutralizing antibody titer results in real time to use them for selecting plasma units. Correlation between the available semiquantitative tests for anti-SARS IgG and the titer of functional neutralizing antibodies and accepted cut-off points were still unclear. We decided to use plasma that tested positive for IgG anti-S antibodies, but with a wide spectrum of titers, as this could be closer to future pandemic necessities, with CP collected near the time of its use and unavailability of neutralizing antibody assays. This results in a more pragmatic design aimed at demonstrating real-world efficacy of CP. Our CP selection strategy guaranteed the use of CP with antibodies, but not the use of high titers of neutralizing antibodies. Only one-third of the patients (36.6%) received high-titer CP, as defined by ORTHO anti-SARS-

CoV-2 IgG values ≥ 9.5 (Ortho-Clinical Diagnostics), the cut-off point established by some regulatory agencies (18) or neutralizing antibody titers greater than 336 (33.7%). Up to 24 patients received IgG-positive CP with subsequent neutralizing antibodies results ≤ 32 . The subgroup analysis according to plasma titers did not show a greater benefit with the use of high-titer CP, but the limited sample size does not allow us to draw firm conclusions.

Finally, the efficacy of CP could be influenced by the match between the anti-SARS-CoV-2 antibodies in donor CP and the infecting virus variant in the patient, and it has been suggested that to ensure neutralizing activity against circulating virus variants, CP for use in pandemics should be obtained from local sources. The CP used in our study was locally sourced, but mainly obtained from patients infected during the first wave. There is a possibility that this CP may have had a reduced neutralizing potential in subsequent waves of COVID-19 caused by other SARS-CoV-2 variants. The subgroup analysis suggests this is a possibility, as the benefit of CP was substantially greater in the first period of the trial. Nevertheless, at the end of the trial period, the dominant strain in most regions in Spain was the B.1.1.7 variant (19) and some laboratory studies have shown an acceptable retention of neutralizing activity of CP against this variant (20, 21). An alternative explanation for the trend toward a decreasing effect of plasma in successive pandemic periods could be related to the increasing quality of COVID-19 medical care.

This study has limitations. It is not blinded but, nevertheless, blinded randomization was strictly preserved, with a complete blinded electronic allocation performed only after full baseline data of the included patients were registered. After randomization, follow-up was not blinded but potential bias was minimized because all patients underwent well-established standard medical decisions, following the applicable protocols in all centers. In addition, the main results are based on objective variables. No evident between-group differences in treatment after enrollment were observed, either in overall treatments or in specific treatments that could be considered rescue therapies such as corticosteroids, anti-IL-6, anti-IL-1, or JAK inhibitors (Supplemental Table 6). The sample size was not sufficient to address subgroup analyses or differences in some secondary variables such as overall mortality. Recruitment of the numbers of patients required to obtain scientific evidence has been a struggle for all randomized clinical trials in this setting, including ConPlas-19. Meanwhile, many thousands of patients have been treated in open access programs worldwide. From the evidence available now, many of these patients did not benefit from open treatment with CP. If only a small percentage of them had been included in randomized clinical trials, the required evidence would have been compiled much sooner.

In conclusion, with 350 patients hospitalized with COVID-19 randomized relatively early in the course of the disease and excluding severe cases requiring high-flow oxygen devices or mechanical ventilation, our study suggests that patients randomized to receiving CP in addition to SOC had a better outcome at 28 days, particularly patients older than 75 years of age and those with no IgG antibodies detectable at baseline. These results should be interpreted with caution because the primary endpoint at 14 days, overall survival, and other secondary endpoints were not significantly improved. Lack of significance could be influenced by the limited trial sample size, so confirmation from trials adequately powered to assess mortality as well as the effect in particular subgroups of patients is needed.

Results from a pooling initiative of individual data from CP randomized trials will be soon available (22) and could help to establish evidence of CP effectiveness in specific groups of patients and to determine the characteristics of CP to be used. Evolving knowledge from the development of monoclonal neutralizing antibodies and purified immunoglobulins will contribute to the clarification of some pending issues regarding the benefits of passive immunotherapy while keeping in mind that monoclonal antibodies are a scarce and expensive commercial product, and not widely accessible, whereas CP is a readily available resource at an acceptable cost worldwide.

Methods

Study design. ConPlas-19 was a multicenter open-label randomized trial conducted in 27 hospitals in Spain. The trial protocol has been published in advance (23). The final version of the protocol with description of amendments is included in the Supplemental Material. Recruitment by clinical site is included in Supplemental Table 1.

All patients were diagnosed with COVID-19 pneumonia and were randomly assigned in a 1:1 ratio to receive a single unit of CP (250–300 mL), or not, as add-on therapy to SOC within first 7 days of symptoms. A description of the SOC followed and its changes over the course of pandemic are included in Supplemental Tables 4 and 5.

Remote data monitoring was performed by dedicated staff, independent of the site investigators, with 100% source data verification performed for all patients recruited for all critical data points that were previously established in the monitoring plan.

An independent Data Safety Monitoring Board (DSMB) was established to oversee the conduct and safety aspects of the trial as well to provide recommendations about continuation of the study based on an unblind analysis of efficacy endpoints at preplanned cut-off points.

Patients. Patients were eligible if hospitalized for laboratory-confirmed SARS-CoV-2 infection and pneumonia diagnosed either by radiographic evidence of pulmonary infiltrates or by clinical evidence plus $\text{SpO}_2 \leq 94\%$ on room air, and within 12 days from the onset of symptoms (fever or cough). After the first 81 patients, time window for inclusion was amended to a maximum of 7 days as evolving knowledge indicated that selection of patients with early disease was crucial. Patients were excluded if already on mechanical ventilation (invasive or noninvasive) or high-flow oxygen devices, had Stage 4 severe chronic kidney disease or required dialysis, or if progression to death was imminent and inevitable within 24 hours according to clinical team opinion. The complete description of inclusion and exclusion criteria is available in the Supplemental Material.

Laboratory confirmation for inclusion required a RT-PCR or antigen test on samples collected in the ongoing symptomatic COVID-19 period and performed either at a local laboratory or at the trial's central laboratory. Nevertheless, all patients included had a basal blood and oro/naso-pharyngeal swab RT-PCR determination at the trial's central laboratory.

Randomization and masking. After giving informed consent to participate, patients were registered using a web-based electronic Case Report Form (eCRF) performed with ORACLE clinical. After baseline clinical data were recorded and plasma availability confirmed, patients were randomized using a centralized system embedded in the eCRF that ensures allocation concealment. Randomization list was 1:1 ratio, stratified by study site with variable block size multiple of 2 elements and generated using the RERAND system integrated within the eCRF. After randomization, the local clinical team responsible for patient assessment was not blinded to the treatment arm.

Procedures. All patients received SOC, including all supportive and specific treatments used according to local or national recommendations, including off-label medicines. Those patients allocated to add-on CP received a single unit of CP (250–300 mL), which had to be administered immediately after randomization (day 1 of the trial).

CP donors were recruited by the participant hospitals or regional transfusion centers and complied with EU requirements for plasma donors (24), had had laboratory-confirmed SARS-CoV-2 infection, anti-SARS-CoV-2 IgG (ratio ≥ 1.1 with the Euroimmun ELISA test), and were asymptomatic for at least 14 days. A history of transfusion or pregnancy were exclusion criteria to minimize the risk of TRALI. A 600 mL plasmapheresis was performed to obtain 2 CP units of approximately 300 mL each, that were used in 2 different patients. Each convalescent plasma unit was derived from a single donor. All CP units underwent a pathogen inactivation procedure.

Euroimmun anti-SARS-CoV-2 ELISA IgG assays were performed on donor serum samples at the study's centralized laboratory (Centro Nacional de Microbiología [CNM]), according to the manufacturer's instructions. Microplate wells are coated with recombinant structural protein 1 (S1) of SARS-CoV-2 and the assay detects anti-SARS-CoV-2 IgG against the viral spike protein. The results are evaluated semi-quantitatively by calculation of the ratio between the extinction of the sample and calibrator. A ratio < 0.8 is considered negative, ≥ 0.8 and < 1.1 are borderline, and ≥ 1.1 is positive.

CP units used in the trial were further characterized at the study's centralized laboratory using a second method for anti-SARS-CoV-2 IgG levels (VITROS) and a determination of neutralizing antibodies. The VITROS Immunodiagnostic Anti-SARS-CoV-2 ELISA IgG assay (Ortho-Clinical Diagnostics) is a chemiluminescent immunoassay (CLIA) utilizing a recombinant structural protein 1 (S1) of SARS-CoV-2 to measure total antibody presence in serum and plasma. The light signal is read by the system and the results are interpreted qualitatively. An index S/C < 1.0 is considered negative, ≥ 1.0 positive. Finally, as a third assay, we measured neutralizing antibodies in all administered plasma units. Dilutions of participants' plasma samples were preincubated for 1 hour with D614-SARS-CoV2 pseudoviruses (10 ng p24Gag/well) and added to Vero E6 cells in 96-well plates. At 48 hours after infection, viral infectivity was assessed by measuring luciferase activity (Renilla Luciferase Assay, Promega) using a 96-well plate luminometer "Orion II" (Berthold Technologies). The titer of neutralizing antibodies was calculated as 50% inhibitory dose (NT50), expressed as reciprocal of 2-fold serial dilution of heat-inactivated sera (range 1:16–1:8192) resulting in a 50% reduction of pseudovirus infection compared with control without serum. Neutralization ≤ 32 is considered negative. Positive and negative controls were included in the assay and nonspecific neutralization was assessed using a nonrelated pseudovirus expressing the Vesicular Stomatitis Virus envelope.

Neutralizing antibody titer and IgG level results by VITROS assay were only available at the end of the study and were not available for CP unit selection during the study.

Patients were assessed daily during hospitalization. After discharge, follow-up was done in outpatient clinics or by phone at days 14, 28, and 60 after randomization to assess study outcomes, rehospitalizations, and additional safety information. The patient's clinical status was recorded using the 7-category ordinal COVID-19 scale: 1, not hospitalized, no limitations on activities; 2, not hospitalized, limitation on activities; 3, hospitalized, not requiring supplemental oxygen; 4, hospitalized, requiring supplemental oxygen; 5, hospitalized,

on noninvasive ventilation or high-flow oxygen devices; 6, hospitalized, on invasive mechanical ventilation or ECMO and 7, death.

Outcomes. The primary outcome was the proportion of patients in categories 5, 6, or 7 (noninvasive ventilation or high-flow oxygen, invasive mechanical ventilation or ECMO, or death) at 14 days (day 15 of the study). Key secondary outcomes included the proportion of patients in categories in categories 5, 6, or 7 at 28 days (day 29 of the study), overall survival, death rate at 14 and 28 days, mean change in the ordinal scale, duration of hospital stay, number of days alive and free from mechanical ventilation, time to discharge, time to first clinical deterioration, time to improvement in one category, and number of rehospitalizations.

Prespecified subgroup analyses of the primary endpoint were planned according to the level of neutralizing antibodies in the administered plasma, duration of symptoms at randomization, positivity of antibodies at patient baseline, and period of patient recruitment according to the different waves of pandemics.

Serious AEs, grade 3 or 4 AEs, and CP infusion-related AEs (within 24 hours after administration) were collected. Investigators were instructed to actively monitor for the appearance of predefined AEs of special interest: TRALI, ADE (antibody-dependent enhancement of infection), and thrombotic events.

Statistics. An initial sample of 278 patients was planned, assuming 20% worsening in patients in the control group and an absolute reduction of 10% in the CP group, with 80% statistical power and 2.5% one-sided alpha level (5% 2-sided). At the time of trial design, there was uncertainty about the proportion of patients worsening to categories 5, 6, or 7 at 14 days. Therefore, one sample size reestimation (at 60% of the trial size) and a series of futility and efficacy interim analyses were planned (at 20%, 40%, 60%, and 80% of the trial size) using statistical boundaries based on rho family spending functions (with $\rho = 7$) calculated by means of the East software v6.5 (Cytel Inc.). The full statistical analysis plan, including stoppage rules for the interim analysis, was completed before the first interim analysis.

The primary analysis follows the intention-to-treat principle and includes all randomized patients. The risk ratios (RRs) with 95% CI and the inferential analysis for the primary endpoint were conducted using a log-binomial regression model including center (grouped by level of recruitment) as a covariate. The ordinal scale changes were analyzed using the Wilcoxon rank-sum test and a shift analysis was performed using a logistic proportional odds model. Survival function was estimated using the Kaplan-Meier method, group comparisons done by log-rank test, and the hazard ratios (and 95% CI) calculated by means of the Cox model. Analysis was performed using SAS v9.4 scientific software (SAS Institute Inc.). The trial was temporarily stopped on July 10, 2020, after the first interim analysis, due to a drastic fall in recruitment (end of first wave in Spain), although prespecified futility or efficacy stop criteria had not been reached. Preliminary results of this first set of patients were publicly reported (25). Nevertheless, the trial recruitment was resumed shortly after, with the surge of the second wave, and the trial was finally completed as planned. On December 3, 2020, the DSMB recommended increasing the sample size by at least a 20% and the new sample size was set at 350 patients. The complete set of patients is reported here.

Study approval. The trial was approved by the Research Ethics Committee of the Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda in Madrid, Spain, and conducted in accordance with the principles of the Good Clinical Practice guidelines of the International Conference on Harmonization. A waiver for approval from the Spanish Medicines Agency

was obtained, due to the classification of fresh frozen plasma as a blood product. A specific clinical trial contract was signed with each participating center. Informed consent was obtained from all patients and either written consent or witnessed oral consent followed by written consent, when feasible, were accepted. All donors gave a study-specific written consent.

Author contributions

CAS, JLB, RFD, ARM, EMR, and BRA conceived the study and led protocol development. RMM, FT, CPH and JRPP contributed to study design. JCP, AFC, ADS, JLT, MML, IP, ALMG, MJNO, MLPL, PV, and JRPP contributed to data acquisition, clinical follow-up of patients, analysis, and/or interpretation. IRM, MLP, JVE, MISS, MCJF, JPO, ARG, LB, MEMS, MRB, JAMC, and JLB contributed to convalescent plasma collection, qualification, and release, and to hemovigilance procedures. AVI coordinated study activities. CPH was in charge of safety procedures and EMD performed and interpreted specific laboratory safety assessments. ICF performed and interpreted virus laboratory assays. MPO performed and interpreted serology assays. JGP and JA performed and interpreted neutralization assays. FT, CAS, JLB, RFD, and BRA designed and supervised statistical analyses. CAS and RFD wrote the first version of the manuscript. All authors contributed to critical revision of the manuscript and approved its final version.

Acknowledgments

The authors would like to acknowledge the generous contributions of so many patients with COVID-19 who either donated their plasma

after recovering from the disease or agreed to participate as subjects in this study, as well as the many healthcare professionals who, undeterred by the difficulties of the pandemic, helped look after these patients and obtain scientific evidence. We would like to acknowledge the contribution of the members of the Data Safety Monitoring Board (Aranzazu Sancho-Lopez, Emilio Ojeda, José Ríos, Juan Antonio Vargas and Carlos Vilches). This research was funded by the Government of Spain, Ministry of Science and Innovation, Instituto de Salud Carlos III, grant number COV20/00072 (Royal Decree-Law 8/2020, of 17 March, on urgent extraordinary measures to deal with the economic and social impact of COVID-19), cofinanced by the European Regional Development Fund (FEDER) "A way to make Europe," and supported by SCReN (Spanish Clinical Research Network), Instituto de Salud Carlos III, project PT17/0017/0009. Clinical trial insurance coverage was donated by MARCH RS Correduría de Seguros y Reaseguros. MML holds a "Río Hortega" research contract (CM19/00226). See Supplemental Material for details on the ConPlas-19 study group.

Address correspondence to: Cristina Avendaño-Solà, Department of Clinical Pharmacology, Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda, Calle Joaquín Rodrigo 2, Madrid, Spain. Phone: 34.91.191.6479; Email: cavendano@salud.madrid.org. Or to: Rafael F. Duarte, Department of Hematology, Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda, Calle Joaquín Rodrigo 2, Madrid, Spain. Phone: 34.91.191.6662; Email: rafael.duarte@salud.madrid.org.

- Mair-Jenkins J, et al. The effectiveness of convalescent plasma and hyperimmune immunoglobulin for the treatment of severe acute respiratory infections of viral etiology: a systematic review and exploratory meta-analysis. *J Infect Dis.* 2015;211(1):80–90.
- Casadevall A, Pirofski LA. The convalescent serooption for containing COVID-19. *J Clin Invest.* 2020;130(4):1545–1548.
- Li L, et al. Effect of convalescent plasma therapy on time to clinical improvement in patients with severe and life-threatening COVID-19: a randomized clinical trial. *JAMA.* 2020;324(5):460–470.
- Libster R, et al. Early high-titer plasma therapy to prevent severe Covid-19 in older adults. *N Engl J Med.* 2021;384(7):610–618.
- Simonovich VA, et al. A randomized trial of convalescent plasma in Covid-19 severe pneumonia. *N Engl J Med.* 2021;384(7):619–629.
- O'Donnell MR, et al. A randomized double-blind controlled trial of convalescent plasma in adults with severe COVID-19. *J Clin Invest.* 2021;131(13):e150646.
- Joyner MJ, et al. Convalescent plasma antibody levels and the risk of death from Covid-19. *N Engl J Med.* 2021;384(11):1027–1027.
- Gharbharan A, et al. Effects of potent neutralizing antibodies from convalescent plasma in patients hospitalized for severe SARS-CoV-2 infection. *Nat Commun.* 2021;12(1):3189.
- Thompson MA, et al. Association of convalescent plasma therapy with survival in patients with hematologic cancers and COVID-19. *JAMA Oncol.* 2021;7(8):1167–1175.
- RECOVERY Collaborative Group. Convalescent plasma in patients admitted to hospital with COVID-19 (RECOVERY): a randomised, controlled, open-label, platform trial. *Lancet.* 2021;397(10289):2049–2059.
- Agarwal A, et al. Convalescent plasma in the management of moderate covid-19 in adults in India: open-label phase II multicentre randomized controlled trial (PLACID Trial). *BMJ.* 2020;371:m3939.
- Balcells ME, et al. Early versus deferred anti-SARS-CoV-2 convalescent plasma in patients admitted for COVID-19: A randomized phase II clinical trial. *PLoS Med.* 2021;3;18(3):e1003415.
- Gottlieb RL, et al. Effect of bamlanivimab as monotherapy or in combination with Etesevimab on viral load in patients with mild to moderate COVID-19: a randomized clinical trial. *JAMA.* 2021;325(7):632–644.
- Weinreich DM, et al. REGN-COV2, a neutralizing antibody cocktail, in outpatients with Covid-19. *N Engl J Med.* 2021;384(3):238–251.
- World Health Organization. Multi-centre, adaptive, randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial of the safety and efficacy of investigational therapeutics for the treatment of COVID-19 in hospitalized patients. <https://covid19-evidence.paho.org/handle/20.500.12663/386>. Updated February 24, 2020. Accessed September 7, 2021.
- International Coalition of Medicines Regulatory Authorities. ICMRA COVID-19 Treatments and Clinical Trials Workshop #2 - Summary. <http://icmra.info/drupal/news/20july2020/summary>. Updated July 2020. Accessed September 7, 2021.
- Li K, et al. Dynamic changes in anti-SARS-CoV-2 antibodies during SARS-CoV-2 infection and recovery from COVID-19. *Nat Commun.* 2020;11(1):6044.
- US Food and Drug Administration. Convalescent plasma EUA letter of authorization. <https://www.fda.gov/media/141477/download>. Updated March 9, 2021. Accessed May 5, 2021.
- Ministerio de Sanidad de España. Situación actual. <https://www.msbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/situacionActual.htm>. Updated March 25, 2021. Accessed 25 March 2021.
- Planas D, et al. Sensitivity of infectious SARS-CoV-2 B.1.1.7 and B.1.351 variants to neutralizing antibodies. *Nat Med.* 2021;27(5):917–924.
- Supasa P, et al. Reduced neutralization of SARS-CoV-2 B.1.1.7 variant by convalescent and vaccine sera. *Cell.* 2021;184(8):2201–2211.
- Petkova E, et al. Pooling data from individual clinical trials in the COVID-19 era. *JAMA.* 2020;324(6):10.1001/jama.2020.13042–545.
- Diago-Sempere E, et al. Evaluation of convalescent plasma versus standard of care for the treatment of COVID-19 in hospitalized patients: study protocol for a phase 2 randomized, open-label, controlled, multicenter trial. *Trials.* 2021;22(1):70.
- European Commission. COVID-19 convalescent plasma transfusion. https://ec.europa.eu/health/blood_tissues_organs/covid-19_en. Updated September 7, 2021. Accessed September 7, 2021.
- Avendaño-Solà C et al. Convalescent plasma for COVID-19: a multicenter, randomized clinical trial [preprint]. <https://doi.org/10.1101/2020.08.26.20182444>. Posted on medRxiv September 29, 2020.