

Università degli Studi di Genova

Scuola di Scienze Mediche e Farmaceutiche

Dipartimento di Scienze della Salute

Dottorato di Ricerca in Scienze della Salute

Curriculum Medicina Legale e Medicina del Lavoro



TESI DI DOTTORATO DI RICERCA

Impatto del COVID-19 sui decessi ospedalieri.

**Analisi della casistica in relazione alla diagnosi molecolare di
infezione da SARS-CoV-2**

Candidato: Dott. Luca Vallega

Relatore: Chiar.mo Prof. Francesco De Stefano

Tutor: Chiar.mo Prof. Gabriele Rocca

Anno accademico 2019-2020

Sommario

1. INTRODUZIONE.....	3
2. MATERIALI E METODI	8
3. RISULTATI	11
4. DISCUSSIONE	21
5. CONCLUSIONI.....	26
BIBLIOGRAFIA	28

1. INTRODUZIONE

Alla fine del 2019 nella città cinese di Wuhan è stato isolato un nuovo virus appartenente alla famiglia dei *coronaviridae* (SARS-CoV-2) [1] [2].

Il virus, trasmesso all'uomo tramite un vettore animale, si è rapidamente diffuso, dapprima in Cina e in seguito a livello mondiale, al punto che in data 11/03/2020 la *World Health Organization* (WHO) ha dichiarato lo stato di pandemia [3].

L'infezione da SARS-CoV-2 determina una malattia (COVID-19) che si manifesta dal punto di vista clinico con sintomatologia respiratoria estremamente variabile in termini di gravità [4].

Nella maggior parte dei casi può decorrere in modo asintomatico o con una blanda sintomatologia che non richiede particolare assistenza medica; in alcuni casi può, invece, indurre un'abnorme risposta infiammatoria a livello polmonare, con *distress* respiratorio e necessità di ricovero ospedaliero anche intensivo.

L'assenza di una terapia specifica in grado di arrestare la replicazione virale ha destato fin da subito grande preoccupazione, soprattutto in relazione all'elevata percentuale di pazienti critici deceduti.

Attualmente il tasso di mortalità stimato (*case fatality rate*-CFR¹) è intorno al 4%, ma varia ampiamente a seconda dei paesi dove viene analizzato il campione (0-20%).

Questo può dipendere da diverse cause [5].

¹ parametro che si ottiene dal rapporto tra numero di decessi e numero di diagnosi confermate

Innanzitutto la pandemia ha colpito i vari paesi in periodi e con modalità di diffusione differenti e questo può aver inciso determinando picchi di contagio in epoche diverse, con inevitabile ripercussione sui tassi di mortalità.

In secondo luogo gli studi hanno evidenziato che la prognosi è strettamente influenzata, in senso negativo, da alcuni fattori di rischio; pertanto nelle popolazioni con un'età media più elevata e in cui sono maggiormente diffuse le patologie che rientrano tra le comorbidità riconosciute come causalmente correlate ai decessi da COVID-19 (malattie cardiovascolari e polmonari, diabete mellito e neoplasie) è lecito attendersi un tasso di mortalità più elevato [6].

Inoltre, vista la necessità di ricovero per quei soggetti che sviluppano una malattia grave che richiede un'assistenza intensiva, è stato dimostrato che l'estrema diffusione del virus ha portato inevitabilmente a sovraccaricare le strutture ospedaliere [7], soprattutto in quei paesi il cui sistema sanitario non era adeguatamente preparato (in termini organizzativi) a fronteggiare l'emergenza, con conseguente incremento del tasso di mortalità.

Infine, dato ancor più rilevante su cui ci si vuole concentrare in questo studio, il tasso di mortalità si calcola sul rapporto tra soggetti deceduti e casi di infezione accertati, pertanto la sua stima varia a seconda dell'accuratezza con cui viene posta la diagnosi.

Attualmente il metodo più affidabile è l'analisi molecolare, che si fonda sull'individuazione dell'RNA virale, attraverso l'utilizzo della tecnologia (rt)-Real Time PCR (reverse transcriptase – Real Time Polymerase Chain Reaction), su campioni di tessuto dalle vie respiratorie prelevati con un tampone nasofaringeo [8] [9].

Questa metodica permette di identificare sequenze genomiche del virus (i geni bersaglio) e di misurare in tempo reale la concentrazione iniziale della sequenza *target*, fornendo quindi anche informazioni dal punto di vista quantitativo rispetto alla presenza di possibili particelle infettanti (il numero di cicli di amplificazioni necessarie per ottenere un certo quantitativo di repliche di materiale genetico è inversamente proporzionale rispetto alla presenza delle sequenze virali presenti nel campione)

Questa analisi è dotata della maggiore sensibilità e specificità al momento possibili, essendo in grado di rilevare il genoma virale anche in soggetti con bassa carica virulenta al momento del prelievo.

I dati sull'accuratezza del test sono, tuttavia, variabili a seconda del sito di prelievo.

In una recente revisione sistematica è stato riportato un tasso di falsi negativi variabile dal 2% al 29%, con una sensibilità pari al 93% nel caso del lavaggio bronco-alveolare (BAL), al 72% nel caso dell'espettorato, al 63% nel caso del tampone nasale e al 32% nel caso del tampone faringeo [10].

Nel complesso si può stimare una sensibilità variabile dal 71 al 98%, in linea con un limite intrinseco legato alla tecnica con cui viene effettuato il prelievo [11].

I limiti legati all'accuratezza diagnostica, come detto, si riflettono sul calcolo dei tassi di mortalità.

In Italia sono stati pubblicati diversi *report* che nel corso dei primi mesi hanno fornito stime sull'andamento temporale dei primi mesi di pandemia [12] [13] [14].

Nel complesso si è osservato un aumento progressivo del numero di casi COVID-19, con un picco nel mese di marzo e una riduzione progressiva nei mesi successivi.

Per valutare l'impatto effettivo sulla mortalità è stato utilizzato un metodo di calcolo basato sull'eccesso dei decessi (indipendentemente delle cause) risultato dal confronto tra il 2020 e la media dei decessi del quinquennio precedente (2015-2019) riferito allo stesso periodo.

Questo metodo consente di stabilire che la diffusione dell'epidemia ha prodotto un aumento complessivo di tutti i decessi, anche di quelli non direttamente riferibili ai casi positivi segnalati².

I dati evidenziano una progressiva riduzione del tasso di mortalità intorno al mese di maggio, che appare "ridimensionato" entro i valori pre-pandemia.

A livello medio nazionale, i decessi totali del mese di maggio 2020 risultano lievemente inferiori alla media dello stesso mese del periodo 2015-2019 (-2,2%), a fronte di un incremento del 49,4% nel mese di marzo 2020 e del 36,6% nel mese di aprile.

Ciò sembra essere in linea con l'attuazione delle misure di contenimento previste nei vari DPCM e riflette un rapido e progressivo miglioramento dello *standard* di cure per i pazienti ospedalizzati.

Alcuni dubbi, tuttavia, permangono, a fronte dei limiti oggettivi evidenziati sul metodo di calcolo per stimare la mortalità (limite legato all'affidabilità diagnostica dei test), che rendono difficile stabilire la reale influenza della pandemia.

² In linea con un probabile effetto indiretto della pandemia, tale per cui anche i soggetti non contagiati, a causa del sovraccarico del sistema sanitario, non hanno potuto (o voluto) ricevere l'assistenza diagnostico-terapeutica necessaria, decedendo per cause che, in altre circostanze, avrebbero potuto essere evitate

Lo scopo di questo studio è analizzare i decessi verificatisi in due delle maggiori realtà ospedaliere della regione Liguria, ponendo a confronto le cause di morte certificate con i risultati diagnostici ottenuti attraverso la diagnosi molecolare sui prelievi effettuati mediante i tamponi naso-faringei, al fine di elaborare un valido strumento utile per la valutazione dell'effettiva incidenza della pandemia sul tasso di mortalità complessivo.

2. MATERIALI E METODI

Fin dall'inizio della pandemia, il Policlinico San Martino, Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico (IRCCS), convenzionato con la Scuola Medico-Farmaceutica dell'Università degli Studi di Genova, e l'Ente Ospedaliero "Ospedali Galliera", sono stati individuati come centri di riferimento regionale per la diagnosi e la cura della malattia COVID-19.

Per questo si è scelto di estendere lo studio ad entrambe le strutture, limitando la coorte ai pazienti deceduti nel corso della prima ondata pandemica, nel periodo compreso dal 01/03/2020 al 17/05/2020.

I limiti temporali sono stati scelti dagli osservatori, anticipando di otto giorni la scelta politica di imporre un *lockdown* ed estendo l'analisi fino alla sospensione delle limitazioni serrate imposte dal DPCM.

Riguardo alla definizione dei criteri d'inclusione della coorte, si è scelto di includere tutti i decessi avvenuti nel periodo d'interesse, a prescindere dalla causa di morte certificata.

Nel complesso sono stati selezionati 1058 decessi, che sono stati posti a confronto con i 660 dell'anno precedente (2019).

Per i casi d'interesse si è provveduto a raccogliere una serie di dati grazie all'utilizzo della cartella clinica elettronica, che ha permesso di creare una stringa di ricerca che selezionasse alcuni *items* solo su pazienti deceduti.

Alcuni limiti sono emersi per quanto riguarda i pazienti ricoverati nel reparto *Hospice* e in quelli transitati unicamente in Pronto Soccorso. Per i primi il problema è derivato dal fatto che non erano inseriti nel sistema di ricerca rapida digitale su supporto informatico, per i secondi non è stato possibile reperire tutti

i dati clinico-laboratoristici come negli altri casi (se non altro per il ristretto periodo di degenza).

Si è comunque provveduto ad analizzare ogni singola cartella clinica elettronica alla ricerca dei dati d'interesse.

Per quanto attiene lo studio che qui si presenta, i dati raccolti comprendono: la certificazione della causa di morte da parte di personale medico ospedaliero (sono stati esclusi due casi, in quanto giunti cadaveri presso il Pronto Soccorso e, pertanto, privi di una causa di morte certa ospedaliera), la data di ingresso in ospedale, la data di esecuzione del test diagnostico per COVID-19 (test molecolare su prelievo effettuato con tampone naso-faringeo) e i rispettivi risultati.

Sono stati esclusi i casi con un risultato del test diagnostico inconclusivo o incerto (quali ad esempio: campione inadeguato, risultato non conclusivo), compresi i casi per cui risultava essere stato effettuato un prelievo, ma non era stato possibile reperire il risultato.

Sono stati, invece, inclusi i casi il cui esito del test diagnostico è risultato debolmente positivo, che sono stati considerati come positivi.

I dati sono stati raccolti in forma anonima e aggregata attraverso una cartella di lavoro informatica, nel rispetto di quanto previsto dal Regolamento Europeo sulla Protezione dei Dati Personali (GDPR), che consente l'accesso alle informazioni in ragione di un interesse pubblico prevalente (a scopo di ricerca scientifica e tutela della salute) [15].

A ciascun caso è stato assegnato un codice alfa-numeric.

Per le variabili discrete sono stati utilizzati numeri assoluti e percentuali, mentre per quelle continue sono state calcolate Media (con Deviazione Standard) e Mediana (con IQR³).

Per valutare le differenze sono stati utilizzati il test del Chi-quadro e il test di Wilcoxon.

Le curve di sopravvivenza sono state definite in relazione al riscontro di un tampone molecolare positivo, utilizzando lo stimatore di Kaplan-Meier.

Le differenze tra i vari gruppi sono state studiate tramite il Log-Rank test.

³ intervallo IQR tra Q1 e Q3 ad indicare i valori minimo e massimo contenenti il 50% delle informazioni

3. RISULTATI

L'analisi delle cause del decesso ha evidenziato una maggior frequenza di casi in cui non è stata riportata la presenza dell'infezione da SARS-CoV-2 (58,79%) (Tabella 1).

COVID	Freq.	Percent	Cum.
0	622	58.79	58.79
1	436	41.21	100.00
Total	1,058	100.00	

Tabella 1: nella tabella sulle ascisse è indicata la presenza (1) o assenza (0) di certificazione di morte attestante la malattia COVID-19 tra le cause del decesso

Considerando i 436 casi in cui è stata posta una diagnosi di infezione da SARS-CoV-2, si è registrata una prevalenza di soggetti di sesso maschile (61,01%) statisticamente significativa ($p=0.002$).

Sul totale del campione considerato (1058 pazienti deceduti), è emerso che 807 soggetti erano stati sottoposti ad almeno un tampone naso-faringeo dopo il ricovero in ospedale (794 con esito conclusivo riportato) e che in 51 casi era presente l'esito di almeno un test molecolare da tampone effettuato in epoca precedente al ricovero (in 11 casi erano stati effettuati due tamponi prima del ricovero e in 2 casi ne erano stati effettuati tre).

Considerando solo il gruppo di soggetti sottoposti a tampone naso-faringeo prima del ricovero, il 60,78% (31/51) è risultato positivo per SARS-CoV-2 almeno una volta. Il tempo medio è stato di 12 giorni (14), con una mediana pari a 6 giorni (2-20).

Per quanto riguarda i pazienti sottoposti a tampone durante il ricovero, i tempi medi di attesa sono stati maggiori per quelli ricoverati nel mese di marzo rispetto che per quelli ricoverati nel mese di aprile ($p<0.001$): nel caso di marzo

la media dei giorni è pari a 3.09 giorni (5.05), nel caso di aprile è pari a 1.39 giorni (3.01).

Durante il ricovero i pazienti sono stati sottoposti a un massimo di sette tamponi, con una distribuzione nel tempo riportata in Figura 1.

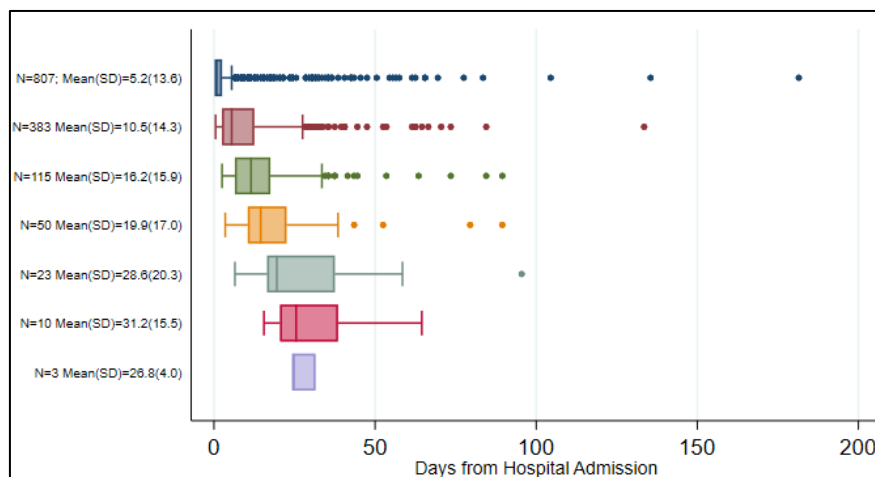


Figura 1: Distribuzione dei tamponi in base all'epoca di esecuzione calcolata rispetto all'ingresso in ospedale

In caso di ripetizione dell'esame sullo stesso paziente il tempo medio intercorso tra un prelievo e l'altro è di 5.64 giorni (5.59), con un valore medio simile nel caso di molteplici tamponi:

- tra il primo e il secondo tampone: media giorni 5.40 (5.88);
- tra il secondo e il terzo tampone: media giorni 6.23 (5.74);
- tra il terzo e il quarto tampone: media giorni 4.66 (3.09);
- tra il quarto e il quinto tampone: media giorni 4.74 (3.21);
- tra il quinto e il sesto tampone: media giorni 6.20 (3.71);
- tra il sesto e il settimo tampone: media giorni 6.67 (3.06).

I tempi medi tendono, tuttavia, a ridursi in caso di primo esito negativo, seppur senza differenze statisticamente significative; di seguito si riporta il confronto tra i tempi medi in caso di risultato precedente negativo o positivo:

- tra il primo e il secondo tampone: media giorni 5.08 in caso di precedente risultato negativo, media giorni 6.21 in caso di precedente risultato positivo;
- tra il secondo e il terzo tampone: media giorni 5.67 in caso di precedente risultato negativo, media giorni 7.17 in caso di precedente risultato positivo;
- tra il terzo e il quarto tampone: media giorni 4.46 in caso di precedente risultato negativo, media giorni 4.85 in caso di precedente risultato positivo;
- tra il quarto e il quinto tampone: media giorni 3.55 in caso di precedente risultato negativo, media giorni 5.83 in caso di precedente risultato positivo;
- tra il quinto e il sesto tampone: media giorni 4.0 in caso di precedente risultato negativo, media giorni 6.75 in caso di precedente risultato positivo.

Una differenza statisticamente significativa emerge, invece, se si analizzano i periodi medi tra i tamponi rispetto al periodo di degenza; di seguito si riporta il confronto tra i tempi medi intercorsi tra un prelievo e l'altro in caso di precedente risultato negativo o positivo nei mesi di marzo e aprile.

- Nel mese di marzo:
 - tra il primo e il secondo tampone: media giorni 6.21 (6.59 in caso di precedente risultato negativo, 5.93 in caso di precedente risultato positivo);

- tra il secondo e il terzo tampone: media giorni 6.77 (6.88 in caso di precedente risultato negativo, 6.68 in caso di precedente risultato positivo);
 - tra il terzo e il quarto tampone: media giorni 4.13 (4.22 in caso di precedente risultato negativo, 4.07 in caso di precedente risultato positivo);
 - tra il quarto e il quinto tampone: media giorni 3.8 (3.83 in caso di precedente risultato negativo, 3.75 in caso di precedente risultato positivo);
 - tra il quinto e il sesto tampone: media giorni 4.8 (4.0 in caso di precedente risultato negativo, 5.33 in caso di precedente risultato positivo).
- Nel mese di aprile:
 - tra il primo e il secondo tampone: media giorni 4.70 (4.13 in caso di precedente risultato negativo, 7.03 in caso di precedente risultato positivo, con $p=0.0015$);
 - tra il secondo e il terzo tampone: media giorni 5.5 (4.90 in caso di precedente risultato negativo, 8 in caso di precedente risultato positivo, con $p=0.0045$);
 - tra il terzo e il quarto tampone: media giorni 5.42 (4.77 in caso di precedente risultato negativo, 6.83 in caso di precedente risultato positivo, con $p=0.1452$);
 - tra il quarto e il quinto tampone: media giorni 5.14 (2.67 in caso di precedente risultato negativo, 7.0 in caso di precedente risultato positivo, con $p=0.1052$).

Considerando solo i soggetti il cui primo esito del tampone eseguito in ospedale è risultato negativo (N=435), in 99 casi (23%) è stata rilevata una successiva positività (62 al secondo tampone, 30 al terzo, 4 al quarto e 3 al quinto).

Il tempo medio tra l'ultimo risultato negativo e il primo risultato positivo è pari a 7.63 giorni (5.72) (Figura 2), mentre il tempo medio di degenza prima del riscontro di un risultato positivo è di 15.25 giorni (11.7) (Figura 3).

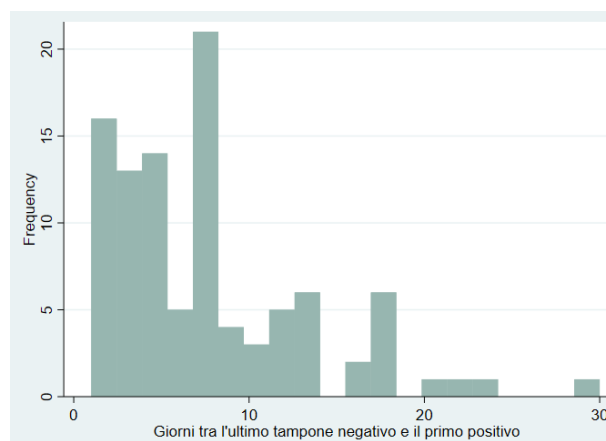


Figura 2: Periodo medio tra ultimo risultato negativo al test molecolare e primo risultato positivo di infezione da SARS-CoV-2

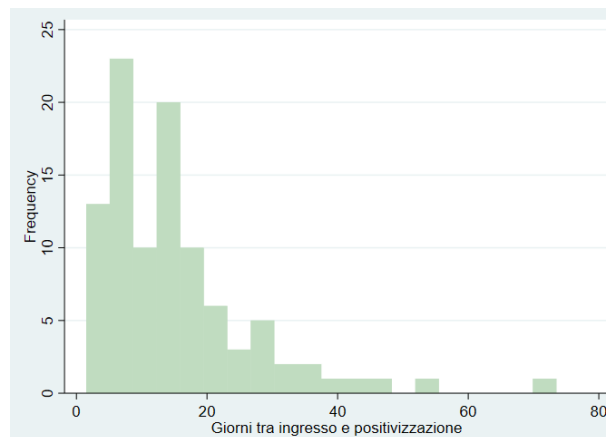


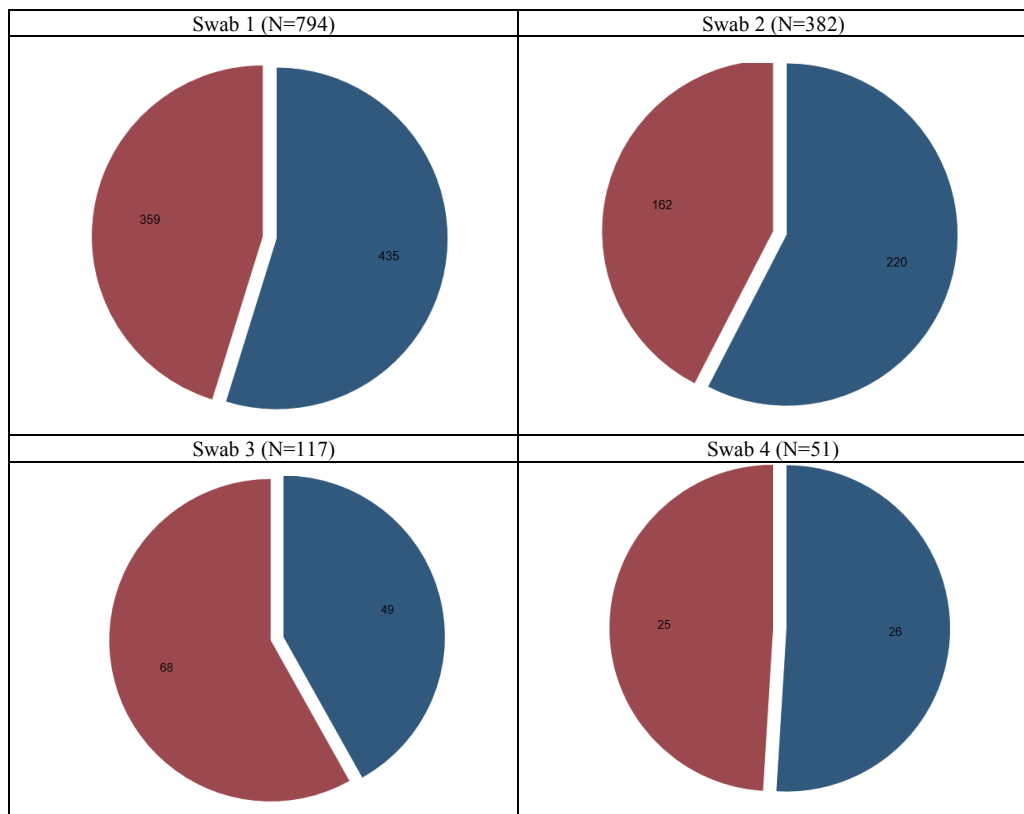
Figura 3: Tempo medio di degenza prima di avere un riscontro positivo per infezione da SARS-CoV-2

Dal momento che il periodo di incubazione dell'infezione è stato dimostrato possa estendersi fino a 14 giorni [16] e che per tutti i casi in cui una positività a un tampone eseguito entro i primi 14 giorni di ricovero non si può

escludere un contagio antecedente all'ingresso in struttura, si è proceduto a considerare i soli pazienti risultati positivi a un tampone eseguito oltre le due settimane dal ricovero, per i quali è stato possibile ipotizzare come altamente probabile un contagio "nosocomiale".

Sono stati isolati 19 pazienti, con un tempo medio di degenza prima del riscontro di una positività al tampone di 32.66 giorni (14.23) e con un tempo medio tra l'ultimo tampone negativo e il primo positivo è di 6.47 giorni (4.81).

L'analisi relativa all'esito dei tamponi viene riportata in Figura 4, con le frequenze di positività ai vari tamponi.



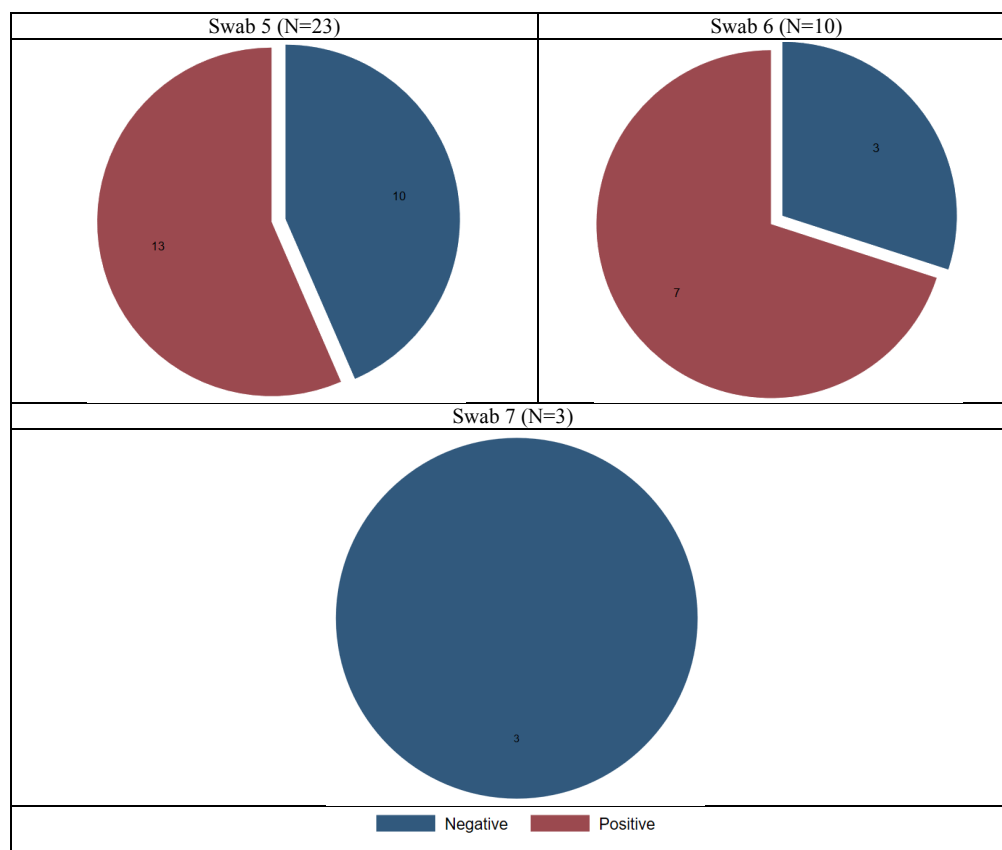


Figura 4: Analisi sull'esito dell'analisi molecolare

Si procede a questo punto a presentare i risultati del confronto tra i risultati dei tamponi e le cause del decesso.

Nei casi in cui è stata riconosciuta una causa di morte SARS-CoV-2 correlata, è stata valutata l'esecuzione di almeno un test molecolare (con tampone effettuato in occasione del ricovero o in epoca antecedente). L'analisi ha permesso di identificare 17 casi (3,90%) in cui, a fronte di una malattia COVID-19 inserita tra le cause del decesso, non si ha alcun riscontro dal punto di vista laboratoristico (Tabella 2).

COVID	AlmenoUnTampone_Gen		Total
	0	1	
0	208	414	622
	33.44	66.56	100.00
	92.44	49.70	58.79
1	17	419	436
	3.90	96.10	100.00
	7.56	50.30	41.21
Total	225	833	1,058
	21.27	78.73	100.00
	100.00	100.00	100.00

Pearson chi2(1) = 133.5974 Pr = 0.000

Tabella 2: viene presentata una comparazione tra le cause di morte in cui viene riportata una malattia COVID-19 (sulle ascisse è indicata con (1) la presenza e con (0) l'assenza) e l'esecuzione di almeno un test molecolare (sulle ordinate è indicata con (1) la presenza e con (0) l'assenza)

Si è quindi proceduto a considerare i soli casi in cui, a fronte di una causa di morte in cui viene riportata una malattia COVID-19, risultava essere presente almeno un risultato positivo per infezione da SARS-CoV-2. Ciò ha permesso di identificare una buona concordanza tra la diagnosi e il riscontro di infezione (89,68%), con 45 casi (10,32%) in cui la diagnosi clinica non è associata ad alcuna conferma su tampone (Tabella 3).

COVID	almenoUntamponepos		Total
	0	1	
0	532	90	622
	85.53	14.47	100.00
	92.20	18.71	58.79
1	45	391	436
	10.32	89.68	100.00
	7.80	81.29	41.21
Total	577	481	1,058
	54.54	45.46	100.00
	100.00	100.00	100.00

Pearson chi2(1) = 584.7718 Pr = 0.000

Tabella 3: viene presentata una comparazione tra le cause di morte in cui viene riportata una malattia COVID-19 (sulle ascisse è indicata con (1) la presenza e con (0) l'assenza) e il riscontro di almeno un risultato positivo al test molecolare (sulle ordinate è indicata con (1) la presenza e con (0) l'assenza)

In realtà, considerando i soli casi in cui, a fronte di almeno un risultato disponibile, non è mai emersa una positività al SARS-CoV-2, risulta che in 25

soggetti (5,73%) la diagnosi sia stata posta nonostante il risultato negativo del test molecolare (Tabella 4).

COVID	soloneg		Total
	0	1	
0	305	317	622
	49.04	50.96	100.00
	42.60	92.69	58.79
1	411	25	436
	94.27	5.73	100.00
	57.40	7.31	41.21
Total	716	342	1,058
	67.67	32.33	100.00
	100.00	100.00	100.00

Pearson chi2(1) = 239.7120 Pr = 0.000

Tabella 4: viene presentata una comparazione tra le cause di morte in cui viene riportata una malattia COVID-19 (sulle ascisse è indicata con (1) la presenza e con (0) l'assenza) e l'esito del test molecolare (sulle ordinate è indicata con (1) la positività e con (0) la negatività)

In ultimo si è proceduto ad analizzare in quanti casi la diagnosi di infezione è stata inserita tra le cause del decesso sulla base di un risultato positivo del tampone in un'epoca prossima al decesso.

Ciò ha permesso di identificare 50 soggetti (12,05%) per cui è stata inserita tra le cause del decesso una malattia COVID-19 correlata in assenza di un riscontro positivo al tampone (Tabella 5).

COVID	LastTam		Total
	0	1	
0	323	84	407
	79.36	20.64	100.00
	86.60	18.71	49.51
1	50	365	415
	12.05	87.95	100.00
	13.40	81.29	50.49
Total	373	449	822
	45.38	54.62	100.00
	100.00	100.00	100.00

Pearson chi2(1) = 375.6271 Pr = 0.000

Tabella 5: viene presentata una comparazione tra le cause di morte in cui viene riportata una malattia COVID-19 (sulle ascisse è indicata con (1) la presenza e con (0) l'assenza) e la presenza di una positività al test molecolare in un'epoca prossima al decesso (sulle ordinate è indicata con (1) la positività e con (0) la negatività)

Come ultima analisi si è proceduto a considerare l'aspetto legato alla sopravvivenza dei pazienti, confrontando il gruppo di pazienti deceduti con causa di morte in cui viene riportata una malattia COVID-19 con quello in cui non viene riportata alcuna diagnosi di infezione da SARS-CoV-2 (Figura 6).

L'analisi non ha evidenziato differenze statisticamente significative ($p=0.77$), con una mediana di sopravvivenza pari a 9.50 giorni (95%CI=8.50-10.50).

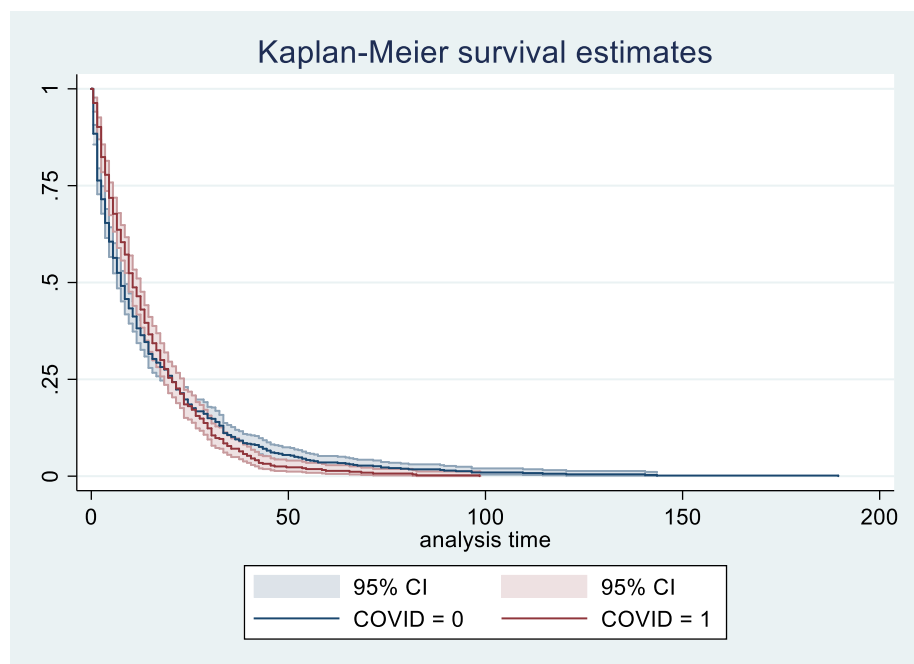


Figura 4: Sopravvivenza in caso di diagnosi di morte con o senza infezione da SARS-CoV-2

4. DISCUSSIONE

Lo studio ha evidenziato risultati, in termini di diffusione e di categorizzazione di pazienti, che sono in linea coi dati di Letteratura [17].

Come negli studi condotti su pazienti in vita, anche nel caso di pazienti deceduti è stata confermata una maggior diffusione del virus nei soggetti di sesso maschile (61,01%), con una differenza statisticamente significativa ($p=0.002$).

Considerando il periodo di riferimento dello studio, circoscritto ai primi mesi di diffusione del virus e coincidente con la prima ondata pandemica, è emerso che il tampone naso-faringeo è stato ampiamente utilizzato come strumento per porre diagnosi molecolare di infezione da SARS-CoV-2.

Nello specifico risulta che ad aprile i tamponi siano stati effettuati con tempistiche più rapide, in linea con una maggior disponibilità dei test.

Il dato che, tuttavia, merita di essere segnalato è che nei casi in cui il primo esito del tampone è risultato negativo si è osservata una maggior tendenza a ripetere l'esame, anche più volte, con tempistiche molto ristrette. Questo sembra riflettere una scarsa fiducia sull'affidabilità diagnostica del test, da parte degli operatori sanitari, in caso di risultato negativo.

Non si deve, in tal senso, dimenticare che la diagnosi molecolare effettuata su prelievo da tampone naso-faringeo è una tecnica dotata di elevata specificità (quindi ha un elevato potenziale diagnostico), ma si caratterizza anche per una scarsa sensibilità, che espone a un rischio moderato di avere un risultato falso negativo (*range* 2-29%).

Se da un lato il ricorso reiterato al tampone può essere giustificato dalla scarsa affidabilità diagnostica del test, dall'altro lato non si può tralasciare che in alcuni casi la diagnosi di infezione da SARS-CoV-2 è stata inserita tra le cause

del decesso senza avere una chiara concordanza dal punto di vista laboratoristico.

Come riportato nella Tabella n. 4, in cui sono analizzati i casi in cui tra le cause di morte viene riportata una malattia COVID-19 in relazione all'esito del test molecolare, in 25 pazienti è stata riconosciuta un'infezione da SARS-CoV-2 in assenza di un risultato positivo al test molecolare (con solo risultati negativi). Il dato è in linea con quanto detto in precedenza a proposito della ridotta sensibilità diagnostica del test, la cui negatività non può escludere a priori un sospetto fondato su parametri clinici, laboratoristici e diagnostici fortemente suggestivi.

Nella Tabella n. 2, tuttavia, vengono considerati i casi in cui tra le cause di morte viene riportata una malattia COVID-19, ma non viene eseguito alcun test diagnostico molecolare. Dall'analisi emerge che in 17 pazienti è stata posta diagnosi di infezione da SARS-CoV-2 senza avere alcuna conferma dal punto di vista laboratoristico. Il dato sembra riflettere una certa propensione a voler attribuire alla pandemia un rilievo assoluto in termini di mortalità, comportamento che può sicuramente essere giustificato dal particolare contesto emergenziale che ci si è trovati a dover affrontare, ma che necessita di una conferma sul piano diagnostico mediante una revisione critica dal punto di vista clinico.

Una revisione critica delle cause di morte si ritiene debba essere fatta anche in tutti quei casi in cui all'infezione è stato attribuito un rilievo causale sul decesso indipendentemente dalla presenza o meno di un'infezione in atto.

Nella Tabella n. 5 viene valutata una possibile concordanza cronologica tra una diagnosi di decesso SARS-CoV-2 correlata e l'effettivo riscontro di

malattia COVID-19 in atto. Vengono evidenziati 50 casi di soggetti in cui, nonostante un precedente reperto positivo per infezione da SARS-CoV-2, al momento del decesso non presentano alcuna positività.

In questi casi si ritiene possa essere opportuno analizzare a fondo l'epoca di insorgenza dell'infezione, ma soprattutto il lasso di tempo che intercorre tra la guarigione e il decesso, evidenziando eventuali concause patologiche che potrebbero aver concorso (o addirittura contribuito in modo esclusivo) a produrre l'*exitus*.

Considerando i risultati ottenuti è opportuno ribadire che la casistica si riferisce ad una popolazione particolare di soggetti che, essendo deceduti, non sono in grado di fornire stime attendibili in termini di sopravvivenza.

Il limite intrinseco della raccolta dei dati è che, dovendo considerare un periodo di tempo ben definito per circoscrivere il campione di pazienti, non è stato possibile concentrarsi sulla durata della loro degenza e sul decorso clinico a lungo termine.

Su tale aspetto si ritiene possano essere sicuramente più affidabili gli studi condotti su soggetti in vita ospedalizzati e assistiti dal punto di vista diagnostico-terapeutico [18].

Al contrario è possibile esprimersi in termini di mortalità, con alcune considerazioni preliminari sul possibile impatto della pandemia da SARS-CoV-2.

Dall'analisi è emerso un aumento effettivo del tasso di mortalità, al punto che, confrontando anche solo il numero assoluto di decessi con quello dell'anno precedente nello stesso periodo (1058 contro 660), risulta un aumento del 60,3%,

a fronte di un'infezione SARS-CoV-2 riconosciuta tra le cause del decesso solo nel 41,3% dei casi.

Tale aumento è leggermente al di sopra della media nazionale rilevata nello stesso periodo, ma tende a ridursi progressivamente nel corso del tempo.

I risultati meritano comunque di essere maggiormente approfonditi attraverso una revisione sistematica delle cause del decesso, che tenga conto di tutti gli elementi a disposizione (clinici, strumentali e laboratoristici) per risalire ad una diagnosi puntuale.

Un ultimo aspetto che merita di essere preso in considerazione a proposito dei risultati dei tamponi, se non altro per il riflesso indiretto che potrebbe avere in futuro sul piano medico-legale, è legato ai possibili contagi intraospedalieri.

Nei casi in cui l'infezione da SARS-CoV-2 risulta essere stata accertata a seguito di un primo esito negativo sul tampone (il 23%) non è possibile escludere a priori che la stessa sia stata acquisita in occasione del ricovero e che possa per questo essere classificata come infezione correlata all'assistenza (ICA).

In questo senso, però, è bene precisare che, essendo acclarato che l'infezione ha un'incubazione media di 5 giorni (nel 98% dei casi si sviluppa entro 5 giorni dal contagio) e che al massimo può raggiungere i 14 giorni di latenza, sono emersi pochi casi (il 4%) in cui è quasi certamente desumibile un contagio intraospedaliero, in quanto il risultato positivo è stato ottenuto da un tampone effettuato oltre i 14 giorni dall'ingresso.

In tutti gli altri casi, invece, pur restando valida l'ipotesi di un contagio intraospedaliero, non si può comunque escludere che lo stesso sia antecedente al ricovero.

Il dato rileva, sul piano medico-legale, in vista di un possibile incremento futuro delle richieste risarcitorie fondate sul presunto contagio intraospedaliero conseguente alla mancata adozione delle misure di prevenzione previste e al mancato rispetto dei percorsi puliti-sporchi all'interno del Pronto Soccorso, per le quali sarà possibile, nella maggior parte dei casi, elaborare una valida tesi difensiva, riducendo al minimo il rischio di soccombenza.

5. CONCLUSIONI

Lo studio ha confermato quanto già noto a livello internazionale in tema di infezione da SARS-CoV-2 sul piano epidemiologico.

L'analisi dei tamponi ha evidenziato i limiti intrinseci della procedura e i riflessi negativi sui metodi di calcolo del tasso di mortalità, aspetto che alimenta le incertezze sulla reale incidenza della pandemia.

Su questo aspetto preme osservare che finora non è stato possibile avvalersi, se non in rarissimi casi, dell'autopsia, indagine che sul piano medico-legale riveste un ruolo cruciale per definire una causa del decesso. Ciò a causa della necessità di rispettare le buone pratiche nazionali [19], che impongono l'esecuzione dell'accertamento autoptico solo in sale settorie certificate per Livello di BioSicurezza 3, allo stato attuale ancora non equamente distribuite sul territorio nazionale (la Regione Liguria, ad esempio, non è dotata di nessuna sala certificata).

In tale contesto pare ovvia la necessità di elaborare un metodo univoco per la classificazione delle cause del decesso e, a tal proposito, lo schema proposto nel presente lavoro sembra offrire numerosi spunti per una puntuale raccolta dei dati che potrebbe essere estesa anche ad altre realtà italiane.

Il principale obiettivo è quello di raccogliere più dati possibili che siano utili per definire tutti gli aspetti legati alla patologia Covid-19, primo fra tutti la diagnosi di infezione da SARS-CoV-2 (che viene qui analizzata mediante i tamponi e in un altro studio condotto in contemporanea attraverso l'analisi seriata dei test sierologici), ma anche la sua effettiva incidenza in termini di mortalità.

A tal proposito preme rilevare che in futuro è previsto che i dati raccolti nel presente studio e in quello relativo ai risultati dei test sierologici saranno utilizzati per effettuare una revisione sistematica delle cause del decesso, confrontando le risultanze di laboratorio con gli aspetti clinici (dati anamnestici e comorbidità, sintomatologia presentata), diagnostici (referti radiografici e tomografici) e biochimici (emocromo, proteina C reattiva, procalcitonina, D-dimero, fibrinogeno, etc.) desunti dalle cartelle cliniche informatizzate.

BIBLIOGRAFIA

1. Zhu N et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N. Engl. J. Med.* 382, 727–733
2. Zhou P et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature* 579, 270–273 (2020)
3. WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19. 11March2020
4. Zhou F et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult in patients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet* 395, 1054–1062
5. Verity R et al. Estimates of the severity of coronavirus disease 2019: a model-based analysis. *Lancet Infect Dis.* 20,669–677(2020)
6. CDC COVID19 Response Team Preliminary estimates of the prevalence of selected underlying health conditions among patients with coronavirus disease. United States, February 12–March 28, 2020. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 2020(69), 382–386.
7. Ji Y et al. Potential association between COVID-19 mortality and health-care resource availability. *Lancet Glob. Health* 8, E480
8. Corman VM et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Eur Surveill* 2020;25:2000045
9. Vogels CBF et al. Analytical sensitivity and efficiency comparisons of SARS-COV-2 qRT-PCR assays. *medRxiv* 20048108. 2020
10. SARS-CoV-2 in different types of clinical specimens. *JAMA* 2020

11. Arevalo-Rodriguez I et al. False-negative results of initial RT-PCR assays for covid-19: a systematic review. PLoS One. 2020 Dec 10;15(12):e0242958
12. Impatto Dell'epidemia Covid-19 Sulla Mortalità Totale Della Popolazione Residente Primo Trimestre 2020. Istituto Superiore di Sanità
13. Impatto Dell'epidemia Covid-19 Sulla Mortalità Totale Della Popolazione Residente Primo Quadrimestre 2020. Istituto Superiore di Sanità
14. Impatto Dell'epidemia Covid-19 Sulla Mortalità Totale Della Popolazione Residente Periodo Gennaio-Maggio 2020. Istituto Superiore di Sanità
15. GDPR - Regolamento generale sulla protezione dei dati (UE/2016/679) – Art. 6
16. Lauer SA et al. The Incubation Period of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) From Publicly Reported Confirmed Cases: Estimation and Application. Ann Intern Med. 2020 May 5;172(9):577-582
17. Nie X et al. Epidemiological Characteristics and Incubation Period of 7015 Confirmed Cases With Coronavirus Disease 2019 Outside Hubei Province in China. J Infect Disease. 2020 Jun 16;222(1):26-33
18. Salinas-Escudero G et al. A survival analysis of COVID-19 in the Mexican population. BMC Public Health. 2020 Oct 27;20(1):1616
19. Infezione respiratoria da COVID-19 - Documento su autopsia e riscontro diagnostico prodotto da COMLAS E SIAPEC-IAP. 22 marzo 2020