

**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI GENOVA**

**SCUOLA DI SCIENZE MEDICHE E FARMACEUTICHE**

**CORSO DI LAUREA IN MEDICINA E CHIRURGIA**



Prevalenza e significato clinico dello shedding virale  
persistente nei pazienti adulti ospedalizzati con infezione  
da SARS-CoV-2: uno studio prospettico osservazionale

**Relatore:**

*Chiar.mo Prof. Matteo Bassetti*

**Correlatore:**

Dott. Antonio Vena

**Candidato:**

*Martina Bavastro*

Anno accademico 2020-2021

## SOMMARIO

<b>Introduzione</b> .....	<b>3</b>
Struttura del virus .....	3
Clinica.....	4
Complicanze .....	5
Laboratorio .....	6
Imaging .....	6
Diagnosi.....	7
Test molecolare NAAT .....	7
Test antigenico.....	9
Test sierologico .....	10
<b>Obiettivo dello studio</b> .....	<b>12</b>
<b>Materiali e metodi</b> .....	<b>12</b>
Design dello studio .....	12
Test eseguiti.....	13
Criteri di esclusione.....	13
Cure Standard .....	14
Dati raccolti e definizioni .....	14
Obiettivi Principale.....	17
Analisi dei campioni e rilevazione di SARS-CoV-2 .....	18
Analisi statistiche.....	18
<b>Risultati</b> .....	<b>18</b>
Incidenza cumulativa e fattori associati al PSV .....	19
<b>Discussione</b> .....	<b>19</b>
<b>Conclusione</b> .....	<b>22</b>
<b>Bibliografia</b> .....	<b>33</b>
<b>Ringraziamenti</b> .....	<b>45</b>

## INTRODUZIONE

I Coronavirus sono virus a singolo filamento di RNA, di lunghezza compresa fra 26 e 32 kilobasi, il cui genoma presenta almeno sei cornici di lettura (ORF). La prima di queste (ORF1) comprende circa il 66% dell'intero genoma del virus e codifica per 16 proteine non strutturali, implicate nella replicazione virale. Le altre regioni ORF comprendono circa un terzo del genoma e codificano per le principali proteine strutturali:

- la proteina spike (S), che permette l'adesione dei recettori alla cellula ospite;
- la proteina di membrana (M), con tre domini transmembrana, promuove la curvatura di membrana e riveste il nucleo capsidico;
- l' envelope (E) partecipa all'assemblaggio del virus, al suo rilascio in circolo ed è implicata nella patogenesi virale;
- la proteina del nucleo capsidico (N) è una proteina non strutturale, che partecipa alla replicazione e trascrizione del genoma e all'assemblaggio del genoma nei virioni.

I coronavirus appartengono alla sottofamiglia dei Coronavirinae, della famiglia dei Coronaviridae, appartenente all'ordine dei Nidovirales.

Secondo il sierotipo e le caratteristiche genomiche, la sottofamiglia dei Coronavirinae può essere divisa in quattro generi principali: Alphacoronavirus, Betacoronavirus, Gammacoronavirus, and Deltacoronavirus. I primi due generi infettano primariamente i mammiferi, mentre gli altri due infettano soprattutto gli uccelli.

Ad oggi sono stati identificati sei tipi di Coronavirus umano, inclusi HCoV-NL63 e HCoV-229E, appartenenti al genere Alphacoronavirus; HCoV-OC43 e HCoVHKU1, SARS-CoV (the severe acute respiratory syndrome coronavirus) e MERS-CoV (the Middle East respiratory syndrome coronavirus), che appartengono al genere Betacoronavirus.

Nel Dicembre 2019 a Wuhan, in Cina, è emerso un nuovo Coronavirus, denominato SARS-CoV-2.

La trasmissione da persona a persona ha rapidamente permesso la diffusione del virus in molte province della Cina fino a un'epidemia vera e propria in tutto il paese, seguita da un aumento dei casi in altri paesi e continenti, fino a interessare tutto il mondo. [1]

Il 31 Gennaio 2020 WHO ha definito il nuovo Coronavirus come un'emergenza per la salute pubblica di interesse internazionale (PHEIC).

### Clinica

SARS-CoV-2 è comparso come una nuova causa di malattia respiratoria [2-4], con uno spettro clinico che comprende l'infezione asintomatica, la malattia lieve del tratto respiratorio superiore e la polmonite severa con insufficienza respiratoria, fino alla morte [5-8].

L'infezione asintomatica è stata ben documentata, ma la proporzione di pazienti asintomatici non è stata studiata in modo sistematico e prospettico.

Una revisione della letteratura ha stimato che la percentuale di asintomatici si attesti fra il 30 e il 40% dei casi, basandosi sui dati forniti da tre grandi coorti appartenenti alla popolazione testata [9-10].

Per quanto riguarda le infezioni sintomatiche, lo spettro di infezione varia dalla malattia lieve a quella severa.

La malattia severa può insorgere in qualsiasi individuo a prescindere da età e stato di salute, ma più frequentemente interessa soggetti adulti in età avanzata o con comorbidità già presenti, tra le quali le più frequenti sono ipertensione, diabete mellito e patologia cardiovascolare.

Il periodo di incubazione per COVID-19 generalmente fino a 14 giorni a seguito dell'esposizione, ma la maggior parte dei casi esordisce approssimativamente quattro o cinque giorni dopo l'esposizione [11-12] [15].

La più frequente e seria manifestazione dell'infezione da COVID-19 è la polmonite, che si manifesta con febbre, tosse secca e dispnea. Altre manifestazioni legate alla presenza dell'infezione virale sono astenia, mialgia, nausea, vomito e diarrea, disturbi di olfatto e gusto. Anosmia e ageusia possono essere l'unica manifestazione in circa il 3% dei pazienti. [13-17]. Sono stati descritti anche casi di congiuntivite [18].

Altri segni e sintomi aspecifici, come cadute, un generale scadimento delle condizioni di salute e delirium sono stati descritti in pazienti anziani, più frequentemente over 80.

In questi pazienti i sintomi emersi sottendono a un generale decadimento neuro cognitivo [19].

Infine nei pazienti con COVID-19 sono emersi reperti dermatologici non ben caratterizzati: sono stati riportati casi di eruzioni maculo papulari, vescicolari e orticaria, oltre a livedo reticularis transitoria [20].

Sono stati inoltre descritti nei bambini e nei giovani adulti noduli violacei alle estremità distali, simili in apparenza a eritema pernio, la cui associazione con COVID-19 non è stata del tutto chiarita. Alcuni autori definiscono questi reperti come “COVID toes” [21].

### Complicanze

Le complicanze descritte per COVID-19 sono:

- Insufficienza respiratoria: la maggior parte dei pazienti con malattia severa sviluppa ARDS (sindrome da distress respiratorio acuto), che può esordire poco dopo l'insorgenza della dispnea. La maggior parte di questi pazienti necessita di ventilazione meccanica durante il ricovero [22-23].
- Complicanze cardiache e cardiovascolari, incluse aritmie, infarto acuto del miocardio e shock cardiogeno [24-26].
- Complicanze tromboemboliche, quali embolia polmonare e ictus ischemico, anche in pazienti di età inferiore a 50 anni e senza fattori di rischio [27-29].

Alcuni pazienti hanno evidenze laboratoristiche di un'importante risposta infiammatoria, simile a una sindrome da rilascio di citochine, con febbre persistente, elevati livelli di markers infiammatori (come D-dimero e ferritina) e elevati livelli di citochine pro infiammatorie. Queste anomalie di laboratorio sono associate a decorso critico di malattia e prognosi infausta [30-32].

Sono stati inoltre descritti casi di sindrome di Guillam-Barrè, che può insorgere da 5 a 10 giorni dall'inizio dei sintomi, e altri di una sindrome infiammatoria multi sistemica, con caratteristiche cliniche simili al morbo di Kawasaki, nei bambini con COVID-19 [33].

Secondo WHO la storia naturale della malattia ha un decorso della durata di circa due settimane nei pazienti con infezione lieve e varia da tre a sei settimane per malattia severa, secondo quanto riportato dai primi dati cinesi.

In ogni caso il decorso clinico è variabile e dipende dall'età, dalle comorbidità preesistenti e dalla severità della malattia.

In uno studio condotto da A. Carfi et al. <sup>[34]</sup> con 143 pazienti, ricoverati per COVID-19 in Italia (dei quali sette sono stati sottoposti a ventilazione meccanica), solo il

13% dei pazienti era libero da sintomi dopo circa 60 giorni dall'esordio della malattia.

I sintomi che persistevano più di frequente erano astenia, dispnea, dolori articolari e dolore al petto; nessuno aveva febbre o altri sintomi di malattia acuta.

In un altro studio con 292 pazienti con COVID-19 condotto da M. W. Tenforde et al. [35], solo il 65% riferisce una completa restitutio ad integrum in 14-21 giorni dopo la diagnosi.

I sintomi che tendono a persistere oltre questo lasso di tempo includono tosse e astenia.

In generale un mancato ritorno allo stato di salute iniziale correla con età avanzata e un gran numero di comorbidità preesistenti, ma circa uno su cinque dei soggetti tra i 18 e i 34 anni, precedentemente sani, riferisce di non essere tornato allo stato di salute iniziale prima di due, tre settimane.

Non è presente una valutazione sistematica delle sequele a lungo termine di COVID-19, ma i dati emergenti e le evidenze scientifiche riferite ad altri coronavirus suggeriscono che possa persistere un'insufficienza respiratoria prolungata [36].

### Laboratorio

I reperti di laboratorio più comuni fra i pazienti ospedalizzati con COVID-19 includono linfopenia, elevati livelli di transaminasi, elevati livelli di LDH, markers infiammatori elevati (come ferritina, IL-6, PCR, PCT, VES, TNF $\alpha$ ), trombocitopenia, D-dimero elevato, PT prolungato e bassi livelli di fibrinogeno [37].

### Imaging

Le tecniche di imaging di prima scelta sono RX e TC del torace; la TC può essere più sensibile dell'RX e alcuni reperti rilevati alla TC del torace potrebbero essere caratteristici per COVID-19, ma nessun reperto può essere del tutto inclusivo o esclusivo di COVID-19 e quindi dirimente per la diagnosi.

- Radiografia del torace: le manifestazioni radiologiche rilevabili all'RX del torace sono aspecifiche. I più comuni reperti radiografici correlabili a COVID-19 sono consolidamenti e opacità a vetro smerigliato, a distribuzione bilaterale, periferica e a livello dei lobi polmonari inferiori. La radiografia può essere normale nelle fasi iniziali di malattia: in uno studio retrospettivo condotto da Ho Yuen Frank Wong et al. [38] su 64 pazienti con COVID-19 a Hong Kong, il 20% non mostrava alterazioni all'RX durante tutto il decorso della malattia.

- TC del torace: può mostrare nei pazienti con COVID-19 opacità a vetro smerigliato con o senza consolidamenti: quadro compatibile con polmonite virale [39-41]. Quadri meno frequenti sono il pattern a crazy-paving (opacità a vetro smerigliato con setti ispessiti sovrapposti), bronchiectasie, versamento pleurico, versamento pericardico e linfadenopatia [42-45].

Anche i reperti TC sono spesso bilaterali, con distribuzione periferica e interessano i lobi polmonari inferiori. Inoltre, come per la radiografia, anche la TC può essere normale, soprattutto nelle prime fasi di malattia [45].

In alcuni pazienti le anomalie alla TC sono state identificate prima dello sviluppo dei sintomi e anche prima della rilevazione dell'RNA virale, dal campione proveniente dal tratto respiratorio superiore [39] [46].

### Diagnosi

Il principale test diagnostico per COVID-19 è il test di amplificazione dell'acido nucleico (NAAT), nella maggior parte dei casi eseguito con reazione a catena polimerasica a trascrizione inversa (RT-PCR) [47].

I campioni del tratto respiratorio superiore sono di prima scelta per la ricerca di SARS-CoV-2. Nonostante questo, nei pazienti in cui sia evidenza del coinvolgimento del tratto respiratorio inferiore, si può prelevare un campione da questa sede per eseguire NAAT [48].

Negli Stati Uniti il CDC raccomanda la raccolta di uno dei seguenti campioni [49]:

- Tampone nasofaringeo, eseguito da operatore sanitario;
- Tampone nasale di entrambe le narici, raccolto da un operatore sanitario o dal paziente stesso in loco o al domicilio;
- Lavaggio o aspirato nasale o nasofaringeo raccolto da un operatore sanitario;
- Tampone orofaringeo, raccolto da un operatore sanitario.

La scelta del campione dipende dalla presentazione clinica e dal tempo di insorgenza dei sintomi. Comunque la società americana per le malattie infettive (IDSA) suggerisce la raccolta di un campione nasofaringeo, dal turbinato medio o nasale piuttosto che orofaringeo o salivare, poiché una serie seppur limitata di dati, suggerisce che i campioni orofaringei sono soggetti a minore sensibilità in sede di analisi [50].

Studi successivi suggeriscono che il campione salivare sia assimilabile a quello nasale e, negli Stati Uniti, diversi test basati sull'analisi della saliva hanno ricevuto un'autorizzazione di emergenza.

Inoltre ci sono casi specifici dove l'esecuzione di tamponi nasofaringei e orofaringei può essere problematico, come per gli screening di massa nelle scuole e nelle case di riposo, specialmente quando si tratta di anziani affetti da demenza o bambini piccoli. In questi casi, il campione salivare potrebbe essere una valida alternativa, poiché il prelievo è meno invasivo e ci sono minori rischi di esporre altri al contagio durante il prelievo.

### **Test NAAT**

Esistono diverse analisi RT-PCR che amplificano e individuano diverse regioni del genoma di SARS-CoV-2. I più comuni hanno come target due o più geni, come il gene per il nucleocapside (N), per l'envelope (E) e per lo spike (S) e regioni del primo ORF, incluso il gene per l'RNA polimerasi – RNA dipendente (RdRp) [51].

L'accuratezza e il valore predittivo di NAAT per SARS-CoV-2 non è stato ancora valutato in maniera sistematica.

Questi test hanno elevata specificità [52-53], mentre per quanto riguarda la sensibilità la performance è variabile e dipende, nella pratica clinica, dalla probabilità pre-test di malattia.

Inoltre la sensibilità del test dipende dal tipo e dalla qualità del campione raccolto, dalla fase della malattia al tempo dell'esecuzione del test e dall'analisi stessa.

### Interpretazione test:

*NAAT con risultato positivo:* un test di amplificazione dell'acido nucleico positivo per SARS-CoV-2 generalmente conferma la diagnosi di COVID-19. Non è necessario eseguire altri test. Test aggiuntivi possono essere eseguiti per la gestione dei pazienti ospedalizzati.

*NAAT con risultato negativo:* per molti soggetti un singolo risultato negativo a NAAT è sufficiente per escludere la diagnosi di COVID-19. Sono comunque noti risultati falsi negativi soprattutto nei casi in cui il campione testato sia stato prelevato dal tratto respiratorio superiore.

Se il primo test risulta negativo, ma resta il sospetto clinico per COVID-19 (per la presenza di sintomi suggestivi senza cause alternative) e la conferma della presenza dell'infezione è importante per la gestione e il controllo dell'infezione, si suggerisce di ripetere il test.

Il tempo ottimale di ripetizione del test non è noto, ma generalmente si esegue dopo 24-48 ore dal primo test. Ripetere il test entro le prime 24 ore non è raccomandato.



Inoltre è importante considerare altre potenziali cause che giustifichino i sintomi nei pazienti con test NAAT negativo per SARS-CoV-2.

Nei pazienti ricoverati con un primo test negativo, eseguito su campione proveniente dal tratto respiratorio superiore, ma per i quali permanga il sospetto di infezione da SARS-CoV-2 del tratto respiratorio inferiore, deve essere prelevato un campione sottoforma di espettorato (nei pazienti con tosse produttiva) , aspirato tracheale o bronco lavaggio.

In molti casi inoltre, per via della limitata affidabilità dei test e dei possibili risultati falsi negativi, la diagnosi di COVID-19 si deve basare in modo presuntivo su una presentazione clinica compatibile, in presenza di effettivo rischio di esposizione al virus e in assenza di altre cause identificabili che giustifichino la condizione clinica del paziente.

*NAAT con risultato indeterminato:* l'interpretazione di un risultato non conclusivo o indeterminato dipende da come il test di amplificazione dell'acido nucleico (NAAT) viene eseguito. In alcuni casi un risultato indeterminato indica che solo uno dei due o dei molti geni, che il test NAAT dovrebbe riconoscere (in quanto target), viene riconosciuto. Questi risultati possono essere considerati positivi in maniera presuntiva, vista l'elevata specificità dell'analisi NAAT. Se il paziente si trova in fase iniziale di malattia può comunque essere utile ripetere il test per conferma.

### **Test antigenico**

Il test antigenico ricerca l'antigene di SARS-CoV-2. Può essere eseguito più rapidamente e sul posto e quindi essere più accessibile e dare un risultato in tempi più rapidi rispetto a NAAT.

Il test antigenico potrebbe essere il test di primo livello ma i dati sull' accuratezza del test antigenico per SARS-CoV-2 sono limitati e inoltre un risultato negativo non potrebbe comunque escludere la presenza dell' infezione e dovrebbe essere confermato da un test NAAT, in caso di elevato sospetto clinico [54].

Il test antigenico potrebbe essere utile per individuare coloro che si trovano nei primi stadi di infezione, quando la replicazione virale è al suo apice.

WHO riferisce che, in realtà in cui NAAT non sia disponibile o dove i tempi di esecuzione di NAAT siano troppo lunghi per essere utili clinicamente, i test antigenici con una sensibilità e specificità rispettivamente  $\geq 80\%$  e  $\geq 97\%$ , possano essere utili per la diagnosi di SARS-CoV-2. In questi casi i test dovrebbero essere eseguiti entro cinque-sette giorni dall'inizio dei sintomi [55].

I test antigenici possono inoltre essere utili per la gestione dell'epidemia e per lo screening ripetuto degli individui che vivono in ambienti aggregati (come le RSA) o ad alta densità abitativa (come le prigioni e gli ospedali) e per identificare rapidamente gli individui con infezione da SARS-CoV-2 e isolarli. Modelling studies hanno dimostrato che se la frequenza con cui i test vengono eseguiti è abbastanza elevata, anche un test a minore sensibilità può essere utilizzato in modo soddisfacente per ridurre il tasso cumulativo di infezione [56].

### **Test sierologico**

Il test sierologico rileva gli anticorpi associati a SARS-Cov-2 presenti nel sangue e può essere utile nell'identificare pazienti che hanno avuto una precedente infezione da SARS-CoV-2 così come pazienti con l'infezione in corso, che mostrano sintomi da tre o quattro settimane. I test sierologici hanno un'utilità limitata per la diagnosi della malattia acuta, poiché questi test tendono a essere meno reattivi nei primi giorni e settimane di malattia [57-58].

Sono in uso vari test sierologici e la loro sensibilità varia in maniera sostanziale.

In particolare i test eseguiti con tecnica LFIA (lateral flow assays) sono meno sensibili di quelli eseguiti con ELISA (enzyme linked immunosorbent assays) e CLIA (chemiluminescent immunoassays) [61].

La specificità dipende anch'essa dal tipo di analisi sierologica. Al contrario di test a IgG o anticorpi totali, i test a IgM, IgA e i test di differenziazione IgM/IgG hanno una specificità inferiore al 99% [60].

IDSA raccomanda l'utilizzo di test con IgG o anticorpi totali, piuttosto che IgM o IgA o test di differenziazione IgM/IgG per via della loro maggiore accuratezza [60].

Per aumentare il valore predittivo di un test sierologico, un'analisi ad elevata specificità ( $\geq 99,5\%$ ) dovrebbe essere riservata a individui con elevata probabilità pre test di infezione primaria.

In regioni a bassa siero prevalenza o a bassa probabilità di infezione pre-test, i singoli risultati dovrebbero essere interpretati con cautela, poiché in queste circostanze anche test sierologici con elevata specificità potrebbero avere un basso valore predittivo positivo [59].

La durata degli anticorpi rilevabili è incerta. Alcuni studi, condotti da Quan-Xin Long et al. [63], F. J. Ibarondo et al. [64], J. Perreault et al. [65], suggeriscono che nella maggior parte dei pazienti gli anticorpi siano dosabili per non più di tre mesi dopo l'infezione.

Altri studi, condotti da D. F. Gudbjartsson et al. <sup>[66]</sup>, B. Isho et al. <sup>[67]</sup> e A. S. Iyer et al. <sup>[68]</sup>, riferiscono di casi in cui gli anticorpi IgG sono rilevati nella maggior parte dei pazienti fino a cinque mesi dopo l'infezione.

Ad esempio nello studio condotto da Quan-Xin Long et al. <sup>[63]</sup> si osserva che i livelli di IgG scendono, in media, del 75% dalla fase acuta all'inizio della convalescenza e dopo otto settimane dall'inizio dell'infezione, il 40% dei pazienti asintomatici e il 13% dei sintomatici non ha più IgG rilevabili [69].

Al contrario nello studio islandese condotto da D. F. Gudbjartsson et al. <sup>[66]</sup>, con 1107 pazienti positivi al test molecolare per SARS-CoV-2, le Ig totali restano reattive nel 90% dei pazienti, con un titolo in crescita nei primi due mesi dopo la diagnosi e restano stabili per altri due mesi.

Lo screening sierologico su larga scala con test adeguati può essere utile per un buon controllo dell'attività di malattia, anche se il CDC raccomanda di non utilizzare il test sierologico per decidere se autorizzare o meno il ritorno al lavoro o per un eventuale isolamento contumaciale [70].

## OBIETTIVI DELLO STUDIO

Come descritto in precedenza le informazioni relative alle manifestazioni cliniche e diagnostiche sono piuttosto esaustive. Tuttavia esistono aree di studio quali lo Shedding virale persistente che restano non del tutto chiarite.

Per Shedding virale si intende la continua eliminazione e rilascio di particelle virali durante il periodo dell'infezione.

La clearance virale del tratto respiratorio di solito si completa entro 21 giorni [71-72].

Nonostante ciò si è visto che una percentuale variabile di pazienti con infezione da SARS-CoV-2 potrebbe presentare uno shedding virale persistente (SPV) fino a 60-80 giorni dopo la diagnosi [73-75].

Sfortunatamente la nostra comprensione del perché alcuni pazienti con infezione da SARS-CoV-2 presentino uno shedding virale persistente e altri no non è stata approfondita a pieno e questo tema rimane un' entità di incerto significato clinico [76-82].

La letteratura a proposito di questo argomento è scarsa e di difficile interpretazione, a causa dell'eterogeneità delle definizioni proposte [78-82] e dei diversi campioni raccolti per la rilevazione dell'RNA (dal tratto respiratorio superiore o inferiore) [78].

In questo studio abbiamo quindi analizzato la presenza di shedding virale persistente nei pazienti adulti con infezione da SARS-CoV-2 ricoverati nel nostro ospedale, l'Ospedale Policlinico San Martino di Genova.

Gli obiettivi che lo studio si propone di investigare sono:

1. La prevalenza dello shedding virale persistente;
2. L'associazione tra shedding virale persistente e le condizioni di base del paziente, i livelli di IL-6 al momento della diagnosi e l' outcome clinico;

Nello studio abbiamo ipotizzato che i pazienti immunodepressi con attivazione di citochine marcate potrebbero presentare più facilmente shedding persistente dell'RNA di SARS-CoV-2.

## MATERIALI E METODI

### Pazienti e design dello studio

È stato condotto uno studio prospettico osservazionale su pazienti con infezione da SARS-CoV-2, confermata dal laboratorio. Questi pazienti sono stati ricoverati presso

l' Ospedale Policlinico San Martino (Genova, Italia) dal 25, Febbraio 2020 al 25, Marzo 2020.

La nostra istituzione è un ospedale universitario con 1,200 letti a disposizioni e offre un'ampia gamma di servizi clinici. L'ospedale serve una popolazione cittadina di circa 400,000 persone nell'area metropolitana di Genova.

Lo studio eseguito è stato portato avanti in accordo con i principi promulgati dalla Dichiarazione di Helsinki e approvato dal Comitato Etico della Regione Liguria (N. CER Liguria 87 114/2020 - ID 10420) .

Secondo il protocollo locale, approvato dalle autorità dell'ospedale, abbiamo ottenuto da tutti i pazienti consenso verbale informato per l'isolamento precauzionale previa esecuzione del tampone nasofaringeo, per la raccolta dei dati e per la partecipazione allo studio.

### Test eseguiti

Non appena il primo tampone nasofaringeo risultava positivo per la presenza di RNA di SARS-CoV-2 (giorno 0), i medici ricercatori designati ottenevano il consenso del paziente e gestivano il caso secondo il protocollo dell'ospedale, fino alla morte o alla dimissione del paziente. I tamponi nasofaringei successivi per SARS-CoV-2 con tecnica RT-PCR venivano ottenuti al giorno +3, +5 e +7 e poi uno ogni sette giorni fino all'azzeramento della carica virale e al risultato negativo del tampone. Se il primo tampone nasofaringeo era negativo, un secondo tampone veniva eseguito dopo 24 ore per confermare il risultato negativo e, potenzialmente, interrompere le precauzioni per contaminazione da droplets nei pazienti con risoluzione clinica dei sintomi. Inoltre i medici implicati nella ricerca, richiedevano di routine esami di coagulazione e analisi del sangue, al giorno 0 dello studio clinico e quando indicato dalle condizioni cliniche.

### Criteri di esclusione

I criteri di esclusione dallo studio sono stati:

- età dei pazienti inferiore a 18 anni
- Pazienti con tampone nasofaringeo positivo, ma dimessi troppo presto (prima di 21 giorno dalla diagnosi) a isolamento fiduciario

- Morte entro il 21° giorno dalla diagnosi senza evidenza di clearance dell'RNA virale di SARS-CoV-2
- Dati virologici persi in qualunque momento dello studio

### Cure standard e trattamenti

Durante il periodo dello studio i pazienti con sospetta infezione da SARS-CoV-2 sono stati gestiti e trattati secondo il protocollo locale. In breve, un tampone nasofaringeo veniva eseguito in tutti i pazienti sintomatici con sospetto di infezione da SARS-CoV-2. I pazienti venivano ricoverati in ospedale solo se presentavano insufficienza respiratoria acuta ( $\text{PaO}_2 < 60$  mmHg in aria ambiente) o se si verificava un peggioramento della loro condizione di base o se i sintomi gravi che presentavano erano ritenuti ingestibili a casa. In accordo con le linee guida locali, a tutti i pazienti era raccomandata una copertura antibiotica di breve durata e somministrazione di una dose di idrossiclorochina da 400mg per bocca.

La combinazione Darunavir/Ritonavir da 800 e 100 mg, una volta al giorno per dieci giorni consecutivi, veniva inoltre prescritta fino al 24 Marzo 2020. Dopo di che, la combinazione Darunavir/Ritonavir è stata ritirata e non più prescritta sulla base dei dati scientifici pubblicati, riguardo la possibile mancanza di efficacia da parte degli inibitori delle proteasi nel trattamento dell'infezione da SARS-CoV-2 [83]. Dall' 11 Marzo è stata considerata la possibilità di una singola infusione endovena di Tocilizumab (dosaggio di 8 mg/kg) nei casi di polmonite severa da COVID-19.

Inoltre, sulla base di una review interna su rischi e benefici del trattamento con steroidi nei pazienti con malattia severa da COVID-19, dal 19 marzo è stata inclusa nel protocollo di cura un'iniezione endovenosa di metilprednisolone (1mg/kg per 5 giorni, seguita da 0,5 mg/kg per altri 5 giorni).

Infine, secondo il protocollo dell'ospedale, Remdesivir è stato somministrato ad uso compassionevole in alcuni pazienti, Eparina è stata somministrata a tutti i pazienti a dose profilattica e è stata avviata terapia antibiotica in caso di sospetta sovra infezione batterica.

## Dati raccolti e definizioni

I dati presentati sono stati raccolti a partire dalle cartelle cliniche dei pazienti seguendo un protocollo prestabilito a partire dal giorno 0 di ricovero. Tale protocollo include quanto segue:

- ❖ età in anni;
- ❖ sesso;
- ❖ condizioni cliniche di base, incluse:
  - ipertensione,
  - patologie cardiovascolari,
  - immunodepressione,
  - diabete mellito,
  - insufficienza renale cronica,
  - malattia cerebrovascolare,
  - malattia polmonare ostruttiva cronica (BPCO);
- ❖ segni e sintomi:
  - febbre,
  - tosse secca,
  - dispnea,
  - astenia,
  - diarrea,
  - nausea e vomito,
  - confusione;
- ❖ risultati degli esami di laboratorio:
  - conta dei leucociti,
  - conta dei linfociti,
  - conta delle piastrine,
  - pressione parziale di ossigeno [PaO<sub>2</sub>],
  - alanina aminotransferasi [ALT] in U/L,
  - aspartato amino transferasi [AST] in U/L,
  - d-dimero in µg/mL,
  - interleuchina 6 [IL-6] in ng/mL,
  - proteina C reattiva [PCR] in mg/L;
- ❖ risultati dell’RX torace:

- pattern interstiziale,
  - consolidazioni monolaterali o bilaterali,
  - versamento pleurico,
  - assenza di lesioni;
- ❖ informazioni sul trattamento:
- darunavir-ritonavir,
  - oseltamivir,
  - hidroxychloroquine,
  - antibiotico,
  - corticosteroide,
  - tocilizumab;
- ❖ le complicanze:
- ventilazione non invasiva,
  - ricovero in terapia intensiva [ICU],
  - necessità di ventilazione meccanica,
  - sviluppo di shock settico,
  - insufficienza renale acuta che necessita di sostituzione renale continua con CRRT,
  - tutte le cause di mortalità intra-ospedaliera sono state raccolte durante il corso del ricovero.

Sono state anche registrate la durata del ricovero in ospedale e in terapia intensiva (ICU).

Un caso di COVID-19 veniva confermato dal risultato positivo dell'analisi RT-PCR su tampone nasofaringeo.

La durata dello shedding è stata calcolata sulla base del tempo trascorso tra il primo tampone nasofaringeo positivo e il primo dei due tamponi negativi consecutivi, eseguiti a distanza di 24 ore.

Lo shedding virale persistente è stato definito a priori come la durata dello shedding virale  $\geq 21$  giorni, che è stata recentemente descritta come la durata media dello shedding virale per infezione da SARS-CoV-2 in un gruppo di pazienti non selezionato [71-72-77].

Per quanto riguarda l'immunodepressione questa è stata definita come la presenza di qualunque di queste condizioni:



- infezione da HIV, considerata come un possibile fattore di rischio associato a SPV (shedding virale persistente), se un paziente aveva la conta dei CD4 inferiore a  $200 \text{ mm}^3$ ;
- neoplasia ematologica nei pazienti che hanno ricevuto un trattamento per la loro neoplasia nei 12 mesi precedenti;
- terapia cronica con farmaci immunosoppressori inclusi agenti alchilanti come la ciclofosfamide, farmaci citotossici analoghi delle purine come l'azatioprina e farmaci immunosoppressivi non citotossici (come il micofenolatomofetil) o anticorpi monoclonali, approvati per il trattamento delle malattie infiammatorie o autoimmuni.
- trapianto di organo solido.

La tachipnea è definita da una frequenza respiratoria (RR) maggiore di 20 respiri al minuto; per tachicardia si intende una frequenza cardiaca maggiore di 100 battiti al minuto;

la linfopenia è definita da una conta di linfociti nel sangue inferiore a  $1500/\text{mm}^3$ .

La trombocitopenia è definita come la conta delle piastrine inferiore a  $150,000/\text{mm}^3$ .

L'insufficienza respiratoria ipossiémica è definita da una pressione parziale di ossigeno nel sangue arterioso ( $\text{PaO}_2$ )  $<60 \text{ mmHg}$  nel paziente a riposo, che respira in aria ambiente.

Poiché non esiste un valore limite ufficiale per l' IL-6, la discesa e il rialzo di IL-6 erano considerati come valori più bassi del valore medio di IL-6 e come valori uguali o più alti della media dei valori di IL-6 osservata nella nostra popolazione (35 ng/ml).

ALT e AST aumentate sono definite come valori sierici di ALT e AST maggiori di 40 U/L.

Il livello di D-dimero aumentato è definito come un valore di D-dimero maggiore di  $500 \mu\text{g/L}$ .

Lo shock settico segue la definizione dal Terzo Consensus Internazionale riguardo alla Sepsis e allo Shock Settico [22] . L'insufficienza renale acuta (AKI) veniva diagnosticata secondo i criteri delle linee guida KDIGO [23].

### Obiettivi principali

L'endpoint primario dello studio è da considerarsi come la percentuale di pazienti con shedding virale persistente (PSV) nella nostra popolazione di studio, che include i pazienti adulti ricoverati con SARS-CoV-2.

Il secondo endpoint dello studio era investigare sull'associazione fra il SVP (shedding virale persistente) e le comorbidità di base dei pazienti (ipertensione, patologie cardio vascolari, immunodepressione, diabete mellito, insufficienza renale cronica, malattia cerebrovascolare, malattia ostruttiva cronica polmonare e tumore di organo solido), sull'associazione con i marcatori infiammatori al tempo della diagnosi (D-dimero, PCR e livelli di IL-6) e con il decorso clinico (necessità di supporto non invasivo per respirare o di ventilazione meccanica invasiva; ricovero in terapia intensiva; sviluppo di ARDS; shock settico; necessità di CRRT e tutte le cause di morte intra ospedaliera).

### Analisi dei campioni e rilevazione del virus SARS-CoV-2

La rilevazione del virus SARS-CoV-2 sul tampone nasofaringeo veniva effettuata tramite tecnica RT-PCR, che aveva come target la regione ORF-1ab e il gene per la proteina del nucleo capsida (N). L'RNA veniva estratto dai campioni e sottoposto a RT-PCR con primers e sonde specifici per SARS-CoV-2.

Un valore del cerchio soglia (Ct) <37 veniva considerato come un risultato positivo al test, mentre un valore di Ct di 40 o più veniva considerato come un risultato negativo. Un risultato equivoco, definito come un valore di Ct compreso fra 37 e 40, richiedeva un'ulteriore conferma, ripetendo il test. Se il valore di Ct era ancora <40 e si osservava un picco evidente o se il valore di Ct era ancora <37, il risultato veniva ritenuto positivo.

### Analisi statistiche

Non sono stati eseguiti calcoli statistici in merito al numero di pazienti da includere nello studio e la popolazione oggetto del nostro studio corrisponde ai pazienti ricoverati in ospedale con infezione da SARS-CoV-2, secondo i criteri di inclusione del nostro studio.

I dati descrittivi venivano riportati come mediana con rango interquartile (IQR) o numero assoluto e percentuale, in base a come era più appropriato.

L'analisi uni variata e multivariata con regressione logistica sono state eseguite per valutare l'associazione fra PSV, le caratteristiche dell'ospite e il suo decorso clinico. Le variabili con  $P < 0.10$  nell'analisi univariata sono state poi inserite anche nel modello bivariato.

Valori di P-values  $\leq 0.05$  in entrambe le analisi, uni e bivariata, sono state considerate statisticamente significative.

I dati sono stati estrapolati da un database online, utilizzato per la raccolta dati automatica e da anonimo [84]. Le analisi statistiche sono state eseguite utilizzando il programma SPSS, versione statistica 21.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA).

## RISULTATI

Durante il periodo in cui si è svolto lo studio, dal 25/02/2020 al 25/03/2020, sono stati ricoverati nel nostro ospedale 317 pazienti con infezione da SARS-CoV-2. Di questi:

- 106 (33.4%) sono morti nei primi 21 giorni dopo la diagnosi, senza evidenza di clearance dell'RNA di SARS-CoV-2,
- 82 (25.8%) sono stati dimessi prematuramente (<21 giorni dalla diagnosi) in isolamento fiduciario
- di 8 (2.5%) non erano disponibili i dati virologici.
- I restanti 121 pazienti soddisfavano i criteri di inclusione e rappresentano pertanto l'oggetto del presente studio (**Figura 1**).
- Le caratteristiche cliniche, i trattamenti e l'evoluzione clinica della nostra popolazione di studio sono mostrati nella **Tabella 1**.

### Incidenza cumulative e fattori associate al SPV

In generale, la definizione di shedding virale persistente (SPV  $\geq 21$  giorni) è stata soddisfatta da 46/121 pazienti (38.0%), dei quali 33 (27.3%), 15 (12.3%) e 5 (4.1%) continuavano a presentare shedding virale rispettivamente al giorno 28, 35 e 42. L'incidenza cumulativa dei pazienti con risultato positivo alla PCR per SARS-CoV-2 ai diversi timepoints è mostrato in **Figura 2**.

I pazienti con SPV e quelli senza SPV sono messi a confronto nella **Tabella 2**.

Nell'analisi uni variata, i fattori associati con il SPV erano:

- immunodepressione (6.7% vs 21.7%,  $p=0.02$ ),

- livelli aumentati di IL-6 al momento della diagnosi (43.4% vs 67.3%, p=0.02),
- tempo trascorso fra l'inizio dei sintomi e la diagnosi (7.0 vs 3.5, p= 0.001),
- ricovero in terapia intensiva (22.7% vs 43.5%, p=0.02)
- necessità di ventilazione meccanica (20.0% vs 41.3%, p=0.01).

La presenza di shedding virale persistente non risultava correlata con trattamento antivirale né con terapia anti infiammatoria (corticosteroidi o tocilizumab).

L'analisi multivariata ha confermato che l'immunodepressione, i livelli aumentati di IL-6 al momento della diagnosi, il tempo trascorso dall'inizio dei sintomi al momento della diagnosi e la necessità di ventilazione meccanica sono fattori indipendenti associati al SPV.

## DISCUSSIONE

Nella popolazione oggetto del nostro studio, comprendente pazienti ricoverati in ospedale con infezione da SARS-CoV-2, abbiamo trovato che lo shedding virale persistente è comune. Inoltre questo evento era associato alla presenza di immunodepressione, a livelli aumentati di IL-6 alla diagnosi, così come con tempo trascorso fra l'inizio dei sintomi e la diagnosi, con la necessità di ricovero in terapia intensiva (ICU) e con la necessità di ventilazione meccanica.

Il presente studio ha analizzato un vasto database comprendente dati raccolti in maniera prospettica inerenti a pazienti ricoverati con infezione da SARS-CoV-2 in un ospedale universitario di terzo livello italiano, il Policlinico San Martino di Genova.

Stando alle nostre conoscenze attuali, questo è anche il più vasto studio osservazionale condotto in Europa, che ha analizzato lo shedding dell' RNA di SARS-CoV-2, usando campioni omogenei (tamponi nasofaringei). Fornisce quindi un'opportunità unica per comprendere il significato clinico del fenomeno dello shedding virale in questi pazienti.

I dati sono stati raccolti in accordo con la pratica clinica quotidiana dell'ospedale, rendendo i nostri risultati rappresentativi della gestione corrente dei pazienti con infezioni da SARS-CoV-2.

La mancanza di una definizione comunemente accettata rende difficile confrontare i nostri risultati con quelli derivati da altri studi.

Alcuni autori consideravano il SPV come la rilevazione dell' RNA di SARS-CoV-2 per più di 15 giorni dopo l'insorgenza dei sintomi [78]. Altri richiedevano un lungo periodo di tempo (e.g. >24 giorni) [79].

La nostra definizione di shedding virale persistente (SPV) è maggiormente legata alla letteratura recente che riporta che, per SPV si intende la rilevazione dell'RNA di SARS-CoV-2 per una durata media di 21 giorni dopo l'esordio dei sintomi [71-72-77].

Usando questo specifico punto di riferimento temporale, noi abbiamo trovato che fino al 38% dei pazienti ricoverati in ospedale con l'infezione da SARS-CoV-2 aveva mostrato un SPV, che rientra nel range riportato in altre serie di studi (fra il 32.7% e il 48.2%) [78-79].

Comunque noi non siamo certi del fatto che mostrare un SPV significhi che il virus sia vitale e possa essere trasmesso.

In effetti, la capacità infettiva di SARS-CoV-2 potrebbe decrescere in modo significativo tra gli 8 e i 18 giorni dopo l'inizio dei sintomi, come suggerito da precedenti studi secondo i quali il virus vivo non potrebbe restare in coltura più a lungo nonostante i concomitanti risultati positivi alla PCR [75] [85].

Per il futuro sono richieste indagini per l'analisi della potenziale trasmissione virale nei pazienti con PSV.

Il significato clinico di PSV nei pazienti con SARS-CoV-2 resta non chiarito.

Studi precedenti a questo hanno messo in relazione il PSV con il sesso maschile [78], l'età avanzata [76,77,79] o con le comorbidità croniche [79].

Nella popolazione oggetto del nostro studio, non abbiamo trovato alcuna correlazione tra il PSV e l'età o il sesso. Nonostante ciò l'immunodepressione aumenta in modo significativo, di sette volte, il rischio di PSV ( $p=0.019$ ).

Questa osservazione potrebbe mettere in evidenza i soggetti che necessitano di essere strettamente monitorati o coloro sui quali dovrebbero essere focalizzati in futuro gli interventi terapeutici.

È interessante notare che abbiamo trovato un'elevata percentuale di shedding virale persistente tra i pazienti con livelli di IL-6 aumentati al momento della diagnosi. Questo risultato è coerente con il recente modello sperimentale che suggerisce che livelli aumentati di IL-6 durante la risposta immunitaria anti-virale, possono influenzare negativamente l'attività litica dei linfociti T citotossici [86] e così promuovere la persistenza virale.

Il nostro è il primo studio che ha mostrato questa associazione nell'ambito dell'infezione da SARS-CoV-2.

Questa scoperta potrebbe mettere in evidenza il complesso ruolo degli immunomodulatori nel trattamento dei pazienti con infezione da SARS-CoV-2 [87].

Abbiamo inoltre visto che il SPV veniva principalmente osservato nei pazienti con un decorso clinico più severo nell'ambito dell'infezione da SARS-CoV-2. Questo fatto veniva riscontrato anche in studi precedenti, con una richiesta di ventilazione meccanica fino a 9.8 volte più frequente nei pazienti con shedding virale prolungato quando messi a confronto con coloro che presentavano una più rapida conversione [78].

Crediamo che i nostri risultati rappresentino un significativo passo in avanti verso una migliore gestione dei pazienti con infezione da SARS-CoV-2. In primo luogo, potrebbe essere necessario un approccio più rigido nel controllo dell'infezione nei pazienti immunodepressi, incluse stringenti precauzioni per i droplets e isolamento per un periodo di tempo maggiore rispetto a quello attualmente raccomandato (14 giorni) [88].

In secondo luogo, poiché la durata dello shedding virale persistente viene spesso usato come endpoint nei trials clinici per valutare nuovi farmaci antivirali [89], suggeriamo una stratificazione basata sulle comorbidità preesistenti o sui livelli di IL-6 nell'ottica di evitare squilibri fra i bracci di trattamento.

Questo studio ha alcuni limiti che dovrebbero essere analizzati.

Per primo, abbiamo escluso dalla popolazione oggetto del nostro studio quei pazienti che sono morti precocemente o che sono stati prematuramente dimessi.

Di conseguenza, la percentuale di pazienti con PSV potrebbe essere stata diversa, se avessimo ottenuto informazioni su tutti i pazienti ricoverati in maniera consecutiva nel nostro ospedale per infezione da SARS-CoV-2.

Secondo, non abbiamo analizzato la carica virale; perciò il metodo quantitativo potrebbe influenzare le nostre conclusioni.

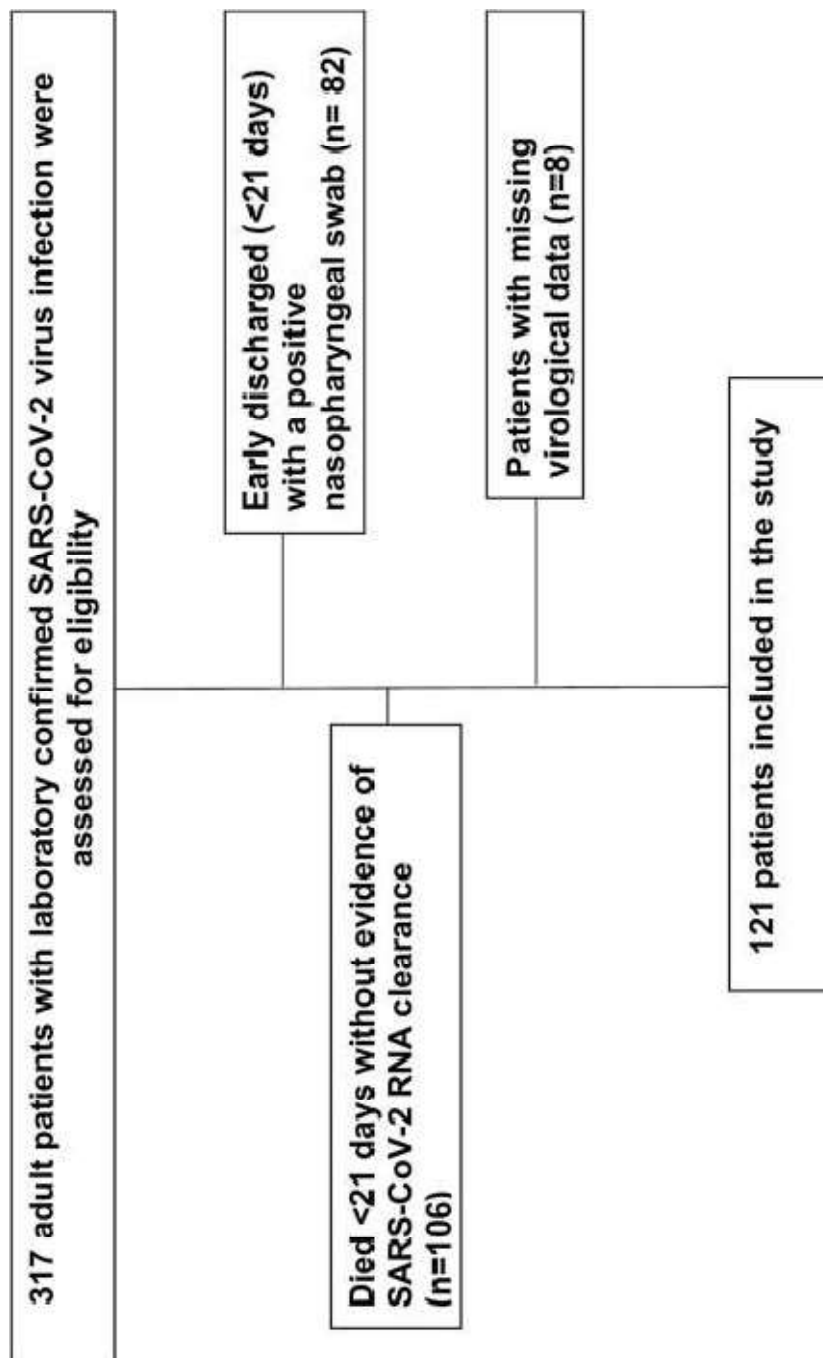
Terzo, poiché non abbiamo effettuato una raccolta giornaliera di tamponi nasofaringei, non siamo in grado di stimare la durata generale dello shedding virale persistente.

Quarto, abbiamo escluso i pazienti che sono morti prima di 21 giorni senza evidenza di clearance dell' RNA di SARS-CoV-2 e abbiamo incluso soltanto pazienti ricoverati in ospedale con un'infezione severa da SARS-CoV-2. Di conseguenza, i nostri risultati non possono essere estesi ai pazienti con malattia lieve o moderata, che non sono stati ricoverati in ospedale o che sono stati rapidamente dimessi.

## CONCLUSIONE

In conclusione, il SPV è un riscontro frequente nei pazienti ricoverati con infezione da SARS-CoV-2 ed è associato con immunosoppressione e con necessità di ventilazione meccanica.

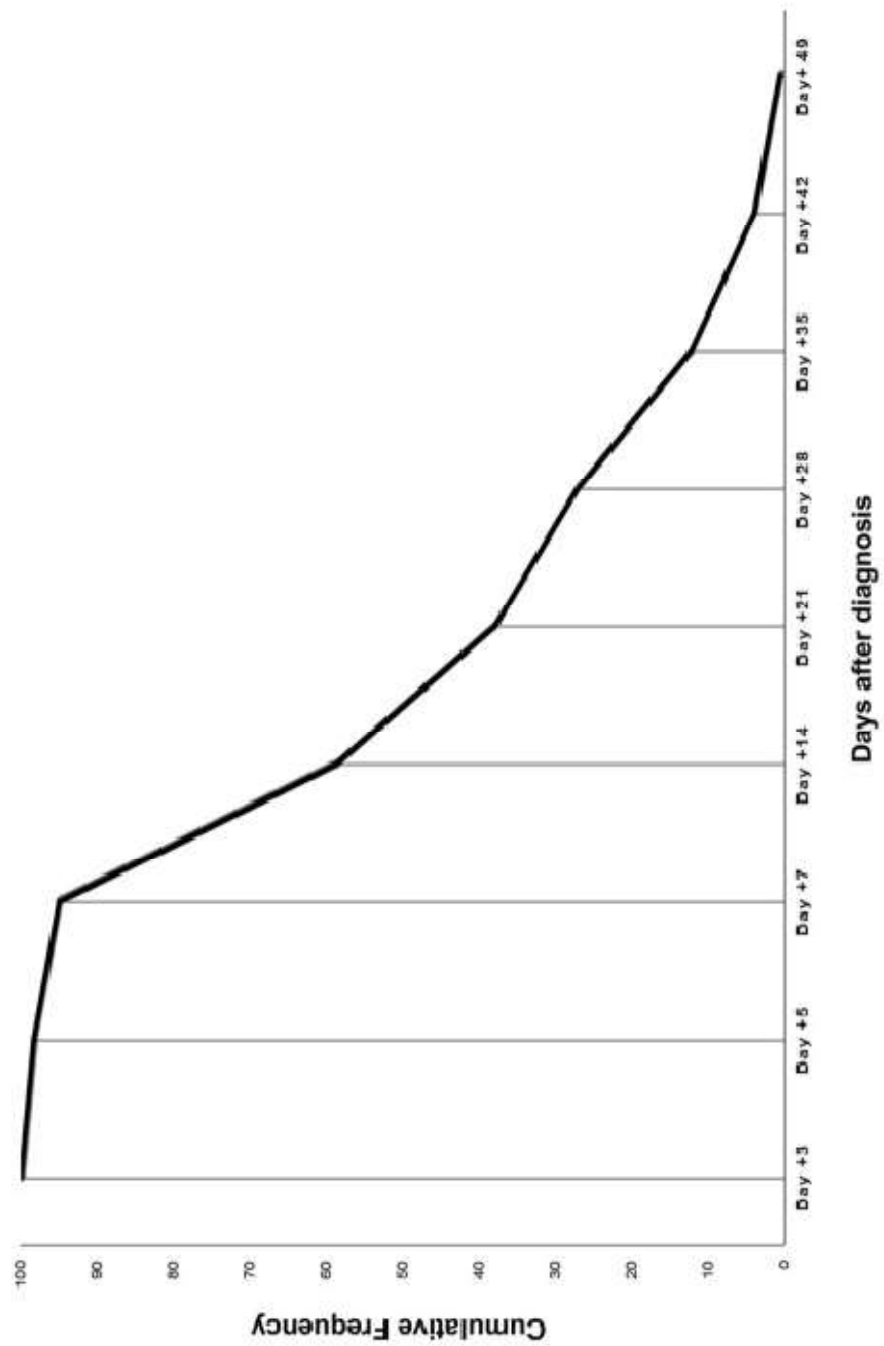
È nostra opinione che studi futuri dovrebbero concentrarsi sul significato ancora sconosciuto di questo fenomeno in termini di infettività e misure di controllo dell'infezione.



**FIGURA 1**

Diagramma di flusso dei pazienti ospedalizzati con infezione da SARS-CoV-2 confermata e inclusi nello studio





**FIGURA 2** Frequenza cumulative dei pazienti con RNA di SARS-CoV-2 positivo nei diversi time- points (in percentuale).

**Table 1.** Caratteristiche cliniche, trattamenti e outcomes di 121 pazienti con infezione da SARS-CoV-2 inclusi nello studio.

<b>CHARACTERISTICS*</b>	<b>Total</b>	
	<b>(N= 121)</b>	
<b>Age, years (median, IQR) #</b>	66	(55-76)
<b>Sex, male #</b>	79	(65.3)
<b>Underlying disease #</b>		
Hypertension	55	(45.5)
Cardiovascular disease	16	(19.6)
Immunodepression	15	(12.4)
Diabetes mellitus	15	(12.1)
Chronic kidney disease	8	(6.6)
Cerebrovascular disease	6	(5.0)
Chronic obstructive lung disease	5	(4.1)
Solid tumor	3	(2.5)
<b>Signs and symptoms #</b>		
Fever (Tc>37,3°C)	111	(91.7)
Shortness of breath	63	(52.1)
Dry Cough	61	(50.4)
Asthenia	27	(22.3)
Diarrhea	10	(8.3)
Nausea and vomiting	9	(7.4)
Mental confusion	7	(5.8)
<b>Laboratory findings #</b>		
Lymphopenia	107	(88.4)
Hypoxemic respiratory failure	77	(63.6)
AST> 40 UI/L	55	(45.4)

ALT>40 UI/L	44	(36.3)
Thrombocytopenia	35	(28.9)
Leukopenia	21	(17.3)
<b>Inflammatory markers<sup>#</sup></b>		
C-reactive protein > 5 mg/L	109	(90.0)
D-dimer >500 µg /L	102	(84.3)
IL-6 > 35 ng/L	64	(52.9)

### **Radiologic findings<sup>@, #</sup>**

Interstitial pattern	57/117	(48.7)
Bilateral consolidation	50/117	(42.7)
Monolateral consolidation	31/117	(26.5)
Absence of lesions	14/117	(12.0)
Pleural effusion	3/117	(2.5)

### **Treatments**

Hydroxychloroquine	109	(91.0)
Antibiotics	94	(77.7)
Darunavir/ritonavir	72	(59.5)
Corticosteroids	64	(52.9)
Tocilizumab	33	(27.3)
Oseltamivir	15	(12.4)

### **Complications during hospitalization**

Non-invasive respiratory support	66	(54.5)
ICU admission	37	(30.6)
Invasive mechanical ventilation	34	(28.1)
Septic shock	10	(8.3)
CRRT	7	(5.8)

<b>All-cause in hospital mortality</b>	12	(9.9)
--	----	-------

**Time from onset of symptoms to diagnosis  
(median, IQR)**

6.0 (3.0-8.0)

KI: Acute Kidney Injury;

ALT Alanine aminotransferase AST Aspartate  
aminotransferase;

ICU: intensive Care Unit;

IQR interquartile range;

\*Unless otherwise specified, data are presented a n  
(% of the total =121)

#Data were collected at the time of diagnosis of  
SARS-CoV-2 infection

@ Chest CT was performed in 117 out of 121 patients  
at the time of SARS-CoV-2 infection.



<b>Signs and symptoms #</b>							
Fever (Tc>37.3°C)	69	(92.0)	42	(91.3)	1		
Shortness of breath	41	(54.7)	22	(47.8)	0.57		
Dry cough	39	(52.0)	22	(47.8)	0.71		
Asthenia	20	(26.7)	7	(15.2)	0.17		
Diarrhea	4	(5.3)	6	(13.0)	0.17		
Nausea and vomiting	5	(6.7)	4	(8.7)	0.72		

Mental confusion	3	(4.0)	4	(8.7)	0.42		
<b>Time from onset of symptoms to diagnosis (median, IQR)</b>	7.0	(4.0-10.0)	3.5	(2.0-7.0)	<b>0.001</b>	<b>0.77 (0.66-0.90)</b>	<b>0.001</b>
<b>Laboratory findings #</b>							
Lymphopenia	66	(88.0)	41	(89.1)	0.88		
Hypoxemic respiratory failure	48	(63.1)	29	(63.0)	0.69		
AST> 40 UI/L	37	(48.6)	18	(39.1)	0.43		
ALT> 40 UI/L	29	(38.1)	15	(32.6)	0.56		
Thrombocytopenia	17	(22.3)	18	(39.1)	0.08		

Leukopenia	11	(14.4)	10	(21.7)	0.46		
<b>Inflammatory markers #</b>							
C-reactive protein > 5 mg/L	68	(89.4)	41	(89.1)	1		
D-dimer >500 µg /L	59	(78.6)	43	(93.4)	0.06		
IL-6 > 35 ng/L	33	(43.4)	31	(67.3)	<b>0.02</b>	<b>3.70 (1.21-11.35)</b>	<b>0.022</b>
<b>Radiologic findings @ #</b>							
Interstitial pattern	39/72	(54.2)	18/45	(40.0)	0.18		
Bilateral consolidation	31/72	(43.1)	19/45	(42.2)	1		
Monolateral consolidation	18/72	(25.0)	13/45	(28.9)	0.67		
Absence of lesions	7/72	(9.7)	7/45	(15.6)	0.38		
Pleural effusion	1/72	(1.4)	2/45	(4.4)	0.55		
<b>Treatments</b>							
Hydroxychloroquine	68	(90.7)	41	(89.7)	0.76		
Antibiotics	54	(72.0)	40	(87.0)	0.07		
Darunavir –ritonavir	47	(62.7)	25	(54.3)	0.44		

Corticosteroids	37	(49.3)	27	(58.7)	0.35		
Tocilizumab	21	(28.0)	12	(26.1)	1		

Oseltamivir	8	(10.7)	7 (15.2)	0.57		
<b>Complications</b>						
Non-invasive respiratory support	40	(53.3)	26 (56.6)	0.85		
ICU admission	17	(22.7)	20 (43.5)	<b>0.02</b>		
Invasive mechanical ventilation	15	(20.0)	19 (41.3)	<b>0.01</b>	<b>4.95 (1.57-15.59)</b>	<b>0.006</b>
Septic shock	4	(5.3)	6 (13.0)	0.17		
CRRT	2	(2.7)	5 (10.9)	0.10		
<b>All-cause in-hospital mortality</b>	6	(8.0)	6 (13.6)	0.36		

KI: Acute Kidney Injury;

ALT Alanine aminotransferase AST Aspartate aminotransferase;

ICU: intensive Care Unit;

IQR interquartile range;

Significant values are shown in bold

@Chest CT was performed in 117 out of 121 patients at the time of SARS-CoV-2 infection

# These data were collected at the time of diagnosis of SARS-CoV-2 infection



## BIBLIOGRAFIA

1. Huihui Wang , Xuemei Li, Tao Li, Shubing Zhang, Lianzi Wang, Xian Wu, Jiaqing Liu. The genetic sequence, origin, and diagnosis of SARS-CoV-2. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* . 2020 Sep;39(9)
2. Bassetti M, Vena A, Giacobbe DR. The novel Chinese coronavirus (2019-nCoV) infections: Challenges for fighting the storm. *Eur J Clin Invest*. 2020;50(3):e13209.
3. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*. 2020;382(8):727-33.
4. Vena A, Berruti M, Adessi A, Blumetti P, Brignole M, Colognato R, et al. Prevalence of Antibodies to SARS-CoV-2 in Italian Adults and Associated Risk Factors. *J Clin Med*. 2020;9(9).
5. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020;395(10223):497-506.
6. Wang D, Hu B, Hu C, Zhu F, Liu X, Zhang J, et al. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*. 2020.
7. Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet*. 2020;395(10223):507-13.
8. Antonio Vena, Daniele Roberto Giacobbe, Antonio Di Biagio, Malgorzata Mikulska, Lucia Taramasso, Andrea De Maria, Lorenzo Ball, Iole Brunetti, Maurizio Loconte, Nicolò A Patroniti, Chiara Robba , Emanuele Delfino, Chiara Dentone, Laura Magnasco, Laura Nicolini, Federica Toscanini, Martina Bavastro, Matteo Cerchiaro, Emanuela Barisione, Mauro Giacomini, Sara Mora, Federico Baldi, Elisa Balletto, Marco Berruti, Federica Briano, Chiara Sepulcri, Silvia Dettori, Laura Labate, Michele Mirabella, Federica Portunato, Rachele Pincino, Chiara Russo, Stefania Tutino, Paolo Pelosi, Matteo Bassetti, GECOVID study group. Clinical characteristics, management and in-hospital mortality of patients with coronavirus disease 2019 in Genoa, Italy. *Clin Microbiol Infect* 2020 Nov;26(11):1537-1544

9. Enrico Lavezzo, Elisa Franchin, Constanze Ciavarella, Gina Cuomo-Dannenburg, Luisa Barzon, Claudia Del Vecchio, Lucia Rossi, Riccardo Manganelli, Arianna Loregian, Nicolò Navarin, Davide Abate, Manuela Sciro, Stefano Merigliano, Ettore De Canale, Maria Cristina Vanuzzo, Valeria Besutti, Francesca Saluzzo, Francesco Onelia, Monia Pacenti, Saverio G Parisi, Giovanni Carretta, Daniele Donato, Luciano Flor, Silvia Cocchio, Giulia Masi, Alessandro Sperduti, Lorenzo Cattarino, Renato Salvador, Michele Nicoletti, Federico Caldart, Gioele Castelli, Eleonora Nieddu, Beatrice Labella, Ludovico Fava, Matteo Drigo, Katy A M Gaythorpe, Imperial College COVID-19 Response Team; Alessandra R Brazzale, Stefano Toppo, Marta Trevisan, Vincenzo Baldo, Christl A Donnelly, Neil M Ferguson, Ilaria Dorigatti, Andrea Crisanti, Imperial College COVID-19 Response Team Enrico Lavezzo, Elisa Franchin , Constanze Ciavarella, Gina Cuomo-Dannenburg, Luisa Barzon, Claudia Del Vecchio, Lucia Rossi, Riccardo Manganelli, Arianna Loregian, Nicolò Navarin, Davide Abate, Manuela Sciro, Stefano Merigliano, Ettore De Canale, Maria Cristina Vanuzzo, Valeria Besutti, Francesca Saluzzo, Francesco Onelia, Monia Pacenti, Saverio G Parisi, Giovanni Carretta, Daniele Donato, Luciano Flor, Silvia Cocchio, Giulia Masi, Alessandro Sperduti, Lorenzo Cattarino, Renato Salvador, Michele Nicoletti, Federico Caldart, Gioele Castelli, Eleonora Nieddu, Beatrice Labella, Ludovico Fava, Matteo Drigo, Katy A M Gaythorpe, Imperial College COVID-19 Response Team; Alessandra R Brazzale, Stefano Toppo, Marta Trevisan, Vincenzo Baldo, Christl A Donnelly, Neil M Ferguson, Ilaria Dorigatti, Andrea Crisanti, Imperial College COVID-19 Response Team. Suppression of a SARS-CoV-2 outbreak in the Italian municipality of Vo'. *Nature* 2020 Aug;584(7821) :425-429.
10. Daniel P Oran, Eric J Topol. Prevalence of Asymptomatic SARS-CoV-2 Infection : A Narrative Review. *Ann Intern Med.* 2020 Sep 1;173(5):362-367
11. Qun Li, Xuhua Guan, Peng Wu, Xiaoye Wang, Lei Zhou, Yeqing Tong, Ruiqi Ren, Kathy S M Leung, Eric H Y Lau, Jessica Y Wong, Xuesen Xing, Nijuan Xiang, Yang Wu, Chao Li, Qi Chen, Dan Li, Tian Liu, Jing Zhao, Man Liu, Wenxiao Tu, Chuding Chen, Lianmei Jin, Rui Yang, Qi Wang, Suhua Zhou, Rui Wang, Hui Liu, Yinbo Luo, Yuan Liu, Ge Sha, Huan Li, Zhongfa Tao, Yang Yang, Zhiqiang Deng, Boxi Liu, Zhitao Ma, Yanping

- Zhang, Guoqing Shi, Tommy T Y Lam, Joseph T Wu, George F Gao, Benjamin J Cowling, Bo Yang, Gabriel M Leung, Zijian Feng. Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus-Infected Pneumonia. *N Engl J Med* . 2020 Mar 26;382(13):1199-1207
12. Wei-Jie Guan, Zheng-Yi Ni, Yu Hu, Wen-Hua Liang, Chun-Quan Ou, Jian-Xing He, Lei Liu, Hong Shan, Chun-Liang Lei, David S C Hui, Bin Du, Lan-Juan Li, Guang Zeng, Kwok-Yung Yuen, Ru-Chong Chen, Chun-Li Tang, Tao Wang, Ping-Yan Chen, Jie Xiang, Shi-Yue Li, Jin-Lin Wang, Zi-Jing Liang, Yi-Xiang Peng, Li Wei, Yong Liu, Ya-Hua Hu, Peng Peng, Jian-Ming Wang, Ji-Yang Liu, Zhong Chen , Gang Li, Zhi-Jian Zheng, Shao-Qin Qiu, Jie Luo, Chang-Jiang Ye, Shao-Yong Zhu, Nan-Shan Zhong, China Medical Treatment Expert Group for Covid-19. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med* . 2020 Apr 30;382(18):1708-1720
  13. Chaolin Huang, Yeming Wang, Xingwang Li, Lili Ren, Jianping Zhao, Yi Hu, Li Zhang, Guohui Fan, Jiuyang Xu, Xiaoying Gu, Zhenshun Cheng, Ting Yu, Jiaan Xia, Yuan Wei, Wenjuan Wu, Xuelei Xie, Wen Yin, Hui Li, Min Liu, Yan Xiao, Hong Gao, Li Guo, Jungang Xie, Guangfa Wang, Rongmeng Jiang, Zhancheng Gao, Qi Jin, Jianwei Wang, Bin Cao. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 2020 Feb 15;395(10223):497-506
  14. Nanshan Chen, Min Zhou, Xuan Dong, Jieming Qu, Fengyun Gong, Yang Han, Yang Qiu, Jingli Wang, Ying Liu, Yuan Wei, Jia'an Xia, Ting Yu, Xinxin Zhang, Li Zhang. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet* 2020 Feb 15;395(10223):507-513
  15. Wei-Jie Guan, Zheng-Yi Ni, Yu Hu, Wen-Hua Liang, Chun-Quan Ou, Jian-Xing He, Lei Liu, Hong Shan, Chun-Liang Lei, David S C Hui, Bin Du, Lan-Juan Li, Guang Zeng, Kwok-Yung Yuen, Ru-Chong Chen, Chun-Li Tang, Tao Wang, Ping-Yan Chen, Jie Xiang, Shi-Yue Li, Jin-Lin Wang, Zi-Jing Liang, Yi-Xiang Peng, Li Wei, Yong Liu, Ya-Hua Hu, Peng Peng, Jian-Ming Wang, Ji-Yang Liu, Zhong Chen, Gang Li, Zhi-Jian Zheng, Shao-Qin Qiu, Jie Luo, Chang-Jiang Ye, Shao-Yong Zhu, Nan-Shan Zhong, China Medical Treatment Expert Group for Covid-19. Clinical Characteristics of

- Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med* 2020 Apr 30;382(18):1708-1720
16. Dawei Wang, Bo Hu, Chang Hu, Fangfang Zhu, Xing Liu, Jing Zhang, Binbin Wang, Hui Xiang, Zhenshun Cheng, Yong Xiong, Yan Zhao, Yirong Li, Xinghuan Wang, Zhiyong Peng. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA* 2020 Mar 17;323(11):1061-1069
  17. W Joost Wiersinga, Andrew Rhodes, Allen C Cheng, Sharon J Peacock, Hallie C Prescott. Pathophysiology, Transmission, Diagnosis, and Treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review. *JAMA* 2020 Aug 25;324(8):782-793
  18. Nan Ma, Ping Li, Xinghua Wang, Yueqi Yu, Xuan Tan, Peng Chen, Shilian Li, Fagang Jiang. Ocular Manifestations and Clinical Characteristics of Children With Laboratory-Confirmed COVID-19 in Wuhan, China. *JAMA Ophthalmol* 2020 Oct 1;138(10):1079-1086
  19. Cédric Annweiler, Guillaume Sacco, Nathalie Salles, Jean-Pierre Aquino, Jennifer Gautier, Gilles Berrut, Olivier Guérin, Gaetan Gavazzi. National French Survey of Coronavirus Disease (COVID-19) Symptoms in People Aged 70 and Over. *Clin Infect Dis* 2021 Feb 1;72(3):490-494
  20. C Galván Casas, A Català, G Carretero Hernández, P Rodríguez-Jiménez, D Fernández-Nieto, A Rodríguez-Villa Lario, I Navarro Fernández, R Ruiz-Villaverde, D Falkenhain-López, M Llamas Velasco, J García-Gavín, O Baniandrés, C González-Cruz, V Morillas-Lahuerta, X Cubiró, I Figueras Nart, G Selda-Enriquez, J Romani, X Fustà-Novell, A Melian-Olivera, M Roncero Riesco, P Burgos-Blasco, J Sola Ortigosa, M Feito Rodriguez, I García-Doval. Classification of the cutaneous manifestations of COVID-19: a rapid prospective nationwide consensus study in Spain with 375 cases. *Br J Dermatol* 2020 Jul;183(1):71-77
  21. Athanassios Kolivras, Florence Dehavay, Daphné Delplace, Francesco Feoli, Isabelle Meiers, Lorenzo Milone, Catherine Olemans, Ursula Sass, Anne Theunis, Curtis T Thompson, Laura Van De Borne, Bertrand Richert. Coronavirus (COVID-19) infection-induced chilblains: A case report with histopathologic findings. *JAAD Case Rep* 2020 Apr 18;6(6):489-492
  22. Safiya Richardson, Jamie S Hirsch, Mangala Narasimhan, James M Crawford, Thomas McGinn, Karina W Davidson, the Northwell COVID-19

- Research Consortium; Douglas P Barnaby, Lance B Becker, John D Chelico, Stuart L Cohen, Jennifer Cookingham, Kevin Coppa, Michael A Diefenbach, Andrew J Dominello, Joan Duer-Hefele, Louise Falzon, Jordan Gitlin, Negin Hajizadeh, Tiffany G Harvin, David A Hirschwerk, Eun Ji Kim, Zachary M Kozel, Lyndonna M Marrast, Jazmin N Mogavero, Gabrielle A Osorio, Michael Qiu, Theodoros P Zanos. Presenting Characteristics, Comorbidities, and Outcomes Among 5700 Patients Hospitalized With COVID-19 in the New York City Area. *JAMA* 2020 May 26;323(20):2052-2059
23. Christopher M Petrilli, Simon A Jones, Jie Yang, Harish Rajagopalan, Luke O'Donnell, Yelena Chernyak, Katie A Tobin, Robert J Cerfolio, Fritz Francois, Leora I Horwitz. Factors associated with hospital admission and critical illness among 5279 people with coronavirus disease 2019 in New York City: prospective cohort study. *BMJ* 2020 May 22;369:m1966
24. Dawei Wang, Bo Hu, Chang Hu, Fangfang Zhu, Xing Liu, Jing Zhang, Binbin Wang, Hui Xiang, Zhenshun Cheng, Yong Xiong, Yan Zhao, Yirong Li, Xinghuan Wang, Zhiyong Peng. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*. 2020 Mar 17;323(11):1061-1069
25. Tao Chen, Di Wu, Huilong Chen, Weiming Yan, Danlei Yang, Guang Chen, Ke Ma, Dong Xu, Haijing Yu, Hongwu Wang, Tao Wang, Wei Guo, Jia Chen, Chen Ding, Xiaoping Zhang, Jiaquan Huang, Meifang Han, Shusheng Li, Xiaoping Luo, Jianping Zhao, Qin Ning. Clinical characteristics of 113 deceased patients with coronavirus disease 2019: retrospective study. *BMJ* 2020 Mar 26;368:m1091
26. Jianlei Cao, Wen-Jun Tu, Wenlin Cheng, Lei Yu, Ya-Kun Liu, Xiaorong Hu, Qiang Liu. Clinical Features and Short-term Outcomes of 102 Patients with Coronavirus Disease 2019 in Wuhan, China. *Clin Infect Dis* 2020 Jul 28;71(15):748-755
27. Gian Battista Danzi, Marco Loffi, Gianluca Galeazzi, Elisa Gherbesi. Acute pulmonary embolism and COVID-19 pneumonia: a random association? *Eur Heart J* . 2020 May 14;41(19):1858
28. F A Klok, M J H A Kruip, N J M van der Meer, M S Arbous, D A M P J Gommers, K M Kant, F H J Kaptein, J van Paassen, M A M Stals, M V Huisman, H Endeman. Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19. *Thromb Res*. 2020 Jul;191:145-147

29. Alexander E Merkler, Neal S Parikh, Saad Mir, Ajay Gupta, Hooman Kamel, Eaton Lin, Joshua Lantos, Edward J Schenck, Parag Goyal, Samuel S Bruce, Joshua Kahan, Kelsey N Lansdale, Natalie M LeMoss, Santosh B Murthy, Philip E Stieg, Matthew E Fink, Costantino Iadecola, Alan Z Segal, Marika Cusick, Thomas R Campion Jr, Ivan Diaz, Cenai Zhang, Babak B Navi. Risk of Ischemic Stroke in Patients With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) vs Patients With Influenza. *JAMA Neurol* 2020 Jul 2;77(11):1-7
30. Chaolin Huang, Yeming Wang, Xingwang Li, Lili Ren, Jianping Zhao, Yi Hu, Li Zhang, Guohui Fan, Jiuyang Xu, Xiaoying Gu, Zhenshun Cheng, Ting Yu, Jiaan Xia, Yuan Wei, Wenjuan Wu, Xuelei Xie, Wen Yin, Hui Li, Min Liu, Yan Xiao, Hong Gao, Li Guo, Jungang Xie, Guangfa Wang, Rongmeng Jiang, Zhancheng Gao, Qi Jin, Jianwei Wang, Bin Cao. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020 Feb 15;395(10223):497-506
31. Puja Mehta, Daniel F McAuley, Michael Brown, Emilie Sanchez, Rachel S Tattersall, Jessica J Manson, HLH Across Speciality Collaboration, UK. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet* 2020 Mar 28;395(10229):1033-1034
32. Changsong Wang, Kai Kang, Yan Gao, Ming Ye, Xiuwen Lan, Xueting Li, Mingyan Zhao, Kaijiang Yu. Cytokine Levels in the Body Fluids of a Patient With COVID-19 and Acute Respiratory Distress Syndrome: A Case Report. *Ann Intern Med* 2020 Sep 15;173(6):499-501
33. Gianpaolo Toscano, Francesco Palmerini, Sabrina Ravaglia, Luigi Ruiz, Paolo Invernizzi, M Giovanna Cuzzon, Diego Franciotta, Fausto Baldanti, Rossana Daturi, Paolo Postorino, Anna Cavallini, Giuseppe Miceli. Guillain-Barré Syndrome Associated with SARS-CoV-2. *N Engl J Med*. 2020 Jun 25;382(26):2574-2576
34. Angelo Carfi, Roberto Bernabei, Francesco Landi, Gemelli Against COVID-19 Post-Acute Care Study Group. Persistent Symptoms in Patients After Acute COVID-19. *JAMA*. 2020 Aug 11;324(6):603-605
35. Mark W Tenforde, Sara S Kim, Christopher J Lindsell, Erica Billig Rose, Nathan I Shapiro, D Clark Files, Kevin W Gibbs, Heidi L Erickson, Jay S Steingrub, Howard A Smithline, Michelle N Gong, Michael S Aboodi, Matthew C Exline, Daniel J Henning, Jennifer G Wilson, Akram Khan, Nida Qadir, Samuel M Brown, Ithan D Peltan, Todd W Rice, David N Hager, Adit

- A Ginde, William B Stubblefield, Manish M Patel, Wesley H Self, Leora R Feldstein, IVY Network Investigators; CDC COVID-19 Response Team; IVY Network Investigators. Symptom Duration and Risk Factors for Delayed Return to Usual Health Among Outpatients with COVID-19 in a Multistate Health Care Systems Network - United States, March-June 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2020 Jul 31;69(30):993-998
36. Yiyang Huang, Cuiyan Tan, Jian Wu, Meizhu Chen, Zhenguo Wang, Liyun Luo, Xiaorong Zhou, Xinran Liu, Xiaoling Huang, Shican Yuan, Chaolin Chen, Fen Gao, Jin Huang, Hong Shan, Jing Liu. Impact of coronavirus disease 2019 on pulmonary function in early convalescence phase. *Respir Res* 2020 Jun 29;21(1):163
  37. Dawei Wang, Bo Hu, Chang Hu, Fangfang Zhu, Xing Liu, Jing Zhang, Binbin Wang, Hui Xiang, Zhenshun Cheng, Yong Xiong, Yan Zhao, Yirong Li, Xinghuan Wang, Zhiyong Peng. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA.* 2020 Mar 17;323(11):1061-1069
  38. Ho Yuen Frank Wong, Hiu Yin Sonia Lam, Ambrose Ho-Tung Fong, Siu Ting Leung, Thomas Wing-Yan Chin, Christine Shing Yen Lo, Macy Mei-Sze Lui, Jonan Chun Yin Lee, Keith Wan-Hang Chiu, Tom Wai-Hin Chung, Elaine Yuen Phin Lee, Eric Yuk Fai Wan, Ivan Fan Ngai Hung, Tina Poy Wing Lam, Michael D Kuo, Ming-Yen Ng. Frequency and Distribution of Chest Radiographic Findings in Patients Positive for COVID-19. *Radiology* 2020 Aug;296(2):E72-E78.
  39. Heshui Shi, Xiaoyu Han, Nanchuan Jiang, Yukun Cao, Osamah Alwalid, Jin Gu, Yanqing Fan, Chuansheng Zheng. Radiological findings from 81 patients with COVID-19 pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet Infect Dis* 2020 Apr;20(4):425-434.
  40. Wei Zhao, Zheng Zhong, Xingzhi Xie, Qizhi Yu, Jun Liu. Relation Between Chest CT Findings and Clinical Conditions of Coronavirus Disease (COVID-19) Pneumonia: A Multicenter Study. *AJR Am J Roentgenol* 2020 May;214(5):1072-1077.
  41. Vineeta Ojha, Avinash Mani, Niraj Nirmal Pandey, Sanjiv Sharma, Sanjeev Kumar. CT in coronavirus disease 2019 (COVID-19): a systematic review of chest CT findings in 4410 adult patients. *Eur Radiol* 2020 Nov;30(11):6129-6138.

42. Heshui Shi, Xiaoyu Han, Nanchuan Jiang, Yukun Cao, Osamah Alwalid, Jin Gu, Yanqing Fan, Chuansheng Zheng. Radiological findings from 81 patients with COVID-19 pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet Infect Dis* 2020 Apr;20(4):425-434
43. Wei Zhao, Zheng Zhong, Xingzhi Xie, Qizhi Yu, Jun Liu. Relation Between Chest CT Findings and Clinical Conditions of Coronavirus Disease (COVID-19) Pneumonia: A Multicenter Study. *AJR Am J Roentgenol*. 2020 May;214(5):1072-1077
44. Vineeta Ojha, Avinash Mani, Niraj Nirmal Pandey, Sanjiv Sharma, Sanjeev Kumar. CT in coronavirus disease 2019 (COVID-19): a systematic review of chest CT findings in 4410 adult patients. *Eur Radiol* 2020 Nov;30(11):6129-6138
45. Adam Bernheim, Xueyan Mei, Mingqian Huang, Yang Yang, Zahi A Fayad, Ning Zhang, Kaiyue Diao, Bin Lin, Xiqi Zhu, Kunwei Li, Shaolin Li, Hong Shan, Adam Jacobi, Michael Chung. Chest CT Findings in Coronavirus Disease-19 (COVID-19): Relationship to Duration of Infection. *Radiology*. 2020 Jun;295(3):200463
46. Xingzhi Xie, Zheng Zhong, Wei Zhao, Chao Zheng, Fei Wang, Jun Liu. Chest CT for Typical Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Pneumonia: Relationship to Negative RT-PCR Testing. *Radiology* 2020 Aug;296(2):E41-E45
47. Anita Patel, Daniel B Jernigan, 2019-nCoV CDC Response Team. Initial Public Health Response and Interim Clinical Guidance for the 2019 Novel Coronavirus Outbreak - United States, December 31, 2019-February 4, 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2020 Feb 7;69(5):140-146
48. World Health Organization. Coronavirus disease (COVID-19) technical guidance: Surveillance and case definitions. <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/surveillance-and-case-definitions> (Accessed on February 28, 2020).
49. Centers for Disease Control and Prevention. Interim Guidelines for Collecting, Handling, and Testing Clinical Specimens from Persons Under Investigation (PUIs) for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/lab/guidelines-clinical-specimens.html> (Accessed on October 15, 2020).



50. Infectious Diseases Society of America Guidelines on the Diagnosis of COVID-19, updated December 23, 2020. <https://www.idsociety.org/practice-guideline/covid-19-guideline-diagnostics/> (Accessed on January 14, 2021).
51. World Health Organization. Laboratory testing for 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in suspected human cases. <https://www.who.int/publications-detail/laboratory-testing-for-2019-novel-coronavirus-in-suspected-human-cases-20200117> (Accessed on April 22, 2020).
52. Arun K Nalla, Amanda M Casto, Meei-Li W Huang, Garrett A Perchetti, Reigran Sampoleo, Lasata Shrestha, Yulun Wei, Haiying Zhu, Keith R Jerome, Alexander L Greninger. Comparative Performance of SARS-CoV-2 Detection Assays Using Seven Different Primer-Probe Sets and One Assay Kit. *J Clin Microbiol* 2020 May 26;58(6):e00557-20
53. Joshua A Lieberman, Gregory Pepper, Samia N Naccache, Meei-Li Huang, Keith R Jerome, Alexander L Greninger. Comparison of Commercially Available and Laboratory-Developed Assays for *In Vitro* Detection of SARS-CoV-2 in Clinical Laboratories. *J Clin Microbiol*. 2020 Jul 23;58(8):e00821-20
54. Centers for Disease Control and Prevention. Interim guidance for antigen testing for SARS-CoV-2. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/resources/antigen-tests-guidelines.html> (Accessed on December 11, 2020).
55. World Health Organization. Antigen-detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection using rapid immunoassays. Interim guidance.
56. <https://www.who.int/publications/i/item/antigen-detection-in-the-diagnosis-of-sars-cov-2infection-using-rapid-immunoassays> (Accessed on September 21, 2020).
57. A David Paltiel, Amy Zheng, Rochelle P Walensky. Assessment of SARS-CoV-2 Screening Strategies to Permit the Safe Reopening of College Campuses in the United States. *JAMA Netw Open* 2020 Jul 1;3(7):e2016818
58. Matthew P Cheng, Cedric P Yansouni, Nicole E Basta, Michaël Desjardins, Sanjat Kanjilal, Katryn Paquette, Chelsea Caya, Makeda Semret, Caroline Quach, Michael Libman, Laura Mazzola, Jilian A Sacks, Sabine Dittrich, Jesse Papenburg. Serodiagnostics for Severe Acute Respiratory Syndrome-Related Coronavirus 2 : A Narrative Review. *Ann Intern Med* 2020 Sep 15;173(6):450-460

59. Kimberly E Hanson, Angela M Caliendo, Cesar A Arias, Janet A Englund, Mary K Hayden, Mark J Lee, Mark Loeb, Robin Patel, Osama Altayar, Abdallah El Alayli, Shahnaz Sultan, Yngve Falck-Ytter, Valéry Lavergne, Rebecca L Morgan, M Hassan Murad, Adarsh Bhimraj, Reem A Mustafa. Infectious Diseases Society of America Guidelines on the Diagnosis of COVID-19: Serologic Testing. *Clin Infect Dis*. 2020 Sep 12;ciaa1343
60. Centers for Disease Control and Prevention. Interim Guidelines for COVID-19 Antibody Testing in Clinical and Public Health Settings <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/resources/antibody-tests-guidelines.html> (Accessed on May 26, 2020).
61. Juliet E Bryant, Andrew S Azman, Matthew J Ferrari, Benjamin F Arnold, Maciej F Boni, Yap Boum, Kyla Hayford, Francisco J Luquero, Michael J Mina, Isabel Rodriguez-Barraquer, Joseph T Wu, Djibril Wade, Guy Vernet, Daniel T Leung. Serology for SARS-CoV-2: Apprehensions, opportunities, and the path forward. *Sci Immunol* 2020 May 19;5(47):eabc6347
62. Mayara Lisboa Bastos, Gamuchirai Tavaziva, Syed Kunal Abidi, Jonathon R Campbell, Louis-Patrick Haraoui, James C Johnston, Zhiyi Lan, Stephanie Law, Emily MacLean, Anete Trajman, Dick Menzies, Andrea Benedetti, Faiz Ahmad Khan. Diagnostic accuracy of serological tests for covid-19: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2020 Jul 1;370:m2516
63. Yaniv Lustig, Shlomit Keler, Rachel Kolodny, Nir Ben-Tal, Danit Atias-Varon, Ekaterina Shlush, Motti Gerlic, Ariel Munitz, Ram Doolman, Keren Asraf, Liran I Shlush, Asaf Vivante. Potential antigenic cross-reactivity between SARS-CoV-2 and Dengue viruses. *Clin Infect Dis* 2020 Aug 14;ciaa1207
64. Quan-Xin Long, Xiao-Jun Tang, Qiu-Lin Shi, Qin Li, Hai-Jun Deng, Jun Yuan, Jie-Li Hu, Wei Xu, Yong Zhang, Fa-Jin Lv, Kun Su, Fan Zhang, Jiang Gong, Bo Wu, Xia-Mao Liu, Jin-Jing Li, Jing-Fu Qiu, Juan Chen, Ai-Long Huang. Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. *Nat Med*. 2020 Aug;26(8):1200-1204
65. F Javier Ibarrodo, Jennifer A Fulcher, David Goodman-Meza, Julie Elliott, Christian Hofmann, Mary A Hausner, Kathie G Ferbas, Nicole H Tobin, Grace M Aldrovandi, Otto O Yang. Rapid Decay of Anti-SARS-CoV-2 Antibodies in Persons with Mild Covid-19. *N Engl J Med* 2020 Sep 10;383(11):1085-1087

66. Josée Perreault, Tony Tremblay, Marie-Josée Fournier, Mathieu Drouin, Guillaume Beaudoin-Bussi eres, J eremie Pr evost, Antoine Lewin, Philippe B egin, Andr es Finzi, Ren ee Bazin. Waning of SARS-CoV-2 RBD antibodies in longitudinal convalescent plasma samples within 4 months after symptom onset. *Blood*. 2020 Nov 26;136(22):2588-2591
67. Daniel F Gudbjartsson, Gudmundur L Norddahl, Pall Melsted, Kristbjorg Gunnarsdottir, Hilma Holm, Elias Eythorsson, Asgeir O Arnthorsson, Dadi Helgason, Kristbjorg Bjarnadottir, Ragnar F Ingvarsson, Brynja Thorsteinsdottir, Steinunn Kristjansdottir, Kolbrun Birgisdottir, Anna M Kristinsdottir, Martin I Sigurdsson, Gudny A Arnadottir, Erna V Ivarsdottir, Margret Andresdottir, Frosti Jonsson, Arna B Agustsdottir, Jonas Berglund, Berglind Eiriksdottir, Run Fridriksdottir, Elisabet E Gardarsdottir, Magnus Gottfredsson, Olafia S Gretarsdottir, Steinunn Gudmundsdottir, Kjartan R Gudmundsson, Thora R Gunnarsdottir, Arnaldur Gylfason, Agnar Helgason, Brynjar O Jenson, Aslaug Jonasdottir, Hakon Jonsson, Thordur Kristjansson, Karl G Kristinsson, Droplaug N Magnusdottir, Olafur T Magnusson, Lovisa B Olafsdottir, Solvi Rognvaldsson, Louise le Roux, Gudrun Sigmundsdottir, Asgeir Sigurdsson, Gardar Sveinbjornsson, Kristin E Sveinsdottir, Maney Sveinsdottir, Emil A Thorarensen, Bjarni Thorbjornsson, Marianna Thordardottir, Jona Saemundsdottir, S Hjortur Kristjansson, Kamilla S Josefsdottir, Gisli Masson, Gudmundur Georgsson, Mar Kristjansson, Alma Moller, Runolfur Palsson, Thorolfur Gudnason, Unnur Thorsteinsdottir, Ingileif Jonsdottir, Patrick Sulem, Kari Stefansson. Humoral Immune Response to SARS-CoV-2 in Iceland. *N Engl J Med* 2020 Oct 29;383(18):1724-1734
68. Baweleta Isho, Kento T Abe, Michelle Zuo, Alainna J Jamal, Bhavisha Rathod, Jenny H Wang, Zhijie Li, Gary Chao, Olga L Rojas, Yeo Myong Bang, Annie Pu, Natasha Christie-Holmes, Christian Gervais, Derek Ceccarelli, Payman Samavarchi-Tehrani, Furkan Guvenc, Patrick Budykowski, Angel Li, Aimee Paterson, Feng Yun Yue, Lina M Marin, Lauren Caldwell, Jeffrey L Wrana, Karen Colwill, Frank Sicheri, Samira Mubareka, Scott D Gray-Owen, Steven J Drews, Walter L Siqueira, Miriam Barrios-Rodiles, Mario Ostrowsk, James M Rini, Yves Durocher, Allison J McGeer, Jennifer L Gommerman, Anne-Claude Gingras. Persistence of

- serum and saliva antibody responses to SARS-CoV-2 spike antigens in COVID-19 patients. *Sci Immunol* 2020 Oct 8;5(52):eabe5511
69. Anita S Iyer, Forrest K Jones, Ariana Nodoushani, Meagan Kelly, Margaret Becker, Damien Slater, Rachel Mills, Erica Teng, Mohammad Kamruzzaman, Wilfredo F Garcia-Beltran, Michael Astudillo, Diane Yang, Tyler E Miller, Elizabeth Oliver, Stephanie Fischinger, Caroline Atyeo, A John Iafrate, Stephen B Calderwood, Stephen A Lauer, Jingyou Yu, Zhenfeng Li, Jared Feldman, Blake M Hauser, Timothy M Caradonna, John A Branda, Sarah E Turbett, Regina C LaRocque, Guillaume Mellon, Dan H Barouch, Aaron G Schmidt, Andrew S Azman, Galit Alter, Edward T Ryan, Jason B Harris, Richelle C Charles. Persistence and decay of human antibody responses to the receptor binding domain of SARS-CoV-2 spike protein in COVID-19 patients. *Sci Immunol* . 2020 Oct 8;5(52):eabe0367
  70. Z Zainol Rashid, S N Othman, M N Abdul Samat, U K Ali, K K Wong. Diagnostic performance of COVID-19 serology assays. *Malays J Pathol*. 2020 Apr;42(1):13-21
  71. Centers for Disease Control and Prevention. Interim Guidelines for COVID-19 Antibody Testing in Clinical and Public Health Settings. [https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/resources/antibody-tests-guidelines.html?deliveryName=USCDC\\_2067-DM29085](https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/resources/antibody-tests-guidelines.html?deliveryName=USCDC_2067-DM29085) (Accessed on May 26, 2020).
  72. Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*. 2020;395(10229):1054-62.
  73. He X, Lau EHY, Wu P, Deng X, Wang J, Hao X, et al. Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nat Med*. 2020.
  74. Li N, Wang X, Lv T. Prolonged SARS-CoV-2 RNA shedding: Not a rare phenomenon. *J Med Virol*. 2020.
  75. Yang JR, Deng DT, Wu N, Yang B, Li HJ, Pan XB. Persistent viral RNA positivity during recovery period of a patient with SARS-CoV-2 infection. *J Med Virol*. 2020.
  76. Liu WD, Chang SY, Wang JT, Tsai MJ, Hung CC, Hsu CL, et al. Prolonged virus shedding even after seroconversion in a patient with COVID-19. *J Infect*. 2020.

77. Hu X, Xing Y, Jia J, Ni W, Liang J, Zhao D, et al. Factors associated with negative conversion of viral RNA in patients hospitalized with COVID-19. *Sci Total Environ.* 2020;728:138812.
78. Xiao AT, Tong YX, Gao C, Zhu L, Zhang YJ, Zhang S. Dynamic profile of RT-PCR findings from 301 COVID-19 patients in Wuhan, China: A descriptive study. *J Clin Virol.* 2020;127:104346.
79. Xu K, Chen Y, Yuan J, Yi P, Ding C, Wu W, et al. Factors associated with prolonged viral RNA shedding in patients with COVID-19. *Clin Infect Dis.* 2020.
80. Xiao AT, Tong YX, Zhang S. Profile of RT-PCR for SARS-CoV-2: a preliminary study from 56 COVID-19 patients. *Clin Infect Dis.* 2020.
81. Zheng X, Chen J, Deng L, Fang Z, Chen G, Ye D, et al. Risk factors for the COVID-19 severity and its correlation with viral shedding: a retrospective cohort study. *J Med Virol.* 2020.
82. Li TZ, Cao ZH, Chen Y, Cai MT, Zhang LY, Xu H, et al. Duration of SARS-CoV-2 RNA shedding and factors associated with prolonged viral shedding in patients with COVID-19. *J Med Virol.* 2020.
83. Zuo Y, Liu Y, Zhong Q, Zhang K, Xu Y, Wang Z. Lopinavir/ritonavir and interferon combination therapy may help shorten the duration of viral shedding in patients with COVID-19: A retrospective study in two designated hospitals in Anhui, China. *J Med Virol.* 2020.
84. 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.* 2020.
85. Giannini B, Riccardi N, Cenderello G, Di Biagio A, Dentone C, Giacomini M. From Liguria HIV Web to Liguria Infectious Diseases Network: How a Digital Platform Improved Doctors' Work and Patients' Care. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2018;34(3):239-40.
86. Wolfel R, Corman VM, Guggemos W, Seilmaier M, Zange S, Muller MA, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature.* 2020.
87. Velazquez-Salinas L, Verdugo-Rodriguez A, Rodriguez LL, Borca MV. The Role of Interleukin 6 During Viral Infections. *Front Microbiol.* 2019;10:1057.
88. Bassetti M GD, Aliberti S, Barisione E, Centanni S, De Rosa FG, Di Marco F, Gori A, Granata G, Mikulska M, et al: . Balancing evidence and frontline

experience in the early phases of the COVID-19 pandemic: current position of the Italian Society of Anti-Infective Therapy (SITA) and the Italian Society of Pulmonology (SIP). *Clin Microbiol Infect* 2020; Accepted for publication.

89. <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/covid-19-guidance-discharge-and-ending-isolation-first%20update.pdf>.
90. Wei Tang ZC, Mingfeng Han, Zhengyan Wang, Junwen Chen, Wenjin Sun, Yaojie Wu, Wei Xiao, Shengyong Liu, Erzhen Chen, Wei Chen, Xiongbiao Wang, Jiuyong Yang, Jun Lin, Qingxia Zhao, Youqin Yan, Zhibin Xie, Dan Li, Yaofeng Yang, Leshan Liu, Jieming Qu, Guang Ning, Guochao Shi, Qing Xie. Hydroxychloroquine in patients mainly with mild to moderate COVID-19: an open-label, randomized, controlled trial. *medRxiv* 2020; (published online April 14) (preprint). 2020

## RINGRAZIAMENTI

*In primis ringrazio il Professor Bassetti e il Dottor Vena per avermi dato l'opportunità di prendere parte a un progetto così importante, facendomi accostare per la prima volta al mondo della Ricerca.*

*Grazie a mio nonno, il Dott. Luigi Modica, per il suo prezioso esempio!*

*La sua passione e dedizione mi guideranno sempre nell'esercizio della professione medica. E' lui il tipo di medico che aspiro un giorno a diventare e spero tanto, che i miei pazienti parleranno di me, con lo stesso immenso affetto con cui ho sempre sentito parlare di lui.*

*A Chiara, la mia prima e più grande sostenitrice! Grazie per credere sempre in me, anche quando non ci credo io.*

*Ai miei genitori, grazie per avermi sostenuto e amato sempre, anche quando non me lo meritavo. Si dice che la laurea sia uno dei momenti più significativi e gioiosi nella vita e sicuramente lo è, ma credo che tutta la mia vita sia stata costellata da affetto e momenti felici per merito vostro e anche se spesso sono dura con voi, voglio solo dirvi grazie per tutto.*

*A Francesco, grazie per avermi sempre aspettato con pazienza. L'equilibrio e la serenità che hai portato nella mia vita mi hanno regalato nuove prospettive, nello studio e nella vita. Con oggi inizia la mia vita "adulta" fatta di responsabilità e decisioni importanti da prendere, ma sono emozionata e non vedo l'ora che inizi anche il resto della nostra vita insieme.*

*Alle amiche e compagne che hanno condiviso con me questi lunghi anni di Università: sono felice di avervi incontrato e porterò sempre il ricordo di questi anni con me!*

*Abbiamo sopportato insieme la fatica, ma soprattutto abbiamo condiviso un sogno e chi era presente mentre costruivo il mio sogno... non credo lo potrò mai scordare.*

*Agli amici di Scuola della Pace e della Casetta in particolare, grazie per avermi sempre strappato un sorriso e avermi dato una prospettiva nuova su come affrontare*

*le sfide della vita! Questo traguardo è importante per la mia vita, ma far parte delle vostre, essere amici è una delle cose che più mi hanno reso felice!*