

Sistema Socio Sanitario



Regione  
Lombardia

ASST Papa Giovanni XXIII

## MAPo-COVID

**Multimodal assessment of persistent post-COVID situation  
at more than one year in East Lombardy population.  
Patient-driven focus on high vulnerable populations.**

**Valutazione multimodale della sindrome post-COVID > 12  
mesi dall'infezione in soggetti dell'Est Lombardia. Focus in  
soggetti altamente vulnerabili.**

**Promotore:** ASST Papa Giovanni XXIII, P.zza OMS,1-24127 Bergamo

**Centro coordinatore:** ASST Papa Giovanni XXIII, P.zza OMS,1-24127 Bergamo

**Sperimentatore Principale:** Dr.ssa Maria Sessa UOC Neurologia, ASST Papa Giovanni XXIII,  
P.zza OMS,1-24127 Bergamo

**Numero della versione:** v. 002

**Data:** 5 ottobre 2022

**Firma:**

## **PARTECIPANTI**

**ASST Papa Giovanni XXIII** – UOC Neurologia; UOC Malattie Infettive; UOC Pneumologia; UOC Neuroradiologia; UOC Psicologia Clinica; UOC Medicina Trasfusionale/Centro Emostasi e Trombosi

**ASST Mantova** - UOC Neurologia; UOC Malattie Infettive; UOC Pneumologia; UOC Medicina di Laboratorio/Centro Emostasi e Trombosi

**ASST Cremona** - UOC Neurologia; UOC Malattie Infettive; UOC Pneumologia; UOC Medicina di Laboratorio/Centro Emostasi e Trombosi

**Fondazione Ricerca Ospedale di Bergamo (FROM)**

**Associazione Italiana Sclerosi Multipla (AISM)**

**Associazione Italiana Pazienti Anticoagulati (AIPA)**

## **INDICE DEI CONTENUTI**

1. RAZIONALE E METODI
2. SCOPO E OBIETTIVI DELLO STUDIO
  - 2.1. Obiettivi
3. DISEGNO DELLO STUDIO
  - 3.1 Criteri di inclusione
  - 3.2 Criteri di esclusione
  - 3.3 Popolazione studiata
4. SCHEMA DELLO STUDIO E DATI RACCOLTI
5. DIMENSIONE DEL CAMPIONE
6. ANALISI STATISTICA
7. CONSIDERAZIONI ETICHE
8. CONTRIBUTI
9. BIBLIOGRAFIA

## **1. RAZIONALE E METODI**

Al 3 novembre 2021, l'Organizzazione Mondiale della Sanità ha riportato più di 246 milioni di casi confermati di COVID-19 in tutto il mondo, con quasi 5 milioni di decessi (1).

Lo spettro clinico della COVID-19 acuta va dall'infezione asintomatica alla malattia mortale. Il virus responsabile della COVID-19, il coronavirus 2 della sindrome respiratoria acuta grave (SARS-CoV-2), entra nelle cellule attraverso il recettore dell'enzima di conversione dell'angiotensina 2 (ACE2), presente in numerosi tipi di cellule in tutto il corpo umano, evidenziando come il SARS-CoV-2 possa causare danni a più organi.

Una crescente letteratura dimostra che una serie di sintomi può permanere dopo l'infezione acuta in molte persone che hanno avuto la COVID-19, una sindrome per la quale è stato coniato il termine long-COVID. Il National Institute for Health and Care Excellence (NICE) definisce la long-COVID come i sintomi che continuano o si sviluppano dopo la COVID-19 acuta e che non possono essere spiegati da una diagnosi alternativa. Questo termine include la COVID-19 sintomatica in corso, da 4 a 12 settimane dopo l'infezione, e la sindrome post-COVID-19, oltre le 12 settimane dopo l'infezione (2).

I sintomi più frequenti riportati sono affaticamento, disturbi respiratori tra cui dispnea e tosse, mialgia, disturbi dell'umore e dell'ansia, cefalea, deterioramento cognitivo, disturbi del sonno, persistente alterazione dell'olfatto o del gusto e sintomi suggestivi di disturbi autonomici come palpitazioni, intolleranza ortostatica, pressione arteriosa labile, disturbi gastrointestinali.

Una revisione della letteratura attuale, che include pazienti con un follow-up tra i 6 e i 12 mesi dopo l'infezione acuta, conferma la persistenza di sintomi a lungo termine.

Huang et al. (3) hanno descritto le conseguenze della COVID-19 6 mesi dopo l'inizio dei sintomi in pazienti ricoverati durante la fase acuta della malattia. Hanno dimostrato che la maggior parte dei pazienti (76%) è ancora in qualche misura sintomatica; i sintomi più frequentemente riportati sono affaticamento e debolezza muscolare (63%), difficoltà del sonno (26%) e ansia (23%). Menges et al. (4) hanno riferito che il 26% dei 431 adulti della popolazione generale con infezione confermata da SARS-CoV-2 tra il 27 febbraio e l'8 agosto 2020 ha riferito di non essere completamente guarito a sei-otto mesi. In una coorte di 103 pazienti con COVID-19 lieve seguiti per un periodo di 6 mesi, il 46% dei soggetti presentava almeno un sintomo non risolto, principalmente affaticamento (22%), alterazioni dell'olfatto e del gusto (rispettivamente 15% e 8%) e difficoltà respiratorie (8%) al follow-up di 6 mesi (5). Analogamente, in uno studio prospettico e longitudinale su 958 pazienti con SARS-CoV-2 confermata, il 27,8% e il 34,8% dei pazienti erano ancora sintomatici rispettivamente a 4 e 7 mesi. Anosmia, ageusia, affaticamento e mancanza di respiro sono stati riportati come i sintomi più comuni e persistenti (6).

A 12 mesi dall'infezione acuta, l'81% dei 303 pazienti guariti da COVID-19 da febbraio 2020 a maggio 2020 ha riferito almeno un sintomo, i più diffusi dei quali sono stati affaticamento (52%), dolore (48%), disturbi del sonno (47%), disturbi respiratori (36%), compromissione neurologica e cognitiva (36%) e anosmia o disgeusia (20%) (7).

Complessivamente, la letteratura disponibile riporta un'alta percentuale - sebbene variabile tra i diversi studi - di pazienti sintomatici a 6-12 mesi dall'infezione acuta. Le grandi differenze metodologiche tra gli studi per quanto riguarda la selezione dei pazienti, le

categorie di sintomi, le definizioni operative dei sintomi, le interviste auto-riportate o semi-strutturate, la durata del follow-up, rendono impossibile trarre considerazioni conclusive sull'esatta epidemiologia e sulle precise caratteristiche cliniche dei sintomi a lungo termine. Inoltre, anche se, sulla base delle limitate evidenze attuali, ci si aspetta che una percentuale significativa di pazienti con COVID-19 di lunga durata guarisca, non sono disponibili dati relativi al follow-up oltre i 12 mesi. I dati sul volume di pazienti attuali e futuri affetti da COVID-19 lunga che lamentano ancora sintomi persistenti a lungo termine saranno estremamente importanti per la pianificazione strategica e il processo di gestione del sistema sanitario pubblico.

Tra i meccanismi patogenetici proposti sono stati considerati la persistenza del virus SARS CoV-2, la risposta immunitaria al virus così come una risposta autoimmunitaria e la microtrombosi, meccanismi per i quali sono stati proposti alcuni biomarcatori, tra cui Interferoni (IF $\gamma$ , IF $\beta$ , IF $\lambda$ ), interleuchina-6 (IL-6) e pentraxina (PTX3) (8).

Recenti dati di letteratura indicano che lo storm citochinico associato alla malattia COVID-19 possa innescare, via spike-protein-CD147-Peptidyl Prolyl cis-trans Isomerase A (PPIA) signaling axis e l'attivazione della metalloproteinasi-9 (MMP-9), un processo di degradazione della barriera emato-encefalica (BBB) e un successivo processo degenerativo neuronale. Il dosaggio di PPIA, in associazione a MMP-9 e Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP) come marcatore di danno di barriera e dei Neurofilamenti (NFL) come marcatore di danno neuronale, possano costituire utili biomarcatori da correlare allo sviluppo di sintomi neurologici a lungo termine. (9, 10)

Considerando che la condizione post COVID-19 può essere influenzata dalla predisposizione genetica e dalla risposta immunitaria individual, l'estrapolazione dei risultati di studi sulla popolazione generale a sottoinsiemi di pazienti con un diverso background genetico e/o con malattie autoimmuni croniche può essere impropria. Il progetto, oltre ad offrire una fotografia aggiornata della qualità e dell'intensità della condizione post Covid-19 nella popolazione della Lombardia orientale, vuole contribuire all'identificazione di modelli specifici della sindrome post-COVID in soggetti più vulnerabili, come pazienti con malattie disimmuni croniche e pazienti in anticoagulazione cronica per malattie ad alto rischio trombotico.

## **2. SCOPO E OBIETTIVI DELLO STUDIO**

L'obiettivo principale del progetto è aumentare le conoscenze sulla persistenza della condizione post-COVID a più di un anno di follow-up nella popolazione generale e nei soggetti altamente vulnerabili e condividerle tra le parti interessate. I partner del progetto sono: ASST Papa Giovanni XXIII, ASST Mantova, ASST Cremona, Fondazione Ricerca Ospedale di Bergamo (FROM), Associazione Italiana Sclerosi Multipla (AISM), Associazione Italiana Pazienti in Anticoagulazione (AIPA).

La Lombardia orientale, che comprende le province di Bergamo, Mantova e Cremona, è stata la prima area colpita dall'epidemia di SARS-CoV-2 in Europa, alla fine di febbraio 2020. Alla fine di settembre 2020, le tre province rappresentavano più del 25% di tutti i pazienti infetti da COVID-19 in Lombardia. Pertanto, l'alleanza tra le tre ASST offre l'opportunità unica di includere una popolazione molto ampia con il più lungo follow-up disponibile nei Paesi occidentali. La collaborazione con AISM e AIPA, ben rappresentate a Bergamo, Mantova e Cremona, risponde alla necessità di riflettere l'esperienza vissuta di pazienti altamente vulnerabili e può rappresentare un paradigma.

## **2.1 Obiettivi**

Obiettivo 1 è misurare la qualità e l'intensità della condizione post Covid-19 nella popolazione della Lombardia orientale.

Obiettivo 2 è valutare la traiettoria e i risultati a lungo termine dei risultati funzionali, di laboratorio e di imaging.

Obiettivo 3 intende implementare le informazioni per i pazienti, le loro famiglie e i care giver.

Obiettivo 4 è quello di valutare un modello specifico di sintomi in popolazioni altamente vulnerabili, come i pazienti affetti da sclerosi multipla e quelli in anticoagulazione cronica.

Obiettivo 5 valutazione dei seguenti livelli circolanti di biomarcatori: Interferoni, IL-6, PTX3, – PPIA, MMP-9, GFAP) e NFL (Lead Partner). Si specifica che l'Obiettivo 5 è subordinato alla eventuale disponibilità di fondi aggiuntivi legati alla collaborazione tra ASST-PG23-Istituto Mario Negri.

## **3. TIPOLOGIA DELLO STUDIO**

Studio, multicentrico, osservazionale, retrospettivo-prospettico.

### **3.1 Criteri di inclusione**

Pazienti ≥ 18 aa

Infezione da SARS-CoV-2 confermata o probabile contratta tra il 20 febbraio e il 30 settembre 2020

Firma del consenso informato - Ai pazienti che rispettano i criteri di inclusione verrà chiesto di partecipare allo studio tramite contatto telefonico durante il quale verranno spiegate le finalità dello studio e le procedure previste. Il riassunto dello studio e il relativo CI e modulo privacy saranno accessibili sull'home page dell'ASST PG23, da cui i pazienti potranno scaricarlo, firmarlo e recapitarlo con una copia del documento di identità. In alternativa, si otterrà il Consenso verbale registrato al telefono e al primo contatto utile diretto con l'interessato, lo stesso dovrà sottoscrivere l'informativa il relativo consenso.

### **3.2 Criteri di esclusione**

Pazienti con infezione da SARS-CoV-2 confermata o probabile contratta tra il 20 febbraio e il 30 settembre 2020 che siano deceduti.

### **3.3 Popolazione studiata**

#### *Obiettivi 1, 2*

Pazienti con diagnosi confermata o probabile di infezione da SARS-CoV-2 dal 20 febbraio al 30 settembre 2020, così definiti:

- **caso confermato:** un caso di positività documentata ad un test molecolare per SARS-CoV-2 RNA (PCR) nel periodo considerato (1a ondata epidemica)
- **caso probabile:** un caso di quadro clinico compatibile, verificatosi nel periodo considerato (almeno 2 sintomi tra: febbre, tosse e disturbi dell'olfatto/gusto), accompagnato da un test sierologico per il nucleocapside SARS-CoV-2 eseguito nelle 24 successive settimane
- o
- **caso probabile:** un caso di polmonite interstiziale ad esordio acuto nel periodo di tempo considerato, con test molecolare negativo o non disponibile, se ritenuto clinicamente coerente con COVID-19, su revisione di due clinici indipendenti, con esperienza nel trattamento del COVID-19

**Ricoverati** e identificati con i codici ICD-9 043, 480.4, 480.3, 518.9, 519.7 alla dimissione dalle tre ASST;

**Ambulatoriali** identificati attraverso gli ambulatori post-COVID delle tre ASST

### *Obiettivo 3*

NA

### *Obiettivo 4*

#### **Pazienti con Sclerosi Multipla**

Pazienti affetti da Sclerosi Multipla con diagnosi di SARS-CoV-2 probabile o confermata dal 20 febbraio al 30 settembre 2020, reclutati ambulatorialmente attraverso i Centri Sclerosi Multipla delle tre ASST coinvolte e grazie all'attivo contributo dell'Associazione Italiana Sclerosi Multipla (AISM) nella divulgazione dello studio tra i suoi Associati.

#### **Pazienti in terapia anticoagulante cronica (TAO)**

Pazienti in TAO cronica (da almeno 1 anno) con diagnosi di SARS-CoV-2 probabile o confermata dal 20 febbraio al 30 settembre 2020, reclutati ambulatorialmente attraverso i Centri Emostasi e Trombosi delle tre ASST coinvolte e grazie all'attivo contributo dell'Associazione Italiana Pazienti Anticoagulati" (AIPA) nella divulgazione dello studio tra i suoi Associati.

### *Obiettivo 5*

Vd obiettivi 1&2, reclutati esclusivamente presso ASST Bergamo.

## **4. SCHEMA DELLO STUDIO E DATI RACCOLTI**

### *Obiettivo 1, 2 e 5*

Verrà proposto un questionario telefonico di screening (vd allegato 1), contenenti la seguente domanda: *Ha avuto un completo recupero fisico, psico-cognitivo e funzionale entro 12 mesi dall'episodio acuto di COVID-19?*

In caso di **risposta positiva**, al paziente verrà proposto di recarsi presso l'ASST di riferimento con i seguenti eventuali esami eseguiti >12 mesi dall'evento acuto:

- esami ematochimici (inclusivi di emocromo, funzionalità renale ed epatica, elettroliti, proteine totali ed elettroforesi, indici infiammatori, screening coagulativo e autoimmunità),
- test neuropsicologici,
- imaging neuroradiologico (TAC encefalo ed angioTC intra ed extracranica, RMN encefalo e midollo, angioRMN intra ed extracranica, angiografia cerebrale),
- imaging polmonare (Rx, TAC, RMN torace) e tests di funzionalità respiratoria,
- esami neurofisiologici (EMG-ENG, EEG).

In caso di **risposta negativa**, al paziente verrà proposto un breve questionario telefonico (vd allegato 1) volto ad indagare i sintomi persistenti >12 mesi e verrà programmata una visita durante la quale:

- verrà indagata la comparsa dei sintomi (nuovo esordio dopo completo recupero, persistenza sin dalla fase acuta dell'infezione COVID-19); la persistenza >12 mesi (presenti 12<<18; 18<<24; >24 mesi); l'andamento (fluttuanti, persistenti),
- verranno sottoposte scale validate in Italiano per sintomi specifici e per l'impatto sulla qualità della vita (vd allegato 2),
- verrà chiesto di presentarsi con esami ematochimici eseguiti (inclusivi di emocromo, funzionalità renale ed epatica, proteine, glicemia, TSH, indici infiammatori, screening coagulativo e autoimmunità), test neuropsicologici, imaging neuroradiologico (TAC encefalo ed angioTC intra ed extracranica, RMN encefalo e midollo, angioRMN intra ed extracranica, angiografia cerebrale), imaging polmonare (Rx, TAC, RMN torace) e tests di funzionalità respiratoria, esami neurofisiologici (EMG-ENG, EEG, Potenziali Evocati Multimodali) eventualmente eseguiti >12 mesi dall'evento acuto.

Per i soli pazienti dell'ASST Papa Giovanni XXIII, in occasione della visita verrà eseguito un prelievo di circa 8 cc di sangue venoso, che verrà stoccato presso la Biobanca ASST PG23.

Per tutti i pazienti arruolati verranno raccolti i seguenti dati demografici, socioeconomici, clinici relativi all'infezione e dati relativi allo stato vaccinale (Allegato 3)

- *caratteristiche demografiche*

Età	Anni	
Sesso	Maschio	
	Femmina	
Gruppo etnico	Bianca	
	Nera	
	Asiatica	
	Ispanica	
Educazione	≤ Scuola primaria e secondaria di primo grado	
	≥ Scuola secondaria di secondo grado	
Stato civile	Coniugato	
	Celibe/nubile	
	Separato/divorziato	
	Vedovo	
Numero di componenti della famiglia		
Presenza di stranieri in famiglia		
Stato occupazionale	Dirigente o quadro	
	Impiegato	



	Operaio o assimilato	
	Altro autonomo	
	Disoccupato	
	Inattivo	
	Ritirato dal lavoro	
	Studente	
Stato ormonale	Fertile	
	Menopausa	
Fumo	Mai fumato	
	Fumatore attivo	
	Fumatore pregresso	Stop da 2 anni
BMI	Peso in chilogrammi diviso per il quadrato dell'altezza in metri (kg/m <sup>2</sup> )	
Comorbidità	Iperensione	PAS ≥140 mm Hg e PAD ≥ 90 mm Hg in 2 misurazioni separate dopo la fase acuta o uso di farmaci antipertensivi prima del reclutamento
	Diabete	uso di un agente ipoglicemizzante o di insulina, o glucosio a digiuno ≥126 mg/dL
	Malattie cardiovascolari	Storia di infarto miocardico, angina; evidenza strumentale di patologia coronarica.
	Malattie cerebrovascolari	In base alla storia e/o documentazione clinica
	Malattie tromboemboliche	Storia di trombosi e/o Embolia Polmonare
	Complicanze emorragiche	Storia di emorragie Minori e/o Maggiori
	Tumori maligni	In base alla storia e/o documentazione clinica
	BPCO	Basata sui criteri GOLD (11).
	Ipercolesterolemia	Colesterolo ≥ 220 mg/dL o uso di farmaci per riduzione del colesterolo.
	Patologie renali croniche	In base alle linee guida 2012 KDIGO (12).
	Disturbi dell'umore/d'ansia	In base alla storia e/o documentazione clinica
	Disabilità	modified Rankin Scale >2

*- caratteristiche cliniche dell'infezione acuta da SARS-CoV-2*

Data esordio sintomi		
Tipologia di sintomi		
Febbre		
Tosse		
Dispnea		
Disturbo gusto/olfatto		
Mialgie		

Disturbi gastrointestinali		
Astenia		
Gravità malattia		
Tipologia di assistenza (3)	1. Ambulatoriale con ripresa normali attività	
	2. Ambulatoriale senza ripresa normali attività	
	3. Ricovero ospedaliero senza supplementazione ossigeno	
	4. con ossigeno supplementare	
	5. cannula nasale ad alto flusso (HFNC)	
	6. ventilazione invasiva	
Terapia		
Eventi avversi durante malattia COVID-19		
Eventi trombotici	IMA	
	Ictus cerebri	
	TEP	
	TVP	
Emorragie	Maggiori	
	Minori	

- *stato vaccinale*

	Data	Vaccino
Ciclo vaccinale completo		
1° booster		
2° booster		

### *Obiettivo 3*

I risultati ottenuti dagli obiettivi 1 e 2 verranno integrati con i dati ottenuti dalla revisione della letteratura peer-reviewed più recente (articoli al 2022 da PubMed, EMBASE, MedRxiv che descrivano sintomi persistenti post-infezione da SARS-CoV-2. Ricerca manuale di articoli selezionati dalle bibliografie) e delle linee guida attuali delle società scientifiche. Attraverso il coinvolgimento attivo di pazienti esperti (Accademia del Paziente Esperto EUPATI) verrà predisposto del materiale informativo destinato a MMG, pazienti e care-giver, contenente informazioni relative a:

- definizione della condizione post-COVID;
- dati epidemiologici;
- eventuali fattori di rischio predisponenti individuati;
- andamento dei sintomi;
- suggerimenti sulla gestione dei sintomi;
- contatti.

#### *Obiettivo 4*

##### **Pazienti con Sclerosi Multipla**

Al momento attuale esiste un'ampia letteratura sull'impatto dei diversi trattamenti immunomodulanti sull'infezione da SARS-CoV2 nei pazienti con SM ma esistono pochissimi studi che valutino l'outcome a lungo termine dell'infezione nei pazienti con SM e l'incidenza di long covid in questa popolazione di pazienti.

L'obiettivo dello studio è quello di stimare la frequenza dei sintomi da long covid e la loro durata nei pazienti con SM.

Verrà posto particolare focus sulla frequenza e la persistenza dei seguenti sintomi:

fatica o peggioramento della fatica

difficoltà di concentrazione/memoria o peggioramento delle difficoltà di concentrazione (nebbia cognitiva)

iposmia/ageusia

disturbi del sonno o peggioramento dei disturbi del sonno

dolori muscolari o peggioramento dei dolori muscolari.

dispnea o peggioramento dei disturbi respiratori

La frequenza di tali sintomi verrà confrontata con i risultati ottenuti nella popolazione generale.

Obiettivo secondario sarà valutare l'eventuale impatto del long covid sull'andamento della malattia e sulla qualità della vita.

I dati verranno raccolti sia attraverso un questionario ad hoc per le persone con SM (allegato 4) sia attraverso i dati raccolti prospetticamente durante le visite neurologiche eseguite regolarmente ogni 3-6 mesi.

L'impatto dell'infezione sull'andamento della malattia verrà valutato in termini di

Progressione della disabilità (definito come incremento di 1 punto nella scala EDSS confermato a 3 mesi) a 3-6-12 mesi dall'infezione

Presenza di ricadute cliniche di malattia e/o riattivazione neuroradiologica nell'anno successivo l'infezione

L'impatto sulla qualità della vita sarà valutato solo in termini qualitativi attraverso un questionario specifico modificato ad hoc dalla SF-36 (allegato 4).

Infine, come per la maggior parte delle malattie croniche, la prima fase della pandemia e il conseguente lock down ha portato notevoli cambiamenti nella gestione e nella cura dei pazienti. Per questo motivo, in questo gruppo di pazienti, verrà indagato, tramite questionario specifico, anche l'impatto della pandemia sulla gestione della SM.

##### ***Pazienti in terapia anticoagulante cronica (TAO)***

Oltre all'allegato 3, ai pazienti in TAO verrà proposto un questionario, sviluppato in collaborazione con i rappresentanti dell'AIPA volto a valutare eventuali modifiche del COVID-19 sulle condizioni preesistenti e sulla qualità della vita (Allegato 5). Il questionario sarà distribuito presso i Centri Emostasi e Trombosi delle ASST coinvolte con l'aiuto delle diverse sezioni provinciali AIPA per raggiungere il maggior numero di persone in TAO.

I risultati ottenuti dall'obiettivo 4 sui pazienti in TAO potranno essere utilizzati per:

- creare valori di riferimento volti a identificare i pazienti più a rischio nella popolazione in oggetto
- valutare la relazione tra TAO e sindrome post-COVID-19
- infine trovare strategie protettive appropriate per sviluppare nuovi modelli di cura.

## **5. DIMENSIONI DEL CAMPIONE**

Si tratta di uno studio osservazionale con un campione identificato retrospettivamente e consistente nei pazienti ricoverati segnalati dagli uffici epidemiologici delle tre ASST e dei pazienti ambulatoriali individuati tramite gli ambulatori post-COVID delle tre ASST. Dai dati già ottenuti dagli Uffici Epidemiologici delle tre ASST si stimano circa 1500 pazienti con infezione da SARS-CoV-2 contratta tra il 20 febbraio e il 30 settembre 2020 per ASST Bergamo, 1200 per ASST Mantova e 600 per ASST Cremona. I numeri sono inclusivi dei pazienti deceduti, che verranno esclusi dall'analisi.

E' stato stimato che la prevalenza mondiale di sindrome post-COVID è del 50% (13). Assumendo un errore di tipo I (alpha) pari a 0.05 e una potenza dell'80% sotto l'ipotesi ( $H_1$ ) che la prevalenza della sindrome in Lombardia sia pari al 45% (rispetto a quella globale del 50%:  $H_0$ ), sarà necessario includere nello studio almeno 738 pazienti. Con tale numerosità campionaria, tuttavia, la probabilità che l'ampiezza dell'intervallo di confidenza sia inferiore o uguale a quella attesa (pari a 0.07) è pari al 40%. Per poter stimare la prevalenza con la precisione attesa dovranno essere arruolati 795 pazienti (14). Considerando inoltre un possibile drop-out del 10%, sarà necessario reclutare almeno 884 pazienti.

## **6. ANALISI STATISTICA**

Le caratteristiche demografiche e anamnestiche dei soggetti reclutati e tutti i dati clinici relativi alla patologia in studio, verranno presentati come valori assoluti e percentuali nel caso di variabili di tipo categorico e come media e deviazione standard (DS) o mediana e range interquartile (IQR) nel caso di variabili numeriche continue.

Verranno confrontati due gruppi: i pazienti che hanno sviluppato la sindrome post Covid-19 e i pazienti che non hanno sviluppato la sindrome post Covid-19.

Il test del chi quadrato o test esatto di Fisher, a seconda di quale sia opportuno, sarà utilizzato per il confronto di variabili categoriche. Il test t di Student o il test Wilcoxon-Mann-Whitney test, saranno utilizzati per le variabili continue, utilizzando eventualmente il Benjamini-Hochberg Method (15). Data la natura osservazionale dello studio e l'impossibilità di randomizzare i pazienti, sarà utilizzato il metodo del Propensity Score (PS) matching (16), per bilanciare i pazienti dei due gruppi rispetto a potenziali fattori confondenti. Attraverso un modello di regressione logistica multivariato si valuterà l'impatto di diverse variabili sulla probabilità di sviluppare la sindrome post Covid-19.

Per tutte le analisi, verrà considerato significativo un p-value < 0,05 associato a test a due code. Tutti i dati saranno analizzati utilizzando il software statistico STATA versione 16.

## **7. CONSIDERAZIONI ETICHE**

Il rationale dello studio si basa sulla possibilità di implementare le conoscenze nell'ambito dei sintomi persistenti dopo infezione da SARS-COV-2, cercando di quantificare la rilevanza del problema, definendo meglio le caratteristiche cliniche e l'eventuale correlazione con parametri neuroradiologici e biologici, implementando così conoscenze attualmente non disponibili o non sufficientemente esaustive.

E' uno studio prevalentemente non interventistico che prevede esclusivamente la somministrazione di un questionario e la raccolta di dati relativi a esami già eseguiti. L'unico modesto disagio è costituito dal prelievo di sangue venoso, che verrà praticato da personale esperto.

## **8. CONTRIBUTI**

ASST PG23: disegno e concettualizzazione dello studio, arruolamento pazienti, popolazione database con i dati clinici e strumentali dei pazienti reclutati presso la propria ASST, analisi dei dati pseudonominati provenienti dalla due ASST partner.

ASST Mantova: arruolamento pazienti, popolazione database con i dati clinici e strumentali dei pazienti reclutati presso la propria ASST, contributo all'analisi dei risultati

ASST Cremona: arruolamento pazienti, collezione dati clinici e strumentali dei pazienti reclutati presso la propria ASST, contributo all'analisi dei risultati

FROM: supporto metodologico per l'analisi statistica e le attività di divulgazione.

AISM: contributo alla costruzione del DB con items dedicati per la specifica popolazione oggetto di studio; attività di divulgazione dello studio tra i propri associati; contributo all'analisi dei dati aggregati relativi alla popolazione con Sclerosi Multipla AIPA; contributo alla costruzione del DB con items dedicati per la specifica popolazione oggetto di studio; attività di divulgazione dello studio tra i propri associati; contributo all'analisi dei dati aggregati relativi alla popolazione in terapia anticoagulante

## **9. BIBLIOGRAFIA**

1. <https://www.who.int/publications/m/item/weekly-operational-update-on-covid-19--3-november-2021>.
2. [www.nice.org.uk/guidance/ng188](http://www.nice.org.uk/guidance/ng188).
3. Huang C, et al. 6-month consequences of COVID-19 in patients discharged from hospital: a cohort study. *Lancet* 2021. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)32656-8.
4. Menges D et al. Burden of post-COVID-19 syndrome and implications for healthcare service planning: A population-based cohort study. *PLOS ONE* <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0254523> July 12, 2021.
5. Klein H et al. Onset, duration and unresolved symptoms, including smell and taste changes, in mild COVID-19 infection: a cohort study in Israeli patients. *Clin Microbiol Infect.* 2021 Feb 16;27(5):769-774.doi: 10.1016/j.cmi.2021.02.008.
6. Augustin M et al. Post-COVID syndrome in non-hospitalised patients with COVID-19: a longitudinal prospective cohort study. *Lancet Reg Health Eur.* 2021 Jul;6:100122.doi: 10.1016/j.lanep.2021.100122.
7. Lombardo MDM et al. Long-Term Coronavirus Disease 2019 Complications in Inpatients and Outpatients: A One-Year Follow-up Cohort Study. *Open Forum Infect Dis.* 2021 Jul 16;8(8):ofab384. doi: 10.1093/ofid/ofab384.
8. Mantovani A et al. Long Covid: where we stand and challenges ahead. *Cell Death & Differentiation*; <https://doi.org/10.1038/s1418-022-01052-6>.
9. Geng J et al. CD147 antibody specifically and effectively inhibits infection and cytokine storm of SARS-CoV-2 and its variants delta, alpha, beta, and gamma. *Signal Transduct Target Ther.* 2021 Sep 25;6(1):347. doi: 10.1038/s41392-021-00760-8.

10. Bonetto V et al Markers of blood-brain barrier disruption increase early and persistently in COVID-19 patients with neurological manifestations. doi: <https://doi.org/10.1101/2022.09.26.22280358>
11. Vogelmayr CF et al. Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Lung Disease 2017 Report. GOLD Executive Summary. *Am J Respir Crit Care Med.* 2017;195:557-582.
12. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Int Suppl.* 2013;3:1-150.
13. Chen C et al. Prevalence of Post-COVID Condition or long-COVID: A Meta-Analysis and Systematic Review. *J Infect Dis* 2022 16;jiac136. doi: 10.1093/infdis/jiac136
14. Cesana BM et al. Sample Size for testing a Proportion in Clinical trials: A “Two-Step” Procedure Combining Power and Confidence Interval Expected Width. *The American Statistician* 2011, 55(4):288-292
15. Benjamini Y, Hochberg Y (1995). "Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing" (PDF). *Journal of the Royal Statistical Society, Series B.* 57(1): 289–300.
16. Jason S Haukoos, Roger J Lewis The Propensity Score *JAMA* 2015 Oct 20;314(15):1637-8. doi: 10.1001/jama.2015.13480