



Assenza di evidenza di SARS-CoV-2 nell'articolazione del ginocchio: studio su cadavere

No evidence of SARS-CoV-2 in the knee joint: a cadaver study

Miriam Grassi¹ (foto) , Valeria Giorgi² , Manuela Nebuloni³ , Piercarlo Sarzi-Puttini² , Sara Giordana Rimoldi⁴ , Alfonso Manzotti^{*} 

¹ UO di Ortopedia e Traumatologia, ASST-Fatebenefratelli-Sacco Ospedale Polo Universitario Luigi Sacco, Milano; ² UO di Reumatologia, ASST Fatebenefratelli-Sacco Ospedale Polo Universitario Luigi Sacco, Milano; ³ UO di Anatomia Patologica, Dipartimento di Scienze Biomediche e Cliniche, ASST Fatebenefratelli-Sacco Ospedale Polo Universitario Luigi Sacco, Milano; ⁴ UO di Microbiologia, ASST Fatebenefratelli-Sacco Ospedale Polo Universitario Luigi Sacco, Milano
*Gli ultimi due Autori hanno contribuito in egual misura alla redazione del paper

Ricevuto: 19 marzo 2021
Accettato: 6 agosto 2021

Corrispondenza

Miriam Grassi

ASST-Fatebenefratelli-Sacco Ospedale Polo Universitario Luigi Sacco, via G.B. Grassi 74, 20157 Milano
Tel.: 02 3904 3540
E-mail: grassi.miriam@asst-fbf-sacco.it

Conflitto di interessi

Gli Autori dichiarano di non avere alcun conflitto di interesse con l'argomento trattato nell'articolo.

Come citare questo articolo: Grassi M, Giorgi V, Nebuloni M, et al. Assenza di evidenza di SARS-CoV-2 nell'articolazione del ginocchio: studio su cadavere. *Giornale Italiano di Ortopedia e Traumatologia* 2021;47:193-198; <https://doi.org/10.32050/0390-0134-338>

© Copyright by Pacini Editore Srl



OPEN ACCESS

L'articolo è OPEN ACCESS e divulgato sulla base della licenza CC-BY-NC-ND (Creative Commons Attribuzione – Non commerciale – Non opere derivate 4.0 Internazionale). L'articolo può essere usato indicando la menzione di paternità adeguata e la licenza; solo a scopi non commerciali; solo in originale. Per ulteriori informazioni: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.it>

Riassunto

Introduzione. Nonostante i notevoli sforzi di ricerca compiuti per conoscere meglio COVID-19 poco si sa sulla presenza di materiale genetico di SARS-CoV-2 nei fluidi biologici diversi da *droplets* respiratori, sangue, feci, liquido seminale e fluido cerebrospinale. Lo scopo di questo studio *post-mortem* è stato quello di valutare la presenza di RNA SARS-CoV-2 nel liquido sinoviale e nel tessuto sinoviale a livello del ginocchio dei pazienti COVID-19, al fine di scoprire se l'articolazione è una possibile fonte di trasmissione, durante le procedure chirurgiche ortopediche e chiarire se SARS-CoV-2 è un potenziale virus in grado di generare un'artrite nel distretto corporeo esaminato, generando quindi una patologia articolare correlata a COVID-19.

Materiali e metodi. I campioni di liquido sinoviale e di tessuto sinoviale sono stati raccolti *post-mortem*, bilateralmente, dalle ginocchia di 5 pazienti, deceduti per COVID-19 e che hanno manifestato durante la degenza ospedaliera un interessamento articolare, polidistrettuale, in particolare a carico dell'area anatomica del ginocchio, nel nostro ospedale tra settembre e ottobre 2020 e analizzati per la presenza di SARS-CoV-2 utilizzando *real-time polymerase chain reaction* (RT-PCR). L'RT-PCR quantitativa è stata utilizzata per testare i tamponi nasofaringei post-mortem di tutti i pazienti.

Risultati. Non è stato individuato SARS-CoV-2 RNA in nessuno dei campioni analizzati, nonostante la positività del tampone orofaringeo.

Conclusioni. I nostri risultati indicano che SARS-CoV-2 non è stato rilevato nel ginocchio né a carico del liquido sinoviale né del tessuto sinoviale. Ciò rende improbabile che questi siano potenziali fonti di contagio e suggerisce che SARS-CoV-2 non sia in grado di generare un quadro artrite con meccanismo infiammatorio diretto.

Parole chiave: COVID-19, liquido sinoviale, sinovia, cadavere, autopsia, artrocentesi, RT-PCR

Summary

Background. Despite the considerable research efforts being made to learn more about COVID-19, little is known about the presence of SARS-CoV-2 genetic material in biological fluids other than respiratory droplets, blood, feces, semen and cerebrospinal fluid. The aim of this post mortem study was to assess the presence of SARS-CoV-2 RNA in the knee synovial fluid and

synovial tissue of COVID-19 patients in order to discover whether the joint is a possible route of transmission during orthopaedic surgical procedures, and clarify the possible role of SARS-CoV-2 as a directly arthritogenic virus, therefore generating an articular pathology related to COVID-19.

Materials and methods. Post mortem synovial fluid and synovial tissue samples were collected from the knees of five patients who died of COVID-19 in our hospital and who demonstrated during hospital stay several joint interest in particular at the expense of the anatomical area of the knee, between September and October 2020, and analysed for the presence of SARS-CoV-2 using a commercial real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) panel. Quantitative RT-PCR was used to test post mortem nasopharyngeal swabs of all of the patients.

Results. No SARS-CoV-2 RNA was detected in any of the knee samples, despite the positivity of the throat swab.

Conclusions. Our findings indicate that SARS-CoV-2 was not detected in knee synovial fluid and synovial membrane. This makes it unlikely that these are potential sources of contagion, and suggests that SARS-CoV-2 is not directly arthritogenic with direct inflammatory mechanism.

Key words: COVID-19, synovial fluid, bone tissue, cadavers, autopsy, arthrocentesis, RT-PCR

Introduzione

SARS-CoV-2 è un nuovo virus appartenente alla famiglia del Coronavirus (CoV), e causa la malattia da Coronavirus 2019 (COVID-19), per la quale è stata dichiarata la pandemia globale di pandemia dall'Organizzazione Mondiale della Sanità l'11 Marzo 2020. Le manifestazioni cliniche del COVID-19 includono affaticamento, febbre, tosse e sintomatologia muscoloscheletrica come artromialgia ¹. Le forme più severe sono caratterizzate da sindrome da distress respiratoria acuta (ARDS) e disfunzione multiorgano, pericolose per la vita.

Nonostante il gran numero di pubblicazioni presenti in Letteratura, l'esatta via di trasmissione virale non è ancora stata definita. È chiaro che la principale via di trasmissione è rappresentata dall'esposizione a *droplets* infetti presenti nell'aria ², ma l'RNA virale è stato anche isolato nei campioni di sangue e feci di pazienti infetti ³ così come nel liquido seminale e in quello cerebrospinale ^{4,5}. Inoltre, poco si sa in merito alla presenza di SARS-CoV-2 a livello articolare sia *post mortem* ⁶ sia *in vivo* ^{7,8}. Per quanto è dato conoscere attualmente, soltanto Lopéz-Gonzalez et al. ⁹ hanno pubblicato una descrizione di un caso di artrite acuta, occorsa durante l'ospedalizzazione del paziente, dovuta a COVID-19, ma questi Autori non hanno trovato, nel liquido sinoviale del paziente, materiale genetico di SARS-CoV-2 così come Mao et al. ⁸ l'hanno ricercato a livello intrarticolare nel ginocchio, senza alcun successo oppure Ursini et al. ¹⁰ hanno riportato 35 casi di monoartriti e oligoartriti asimmetriche in COVID-19 senza ricercare in sede articolare l'RNA virale, evidenziando come la nostra ricerca del materiale genetico del virus possa essere utile per meglio comprendere l'origine di queste manifestazioni muscoloscheletriche in pazienti COVID-19 positivi. Attualmente è in corso un trial NHS, in UK, diretto da Health Research Authority (hra.nhs.uk) nel quale per pianificare un ritorno in sicurezza alla chirurgia ortopedica elettiva si indaga sulle potenziali fonti di esposizione a SARS-CoV2,

sottoponendo i pazienti deceduti per COVID-19 a prelievo autoptico di liquido sinoviale. I risultati di tale studio non sono ancora disponibili.

Lo scopo di questo studio microbiologico su cadavere è stato quello di ricercare la presenza di SARS-CoV2 RNA nel ginocchio, utilizzando campioni prelevati sia dal liquido sinoviale sia dai tessuti capsulari, dei pazienti deceduti per complicanze polmonari causate da COVID-19.

Come criteri di inclusione nello studio abbiamo utilizzato:

- la causa di morte accertata e certificata per COVID-19 con insufficienza polmonare, testata per mezzo di *real time polymerase chain reaction* (RT-PCR) su tampone nasofaringeo;
- l'insorgenza, durante la degenza ospedaliera, di una severa sintomatologia dolorosa muscoloscheletrica, polidistrettuale, con interessamento articolare in particolare a carico di uno o di entrambe le ginocchia, in associazione a tumefazione locale e impotenza funzionale.

Il nostro studio ha l'obiettivo secondario, una volta esclusa la presenza del virus SARS-CoV2 nell'articolazione del ginocchio, di assicurare gli operatori sanitari, non essendovi alcun rischio aggiuntivo di contagio durante l'esecuzione di procedure invasive articolari, adottando le opportune strategie di protezione, al fine di fornire il massimo livello di sicurezza agli operatori sanitari, evitando quindi la trasmissione professionale di COVID-19.

L'infezione da SARS-CoV2 in un singolo operatore sanitario può avere infatti un effetto drammatico per il Sistema Sanitario stesso, come menzionato da Anelli et al. ¹¹ inoltre una singola infezione tra gli operatori sanitari essenziali di un ospedale può ridurre gravemente la capacità di un intero ospedale di far fronte alla pandemia, come testimoniato dalla Federazione Nazionale degli Ordini dei Medici ¹².

Inoltre, sebbene la sintomatologia dolorosa a carico delle articolazioni e dei muscoli sia molto frequente durante la fase acuta dell'infezione, non è ancora stato stabilito se SARS-CoV-2 possa giocare un ruolo nella patogenesi di

varie forme di artrite, direttamente¹³ o indirettamente sotto forma di artrite reattiva¹⁴ come risultato di un'iperattivazione del sistema immunitario, mediata dal virus¹⁵.

Materiali e metodi

I campioni di liquido sinoviale e tessuto sinoviale sono stati prelevati, bilateralmente, dalle ginocchia di 5 pazienti deceduti, presso l'Ospedale Polo Universitario Luigi Sacco ASST Fatebenefratelli Sacco di Milano, tra Settembre e Ottobre 2020, che hanno manifestato durante la degenza una severa sintomatologia muscoloscheletrica, caratterizzata da dolore, tumefazione locale e limitazione funzionale, con particolare coinvolgimento del distretto articolare del ginocchio per un totale di 10 ginocchia. A tutti i pazienti era stato diagnosticato di aver contratto l'infezione da SARS-CoV-2 attraverso un tampone molecolare nasofaringeo, analizzato presso il Laboratorio ospedaliero di Microbiologia Clinica, Virologia e Bioemergenza durante il periodo di ospedalizzazione.

Tutti i pazienti, arruolati nello studio, erano adulti con causa di morte accertata e certificata per COVID-19 con insufficienza polmonare, confermata per mezzo di *real time polymerase chain reaction* (RT-PCR) sul tampone nasofaringeo ed erano stati oggetto di segnalazione, durante la degenza ospedaliera, per tumefazione e limitazione funzionale a carico di una o di entrambe le ginocchia, sviluppando una severa sintomatologia muscoloscheletrica polidistrettuale. Sono stati esclusi dallo studio tutti i pazienti con una storia pregressa di chirurgia del ginocchio o una diagnosi documentata di artrite a carico del ginocchio. Nessun paziente incluso nello studio aveva una pregressa storia clinica personale o familiare di malattia reumatica, psoriasi o artropatia da microcristalli, tanto meno risultava essere affetto da malattia sessualmente trasmessa.

Tutti i pazienti arruolati avevano eseguito, durante la degenza ospedaliera, una radiografia del ginocchio che non evidenziava erosioni o calcificazioni intrarticolari, urinocoltura ed emocoltura negative e test reumatici negativi (FR, autoanticorpi antinucleo ANA, autoanticorpi anti-ENA, autoanticorpi ANCA, autoanticorpi antiDNA nativo, anticorpi anti-cictrullina, anticorpi antifosfolipidi, HLA-B27, acido urico, frazioni del complemento C3-C4).

Nessuno dei pazienti arruolati era stato sottoposto in vita, durante la degenza, ad artrocentesi ed esame colturale del liquido sinoviale, essendo sopraggiunto il decesso prima di qualunque altro approfondimento diagnostico.

Tutte le procedure dello studio sono state approvate dal nostro Comitato Etico locale (Comitato Etico Milano Area 1, No.713, 23 June 2020) e il consenso informato è stato raccolto coinvolgendo le famiglie dei pazienti prima di effettuare l'autopsia.

I campioni di liquido sinoviale e dei tessuti sono stati raccolti dal medesimo operatore entro le 72 ore dal decesso, effettuando un'artrocentesi seguita da una biopsia a cielo aperto con un accesso parapatellare mediale bilateralmente, in sterilità, con tecnica asettica. Inoltre, i tamponi nasofaringei *post mortem* di tutti i pazienti sono stati testati tramite RT-PCR.

Tutti i campioni sono stati conservati a -80°C prima di essere analizzati, utilizzando il protocollo di rilevamento del materiale genetico utilizzato anche nel nostro ospedale nei protocolli diagnostici. Il mini-kit QIAMP Viral RNA (Qiagen, Hilden, Germany) è stato utilizzato per estrarre RNA virale da 200 µL di liquido sinoviale in conformità col protocollo del produttore. La presenza di SARS-CoV-2 è stata valutata utilizzando un pannello RT-PCR contenente *primers* e *probes* rivolte al gene nucleocapside (N) gene, al gene ORF1ab, e al gene E dell'involucro¹⁶.

Risultati

Il gruppo di studio consiste in 1 femmina e in 4 maschi, con un'età media al momento del decesso di 80,6 anni. La presentazione clinica, al momento del ricovero ospedaliero, comprendeva febbre, tosse, artromialgia, faringodinia e distress respiratorio, in associazione a un quadro imaging (Rx torace e Tc torace) che deponeva per una polmonite bilaterale da COVID-19 con successiva comparsa di manifestazioni muscoloscheletriche severe, in particolare a carico del distretto anatomico del ginocchio, caratterizzate da algia, tumefazione locale e limitazione funzionale.

Tutti i pazienti avevano delle comorbidità, includendo malattia cardiovascolare, ipertensione arteriosa, dislipidemia, diabete mellito, demenza senile. Il tempo medio intercorso tra l'ospedalizzazione e il decesso è stato di 8,2 giorni: 2 pazienti sono deceduti presso l'UO di Terapia Intensiva mentre 3 pazienti sono deceduti presso l'UO di Malattie Infettive. Tutti i decessi sono stati causati da un'insufficienza respiratoria acuta in associazione a microembolismo, confermato dall'esame autoptico finale. Il tempo medio intercorso tra il decesso e il rilievo autoptico con la raccolta dei campioni è stato di 46 ore e 24 minuti.

Sablone et al.¹⁷ hanno recentemente evidenziato, in uno studio su cadavere, l'importanza di valutare la presenza di RNA virale post-mortem nel paziente COVID-19, riconoscendo la persistenza di SARS-CoV2 sino a diversi giorni dal decesso del paziente, sottolineando da un lato la sua distribuzione multiorgano, grazie al tropismo di cui il virus è dotato, dall'altro la sua resistenza su superfici refrigerate come quelle presenti in un cadavere, aumentandone quindi il tempo di sopravvivenza.

Beltempo et al.¹⁸ hanno riportato la persistenza di SARS-CoV-2 RNA sino a 35 giorni post-mortem.

RT-PCR non ha rilevato alcuna prova dell'RNA virale in nessuno dei campioni di liquido sinoviale e tessuto sinoviale, nonostante tutti i tamponi nasofaringei effettuati *post mortem* siano risultati positivi per SARS-CoV-2 (RT-PCR). In Tabella I abbiamo riportato le principali caratteristiche cliniche dei pazienti, le tempistiche di autopsia e i risultati dei test.

Discussione

Per quanto è dato conoscere attualmente questo è il primo e unico studio presente in Letteratura che valuta la presenza di RNA di SARS-CoV-2 nell'articolazione del ginocchio di pazienti deceduti per COVID-19. Non è stato rilevato alcun RNA SARS-CoV-2 in nessuno dei 10 campioni raccolti di liquido sinoviale e tessuto sinoviale, no-

nostante il tampone nasofaringeo *post mortem* di tutti e 5 i pazienti sia risultato positivo per SARS-CoV-2 usando la stessa procedura RT-PCR utilizzata per diagnosticare l'infezione COVID-19 nei pazienti viventi.

Questa è una scoperta importante perché il virus è stato documentato nel plasma, nelle feci e nell'urina^{3,7}, nel liquido seminale e in quello cerebrospinale^{4,5,8}, dimostrando così che è possibile (anche se improbabile) essere infettati da fluidi organici diversi dalle secrezioni respiratorie.

Il rischio di contagio durante le procedure chirurgiche non è ancora stato determinato.

Uno studio condotto in 24 ospedali in Wuhan all'inizio della pandemia ha ipotizzato che fino al 20% dei chirurghi ortopedici è stato infettato da SARS-CoV-2 principalmente attraverso l'esposizione delle vie aeree ai *droplets*

Tabella I. Caratteristiche cliniche e demografiche del campione, tempistiche esame autoptico e risultati dei test.

Paziente	Età	Comorbidità	Data di ricovero	Data e orario autopsia	Tempo intercorso tra decesso e autopsia	Tampone nasofaringeo post mortem (RT-PCR)	RT-PCR post mortem	
							Liquido sinoviale	Tessuto sinoviale
F1	73	Ipotiroidismo, asma bronchiale e BPCO	10/08/2020	11/09/2020 08,30	24 ore, 10 minuti	Positivo	Negativo	Negativo
M1	75	Cardiopatia ischemica, diabete di tipo 2, dislipidemia, epilessia, postumi di ictus cerebrali	14/09/2020	16/09/2020 15,00	54 ore, 20 minuti	Positivo	Negativo	Negativo
M2	79	Ipertensione arteriosa, dislipidemia	18/09/2020	28/09/2020 9,00	24 ore, 45 minuti	Positivo	Negativo	Negativo
M3	87	Cardiopatia ischemica	22/10/2020	29/10/2020 10,30	66 ore, 25 minuti	Positivo	Negativo	Negativo
M4	89	Cardiopatia ischemica, insufficienza renale cronica, fibrillazione atriale, demenza senile	22/10/2020	28/10/2020 11,00	62 ore, 20 minuti	Positivo	Negativo	Negativo

BPCO, broncopneumopatia cronica ostruttiva; RT-PCR.

respiratori infetti¹⁹. I nostri risultati suggeriscono che gli operatori sanitari che eseguono procedure chirurgiche o invasive sulle articolazioni di pazienti affetti da COVID-19 sono esposti a un rischio di contagio dovuto all'esposizione ai droplets respiratori e al sangue, come già evidenziato da Hirschmann et al.²⁰, ma non all'esposizione diretta a fluidi o tessuti articolari.

È quindi plausibile che non vi sia alcun rischio aggiuntivo associato a procedure invasive del ginocchio che coinvolgono pazienti con infezione da SARS-CoV-2.

L'assenza di RNA SARS-CoV-2 nel ginocchio è altresì clinicamente rilevante.

I pazienti affetti da COVID-19 possono essere asintomatici o sintomatici con una sintomatologia variabile da moderata a severa. Le manifestazioni muscoloscheletriche come l'artralgia sono presenti all'incirca nel 15% dei pazienti COVID-19^{21,22} mentre quadri di mialgia si osservano dal 3 al 44% dei casi^{22,23}, ma gli effetti della malattia sull'apparato muscoloscheletrico non sono ancora del tutto chiari. Finora ci sono stati solo sporadici casi di artrite nei pazienti COVID-19^{9,13,24,25}.

Recentemente alcuni Autori hanno riportato casi di poliartriti durante forme severe di COVID-19 trattate in modo simile ad artrite reumatoide o a forme cristallo indotte²⁶⁻²⁸, e l'assenza del virus nel ginocchio evidenziata nel nostro studio suggerisce che è improbabile che SARS-CoV-2 abbia un'azione diretta infiammatoria sull'articolazione; è ancora da dirimere la questione se possa indurre una reazione infiammatoria ritardata che si manifesti come artrite reattiva, come già evidenziato da Di Carlo et al.²⁷ e da Gasparotto et al.²⁹. Il ruolo di SARS-CoV2 nell'indurre un'artrite reattiva è ancora oggetto di studio nonostante i casi descritti presenti in Letteratura²⁶⁻³¹.

L'elevata trasmissibilità del virus, insieme alle stime di mortalità dei casi che vanno dall'1% a oltre il 5% ha suscitato preoccupazione in tutto il mondo. I pazienti con condizioni di comorbidità includendo ipertensione arteriosa, diabete mellito e malattie polmonari sono altamente rappresentati tra i pazienti ricoverati con malattia da COVID-19, suggerendo la presenza di fattori di rischio che possono predisporre una maggiore suscettibilità all'infezione da SARS-CoV-2³². Inoltre, il tropismo tissutale e cellulare è la chiave per comprendere la patogenesi della malattia. Una connessione tra SARS-CoV-2 e ipertensione arteriosa, in particolare, è stata suggerita dalla scoperta dell'enzima che converte l'angiotensina 2 (ACE 2) quale essenziale recettore per SARS-CoV-2. L'espressione e la localizzazione subcellulare del recettore SARS-CoV-2, ACE 2, all'interno delle vie respiratorie superiori (nasali) e di quelle inferiori (polmonari) è già stata studiata dalla comunità scientifica³² e in futuro la presenza del recettore ACE 2 potrebbe essere ricercata nel ginocchio.

Questo studio ha alcune limitazioni: in primis il numero di campioni raccolti è esiguo (n°10), ma comunque rappresentativo data la scarsità di pubblicazioni presenti in Letteratura. Inoltre, poiché non sono stati prelevati campioni da altre articolazioni, i nostri risultati sono limitati alla sede anatomica del ginocchio.

Infine, non abbiamo analizzato fluidi biologici diversi dai fluidi sinoviali e nasofaringei, ma riteniamo che i dati relativi al liquido sinoviale e al tessuto sinoviale siano rilevanti di per sé.

Ulteriori studi sono in corso al fine di indagare la relazione tra citochine, indici di infiammazione e manifestazioni artritiche in pazienti COVID-19, e fornire quindi un razionale per la possibile insorgenza di artrite reattiva.

Conclusioni

Non vi è evidenza di RNA di SARS-CoV-2 nell'articolazione del ginocchio di pazienti affetti da COVID-19.

I nostri risultati suggeriscono che gli operatori sanitari che eseguono procedure chirurgiche o invasive sulle articolazioni di questi pazienti sono esposti a un rischio di contagio, dovuto all'esposizione ai *droplets* respiratori e al sangue, ma non all'esposizione diretta a liquido sinoviale o ai tessuti articolari. Non vi è quindi alcun rischio aggiuntivo associato a procedure invasive del ginocchio che coinvolgono pazienti con infezione da SARS-CoV-2.

È improbabile che SARS-CoV-2 possa determinare, con meccanismo infiammatorio diretto, un quadro artritico come evidenziato recentemente in Letteratura.

Bibliografia

- 1 Zhao D, Yao F, Wang L, et al. A comparative study on the clinical features of coronavirus 2019 (COVID-19) pneumonia with other pneumonias. *Clin Infect Dis* 2020;71:756-761. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa247>
- 2 Cheng ZJ, Shan J. 2019 Novel coronavirus: where we are and what we know. *Infection* 2020; 48:155-163 <https://doi.org/10.1007/s15010-020-01401-y>
- 3 Chen Y, Chen L, Deng Q, et al. The Presence of SARS-CoV-2 RNA in feces of COVID-19 patients. *J Med Virol* 2020;92:833-840. <https://doi.org/10.1002/jmv.25825>
- 4 Li D, Jin M, Bao P, et al. Clinical characteristics and results of semen tests among men with coronavirus disease 2019. *JAMA Netw Open* 2020;3:e208292. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2020.8292>
- 5 Moriguchi T, Harii N, Goto J, et al. A first case of meningitis/encephalitis associated with SARS-Coronavirus-2. *Int J Infect Dis* 2020;94:55-58. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.03.062>
- 6 Maiese A, Manetti AC, La Russa R, et al. Autopsy findings

- in COVID-19-related deaths: a literature review. *Forensic Sci Med Pathol* 2020;17:279-296. <https://doi.org/10.1007/s12024-020-00310-8>
- 7 Novazzi F, Cassaniti I, Piralla A, et al. Detection of the SARS-CoV-2 in different biologic specimens from positive patients with COVID-19, in Northern Italy. *Pediatric Allergy Immunol* 2020;31(Suppl.26):72-74. <https://doi.org/10.1111/pai13366>
 - 8 Mao DW, Thor J, Pagkaliwagan EH, et al. Absence of SARS-CoV 2 in synovial fluid of COVID-19 positive patient: a case report. *Hong Kong Journal of Orthopaedic Research* 2020;3:49-51.
 - 9 López-González M-C, Peral-Garrido ML, Calabuig I, et al. Case series of acute arthritis during COVID-19 admission. *Ann Rheum Dis* 2020;annrheumdis-2020-217914. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2020-217914>
 - 10 Ursini F, Ruscitti P, D'Angelo S, et al. Broad clinical spectrum of SARS-CoV2- associated inflammatory joint disease in adults: a report of 35 cases from the COVID-19 & Autoimmune Systematic Disease Italian study group. *Ann Rheum Dis* 2021;annrheumdis-2021-220606. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2021-220606>
 - 11 Anelli F, Leoni G, Monaco R, et al. Italian doctors call for protecting healthcare workers and boosting community surveillance during covid-19 outbreak. *BMJ* 2020;368:m1254. <https://doi.org/10.1136/bmj.m1254>
 - 12 Federazione nazionale degli ordini dei medici chirurghi e degli odontoiatri (FNOMCeO). Elenco dei Medici caduti nel corso dell'epidemia di Covid-19 | FNOMCeO.
 - 13 Parisi S, Borrelli R, Bianchi S, et al. Viral arthritis and COVID-19. *Lancet Rheumatol* 2020;2:e655-e657. [https://doi.org/10.1016/S2665-9913\(20\)30348-9](https://doi.org/10.1016/S2665-9913(20)30348-9)
 - 14 Wendling D, Verhoeven F, Chouk M, et al. Can SARS-CoV-2 trigger reactive arthritis? *Joint Bone Spine* 2021;88:105086. <https://doi.org/10.1016/j.jbspine.2020.105086>
 - 15 Sarzi-Puttini P, Giorgi V, Sirotti S, et al. COVID-19, cytokines and immunosuppression: what can we learn from severe acute respiratory syndrome? *Clin Exp Rheumatol* 2020;38:337-342.
 - 16 Jung YJ, Park G-S, Moon JH, et al. Comparative analysis of primer-probe sets for the laboratory confirmation of SARS-CoV-2. *ACS Infectious Diseases* 2020;6:2513-2523. <https://doi.org/10.1021/acscinfecdis.0c00464>
 - 17 Sablone S, Solarino B, Ferorelli D, et al. Post-mortem persistence of SARS-CoV2: a preliminary study. *Forensic Science, Medicine and Pathology* 2021;17:403-410. <https://doi.org/10.1007/s12024-021-00375-z>
 - 18 Beltempo P, Curti SM, Maserati R, et al. Persistence of SARS-CoV-2 RNA in post-mortem swab 35 days after death: a case report. *Forensic Sci Int* 2021;319:110653. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2020.110653>
 - 19 Guo X, Wang J, Hu D, et al. Survey of COVID-19 disease among orthopaedic surgeons in Wuhan, People's Republic of China. *J Bone Joint Surg Am* 2020;102:847-854. <https://doi.org/10.2106/JBJS.20.00417>
 - 20 Hirschmann MT, Hart A, et al. COVID-19 coronavirus: recommended personal protective equipment for the orthopaedic and trauma surgeon. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2020;28:1690-1698. Epub 2020 Apr 27. <https://doi.org/10.1007/s00167-020-06022-4>
 - 21 Cipollaro L, Giordano L, Padulo J, et al. Musculoskeletal symptoms in SARS-CoV-2 (COVID-19) patients. *J Orthop Surg Res* 2020;15:178. Available at: <https://jors-online.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13018-020-01702-w> [Accessed November 18, 2020].
 - 22 Guan W-J, Ni Z-Y, Hu Y, et al.; China Medical Treatment Expert Group for Covid-19. Clinical characteristics of Coronavirus disease 2019 in China. *N Engl J Med* 2020;1-13. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2002032>
 - 23 Chung M, Bernheim A, Mei X, et al. CT imaging features of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV). *Radiology* 2020;295:202-207. <https://doi.org/10.1148/radiol.2020200230>
 - 24 Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 2020;395:497-506. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5)
 - 25 Alivernini S, Cingolani A, Gessi M, et al. Comparative analysis of synovial inflammation after SARS-CoV-2 infection. *Ann Rheum Dis* 2020; annrheumdis-2020-218315. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2020-218315>
 - 26 Talarico R, Stagnaro C, Ferro F, et al. Symmetric peripheral polyarthritis developed during SARS-CoV-2 infection. *Lancet Rheumatol* 2020;2:e518-e519. [https://doi.org/10.1016/S2665-9913\(20\)30216-2](https://doi.org/10.1016/S2665-9913(20)30216-2)
 - 27 Di Carlo M, Tardella M, Salaffi F. Can SARS-CoV-2 induce reactive arthritis? *Clin Exp Rheumatol* 2021;39 Suppl 128(1):25-26. Epub 2021 Jan 15
 - 28 Ono K, Kishimoto M, Shimasaki T, et al. Reactive arthritis after COVID-19 infection. *RMD Open* 2020; 6:e001350. <https://doi.org/10.1136/rmdopen-2020-001350>
 - 29 Gasparotto M, Framba V, Piovella C, et al. Post-COVID-19 arthritis: a case report and literature review. *Clinical Rheumatology* 2021;40:3357-3362 <https://doi.org/10.1007/s10067-020-05550-1.30>
 - 30 Saricaoglu EM, Hasanoglu I et al. The first reactive arthritis case associated with COVID-19. *J Med Virol* 2021;93:192-193. <https://doi.org/10.1002/jmv.26296>
 - 31 Parisi P, Borrelli R, Bianchi S, et al. Viral arthritis and COVID-19. *Lancet Rheumatol* 2020;2:e655-667. [https://doi.org/10.1016/S2665-9913\(20\)30348-9](https://doi.org/10.1016/S2665-9913(20)30348-9)
 - 32 Lee IT, Nakayama T, Wu CT, et al. ACE2 localizes to the respiratory cilia and is not increased by ACE inhibitors or ARBs. *Nat Commun* 2020;11:5453. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19145-6>