

ALFONSO MELE, MARIA ELENA TOSTI

Alla ricerca delle cause di malattia: gli studi osservazionali analitici	71
Lo studio di coorte	72
• <i>Conduzione di uno studio di coorte</i> • <i>Tipi di studi di coorte</i> • <i>Possibili bias negli studi di coorte</i>	
Lo studio di prognosi	78
• <i>Conduzione di uno studio di prognosi</i>	
Box	
1. Militari italiani in missione nei Balcani e incidenza di tumori	77
2. Studi di “outcome”	80
3. Calcolo della numerosità campionaria in uno studio di coorte	83

Alla ricerca delle cause di malattia: gli studi osservazionali analitici

La ricerca delle cause che influenzano l'insorgenza o il decorso delle malattie costituisce una delle attività principali dell'epidemiologia. Lo strumento utilizzato per raggiungere questo obiettivo è quello dello studio osservazionale analitico, che valuta l'associazione tra un evento, in genere una malattia, e un fattore di rischio, che ne influenza l'insorgenza o il decorso.

Per la conduzione di uno studio osservazionale analitico, sostanzialmente i soggetti di una data popolazione vengono classificati in base all'esposizione (presenza/assenza o livello di esposizione) a un fattore di rischio, e in base all'evento di interesse (presenza o assenza di malattia), e quindi raggruppati e confrontati. Grazie a questo tipo di classificazione dei soggetti arruolati in uno studio, la maggior parte dell'epidemiologia analitica si

“basa” sulla costruzione di tabelle 2×2 come quella riportata nella figura 7.1.

All'interno dell'epidemiologia analitica, i tipi di studio si differenziano in base ai criteri attraverso i quali vengono “selezionati” i gruppi che andranno poi a riempire le quattro caselle di questa tabella.

Vi sono due diversi approcci all'interno degli studi analitici osservazionali: quello di coorte e quello caso-controllo.

Nello studio di coorte, la selezione della popolazione a rischio (di sviluppare la malattia) e la classificazione di questa in gruppi è fatta a partire dall'esposizione a un determinato fattore di rischio, come schematizzato nella figura 7.2. Nella figura la freccia sta a indicare la direzione nella quale avviene il reclutamento della popolazione.

Altra caratteristica distintiva degli studi di coorte è il *tempo*: infatti, alla selezione della popolazione segue una fase in cui i soggetti arruolati vengono seguiti per verificare quanti sviluppano la malattia; la presenza di un pe-

FIGURA 7.1

Classificazione dei soggetti all'interno di uno studio epidemiologico analitico.

Fattore di rischio	Malattia		
	Presente	Assente	Totale
Presente	a	b	a + b
Assente	c	d	c + d
Totale	a + c	b + d	n

Nelle caselle va collocato il numero dei soggetti classificati in base alla presenza/assenza del fattore di rischio e presenza/assenza di malattia. Quindi ciascuna delle 4 lettere sta a indicare: a) numero di soggetti con la presenza dell'esposizione e malati; b) numero di soggetti con la presenza dell'esposizione e non malati; c) numero di soggetti con assenza di esposizione e malati; d) numero di soggetti con assenza di esposizione e non malati.

riodo di osservazione (follow-up) è, quindi, la caratteristica peculiare dello studio di coorte.

Nello studio di tipo caso-controllo la situazione è invertita e la selezione della popolazione avviene a partire dall'esito: presenza (casi) o assenza di malattia (controlli), come schematizzato nella figura 7.3. Anche in questo caso la freccia sta a indicare la direzione nella quale avviene il reclutamento della popolazione.

La fase di reclutamento è seguita da un'altra fase, nella quale viene ricostruita la storia espositiva dei casi e dei controlli arruolati per lo studio. Non esiste follow-up della popolazione arruolata in uno studio caso-controllo.

In questo capitolo verrà illustrata nel dettaglio la conduzione degli studi di coorte, mentre agli studi caso-controllo è dedicato il capitolo 8.

Lo studio di coorte

Uno studio di coorte molto noto nella storia dell'epidemiologia fu condotto su 5.209 soggetti, inizialmente privi di malattia cardiovascolare, appartenenti alla popolazione adulta (30-62 anni) della cittadina di Framingham, arruolati a partire dal 1948.¹ L'obiettivo primario dello studio fu quello di capire il ruolo di alcuni possibili fattori di rischio quali età, ipertensione, elevati livelli di colesterolo, scarsa attività fisica e diabete nello sviluppo

delle patologie cardiovascolari. La registrazione degli eventi cardiovascolari in questa popolazione fu effettuata attraverso un esame clinico biennale, nonché mediante la sorveglianza delle ospedalizzazioni nell'unico ospedale della città, raccogliendo informazioni dai medici di famiglia e attraverso le certificazioni di morte.

Come si può osservare da questa breve descrizione dello studio di Framingham, il punto di partenza era rappresentato da soggetti che non avevano una malattia cardiovascolare (erano quindi a rischio di svilupparla) e che furono classificati per presenza o assenza di ciascun fattore di rischio. L'insorgenza di eventi cardiovascolari nella popolazione arruolata fu registrata nel corso del tempo di osservazione (follow-up).

In generale, contando gli eventi che si sono verificati in un determinato intervallo di tempo è possibile calcolare e confrontare nei due gruppi (esposti e non esposti) la principale misura di rischio che è il tasso di incidenza (figura 7.4).

Dalla descrizione dello studio di Framingham si evidenzia nuovamente che la caratteristica distintiva degli studi di coorte è il *tempo*. La misura di rischio che viene calcolata nei due gruppi è il tasso di incidenza che, per definizione, è tempo-dipendente (vedi capitolo 2). Una volta calcolati i tassi di incidenza della malattia, nei gruppi che al reclutamento presentavano presenza o assenza di un fat-

	Fattore di rischio	Malattia		Totale
		Presente	Assente	
→	Presente	a	b	a + b
	Assente	c	d	c + d

FIGURA 7.2

Classificazione dei soggetti all'interno di uno studio di coorte.

	Fattore di rischio	Malattia	
		Presente	Assente
	Presente	a	b
	Assente	c	d

FIGURA 7.3

Classificazione dei soggetti all'interno di uno studio caso-controllo.

	Fattore di rischio	Malattia		Tasso di incidenza x tempo	Rischio Relativo
		Presente	Assente		
→	Presente	a	b	$Ie^+ = \frac{a}{a + b}$ $Ie^- = \frac{c}{c + d}$	$RR = \frac{Ie^+}{Ie^-}$
	Assente	c	d		

FIGURA 7.4

Schematizzazione della tabella riassuntiva dei dati di uno studio di coorte: calcolo delle incidenze (Ie^+ e Ie^-) e del RR. Ie^+ = incidenza negli esposti; Ie^- = incidenza nei non esposti.

tore di rischio (ad esempio, ipertensione), il rapporto fra i tassi dà la stima della forza dell'associazione tra il fattore di rischio in esame e lo sviluppo di malattia (ad esempio, malattie cardiovascolari). Questa misura di associazione costituisce il rischio relativo (RR) come indicato nella figura 7.4.

Nell'esempio della tabella 7.1 sono illustrati i dati di uno studio italiano sull'incidenza di malattie cardiovascolari (Progetto CUORE).² Nella tabella sono riportati il numero di eventi e di soggetti a rischio, nonché le stime del tasso di incidenza (per 1.000 per 10 anni) di eventi coronarici in due gruppi: soggetti ad alto rischio e soggetti a rischio intermedio o basso. Il passo successivo è la stima della forza dell'associazione, che si ottiene dividendo l'incidenza degli eventi coronarici tra le persone espo-

ste ad alto rischio con quella delle persone esposte a rischio intermedio o basso; il RR è:

$$RR = \frac{36,26}{7,81} = 4,64$$

Ovvero, il rischio di sviluppare un evento cardiovascolare nelle persone che presentano almeno una delle seguenti condizioni: ipercolesterolemia, ipertensione, diabete e sono fumatori e sovrappeso, è circa 5 volte superiore rispetto a coloro che sono classificati nella categoria a rischio intermedio o basso.

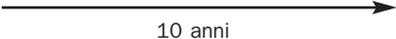
CONDUZIONE DI UNO STUDIO DI COORTE

Dopo la presentazione di questi esempi è bene riassumere le tappe principali della conduzione di uno studio di coorte.

TABELLA 7.1

Studio di coorte sulle malattie cardiovascolari. Calcolo dell'incidenza di eventi coronarici in base alle categorie di rischio.

Fattore di rischio	Sviluppano eventi coronarici	Non sviluppano eventi coronarici	Tasso di incidenza per 10 anni
Soggetti esposti ad alto rischio*	626	16.638	37,26 per 1.000
Soggetti esposti a rischio intermedio** o basso***	30	3.809	7,81 per 1.000



10 anni

* Alto rischio: colesterolo ≥ 240 mg/dl e/o pressione sistolica/diastolica $\geq 140/90$ mmHg e/o trattamento per l'ipertensione e/o body mass index ≥ 30 kg/m² e/o attuale fumatore e/o diabete.

** Rischio intermedio: colesterolo 200-239 mg/dl e/o pressione sistolica/diastolica 120-139/80-89 mmHg, nessun trattamento per l'ipertensione e/o body mass index 25-29,9 kg/m², non fumatore, assenza di diabete.

*** Rischio basso: colesterolo < 200 mg/dl e pressione sistolica/diastolica $\leq 120/80$ mmHg, body mass index < 25 kg/m², non fumatore, assenza di diabete.

Le categorie a rischio intermedio e a rischio basso sono state accorpate a causa dell'assenza di eventi nel gruppo dei non esposti (rischio basso).

Modificato da: Palmieri et al., 2006.³

Il punto di partenza è, come già detto, l'esposizione a un fattore di rischio. L'arruolamento dei soggetti esposti o meno a tale fattore di rischio può avvenire attraverso due diverse modalità:

1. La popolazione in studio si ottiene selezionando un gruppo di persone sane esposte e uno di persone sane non esposte; entrambi i gruppi vengono seguiti per la valutazione dell'esito (outcome). Questo avviene ad esempio in epidemiologia occupazionale, dove i lavoratori di un'industria, esposti a una sostanza potenzialmente tossica, vengono confrontati con lavoratori che invece non vengono a contatto con quella stessa sostanza.
2. Si inizia dalla definizione di una popolazione di riferimento sulla base di alcuni fattori non collegati all'esposizione (ad esempio, comunità di appartenenza, ecc.); in seguito, nell'ambito di questa popolazione si identificano gli appartenenti ai due gruppi (autoselezione): quello degli esposti e quello dei non esposti a un fattore di rischio. Questa strategia di arruolamento è quella seguita nei grandi studi prospettici di popolazione, nei quali generalmente si valuta il ruolo di più esposizioni (studio di Framingham).

* Si definisce "induzione" l'intervallo temporale tra esposizione e insorgenza della malattia; il tempo di induzione si definisce "latenza" nel caso di malattie croniche e "incubazione" nel caso di malattie infettive.

Dopo l'arruolamento della popolazione, si fa un'ulteriore selezione, durante la quale vengono esclusi i casi prevalenti della malattia in studio, ossia quei soggetti che, al momento del reclutamento, hanno già la malattia. Questo processo è necessario perché, attraverso lo studio di coorte, si intende stimare il rischio di un evento (incidenza), e devono quindi essere inclusi solo i soggetti che possono essere a rischio, cioè coloro che non hanno ancora la malattia in studio ma sono suscettibili di acquisirla.

Una volta identificati i soggetti da arruolare, questi devono essere seguiti per il tempo necessario per lo sviluppo di un numero di eventi tale da consentire le stime delle incidenze e dei rischi relativi. Il tempo di follow-up necessario dipende dall'incidenza della malattia in studio e dal suo tempo di induzione* dopo un'esposizione.

La figura 7.5 schematizza la conduzione di uno studio di coorte.

Negli studi di coorte, la presenza del follow-up consente di calcolare e quindi confrontare l'incidenza della malattia nei due gruppi: il fattore di rischio sarà positivamente associato alla malattia se l'incidenza tra gli esposti sarà maggiore dell'incidenza nei non esposti. In caso contrario i fattori sono negativamente associati alla malattia e sono quin-

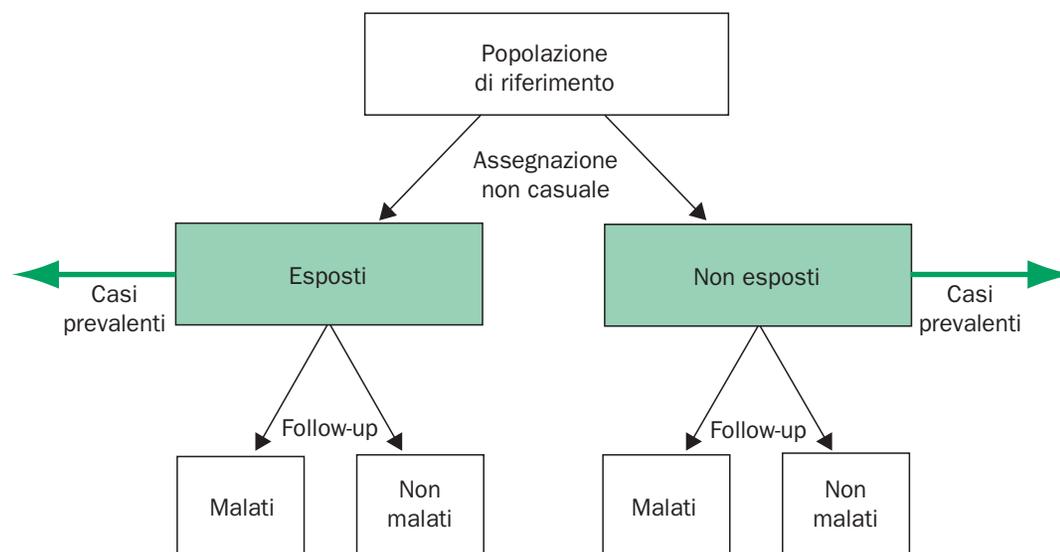


FIGURA 7.5
Disegno di uno studio di coorte.

di non più fattori di rischio ma fattori di protezione. Le misure di associazione ottenibili negli studi di coorte sono il rischio relativo (rapporto dei tassi di incidenza) e il rischio attribuibile (differenza tra i tassi di incidenza; vedi capitolo 2).

Lo studio di coorte si adatta molto bene allo studio di malattie a rapida induzione coinvolgenti gruppi di popolazione ben delimitabili. È questo ad esempio il caso delle tossinfezioni e infezioni di origine alimentare che talvolta coinvolgono i partecipanti a una festa. Gli invitati a un banchetto sono generalmente tutti ben individuabili e, tramite un questionario sui cibi consumati, è possibile calcolare i tassi di incidenza (o tassi di attacco) della malattia, in relazione al consumo di un particolare cibo.

L'esempio illustrato nella tabella 7.2 riporta i dati di un'epidemia di gastroenterite da salmonella, verificatasi tra partecipanti a un banchetto svoltosi in un albergo-ristorante di Paestum nel settembre 1981.⁴ Nella tabella, per ogni cibo servito nel banchetto e considerando tutte le persone che avevano preso parte al banchetto, sono riportati i tassi di attacco registrati, rispettivamente, per coloro che avevano consumato e che non avevano

consumato lo specifico cibo. Dalla tabella emerge che gli alimenti che furono, molto probabilmente, il veicolo del batterio della salmonella erano le crespelle e la cernia: per questi alimenti si rileva infatti una differenza statisticamente significativa dei tassi di attacco registrati in chi aveva o non aveva consumato tali alimenti.

TIPI DI STUDI DI COORTE

Entrambi gli studi riportati negli esempi del paragrafo introduttivo, quello dello studio di Framingham¹ e quello italiano di Palmieri et al.,³ riguardano coorti di persone seguite prospetticamente. Il primo studio iniziò nel 1948, il secondo nel 1986. Coloro che hanno concepito e condotto questi studi hanno dovuto aspettare del tempo prima di osservare un numero di eventi adeguato per poter fare delle affermazioni sui fattori di rischio per le malattie cardiovascolari. Il numero di eventi è funzione del rischio, stimato dal tasso di incidenza, a cui è esposta la popolazione studiata e del tempo di follow-up (durata dello studio). Questo tipo di studio richiede solitamente tempi lunghi. Una possibile, relativa, scorciatoia è quella di selezionare i soggetti

TABELLA 7.2

Tasso di attacco (t.a.)
di gastroenterite
tra i partecipanti
a un banchetto.

	Persone che hanno mangiato			Persone che non hanno mangiato			p*
	Malati (a)	Sani (b)	t.a. %	Malati (c)	Sani (d)	t.a. %	
Prosciutto	20	35	36	1	–	100	0,190
Melone	18	32	36	3	3	50	0,500
Crespelle	20	25	44	1	10	9	0,029
Crostata tagliolini	20	30	40	1	5	16	0,260
Spaghetti	10	15	40	11	20	35	0,720
Cernia	20	25	44	–	10	–	0,008
Patate	8	11	42	13	24	35	0,601
Filetto	18	31	36	3	4	42	0,750
Funghi	14	22	38	7	13	35	0,772
Insalata	19	27	41	2	8	20	0,204
Pesca melba	21	30	41	–	5	–	0,069
Torta	19	27	41	2	8	20	0,203
Ghiaccio	15	26	36	6	9	40	0,812

* All'interno del test statistico di ipotesi, il valore "p" rappresenta la probabilità che una differenza osservata (in questo caso tra due proporzioni) sia dovuta al caso; un valore di $p < 0,05$ viene generalmente interpretato come un test statisticamente significativo, ossia, la probabilità che la differenza osservata sia dovuta al caso è molto piccola ($< 0,05$ appunto) quindi si può concludere che tale differenza è reale.

Modificato da: Salmaso et al., 1982.⁴

che hanno un maggiore rischio di base; ad esempio, nei due studi citati sono stati scelti campioni di popolazione di età superiore a 30 anni (il rischio per malattie cardiovascolari, come quello della maggior parte delle malattie, aumenta con l'aumentare dell'età).

Un'alternativa è quella di ricorrere a coorti retrospettive (studio di coorte non contemporaneo), quando sono disponibili documenti ai quali ci si può riferire per la ricostruzione dell'esposizione e degli eventi insorti nelle persone che compongono il gruppo in studio.

Riassumendo, esistono due tipi di studi di coorte:

1. *Studio di coorte contemporaneo*: nel momento in cui inizia lo studio, si definisce la popolazione a rischio e si esegue il follow-up per l'accertamento dello sviluppo della malattia. Dall'inizio dello studio dovrà passare del tempo (a volte molti anni), prima che questo possa essere terminato. Un vantaggio di questo tipo di disegno è che tutte le informazioni rilevanti per lo

studio possono essere raccolte istantaneamente quando i fatti accadono e quindi è da attendersi che esse siano dettagliate ed esaustive.

2. *Studio di coorte non contemporaneo*: si definisce una popolazione di riferimento, ad esempio i lavoratori di un'industria, per cui si dispone di dati relativi agli anni precedenti, e si esegue il follow-up procedendo dal passato remoto fino al presente. Ovviamente, tutto il follow-up si baserà su informazioni relative all'esposizione e agli eventi raccolte nel passato. Anche utilizzando questo secondo tipo di disegno, si parla comunque di studio di coorte, poiché l'arruolamento della popolazione avviene sempre a partire dall'esposizione, dopo di che si valuta nel tempo l'incidenza dell'evento in studio nei due gruppi, esposti e non esposti. Un inconveniente può essere rappresentato dal fatto che non sempre sarà possibile ottenere accuratamente tutte le informazioni necessarie per lo studio. D'altro canto il vantaggio è che uno studio di que-

BOX 1: MILITARI ITALIANI IN MISSIONE NEI BALCANI E INCIDENZA DI TUMORI◀ **Box 1**

Un esempio di studio di *coorte non contemporaneo* è rappresentato dallo studio sull'incidenza dei tumori nei militari italiani impiegati in missione in Bosnia e Kosovo. Lo studio iniziò nel 2001 e riguardò militari inviati nelle zone sopra citate nel periodo dicembre 1995-gennaio 2001 (gruppo di esposti), avendo l'obiettivo di verificare se queste persone avessero avuto una maggiore incidenza di tumori (rispetto alla popolazione generale) e se un eventuale eccesso di neoplasie potesse essere messo in relazione con l'uranio impoverito dei proiettili utilizzati durante la guerra. Il Ministero della Difesa fornì, per ogni militare impegnato nei Balcani nel suddetto periodo, le seguenti informazioni: luogo e data di nascita, residenza, forza armata e grado, reparto di appartenenza, località di collocazione del reparto, date delle missioni compiute. I casi di tumori, tra gli esposti, furono comunicati ai ricercatori dallo stesso Ministero della Difesa. Per quanto riguarda i non esposti, furono utilizzati i tassi di incidenza dell'insieme dei registri tumori italiani. Questo studio, così concepito, consentì di dare una prima risposta circa il quesito su un possibile eccesso di tumori tra i militari impegnati nei Balcani, che destò l'interesse della stampa e dell'opinione pubblica. Lo studio evidenziò un eccesso, statisticamente significativo, di casi di linfoma di Hodgkin nel gruppo di militari impegnati in Bosnia e/o Kosovo (rispetto ai casi osservati dai registri tumori). Tuttavia i risultati di un'indagine di laboratorio svolta a campione non evidenziarono la presenza di contaminazione da uranio impoverito sui militari italiani impiegati in Bosnia e Kosovo. Sulla base dei dati rilevati e delle informazioni disponibili, non fu comunque possibile individuare le cause dell'eccesso di linfomi di Hodgkin evidenziato dall'analisi epidemiologica svolta.⁵

sto genere può essere condotto anche in un periodo di tempo relativamente breve.

È evidente che la metodica adottata è uguale nei due tipi di studio, contemporaneo e non contemporaneo. Quello che cambia è l'arco di tempo, il periodo in cui si sviluppa lo studio; mentre quello che rimane costante nei due tipi di studi di coorte è la presenza di un follow-up.

POSSIBILI BIAS NEGLI STUDI DI COORTE

Anche se il capitolo 11 è appositamente dedicato al problema del bias (e del confondimento) negli studi epidemiologici, è opportuno trattare qui alcune possibili distorsioni che possono intervenire in uno studio di coorte.

Innanzitutto, poiché si tratta di uno studio di tipo osservazionale, il primo errore che si può commettere è quello di selezionare un gruppo di esposti e un gruppo di non esposti a un fattore di rischio, i quali però sono diversi per altre caratteristiche oltre all'esposizione; quando queste caratteristiche che differenziano i due gruppi non sono note e sono correlate all'esito in studio, i risultati che si otterranno saranno distorti, ci sarà cioè un bias.

A questo tipo di distorsione appartiene il cosiddetto "bias del lavoratore sano" che si verifica quando si confronta la mortalità o morbilità di un gruppo di lavoratori, ad esempio di un'industria, con la popolazione generale. I lavoratori dell'industria, al momento dell'assunzione, sono stati accuratamente selezionati sul piano fisico e quindi, se confrontati con la popolazione generale, possono presentare tassi più bassi degli eventi in studio, sebbene le condizioni di lavoro siano nocive. Per evitare tale distorsione è più appropriato il confronto tra lavoratori con diversi livelli di esposizione. Questo concetto sarà ulteriormente approfondito nel box 1 di p. 148.

Poiché la caratteristica principale degli studi di coorte è la presenza di un follow-up, condizione necessaria affinché i risultati dello studio siano corretti è che tutti i soggetti arruolati vengano seguiti fino al termine del follow-up previsto. Poiché la partecipazione a ogni studio epidemiologico è volontaria, non sempre i soggetti arruolati vorranno o potranno presentarsi a tutti i controlli previsti dal protocollo. La presenza di persi al follow-up, cioè di soggetti che non vengono seguiti per tutto il tempo di osservazione previsto, può

causare distorsioni nei risultati dello studio. Per questo motivo è necessario assumere che i persi al follow-up abbiano una probabilità di evento uguale a quella dei soggetti con follow-up completo; questo equivale a dire che l'abbandono del follow-up deve essere indipendente dal verificarsi dell'evento. In molti casi questa assunzione non è vera, in quanto è più probabile che una perdita avvenga per motivi legati all'evento, soprattutto se si tratta di uno studio di coorte condotto in campo clinico, ossia su pazienti già affetti da una determinata malattia; in questo caso, è probabile che molte delle perdite al follow-up siano legate all'esito. Ad esempio, può accadere che soggetti più gravemente malati si rivolgano a una struttura diversa rispetto a quella che li ha arruolati, o che soggetti che si considerano guariti non si presentino più ai controlli. In presenza di perdite al follow-up legate all'evento in studio, i risultati ottenuti saranno distorti e la distorsione sarà tanto più grande quanto più saranno numerosi i soggetti non seguiti fino al termine dello studio.

Una presentazione più estesa del problema dei soggetti persi al follow-up sarà fornita all'interno del paragrafo successivo dedicato agli studi di prognosi.

Errori possono essere commessi anche in sede di identificazione dell'esposizione; è possibile, infatti, che alcuni esposti siano misclassificati venendo inclusi tra i non esposti e viceversa. Questo tipo di bias fa sì che, rispetto al valore vero, si ottengano sottostime delle misure di associazione (ad esempio, nel caso del RR, la stima sarà più vicina al valore 1 rispetto al RR reale).

Per quanto riguarda l'identificazione dell'evento, è possibile incorrere in errori di misclassificazione che riconoscono diverse cause: ad esempio, la conoscenza dello stato di esposizione del soggetto (esposto o non esposto) può influenzarne la classificazione. Ovviamente ciò non si verifica quando gli esiti da rilevare sono del tutto oggettivi (ad esempio, decesso, valore di un marcatore rilevato attraverso un test di laboratorio, ecc.).

Esiste, invece, la possibilità di incorrere in questo errore ogni volta che l'osservatore ha discrezionalità nell'identificazione dell'esito (ad esempio, lettura di un vetrino derivante da una biopsia).

Un'altra fonte di errore nella rilevazione dell'esito è quello che si chiama "bias da sorveglianza medica", il quale può verificarsi quando un gruppo di soggetti sottoposto a speciale sorveglianza medica viene confrontato con un gruppo che non riceve una sorveglianza altrettanto attenta. Generalmente, sono i soggetti esposti quelli più suscettibili di essere oggetto di una sorveglianza medica più stretta e più approfondita rispetto ai non esposti, a causa della loro esposizione. Conseguenza di questa diversa attenzione durante il follow-up è che tra gli esposti gli esiti vengono diagnosticati prima e, forse, anche più frequentemente, causando così una sovrastima della vera associazione tra esposizione e malattia.

Lo studio di prognosi

Lo studio di prognosi è uno studio di coorte condotto in campo clinico su soggetti già affetti da una determinata patologia, di cui si vuole prevedere l'esito.

Il medico, per rispondere alla domanda che gli rivolge il paziente riguardo alla propria probabilità di guarigione, ha sostanzialmente due strumenti a disposizione. Il primo consiste nel ricorso alla sua esperienza, cioè all'esito della malattia osservato nei pazienti che egli ha seguito nel corso della sua carriera clinica. Il secondo, invece, mette insieme l'esperienza personale e le informazioni che vengono dalla letteratura scientifica, attraverso studi di prognosi ben condotti ed eseguiti su pazienti possibilmente simili a quelli che lui vede nella sua pratica quotidiana. Questo secondo approccio ha l'evidente vantaggio di utilizzare casistiche più ampie, osservate con una metodologia appropriata. Ad esempio, a un paziente al quale è stato tolto un neo, che ha avuto diagnosi istologica di melanoma con spessore di 0,3 mm, si può dare una risposta

circa la prognosi, facendo riferimento ai risultati di uno studio italiano fatto negli anni Novanta su un'ampia casistica. In base a tale studio⁶ (tabella 7.3), la sopravvivenza dei pazienti che ricadono in tale categoria è elevatissima, anche a 10 anni di distanza dalla diagnosi di melanoma.

CONDUZIONE DI UNO STUDIO DI PROGNOSI

Gli studi di prognosi vengono progettati per valutare la probabilità di sopravvivenza e la relazione tra questa e i cosiddetti fattori prognostici. Questi ultimi sono fattori che, prescindendo dall'intervento terapeutico, dipendono sia dalle caratteristiche individuali del paziente (età, sesso, abitudini di vita, ecc.) sia dalle caratteristiche della malattia (stadio, presenza di sintomi, ecc.) e ne possono influenzare il decorso. Gli studi di prognosi possono avere come scopo anche la valutazione dell'efficacia di un trattamento, quando per ragioni di risorse o etiche non sia possibile ricorrere a uno studio sperimentale randomizzato; in questo caso si mettono a confronto almeno due gruppi i cui soggetti hanno ricevuto trattamenti diversi.

Quali siano gli scopi per i quali è stato progettato uno studio di prognosi, l'esito della malattia sarà, in ogni caso, analizzato rispetto al tempo di insorgenza e, quindi, la metodologia utilizzata sarà quella di uno studio di coorte.

Al pari dello studio di coorte, lo studio di prognosi può essere condotto su una casistica già disponibile, attingendo da una documentazione clinica (cartelle cliniche, ecc.)

già esistente, nel rispetto delle norme sulla riservatezza dei dati personali, e quindi utilizzando informazioni raccolte nell'ambito della normale routine. Altra possibilità per condurre uno studio di prognosi è quella di pianificare l'arruolamento di tutti i nuovi casi che arriveranno all'osservazione di uno o più ospedali. In questo secondo caso si potrà disporre naturalmente anche di dati non abitualmente registrati e le modalità di raccolta delle informazioni potranno essere meglio definite e standardizzate.

I due approcci sopra descritti, quello che fa riferimento agli archivi e quello invece che riguarda i casi di nuova osservazione, si definiscono rispettivamente "studio prognostico retrospettivo" e "studio prognostico prospettico".

I punti fondamentali da considerare nell'impostazione e conduzione di uno studio di prognosi sono i seguenti:

1. selezione dei pazienti e loro rappresentatività;
2. definizione e modalità di individuazione dell'esito;
3. tasso di follow-up.

Di seguito sono presentati i tre punti nel dettaglio.

SELEZIONE DEI PAZIENTI E LORO RAPPRESENTATIVITÀ

In teoria, sarebbe auspicabile che l'arruolamento dei pazienti per uno studio di prognosi avvenisse il più possibile in prossimità dell'inizio della malattia (*inception cohort*), co-

Spessore di Breslow (mm)	n.	%	Sopravvivenza a 5 anni	Sopravvivenza a 10 anni
0,00-0,75	127	29,2	97,9%	97,9%
0,76-1,49	100	23,0	92,7%	85,1%
1,50-3,00	123	28,3	72,3%	48,9%
>3,00	85	19,5	51,5%	40,6%

Modificato da: Corona et al., 1994.⁶

TABELLA 7.3

Sopravvivenza a 5 e 10 anni dalla diagnosi di melanoma in base allo spessore di Breslow.

Box 2 ►

BOX 2: STUDI DI “OUTCOME”

All'interno degli studi di prognosi si collocano i cosiddetti “studi di esito” (o “outcome”, utilizzando un termine anglosassone invalso in epidemiologia) che stanno assumendo un'importanza sempre maggiore a causa della crescente necessità di valutare, in modo rigoroso, l'appropriatezza e l'efficacia dei trattamenti offerti dai servizi sanitari.

Si tratta di studi nei quali vengono messi a confronto gli esiti (ad esempio, guarigioni) di interventi sanitari prestati in due o più centri. Il disegno migliore, per arrivare a una valutazione di questo genere, è proprio quello degli studi di prognosi.

Un esempio è lo “Studio degli esiti a breve termine degli interventi di By-Pass AortoCoronarico (BPAC) nelle cardiocirurgie italiane”.⁷ Questo studio, iniziato nel 2002, rappresenta il primo tentativo di valutare indicatori di qualità dell'assistenza (performance) all'interno del Sistema Sanitario Nazionale Italiano. Scopo dello studio era confrontare la mortalità a 30 giorni registrata dopo operazione di by-pass aorto-coronarico, nella quasi totalità dei centri italiani di cardiocirurgia. In generale, lo studio ha dimostrato e confermato il buon livello della cardiocirurgia italiana, dato che il tasso di mortalità è stato in media del 2,6%, assolutamente confrontabile con quanto riportato in altri studi internazionali. Al di là di questo risultato confortante, l'intervallo di variazione dei tassi di mortalità aggiustati secondo i criteri del “risk adjustment” è risultato molto ampio (0,26%-8,76%), evidenziando l'esistenza di preoccupanti differenze tra le prestazioni offerte dai vari centri.

Questo studio ha messo in evidenza che i sistemi di valutazione comparativa degli esiti risultano utili alle singole strutture ospedaliere, per individuare criticità e settori che richiedono maggior attenzione o riorganizzazione, al fine di garantire un elevato standard qualitativo di assistenza.

Poiché una delle caratteristiche degli studi di prognosi è l'omogeneità dei pazienti arruolati, per uno studio osservazionale sugli esiti è necessaria l'applicazione di un metodo di “risk adjustment” (vedi capitolo 11) che tenga conto delle differenze tra i pazienti arruolati dai diversi centri. Le differenze possono riguardare la severità della malattia e tutte le variabili prognostiche che descrivono il rischio preoperatorio dei pazienti. Un approccio statistico di tipo “multilevel” potrà consentire di tener conto, contemporaneamente, anche di fattori caratteristici dei centri clinici dove avviene la prestazione sanitaria.⁸

sa che generalmente è molto difficile da realizzare, se non impossibile, in quanto spesso il paziente viene osservato nel momento in cui i sintomi richiamano l'attenzione sua e del suo medico. Nella pratica, viene scelto come punto di inizio di osservazione della coorte (punto zero) il momento di esordio clinico più precoce, ad esempio, per l'epatite cronica, il riscontro di un'ipertransaminasemia.

Nell'ambito di studi di prognosi diversi ma riguardanti la stessa malattia, l'arruolamento di pazienti in momenti differenti del decorso naturale della malattia stessa comporta stime di eventi (guarigione, complicanze, morte, ecc.) diverse tra di loro. Un esempio di ciò è illustrato nella figura 7.6, ove sono riportate le curve di sopravvivenza di due studi condotti sulla prognosi della cirrosi.^{9 10} I pazienti del secondo studio sopravvivevano più a lungo rispetto a quelli arruolati nel primo. La minore sopravvivenza rilevata nel primo stu-

dio era da imputarsi alla differente proporzione di soggetti con ascite (minore nel secondo studio). La differente proporzione di pazienti con ascite, quindi in stadi diversi della malattia, coincideva anche con le diverse modalità di arruolamento dei malati. Nel primo studio si trattava di pazienti ricoverati e quindi più gravi, nel secondo di pazienti ambulatoriali.

Il luogo di reclutamento può così, per alcune patologie, selezionare i pazienti per livello di gravità.

La figura 7.7 rappresenta una schematizzazione della storia naturale della cirrosi; questa è caratterizzata da almeno due fasi differenti (cirrosi compensata e cirrosi ascitica o scompensata). L'arruolamento di pazienti che si trovano in fasi diverse di malattia fa sì che, a parità di sopravvivenza reale, la sopravvivenza osservata sia diversa a seconda del momento in cui è avvenuto il reclutamento.

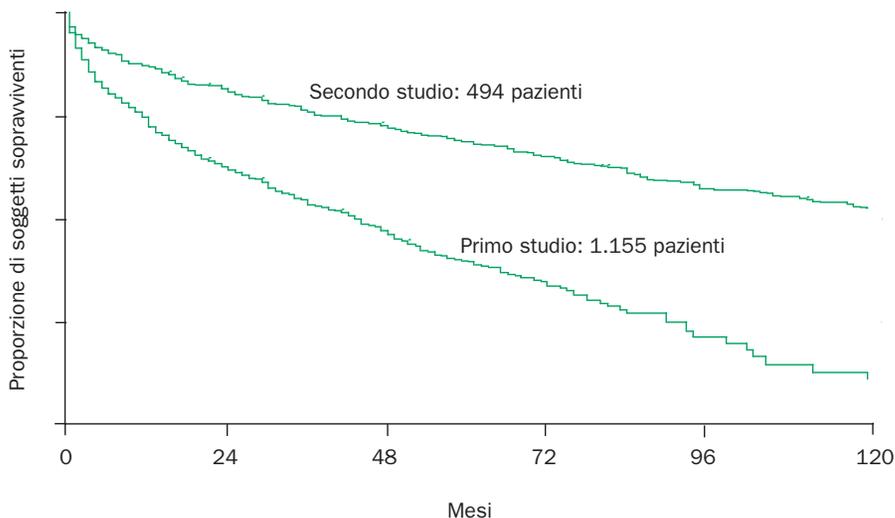


FIGURA 7.6
Curve di sopravvivenza in due studi prospettici sulla storia naturale della cirrosi svolti in uno stesso centro con arruolamento dei pazienti in due diverse fasi della malattia.

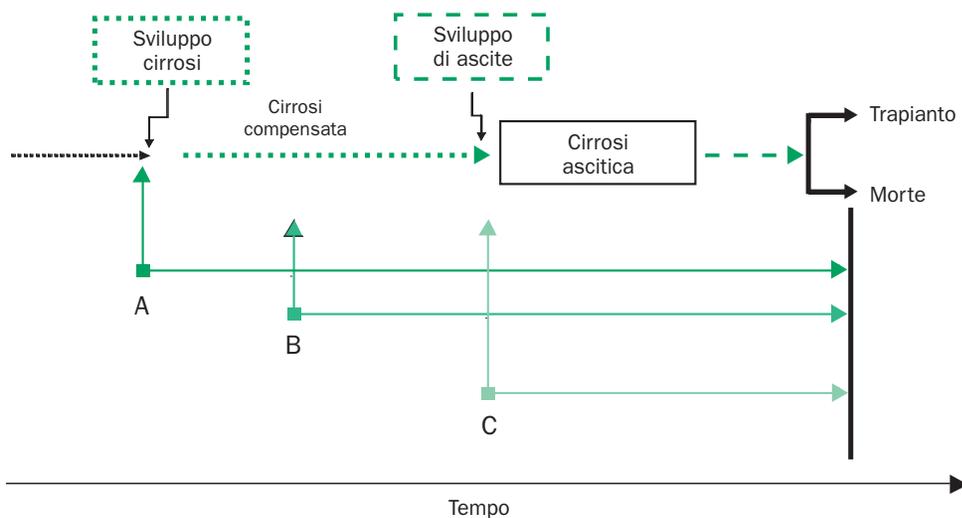


FIGURA 7.7
Rappresentazione schematica della storia naturale della cirrosi e della differente sopravvivenza attesa, in funzione del momento di arruolamento lungo il decorso della malattia.

La figura schematizza la storia naturale della cirrosi. Le tre frecce indicano possibilità di diagnosi in momenti diversi del decorso della malattia. Naturalmente, a parità di sopravvivenza reale, la sopravvivenza osservata sarà diversa a seconda che il tempo venga calcolato a partire da A oppure da B o da C.

Metodi e strumenti di diagnosi a diversa sensibilità individueranno una malattia in una fase più o meno precoce. L'esempio più eclatante è dato dagli screening oncologici, i quali individuano un tumore durante una fase preclinica più o meno lunga (*lead time*). La

conoscenza della lunghezza della fase preclinica è importante nella valutazione della sopravvivenza e del guadagno reale (in termini di maggiore sopravvivenza) ottenuto con lo screening. Si rimanda al capitolo 13 per l'approfondimento di questi concetti.

DEFINIZIONE E MODALITÀ DI INDIVIDUAZIONE DELL'ESITO

I due criteri che devono ispirare la scelta del tipo di esito a cui possono andare incontro i soggetti sono la sua rilevanza e la chiarezza della sua definizione.

La rilevanza dell'evento che costituirà l'esito di interesse è in relazione allo specifico scopo dello studio. Le modificazioni di un parametro biochimico e di un singolo sintomo, in un gruppo di pazienti trattati con un particolare farmaco, possono essere importanti al fine di comprendere alcuni meccanismi fisiopatologici, ma possono essere irrilevanti ai fini della valutazione del miglioramento della qualità della vita dei pazienti e dell'allungamento della loro sopravvivenza.

Una chiara definizione dell'esito consente una maggiore specificità e affidabilità (reliability) del suo rilevamento. Anche le modalità di individuazione dell'esito devono essere chiaramente definite e devono essere note le loro caratteristiche di validità e riproducibilità (vedi capitolo 3).

Nello studio sugli effetti della terapia con disegno osservazionale (studio di prognosi), allo stesso modo di quando viene utilizzato un disegno sperimentale, possono talvolta essere utilizzati esiti surrogati. La motivazione del loro utilizzo risiede nel fatto che la valutazione di esiti clinicamente rilevanti, come la sopravvivenza, richiede solitamente tempi di osservazione molto lunghi. Un esempio di esito surrogato è la normalizzazione persistente dei livelli ematici delle transaminasi in uno studio che valuti l'efficacia della terapia con interferone e ribavirina nel trattamento dell'epatite cronica C. È noto che l'elevazione dei livelli delle transaminasi è indice di citolisi epatica. Sebbene sia verosimile che l'assenza di citolisi correli con la non replicazione del virus e con il rallentamento se non addirittura con il blocco della malattia, saranno soltanto gli studi che avranno come outcome la sopravvivenza dei pazienti a dare una risposta del tutto appropriata al quesito di fondo, cioè l'efficacia della terapia.

In uno studio longitudinale di notevole durata, le modalità diagnostiche e/o terapeutiche di una determinata malattia possono subire evoluzioni nel corso dell'esecuzione dello studio stesso. In questi casi si pongono problemi di confrontabilità dei pazienti, la cui malattia è stata diagnosticata con modalità a diverso grado di validità e riproducibilità o curata con terapie a differente efficacia. In teoria, tutto ciò dovrebbe essere evitato ma, se si verificasse, sarebbe necessario avere consapevolezza di come e quando le procedure sono state modificate in modo da poter dividere la coorte di pazienti in due gruppi (ad esempio, prima o dopo l'introduzione della nuova procedura); questa divisione della coorte, oltre a dar luogo a gruppi all'interno dei quali è eliminato il problema del cosiddetto "trend temporale" (vedi capitolo 10), permette di confrontare le due prognosi.

Nell'accertamento di un esito possono intervenire distorsioni dipendenti dalla mancata "cecità" dell'osservatore (vedi capitolo 9). Infatti, la valutazione della presenza dell'esito può essere influenzata dalla conoscenza, da parte del ricercatore, della presenza o meno di un fattore prognostico per la malattia in studio (*diagnostic-suspicion bias*) o dalla conoscenza del quadro clinico del paziente (*expectation bias*).

TASSO DI FOLLOW-UP

I pazienti possono entrare nello studio in momenti diversi nell'arco di tempo stabilito per il loro arruolamento. Ciò comporta che una quota di soggetti potrebbe uscire dall'osservazione prima che il periodo di osservazione previsto sia completato: questi pazienti, nel momento della loro uscita, sono definiti, utilizzando la terminologia anglosassone, *censored*. Ad esempio, in uno studio iniziato il 1° gennaio 2000 e conclusosi il 31 dicembre 2007, un paziente arruolato il 1° gennaio 2005 risulterebbe essere censored al completamento del 3° anno di osservazione, non raggiungendo gli 8 anni di osservazione previsti dal protocollo dello studio. Tale paziente è

uscito dallo studio per cause “amministrative”, che dipendono, cioè, dall’organizzazione dello studio, e quindi indipendenti dalla sua volontà; per quanto detto, questi soggetti sono definiti anche *censored amministrativi*. Data la natura di queste perdite, si può assumere come vero il fatto che la futura esperienza del paziente, relativamente allo stato di salute, sia simile a quella dei soggetti rimasti in osservazione per tutto l’arco del follow-up.

Ben diverso è il caso di coloro che, a un certo momento dello studio, non si presentano ai controlli previsti e dei quali non si hanno più

informazioni. Tali pazienti potrebbero essere morti a causa della malattia o aver sviluppato una complicanza di essa. Alternativamente si potrebbe pensare che questi pazienti possano essere migliorati al punto di non ritenere utili ulteriori controlli. In questo caso è difficile assumere che i “persi al follow-up” (*lost*) possano avere la stessa probabilità di evento di coloro che restano in osservazione.

Premesso che, in uno studio che prevede un follow-up, va fatto ogni sforzo possibile per minimizzare il numero dei “persi al follow-up”, in sede di analisi si possono considerare i

BOX 3: CALCOLO DELLA NUMEROSITÀ CAMPIONARIA IN UNO STUDIO DI COORTE

◀ **Box 3**

L’approccio teorico statistico per il calcolo della numerosità campionaria verrà visto in maniera più completa all’interno del capitolo 9; esiste inoltre un’abbondante letteratura alla quale ci si può rivolgere.^{11 12} Di seguito verrà dato un accenno su quali sono gli elementi necessari per il calcolo.

L’intento di uno studio di coorte è quello di stimare due tassi di incidenza (incidenza negli esposti e incidenza nei non esposti) e confrontarli tra loro – attraverso rapporto (rischio relativo) o differenza (rischio attribuibile). Per stimare il numero di soggetti da reclutare per raggiungere lo scopo è necessario avere una stima preliminare del rischio di base (ad esempio, l’incidenza dell’evento nel gruppo di controllo). Un altro elemento indispensabile è un’ipotesi sulla differenza tra i tassi che si vuole mettere in evidenza attraverso lo studio. È intuitivo che minore sarà la differenza che si vuole rilevare, maggiore sarà l’ampiezza del campione richiesta.

Nel caso in cui si voglia reclutare un ugual numero di soggetti nei due gruppi, la formula da utilizzare per il calcolo è la seguente:

$$Z_{\alpha/2} \cdot \left[\frac{P_0 \cdot (1 - P_0)}{n} + \frac{P_0 \cdot (1 - P_0)}{n} \right]^{\frac{1}{2}} + Z_{\beta} \cdot \left[\frac{P_0 \cdot (1 - P_0)}{n} + \frac{P_e \cdot (1 - P_e)}{n} \right]^{\frac{1}{2}} = \Delta$$

dove:

n = numero di soggetti da reclutare per ogni gruppo

P₀ = proporzione di eventi tra i non esposti

P_e = proporzione di eventi tra gli esposti

α = probabilità di errore di I tipo (generalmente è posto = 0,05)

β = probabilità di errore di II tipo (generalmente è posto = 0,20)

Z_{α/2} = quantile della distribuzione normale standardizzata al di là del quale si trova l’α/2% della distribuzione (per α = 0,05 → Z_{α/2} = 1,96)

Z_β = quantile della distribuzione normale standardizzata al di là del quale si trova il β% della distribuzione (per β = 0,20 → Z_β = 0,84)

Δ = differenza tra le due proporzioni (P₀ – P_e)

Risolvendo la formula rispetto a “n” si ottiene il numero di soggetti da reclutare per ogni gruppo:

$$n = \left\{ \frac{Z_{\alpha/2} \cdot [2 \cdot P_0 \cdot (1 - P_0)]^{\frac{1}{2}} + Z_{\beta} \cdot [P_0 \cdot (1 - P_0) + P_e \cdot (1 - P_e)]^{\frac{1}{2}}}{\Delta} \right\}^2$$

Si rimanda ai testi citati in bibliografia per le formule utilizzabili nel caso in cui si voglia una numerosità diversa nei due gruppi a confronto.^{11 12}

due casi estremi (analisi di sensibilità): che tutti i “persi” abbiano sviluppato l’evento o che nessuno di essi lo abbia sviluppato. Si consideri il caso di un follow-up condotto su 100 pazienti con un tasso di follow-up del 92%: 8 pazienti “persi al follow-up”. A conclusione dello studio, 40 dei 92 pazienti seguiti hanno sperimentato l’evento: 43%. Ipotizzando che tutti gli 8 “persi” abbiano sperimentato l’evento, si avrebbe $(40+8)/100 = 48\%$. Nell’ipotesi estrema opposta, cioè che nessuno degli 8 persi abbia sperimentato l’evento, si avrebbe $40/100 = 40\%$. In conclusione, in entrambi i casi considerati si avrebbero valori della stima della probabilità di sviluppare l’evento (48% e 40%) non lontani dalla stima del 43%, ottenuta escludendo dal calcolo i persi al follow-up.

Nell’ipotesi in cui gli eventi fossero ben più rari, la situazione sarebbe diversa. Infatti, considerando lo stesso tasso di perdite al follow-up (8%), l’occorrenza di un solo evento tra i 92 soggetti rimasti in osservazione darebbe una probabilità di evento dell’1,1%. Considerando gli 8 persi tutti al numeratore (presenza dell’evento), si avrebbe $(1+8)/100 = 9\%$. Nell’altra ipotesi: $1/100 = 1\%$. Nel caso in cui gli 8 soggetti persi avessero tutti sperimentato l’evento, si avrebbero risultati completamente diversi dalla stima dell’1,1%: le conclusioni dello studio sarebbero perciò fortemente inficiate da una perdita al follow-up dell’8% dei pazienti arruolati.

Dai due esempi sopra illustrati, appare evidente che un determinato tasso di persi al follow-up avrà ripercussioni tanto più gravi sulle stime quanto maggiore sarà la rarità dell’evento in studio.

In considerazione dell’importanza che il problema dei persi al follow-up ha negli studi di prognosi, è necessario tentare di capire, per quanto è possibile, se la loro uscita dallo studio possa essere associata all’esito. L’unico modo per capire ciò è confrontare i due gruppi di pazienti (pazienti con follow-up completo e pazienti non più rintracciabili) in base alle caratteristiche disponibili per l’intera coorte, costituite, in genere, da tutte le infor-

mazioni raccolte al momento dell’arruolamento. Ad esempio, in uno studio sulla prognosi del melanoma è fondamentale costruire una tabella in cui i soggetti persi di vista siano descritti (e confrontati con i soggetti con follow-up completo), oltre che per età e sesso, anche per uno dei fattori prognostici principali del melanoma che è lo spessore della lesione (spessore di Breslow).

Infine va precisato che non esiste una regola che indichi qual è l’ordine di grandezza accettabile in merito alle perdite dei soggetti arruolati nello studio; l’esempio visto in precedenza ha evidenziato come una stessa percentuale di perdite dell’8% abbia avuto un effetto molto diverso a seconda della frequenza dell’evento in studio.

Nel caso di persi al follow-up, un possibile errore in sede di analisi è di non considerare, nei calcoli dei tassi o delle probabilità, i persi per il periodo in cui sono stati osservati. Quello che invece viene fatto nella pratica è unire i censored amministrativi e i “persi al follow-up”, che vengono analizzati insieme e vengono definiti, nel complesso, semplicemente censored o osservazioni troncate; l’esperienza di questi soggetti viene presa in considerazione dal momento del loro ingresso nella corte fino a quando escono dal follow-up.

Bibliografia

1. Kannel WB. CHD risk factors: a Framingham study update. *Hosp Pract* 1990; 25 (7): 119-27, 130.
2. Progetto CUORE. <http://www.cuore.iss.it>.
3. Palmieri L, Donfrancesco C, Giampaoli S, et al. Favorable cardiovascular risk profile and 10-year coronary heart disease incidence in women and men: results from the Progetto CUORE. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2006; 13 (4): 562-70.
4. Salmaso S, Rosmini F, Greco D, et al. Salmonellosi: l’approccio epidemiologico allo studio di un’epidemia (Paestum 1981). *Ann Sclavo* 1982; 24 (4): 402-13.

5. Mandelli F, Biagini C, Grandolfo M, Mele A, Onufrio G, Tricarico VA. Seconda relazione della commissione istituita dal Ministro della Difesa sull'incidenza di neoplasie maligne tra i militari impiegati in Bosnia e Kosovo. *Epidemiol Prev* 2001; 25 (3): 105-12.
6. Corona R, Sciò M, Mele A, et al. Survival and prognostic factors in patients with localised cutaneous melanoma observed between 1980 and 1991 at the Istituto Dermatologico dell'Immacolata in Rome, Italy. *Eur J Cancer* 1994; 30A (3): 333-8.
7. Seccareccia F, Perucci CA, D'Errigo P, et al., on behalf of the research group of the Italian CABG Outcome Study. The "Italian CABG Outcome Study": Short-term outcomes in patients with coronary artery bypass graft surgery. *Eur J Cardiothorac* 2006; 29: 56-64.
8. D'Errigo P, Tosti ME, Fusco D, Perucci CA, Seccareccia F, on behalf of the research group of the Italian CABG Outcome Study. Use of hierarchical models to evaluate performance of cardiac surgery centres in the Italian CABG outcome study. *BMC Med Res Methodol* 2007; 7 (1): 29.
9. D'Amico G, Morabito A, Pagliaro L, Marubini E. Survival and prognostic indicators in compensated and decompensated cirrhosis. *Dig Dis Sci* 1986; 31: 468-475.
10. D'Amico G, Pasta L, Madonna S, et al. The incidence of esophageal varices in cirrhosis. *Gastroenterology* 2001; 120 (5): A2.
11. Armitage P, Berry G, Matthews JNS. *Statistical methods in medical research*. Fourth Edition. Oxford: Blackwell, 2002.
12. Kahn HA, Sempos CT. *Statistical methods in epidemiology*. New York: Oxford University Press, 1989.