



Universidad de Valladolid

**PROGRAMA DE DOCTORADO EN INVESTIGACIÓN
BIOMÉDICA**

TESIS DOCTORAL:

**COMBINACIÓN DE INFORMACIÓN
BIOLÓGICA PARA LA ESTRATIFICACIÓN DE
LA GRAVEDAD Y PREDICCIÓN DEL
PRONÓSTICO EN LA INFECCIÓN**

Presentada por
AMANDA DE LA FUENTE VÁZQUEZ
para optar al grado de
Doctor/a por la Universidad de Valladolid

Dirigida por:

Dr. JESÚS FRANCISCO BERMEJO MARTÍN

La presente Tesis Doctoral ha sido realizada gracias a:

- “Validación de un score molecular de fallo de órgano para mejorar la detección de sepsis y shock séptico utilizando un inmunoensayo basado en microfluídica (SIMPLE-SEPSIS)

Entidad financiadora: Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional «Una manera de hacer Europa»

Referencia del proyecto: PI19/00590

Duración del proyecto: 3 años (2020-2023)

- Contratos predoctorales de formación en investigación en salud (PFIS)

Entidad financiadora: Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) cofinanciado por el Fondo Social Europeo «Invertir en tu futuro»

Referencia: FI20/00278

Duración del contrato: 3 años y 6 meses (2021-2024)

- Ayudas para financiar la contratación predoctoral de personal investigador Junta de Castilla y León

Entidad financiadora: Junta de Castilla y León y el Fondo Social Europeo

Beneficiario: Amanda de la Fuente Vázquez

Duración del contrato: 6 meses (2020)



Cofinanciado por
la Unión Europea



“El éxito es la suma de pequeños esfuerzos repetidos día tras día.”

Robert Collier

*A mis padres, por su infinita paciencia, su apoyo constante
y darme la libertad de seguir mi propio camino.*

*A lala Maruja, cuyo recuerdo ilumina mi vida, por ser mi
refugio de sabiduría y cariño.*

AGRADECIMIENTOS

Tras estos años, la finalización y defensa de esta Tesis Doctoral representa el esfuerzo, la dedicación y el compromiso necesario para alcanzar el título de Doctora. Este proceso no solo es un logro académico, sino también una oportunidad para reflexionar sobre todas las personas que me han acompañado y han colaborado, directa o indirectamente, en este camino. A todas ellas, gracias.

En primer lugar, me gustaría expresar mi más sincero agradecimiento a los pacientes y familiares que, de manera completamente voluntaria y altruista, participaron en los estudios que contiene esta tesis. Su generosidad y disposición, a pesar de saber que probablemente no obtendrían un beneficio directo, han sido fundamentales para que este trabajo fuese posible.

Asimismo, quiero dedicar unas palabras a quien hizo posible el inicio de este camino y marcó mi trayectoria en la investigación: Jesús, mi director de tesis. Gracias por todo lo que me has enseñado durante estos años; de ti he aprendido no solo los conocimientos, sino también el amor y respeto por esta hermosa profesión. Agradezco profundamente tu paciencia, tu confianza, las oportunidades que me has brindado y tu capacidad para valorar mi trabajo y esfuerzo, independientemente de los resultados obtenidos.

Por supuesto, otra parte fundamental de este camino ha sido el equipo de Biosepsis: Nadia, Ana, Alicia y Tamara. Nadia, muchas gracias por llegar, unirte a este equipo y ser una guía para mí. Tu experiencia y los pasos ya recorridos en esta profesión han sido una referencia que me ha ayudado a mejorar los míos. Ana, aprender de ti siempre es un privilegio, y tu conocimiento en microbiología ha enriquecido profundamente mi perspectiva sobre la infección y su abordaje. Alicia y Tamara, quiero agradecerlos por crear una atmósfera de trabajo tan positiva y por vuestra constante disposición para ayudar. Todas vosotras, habéis hecho que estos años sean mucho más amenos y llevaderos. Por último, aunque ya no forme parte del equipo, quiero dedicar unas palabras a Raquel. Gracias por apoyarme en mis primeros pasos, a pesar de mi falta de experiencia y compartir enseñanzas fundamentales para avanzar en este bonito camino.

También quiero dar las gracias a otra parte importantísima para que estos trabajos salgan adelante como es todo el personal de los Servicios de Anestesia y Reanimación del Hospital Río Hortega de Valladolid, del Complejo Asistencial Universitario de Salamanca y del Complejo Asistencial Universitario de León; el servicio de Urgencias del Hospital Río Hortega de Valladolid; el Servicio de Cirugía General y Aparato digestivo del Complejo Asistencial Universitario de Salamanca. Agradecer a enfermeros, residentes, adjuntos y a todo los que han participado en este proyecto. Gracias por vuestra dedicación y esfuerzo, incluso en el contexto tan difícil que supuso la pandemia. Agradecer también a los Drs. Emilio Maseda y Alejandro Suarez de la Rica, que también colaboraron en este trabajo durante su estancia en el Hospital Marqués de Valdecilla de Santander.

A mis biodamas y biocaballeros, como cariñosamente los denominaba mi amigo, el Dr. Iván Aldavero hace unos meses, gracias por aparecer hace ya 10 años, cuando comenzaba mi grado en Biología en Salamanca, y por seguir formando parte de esta historia hasta hoy y espero que durante muchos años más. Mi Luci, tú eres la siguiente, gracias profundamente por tu apoyo incondicional.

A Fran, Eva, Pili e Ignacio, gracias por cruzaros en mi vida durante aquel año en mi querida Granada. Gran parte de la motivación que me llevó a seguir este camino fue gracias a vosotros.

Gracias a mis amigos de toda la vida, a mi Skarebull, que, aunque hayan sido años de una presencia muy intermitente en vuestras vidas y hayáis tenido que escuchar historias llenas de palabras que seguramente os sonaban extrañas como sepsis, biomarcadores, PCRs, papers o reviews, siempre habéis estado ahí. Gracias en especial a ti, Natalia. Este último año, aquellos dos meses que pasamos en Madrid tu presencia me ayudo a dar ese último empujón para terminar la tesis, motivada por tu disciplina y perseverancia. Dices que parte de tu éxito profesional es gracias a mí, pero lo que quizá no sabes es que parte de que esta tesis haya llegado a su fin es también gracias a ti. Por mucho que nuestros caminos puedan separarse, siempre has estado a mi lado.

Pablo, gracias por aparecer en el último tramo y acompañarme de la mano en el fin de esta aventura. Tu apoyo incondicional, brindándome estabilidad en los momentos más difíciles, ha sido fundamental para que pudiera seguir adelante.

Gracias a toda mi familia, por hacerme sentir siempre lo orgullosos y orgullosas que estáis de mí, me llena el alma teneros conmigo. En especial a ti Denis, por celebrar siempre cada uno de mis logros académicos y profesionales como si fueran los tuyos.

Por último, agradecer a las personas que me han inspirado en este camino. A mis padres por su paciencia, amor incondicional y por confiar siempre en mí, permitiéndome forjar mi propio camino con libertad y seguridad. Y a mi abuela, lala Maruja, que siempre serás la mujer de mi vida, ejemplo de valentía y fortaleza.

Amanda de la Fuente Vázquez

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS	17
ÍNDICE DE FIGURAS	19
ABREVIATURAS	21
RESUMEN	27
1. INTRODUCCIÓN	31
1.1. SEPSIS	33
1.1.1. Historia y definiciones de la Sepsis	33
1.1.2. Epidemiología de la Sepsis	39
1.1.3. Fisiopatología de la Sepsis	41
1.1.4. Diagnóstico y pronóstico de la Sepsis	51
1.2. COVID-19	56
1.2.1. Historia de la COVID-19	56
1.2.2. Epidemiología de la COVID-19	57
1.2.3. SARS-CoV-2	59
1.2.4. Fisiopatología de la COVID-19	60
1.2.5. Diagnóstico de la COVID-19	66
1.3. BIOMARCADORES EN LAS ENFERMEDADES INFECCIOSAS	70
1.3.1. Biomarcadores en la Sepsis	71
1.3.2. Biomarcadores en la COVID-19	76
1.3.3. Combinación de biomarcadores	78
2. HIPÓTESIS	81
3. OBJETIVOS	85
4. MATERIALES Y MÉTODOS	89
4.1. DISEÑO Y CARACTERÍSTICAS DEL ESTUDIO	91
4.2. RECOGIDA Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS	93

4.3. METODOLOGÍA DE LA RECOGIDA DE DATOS	95
4.4. ANÁLISIS DE MARCADORES	97
4.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	103
4.6. ASPECTOS ÉTICOS Y DEONTOLÓGICOS	107
5. RESULTADOS	109
5.1. ESTUDIO DEL CONTINUO INFECCIÓN-SEPSIS	111
5.1.1. Análisis descriptivo de la cohorte de Derivación	111
5.1.2. Niveles de biomarcadores a lo largo de los grupos de estudio	117
5.1.3. Área bajo la curva de los biomarcadores para detectar grupo IDS	122
5.1.4. Análisis de regresión lineal entre biomarcadores y la puntuación SOFA en el grupo IDS	124
5.1.5. Análisis descriptivo de la cohorte de Validación	128
5.1.6. Evaluación de Dys-4 en la cohorte de Validación.	130
5.2. ESTUDIO COVID-19	134
5.2.1. Análisis descriptivo	134
5.2.2. Construcción de tres categorías de pacientes	136
5.2.3. Análisis descriptivo por grupo de pacientes	141
5.2.4. Asociación de los grupos de pacientes con el riesgo de hospitalización	146
5.2.5. Asociación de los grupos de pacientes con la presencia de infiltrados bilaterales	147
5.2.6. Análisis de supervivencia a 28 días desde la admisión en las Urgencias hospitalarias.	148
6. DISCUSIÓN	151
6.1. COMBINACIÓN DE BIOMARCADORES EN EL CONTINUO DESDE LA INFECCIÓN A LA SEPSIS	153
6.1.1. Importancia de la evaluación del fallo de órgano en el continuo de la infección a la Sepsis	153
6.1.2. Descripción de la población a estudio	155
6.1.3. Diagnóstico diferencial de la infección	156
6.1.4. Impacto de los biomarcadores en el fallo de órgano	157
6.1.5. Importancia fisiopatológica, clínica y terapéutica de los resultados.	159
6.1.6. Fortalezas y limitaciones del estudio	162

6.2. COMBINACIÓN DE BIOMARCADORES PRONÓSTICOS EN LA COVID-19	163
6.2.1. Importancia del diagnóstico precoz de COVID-19 en Urgencias	163
6.2.2. Descripción de las características de la población a estudio	164
6.2.3. Impacto de la combinación en el riesgo de hospitalización	165
6.2.4. Impacto de la combinación en la mortalidad a 28 días	167
6.2.5. Importancia fisiopatológica, clínica y terapéutica de los resultados.	168
6.2.6. Fortalezas y limitaciones del estudio	170
6.3. DISCUSIÓN INTEGRADORA Y APROXIMACIONES FUTURAS	171
7. CONCLUSIONES	175
8. REFERENCIAS	179
9. RENDIMIENTO CIENTÍFICO	207
10. ANEXOS	279

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Criterios diagnósticos de sepsis Sepsis-2. Adaptada de Levy et al. (2003) ¹⁴	36
Tabla 2. Criterios qSOFA del 3º Consenso Internacional para las definiciones de sepsis y shock séptico (SEPSIS-3)	39
Tabla 3. Escala de Evaluación Secuencial de la Insuficiencia Orgánica (Sequential Organ Failure Assessment, SOFA).	55
Tabla 4. Biomarcadores involucrados en la inflamación.	98
Tabla 5. Biomarcadores involucrados en la degranulación del neutrófilo, la disfunción endotelial y la coagulación inmunosupresión / inmunomodulación y biología del linfocito.	99
Tabla 6. Análisis descriptivo de las variables clínicas y analíticas de los pacientes. Comparativa entre los pacientes sin infección (nIDS) y los que presentan infección (IDS).	112
Tabla 7. Continuación del análisis descriptivo de las variables clínicas y analíticas de los pacientes. Comparativa entre los pacientes sin infección (nIDS) y los que presentan infección (IDS).	114
Tabla 8. Continuación del análisis descriptivo de las variables clínicas y analíticas de los pacientes. Comparativa entre los pacientes sin infección (nIDS) y los que presentan infección (IDS).	116
Tabla 9. Niveles de biomarcadores entre grupos.	121
Tabla 10. ABC para evaluar el valor predictivo de los biomarcadores para detectar el grupo de pacientes con infección (Grupo IDS).	122
Tabla 11. Análisis de regresión lineal univariante para evaluar la asociación entre los biomarcadores y el aumento en la escala SOFA.	124
Tabla 12. Composición de las combinaciones Dys.	125
Tabla 13. Análisis de regresión lineal multivariante para ver la asociación entre los biomarcadores y el aumento en la escala SOFA.	126
Tabla 14. Análisis de regresión lineal multivariante para ver la asociación entre las combinaciones Dys y el aumento en la escala SOFA.	127
Tabla 15. Características clínicas y niveles de biomarcadores de la cohorte de validación.	129
Tabla 16. Análisis de regresión lineal multivariante para ver la asociación entre los biomarcadores y el aumento en la escala SOFA.	131

Tabla 17. Análisis de regresión lineal multivariante para ver la asociación entre las combinaciones Dys y el aumento en la escala SOFA. _____	132
Tabla 18. Análisis descriptivo de los datos clínicos de los pacientes ingresados en el servicio de Urgencias. _____	135
Tabla 19. Análisis de regresión logística multivariables para predecir la hospitalización durante dos o más días. _____	139
Tabla 20. Análisis de regresión logística multivariables para predecir la hospitalización durante dos o más días. _____	140
Tabla 21. Análisis descriptivo de las variables clínicas y analíticas de los pacientes ingresados en Urgencias. Comparativa entre las tres categorías de pacientes. _____	142
Tabla 22. Continuación del análisis descriptivo de las variables clínicas y analíticas de los pacientes ingresados en Urgencias. Comparativa entre las tres categorías de pacientes. _____	145
Tabla 23. Análisis de regresión logística univariante y multivariante para predecir la hospitalización durante dos o más días. _____	146
Tabla 24. Análisis de regresión logística univariante y multivariante para predecir presencia de infiltrados bilaterales. _____	147
Tabla 25. Análisis de regresión de COX univariante y multivariante para predecir mortalidad hospitalaria a 28 días. _____	149
Tabla 26. Datos del Análisis Kaplan Meier para la disminución de días de supervivencia según la presencia/ausencia de una prueba rápida de antígeno N positiva y/o niveles altos o bajos de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 S1 _____	150

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Criterios de la definición Sepsis-1. _____	35
Figura 2. Criterios de la definición Sepsis-3. _____	38
Figura 3. Incidencia de sepsis estandarizada por edad por cada 100 000 habitantes para ambos sexos, en 2017. Adaptada de Rudd y cols. (2020) ²⁸ _____	40
Figura 4. Desregulación de la sepsis. Adaptada de van der Poll T y cols. (2021) ⁴² _____	42
Figura 5. Respuesta proinflamatoria y antiinflamatoria en la sepsis. Adaptada de van der Poll T y cols. (2021) ⁴² _____	44
Figura 6. Disfunción orgánica en la sepsis. Adaptada de Lelubre y Vicent. (2018) ¹⁰⁵ _____	50
Figura 7. Casos confirmados de Covid-19 por millón de personas. _____	57
Figura 8. a) Número de muertes por COVID-19 en España por millón de personas. _____	58
Figura 9. Ciclo de multiplicación celular del SARS-CoV-2 _____	60
Figura 10. Fisiopatología de la COVID-19. _____	61
Figura 11. Manifestaciones extrapulmonares COVID-19. Adaptada de Guapta y cols. (2020) ¹⁴⁸ _____	66
Figura 12. Representación esquemática de varios métodos analíticos disponibles para la detección del SARS-CoV-2. Adaptada de Rai y cols. (2021) ²¹⁴ y Cheng y cols. (2023) ²¹⁶ _____	68
Figura 13. Localización de los centros participantes. _____	92
Figura 14. Esquema del reclutamiento y procesamiento de muestras. _____	94
Figura 15. Flujo de trabajo de SimplePlex Ella. dAc, Anticuerpo de detección. Adaptada de Aldo y cols. (216) ³⁶¹ y Dysinger y cols. (2017) ³⁶⁰ _____	101
Figura 16. Plataforma Alinity para la determinación de anticuerpos. _____	103
Figura 17. Diagrama de la metodología del estudio Infección-Sepsis. _____	105
Figura 18. Diagrama de la metodología del estudio Covid-19. _____	106
Figura 19. Porcentaje de pacientes por hospital. _____	113
Figura 20. Diagnóstico microbiológico de las infecciones de los pacientes del grupo IDS. _____	115
Figura 21. Gráficos de cajas de los niveles de los biomarcadores de daño endotelial entre los grupos de estudio. _____	117
Figura 22. Gráficos de cajas de los niveles de los biomarcadores de inflamación entre los grupos. _____	118
Figura 23. Gráfico de cajas de los niveles de los biomarcadores de degranulación del neutrófilo y coagulación entre los grupos de estudio. _____	119

Figura 24. Gráfico de cajas de los niveles de los biomarcadores de inmunosupresión y biología del linfocito entre los grupos de estudio. _____	120
Figura 25. ABC para evaluar el valor predictivo de los biomarcadores para detectar el grupo de pacientes con infección (Grupo IDS). _____	123
Figura 26. Forest Plot que muestra el coeficiente ajustado de regresión (B) del análisis de regresión lineal multivariante biomarcadores / puntuación Dys-4 y puntuación SOFA. _____	128
Figura 27. Forest Plot que muestra el coeficiente ajustado de regresión (B) del análisis de regresión lineal multivariante biomarcadores / puntuación Dys-4 y puntuación SOFA en la Cohorte de Validación. _____	133
Figura 28. Porcentaje de antecedentes en la población global. _____	136
Figura 29. Área bajo la curva (ABC) se utiliza para evaluar la precisión de los niveles de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 N en plasma para predecir la ausencia de hospitalización tras el ingreso en Urgencias. _____	137
Figura 30. El área bajo la curva (ABC) se utiliza para evaluar la precisión de los niveles de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 S1 en plasma para predecir la ausencia de hospitalización tras el ingreso en Urgencias. _____	138
Figura 31. Porcentaje de los pacientes por grupos. _____	141
Figura 32. Frecuencia de infiltrados bilaterales en la radiografía de tórax (A) y hospitalización (B) en función de la presencia/ausencia de una prueba rápida de antígeno N positiva y/o niveles altos o bajos de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 S1. _____	143
Figura 33. Frecuencia de la mortalidad en función de la presencia/ausencia de una prueba rápida de antígeno N positiva y/o niveles altos o bajos de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 S1. _____	144
Figura 34. Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier según la presencia/ausencia de una prueba rápida de antígeno N positiva y/o niveles altos o bajos de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 S1. _____	150
Figura 35. Diagrama de trabajo para futuros estudios de identificación de biomarcadores. Adaptada de Marshall y Leligdowicz (2022) ⁴³⁵ _____	172

ABREVIATURAS

ABC	Área Bajo la Curva
ACCP	<i>American College of Chest Physicians</i> / Colegio Americano de Cirujanos Torácicos
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AKI	<i>Acute Kidney Injury</i> / Fallo renal agudo
ANG	Angiopoyetina
APACHE II	<i>Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II</i>
APCs	<i>Antigen-presenting cells</i> / Células presentadoras de antígeno
ARN	Ácido ribonucleico
ATS	<i>American Thoracic Society</i> / Sociedad Torácica Americana
AU	Unidades Arbitrarias
B	Coefficiente de regresión no estandarizado
CARS	<i>Compensatory Anti-inflammatory Response Syndrome</i> / Síndrome de respuesta compensadora antiinflamatoria
CAULE	Complejo Asistencial Universitario de León
CAUSA	Complejo Asistencial Universitario de Salamanca
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i> / Centros para el Control y Prevención de Enfermedades
CID	Coagulación Intravascular Diseminada
CLIA	<i>Chemiluminescence Immunoassays</i> / Inmunoensayo de Quimioluminiscencia
CLRs	<i>C-type Lectin Receptors</i> / Receptores de lectina tipo C
CMIA	<i>Chemiluminescent Microparticle Immunoassay</i> / Inmunoensayo quimioluminescente por micropartículas
COVID-19	Enfermedad por coronavirus de 2019
CRISPR	<i>Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats</i> / Repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente interespaciadas
CRP	<i>C Reactive Protein</i> / Proteína C reactiva

CXCL10	<i>C-X-C Motif Chemokine Ligand 10</i> / Ligando de quimioquinas con motivo C-X-C 10
dAc	Anticuerpos de detección
DAMP	<i>Damage-Associated Molecular Pattern</i> / Patrón moleculares asociados al daño
ddPCR	<i>Droplet Digital Polymerase Chain Reaction</i> / Reacción en Cadena de la Polimerasa digital basada en gotas
DNasa	Desoxirribonucleasa
Dys	<i>Dysregulated host response</i> / Disfunción de la respuesta del huésped
ECA2	Enzima convertidora de la angiotensina 2
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assays</i> / Ensayo Inmunoadsorción Ligado a Enzima
EPOC	Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica
ESICM	<i>European Society of Intensive Care Medicine</i> / Sociedad Europea de Medicina de Cuidados Intensivos
ET-1	Endotelina-1
FiO2	Fracción Inspirada de Oxígeno
FT	Factor Tisular
GCS	<i>Glasgow Coma Scale score</i> / Escala de coma de Glasgow
GNRs	<i>Glass Nano Reactors</i> / Nano-reactores de vidrio
HLA-DR	<i>Human Leukocyte Antigen – DR isotype</i> / Sistema del antígeno leucocitario humano
HR	Hazard Ratio
HUMV	Hospital Universitario Marqués de Valdecilla de Santander
HURH	Hospital Universitario Río Hortega de Valladolid
IC 95 %	Intervalo de Confianza al 95 %
ICAM-1	Molécula de adhesión intercelular 1
ICON	<i>Intensive Care Over Nations</i>
IDS	Pacientes quirúrgicos con infección de diversa gravedad
IFN	Interferón

Ig	Inmunoglobulina
IL	Interleuquina
LAMP	<i>Loop-mediated isothermal amplification</i> / Amplificación isotérmica mediada por bucle
LCN2	Lipocalina-2
LFIA	<i>Lateral Flow Immunochromatographic Assays</i> / Ensayo Inmunocromatográfico de Flujo Lateral
Lpm	Latidos por minuto
MCP-1	<i>Monocyte Chemoattractant Protein 1</i> / Proteína quimioatrayente de monocitos 1
MERS-CoV	Coronavirus causante del síndrome respiratorio de Oriente Medio
MHC II	Complejo mayor de histocompatibilidad tipo II
MMP	Metaloproteinasa de la matriz
MPO	Mieloperoxidasa
MR-proADM	Región media de su precursor la pro-adrenomedulina
n.a.	No aplica
n.s.	No significativo
NETs	<i>Neutrophil extracellular traps</i> / Trampas extracelulares de los neutrófilos
NEWS	<i>National Early Warning Score</i> / Sistema de alerta temprana Nacional
NHSN	<i>National Healthcare Safety Network</i> / Red Nacional de Seguridad Sanitaria
nIDS	pacientes sin infección de diversa gravedad
NK	<i>Natural Killer</i>
NLRs	<i>Nucleotide-binding oligomerization domain like-receptors</i> / Receptores para dominios de oligomerización para la unión a nucleótidos
OMS	Organización Mundial de la Salud
OOP	<i>Optimal operating point</i> / Punto de corte óptimo
OR	Odds Ratio
ORF	<i>Open Reading Frame</i> / Marco abierto de lectura
PaCO2	Presión parcial arterial de dióxido de carbono
PAI-1	Inhibidor del Activador del Plasminógeno tipo 1
PAM	Presión Arterial Media

PAMP	<i>Pathogen-associated molecular pattern</i> / Patrón molecular asociado al patógeno
PaO2	Presión parcial arterial de oxígeno
PAS	Presión Arterial Sistólica
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i> / Reacción en cadena de la polimerasa
PCT	Procalcitonina
PD-1	Proteína de muerte programada 1
PD-L1	Ligando de muerte programada-1
PET	<i>Positron Emission Tomography</i> / Tomografía por emisión de positrones
PICS	<i>Persistent Inflammation, Immunosuppression and Catabolism Syndrome</i> / Síndrome de inflamación persistente, inmunosupresión y síndrome de catabolismo
PRR	<i>Pattern Recognition Receptor</i> / Receptor de reconocimiento de patrones
PTX3	Pentraxina 3
qSOFA	<i>quick</i> SOFA
RBD	<i>Receptor Binding Domain</i> / Dominio de unión al receptor
REA	Servicio de Anestesia y Reanimación
RFU	Unidad de fluorescencia relativa
RIC	Rango Intercuartílico
RLRs	<i>Retinoic acid inducible gene-1 like receptors</i> / Receptores parecidos al gen -1 inducible por ácido retinoico
RM	Resonancia Magnética
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i> / Especies reactivas de oxígeno
Rpm	Respiraciones por minuto
RT-LAMP	<i>Reverse Transcription Loop-mediated Isothermal Amplification</i> / Amplificación isotérmica mediada por bucle de transcripción inversa
RT-PCR	<i>Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction</i> / Reacción en Cadena de la Polimerasa en Tiempo Real
RTC	<i>Replication-Transcription Complex</i> / Complejos de Replicación-Transcripción
SAPS II	<i>Simplified Acute Physiology Score II</i>
SARS-CoV-1	Coronavirus de tipo 1 causante del Síndrome Respiratorio Agudo Severo

SARS-CoV-2	Coronavirus de tipo 2 causante del Síndrome Respiratorio Agudo Severo
SCCM	<i>Society of Critical Care Medicine</i> / Sociedad Americana de Medicina de Cuidados Críticos
SDRA	Síndrome de Distrés Respiratorio Agudo
SE	Error estándar de B
SG	Sepsis Grave
SIRS	Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica
SIS	<i>Surgical Infection Society</i> / Sociedad de Infecciones quirúrgicas
SOAP	<i>Sepsis Occurrence in Acutely ill Patients</i>
SOFA	<i>Sequential Organ Failure Assessment</i>
SRAA	Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona
SS	Shock Séptico
SSC	<i>Surviving Sepsis Campaign</i> / Campaña para Sobrevivir a la Sepsis
SUH	Servicio de Urgencias Hospitalario
suPAR	<i>Soluble Urokinase-type Plasminogen Activator Receptor</i> / Receptor soluble del activador del plasminógeno tipo urokinasa
t-PA	Activador del Plasminógeno tisular
TAAN	Técnicas de Amplificación de Ácidos nucleicos
TAC	Tomografía computarizada
TFPI	<i>Tissue Factor Pathway Inhibitor</i> / Inhibidor de la vía del factor tisular
TGFβ	<i>Transforming Growth Factor β</i> / Factor de transformación del crecimiento β
Th	Linfocito T <i>helper</i> o colaboradores
TLRs	<i>Toll-like receptors</i> / Receptores tipo Toll
TMPRSS2	Serina proteasa transmembrana 2
TNF	Factor de Necrosis Tumoral
Treg	Linfocito T regulador
TREM-1	Receptor desencadenante expresado en células mieloides -1
u-PA	Activador del Plasminógeno tipo uroquinasa
UCI	Unidad de Cuidados Intensivos
VCAM-1	Molécula de adhesión celular vascular 1
VMI	Ventilación Mecánica Invasiva

VOC	<i>Variant of Concern / Variante preocupante</i>
WBC	<i>White blood count / Recuento de glóbulos blancos</i>

RESUMEN

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades infecciosas graves como la sepsis y la COVID-19, representan una amenaza para la salud pública por su alta mortalidad y complejidad clínica. La respuesta del huésped en estas infecciones se caracteriza por su heterogeneidad y complejidad, lo que dificulta el diagnóstico temprano, la estratificación de la gravedad y el manejo de estos pacientes en los entornos clínico. Los procesos fisiopatológicos que de ambas infecciones pueden mostrar bastantes homologías, ya que es la respuesta exacerbada y descontrolada, tras el estímulo de la infección lo que condiciona el daño orgánico y la alta mortalidad asociada a ambas patologías.

Por ello es importante tanto el diagnóstico, debido a que son patologías tiempo dependientes, como la estratificación de la gravedad y la identificación de aquellos pacientes que van a presentar una peor evolución. Y en este sentido desde hace bastantes años se ha postulado a los biomarcadores como herramientas prometedoras para este cometido. Estos ofrecen una oportunidad para comprender mejor los procesos fisiopatológicos subyacentes, así como la ayuda en el manejo del paciente. Además, la combinación de varios de estos biomarcadores de diferente procedencia, de la respuesta del huésped a la infección o del propio patógeno, pueden mejorar el valor predictivo y pronóstico de los biomarcadores individuales.

OBJETIVO

Por ello, el objetivo principal de esta tesis es evaluar la utilidad de combinaciones específicas de biomarcadores plasmáticos para mejorar el diagnóstico temprano, la predicción de gravedad y la estratificación del riesgo en pacientes con sepsis y COVID-19.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para llevarlo a cabo, se realizaron dos estudios principales. En un primer estudio se evaluaron 20 biomarcadores plasmáticos involucrados en las funciones biológicas alteradas en el organismo durante una infección mediante la plataforma SimplePlex ELLA en pacientes quirúrgicos con y sin infección. Además, los resultados principales se validaron en una segunda cohorte. En un segundo estudio se investigó el valor pronóstico de la antigenemia N y anticuerpos anti-S1, de forma individual y en combinación, en pacientes atendidos en servicios de Urgencias con infección por SARS-CoV-2. Se analizaron sus niveles para predecir hospitalización y desenlaces adversos.

RESULTADOS

En el estudio de sepsis, como resultado obtuvimos que únicamente ocho de los biomarcadores estudiados tenían la capacidad suficiente para realizar un diagnóstico diferencial de la infección. De estos, la combinación de cuatro biomarcadores involucrados en la inmunidad innata y en la disfunción endotelial, denominada Dys-4, demostró una robusta asociación con el grado de fallo de órgano en estos pacientes infectados, medido por la escala SOFA. Además, esta combinación mostró una mayor asociación con la magnitud de este fallo que los biomarcadores individuales, incluyendo a la procalcitonina y proteína C reactiva, mostrando potencial de aplicación a la práctica clínica. Dys-4 mostró resultados similares en la cohorte de validación.

En el estudio de COVID-19, la combinación de antigenemia N y bajos niveles de anticuerpos anti-S1 permitió identificar con precisión a los pacientes con COVID-19 que presentaban el mayor riesgo de ingreso hospitalario y de desenlaces graves.

CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos en esta tesis destacan el potencial clínico de la combinación de biomarcadores para mejorar el diagnóstico, la estratificación de la gravedad y el pronóstico de pacientes con sepsis y COVID-19. La integración de estos biomarcadores en modelos predictivos clínicos podría transformar el manejo de las infecciones graves y emergentes, acercando la medicina personalizada de precisión. Futuras investigaciones deberían centrarse en validar estos hallazgos en cohortes más amplias y explorar la incorporación de otros biomarcadores de diferente procedencia para mejorar aún más la atención clínica.

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades infecciosas son aquellas causadas por microorganismos patógenos como virus, bacterias, u hongos. Hoy en día, estas enfermedades constituyen una de las principales amenazas teniendo un gran impacto en los sistemas sanitarios y en la economía mundial. Además, son una de las principales causas de morbimortalidad en el mundo¹.

En los últimos años, existe un incremento de las infecciones debido a varios motivos entre los que se encuentra el aumento de la expectativa de vida en la sociedad actual, lo que conlleva un mayor número de comorbilidades e inmunosenescencia².

El tratamiento precoz y adecuado de las infecciones es determinante para la evolución de los pacientes. Por ello la identificación precoz de la infección y el agente causante es verdaderamente importante para implementar las medidas terapéuticas adecuadas. No obstante, la heterogeneidad y complejidad de las infecciones representan un desafío tanto en su diagnóstico como la evaluación del pronóstico de los pacientes.

A continuación, nos centramos en dos patologías infecciosas de gran relevancia a nivel sanitario en los últimos años como son la sepsis y la COVID-19.

1.1. SEPSIS

La sepsis es una afección grave que ocurre como una complicación tras una infección y puede llevar a la muerte del paciente que la padece. Académicamente, se define como una disfunción orgánica heterogénea potencialmente mortal producida por una respuesta desregulada del huésped a la infección³. Es una de las causas más frecuentes de muerte entre los pacientes hospitalizados, siendo el retraso en el diagnóstico e inicio del tratamiento antimicrobiano, uno de los principales factores condicionantes. Es una enfermedad tiempo-dependiente, con una elevada tasa de morbilidad y mortalidad. El aumento progresivo en su incidencia y prevalencia hace que la sepsis suponga una importante carga socio económica.

1.1.1. HISTORIA Y DEFINICIONES DE LA SEPSIS

La palabra sepsis deriva del griego σήψις (sipsis) que significa “descomposición o putrefacción”. Aunque sus primeras referencias datan del antiguo Egipto^{4,5}, este término fue adoptado por médicos griegos generalizándose tanto que hasta Homero hace referencia a él en uno de sus poemas de la Ilíada⁶.

Hipócrates (460-370 a.C.) fue probablemente el primero en introducirla en la Medicina y describir el curso clínico de esta patología, refiriéndose a ella como la descomposición biológica, peligrosa y dañina, capaz de producir la autointoxicación por el aparato digestivo. Además fue el primero en examinar las propiedades antisépticas de diferentes compuestos⁷. Después de varios siglos, el filósofo florentino Niccolò Machiavelli describió las complejidades que presentaban tanto la identificación de la enfermedad como su tratamiento⁷.

En los siguientes años, comenzó una era de crecimiento en el conocimiento sobre las enfermedades infecciosas. Se desarrolló la “Teoría de los gérmenes” donde se identificaba a los microorganismos patógenos como agente causal de la sepsis, los cuales provocaban la invasión del huésped extendiéndose por el torrente sanguíneo. Por ello la sepsis pasó a considerarse una enfermedad de tipo sistémico. Además, se produjeron avances en la práctica clínica como la introducción de técnicas antisépticas previas a los exámenes de los pacientes que se vio que mejoraba la mortalidad de estos. Médicos como Louis Pasteur, Robert Koch, Joseph Lister, o Ignaz Semmelweis participaron en el desarrollo de todos estos conocimientos⁸⁻¹⁰.

Tras todos estos avances, en 1914 Hugo Schottmüller propuso la primera definición científica de la sepsis como “estado causado por la invasión microbiana de una fuente infecciosa local en el torrente sanguíneo que provoca signos de enfermedad sistémica en órganos a distancia”¹¹.

Décadas más tarde, en 1972, las ideas de Lewis Thomas dieron un giro en la comprensión de la sepsis ya que propuso que la respuesta inmune del huésped a los microorganismos durante la infección puede ser tan fuerte que sería nociva para el mismo, convirtiéndose en el causante de la patología¹².

Pero no fue hasta 1992 cuando finalmente el concepto se introdujo en la práctica clínica, al publicarse el **1º Consenso Internacional “Sepsis-1”** del Colegio Americano de Médicos de Tórax (ACCP, del inglés *American College of Chest Physicians*) y la Sociedad de Medicina de Cuidados Críticos (SCCM, del inglés *Society of Critical Care Medicine*)¹³. Aquí se establece el concepto de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS), definida como aquella respuesta generalizada del organismo ante determinados estímulos cuya presencia puede obedecer a causas infecciosas o no infecciosas. El SIRS queda definido por la presencia de al menos dos de cuatro variables clínicas que se muestran a continuación:

- Temperatura > 38°C o < 36°C.
- Taquicardia > 90 lpm (latidos por minuto).
- Taquipnea > 20 rpm (respiraciones por minuto) o PaCo₂ < 32mmHg.

- Leucocitosis (12×10^9 células/L) o leucopenia ($<4 \times 10^9$ células/L) o $>10\%$ formas inmaduras.

Además, la sepsis se definió como la presencia de un SIRS más sospecha de infección, y se establecieron varios estadios de gravedad: la Sepsis Grave (SG) como la sepsis asociada a disfunción orgánica, hipoperfusión tisular o hipotensión; y el Shock Séptico (SS), como la sepsis con presencia de hipotensión arterial mantenida a pesar de una adecuada reanimación con fluidos (**Figura 1**).

En esta conferencia también quedó propuesto otro nuevo término llamado “Síndrome de disfunción multiorgánica”, definido como la presencia de disfunción orgánica aguda en pacientes que no son capaces de mantener la homeostasis sin tratamiento¹³.

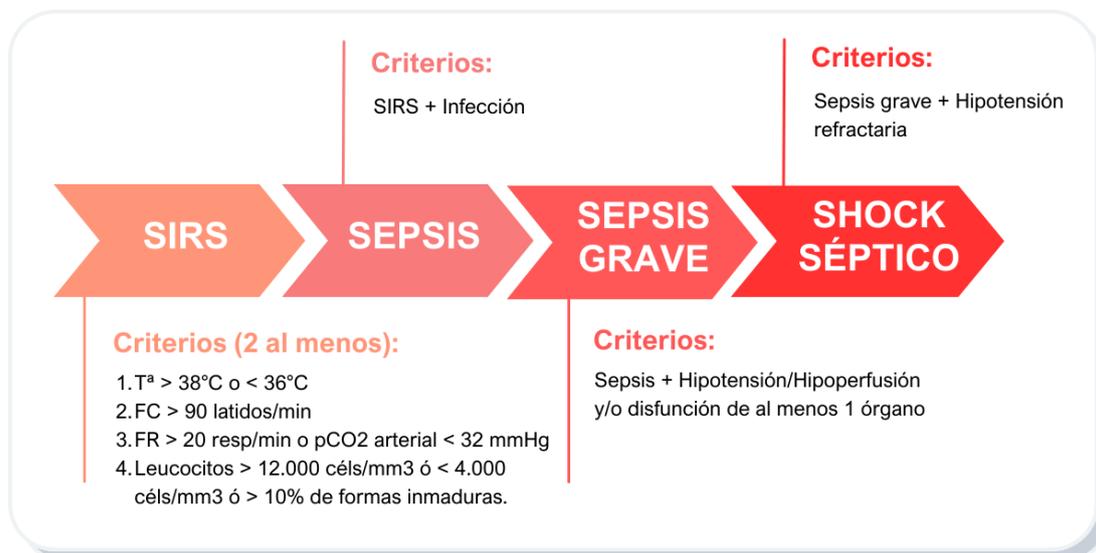


Figura 1. Criterios de la definición Sepsis-1.

La siguiente propuesta tuvo lugar en el año 2001 en el **2º Consenso Internacional “Sepsis-2”** donde los participantes: la SCCM, la ACCP, la Sociedad Europea de Medicina de Cuidados Intensivos (ESICM, del inglés *European Society of Intensive Care Medicine*), la Sociedad Torácica Americana (ATS, del inglés *American Thoracic Society*) y la Sociedad de Infecciones Quirúrgicas (SIS, del inglés *Surgical Infection Society*), revisaron todas las limitaciones que presentaban las definiciones establecidas en el anterior consenso ya que se consideraban muy sensibles y poco específicas¹⁴. Sin embargo, debido a la ausencia de evidencia científica para el cambio en ellas, se mantuvieron las mismas definiciones que en el primer consenso de 1992 pero se modificaron y ampliaron los signos que definían la presencia de SIRS (**Tabla 1**).

Variables generales
Fiebre (> 38,3°C) Hipotermia (temperatura base < 36°C) Frecuencia cardíaca > 90 lpm o más de dos desviaciones estándar por encima del valor normal según la edad Taquipnea Estado mental alterado Edema importante o balance positivo de fluidos (> 20 mL/kg durante más de 24 h) Hiperglucemia (glucosa en plasma > 120 mg/dL o 7,7 mmol/L) en ausencia de diabetes
Variables inflamatorias
Leucocitosis (recuento de glóbulos blancos [WBC] > 12.000 μL^{-1}) Leucopenia (recuento de glóbulos blancos [WBC] < 4.000 μL^{-1}) Recuento de WBC normal con más del 10 % de formas inmaduras Proteína C reactiva en plasma superior a dos desviaciones estándar sobre el valor normal Procalcitonina en plasma superior a dos desviaciones estándar sobre el valor normal
Variables hemodinámicas
PAS < 90 mmHg, PAM < 70 mmHg o una disminución de la PAS > 40 mmHg en adultos o inferior a dos desviaciones estándar por debajo del valor normal según la edad Saturación de O ₂ venoso > 70 % Índice cardíaco > 3,5 L/min/m ²
Variables de disfunción orgánica
Hipoxemia arterial (PaO ₂ /FiO ₂ < 300) Oliguria aguda (diuresis < 0,5 mL/kg/h o 45 mmol/L durante al menos 2 horas a pesar de una adecuada reanimación con fluidos) Aumento de creatinina sérica > 0,5 mg/dL Alteraciones en la coagulación (INR, Índice internacional normalizado > 1,5 o TTPa > 60 s) Íleo (ausencia de borborigmos) Trombocitopenia (recuento de plaquetas < 100.000/mm ³) Hiperbilirrubinemia (bilirrubina plasmática total > 4 mg/dL o 70 mmol/L)
Variables de perfusión tisular
Hiperlactatemia (> 1 mmol/L) Reducción en llenado capilar o moteado

Tabla 1 Criterios diagnósticos de sepsis Sepsis-2. Adaptada de Levy et al. (2003)¹⁴

También en este consenso, se definieron los criterios de disfunción orgánica para cuya evaluación se estableció el uso de la escala SOFA (del inglés, *Sequential Organ Failure Assessment*). Esta escala es la más utilizada en la práctica clínica actual en el entorno de pacientes críticos y tiene en cuenta 6 órganos diferentes: sistema nervioso central, cardiovascular, respiratorio, hepático, renal y coagulación¹⁵.

Además, el shock séptico mantuvo también su definición anterior pero la hipotensión persistente se describió por una presión arterial sistólica (PAS) menor de 90 mmHg o presión arterial media (PAM) menor de 60 mmHg o una reducción de la PAS >40 mmHg, a pesar de una adecuada reanimación con fluidos¹⁴.

Otra iniciativa que se intentó introducir en la práctica clínica fue el sistema PIRO (Predisposición, Infección, Respuesta, Disfunción Orgánica), basada en factores pronósticos relacionados con la sepsis y la cual pretendía asemejarse al sistema de clasificación TNM tumoral^{14,16,17}. Para su elaboración se tuvieron en cuenta tanto clasificaciones sugeridas en las conferencias sobre la sepsis, así como datos de laboratorios y clínicos. Pero este sistema PIRO no tuvo mucha aceptación entre los profesionales y apenas se utiliza en la práctica clínica actual. Está compuesto por:

- P: Predisposición previa del paciente que puede condicionar mala evolución (comorbilidades y factores genéticos).
- I: Infección dependiendo del agente causal, localización y extensión, o el tiempo de espera para la implantación de terapia antibiótica (foco, microorganismo y extensión).
- R: Respuesta del huésped a la infección que implica liberación de mediadores proinflamatorios y citoquinas que desembocan en un fallo orgánico (marcadores y mediadores biológicos).
- O: Disfunción Orgánica como principal factor determinante del mal pronóstico en los pacientes sépticos

En 2004, varias organizaciones internacionales pusieron en marcha una serie de directrices como la “Campaña para sobrevivir a la sepsis” (SSC, de inglés *Surviving Sepsis Campaign*) con el objetivo de reducir la mortalidad causada por la sepsis y shock séptico mediante la implementación de las guías internacionales de recomendaciones agrupadas basadas en el reconocimiento precoz, la administración temprana de antibioticoterapia, la reanimación hemodinámica rápida e ingreso temprano en las unidades de cuidados intensivos¹⁸.

Posteriormente en 2016 se llevó a cabo un **3º Consenso Internacional (Sepsis-3)** donde 19 expertos remodelaron las definiciones anteriores y se consensuaron las nuevas y actuales definiciones. Estas fueron publicadas en JAMA y aprobadas por 31 sociedades profesionales. La principal novedad en comparación con los dos consensos anteriores es que se eliminan los conceptos de SIRS y SG, cobrando más relevancia en estas nuevas definiciones la fisiopatología de la sepsis³. Así, la sepsis quedó definida como la presencia de fallo de órgano debido a la respuesta desregulada del huésped a la infección. Este fallo de órgano se

cuantificaba con la escala SOFA y para su diagnóstico se necesitaba el aumento de al menos 2 puntos en la escala asumiendo una puntuación de 0 en aquellos pacientes en los que se desconozca la existencia previa de fallo de órgano (**Figura 2**).

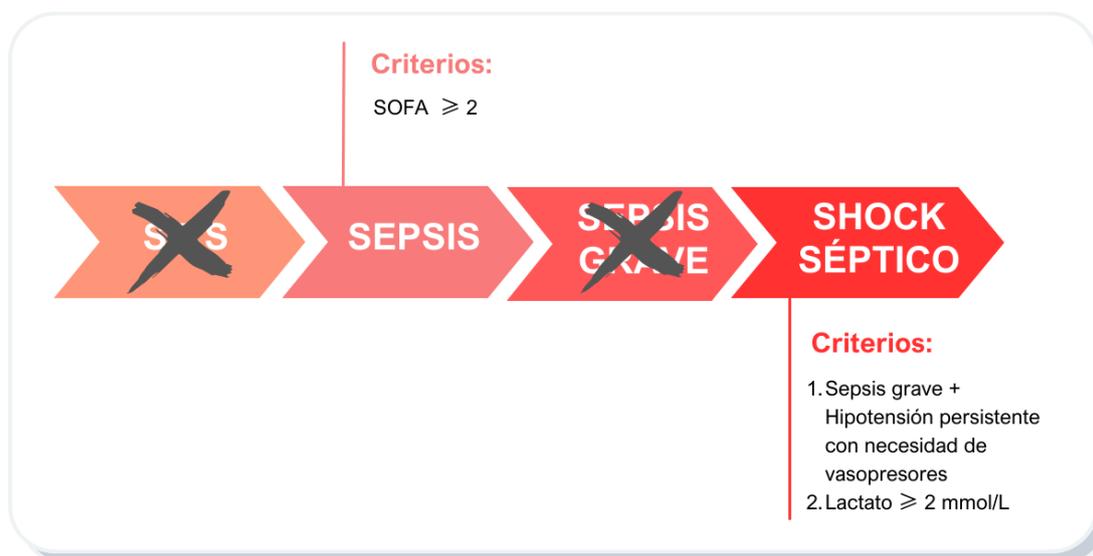


Figura 2. Criterios de la definición Sepsis-3.

Así, el shock séptico queda definido como el grado más grave de la sepsis que se caracteriza por anomalías celulares, circulatorias y metabólicas subyacentes lo suficientemente pronunciadas para aumentar sustancialmente la mortalidad. Clínicamente, el shock séptico se caracteriza por una sepsis asociada a la necesidad del uso de vasopresores para mantener una PAM ≥ 65 mm Hg y presencia de lactato >2 mmol/L a pesar de una correcta fluidoterapia³.

Además, en esta conferencia se introduce el concepto de la escala *quick* SOFA (qSOFA), donde las variables clínicas que evalúa el SOFA quedan reducidas a 3 variables que hace que su utilización fuera de las unidades de cuidados intensivos sea viable (**Tabla 2**). El fin de esta propuesta es dotar a los clínicos de una herramienta precoz que les permita detectar con antelación fuera de las unidades de cuidados intensivos a los pacientes que podrían desarrollar una sepsis. En este caso la presencia de 2 de los 3 criterios hace que el paciente presente un *quick* SOFA (qSOFA) positivo y sea sospechosos de desarrollar una sepsis³. No obstante, tras esta propuesta ha habido algunas modificaciones y en la actualidad se desaconseja la utilización del qSOFA por las evidencias de su baja sensibilidad¹⁹.

Criterios qSOFA
Frecuencia respiratoria > 22 rpm
Alteración del estado mental (Escala de Coma de Glasgow (GCS) \leq 13)
Presión arterial sistólica < 100 mmHg

Tabla 2. Criterios qSOFA del 3º Consenso Internacional para las definiciones de sepsis y shock séptico (SEPSIS-3)

Esta definición ha generado controversia desde el momento de su publicación entre médicos de diversas especialidades debido a que provoca el retraso en el reconocimiento de los pacientes con sepsis que puede conllevar a un peor manejo de la patología y empeoramiento en el pronóstico. Esto se debe a la que la nueva definición requiere la presencia de fallo de órgano haciendo que los pacientes estén en un estadio más avanzado de la enfermedad cuando se realiza el diagnóstico y en muchos casos estos pacientes ya presenten la necesidad de cuidados intensivos. Sin embargo, al tratarse de una enfermedad tiempo dependiente, este diagnóstico se debería adelantar a una etapa más temprana de la sepsis pudiendo así beneficiarse de un tratamiento precoz previo a la aparición del fallo de órgano.

Por otro lado, las guías de la SSC se han ido actualizando periódicamente cada 4 años gracias al conocimiento generado²⁰⁻²², siendo su última actualización la publicada en 2021¹⁹. En varios estudios se ha visto como su implementación tuvo efecto en la disminución de la tasa de mortalidad de los pacientes que presentaban sepsis²³⁻²⁷.

1.1.2. EPIDEMIOLOGÍA DE LA SEPSIS

Globalmente, se registraron 48,9 (IC 95%; 38,9-62,9) millones de casos de sepsis en 2017, de las cuales 11,0 (IC 95% 10,1-12,0) millones de pacientes fallecieron, lo que representa el 19,7% (IC 95% 18,2-21,4) de todas las muertes mundiales. La incidencia y la mortalidad de la sepsis presentan importantes disparidades regionales con las tasas más elevadas en regiones de bajos y medianos ingresos, donde la atención médica es menos accesible y las enfermedades infecciosas más prevalentes (**Figura 3**)²⁸.

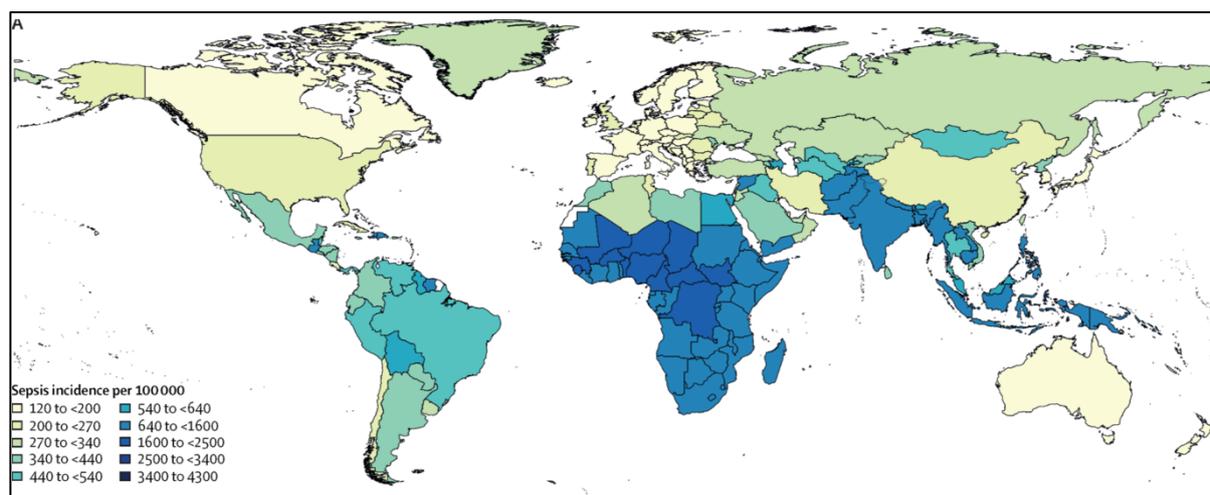


Figura 3. Incidencia de sepsis estandarizada por edad por cada 100 000 habitantes para ambos sexos, en 2017. Adaptada de Rudd y cols. (2020)²⁸

En Estados Unidos, 1,7 millones de adultos desarrollan sepsis cada año, siendo la principal causa de muerte, de los cuales al menos 350.000 mueren durante su hospitalización o son derivados a centros de cuidados paliativos²⁹.

En Europa, el estudio SOAP (del inglés *Sepsis Occurrence in Acutely ill Patients*), que cuenta con una gran y heterogénea muestra de pacientes, afirma que la sepsis sería la enfermedad con mayor prevalencia en las Unidades de cuidados intensivos (UCIs), lo que incrementa la mortalidad así como el gasto económico de esta patología³⁰. Posteriormente, Vicent y cols. publicaron un estudio comparando los pacientes del estudio SOAP con los del estudio ICON (del inglés *Intensive Care Over Nations*) de una década después, afirmando que la proporción de pacientes con sepsis en las UCIs europeas fue ligeramente superior en el estudio ICON que en el SOAP (31,9% frente a 29,6%). Sin embargo la probabilidad de mortalidad en UCI de estos pacientes con sepsis fue menor en la cohorte de 2012 (ICON) en comparación con la cohorte de 2002 (SOAP)³¹.

En España, Álvaro-Meca y colaboradores estimaron 2,6 millones de casos de sepsis entre los años 2000 y 2013, de los cuales 485.685 habían fallecido (18,4%)³². Además, en este estudio se evidencia que la incidencia y mortalidad por sepsis no son uniformes en las diferentes comunidades autónomas. En otro estudio multicéntrico más reciente se observó que la incidencia de la sepsis aumentó 2,7 veces entre 2008 y 2017 acumulando 5,7 casos por 10.000 habitantes en 2017. La tasa de mortalidad analizada en este estudio es del 23,2% ascendiendo hasta el 42,9% en los pacientes que padecían shock séptico³³. La incidencia de

la sepsis va aumentando cada año lo que provoca un alto porcentaje de los ingresos en las unidades de cuidados intensivos y el incremento del coste para los sistemas sanitarios^{34,35}.

Hay diferentes factores que influyen en el aumento de la incidencia de la sepsis, entre los que se encuentra la edad, que desde hace años se conoce que es un factor importante de riesgo debido a las comorbilidades que padecen, su estado previo, o también, la inmunosenescencia³⁶. Las personas mayores de 60 años en 1950 eran en torno al 8% de la población, mientras que en el año 2000 el porcentaje había incrementado hasta alcanzar el 10%. Además se estima un porcentaje del 21% de este tipo de personas en el año 2050³⁷. El aumento más rápido de la población de edad avanzada se está produciendo en los países desarrollados, con una previsión de incremento del 140% de las personas de 65 años o más para 2030, siendo los mayores de 85 años el grupo de crecimiento más rápido³⁸.

Además, aquellos pacientes que sobreviven a la sepsis tienen a menudo trastornos médicos, cognitivos o psicológicos a largo plazo, siendo un alto porcentaje de ellos hospitalizados en áreas de cuidados intensivos de nuevo. Todo esto conlleva implicaciones socioeconómicas para los sistemas sanitarios³⁹.

Sin embargo, debido a la utilización de diferentes métodos y definiciones de sepsis para los estudios hace que los resultados obtenidos en las investigaciones sobre incidencias y mortalidad presentan probablemente un sesgo que dificulta su interpretabilidad, como evidencia un estudio reciente de 2022 llevado a cabo en UCIs en la India, donde al comparar la prevalencia según las definiciones de Sepsis-2 y Sepsis-3 fueron del 46,2% y el 33,2%, respectivamente⁴⁰. Además, la mayoría de los datos proceden de áreas desarrolladas, y aquellos países subdesarrollados no se encuentran representados en estos estudios.

1.1.3. FISIOPATOLOGÍA DE LA SEPSIS

La fisiopatología de la sepsis es compleja y heterogénea, y se encuentra determinada por la pérdida del equilibrio entre los mecanismos proinflamatorios y antiinflamatorios del sistema inmune tras la interacción del huésped con el patógeno, que acaban causando múltiples disfunciones orgánicas^{41,42} (**Figura 4**).

En condiciones normales, los patógenos son reconocidos por los receptores celulares del sistema inmune del huésped. Si este huésped es inmunocompetente montará una respuesta homeostática activando la respuesta inmune innata y adaptativa a nivel local, regional o sistémica y procesos de reparación que erradicarían al patógeno y se recobraría la homeostasis en el organismo. Por el contrario, puede que el huésped sea vulnerable, lo que

hace que se produzca una respuesta desregulada, provocando un daño colateral local y/o sistémico con el consecuente daño en los tejidos y el desarrollo de una sepsis⁴³.

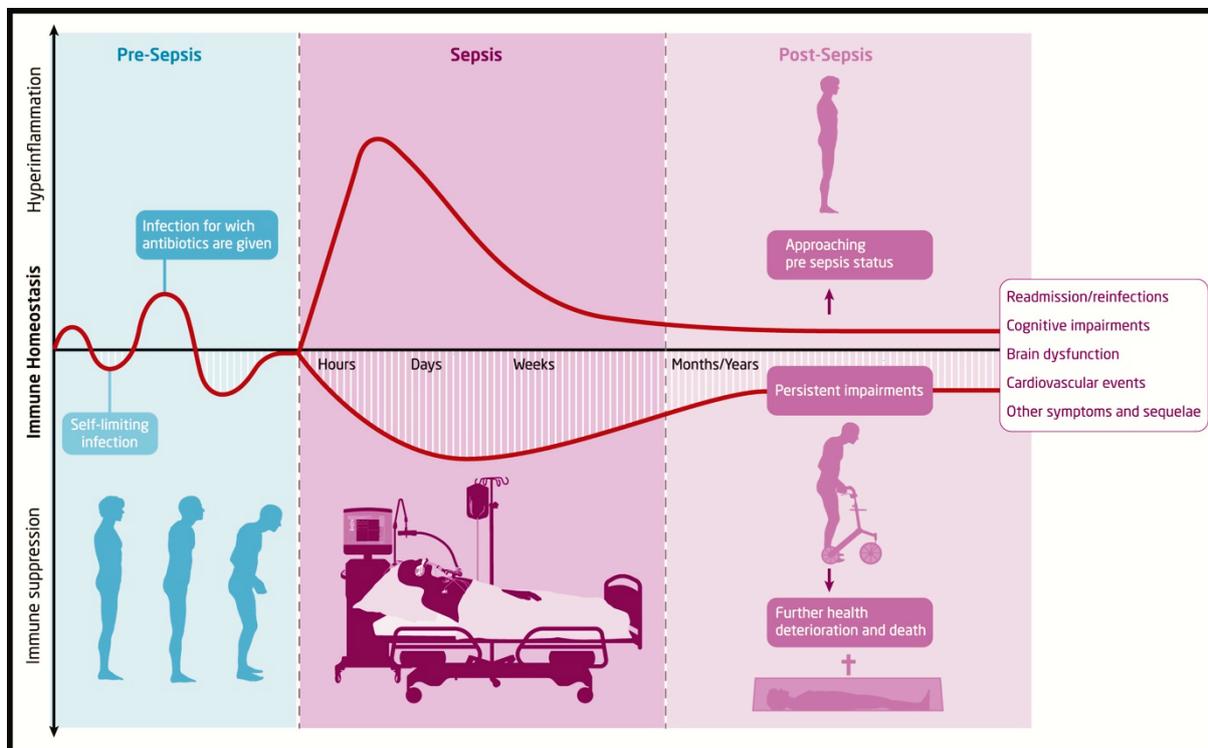


Figura 4. Desregulación de la sepsis. Adaptada de van der Poll T y cols. (2021)⁴²

En general, las respuestas proinflamatorias están dirigidas a erradicar los patógenos infecciosos, aunque contribuyen al daño colateral en los tejidos, mientras que las respuestas antiinflamatorias son importantes para limitar los problemas locales y la lesión tisular sistémica, facilita la reparación de los tejidos y la vuelta a la homeostasis del organismo.

Sin embargo, un desbalance en estas respuestas antiinflamatorias puede resultar en una inmunosupresión mantenida, que hace que aumente la susceptibilidad a infecciones secundarias en el paciente y las reactivaciones virales⁴⁴. Los pacientes que se recuperan de la sepsis pueden recuperar su estado de salud previo al cabo de varias semanas o meses, pero pueden desarrollar alteraciones persistentes que se asocian con una reducción de la calidad de vida, a un mayor deterioro de la salud y a la muerte⁴² (**Figura 4**).

La respuesta pro y antiinflamatoria específica del huésped y su evolución clínica dependerá del propio patógeno (su carga y virulencia), el sitio de la infección y de las características del propio huésped (factores predisponentes como genéticos o presencia de comorbilidades)⁴⁵.

Esta desregulación inmunológica que se produce en el huésped en respuesta a la infección se considera el evento principal de la fisiopatología de la sepsis⁴⁶. Los pacientes sépticos que requieren cuidados intensivos por periodos prolongados a menudo desarrollan una enfermedad crónica denominada “inflamación persistente, inmunosupresión y síndrome de catabolismo” (PICS, de las siglas en inglés *persistent inflammation, immunosuppression and catabolism syndrome*). En esta enfermedad se encuentran involucrados muchos tipos de células, sistemas de órganos y mecanismos fisiopatológicos diferentes, y está caracterizada por una hiperinflamación prolongada, inmunosupresión, desregulación de la mielopoyesis y catabolismo.

- Respuesta proinflamatoria

La respuesta inicial del organismo a la entrada de un patógeno tras atravesar la primera línea de defensa (barreras físicas de la piel y las mucosas), es la activación de las células de la respuesta innata: monocitos, macrófagos, neutrófilos y células *Natural Killer* (NK)⁴⁷. Como consecuencia, se estimula la síntesis de citocinas y quimiocinas que activan al sistema inmune adaptativo. Este se encuentra formado por los linfocitos B y T, que, tras las señales, madurarán y proliferarán para llevar a cabo sus funciones de defensa específica contra el patógeno⁴⁸.

Estas células de la respuesta innata van a reconocer patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs, del inglés *Pathogen-associated molecular patterns*) por sus receptores celulares. Los PAMPs son regiones comunes, presentadas en la superficie de los patógenos como: el lipopolisacárido de la membrana de las bacterias gram-negativas, lipoproteínas y peptidoglicanos de bacterias gram-positivas, flagelinas, mananos en el caso de los hongos, ARN (ácido ribonucleico) y ADN (ácido desoxirribonucleico) de virus⁴⁹. El reconocimiento de los PAMPs se lleva a cabo mediante receptores de reconocimiento de patrones (PRR, del inglés *Pattern Recognition Receptor*) que se encuentran en macrófagos, neutrófilos y células dendríticas. Existen varios tipos de PRR: algunos se encuentran en la membrana plasmática como los receptores tipo Toll (TLR, del inglés *Toll-like receptor*), receptores tipo lectina C (CLR, del inglés *C-type lectin receptors*) y otros en el citoplasma celular como receptores tipo NOD (NLRs, del inglés *Nucleotide-binding oligomerization domain like-receptors*) y receptores tipo RIG-1 (RLRs, del inglés *Retinoic acid inducible gene-1 like receptors*). Los mismos receptores también reconocen moléculas endógenas liberadas por las células dañadas, llamados patrones moleculares asociados al daño (DAMPs, del inglés *Danger Associated Molecular Pattern*) o alarminas⁴⁹. Algunas DAMPs son el grupo proteína B1 de alta movilidad,

proteínas S100, ARN extracelular, ADN circulante mitocondrial, y proteínas nucleares tipo histonas extracelulares^{50,51}. Estas moléculas también se pueden producir en otras enfermedades sistémicas, por lo que no son específicas de la sepsis.

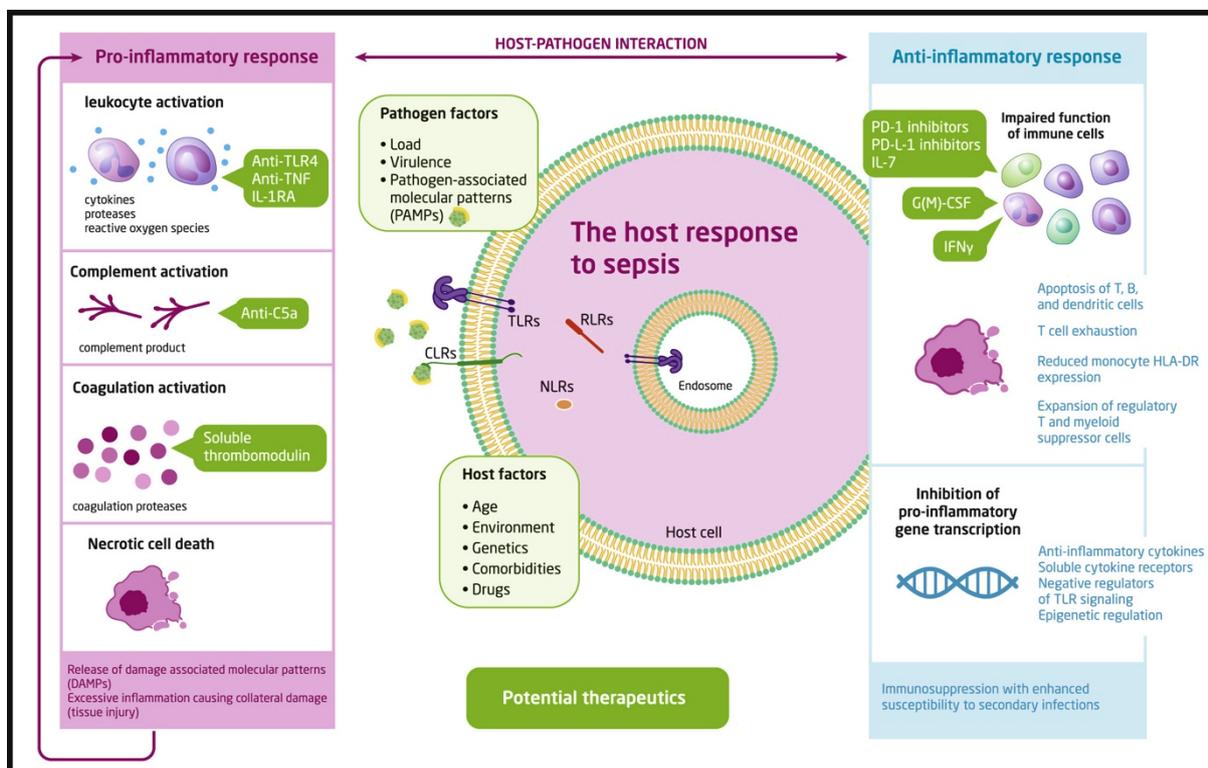


Figura 5. Respuesta proinflamatoria y antiinflamatoria en la sepsis.

Adaptada de van der Poll T y cols. (2021)⁴²

Como resultado de este reconocimiento se produce la activación de la señalización intracelular que inicia la transcripción de genes inflamatorios. Entre estos mediadores inflamatorios se encuentran citoquinas como interleucina (IL)-1, IL-12, IL-18, IL-6, interferones (IFN) o el factor de necrosis tumoral α (TNF- α)⁵². Una de las funciones más importantes del TNF- α es estimular la síntesis de citoquinas proinflamatorias, que desencadena un efecto de cascada donde unas citoquinas estimulan a otras citoquinas. También estimula la activación del sistema del complemento y la cascada de la coagulación; la producción y activación de monocitos y polimorfonucleares; la síntesis hepática de proteínas de fase aguda, el catabolismo proteico y la gluconeogénesis⁵³. Es aquí donde, si existe un desequilibrio, el proceso proinflamatorio local se escapa del control provocando la amplificación de la respuesta inflamatoria a nivel sistémico⁵⁴. Esto conlleva a la generación de hipercitoquinemia.

Los neutrófilos pueden contribuir a la hiperinflamación a través de la liberación de proteínas granulares (Lipocalina-2 o Mieloperoxidasa) que además pueden estar formando parte de unas redes que secretan al medio extracelular denominadas trampas extracelulares de los neutrófilos (NETs, del inglés *Neutrophil extracellular traps*). Estas NETs están formadas por fibras de cromatina e histonas y su función en este contexto es principalmente microbicida atrapando a los microorganismos y destruyendo o inhibiendo el crecimiento de estos evitando así su propagación. Este proceso de muerte celular mediado por NETs se conoce como NETosis⁵⁵. Se ha visto como la producción excesiva de estas trampas está relacionada con la inflamación y alteraciones coagulantes contribuyendo así al desarrollo del fallo orgánico⁵⁶. Esto es debido a una sobreproducción de estas o por el contrario por una falta de mecanismos para destruirlas como las Desoxirribonucleasa (DNasa)⁵⁷.

Además, los neutrófilos junto a los macrófagos son capaces de producir especies reactivas de oxígeno (ROS, del inglés *reactive oxygen species*), y citoquinas que amplifican la respuesta inflamatoria. Las ROS son altamente reactivas, oxidantes y tóxicas, utilizadas como moléculas microbicidas pero que también causa daño en células y tejidos⁵⁸.

Otra característica fisiopatológica de la sepsis es la activación del sistema del complemento por la exposición a PAMPs y DAMPs. Esta activación produce las anafilotoxinas C3a y C5a⁵⁹. Si la activación del complemento es excesiva puede tener un impacto en la inmunidad innata y adaptativa. La anafilotoxina C5a es un mediador proinflamatorio muy activo en la sepsis que produce la quimioatracción de neutrófilos, eosinófilos, monocitos y macrófagos⁶⁰. Además, estimula a estas células mediante la interacción con sus receptores a sintetizar y liberar citocinas y quimiocinas proinflamatorias; así como ROS⁶¹. Todo esto influye en el daño tisular y en la coagulopatía claves de esta patología.

Las células presentadoras de antígeno (APCs, del inglés *antigen-presenting cells*), al interactuar con el sistema inmune adaptativo, van a inducir la activación de la respuesta adaptativa humoral específica, que, a su vez, amplifica la respuesta innata. Las células B liberarán inmunoglobulinas que se unirán a los patógenos y facilitarán a las células NK y a los neutrófilos realizar su función microbicida⁶². Cuando las APCs interactúan con los linfocitos T, estos van a reconocer los antígenos microbianos que presentan estas células gracias a receptores específicos y se activan. Al activarse, las células Th1, Th2 y Th17 producen diversas respuestas inmunitarias⁶³. Las respuestas inflamatorias de la inmunidad adaptativa están mediadas fundamentalmente por los linfocitos del subconjunto Th1, que son activados por citoquinas proinflamatorias como el TNF- α , IL-2 o IL-12⁶⁴. La respuesta Th1 libera mediadores inflamatorios como IL-2 o el INF- γ estimulando la fagocitosis, la eliminación intracelular de patógenos y las células innatas⁶⁵.

- Respuesta antiinflamatoria e inmunosupresión

Los mecanismos antiinflamatorios están dirigidos a la regulación de los efectos perjudiciales de la respuesta inflamatoria, prevenir la autoinmunidad y guiar al huésped a la homeostasis. Esta respuesta se denomina respuesta compensatoria (CARS, del inglés *Compensatory Antinflammatory Response*)^{45,66}. Sin embargo, en la sepsis ocurre un desbalance de las respuestas antiinflamatorias que puede dar lugar a una situación de inmunosupresión hasta llegar a comprometer la vida del paciente por la aparición de infecciones secundarias, causados por patógenos oportunistas o por la reactivación de virus latentes^{67,68}. Esta inmunosupresión involucra tanto a la respuesta inmune innata como a la adaptativa⁴⁵.

Por un lado, se produce una reprogramación de los monocitos y macrófagos en los pacientes con sepsis caracterizados por una menor secreción de citocinas proinflamatorias en respuesta a la exposición a los PAMPs⁶⁹. De forma similar, las células inmunitarias innatas (p. ej., células dendríticas, células asesinas naturales y neutrófilos) también muestran una menor capacidad para producir mediadores esenciales para la eliminación eficaz de patógenos. En su lugar, estas células secretan mayores cantidades de moléculas antiinflamatorias o inmunorreguladoras, como la interleucina 10 (IL-10), el Factor de transformación del crecimiento β (TGF β , del inglés *transforming growth factor β*) o el antagonista del receptor de IL-1 (IL-1RA, del inglés *Interleukin-1 receptor antagonist*), que amortiguan aún más la función inmunitaria⁷⁰.

Además, existe una reducción de expresión de HLA-DR (del inglés *Human Leukocyte Antigen – DR isotype*) en la superficie de monocitos, macrófagos y células dendríticas. Esta molécula forma parte del del complejo mayor de histocompatibilidad tipo II (MHC II) y es fundamental para la presentación de antígeno y la activación el sistema inmunitario adaptativo⁷¹, por lo que se produciría una presentación de antígeno deficiente⁴⁶. Esta disminución de la expresión de HLA-DR se ha visto correlacionada con una mayor incidencia de infecciones nosocomiales y un aumento de la mortalidad⁷².

Estos defectos inmunitarios innatos se explican por uno o ambos de los siguientes factores: la reprogramación metabólica y epigenética, la regulación por el sistema nervioso central, y la diferenciación o generación alterada de leucocitos en la médula, que además provoca la presencia de formas inmaduras de éstos en la sangre periférica, todas ellas desencadenadas por la lesión proinflamatoria inicial⁷¹.

Por otro lado, la inmunosupresión inducida por sepsis también se caracteriza por defectos importantes en la función inmunitaria adaptativa. Por ejemplo, el recuento de células T y B se reduce debido a la apoptosis. La linfopenia es un indicador de inmunosupresión, y está bien

estudiada su presencia en los pacientes sépticos. En el caso de la sepsis, la linfopenia tiene varias causas a parte de la apoptosis como la extravasación y migración de los linfocitos a los sitios de inflamación⁴¹. Además, los linfocitos B supervivientes muestran un fenotipo con una reducción en la expresión del MHC II, así como a un deterioro de la producción de citocinas inmunoestimuladoras y una producción incrementada de citoquinas antiinflamatorias⁷³, además de una reducción en la producción de inmunoglobulinas⁷⁴⁻⁷⁶. También, se ha descrito un descenso en la actividad proinflamatoria de las células T y se produce un cambio a una respuesta más inmunosupresora Th2⁷⁷. El aumento relativo de las células T reguladoras (Treg) también contribuye a la inmunosupresión en estos pacientes, aumentando con ello su función supresora⁷⁸⁻⁸⁰.

La vía PD-1/PD-L1 podría tener papel importante en la inmunosupresión inducida por la sepsis. Estas moléculas son conocidas como puntos de control inmunitario y su interacción entre la PD-1 en la superficie de las células T y la PD-L1 en la superficie de las APCs conduce al agotamiento de las células T⁸¹. La expresión de PD-1 se ha visto aumentada en los monocitos y macrófagos, granulocitos, así como en las células T en pacientes sépticos^{82,83}. La expresión aumentada de PD-L1 en monocitos y neutrófilos se correlacionó con una función fagocítica comprometida^{84,85} y en APCs se asoció con linfopenia, apoptosis de células T y mortalidad en pacientes sépticos^{82,86}.

- Disfunción endotelial

La disfunción endotelial constituye un evento central de la patogenia de la sepsis y precede al fallo de órgano⁸⁷. El endotelio es una barrera semipermeable que recubre la superficie interna de los vasos sanguíneos. Entre sus funciones se encuentra el intercambio de fluidos, proteínas plasmáticas y la extravasación leucocitaria, abriendo y cerrando las uniones celulares para este cometido. Se encuentra formado por una capa de células endoteliales apoyadas en una membrana basal y con una glicocálix en el lado luminal. En situaciones normales se encuentra en un estado anticoagulante, que impide la activación desregulada del sistema de coagulación⁸⁸.

Durante la sepsis existen varios eventos fisiopatológicos que afectan al funcionamiento de la barrera endotelial⁸⁹:

- El aumento del estrés oxidativo y de la inflamación sistémica.
- La degradación y desprendimiento del glicocálix.

- La separación entre las uniones intercelulares, la muerte de las células endoteliales y la disrupción de la barrera del tejido sanguíneo.
- El aumento de la adhesión leucocitaria y extravasación.
- La inducción a un estado procoagulante y antifibrinolítico.

La sepsis induce en las células endoteliales un estado proadhesivo, procoagulante y antifibrinolítico, que precede al daño orgánico característico de la patología^{90,91}. Como consecuencia, este endotelio disfuncional altera el tráfico de leucocitos y acelera la pérdida de fluidos a través de las uniones celulares, alterando así la homeostasis del organismo⁹². En consecuencia, esto provoca el incremento de la permeabilidad vascular contribuyendo a la activación de la cascada de la coagulación que a su vez potencia la inflamación y genera el edema tisular⁷⁷. Todo esto contribuye a la hipotensión, hipoxia local, perfusión inadecuada de órganos, isquemia, pudiendo producir el fallo orgánico, shock y la muerte en los pacientes más graves⁹³.

- Alteración de la coagulación

La activación de la coagulación se considera como parte de la respuesta inmune innata a un patógeno y el término “inmunotrombosis” fue introducido para englobar este concepto⁹⁴. En la sepsis se produce un desbalance en el sistema de la coagulación caracterizado por una actividad procoagulante que ocurre a la vez que un descenso en los mecanismos anticoagulantes⁹⁵.

Los depósitos de fibrina pueden darse debido a tres vías principales que son: la acción del factor tisular (FT), la alteración de los mecanismos anticoagulantes fisiológicos, y la menor eliminación de fibrina debido al compromiso del sistema fibrinolítico. La expresión del FT por los monocitos activados por agentes microbianos y una variedad de mediadores inflamatorios, incluyendo citoquinas y factores del complemento, estimula la cascada de la coagulación y la consiguiente generación de trombina⁹⁵. Estos procesos son contrarrestados de forma ineficaz por el inhibidor de la vía del factor tisular (TFPI del inglés *Tissue factor pathway inhibitor*), que está presente en el plasma y las plaquetas, y es producido principalmente por las células endoteliales⁹⁶.

Al mismo tiempo, las vías anticoagulantes asociadas a las células endoteliales, en particular el sistema de la proteína C que es capaz de inactivar proteolíticamente cofactores de la coagulación, se ven también alteradas por las citocinas proinflamatorias. En la sepsis, este sistema se encuentra alterado debido a varios factores como son la disminución de

síntesis de proteína C por el hígado, el aumento de consumo de proteína C y la alteración de la activación de proteína C por disminución de trombomodulina y de la expresión del receptor de la proteína C en células endoteliales⁵⁴. En conjunto, estos acontecimientos contribuyen al aumento de la generación de fibrina, induciendo el depósito de coágulos sanguíneos en la microvasculatura.

Simultáneamente, la fibrinólisis disminuye drásticamente. Esto ocurre debido a que en la sepsis los niveles de PAI-1 aumentan, provocando la inhibición de la función tanto del activador del plasminógeno tisular (t-PA) como del activador del plasminógeno tipo uroquinasa (u-PA). Esta desregulación de la red PAI-1/t-PA/u-PA provoca una reducción sustancial de la concentración de plasmina, necesaria para disolver los coágulos de fibrina intravascular⁵⁴.

En la sepsis, la activación y agregación de las plaquetas son acontecimientos clave. La formación de fibrina estalla en la superficie plaquetaria activada, y la adhesión de las plaquetas a los neutrófilos estimula la liberación de NETs⁹⁷. La formación de NETs por estos neutrófilos activados en situaciones proinflamatorias, proporcionan un andamio para una mayor formación de coágulos⁹⁸. Este mecanismo de formación de coágulos tiene una misión defensiva conteniendo la infección localmente. Pero si se da de manera sistémica, puede tener consecuencias letales para los huéspedes⁹⁹. Además, estos agregados plaquetarios pueden activar la liberación de trombina, provocando la formación de fibrina y de coágulos.

La activación incontrolada de la coagulación conduce finalmente a la coagulación intravascular diseminada (CID). La CID es la manifestación más severa de este desbalance. Además de trombosis microvascular, puede asociarse a hemorragias debidas al consumo de factores de coagulación, proteínas anticoagulantes y plaquetas¹⁰⁰.

- **Disfunción orgánica**

La disfunción orgánica es la consecuencia final de todos los mecanismos fisiopatológicos que se han descrito con anterioridad. Cualquier sistema orgánico puede verse afectado en la sepsis, pero en la práctica clínica suelen evaluarse seis sistemas por razones prácticas, que son los estudiados más ampliamente: los sistemas cardiovascular, hepático, pulmonar, renal, hematológico y neurológico (**Figura 6**). Las alteraciones de los diferentes sistemas pueden ir desde una disfunción leve hasta el fallo del órgano por completo. Además, la sintomatología y signos que se generan en los pacientes son diferentes y específicos del órgano afectado⁷⁷.

En el sistema cardiovascular, la hipotensión arterial es la característica más común en los pacientes con sepsis. Las alteraciones se caracterizan por una pérdida del tono vascular, con

disminución de las resistencias vasculares sistémicas, con hipovolemia relativa y una depresión miocárdica con disminución de la función sistólica de ventrículo derecho e izquierdo¹⁰¹.

La disfunción renal en la sepsis se presenta clínicamente como oliguria. Los aumentos de la urea sérica (o nitrógeno ureico en sangre) y la creatinina son frecuentes, e incluso un aumento menor de la concentración de creatinina se asocia a una peor evolución en los pacientes en estado crítico¹⁰². La disfunción renal que evoluciona a insuficiencia renal grave es una de las principales causas de morbilidad inducida por la sepsis¹⁰³.

La alteración de la función hepática en ausencia de una anomalía estructural hepatobiliar es frecuente en la sepsis y está relacionada con los efectos deletéreos de patógenos, toxinas y/o citocinas. Las alteraciones de la función hepática se reflejan principalmente en un aumento de la bilirrubina y transaminasas¹⁰⁴.

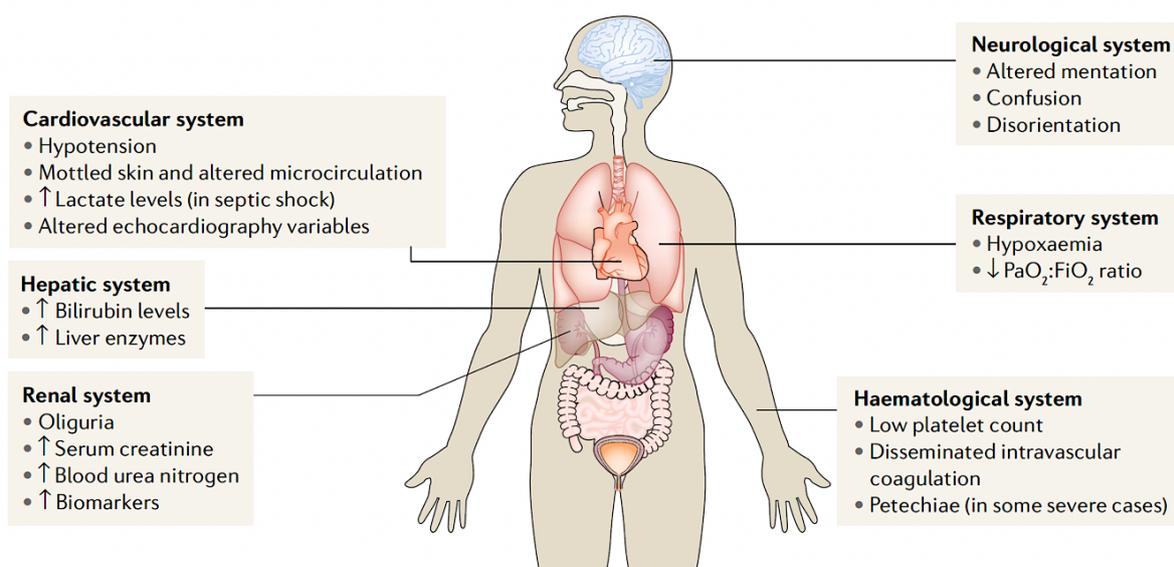


Figura 6. *Disfunción orgánica en la sepsis. Adaptada de Lelubre y Vicent. (2018)*¹⁰⁵

La disfunción hematológica ocurre en la mayoría de los pacientes con sepsis. La gravedad de la coagulopatía puede ser variable desde trastornos subclínicos hasta una CID fulminante. La prolongación del tiempo de protrombina, del tiempo de tromboplastina parcial activada, un recuento bajo de plaquetas o niveles altos de dímero D son características comunes de la disfunción hematológica⁹⁵.

En el sistema respiratorio la disminución de la presión parcial de oxígeno (PaO_2) o hipoxemia, es la característica distintiva de la aparición de disfunción. Se manifiesta clínicamente por hiperventilación y puede dar lugar a una baja presión parcial arterial de dióxido de carbono (PaCO_2). El tratamiento de la hipoxemia requiere la administración de oxígeno y, en los pacientes más graves, la ventilación mecánica¹⁰⁵. El síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA) es la consecuencia más grave de la disfunción respiratoria.

La disfunción neurológica se presenta como alteración del nivel de conciencia de los pacientes que incluye desorientación y confusión además de otros cuadros encefalopáticos. Estos pacientes tienen una mortalidad elevada y a menudo presentan secuelas cognitivas y funcionales prolongada¹⁰⁶.

Además, la disfunción de un único órgano en la sepsis es poco frecuente. La progresión a un síndrome de fallo multiorgánico sigue siendo una de las causas más frecuentes de muerte en los pacientes sépticos. Este paso a fallo multiorgánico se debe en parte a la existencia de una “diafonía orgánica” que implica la desregulación de un sistema, que desencadena mecanismos compensatorios en otros sistemas que pueden inducir más daño. Un mejor conocimiento y seguimiento de la mecánica de la interacción entre órganos permitirá anticipar el daño orgánico y desarrollar estrategias terapéuticas individualizadas¹⁰⁷.

Por esto, la evaluación del fallo de órgano tras una infección nos ayuda a diagnosticar la sepsis, pero además puede guiar el manejo de los pacientes.

1.1.4. DIAGNÓSTICO Y PRONÓSTICO DE LA SEPSIS

A pesar de los avances en investigación, la sepsis continúa siendo una entidad de diagnóstico difícil. Además, tras la tercera conferencia se requiere un aumento del score SOFA de al menos dos puntos. Es más complicado todavía realizar el diagnóstico con la suficiente precocidad antes de que la infección evolucione a sepsis y se haya producido fallo de órgano. De hecho, en una revisión publicada por Flannery y colaboradores en 2022 describieron como un tercio de los pacientes ingresados en el hospital con sepsis habían sido atendidos por profesionales sanitarios la semana anterior, pero no se consideraron lo suficientemente enfermos como para requerir hospitalización¹⁰⁸. Por el contrario, en otras ocasiones el diagnóstico de sepsis no es correcto debido a que la inflamación y/o el fallo de órgano que presentan los pacientes están ocasionados por otras causas. En este caso se administrará una antibioticoterapia incorrecta que contribuirá a la sigilosa pandemia que estamos viviendo hoy en día de la resistencia a antibióticos.

Para el diagnóstico de sepsis hay que tener en cuenta en un primer lugar los signos y síntomas de infección y su posible origen o foco, y el cálculo de la escala SOFA en los servicios en los que sea posible. En segundo lugar, los probables factores de riesgo del paciente y, por último, los signos de disfunción orgánica, ya que se eleva notoriamente la mortalidad. Hoy en día el diagnóstico de la sepsis se basa en criterios clínicos junto con datos de laboratorio, que evalúan fundamentalmente la disfunción orgánica en los diferentes órganos afectados.

La fiebre o hipotermia es uno de los signos más frecuentes, aunque no siempre está presente. Es la manifestación en respuesta a la infección, pero también se produce como reacción a la inflamación y al traumatismo dificultando el diagnóstico diferencial precoz de sepsis, por ello se desaconseja su utilización como único predictor o factor excluyente o incluyente^{109,110}.

La hipoxia secundaria a la transferencia alveolocapilar se mide mediante el ratio entre la presión arterial de oxígeno y la fracción inspirada de oxígeno (PaO_2/FiO_2). Además, esto iría asociado a una hiperventilación manifestada por un aumento de la frecuencia respiratoria (> 20 respiraciones/min) o disminución de la $PaCO_2$ (< 32 mmHg). Por otro lado, la hipotensión arterial ($PAS < 90$ mmHg o $PAM < 65$ mmHg) junto a los niveles de lactato sérico (> 2 mmol/L) se utiliza para identificar el shock séptico¹⁹.

Existen diferentes pruebas clínicas y analíticas que se asocian específicamente a diferentes disfunciones orgánicas como la disfunción hepática se encuentra asociada a una hiperbilirrubinemia elevada, lactato deshidrogenasa, o las transaminasas elevadas. Además, la presencia de oliguria y las cifras de creatinina son patrones analíticos que se asocian con la disfunción renal. Para el estudio de la coagulación se incluyen el tiempo de tromboplastina parcial activado, tiempo de protrombina, dímero D, fibrinógeno. También se tiene en cuenta la disfunción neurológica que presenta el paciente en el momento de diagnóstico, como la confusión o el delirio. Además, existen biomarcadores de sepsis que se encuentran implementados en la clínica y pueden ser de gran ayuda tanto en el diagnóstico como en la evaluación del pronóstico de estos pacientes con sepsis. Entre ellos los más conocidos son la proteína C reactiva y la procalcitonina de los cual hablaremos en profundidad más adelante.

La identificación del patógeno mediante el cultivo microbiológico de posibles focos sigue siendo la herramienta fundamental en esta patología. Las muestras se deberían tomar previamente al inicio de la antibioticoterapia, siempre y cuando la extracción de estos no supusiera una demora importante para el inicio de la antibioticoterapia que pudiera repercutir en el progreso del paciente. La toma de cultivos adecuados es fundamental para confirmar la

infección e identificar el patógeno, asegurando una antibioticoterapia dirigida evitando contribuir a la resistencia contra antibióticos. Pero esta técnica conlleva el consumo de mucho tiempo del cual no se dispone en este tipo de pacientes, así como los posibles resultados negativos (más del 40%) que se dan ya que existen gran cantidad de patógenos con condiciones de cultivo especiales que no somos capaces de implementar *in vitro*¹¹¹. Por ello, un hemocultivo negativo no descarta la presencia de sepsis y un hemocultivo positivo no siempre indica infección (simple bacteriemia o contaminación)^{19,112}. Además, para solventar estos problemas que supone el cultivo microbiológico, en los últimos años se han desarrollado técnicas de diagnóstico molecular, de resonancia magnética T2 y técnicas de espectrometría de masas que se han ido implementando en los laboratorios clínicos (MALDI-ToF y ESI-ToF)¹¹³.

El diagnóstico por imagen puede orientar acerca del origen de la infección, como pueden ser las radiografías de tórax. Estas técnicas pueden ser de vital importancia en aquellos casos inespecíficos y generalizados en los que desconozcamos un foco inicial.

Además, la mayoría de las pruebas aquí citadas son de acceso limitado en las unidades de atención primaria, que son los sitios claves en búsqueda de la precocidad del diagnóstico.

1.1.4.1. ESCALAS DE GRAVEDAD EN LA SEPSIS

La sepsis es un síndrome altamente complejo, con un camino continuo de gravedad creciente desde la infección hasta la muerte, caracterizado por la disfunción de múltiples órganos. Por ello para evaluar el estado de los pacientes existen escalas de gravedad que son herramientas que recogen variables con el objetivo de ayudar a diagnosticar precozmente, pronosticar e incluso para enfocar los tratamientos¹¹⁴.

Estas escalas se han desarrollado a partir de grandes bases de datos donde se recogen variables de mayor interés o de mayor impacto sobre la gravedad de la enfermedad. Estas variables que formaran las escalas tienen que ser previamente consensuadas por expertos y se han de contrastar por datos estadísticos que las validen correctamente.

La principal limitación que encuentra la aplicación de estas escalas es debida a la variabilidad de los casos tratados, siendo éste un impedimento importante en su utilización real para la toma de decisiones individuales, aunque pueden ofrecer una orientación general del estado de los pacientes. Además, en muchas ocasiones, estas escalas tienen un componente subjetivo, que depende del clínico que la emplee, haciendo que las valoraciones a través de estas escalas puedan cambiar.

A lo largo de los años, se han creado numerosas escalas clínicas para valorar la gravedad de la sepsis. Las más estudiadas y utilizadas, son la APACHE II (del inglés *Acute Physiology And Chronic Health Condition II*), la SAPS II (del inglés *Simplified Acute Physiology Score II*) y la SOFA (del inglés *Sequential Organ Failure Assessment*)¹¹⁵.

La escala **APACHE II** es un sistema estático de valoración pronóstico de mortalidad que consta de 12 variables fisiológicas que registran los peores valores de diversos parámetros obtenidos dentro de las primeras 24 horas de ingreso del paciente en la UCI^{116,117}.

La escala **SAPS II** se describió en 1993 siguiendo el modelo de la APACHE II para evaluar la gravedad del paciente al ingreso en UCI utilizando 17 variables. Se puntúan las variantes de la normalidad de diversos datos fisiológicos y de laboratorio, medidos en las primeras 24 horas de su ingreso, así como la edad, el estado de salud previo y la causa del estado actual del paciente^{118,119}.

La escala **SOFA** es una escala dinámica que se emplea para la evaluación continuada e independiente del fallo de órgano durante la estancia en UCI de un paciente. Es el principal índice de disfunción orgánica utilizado hoy en día debido a que se encuentra incluida en la definición de sepsis y shock séptico establecidas por el 3º Consenso Internacional (SEPSIS-3)³. Esta escala valora la funcionalidad de 6 órganos: respiratorio, cardiovascular, renal, hepático, hematológico y sistema nervioso central. Para la evaluación de cada órgano se asigna el valor de 0 puntos cuando la funcionalidad del órgano es normal, 1 o 2 puntos cuando existe “disfunción” y 3 o 4 puntos cuando existe “fracaso” del órgano. Por tanto, la puntuación SOFA oscila entre un intervalo de 0 a 24 puntos (**Tabla 3**)¹²⁰.

Se observó una relación directa entre la mortalidad y puntuación SOFA, aunque el objetivo principal de esta escala no era predecir la mortalidad^{121,122}. Sin embargo, se trata de una escala subjetiva, ya que la determinación de algunos parámetros recogidos en la misma depende del clínico que esté valorando.

No obstante, los estudios realizados en torno a esta escala incluyen pacientes ingresados en las UCIs y son pocos los estudios con pacientes de los Servicios de Urgencias Hospitalarios (SUHs) u otros servicios debido a que sus parámetros sólo pueden recogerse en un servicio de esta naturaleza, y no en cualquier área del hospital.

Por tanto, se precisa de alternativas objetivas y de fácil acceso que permitan valorar el estado de los pacientes infectados en todas las áreas de los hospitales e incluso en los servicios de atención primaria, especialmente si queremos ser lo más precoces posibles a la

hora de identificar a este tipo de pacientes, algo clave para su tratamiento y, por ende, para su pronóstico.

Variables	Puntuación SOFA				
	0	1	2	3	4
SNC* Escala Glasgow	15	13-14	10-12	6-9	<6
Respiratorio PaO ₂ /FiO ₂ (mmHg)	>400	<400	<300	<200 ^a	<100 ^a
Cardiovascular Tensión arterial (PAM)	≥70mmHg	<70 mmHg	DA <5 o DBT ^b	DA 5,1-15 o A ≤0,1 o NA ≤0,1 ^b	DA >15 o A ≥0,1 o NA ≥0,1 ^b
Coagulación Plaquetas (10 ³ /mm ³)	>150	<150	<100	<50	<20
Función hepática Bilirrubina (mg/dL)	<1,2	1,2-1,9	2,0-5,9	6,0-11,9	>12
Función renal Creatinina (mg/dL) o flujo urinario (mL/día)	<1,2	1,2-1,9	2,0-3,4	3,5-4,9 <500	>5,0 <200

Tabla 3. Escala de Evaluación Secuencial de la Insuficiencia Orgánica (Sequential Organ Failure Assessment, SOFA).

*SNC= sistema nervioso central. ^aValores con soporte respiratorio. ^bDA= dopamina, DBT= dobutamina (a cualquier dosis), A= adrenalina, NA= noradrenalina. Agentes adrenérgicos administrados durante al menos una hora (dosis mcg/kg/min)

1.2. COVID-19

1.2.1. HISTORIA DE LA COVID-19

En diciembre de 2019 se reportaron a la Organización Mundial de la Salud (OMS) una serie de pacientes hospitalizados con neumonía de origen desconocido e insuficiencia respiratoria con una exposición colectiva previa a un mercado de pescado y animales vivos en Wuhan, provincia de Hubei (China)^{123,124}. En enero de 2020 se identificó la secuencia del genoma completo categorizando a este nuevo patógeno causante como un betacoronavirus del mismo subgénero que el coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV-1) designado como 2019-nCov¹²⁵. Posteriormente el Comité Internacional de Taxonomía de Virus denominó al nuevo coronavirus como «SARS-CoV-2» (del inglés *Severe Acute Respiratory Syndrome coronavirus 2*), y la OMS denominó a la enfermedad «COVID-19» (enfermedad por coronavirus de 2019)¹²⁶.

La OMS declaró el 30 de enero de 2020 una emergencia internacional para la salud pública señalando la existencia de un total de 7.818 casos confirmados en todo el mundo, la mayoría en China y otros 18 países más¹²⁷. El 11 de marzo de 2020 se definió la situación de pandemia mundial debido a la rapidez de la transmisión, la ausencia de inmunidad previa de la población, mortalidad e incertidumbre de la situación¹²⁸. Tras 3 años del inicio de la pandemia, el 5 de mayo de 2023, desde la OMS se declaró el fin de la emergencia pandémica a nivel mundial¹²⁹.

En España el Centro Nacional de Microbiología confirma el primer caso de infección por SARS-CoV-2 en la Gomera el 31 de enero de 2020¹³⁰. Por ello, el 14 de marzo con 3.498 casos declarados se establece el estado de alarma en España, que trajo consigo el confinamiento de toda la población en su domicilio para contener esta pandemia manteniéndose hasta el 21 de junio del mismo año¹³¹.

Pero a pesar de haberse declarado el fin de la emergencia pandémica, a día de hoy las hospitalizaciones debida a COVID-19 siguen siendo una preocupación de salud pública¹³². Personas de todas las edades siguen teniendo riesgo de hospitalización debido a COVID-19 pero son los pacientes frágiles de ≥ 65 años los que presentan tasas de hospitalización más elevadas y trayectorias más graves^{132,133}.

1.2.2. EPIDEMIOLOGÍA DE LA COVID-19

En la actualidad, el SARS-CoV-2 ha causado una de las mayores pandemias de los últimos tiempos entre las que también se encuentran la peste negra, el cólera, la gripe española o el SIDA.

Esta enfermedad es la responsable de al menos 776.281.230 casos y 7.065.880 fallecidos a nivel mundial (**Figura 7**). La aparición de casos no ha sido constante si no que se han ido distribuyendo en olas relacionadas con la aparición de nuevas variantes del SARS-CoV-2. Además, la gravedad y mortalidad han mostrado gran variabilidad según cada país.

La cepa emergente de SARS-CoV-2 de 2019 se denomina cepa original o de tipo salvaje. Pero con el tiempo esta cepa ha sufrido mutaciones dando lugar a nuevas variantes. Puede ocurrir que alguna de estas variantes tenga un impacto significativo en la situación epidemiológica por incremento de la facilidad con la que el virus se propaga, induciendo mecanismos de escape del sistema inmunitario causando una enfermedad más grave. Esta nueva variante se designa como variante preocupante (VOC del inglés *Variant of Concern*). La OMS propuso utilizar las letras del alfabeto griego para denominar a las nuevas variantes originadas del SARS-CoV-2¹³⁴. Cada VOC que apareció mostró ventajas de transmisión sobre la variante anterior y se convirtió en dominante a nivel regional en algunos casos, y globalmente en otros^{135,136}.

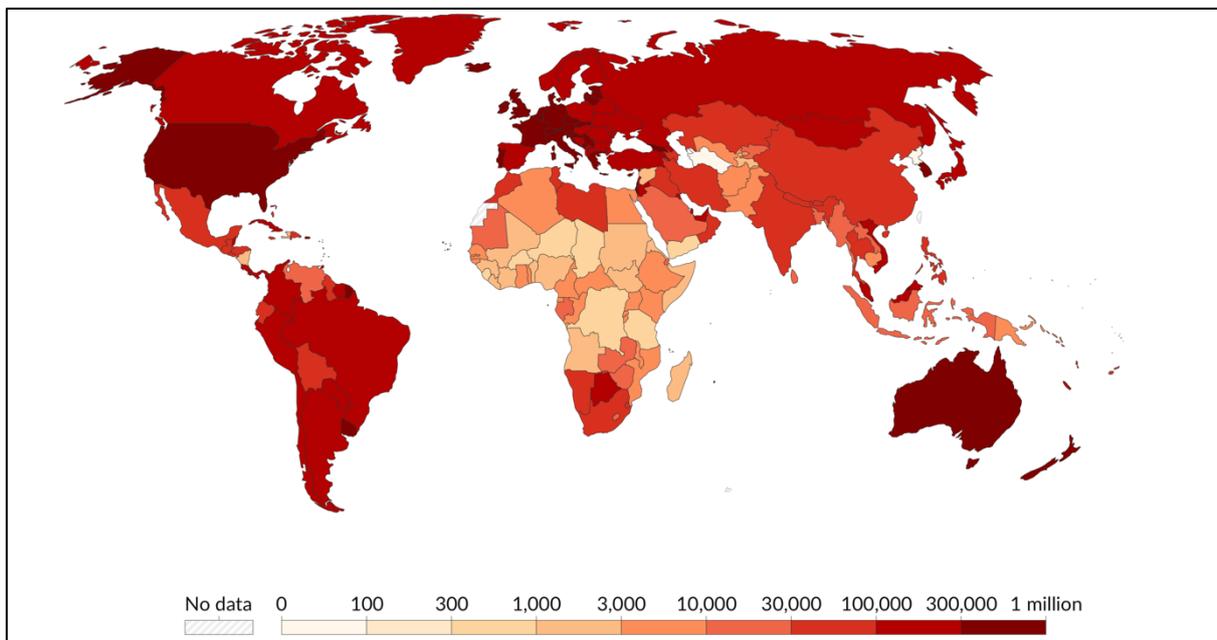


Figura 7. Casos confirmados de Covid-19 por millón de personas.

Datos de <https://ourworldindata.org/explorers/covid>

En España, las cifras acumulan 13.980.340 de casos y 121.852 de fallecidos a día de 4 de octubre de 2024¹³⁷. El pico de mortalidad tuvo lugar en la primera ola en marzo de 2020, sin embargo, el pico de incidencia se retrasó hasta la sexta ola en enero de 2022 en la cual se encontraba circulando la cepa ómicron (**Figura 8**).

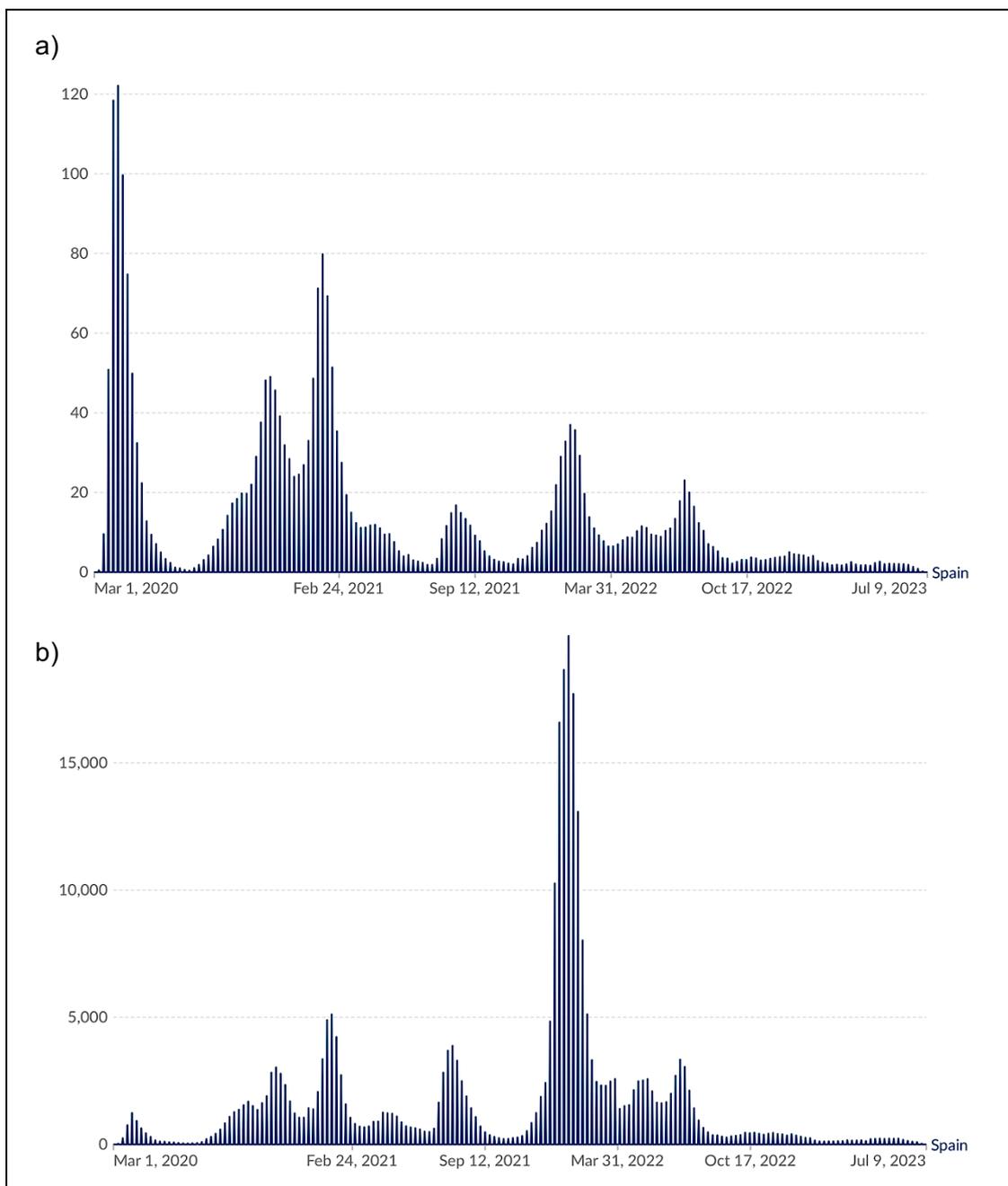


Figura 8. a) Número de muertes por COVID-19 en España por millón de personas.

b) Número de casos de COVID-19 en España por millón de personas.

Datos de <https://ourworldindata.org/covid-cases>.

1.2.3. SARS-CoV-2

Los coronavirus conforman una familia de virus de ARN monocatenario de sentido positivo que causan enfermedades en animales y humanos. Antes de 2019, seis coronavirus se habían descrito en seres humanos. Estos causan frecuentemente infección en el tracto respiratorio superior provocando síntomas de resfriado común. No obstante, existen algunos coronavirus que causan enfermedades más graves como los coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV-1) y el síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS-CoV) que causaron epidemias en 2002 y 2012, respectivamente^{138,139}.

El SARS-CoV-2 es un betacoronavirus conformado por un genoma de cadena sencilla de 29891 bases que codifican para 9860 aminoácidos y con una cápside como envoltura. Está envuelta es esférica con espículas, lo que le confiere el nombre a la familia de los coronavirus. El genoma de estos virus codifica tanto para proteínas estructurales como no estructurales. Las cuatro proteínas estructurales esenciales son la glicoproteína de superficie *Spike* (S), la proteína pequeña de la envuelta (E), la proteína matriz de la membrana (M) y la proteína de la nucleocápside (N). Además, también codifica otras proteínas no estructurales organizadas en marcos abiertos de lectura (ORFs, del inglés *open reading frames*)¹⁴⁰

La proteína S es la más antigénica y se encuentra compuesta por dos subunidades, S1 que contiene el dominio de unión al receptor (RBD, del inglés *Receptor Binding Domain*) y S2, que incluye el péptido de fusión, entre otros. La proteína M una proteína de gran tamaño que se encuentra también en la superficie celular, y da forma al virus, además de participar en el empaquetamiento del ARN. La proteína E es una proteína de pequeño tamaño que colabora en el ensamblaje y liberación de los viriones. La proteína N se une al ARN viral favoreciendo su empaquetamiento, además de mediar en el ensamblaje viral. En cuanto a las proteínas no estructurales, las replicasas, proteasa y ARN polimerasa son las más relevantes ya que se encargan de la transcripción y replicación del virus¹⁴¹.

El SARS-CoV-2 se transmite por vía respiratoria a través de gotas o aerosoles, por contacto o transmisión fecal. En la **Figura 9** se muestra el ciclo de multiplicación del SARS-CoV2. Cuando el virus llega al organismo utiliza la enzima convertidora de la angiotensina 2 (ECA2) como receptor para la entrada a las células del huésped al igual que el SARS-CoV original. SARS-CoV-2 utiliza la serina proteasa transmembrana 2 (TMPRSS2) del huésped para el procesamiento proteolítico necesario en la proteína S para activarla y que se produzca la fusión celular y la entrada del ARN viral a las células huésped^{142,143}. El ARN viral se traduce en los ribosomas y formará las proteínas no estructurales. Estas proteínas colaborarán en la replicación del virus formando los llamados complejos de Replicación-Transcripción (RTC, del

inglés *Replication-Transcription Complex*) donde se llevará a cabo la replicación del ARN viral, la transcripción del ARNm subgenómico y la traducción, lo que generará las proteínas estructurales. Posteriormente en el aparato de Golgi se producirá el ensamblaje de estas proteínas y la maduración de los viriones que serán liberados de las células¹⁴⁴.

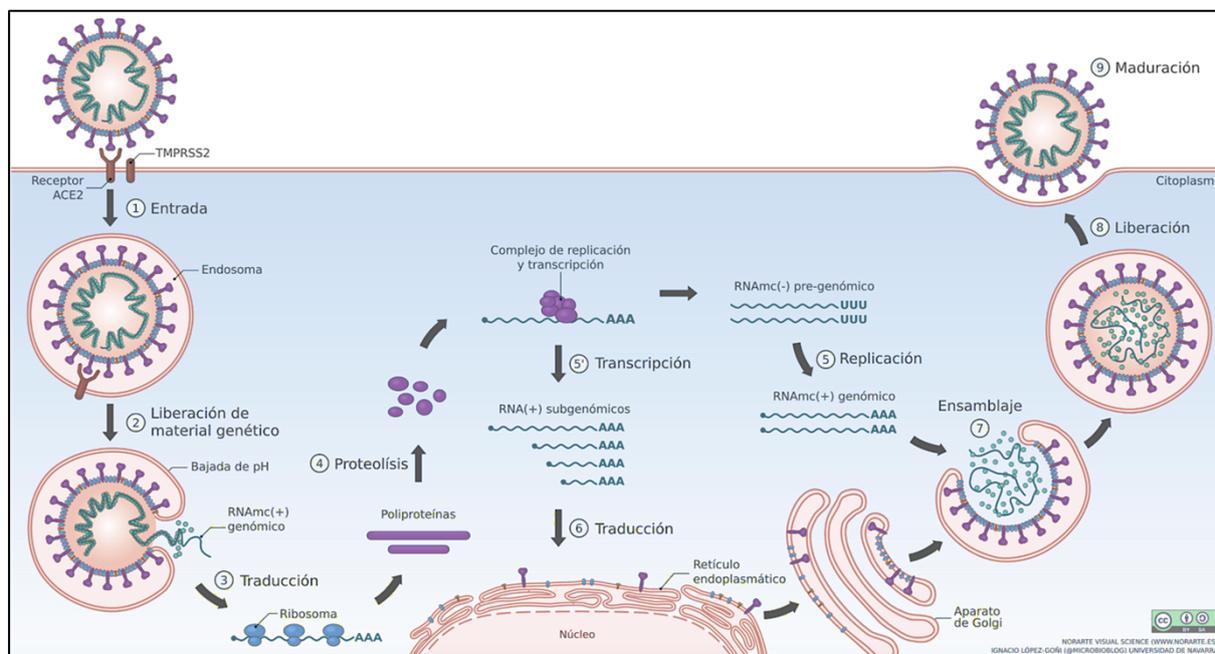


Figura 9. Ciclo de multiplicación celular del SARS-CoV-2

1.2.4. FISIOPATOLOGÍA DE LA COVID-19

Gran parte de los pacientes infectados por SARS-CoV-2 no van a desarrollar una infección grave y la infección se limita localmente a las vías respiratorias superiores. Sin embargo, en otras personas, la infección provoca una neumonía grave debida a la inmunopatología desencadenada por la infección del tracto respiratorio inferior y el desarrollo del SDRA.

Como ocurre en la sepsis, los pacientes que desarrollan COVID-19 grave suelen ser unos huéspedes vulnerables con algún predisponente que conduce a respuestas inmunitarias desreguladas¹⁴⁵. Entre estos predisponentes se encuentran el sexo, la edad, la propia genética, algunas comorbilidades como obesidad, hipertensión, diabetes, enfermedad renal crónica, hiperlipidemia o enfermedad cardiovascular y el estado de vacunación entre otros^{146,147}.

Los mecanismos claves que pueden desempeñar un papel en la fisiopatología de esta enfermedad incluyen la desregulación de la respuesta inmunitaria, el daño endotelial y la activación de la coagulación lo que provoca la “tromboinflamación”, además de la desregulación del sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) (**Figura 10**)¹⁴⁸. La importancia relativa de estos mecanismos en la fisiopatología de la COVID-19 no se conoce por completo en la actualidad.

Mientras que, algunos de estos mecanismos, como la entrada viral y el daño tisular mediados por ECA2 y la desregulación del SRAA, pueden ser exclusivos de la COVID-19, la patogénesis inmunitaria causada por la liberación sistémica de citocinas y las disfunciones de la microcirculación también pueden darse en otras patologías infecciosas como la sepsis y el shock séptico¹⁴⁸.

Todo esto puede conllevar a la presencia de una serie de secuelas a largo plazo en los supervivientes de COVID-19 entre el 39-46% que se denomina como *long COVID*¹⁴⁹. Esto provoca una reducción de la calidad de vida en estos pacientes. Se han descrito más de 100 síntomas diversos en distintos sistemas, incluidos el respiratorio, el neurológico, el cardiovascular y el gastrointestinal^{150,151}.

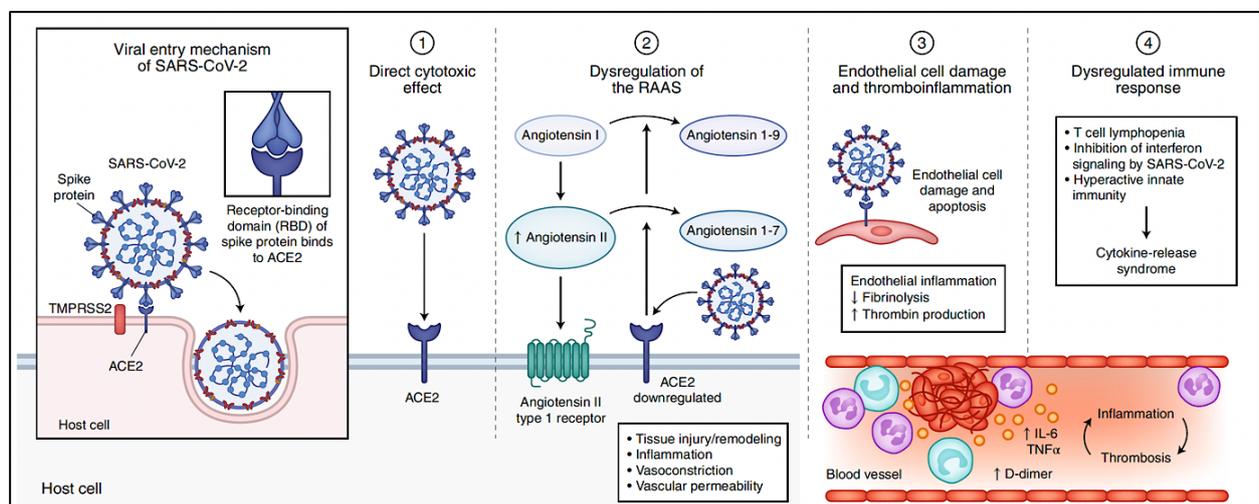


Figura 10. Fisiopatología de la COVID-19.

Los mecanismos propuestos para la COVID-19 incluyen (1) daño celular directo mediado por el virus; (2) desregulación del RAAS como consecuencia de la regulación a la baja de ECA2 relacionada con la entrada viral; (3) daño de las células endoteliales y tromboinflamación; y (4) desregulación de la respuesta inmunitaria e hiperinflamación causada por la inhibición de la señalización del interferón por el virus, linfopenia y producción de citocinas proinflamatorias. Adaptada de Gupta y cols. (2020)¹⁴⁶

- Sistema resina angiotensina-aldosterona

La función del receptor ECA2 es la regulación del SRAA. Este sistema se compone por una cascada de péptidos reguladores que participan en procesos fisiológicos claves para el organismo como el equilibrio de líquidos y electrolitos, la regulación de la presión sanguínea, la permeabilidad vascular y el crecimiento tisular. ECA2 tiene como función la transformación de Angiotensina I en Angiotensina 1-9 y de la Angiotensina II en Angiotensina 1-7. Estos productos finales tienen propiedades vasodilatadoras, antiproliferativas, antifibróticas y antiinflamatorias^{148,152}.

La infección por SARS-CoV-2 reduce la expresión de ECA2 en las células infectadas debido a su internalización y su regulación a la baja seguida de la degradación lisosomal¹⁵³. Esto favorece la progresión de los procesos inflamatorios y pro-fibróticos en el pulmón^{152,154}. Además, se ha visto como el SRAA está muy activado en pacientes con COVID-19 grave¹⁵³.

ECA2 también controla el sistema calicreína-quinina, el cual regula la permeabilidad vascular. Por ello, su internalización puede provocar un aumento de la permeabilidad de los vasos favoreciendo el edema pulmonar¹⁵². Los estudios de Martens y Alfaro evidencian la existencia de una desregulación de este sistema en lavados bronco-alveolares y plasma de pacientes con COVID-19 que además se asociaba con la gravedad de estos^{155,156}.

- Desregulación de la respuesta inmune

La desregulación entre las respuestas inmunes innata y adaptativa es el principal evento en la fisiopatología de la COVID-19. Esta respuesta disfuncional conduce a un aclaramiento defectuoso del virus, a inflamación y daño de tejidos llegando a afectar sistémicamente a varios órganos y conduciendo a un fallo multiorgánico.

Respuesta inmune innata

El primer contacto del SARS-CoV-2 con el organismo ocurre en el tracto respiratorio superior, donde empieza a inducir una respuesta inmune en las mucosas. Esto conlleva una activación de la respuesta inmune innata a través de los PRR al reconocer PAMPs y DAMPs desencadenando una respuesta antiviral vía interferón de tipo I/III, producción de citoquinas proinflamatorias, activación de macrófagos, células dendríticas y otras células inmunes, como se produce en otros tipos de infección como la sepsis.

Sin embargo, una huella importante de la COVID-19 grave es una respuesta antiviral tardía o defectuosa de IFN, caracterizada tanto por la deficiente producción de la proteína como la baja estimulación de los genes de la respuesta IFN¹⁵⁷⁻¹⁵⁹. Esto se debe a que existen proteínas del virus que antagonizan con la respuesta del INF como se ha reportado en el caso de ORF3b, ORF6, ORF8 y N del SARS-CoV-2^{160,161}.

Los neutrófilos van a estar involucrados en esta desregulación debido a una excesiva formación de NETs que al igual que en la sepsis puede contribuir a exacerbar la inflamación y la trombosis microvascular, pudiendo provocar el daño en los tejidos. En un estudio publicado en 2020 se han observado como en los pacientes con COVID-19 existía la presencia en suero de componentes de las NETS como histonas ADN libre o mieloperoxidasa, y se ha relacionado con el estado grave de la enfermedad¹⁶². También se ha demostrado que otras células inmunes innatas como son las células NK se ven disminuidas en sangre periférica durante la infección grave por SARS-CoV-2¹⁶³, además de encontrarse funcionalmente desactivadas ya que el SARS-CoV-2 promueve el agotamiento, la inhibición, la pérdida de receptores activadores en estas células¹⁶⁴.

Además, se da una hiperproducción inusual de citoquinas¹⁶⁵. Entre estas citoquinas se encuentra IL-6, la IL-8, IL-1 β , TNF- α , proteína quimioatrayente de monocitos 1 (MCP-1, del inglés *monocyte chemoattractant protein 1*), IL-7, IL-17 y IL-18 entre otros, y se han asociado en múltiples estudios con la gravedad de la enfermedad y la mortalidad¹⁶⁶⁻¹⁶⁸. En otros trabajos se ha visto como la producción sostenida de alguno de estos mediadores como son IL-6 o TNF- α en pacientes infectados por SARS-CoV-2 se correlaciona con una reducción de la maduración de monocitos. Esto tiene como resultado una reducción de la expresión del antígeno MHC de clase II (HLA-DR) en los monocitos circulantes, lo que dio lugar a células menos capaces de presentar antígeno¹⁶³. Esta respuesta inflamatoria exacerbada del organismo induce daño en los tejidos y órganos contribuyendo al aumento de la gravedad de la enfermedad e incluso a la muerte.

Al igual que en la sepsis, la activación del complemento puede contribuir en la fisiopatología de esta enfermedad¹⁶⁹. En pacientes con COVID-19 la acumulación de componentes como los del complejo de ataque a la membrana o C5a en el pulmón se asocia a más fallo pulmonar¹⁷⁰⁻¹⁷². También, el SARS-CoV-2 codifica proteínas víricas que activan el inflamasoma, activando la cascada inflamatoria, lo que conduce a la producción de citoquinas proinflamatorias (principalmente, IL-1 β e IL-18)¹⁷³. Su activación se ha visto asociada con la gravedad de la COVID-19¹⁷⁴.

Respuesta inmune adaptativa

Una de las principales huellas de la desregulación inmune adaptativa es una profunda linfopenia sostenida, principalmente células T CD4⁺ y T CD8⁺. Esta linfopenia se ha visto asociada a la gravedad de la enfermedad^{163,175–178}. La reducción de células T en sangre periférica se puede deber a la apoptosis de las propias células, pero también a su infiltración en los pulmones lo que se ha visto en los casos graves de COVID-19^{179,180}. La linfopenia producida por SARS-CoV-2 se diferencia de la que producen otras infecciones como la gripe, por su magnitud y su durabilidad. Por otro lado, las células Treg específicas de SARS-CoV-2 se encontraron elevadas en los casos de COVID-19 con peor desenlace¹⁸¹.

Se ha visto además una reducción de las células B. En un estudio publicado en 2022, Çölkesen y colaboradores vieron niveles significativamente más bajos de células B totales en los pacientes que fallecían comparados con los que se recuperaban. Además, estos pacientes también mostraban niveles reducidos de IgA, IgG e IgG1 periféricas específicas de SARSCoV-2¹⁸². La producción retrasada o deficiente de anticuerpos contra el SARS-CoV-2 ha sido documentada por nuestro grupo y otros investigadores demostrando que los títulos bajos de estos anticuerpos se asocian a un mal pronóstico en los pacientes con COVID-19^{183–186}.

Por último, se han reportado la presencia de autoanticuerpos en pacientes con COVID-19, en específico anticuerpos neutralizantes de IFNs de tipo I. Estos autoanticuerpos se encuentran en el 10% de los pacientes y se asocian con neumonía grave y fallo multiorgánico^{187–189}. En estudios in vitro e in vivo se ha demostrado que estos autoanticuerpos bloquean la actividad del IFN- α lo que contribuye a la explicación de esa menor actividad antiviral en algunos pacientes graves^{190,191}.

- Daño endotelial y coagulación

La pérdida de la integridad de la barrera endotelial y el desarrollo de un endotelio procoagulante se cree que contribuye a la iniciación y propagación de SDRA induciendo endotelitis y mediando la infiltración de células inflamatorias en el pulmón¹⁹².

El daño directo de las células endoteliales causado por la entrada del SARS-CoV-2 vía ECA2 y las fuertes respuestas inflamatorias, son factores claves que conducen al desequilibrio entre la activación de la coagulación y la inhibición de la fibrinólisis¹⁴⁵. Debido a la acción de una amplia variedad de estímulos como citoquinas, ROS, reactantes de fase aguda, DAMPs, se puede desencadenar la activación del endotelio, promover la muerte de células endoteliales y romper las uniones entre células aumentando así su permeabilidad¹⁴⁵. También

se han observado partículas virales en células endoteliales, aunque no queda claro su papel en la fisiopatología de la COVID-19^{193,194}. Además, se ha visto que la glicoproteína Spike y la proteína de la nucleocápside inducen la activación directa del endotelio¹⁹⁵.

Este aumento de la permeabilidad hace que se produzca una fuga de viriones o componentes víricos desde el pulmón hacia la sangre periférica pudiendo así contribuir a la disfunción endotelial sistémica y la vasculopatía en esta enfermedad además de propagar el daño a otros órganos distantes. Existe amplia evidencia de la presencia de material del SARS-CoV-2 en la sangre o plasma y su asociación con la gravedad de estos pacientes^{184,196–198}.

En consecuencia, se produce la activación de la cascada de la coagulación ya que el propio daño tisular del endotelio puede activar la vía intrínseca a través de los DAMPS, los monocitos activados mediante PRR presentan FT en su superficie, las células inmunitarias quimioatraídas también tienen efectos pro-coagulantes y los neutrófilos van a liberar NETs que como ya hemos visto anteriormente contribuyen tanto directamente como indirectamente mediante el reclutamiento plaquetario¹⁴⁵. Además, la comunicación cruzada entre plaquetas y neutrófilos y la activación de los macrófagos en este contexto pueden facilitar diversos efectos proinflamatorios, como la liberación de citocinas, activación del complemento, la formación de fibrina y/o microtrombos, mecanismo conocido como tromboinflamación¹⁴⁸.

Al igual que vimos en la sepsis, existen alteraciones en la actividad de los anticoagulantes endógenos¹⁵². Se ha observado disminución de la actividad fibrinolítica, además de la desregulación del sistema de la proteína C que contribuye a la coagulopatía^{199–202}.

Los pacientes con COVID-19 grave, presentan múltiples signos de hipercoagulación como concentraciones altas de Dímero D circulante, incremento del fibrinógeno, discreta elevación del tiempo de protrombina y trombocitopenia. Se cree que existe una trombosis de la circulación pulmonar inducida por lesiones en la barrera endotelial²⁰³. Todo esto va a contribuir a la disminución de la fusión respiratoria y al empeoramiento del pronóstico.

Estos eventos de daño endotelial y coagulopatía son huellas comunes en la fisiopatología de otras enfermedades como las ya descritas en la sepsis y shock séptico²⁰³. Pero existen algunas diferencias: los tromboembolismos venosos y arteriales ocurren más frecuentemente en los pacientes con COVID-19 comparado con otros pacientes²⁰⁴. Mientras que la sepsis se caracteriza por una hipercoagulación sistémica y una fibrinólisis suprimida en los casos graves de COVID-19 predomina una coagulopatía local con formación de trombos. Además, la trombocitopenia suele ser más leve, el consumo de factores de coagulación es limitado y las manifestaciones hemorrágicas son infrecuentes²⁰⁵.

- Disfunción orgánica extrapulmonar

El SARS-CoV-2 causa específicamente una enfermedad respiratoria, incluyendo neumonía y SDRA, pero los clínicos han observado muchas manifestaciones extrapulmonares a mayores en los pacientes con COVID-19 (**Figura 11**). Los trastornos vasculares suelen ser sistémicos y presentan una vasodisregulación generalizada que incluye alteración de la barrera endotelial y del control de la permeabilidad, alteración de las membranas celulares, inflamación localizada en el endotelio y un estado protrombótico de las células endoteliales²⁰³. La literatura sugiere que los sistemas hematológico, cardiovascular, renal, gastrointestinal, hepático, neurológico, oftalmológico y dermatológico pueden verse afectados¹⁴⁸. Estos hallazgos se encuentran respaldados con los varios estudios que encuentran partículas víricas intracelulares u otro tipo de material vírico en múltiples órganos pudiendo ser factor causal de las disfunciones orgánicas y por consecuencia de las manifestaciones clínicas^{206–212}.

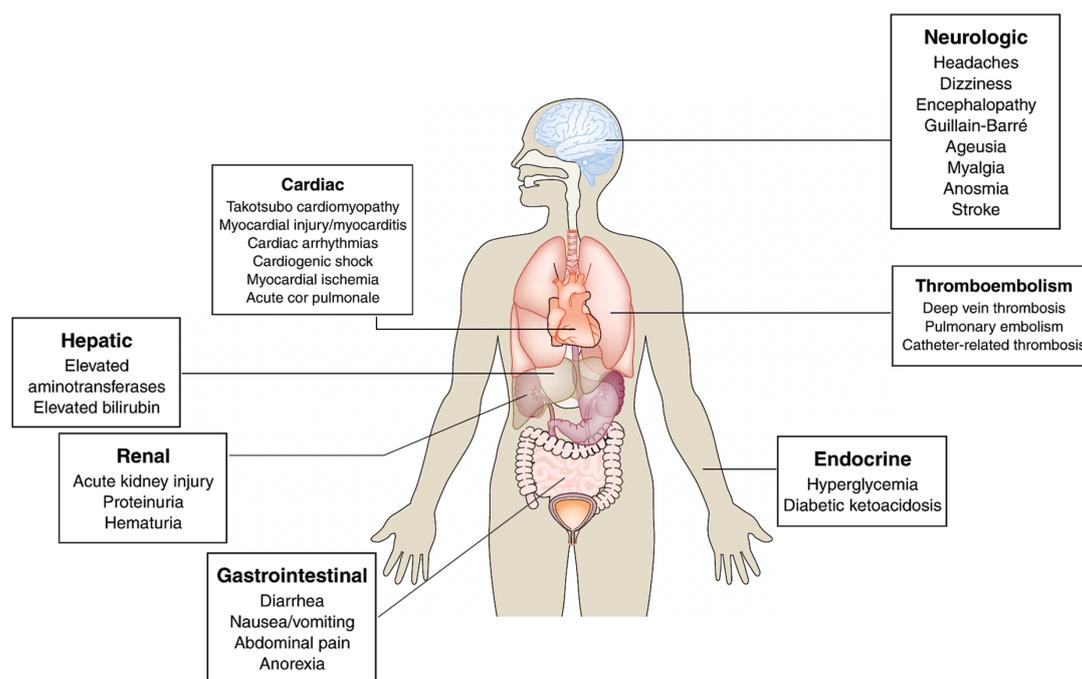


Figura 11. Manifestaciones extrapulmonares COVID-19. Adaptada de Gupta y cols. (2020)¹⁴⁸

1.2.5. DIAGNÓSTICO DE LA COVID-19

La detección temprana y precisa del SARS-CoV-2 es fundamental tanto para el diagnóstico de la COVID-19 y tomar las medidas terapéuticas necesarias, como para conocer la situación epidemiológica y tomar medidas de Salud Pública frente a su propagación. Las herramientas para la detección temprana del virus se basan en la detección molecular de ácidos nucleicos o proteínas. A nivel de la muestra utilizada, aunque se ha identificado el virus

en diferentes muestras biológicas como orina o heces, se prefiere el uso de muestras respiratorias como el exudado nasofaríngeo por su sensibilidad y fiabilidad (**Figura 12**)²¹³.

- **Detección de ácidos nucleicos**

Las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos (TAAN) detectan **el genoma del SARS-CoV-2** constituido por una cadena de ARN. La técnica más común es la reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR). Se trata de un método que lleva a cabo la transcripción del ARN del SARS-CoV-2 en ADN complementario (ADNc) seguido de una PCR en tiempo real para la amplificación de ese ADNc. Los genes víricos como RdRp, E, ORF1ab o N son las secuencias de interés a las que se va a dirigir la técnica²¹⁴.

El umbral de ciclo (Ct) se refiere al número de ciclos de un ensayo de RT-PCR necesarios para la amplificación del ARN viral para alcanzar un nivel detectable. Por lo que niveles de Ct más bajos indican niveles virales más altos. La RT-PCR en muestra nasofaríngea tiene una sensibilidad del 90-97% y una especificidad mayor del 98%, siendo el Gold-standard para la detección temprana del virus tanto en niños como adultos²¹⁵. Sin embargo, su complejidad técnica le hace tener una aplicación limitada y requiere de al menos 2 horas para obtener un resultado.

Otro método basado en la amplificación isotérmica mediada por bucle de transcripción inversa (RT-LAMP), es mucho más sencilla y no va a precisar de termociclador. Esta técnica es fiable, no requiere de personal cualificado ni de equipo de alto coste y se obtienen resultados en 20 minutos detectándose mediante un cambio de color, pero muy pocas técnicas moleculares basadas en RT-LAMP han llegado a mercado debido a la reactividad cruzada y a su falta de sensibilidad. A pesar de ello, sus características la hacen idónea para su utilización en áreas menos desarrolladas y con capacidades técnicas inferiores²¹⁶.

También existen otros métodos emergentes que se pueden utilizar para la detección del SARS-CoV-2 como la PCR digital basada en gotas (ddPCR) que es considerado un método más sensible para la detección del ARN del virus²¹⁷. Por otro lado, la secuenciación del genoma completo puede mejorar y superar las limitaciones que presenta la RT-PCR, siendo capaz de detectar fragmentos incluso cuando no hay un genoma completo en la muestra, aunque debido a sus características técnicas puede que no sea el ideal para uso rutinario en la práctica clínica. A pesar de esta limitación, esta tecnología proporcionaría información sobre la tasa de mutaciones genéticas del SARS-CoV-2²¹⁸. Por último, las tecnologías basadas en las repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente interespaciadas (CRISPR,

del inglés *Clustered regularly interspaced short palindromic repeats*) han ganado popularidad para la detección de ácidos nucleicos de diferentes patógenos. Existen varios ensayos de detección basados en CRISPR como son DETECTR²¹⁹ y SHERLOCK^{220,221}.

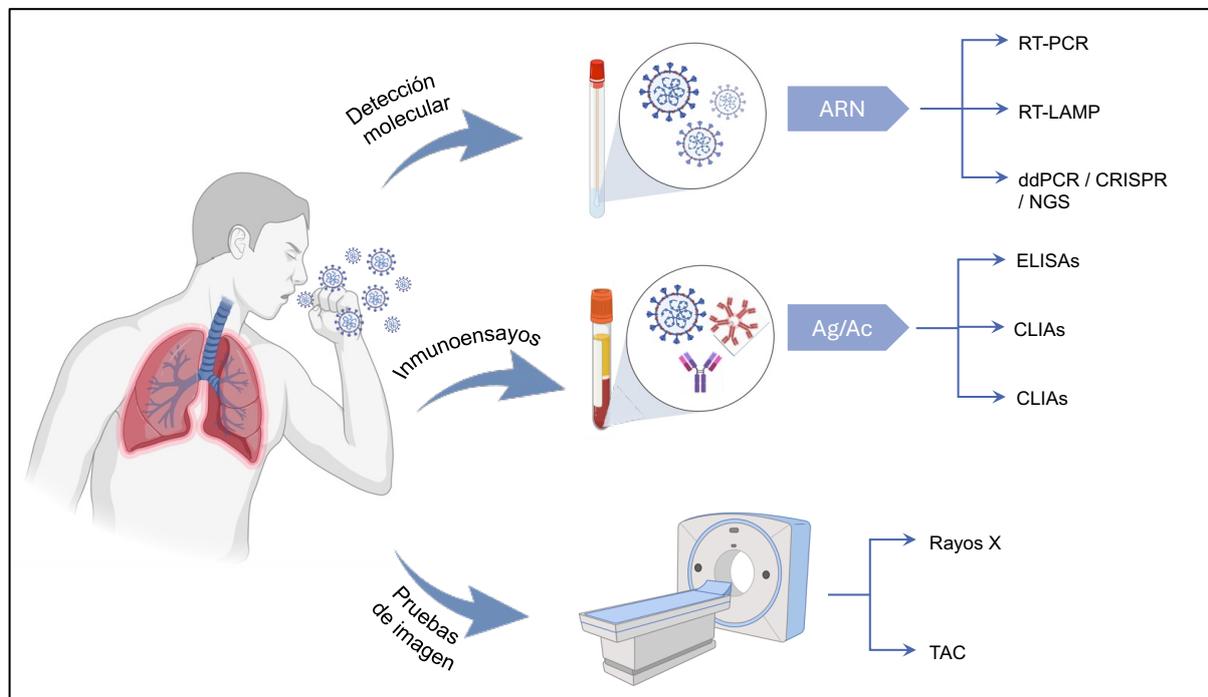


Figura 12. Representación esquemática de varios métodos analíticos disponibles para la detección del SARS-CoV-2. Adaptada de Rai y cols. (2021)²¹⁴ y Cheng y cols. (2023)²¹⁶

- Detección de proteínas

Existen pruebas basadas en la búsqueda de **antígenos específicos del virus** (proteína S, M o N) en muestra respiratoria. Se pueden utilizar diferentes técnicas como ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISAs, del inglés *Enzyme-Linked Immunosorbent Assays*) o ensayos de quimioluminiscencia (CLIAS, del inglés *Chemiluminescence Immunoassays*), aunque los más utilizados por su rapidez, facilidad, portabilidad y precio son los ensayos inmunocromatográficos de flujo lateral (LFIAs, del inglés *Lateral Flow Immunochromatographic Assays*) también denominados coloquialmente tests rápidos de antígenos. Este ensayo inmunocromatográfico busca los antígenos en las proteínas víricas a través del desplazamiento de la muestra por una membrana de nitrocelulosa que contiene anticuerpos específicos para esos antígenos^{222,223}. A pesar de que esta detección es menos sensible que los métodos moleculares y que detectan el antígeno vírico cuando el paciente tiene una carga viral alta, son ensayos sencillos de realizar, rápidos y no se necesita formación previa para llevar a cabo.

Otros métodos basados en la detección de proteínas serían los **métodos serológicos**. Estos no detectan directamente al virus si no que lo hacen indirectamente detectando los anticuerpos del sistema inmune (IgM, IgG, IgA) que se producen cuando el huésped entra en contacto con el virus, especialmente contra la proteína N y S del SARS-CoV-2. La seroconversión en la mayoría del paciente ocurre en las dos primeras semanas después del inicio de los síntomas, por ello no se utilizan como método diagnóstico de la infección aguda. Existen varias plataformas para la realización de las pruebas serológicas basadas en los mismos ensayos que para la detección de antígenos: las técnicas rápidas LFIA y las plataformas automatizadas basados en ELISA o CLIA^{222,223}. Para este fin las técnicas con mayor sensibilidad son las CLIA²²⁴. Cuando los pacientes están vacunados, hay que interpretar los resultados con cautela sobre todo con las pruebas dirigidas a la detección de anticuerpos anti-Spike.

- Diagnóstico por imagen

Los métodos moleculares explicados anteriormente no están exentos de presentar falsos negativos. Por ello, la historia clínica y las técnicas de imagen como la radiografía de tórax, la tomografía computarizada (TAC), la ecografía, el ultrasonido de pulmón, la resonancia magnética (RM) y la tomografía por emisión de positrones (PET del inglés *positron emission tomography*)-TAC (PET/TAC), han sido de gran ayuda sobre todo al inicio de la pandemia cuando los recursos microbiológicos eran limitados^{216,222}.

La TAC es una de las primeras técnicas de imagen in vivo más utilizadas para detectar anomalías relacionadas con enfermedades respiratorias como la neumonía. Se ha observado un mejor rendimiento de la TAC comparada con la radiografía torácica, ya que existen alteraciones que no se observan mediante esta última. Aunque entre sus limitaciones se encuentran los falsos positivos como consecuencia del solapamiento con otras infecciones como la gripe, SARS o MERS²¹⁴. Sin embargo, la TAC torácica podría ser una herramienta muy útil para monitorizar la progresión y el efecto terapéutico en los pacientes con COVID-19 y además ayudar a descartar resultados negativos de la RT-PCR²¹⁸.

1.3. BIOMARCADORES EN LAS ENFERMEDADES INFECCIOSAS

Un biomarcador es cualquier molécula medible en una muestra biológica de forma objetiva, sistemática y precisa, cuyos niveles constituyen indicadores de que un proceso es normal o patológico²²⁵. El biomarcador ideal debería tener una elevada sensibilidad y especificidad, a la vez que debería ser accesible, de fácil y rápida determinación, que se correlacione con la clínica y evolución del paciente y que pueda predecir mortalidad. Este biomarcador sería capaz de diagnosticar precozmente, identificar a los pacientes con infección grave, evaluar el pronóstico o monitorizar la evolución de la respuesta a un tratamiento determinado^{226,227}.

Los biomarcadores se pueden dividir según su función en biomarcadores diagnósticos, pronósticos y terapéuticos. Los biomarcadores diagnósticos diferencian entre enfermedades infecciosas y no infecciosas o ayudan a identificar patógenos específicos. Un biomarcador diagnóstico puede reducir el uso inadecuado de antibióticos y podría utilizarse para mejorar la administración de los mismos. Los biomarcadores pronósticos son útiles para evaluar el riesgo de mala evolución en los pacientes, permitiendo su estratificación según perfiles de gravedad. Por último, los biomarcadores terapéuticos se utilizan para evaluar la eficacia de un tratamiento²²⁸. En los últimos años, han aparecido unos biomarcadores que se han utilizado con un fin adicional denominados teragnósticos. Estos nuevos biomarcadores tienen la capacidad para identificar a un paciente concreto que podría beneficiarse de una terapia (medicina de precisión)^{228,229}. Un mismo biomarcador podría servir para varias de estas funciones.

Según su procedencia podemos distinguir entre biomarcadores específicos de patógenos o biomarcadores de la respuesta del huésped. Los biomarcadores específicos de patógenos identifican los organismos infecciosos causantes y, por lo tanto, apoyan la selección de antibióticos de espectro estrecho dirigidos a la cepa causante. La reducción del uso de antibióticos de amplio espectro puede ayudar a prevenir la colonización por organismos multirresistentes y disminuir el riesgo de efectos adversos de los antibióticos, reduciendo así la duración de las estancias hospitalarias y los costes médicos²³⁰. La detección del material genético del propio microorganismo es cada vez más habitual como marcador de infecciones, pero aún no están bien estandarizada. Sin embargo, las pruebas de detección de antígenos se utilizan ampliamente. La mayoría de estas pruebas rápidas de antígenos se basan en ensayos inmunocromatográficos y pueden utilizarse de manera sencilla y a pie de cama. Estas pruebas presentan una especificidad elevada, pero una sensibilidad de baja a moderada^{229,231}.

En los últimos años se ha desarrollado la secuenciación metagenómica de próxima generación lo que supone un avance para la identificación de material microbiano en las enfermedades infecciosas, así como para la identificación de los patógenos^{232,233}.

Por otro lado, los biomarcadores de la respuesta del huésped nos informan acerca de la desregulación que existe en los pacientes pudiendo identificar y evaluar los procesos fisiopatológicos que están ocurriendo en el organismo. Durante el proceso fisiopatológico se liberan una gran cantidad de mediadores y moléculas que pueden ser útiles como marcadores. Entre ellas se encuentran proteínas de fase aguda, citocinas, quimiocinas, DAMPs, marcadores de células endoteliales, marcadores de superficie de leucocitos, ARN no codificantes, miARN y receptores solubles, así como metabolitos y alteraciones en la expresión de genes (transcriptómica)²³⁴.

En el ámbito de las enfermedades infecciosas, la búsqueda de biomarcadores altamente específicos y sensibles, así como el desarrollo de métodos universales y fiables para detectar estos biomarcadores para el diagnóstico y pronóstico de los pacientes han sido los retos más importantes²³⁵.

1.3.1. BIOMARCADORES EN LA SEPSIS

El diagnóstico de la sepsis sigue siendo problemático, debido a la ausencia de un síntoma guía. Con frecuencia no se identifica el patógeno y la respuesta desregulada del huésped es inespecífica. Los hemocultivos suelen tardar días en dar un resultado y, aun así, aproximadamente el 90% son negativos, a veces a pesar de fuertes indicios clínicos de sepsis²³⁶. Esto retrasa la identificación de los pacientes con la consiguiente demora en el tratamiento y una mayor mortalidad. Además, por otra parte, se puede dar el sobrediagnóstico con el consecuente sobretratamiento con antibióticos⁴³.

En el 2010, Pierrakos y Vincent realizaron una revisión donde encontraron 178 biomarcadores hasta la fecha relacionados con la sepsis²³⁷. Diez años después, los mismos autores identificaron 258 biomarcadores de sepsis, incluyendo 80 que no se habían reportado en la revisión anterior. El 31% del total de biomarcadores habían sido evaluados en un único estudio y solo 28 (incluyendo a la proteína C reactiva y la procalcitonina) habían sido estudiados en trabajos clínicos con cohortes de pacientes considerables (más de 300 pacientes)²³⁸. Esta reciente revisión evidencia la necesidad de una mayor investigación en torno al significado clínico real de estos biomarcadores descritos en la literatura.

Por último, uno de los desafíos para identificar un biomarcador ideal para el diagnóstico precoz radica en las diferencias en los entornos de atención sanitaria donde se llevan a cabo los estudios y en las características de los pacientes incluidos. La identificación del paciente con sepsis según la definición Sepsis-3 podría no ser lo suficientemente precoz. Por ello, los estudios deberían centrarse en etapas anteriores al desarrollo de la sepsis, como el estado de “Pre-sepsis” descrito por Bermejo y colaboradores, que podría estar identificado por un SOFA < 2. Es probable que estos pacientes aún no se encuentren hospitalizados, y en muchos casos, estén lejos de requerir atención en UCIs²³⁹.

1.3.1.1. Biomarcadores específicos de patógeno en Sepsis

En el caso de la sepsis, al no ser un único patógeno el causante de la patología los biomarcadores específicos de patógeno son más difíciles de estandarizar e implementar en la práctica clínica diaria²⁴⁰.

En los últimos años, se ha producido un fuerte desarrollo de las metodologías genómicas/moleculares capaces de detectar con precisión el ARN/ADN bacteriano en los fluidos corporales²⁴¹. Este campo es prometedor, y cada vez existen más estudios en la estandarización de técnicas basadas en la PCR para la identificación del material genético de aquellos patógenos más comunes causantes de una infección que puede dar lugar a una sepsis. Como, por ejemplo, la reciente plataforma de diagnóstico SUSPECTS (secuenciación de enriquecimiento selectivo basada en PCR de supresión) fue capaz de detectar ocho patógenos comunes causantes de sepsis²⁴².

En nuestro grupo también se trabaja en esta línea utilizando para ello la tecnología ddPCR²⁴³. Tedim y cols. publicaron este año un estudio piloto que demuestra la posibilidad de identificar y cuantificar ADN bacteriano de los microorganismos frecuentemente implicados en infecciones con riesgo de evolucionar a sepsis, como son *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, y *Enterococcus spp.* (principalmente, *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium*). El método mostró un límite de detección muy bajo, con alta sensibilidad y especificidad elevadas, permitiendo la detección directa desde muestras de sangre sin necesidad de cultivo bacteriano previo²⁴⁴.

Son necesarios más estudios para el desarrollo, estandarización e implementación de marcadores específicos de los patógenos.

1.3.1.2. Biomarcadores de la respuesta del huésped en Sepsis

Los biomarcadores de respuesta del huésped en la sepsis se pueden dividir según las funciones alteradas durante la propia fisiopatología de la infección, como son:

- Citoquinas pro y antiinflamatorias o inmunosupresoras: en la sepsis existe una presencia de altos niveles de citoquinas proinflamatorias como IL-6, IL-8, TNF- α y MCP-1 y citoquinas antiinflamatorias como IL-10 e IL-1RA²⁴⁵. IL-6 e IL-8 tienen poder predictivo de mortalidad^{246,247(p6)}.
- Marcadores de actividad neutrofílica, macrofágica, monocitaria o linfocitaria: el receptor CD64 tiene alta afinidad por las inmunoglobulinas y refleja la activación de los polimorfonucleares en la sepsis^{248,249}. Las proteínas que se almacenan dentro de los gránulos del neutrófilo como Lipocalina-2 o Mieloperoxidasa también han demostrado su eficacia para el diagnóstico de sepsis y shock séptico y se asociaron con la mortalidad^{250,251}. Otro marcador que ha sido estudiado es la presepsina (sCD14-ST), la forma soluble de la proteína CD14 que forma parte del receptor *Toll-like* (TLR-4) de los monocitos/macrófagos activados. Este receptor ha confirmado su rol diagnóstico y pronóstico y su correlación con el SOFA en varios estudios²⁵²⁻²⁵⁴.
- Marcadores relacionados con el daño endotelial: debido a que este es un evento clave en la sepsis, se han estudiado múltiples parámetros para ser usados como marcadores en la sepsis. La adrenomedulina es una molécula muy importante en el proceso inflamatorio, es sintetizada en el endotelio y tiene acción vasodilatadora, inotrópico, diurético, natriurético y broncodilatador. Su síntesis se produce en respuesta a citoquinas inflamatorias, LPS, hormonas (glucocorticoides, angiotensina II, aldosterona) y factores de hipoxia, isquemia, estrés oxidativo o la hiperglucemia²⁵⁵. Dado que tiene una vida media muy corta, su detección se realiza mediante un fragmento más estable de su precursor, la región media de su precursor la pro-adrenomedulina (MR-proADM) que se ha visto que posee valor diagnóstico y pronóstico. Además, puede servir como marcador específico de ciertos tipos de fallo de órgano²⁵⁶. Moléculas como Endotelina-1, ICAM-1, VCAM-1, E-selectina, sindecán-1, angipoyetinas 1 y 2 también han sido estudiadas como biomarcadores de sepsis^{250,257-263}.
- Marcadores de coagulación: este es otro evento clave en la sepsis, por ello algunos parámetros involucrados en la cascada de la coagulación han sido estudiados para su uso como marcadores. Entre ellos se encuentra el receptor soluble del activador tipo urokinasa (suPAR, del inglés *urokinase-type plasminogen activator receptor*) que se ha investigado

en los últimos años, comprobándose en varios estudios que tiene valor diagnóstico y pronóstico de sepsis^{264–266}.

- Marcadores de disfunción orgánica: diversos parámetros como la creatina, bilirrubina, la urea, entre otras, definen el daño de un aparato o sistema y se han incorporado a las diversas escalas pronósticas o diagnósticas (SOFA, APACHE-II, SAPS-II...). Otro marcador para valorar la evolución y la mortalidad del paciente sería el lactato. La elevación de este parámetro se produce en consecuencia del aumento del metabolismo anaerobio que se produce en el contexto de hipoperfusión tisular en los órganos que presentan hipoxia. En la sepsis es un parámetro sinónimo de disfunción hemodinámica y orgánica²⁶⁷. Su uso está estandarizado y recomendado por las guías de práctica clínica y su monitorización es una de las herramientas utilizadas para el manejo hemodinámico y la sueroterapia en los pacientes con sepsis en lo que se conoce como terapia dirigida por objetivos (aclaramiento de lactato)^{19,268,269}. Actualmente está incluido como uno de los parámetros para definir la presencia de shock séptico en los criterios SEPSIS-3^{3,270}.

Hasta el momento, los biomarcadores más estudiados e implementados en la práctica clínica estándar son la proteína C reactiva (CRP, del inglés *C reactive protein*) y la procalcitonina (PCT).

La **proteína C reactiva** es una proteína que pertenece a la familia de las pentraxinas cortas, englobadas en la superfamilia de las pentraxinas, involucradas en la fase aguda de la inflamación²⁷¹. Este reactante de fase aguda se sintetiza principalmente en el hígado como respuesta al daño tisular o a la inflamación. Esto ocurre cuando los hepatocitos son estimulados por las citoquinas especialmente IL-6 e IL-8²⁷².

La CRP, como muchas proteínas de fase aguda, se encuentra normalmente en concentraciones séricas < 0,1-0,2 mg/dl dependiendo de la edad, del sexo y de la raza. El valor 10 mg/dl es el punto de concentración de la proteína que se ha asociado con la gravedad de la infección²⁷³. La producción de esta proteína se ve aumentada pasada las 4-6 horas tras la agresión inicial, pudiendo elevarse en las primeras 36-50 horas varios cientos de veces por encima de su nivel basal y alcanzar su pico²⁷⁴. Estos niveles volverán a la normalidad cuando cesa la infección.

Aunque durante décadas ha sido el biomarcador de referencia de respuesta inflamatoria sistémica, la CRP presenta ciertas limitaciones. Es un marcador muy inespecífico debido a que se eleva en prácticamente cualquier episodio inflamatorio, pero tiene una adecuada

capacidad pronóstica dado que su sensibilidad es elevada en el debut de la infección²⁷⁵. Esta especificidad moderada conlleva a dar falsos positivos en procesos inflamatorios no infecciosos. Además, su farmacocinética es variable en función del sexo, edad o estilos de vida del paciente, y lenta, pudiendo persistir elevada cuando la infección está remitiendo.

Por otro lado, la **procalcitonina** es una prohormona precursora de la calcitonina sintetizada fisiológicamente por las células C del tiroides y se encuentra relacionada con la homeostasis del calcio. Prácticamente toda la PCT producida en estas células se convertirá a calcitonina antes de ser secretada al medio extracelular, por lo que no alcanzará la circulación sistémica²⁷⁶.

En condiciones fisiológicas normales las concentraciones de esta prohormona son prácticamente indetectables (< 0,05 ng/mL considerado valores normales)²⁷⁷. Sin embargo, en la sepsis se produce un aumento de la expresión del gen CALC-I en tejido extra-tiroideo (gen responsable de la síntesis de esta proteína)²⁷⁸. Esto hace que las concentraciones de PCT aumentan detectándose a las 2-6 horas de la agresión, con una concentración máxima entre 12-24 horas y un aclaramiento de 20-36 horas, pero permanecerá elevada mientras no se resuelva la infección²⁷⁶. Se consideran anormales valores por encima de 0,05 ng/mL, pudiendo darse en pacientes con infección. Un valor por entre 0,5 y 2 ng/mL es un indicador de sospecha de un proceso séptico. Los valores entre 2 y 10 ng/dl indican una alta probabilidad de sepsis. Valores superiores a 10 ng/dl se asocian a una alta probabilidad de tener un shock séptico²⁷⁹.

La presencia de endotoxinas y exotoxinas bacterianas hace que se imposibilite la hidrólisis de procalcitonina a calcitonina, de ahí su elevación en infecciones bacterianas graves. Esto ocurre en respuesta a dos mecanismos, uno de ellos desencadenado directamente por la endotoxina bacteriana Gram-negativa (Lipopolisacárido) y el segundo ocasionado indirectamente por las citoquinas proinflamatorias liberadas en respuesta a la infección^{280,281}. Esta segunda vía explicaría el aumento de PCT en enfermedades no infecciosas como los traumas, las quemaduras o cirugías importantes reduciendo su precisión en estos casos.

A pesar de todo ello, su cinética lo convierte en el biomarcador para la detección precoz de la infección, permitiendo monitorizar su gravedad, así como la respuesta al tratamiento antibiótico, siendo una herramienta valiosa en la desescalada de la terapia antibiótica.

1.3.2. BIOMARCADORES EN LA COVID-19

Debido a la emergencia que supuso la COVID-19 y su necesidad de diagnóstico precoz para evitar el contagio, así como la identificación de aquellos pacientes que iban a tener una peor evolución, se recurrió a la evidencia científica que ya se había generado durante décadas en torno a otras infecciones previas, como la gripe, el SARS, MERS o incluso la sepsis.

Además, esta necesidad llevó a la realización de una gran cantidad de estudios en un corto periodo de tiempo generando una inmensa evidencia científica. Concretamente 10.508 publicaciones se encuentran en PubMed llevando a cabo una búsqueda con los términos “*biomarker*” y “COVID-19”; y 6.878 con el término “SARS-CoV-2”, únicamente desde 2019 hasta octubre de 2024.

Actualmente, el diagnóstico de la enfermedad se basa en la detección del SARS-CoV-2 por lo que los biomarcadores se dirigen más para su uso pronóstico e incluso para guiar el tratamiento. Es de vital importancia en esta enfermedad identificar aquellos pacientes que no van a tener una buena resolución de la infección para implementar las medidas terapéuticas adecuadas con la máxima precocidad posible, y para distribuir adecuadamente los recursos sanitarios.

1.3.2.1. Biomarcadores específicos del SARS-CoV-2

La identificación de la presencia de material vírico (ARN, así como proteínas víricas) en la sangre periférica o plasma ha sido materia de estudio en estos años para evaluar el pronóstico de los pacientes.

Se ha visto como la presencia de material genético del virus en sangre periférica, denominado como RNAemia, se ha asociado con complicaciones extrapulmonares²⁸² y con la gravedad de esta enfermedad^{196,283–289} así como con la mortalidad en estos pacientes^{286,290–293}. La medición de este tipo de marcadores esta estandarizada en muestra plasmática para su utilización en cualquier hospital mediante el uso de RT-PCR²⁹⁴ y por LAMP en muestra sanguínea²⁹⁵.

Por otro lado, la presencia de proteína del virus en sangre periférica, también se ha estudiado como un prometedor marcador pronóstico de esta enfermedad. Este marcador se ha asociado con alteraciones de la respuesta del huésped, así como con el daño tisular en pacientes críticos²⁹⁶. Como consecuencia también se ha visto asociado con la gravedad de la COVID-19^{285,297,298} y con mortalidad de los pacientes hospitalizados²⁹⁹. Para su medición podemos utilizar LFIA de detección de antígenos en plasma, mucho más sencillas y rápidas,

que se ha demostrado previamente su utilidad en pacientes hospitalizados y críticos^{183,197}. También su medición se puede realizar mediante ELISAs o CLIAs.

Nuestro grupo ha evaluado toda la evidencia científica sobre este tema hasta mayo del 2024 en una revisión sistemática demostrando que la presencia de material vírico (material genético, proteína, partículas víricas) en el torrente sanguíneo es un potencial marcador de gravedad/mortalidad que pueden ayudar a los clínicos en el manejo de los pacientes con COVID-19¹⁹⁸.

1.3.2.2. Biomarcadores de la respuesta del huésped

Debido a las similitudes fisiopatológicas con la sepsis, muchos de los principales marcadores pronósticos en relación con la respuesta del huésped que se han estudiado son parámetros de los que ya hemos hablado anteriormente y que podríamos clasificar de la misma manera.

Entre ellos podemos encontrar marcadores pro y antiinflamatorios como la CRP, PCT, IL-6 o IL-10. La IL-6 se ha considerado como marcador clave de la fisiopatología de la activación inmunitaria, lo que hizo que se trasladara a la clínica durante la pandemia para el manejo de esta patología. Múltiples estudios han comprobado su papel predictor de mal pronóstico, asociándose tanto con la gravedad de los pacientes como a la mortalidad de estos^{168,300}. Por otro lado, en la COVID-19 son importantes las citoquinas relacionadas específicamente con la respuesta del huésped a la infección vírica como pueden ser los IFN o el CXCL-10 (del inglés, C-X-C motif chemokine ligand 10)³⁰¹.

Los pacientes COVID-19 con mal pronóstico también muestran marcadores de daño endotelial elevado. Existen varios metaanálisis publicados en torno a los biomarcadores de daño endotelial donde en particular los niveles altos de VWF-Ag y MR-proADM se asocian con la gravedad de la enfermedad y la mortalidad. Otros biomarcadores también destacados en estos metaanálisis como marcadores en la COVID-19 son sindecán-1, E-selectina, angiopoyetina 2 o el activador y el inhibidor del activador del plasminógeno³⁰²⁻³⁰⁴.

Entre los marcadores involucrados en la coagulación, el Dímero D ha sido el más estudiado en la pandemia utilizándose en la práctica clínica diaria con los pacientes COVID-19. Al igual que la IL-6, se ha asociado tanto a la gravedad del paciente como a la mortalidad³⁰⁵⁻³⁰⁷.

También han sido muy estudiados algunos marcadores de daño orgánico como las troponinas, las transaminasas, la bilirrubina, el lactato deshidrogenasa o los parámetros de la oxigenación. Además, el número de leucocitos tanto totales como de linfocitos o neutrófilos por separado también ha sido muy evaluado estos últimos años³⁰⁰.

Los anticuerpos específicos del SARS-CoV-2 en el suero del paciente también constituyen un marcador para el pronóstico de la enfermedad ya que son capaces de predecir la gravedad de los pacientes y su evolución^{183,185,308-310}. Además, la capacidad neutralizante de los anticuerpos puede informarnos del grado de protección de los pacientes infectados pudiendo guiar tratamientos con anticuerpos monoclonales³¹¹⁻³¹³.

Son necesarios más estudios en torno a los biomarcadores en la COVID-19 para validar cada uno de estos marcadores y poderlos estandarizar en la práctica clínica diaria.

1.3.3. COMBINACIÓN DE BIOMARCADORES

Las infecciones graves son procesos dinámicos tremendamente heterogéneos y complejos, lo que hace difícil que un único marcador tenga la sensibilidad y especificidad necesarias. Por ello, en los últimos años y con la necesidad que supuso la pandemia, ha habido una tendencia a combinar marcadores de diferente procedencia para mejorar tanto el diagnóstico como el pronóstico de estas enfermedades. La hipótesis es que un enfoque multi-marcador, caracterizará mejor la respuesta desregulada altamente individualizada y cambiante del huésped frente a la infección²³⁶.

En el caso de la sepsis, múltiples investigaciones se han desarrollado en torno a la combinación de biomarcadores de respuesta del huésped para mejorar la identificación de las infecciones bacterianas³¹⁴⁻³¹⁶, de las infecciones nosocomiales adquiridas^{317,318}, el diagnóstico de sepsis y la predicción de pronóstico en estos pacientes³¹⁹⁻³²².

Además, la combinación de escalas o scores clínicos y biomarcadores incrementa la precisión diagnóstica y pronóstica de la sepsis, mejorando la gestión clínica de los pacientes. Un estudio publicado este año demuestra la utilidad de la combinación de IL-10 junto a la escala NEWS (del inglés National Early Warning Score) para predecir el progreso a sepsis en los pacientes infectados³²³. También se ha observado que la combinación de la escala SOFA con otros biomarcadores puede mejorar el diagnóstico de sepsis en pacientes críticos³²⁴. Bozza y colaboradores vieron que, de los 17 biomarcadores analizados, MCP-1 y la escala APACHE II fueron los parámetros que se asociaron de manera independiente con la mortalidad en pacientes con sepsis grave y mejoraban su capacidad predictiva si se

combinaban³²⁵. Pero como hemos comentado anteriormente, algunas de estas escalas siguen teniendo problemas para su evaluación en algunos servicios de atención hospitalaria, por lo que lo ideal sería encontrar combinaciones de biomarcadores que tuvieran la misma precisión que estas escalas y que se pudieran evaluar independientemente de la zona de atención sanitaria.

En un estudio reciente, Kalan y colaboradores desarrollaron una innovadora herramienta de diagnóstico basada en la integración de información tanto del huésped y del patógeno. Los autores utilizaron la secuenciación metagenómica de próxima generación de muestras de ácidos nucleicos de sangre total y plasma de pacientes que ingresaron directamente en la UCI desde los servicios de Urgencias. Esta nueva herramienta fue capaz de identificar el 99% de los casos de sepsis confirmados microbiológicamente y además de predecir la sepsis en el 74% de los casos con sospecha clínica y en el 89% de los casos indeterminados³²⁶. A pesar de la prometedora precisión de la herramienta, su especificidad para los pacientes sin infección fue del 78% lo que indica que uno de cada cuatro pacientes que no tenía infección serían diagnosticados erróneamente. Una limitación importante de esta herramienta diagnóstica es que utilizan hemocultivo previo a la técnica lo que hace que aumente el tiempo de diagnóstico como ocurre con las actuales técnicas de cultivo microbiológico³²⁷.

Los estudios en torno a la combinación de información en la COVID-19 son menos numerosos, pero la mayoría se centran en la combinación de marcadores del huésped para el pronóstico de la enfermedad³²⁸⁻³³⁸. En el estudio de MinK y colaboradores observaron niveles altos de marcadores inflamatorios (CRP>6 mg/dl o IL6>100 pg/ml) combinados con bajos títulos de anticuerpos anti-Spike en los pacientes hospitalizados que presentan mayor riesgo de mortalidad. Además, el estudio mostró cómo los niveles más altos de anticuerpos se asocian con niveles más bajos de inflamación en pacientes hospitalizados por COVID-19³³⁹.

También existen estudios donde integran las tecnologías multiómicas para la detección de los pacientes que se van a deteriorar. Es el caso del estudio de Byeon y cols. donde una firma molecular multiómica en el plasma de pacientes con COVID-19 antes de su ingreso hospitalario puede predecir una evolución más grave de la enfermedad³⁴⁰. En el futuro será viable la integración de estas tecnologías novedosas en la práctica clínica diaria, lo que ayudará en la mejora en la medicina personalizada.

Además, de los resultados de estas tecnologías novedosas, la aparición de la inteligencia artificial y el aprendizaje automático nos acerca a la medicina de precisión. Este mismo año han sido publicados estudios donde están utilizando estas novedades de análisis de datos

para predecir el pronóstico de pacientes CCOVID-19 usando marcadores clínicos³⁴¹, así como la herramienta DERGA (del inglés *Data Ensemble Refinement Greedy Algorithm*) que utiliza parámetros analíticos para predecir la gravedad de pacientes COVID-19³³⁹. Estos estudios necesitan de su validación en más centros para poder ser implementados en la práctica clínica diaria.

Por el contrario, también nos encontramos con algunos artículos, que tras estudiar combinaciones entre los biomarcadores, parámetros clínicos, escalas clínicas e información de otra procedencia no observan una mejora de las combinaciones con respecto a los marcadores individuales. Es el caso del estudio de Clemente y colaboradores donde la MR-proADM no es superada para predecir la progresión en pacientes infectados en el SUH³⁴². Otro estudio realizado en las ambulancias no encuentra que ninguna combinación de marcadores inmunológicos con parámetros clínicos mejore a las herramientas actuales de cribado, posiblemente por la elevada colinealidad entre ellos³⁴³. Además, en una reciente revisión sistemática donde se comparan las diferentes pruebas rápidas de combinación de biomarcadores para diferenciar entre infección bacterianas de las víricas del tracto respiratorio concluyen que debido a los sesgos en las investigaciones y a la falta de estudios en la atención primaria no pueden realizar ninguna recomendación acerca de estos test³⁴⁴.

Por esto, son necesario más estudios en los diferentes puntos de atención sanitaria para clarificar el panorama en torno a las combinaciones de biomarcadores realmente útiles y poder emitir recomendaciones que mejoren la atención de los pacientes con infección evitando así que tengan consecuencias fatales.

En esta tesis se ha evaluado el papel de combinaciones de biomarcadores relacionados con funciones alteradas durante una infección en el huésped, así como biomarcadores específicos de patógenos, con el objetivo de facilitar la estratificación de la gravedad y la identificación temprana de la infección con peor evolución en dos patologías infecciosas: la sepsis y la COVID-19. El objetivo final es optimizar el manejo clínico de los pacientes y mejorar su pronóstico

2. HIPÓTESIS

La combinación de biomarcadores implicados en distintas funciones de la respuesta del huésped, así como del patógeno causante de la infección, permiten mejorar la estratificación de su gravedad e identificar de forma precoz a los pacientes con peor evolución.

3. OBJETIVOS

Objetivos del estudio sobre el continuo infección-sepsis:

1. Evaluar si la cuantificación de biomarcadores proteicos involucrados en diferentes funciones biológicas (inflamación, degranulación del neutrófilo, disfunción endotelial, coagulación, inmunosupresión/inmunomodulación y biología del linfocito) mediante ELLA SimplePlex permite el diagnóstico diferencial entre pacientes quirúrgicos con infección y sin ella.
2. Evaluar si los niveles de biomarcadores proteicos involucrados en diferentes funciones biológicas cuantificados mediante ELLA SimplePlex se asocian con el nivel de gravedad de los pacientes quirúrgicos con infección.
3. Evaluar si la combinación de biomarcadores proteicos involucrados en diferentes funciones biológicas mejora los resultados de los biomarcadores individuales en cuanto a su asociación con la gravedad en los pacientes infectados.

Objetivos del estudio sobre COVID-19

4. Evaluar si la presencia de antígeno N del SARS-CoV-2 en plasma de pacientes con COVID-19 predice el riesgo de hospitalización en pacientes que llegan al servicio de Urgencias hospitalarias.
5. Evaluar si los títulos de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 en plasma de pacientes con COVID-19 predice el riesgo de hospitalización en pacientes que llegan al servicio de Urgencias hospitalarias.
6. Evaluar si la combinación de la presencia de antígeno N del SARS-CoV-2 y los títulos de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 en plasma de pacientes con COVID-19 identifica a un grupo de pacientes con peor pronóstico.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. DISEÑO Y CARACTERÍSTICAS DEL ESTUDIO

4.1.1. Estudio del continuo Infección-Sepsis

Se llevó a cabo un estudio prospectivo observacional, multicéntrico, de una cohorte de pacientes quirúrgicos con infección de diversa gravedad (IDS) de los servicios de Cirugía General y Anestesia y Reanimación de los centros que participaban, así como pacientes sin infección de diversa gravedad (nIDS) y controles sanos. Además, los resultados se validaron en una segunda cohorte diferente.

El estudio incluye el seguimiento clínico y analítico de estos pacientes en las primeras horas en torno al reclutamiento, así como el estudio de la aparición de complicaciones durante el ingreso hospitalario y el desenlace de estos.

4.1.1.1. Cohorte de Derivación

- Pacientes quirúrgicos con infección de diversa gravedad (IDS)

Se estudiaron todos los pacientes adultos (≥ 18 años) infectados con diferente grado de fallo orgánico según la valoración de la escala de evaluación del fallo de órgano, SOFA¹²⁰ que ingresaron con sospecha o confirmación de infección a los servicios de Anestesia y Reanimación (REA) del Hospital Universitario Río Hortega de Valladolid (HURH), Complejo Asistencial Universitario de Salamanca (CAUSA), Complejo Asistencial Universitario de León (CAULE) y Hospital Universitario Marqués de Valdecilla de Santander (HUMV), y el servicio de Cirugía General del CAUSA entre enero de 2020 y julio de 2022 (**Figura 13**).

La infección en estos pacientes se caracterizó según las “Definiciones de Vigilancia de Red Nacional de Seguridad Sanitaria (NHSN, del inglés “National Healthcare Safety Network”) de los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC, del inglés “Centers for Disease Control and Prevention”) para Tipos Específicos de Infecciones. La presencia de sepsis o shock séptico se definió según las especificaciones del consenso SEPSIS-3³.

- Pacientes quirúrgicos sin infección con diversa gravedad (nIDS)

Se estudiaron también pacientes postquirúrgicos adultos (≥ 18 años) sin infección con diferente grado de fallo de órgano (evaluado por la escala SOFA). Estos pacientes se reclutaron en paralelo a los pacientes con IDS de la cohorte de derivación durante el mismo periodo en los centros participantes.

- Controles sanos

Se incluyeron donantes de sangre sanos que no habían sido sometidos a cirugía del Centro de Hemoterapia y Hemodonación de Castilla y León con características de edad y sexo similares a las de los pacientes como controles sanos para comparar los niveles de biomarcadores.

4.1.1.2. Cohorte de Validación

- Pacientes quirúrgicos con IDS

Pacientes quirúrgicos adultos (≥ 18 años) infectados con diferente grado de fallo de órgano evaluado por la escala SOFA procedentes de Hospital Universitario Vall d'Hebron, CAUSA y HURH (**Figura 13**). Las definiciones de infección sepsis y shock séptico se realizaron de la misma manera que en la Cohorte de Derivación. Esta nueva cohorte presentaba características similares a la Cohorte de Derivación anterior.

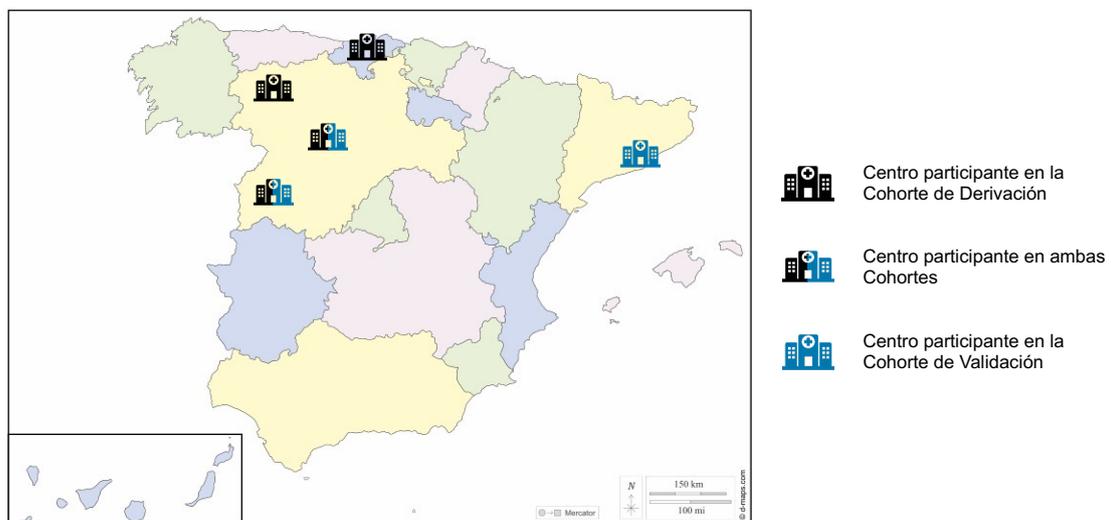


Figura 13. Localización de los centros participantes.

4.1.2. Estudio COVID-19

Por otro lado, se llevó a cabo un estudio observacional prospectivo, unicéntrico, de una cohorte de pacientes COVID-19 que llegaban al Servicio de Urgencias del Hospital Río Hortega de Valladolid.

El estudio incluye el seguimiento clínico y analítico en las primeras horas en torno al reclutamiento de los pacientes y el desenlace de estos. Además, en este estudio se utilizaron muestras de pacientes sin infección por SARS-CoV-2 del estudio del continuo Infección-sepsis para validar la metodología utilizada.

4.1.2.1. Pacientes con COVID-19

Se estudiaron todos los pacientes adultos (≥ 18 años) con infección por SARS-CoV-2 que ingresaban en el servicio de Urgencias del Hospital Universitario Río Hortega de Valladolid entre los meses de enero y febrero de 2022. Los pacientes incluidos en el estudio tenían confirmación de infección por SARS-CoV-2 mediante un resultado positivo en la RT-PCR o en un test rápido de antígeno N en muestra nasofaríngea.

En ambos estudios, todo paciente menor de edad, o bien que no firmó el consentimiento informado o la muestra no se había tomado según el protocolo, quedaba excluido del estudio.

4.2. RECOGIDA Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS

Para la correcta recolección y conservación de las muestras se instruyó a todos los hospitales participantes en un protocolo de recogida, codificación y almacenamiento común para cada estudio. Todas las muestras se recogieron en las primeras 24h en torno a la sospecha o diagnóstico de infección o entre las 2 y 6 horas posteriores de someterse a la intervención quirúrgica en el caso de los pacientes no infectados.

Se tomó de cada paciente una muestra de sangre en tubo EDTA (Ácido etilendiaminotetraacético). Los tubos EDTA se centrifugaron a 2000-2500 revoluciones por minuto durante 10 minutos, e inmediatamente después se realizaron alícuotas del plasma resultante que se congelaron a la temperatura de -80°C hasta su utilización. En el estudio COVID-19, 100 μl de este plasma resultante se utilizaron inmediatamente después de la centrifugación (**Figura 14**).

Además de la exploración habitual del paciente en el momento del reclutamiento, se realizaron peticiones de rutina en los laboratorios de análisis clínicos de cada hospital:

- Laboratorio: Perfil de urgencias al que se le añade creatinina, bilirrubina. En el estudio del continuo Infección-Sepsis además se pide PCT, CRP, albúmina, proteínas totales, gasometría arterial y hemograma.
- Microbiología: Para el estudio del continuo Infección-Sepsis se pide cultivo guiado por foco de sospecha de infección, y/o hemocultivos periféricos de accesos diferentes (en los pacientes con sospecha o diagnóstico de infección).

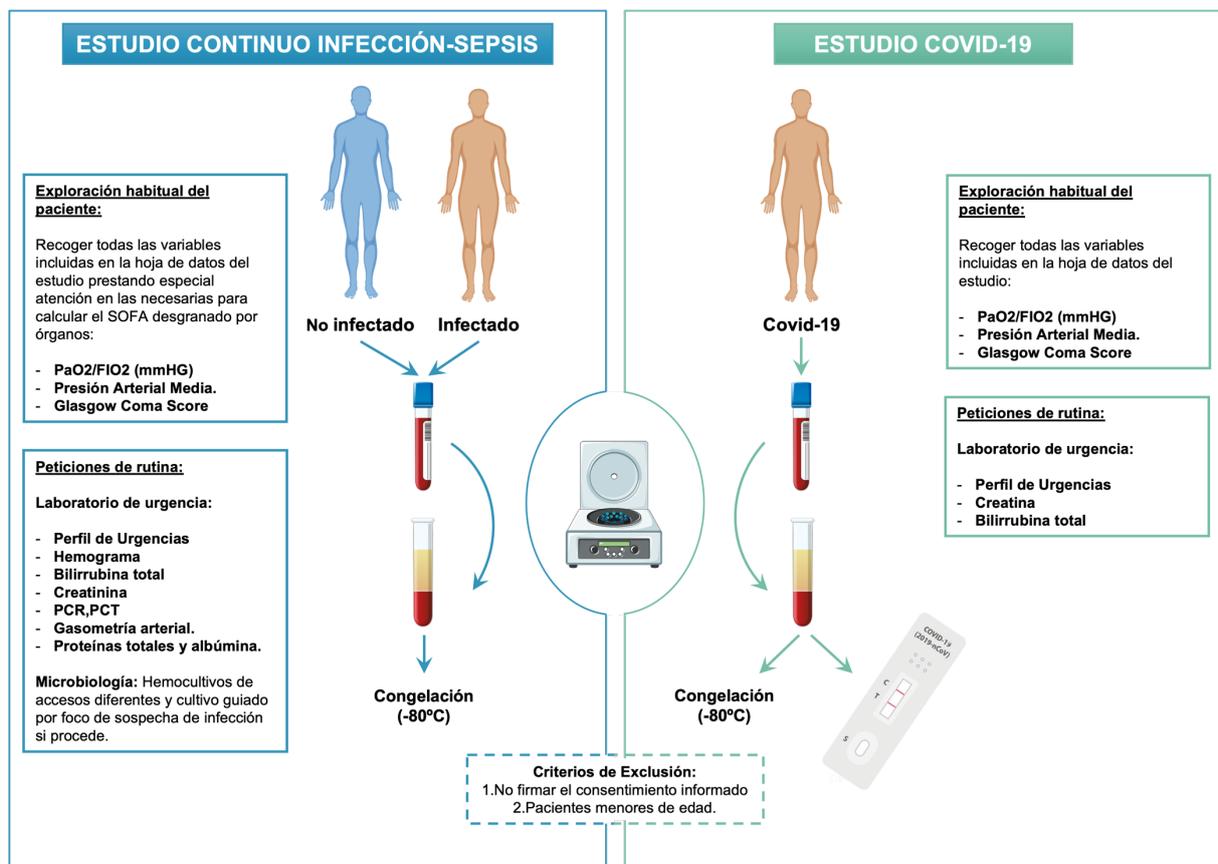


Figura 14. Esquema del reclutamiento y procesamiento de muestras.

4.3. METODOLOGÍA DE LA RECOGIDA DE DATOS

Los datos referentes a los dos estudios se recogieron en dos bases de datos anonimizadas creadas para cada estudio en el programa informático *IBM SPSS Statistics versión 27.0*.

Se recogieron datos reflejados en las historias clínicas de los pacientes: datos demográficos, antecedentes personales, datos clínicos, analíticos al diagnóstico o sospecha de infección, datos microbiológicos, complicaciones y tratamientos durante el ingreso hospitalario y datos del desenlace de los pacientes.

4.3.1. Estudio continuo Infección-Sepsis.

a) Datos demográficos y antecedentes personales de los pacientes.

Dentro de los datos demográficos se incluyeron la edad y el sexo. En relación con los antecedentes personales se recogieron: institucionalizados, hábito de fumar, enfermedad cardíaca crónica, enfermedad neurológica crónica, hipertensión arterial, dislipemia, diabetes mellitus, neoplasia activa, obesidad, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma, insuficiencia renal crónica, enfermedad autoinmune, enfermedad gastrointestinal crónica.

b) Datos al ingreso y diagnóstico.

Se recogen los datos sobre el tipo de paciente, si precisa hospitalización, servicio de ingreso, motivo y fecha del ingreso, y fecha de inicio de síntomas. A nivel analítico se recogieron los datos de temperatura, frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, necesidad de suplementación de oxígeno y tipo utilizado, estado respiratorio del paciente (saturación de oxígeno), presión arterial, nivel de consciencia (Glasgow), los datos de la escala SOFA total y el SOFA desgranado por los diferentes fallos de órgano en el momento del reclutamiento de los pacientes. Se completó la base de datos con las variables sobre la cirugía realizada y tipo esta, si la infección era comunitaria o nosocomial, y el foco de infección (urinario, quirúrgico, respiratorio, bacteriemia, otros focos o desconocido).

c) Datos de laboratorio asociados al reclutamiento

Se recogieron los datos de glucemia, INR, plaquetas, recuento de leucocitos totales y número absoluto de monocitos, linfocitos, neutrófilos, basófilos y eosinófilos, hematocrito, pH, presión de O₂ y CO₂, saturación oxígeno, creatinina, bilirrubina, Na, K. También se tuvieron en cuenta las variables específicas para el diagnóstico de sepsis o fallo de órgano como: PCT, CRP, lactato, AST y ALT, proteínas totales y albumina. Los datos sobre el aislamiento o no de algún microorganismo asociado con el proceso infeccioso: especie y tipo de microorganismo (Gram negativo, Gram positivo y hongos) también se recogieron en este estudio.

d) Datos durante el ingreso y desenlace

Se hizo un registro sobre las complicaciones que el paciente sufrió durante el ingreso como distrés respiratorio, insuficiencia renal aguda, arritmia, paro cardiaco, infarto de miocardio, anastomosis, hemorragia postoperatoria, sangrado gastrointestinal, accidente cerebrovascular, íleo paralítico, insuficiencia hepática, infección secundaria, sepsis, shock séptico, trombosis venosa profunda, coma, delirio postquirúrgico y otras complicaciones. También se recogieron datos sobre el uso de antibióticos y fechas del tratamiento, y necesidad de ventilación mecánica, de tratamiento vasopresor durante el ingreso, necesidad de ingreso en UCI / REA, duración de este ingreso en UCI / REA, duración de la estancia hospitalaria, alta hospitalaria o exitus y fecha.

4.3.2. Estudio COVID-19

a) Datos demográficos y antecedentes personales de los pacientes.

Dentro de los datos demográficos se incluyeron la edad y el sexo. En relación con los antecedentes personales se recogieron: paciente institucionalizado, infarto de miocardio, insuficiencia cardiaca, enfermedad arterial periférica, enfermedad cerebrovascular, demencia, enfermedad pulmonar crónica, EPOC, enfermedad renal crónica, diabetes mellitus, enfermedad renal crónica, hipertensión, dislipidemia, neoplasia activa, datos de haber padecido COVID-19 anteriormente y fecha del evento, haber recibido la vacuna del SARS-CoV-2 y cuántas dosis de esta.

b) Datos al ingreso y diagnóstico.

Tipo de paciente, si precisa hospitalización, servicio de ingreso, motivo y fecha del ingreso, así como la fecha de inicio de síntomas. A nivel analítico se recogieron los datos de temperatura, frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria, necesidad de suplementación de oxígeno y tipo utilizado, estado respiratorio del paciente (saturación de oxígeno/ PaO_2FiO_2), presión arterial, nivel de consciencia (Glasgow), escalas de gravedad como NEWS (del inglés *National Early Warning Score*), CHARLSON (la cual fue calculada a partir de los datos del estado del paciente en el momento del ingreso excluyendo la edad)³⁴⁵, presencia de infiltrados bilaterales por prueba de rayos X, y resultado del test de antígeno N en muestra nasofaríngea realizada en el momento de admisión en las Urgencias hospitalarias.

c) Datos de laboratorio asociados al reclutamiento

Se recogieron los datos de plaquetas, hematocrito, pH, presión de O_2 y CO_2 , saturación oxígeno, glucemia, creatinina, bilirrubina, Na y urea.

d) Datos durante el ingreso y desenlace

Si el paciente precisó reingreso en Urgencias tras el episodio de estudio, necesidad de ingreso en UCI / REA, duración del ingreso en UCI / REA, duración de la estancia hospitalaria, alta hospitalaria o exitus y fecha.

4.4. ANÁLISIS DE MARCADORES

4.4.1. Cuantificación de biomarcadores proteicos de la respuesta del huésped (Estudio continuo Infección-Sepsis).

Se seleccionaron 20 biomarcadores representativos de funciones biológicas alteradas en la respuesta del huésped a la infección para el estudio del continuo Infección-Sepsis que se muestran en las **Tablas 4 y 5**:

PROTEÍNA	Función específica	Función biológica
Interleucina 6 (IL-6)	Inducción de la síntesis de inmunoglobulinas, la maduración de linfocitos B, activación de linfocitos T y modulación de la hematopoyesis. Estimula la síntesis de proteínas de fase aguda ³⁴⁶	Inflamación
Interleucina 15 (IL-15)	Estimulación de la proliferación de linfocitos T y células mononucleares, induce la generación de células citolíticas e inhibe la apoptosis ³⁴⁷	
Factor de necrosis tumoral α (TNF-α)	Estimulación de la apoptosis, la citotoxicidad celular inespecífica. Modula la respuesta de linfocitos T y B, la activación del neutrófilo, y la extravasación y migración fuera de los vasos de los leucocitos. Involucrada en la coagulación. Estimula la síntesis de IL-1, IL-2e IL-6, entre otros, y la gluconeogénesis ³⁴⁸	
Procalcitonina (PCT)	Prohormona estimulada por señales inflamatorias (citoquinas como IL-1, IL-6, TNF α) ³⁴⁹	
Metaloproteinasa de la matriz 7 (MMP7)	Proteasa involucrada en la respuesta inmune innata, activando péptidos microbianos, media la liberación proteolítica de TNF de los macrófagos ³⁵⁰	
Pentraxina 3 (PTX3)	Reactante de fase aguda con actividad microbicida mediante reconocimiento de patógeno por su adhesión, implicada en la activación del complemento y en la remodelación de la matriz en el daño y la reparación tisular ³⁵¹	
Receptor desencadenante expresado en células mieloides -1 (TREM-1)	Receptor soluble que marca la activación de la vía de señalización amplificando la inflamación, estimulando la secreción de citoquinas en macrófagos y la degranulación en neutrófilos ³⁵²	
Proteína C reactiva (CRP)	Reactante de fase aguda con funciones proinflamatorias involucrado en la activación del complemento y con actividad microbicida mediante reconocimiento de patógeno por su adhesión ³⁵¹	
Ligando de quimioquinas con motivo C-X-C 10 (CXCL10)	Quimioatracción de monocitos/macrófagos, células T, células NK y células dendríticas; induciendo la apoptosis y en la angiogénesis ³⁵³	

Tabla 4. Biomarcadores involucrados en la inflamación.

PROTEÍNA	Función específica	Función biológica
Lipocalina-2 (LCN2)	Proteína del neutrófilo que juega un papel en la inmunidad innata mediante la limitación del crecimiento bacteriano como resultado del secuestro de sideróforos de hierro ³⁵⁴	Degranulación del neutrófilo
Mieloperoxidasa (MPO)	Proteína del neutrófilo responsable de actividad microbicida contra un amplio espectro de microorganismos. Necesaria para la formación de las trampas extracelulares de neutrófilos (NETs) ³⁵⁵	
Molécula de adhesión celular vascular 1 (VCAM-1)	Proteína de adhesión celular leucocito-endotelio, implicada en la extravasación leucocitaria hacia las células parenquimatosas ⁹⁰	
Endotelina-1 (ET-1)	Vasoconstrictor que causa la agregación plaquetaria, incremento de moléculas de adhesión leucocitaria, y la síntesis de mediadores inflamatorios ³⁵⁶	Disfunción endotelial
Angiopoyetina 1 (ANG1)	Factor de crecimiento proteico que regula la angiogénesis, inhibiendo la permeabilidad endotelial y manteniendo la estabilidad vascular ³⁵⁷	
Angiopoyetina 2 (ANG2)	Factor de crecimiento proteico que regula la angiogénesis y antagonista del receptor de AGPT1, provocando la disrupción de la actividad de AGPT1, induce la apoptosis celular endotelial y como consecuencia aumento de la permeabilidad vascular ³⁵⁷	
Dímero D	Péptido producto de la degradación de la fibrina, tras la fibrinólisis ³⁵⁸	Coagulación
Activador del plasminógeno tipo uroquinasa (uPA)	Enzima que cataliza la conversión de plasminógeno en plasmina, al unirse a su receptor regula diversas respuestas inflamatorias e inmunológicas innata, como la liberación de citocinas, activación de neutrófilos, el reclutamiento de células inmunitarias, su adhesión y migración ³⁵⁹	
Interleucina 10 (IL-10)	Inhibición de la síntesis de citocinas (IL-1, IL-6 y TNF- α), radicales libres y NO, la expresión de MHC II, la proliferación de linfocitos T y la actividad procoagulante del factor tisular ³⁴⁸	
Ligando de muerte programada 1 (PD-L1)	Inhibición de la función de células T e estimulando un fenotipo supresor ³⁶⁰	Inmunosupresión / Inmunomodulación
Interleucina 7 (IL-7)	Estimulación del crecimiento y diferenciación de las células B y T. Estimula funciones efectoras de las células T ⁶⁸	Biología linfocitos

Tabla 5. Biomarcadores involucrados en la degranulación del neutrófilo, la disfunción endotelial y la coagulación inmunosupresión / inmunomodulación y biología del linfocito.

Para la cuantificación de las proteínas se utilizó el sistema SimplePlex Ella™ de Biotechnne (San José, California, EE. UU.). Esta tecnología de última generación es un inmunoensayo automatizado basado en la dinámica de microfluidos. Utiliza paneles completamente automatizados de entre 16 a 72 muestras que permiten analizar múltiples biomarcadores a la vez, desde un único analito hasta ocho. La cuantificación de los analitos es precisa, altamente reproducible, rápida y sensible a partir de volúmenes de muestra reducidos^{361,362}.

Además, SimplePlex ELLA elimina varias limitaciones de los ensayos ELISA tradicionales, como la baja sensibilidad, la falta de reproducibilidad y la tediosa manipulación previa. Además, la división de la muestra en los canales de microfluídica paralelos o “multiplexación paralela”, elimina la posible reactividad cruzada entre anticuerpos como la observada en otras plataformas de biomarcadores como es Luminex³⁶¹.

El componente principal del sistema ELLA es un analizador de fluidos integrado que reduce significativamente los deshechos y el mantenimiento preventivo requerido. ELLA controla el ensayo de microfluídica manipulando con precisión los volúmenes, la tasa de flujo y los patrones de flujo sin intervención humana³⁶³.

Los ensayos SimplePlex se realizan en nano-reactores de vidrio (GNRs, del inglés *glass nano reactors*), que van a ser el soporte en fase sólida de los anticuerpos de captura utilizados para el inmunoensayo en sándwich que va a tener lugar. Estos GNRs se encuentran por triplicado para cada analito que se va a cuantificar en cada canal de microfluidos, obteniendo así resultados también por triplicado. La muestra al cargarse en el cartucho pasa a través de uno de estos canales de microfluidos (en la **Figura 15** se muestran 4 canales debido a que es el esquema para un cartucho que cuantifica 4 analitos diferentes), y se unirá en cada GNR al anticuerpo de captura específico. Luego, ELLA lava el circuito eliminando toda la muestra no unida. A continuación, se bombean anticuerpos de detección (dAc) que se unirán a los analitos capturados en los GNR. Se produce un segundo lavado para eliminar todo el excedente de dAc. Posteriormente, se incorpora un reactivo fluorescente de detección que se une a los dAc unidos en el sándwich del GNR. Y se da el tercer lavado. A continuación, se excita a los fluorescentes con un láser de 631nm y se lee la fluorescencia emitida con una cámara CCD (del inglés *charge coupled device*). Finalmente, la plataforma ELLA procesa los datos generados y calcula las RFUs (unidades de fluorescencia relativas) y concentraciones de cada analito por muestra en pg/mL, utilizando la curva estándar calibrada de fábrica que viene con cada cartucho. Esto gracias al software incorporado en el ordenador que se encuentra unido a la tecnología^{361,362} (**Figura 15**).

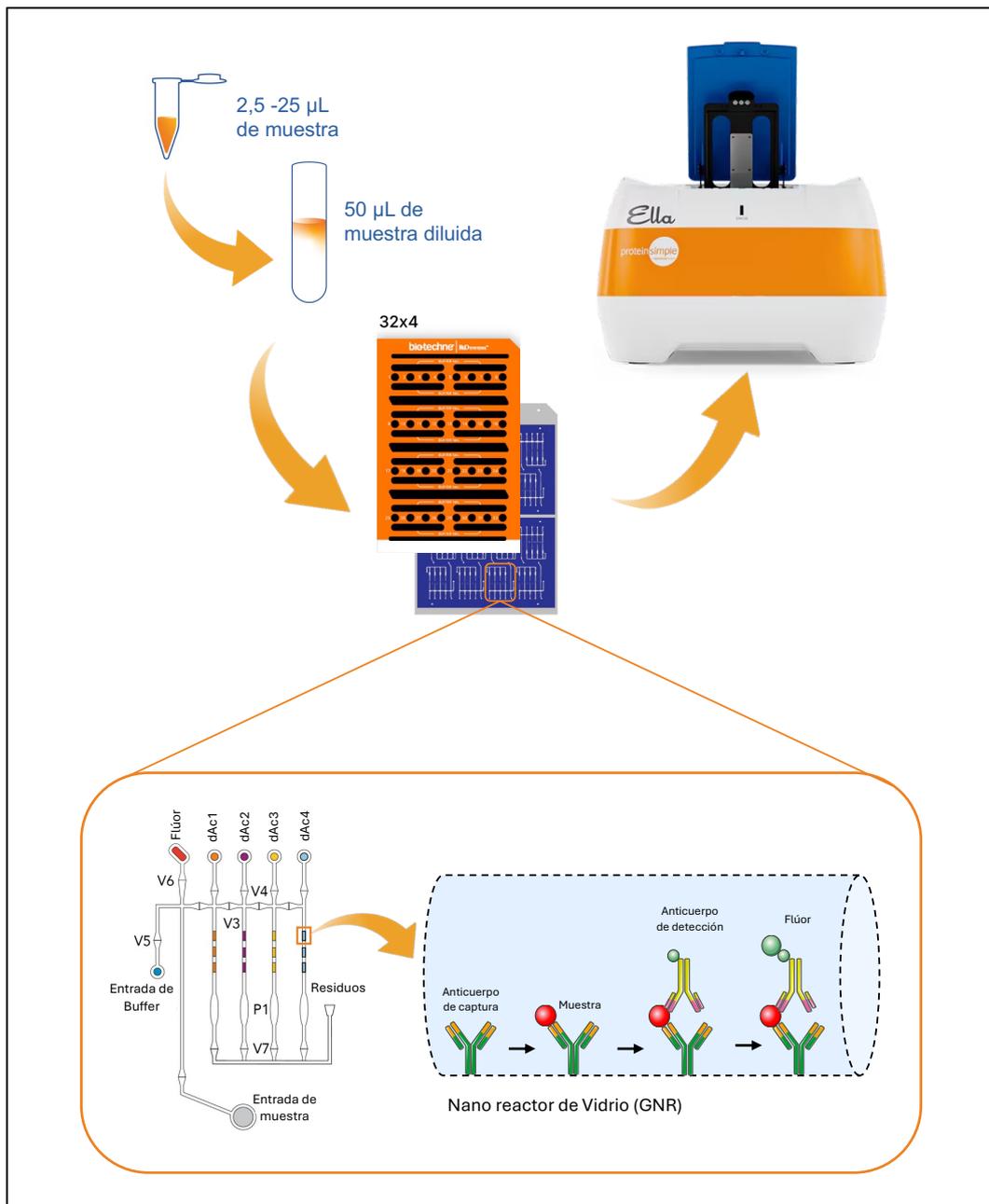


Figura 15. Flujo de trabajo de SimplePlex Ella. dAc, Anticuerpo de detección. Adaptada de Aldo y cols. (216)³⁶¹ y Dysinger y cols. (2017)³⁶⁰

Con esta selección de marcadores, los paneles diseñados serían los siguientes:

- 1) Panel de 32 muestras a una dilución 1:100 que incluye: Lipocalina-2, Mieloperoxidasa y VCAM-1.
- 2) Panel de 32 muestras a una dilución 1:10 que incluye: MMP7, Pentraxina-3, Angiopoyetina-1.

- 3) Panel de 32 muestras a una dilución 1:2 que incluye: Angiopoyetina-2, Procalcitonina, TREM-1, Endotelina-1
- 4) Panel de 32 muestras a una dilución 1:2 que incluye: IL-7, IL-6, IL-10, IL-15, CXCL-10
- 5) Panel de 32 muestras a una dilución 1:2 que incluye: PD-L1, uPA-1, TNF- α
- 6) Panel de 72 muestras a una dilución 1:10 que incluye: Dímero-D

4.4.2. Antígeno N del SARS-CoV-2 (Estudio COVID-19).

Para evaluar la presencia de antígeno N del SARS-CoV-2 en plasma se utilizó el dispositivo inmunocromatográfico de prueba rápida Panbio® COVID-19 Ag de Abbott (Abbott Laboratories Inc., Chicago, IL, EE. UU.), diseñado para su uso en muestra nasofaríngea. En estudios anteriores este test ya se ha utilizado en muestra plasmática^{183,197}.

Tras la obtención del plasma por centrifugado, se realizó una dilución 1:2 utilizando 100 μ l estos plasmas. Los 200 μ l (100 μ l de la muestra y 100 μ l del diluyente) se depositaron en el pocillo del dispositivo para ello. Tras 15 minutos en posición horizontal se pudieron leer los resultados sin esperar más de 20 minutos ya que podrían originarse falsos positivos. El test se consideraba positivo con la presencia de dos bandas en el dispositivo, aunque estas fueran muy débiles

Debido a que esta prueba está diseñada para muestra nasofaríngea realizamos el test rápido de antígeno N en 120 muestras de pacientes adultos (\geq 18 años) que no presentaban infección por SARS-CoV-2 para descartar la obtención de resultados inespecíficos. Estos pacientes pertenecían al estudio del continuo Infección-Sepsis siendo 20 de ellos controles sanos, 23 presentaban SIRS, 33 pacientes con infección, 26 con sepsis y 18 con shock séptico. Solo un paciente con shock séptico dio un resultado positivo.

4.4.3. Anticuerpos anti-SARS-CoV-2 S1 y N (Estudio COVID-19).

La determinación de los anticuerpos contra las proteínas S1 y N del SARS-CoV-2 se realizó mediante los ensayos SARS-CoV-2 IgG II Quant / SARS-CoV-2 IgG en una plataforma Alinity (Abbott Laboratories Inc., Chicago, IL, EE. UU.) utilizando las muestras de plasma.

Esta prueba es un CLIA que utiliza micropartículas quimioluminiscentes (CMIA, del inglés *chemiluminescent microparticle immunoassay*) utilizado para la determinación cualitativa y cuantitativa de anticuerpos IgG frente al virus del SARS-CoV-2 en plasma humanos (**Figura 16**).



Figura 16. Plataforma Alinity para la determinación de anticuerpos.

4.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se realizó con *IBM SPSS Statistics versión 27.0*. (SPSS INC, Armonk, NY, EE. UU.). Los valores con $p < 0,05$ se consideraron estadísticamente significativos. Además, se utilizó R con librerías específicas para algún análisis concreto.

En ambos estudios, en el análisis descriptivo se utilizó la mediana y el rango intercuartílico (RIC) para representar las variables cuantitativas. Las variables cualitativas se representaron según su distribución de frecuencias y porcentaje en relación con el total de pacientes (n, %). La comparación entre las variables cuantitativas se realizó mediante las pruebas no paramétricas U de Mann-Whitney o Kruskal-Wallis (cuando comparamos más de dos categorías); mientras que la comparación de las variables cualitativas se realizó mediante el test Chi-cuadrado de Pearson (χ^2).

4.5.1. Estudio continuo Infección-Sepsis

En un primer paso, se seleccionaron aquellos biomarcadores proteicos más alterados en consecuencia a una infección. Para ello, se calculó el área bajo la curva (ABC) de los biomarcadores para diferenciar entre los pacientes que no presentaban una infección y los que si la presentaban (pacientes nIDS vs. pacientes IDS) y se seleccionaron aquellos biomarcadores con ABCs $\geq 0,75$, que es un punto considerado estadística y clínicamente relevante según varios autores³⁶⁴⁻³⁶⁷ (**Figura 17**).

En un segundo paso, se evaluó la asociación de los biomarcadores seleccionados anteriormente con el grado de fallo de órgano (evaluado con la escala SOFA) en el grupo de pacientes IDS mediante un análisis de regresión lineal multivariable. Con el objetivo de conseguir la normalización de las variables analizadas se utilizó el logaritmo neperiano de los valores de los biomarcadores estudiados. En el análisis de regresión lineal univariante, las comorbilidades y las variables clínicas del ingreso hospitalario que mostraron una asociación significativa con la puntuación SOFA al nivel $p < 0,1$ se introdujeron en el análisis multivariable como variables de ajuste para los niveles de los biomarcadores.

A continuación, los biomarcadores individuales que mostraban una asociación significativa con la puntuación SOFA en el análisis de regresión lineal multivariable se combinaron de forma aditiva calculando la media geométrica de su concentración en plasma, empezando por los dos biomarcadores que mostraban los coeficientes de regresión más altos, y añadiendo progresivamente los restantes en función también de la magnitud de sus coeficientes de regresión. De este modo, creamos las combinaciones de "disfunción de la respuesta del huésped" (Dys del inglés, "*Dysregulated host response*").

La asociación entre las combinaciones Dys y la escala SOFA se probó en el análisis de regresión lineal multivariable, de la misma manera que se ha explicado anteriormente, para identificar la combinación de biomarcadores que mostraba el mayor impacto en el grado de fallo orgánico.

Finalmente, se desarrolló un nuevo análisis de regresión lineal multivariable en la cohorte de validación de pacientes IDS utilizando el mismo enfoque.

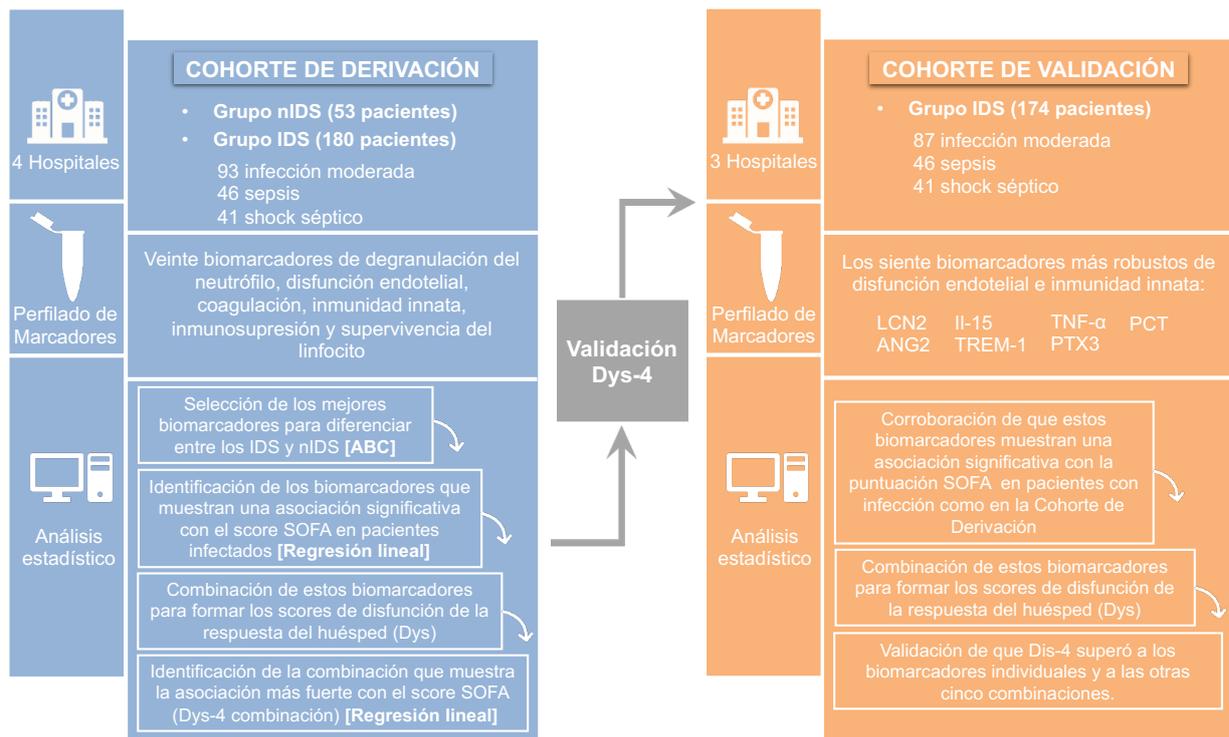


Figura 17. Diagrama de la metodología del estudio Infección-Sepsis.

4.5.2. Estudio COVID-19

Inicialmente se evaluó el valor predictivo de los anticuerpos contra la proteína S1 y N del SARS-CoV-2 para detectar los pacientes que iban a hospitalizar utilizando ABC con el intervalo de confianza al 95% (IC95%) (**Figura 18**). Se consideró que un paciente estaba hospitalizado cuando permanecía al menos dos días en el hospital. Además, se calculó el punto del área bajo la curva de los anticuerpos contra la proteína S1 con el mejor balance entre sensibilidad y especificidad (OOP, del inglés “*optimal operating point*”) utilizando la siguiente fórmula³⁶⁸:

$$OOP = \sqrt{(1 - sensibilidad)^2 + (1 - especificidad)^2}$$

Para evaluar la asociación entre la presencia de un positivo en un test rápido de antígeno N del virus en el plasma y niveles de anticuerpos anti-S1 por debajo del OOP (2821 AU/mL) con la hospitalización, utilizamos un análisis de regresión logística binario multivariante. Para ello, primero testamos estas dos variables y todas aquellas que queramos incluir en el ajuste en un análisis de regresión logística binario univariante. Aquellas variables que mostraron una $p < 0,1$ fueron seleccionadas como variables de ajuste (**Figura 18**).

A continuación, dividimos la cohorte en tres grupos en función de la presencia/ausencia de N-antigenemia y niveles altos/bajos de anticuerpos (el umbral para diferenciar los niveles bajos y altos de anticuerpos fue el OOP; 2821 AU/mL) para evaluar con más detalle su impacto en el riesgo de hospitalización: grupo de pacientes con N-antigenemia negativa y altos títulos de anticuerpos (≥ 2821 AU/mL) [N·Ag (-) y Anti-S1 alto], grupo de pacientes con N-antigenemia positiva o bajos títulos de anticuerpos (< 2821 AU/mL) [N·Ag (+) o Anti-S1 bajo] y grupo de pacientes con N-antigenemia positiva y bajos títulos de anticuerpos (< 2821 AU/mL) [N·Ag (+) y Anti-S1 bajo].

Se evaluó con el modelo anterior de ajuste en un análisis de regresión logística binario multivariante, si pertenecer a las categorías [N·Ag (+) o Anti-S1 bajo] o [N·Ag (+) y Anti-S1 bajo] aumentaba el riesgo de hospitalización en comparación con pertenecer a [N·Ag (-) y Anti-S1 alto]. También, se evaluó la asociación de las categorías con el riesgo de presentar infiltrados bilaterales en pruebas de rayos x.

Finalmente, el impacto de la presencia de positivo de N-antígeno y bajos títulos de anticuerpos en la supervivencia a los 28 días se modelizó mediante curvas de Kaplan-Meier, y las diferencias se evaluaron mediante modelos de regresión de Cox univariante y multivariante.

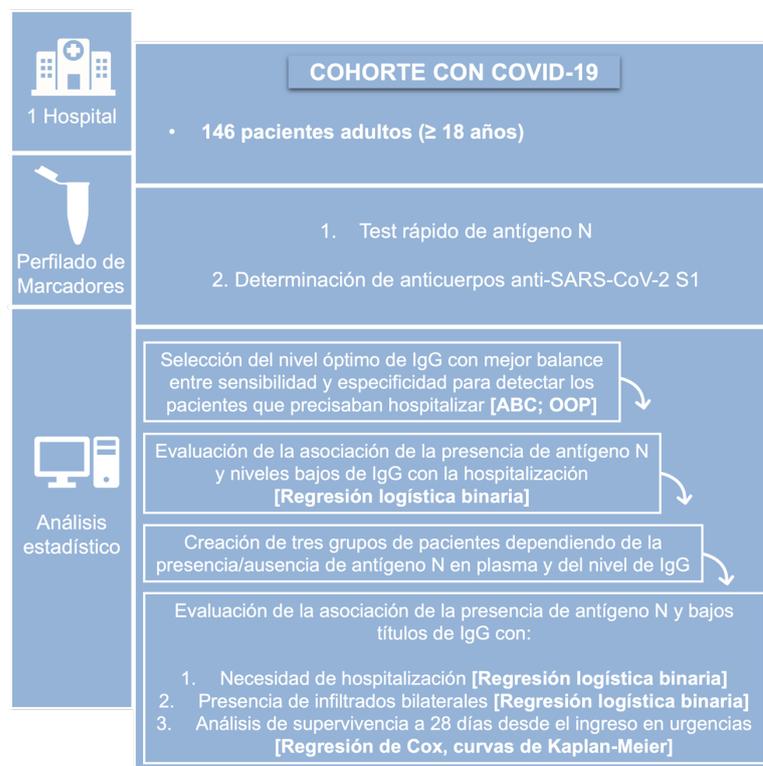


Figura 18. Diagrama de la metodología del estudio Covid-19.

R se utilizó para algunos análisis específicos como el desarrollo de las gráficas Box-Plot de los biomarcadores en el estudio del continuo Infección-Sepsis, y el análisis de supervivencia realizado en el estudio COVID-19.

4.6. ASPECTOS ÉTICOS Y DEONTOLÓGICOS

La aprobación tanto científica como ética del protocolo de estudio se obtuvo de la Comisión de Investigación y Comité Ético para la Investigación Clínica de cada uno de los hospitales participantes en los estudios (Hospital Universitario Río Hortega de Valladolid, Complejo Asistencial Universitario de Salamanca, Complejo Asistencial Universitario de León, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla de Santander, Hospital Universitario Vall d'Hebron de Barcelona).

Además, todos los pacientes o en su defecto, sus representantes legales, firmaron una hoja de consentimiento informado (**Anexo 1**) a través de la cual aceptaban su participación en el estudio.

Toda la información de las historias clínicas se recogió en el propio centro y fue centralizada en dos bases de datos anonimizada, controlada y custodiada por el investigador principal. Los datos fueron tratados de manera confidencial y anónima, según lo establecido en la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales y el Reglamento (UE) 2016/679 del Parlamento europeo y del Consejo de 27 de abril de 2016 de Protección de Datos (RGPD).

5. RESULTADOS

5.1. ESTUDIO DEL CONTINUO INFECCIÓN-SEPSIS

Los resultados mostrados a continuación se encuentran publicados bajo el título “*Synergistic impact of innate immunity hyper-activation and endothelial dysfunction on the magnitude of organ failure in the infection-sepsis continuum*”.

Indicadores de calidad de la publicación:

ISSN: 1201-9712

Editorial: ELSEVIER SCI LTD

Revista: INTERNATIONAL JOURNAL OF INFECTIOUS DISEASES

Índice de Impacto: 8,4

Fuente de impacto: JCR 2022

Categoría: INFECTIOUS DISEASES

Rango: 17/132

Cuartil: 1

5.1.1. Análisis descriptivo de la cohorte de Derivación

Se reclutaron 233 pacientes con criterios de inclusión en el estudio, ingresados en los servicios de Cirugía General o Anestesia y Reanimación de los centros participantes (durante los años 2020-2022) para una primera cohorte de derivación.

Los pacientes se clasificaron en función de la presencia o no de infección, denominándolos grupo de pacientes con IDS, a aquellos que presentaron infección con diversa gravedad y grado de fallo de órgano (evaluado por la escala SOFA), y grupo con nIDS a aquellos pacientes que no presentaban infección, pero sí diferente grado de fallo de órgano y gravedad. En las **Tablas 6, 7 y 8** se muestran los resultados descriptivos de la población estudiada respecto a las variables clínicas y analíticas. Los resultados se presentan de forma global y según su clasificación junto con el valor p correspondiente a la significación estadística de las diferencias encontradas entre ambos grupos.

De los 233 pacientes, 43 pacientes (18,5%) procedían de la REA de HURH, 83 (35,6%) de la REA del CAUSA, 71 (30,5%) de Cirugía general del CAUSA, 31 (13,3%) de REA del CAULE y 5 (2%) de la REA del HUMV (**Tabla 6**). En la **Figura 19** están representados los porcentajes.

	Todos	Grupo nIDS	Grupo IDS	p-valor
Nº [n (%)]				
	233	53 (22,7)	180 (77,3)	
Procedencia [n (%)]				
HURH REA	43 (18,5)	8 (15,1)	35 (19,4)	
CAUSA REA	83 (35,6)	1 (1,9)	82 (45,6)	
CAUSA Cirugía	71 (30,5)	22 (41,5)	49 (27,2)	≤ 0,001
CAULE REA	31 (13,3)	22 (41,5)	9 (5,0)	
HUMV	5 (2,1)	0 (0,0)	5 (2,8)	
Características				
Edad (años) [mediana (RIC)]	63 (25)	63 (17)	63 (31)	n.s.
Sexo (masculino) [n (%)]	159 (68,5)	37 (69,8)	122 (68,2)	n.s.
Antecedentes [n (%)]				
Fumador	23 (10,0)	3 (5,7)	20 (11,3)	n.s.
Enfermedad cardíaca crónica	46 (19,9)	5 (9,4)	41 (23,0)	0,030
EPOC	15 (6,5)	3 (5,7)	12 (6,7)	n.s.
Asma	11 (4,8)	1 (1,9)	10 (5,6)	n.s.
Obesidad	24 (10,4)	5 (9,4)	19 (10,7)	n.s.
Hipertensión	86 (37,2)	21 (39,6)	65 (36,5)	n.s.
Dislipidemia	68 (29,4)	19 (35,8)	49 (27,5)	n.s.
Enfermedad renal crónica	13 (5,6)	2 (3,8)	11 (6,2)	n.s.
Enfermedad neurológica	17 (7,4)	2 (3,8)	15 (8,4)	n.s.
Neoplasia activa	20 (8,7)	6 (11,3)	14 (7,9)	n.s.
Enfermedad autoinmune	17 (7,4)	3 (5,7)	14 (7,9)	n.s.
Enfermedad gastrointestinal crónica	25 (10,8)	9 (17,0)	16 (9,0)	n.s.
Diabetes Mellitus	40 (17,3)	11 (20,8)	29 (16,3)	n.s.
Parámetros clínicos a la admisión [median (IQR)]				
Fiebre (37,5 °C) [n (%)]	24 (11,4)	1 (2,0)	23 (14,5)	0,015
Frecuencia cardíaca (latidos por min)	85,0 (24,0)	80,0 (21,0)	85,0 (23,0)	0,002
Presión arterial media (mmHg)	89,0 (22,0)	92,0 (15,0)	87,0 (23,2)	n.s.

Tabla 6. Análisis descriptivo de las variables clínicas y analíticas de los pacientes. Comparativa entre los pacientes sin infección (nIDS) y los que presentan infección (IDS).

Abreviaturas: n.s., no significativo; p-valor, nivel de significación.

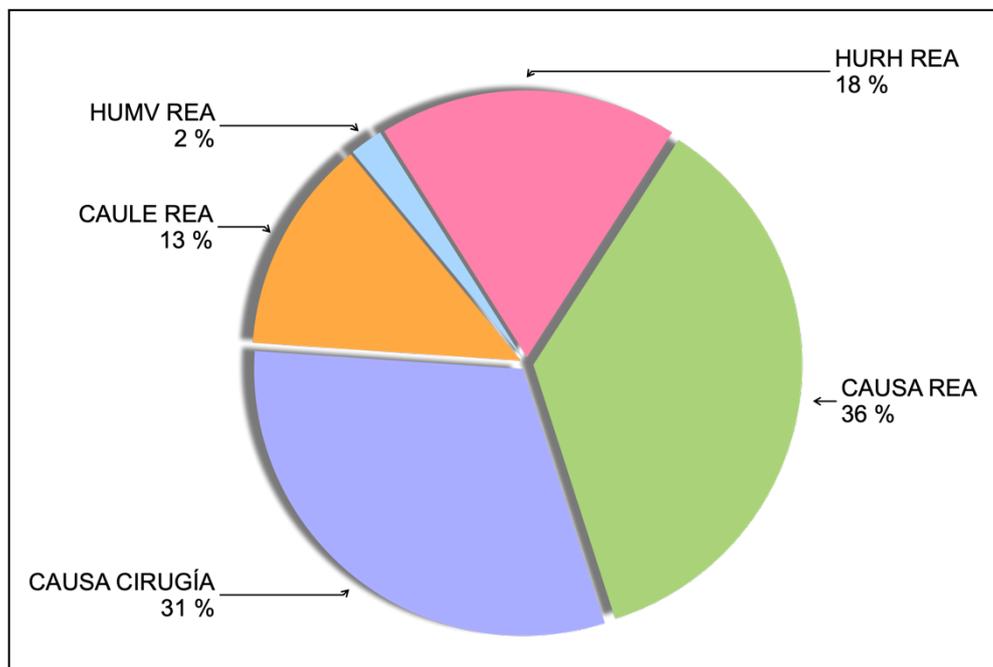


Figura 19. Porcentaje de pacientes por hospital.

En esta cohorte de derivación, 180 pacientes (77,3%) pertenecían al grupo con IDS y 53 (22,7%) al grupo con nIDS. Los dos grupos de pacientes eran similares en términos de edad y composición de género, siendo el sexo masculino de edad avanzada el perfil predominante tanto en la cohorte general como en ambos grupos (**Tabla 6**).

Entre los antecedentes personales que presentaron los pacientes, destacaron por frecuencia la hipertensión arterial con 86 casos (37,2%) y la dislipemia con 68 casos (29,4%). También se observaron antecedentes como la enfermedad cardíaca crónica en 46 pacientes (19,9%) o diabetes mellitus en 40 pacientes (17,3%). Al comparar entre los grupos con IDS y nIDS, estos eran similares en su perfil de antecedentes, aunque la presencia de enfermedad cardíaca crónica era significativamente más frecuente en el grupo con IDS (9,4% vs. 23%, $p=0,030$; Grupo nIDS vs. IDS, respectivamente) (**Tabla 6**).

Durante el ingreso, entre las complicaciones que destacaron por ser las más frecuentes se encuentran las infecciones secundarias con 40 casos (18,0%). También se observaron con una menor frecuencia el fallo renal agudo en 24 pacientes (10,7%) y la aparición de íleo paralítico en 22 pacientes (9,9%). Cuando se compararon los dos grupos de pacientes se observó que los pacientes del grupo con IDS mostraron una mayor frecuencia de arritmia cardíaca, íleo paralítico, insuficiencia renal aguda e infecciones secundarias (**Tabla 7**).

	Todos	Grupo nIDS	Grupo IDS	p-valor
Nº [n (%)]				
	233 (100,0)	53 (22,7)	180 (77,3)	
Fallo de órgano [mediana (RIC)]				
SOFA Score	1 (4)	1 (3)	1 (5)	n.s.
Complicaciones [n (%)]				
SDRA	9 (4,0)	0 (0,0)	9 (5,3)	n.s.
Arritmia cardiaca	12 (5,4)	0 (0,0)	12 (7,0)	0,047
Ataque cardiaco	5 (2,2)	1 (1,9)	4 (2,3)	n.s.
Anastomosis	5 (2,3)	0 (0,0)	5 (2,3)	n.s.
Hemorragia postoperatoria	7 (3,1)	2 (3,8)	5 (2,9)	n.s.
Sangrado gastrointestinal	8 (3,6)	1 (1,9)	7 (4,1)	n.s.
Accidente cerebrovascular	4 (1,9)	0 (0,0)	4 (2,4)	n.s.
Íleo paralítico	22 (9,9)	1 (1,9)	21 (12,4)	0,026
Fallo hepático agudo	4 (1,8)	0 (0,0)	4 (2,4)	n.s.
Fallo renal agudo	24 (10,7)	0 (0,0)	24 (14,0)	0,004
Infecciones secundarias	40 (18,0)	1 (1,9)	39 (23,1)	≤ 0,001
Delirio postoperatorio	11 (5,1)	1 (1,9)	10 (6,2)	n.s.
Coma	5 (2,3)	0 (0,0)	5 (3,1)	n.s.
Ventilación mecánica invasiva	49 (21,8)	6 (11,5)	43 (24,9)	0,041
Terapia con vasopresores	42 (19,6)	1 (2,0)	41 (25,0)	≤ 0,001
Reintervención	15 (6,8)	1 (1,9)	14 (8,3)	n.s.
Estancia hospitalaria [mediana (RIC)]	6 (11)	5 (8)	6 (13)	n.s.
Mortalidad hospitalaria	17 (7,3)	0 (0,0)	17 (9,4)	0,020

Tabla 7. Continuación del análisis descriptivo de las variables clínicas y analíticas de los pacientes. Comparativa entre los pacientes sin infección (nIDS) y los que presentan infección (IDS).

Abreviaturas: n.s., no significativo; p-valor, nivel de significación; SDRA, síndrome de distrés respiratorio agudo.

Además, 42 pacientes (19,6%) necesitaron terapia con vasopresores y 49 (21,8%) precisaron de ventilación mecánica invasiva (VMI). Se observaron diferencias significativas en estos dos tratamientos durante el ingreso hospitalario, siendo los pacientes infectados (grupo con IDS) aquellos que los precisaban más frecuentemente (VMI: 11,5% vs. 24,9%, $p = 0,041$; Vasopresores: 2,0% vs. 25,0%, $p \leq 0,001$; nIDS vs. IDS, respectivamente) (**Tabla 7**).

Con relación al tiempo de estancia hospitalaria, los pacientes estuvieron de mediana ingresados en el hospital 6 días, sin diferencias significativas entre los dos grupos de pacientes. Finalmente fallecieron 17 pacientes del grupo IDS (9,4%). Por lo contrario, ningún paciente del grupo nIDS falleció (**Tabla 7**).

El origen más frecuente de infección en el grupo IDS fue el foco abdominal (154 de 180 pacientes, 85,6%), seguido del sitio de herida quirúrgica (15 de 180 pacientes, 8,3%), representando otras fuentes de infección una minoría (bacteriemia, 6 pacientes de 180, 3,3%; y tracto urinario 4 pacientes de 180, 2,2%) (**Tabla 8**).

Con respecto al diagnóstico microbiológico, se realizó cultivo microbiológico en 104 pacientes de los 180 que presentaron infección y se pudo identificar al patógeno en el 61,5% de estos pacientes (64 pacientes), con predominio de bacterias Gram negativas en 47 pacientes (26,1%), bacterias Gram positivas en 25 (13,9%) y hongos en 19 pacientes (10,5%). Además, 21 de estos pacientes (11,7%) presentaban infección por varios tipos de microorganismos. En la **Figura 20** se observa la etiología de las infecciones.

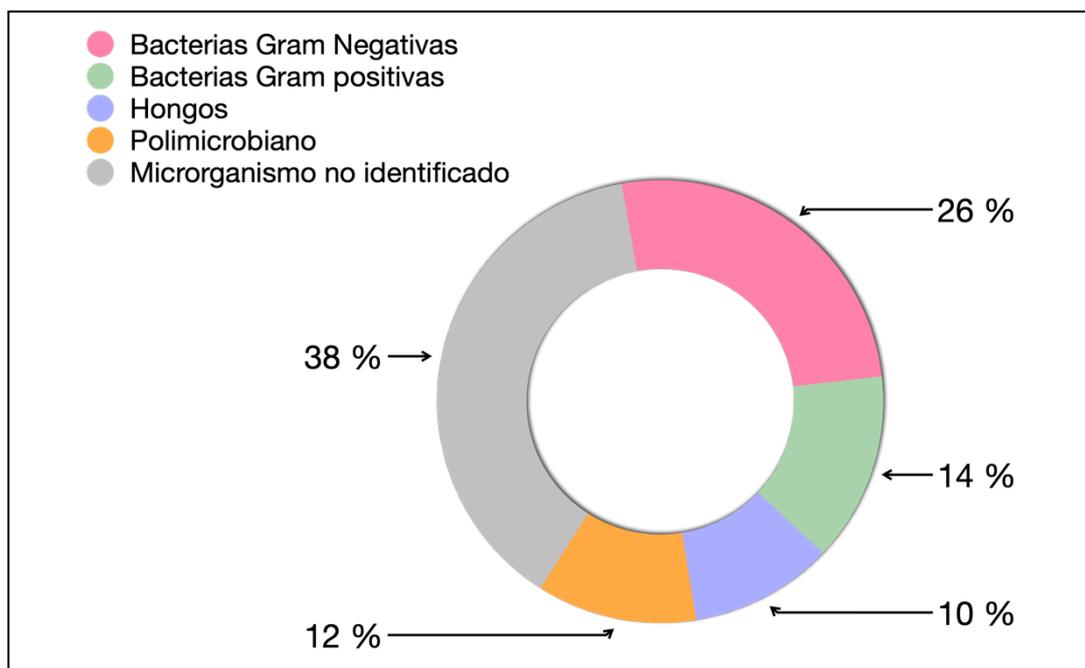


Figura 20. Diagnóstico microbiológico de las infecciones de los pacientes del grupo IDS.

En cuanto a la situación clínica al diagnóstico, la mediana de la escala SOFA en el momento del reclutamiento fue de 1 punto en ambos grupos, sin diferencias significativas entre ellos y al igual que el valor medio de la cohorte general (**Tabla 7**). Además, la presión arterial media era de 89 mmHg, sin encontrar diferencias entre aquellos pacientes que presentaban o no una infección. Sin embargo, si existían diferencias significativas entre los dos grupos de pacientes en la frecuencia de presencia fiebre (2,0% vs 14,5%, $p = 0,015$; pacientes nIDS vs IDS, respectivamente) y la frecuencia cardíaca (mediana [RIC]; 80,0 [21,0], 85,0 [23,0], $p = 0,002$; pacientes nIDS vs IDS, respectivamente) (**Tabla 8**).

Con relación a la gravedad de estos pacientes, 46 de 180 (25,6%) de los pacientes del grupo IDS presentaban sepsis, y 41 de 180 (22,8%) presentaban shock séptico.

	Todos	Grupo nIDS	Grupo IDS	p-valor
Nº [n (%)]				
	233 (100,0)	53 (22,7)	180 (77,3)	
Foco de infección [n (%)]				
Desconocido	n.a.	n.a.	1 (0,6)	n.a.
Abdomen	n.a.	n.a.	154 (85,6)	n.a.
Tracto urinario	n.a.	n.a.	4 (2,2)	n.a.
Herida quirúrgica	n.a.	n.a.	15 (8,3)	n.a.
Bacteriemia	n.a.	n.a.	6 (3,3)	n.a.
Microbiología [n (%)]*				
Bacterias Gram negativas	n.a.	n.a.	47 (26,1%)	n.a.
Bacterias Gram positivas	n.a.	n.a.	25 (13,9)	n.a.
Hongos	n.a.	n.a.	19 (10,5)	n.a.
Polimicrobiano	n.a.	n.a.	21 (11,7)	n.a.
Parámetros de laboratorio [mediana (IQR)]				
Glucosa (mg/dL)	123,0 (57,0)	123,0 (61,0)	123,0 (56,0)	n.s.
Bilirrubina (mg/dL)	0,78 (0,63)	0,72 (0,49)	0,78 (0,65)	n.s.
Creatinina (mg/dL)	0,89 (0,49)	0,78 (0,42)	0,92 (0,50)	0,024
Na (mmol/L)	138,0 (5,0)	138,0 (4,0)	138,0 (4,0)	n.s.
K (mmol/L)	4,0 (0,7)	4,1 (0,6)	3,9 (0,7)	n.s.
Leucocitos (células/mm ³)	11260 (7100)	8900 (4300)	11960 (7660)	0,011
Linfocitos (células/mm ³)	864 (1053)	1057 (1117)	862 (1022)	n.s.
Neutrófilos (células /mm ³)	8804 (7158)	7245 (5308)	9615 (7428)	n.s.
Monocitos (células /mm ³)	592 (607)	472 (464)	612 (664)	n.s.
Plaquetas (células x 10 ³ / µl)	208,0 (90,0)	167,0 (68,0)	223,0 (98,7)	≤ 0,001

Tabla 8. Continuación del análisis descriptivo de las variables clínicas y analíticas de los pacientes. Comparativa entre los pacientes sin infección (nIDS) y los que presentan infección (IDS).

Abreviaturas: n.a., no aplica; n.s., no significativo; p-valor, nivel de significación.

*El análisis sobre la microbiología esta realizado sobre un total de 104 pacientes a los que se les hizo pruebas microbiológicas.

La mediana de leucocitos registrada fue 1.1260 células/mm³ en toda la cohorte existiendo diferencias significativas entre los pacientes con infección y sin ella. La mediana de los linfocitos fue 864 células/mm³, la mediana de los monocitos fue 592 células/mm³ y la de los neutrófilos 8804 células/mm³ no existiendo diferencias significativas entre los dos grupos de pacientes. Aunque si se observó que tanto la cohorte total como los grupos por separado, presentaban linfopenia (<1.500 células/mm³) (**Tabla 8**).

En relación con los parámetros bioquímicos al reclutamiento, los valores de creatinina fueron de 0,89 mg/dL, siendo más elevados en los pacientes que presentaban una infección con 0,92 mg/dL ($\rho = 0,024$). Otros parámetros como la glucosa, bilirrubina, Na o K no mostraron diferencias significativas (**Tabla 8**).

5.1.2. Niveles de biomarcadores a lo largo de los grupos de estudio

Como se puede ver en la **Tabla 9** y en los gráficos de cajas de las **Figuras 21, 22, 23 y 24** se cuantificaron los biomarcadores en los dos grupos de estudio y en los controles sanos.

En la **Figura 21** se observa como los biomarcadores de daño endotelial tienden a elevarse en los pacientes con IDS en comparación con los otros dos grupos, pero no siempre la diferencia entre ellos es suficiente para ser significativa.

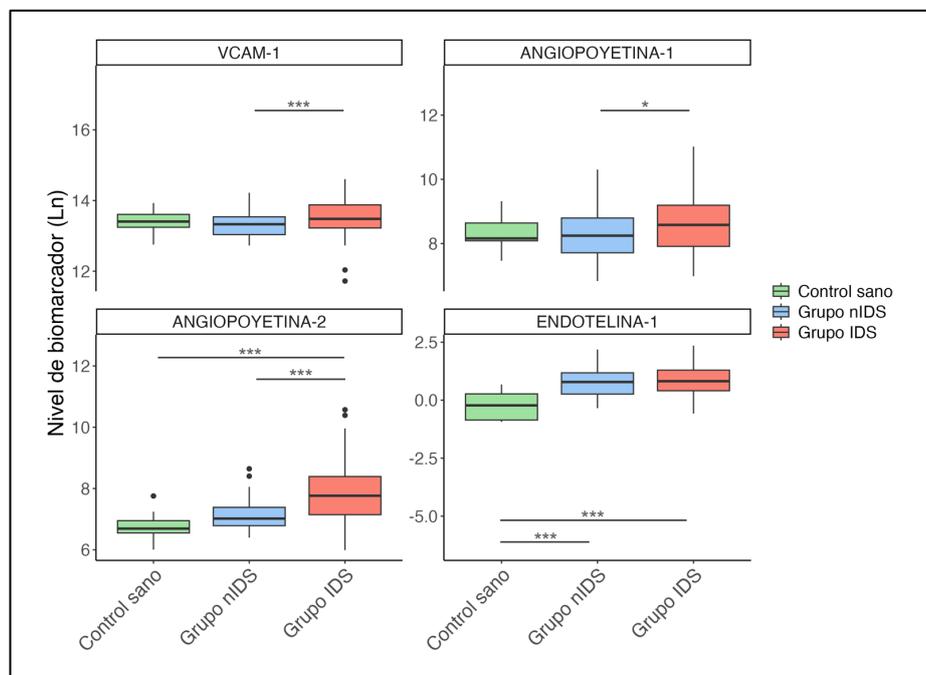
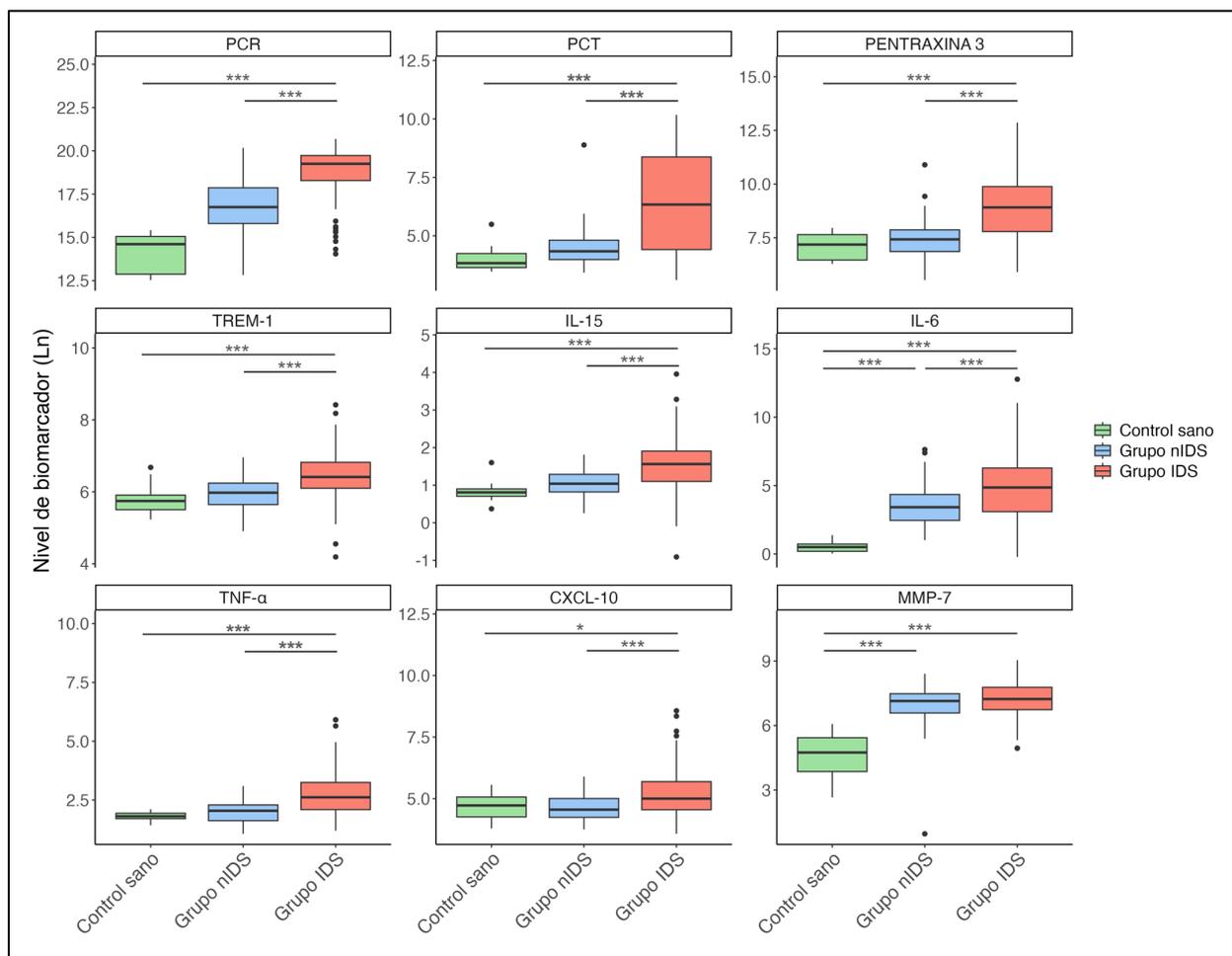


Figura 21. Gráficos de cajas de los niveles de los biomarcadores de daño endotelial entre los grupos de estudio.

*** p ≤ 0,001; ** p < 0,010; * p < 0,050.

Los niveles de ET-1 fueron significativamente más elevados en los grupos IDS y nIDS que en los controles sanos. Por otro lado, VCAM-1 y angiopoyetina-1 solo mostraban diferencias significativas entre los grupos de pacientes con IDS y nIDS ($p \leq 0,001$). Angiopoyetina-2 fue el único biomarcador de los 4 que se encontraba significativamente más elevado en los pacientes con IDS comparado con los pacientes con nIDS y los controles sanos (**Tabla 9**).

En la **Figura 22** se puede observar que hay una tendencia general de aumento de los niveles de los biomarcadores de inflamación a lo largo de los tres grupos desde el control sano hasta el grupo de los pacientes con infección (Grupo con IDS). Los niveles de MMP7 fueron más elevados en los grupos con IDS y nIDS que en los controles sanos ($p \leq 0,001$; en ambos casos) (**Tabla 9 y Figura 22**). A su vez, los pacientes con IDS presentaron los niveles significativamente más altos de CRP, PCT, PTX3, TREM-1, IL-15, CXCL-10 y TNF- α en comparación con los otros dos grupos. IL-6 fue el único biomarcador de inflamación que mostró diferencias entre todos los grupos de pacientes (**Tabla 9 y Figura 22**).



Cuando se compararon los biomarcadores implicados en la degranulación del neutrófilo, estos mostraron resultados similares, siendo los pacientes con IDS aquellos que tenían una concentración significativamente mayor de LCN2 y MPO en comparación con los otros dos grupos (**Tabla 9 y Figura 23**).

En el caso de los biomarcadores de coagulación, el dímero-D presentó diferencias significativas entre todos los grupos, encontrándose los niveles más elevados en el grupo de pacientes con IDS. Por lo contrario, los niveles de uPA fueron significativamente más bajos en ambos grupos de pacientes en comparación con los controles sanos (**Tabla 9 y Figura 23**).

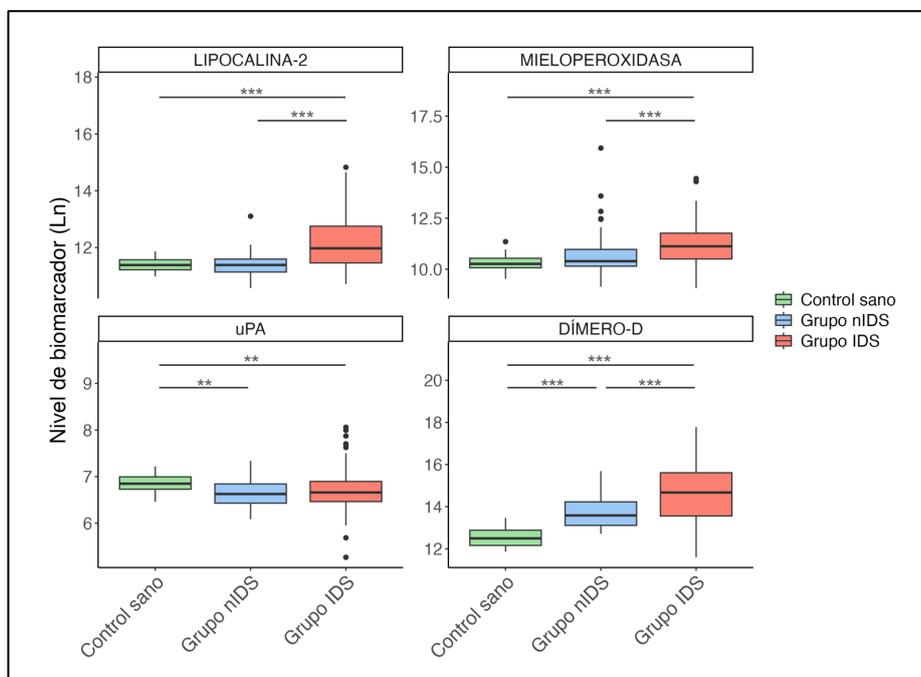


Figura 23. Gráfico de cajas de los niveles de los biomarcadores de degranulación del neutrófilo y coagulación entre los grupos de estudio.

*** $p \leq 0,001$; ** $p < 0,010$; * $p < 0,050$.

Los dos biomarcadores involucrados en inmunosupresión e inmunomodulación presentaron diferente comportamiento entre los grupos de pacientes. Los niveles de IL-10 fueron significativamente más elevados en los grupos con IDS y nIDS que en los controles sanos. Por el contrario, no se encontraron diferencias para este biomarcador entre los grupos de pacientes con y sin infección (**Tabla 9 y Figura 24**).

A su vez, los pacientes con IDS mostraron los niveles significativamente más altos de PD-L1 que los controles sanos ($p = 0,006$) y el grupo de pacientes nIDS ($p = 0,039$) (**Tabla 9 y Figura 24**).

IL-7, único biomarcador implicado en la biología del linfocito mostró diferencias significativas entre los dos grupos de pacientes con el control sano (Control sano vs. Grupo con nIDS $p = 0,024$; Control sano vs. Grupo con IDS $p = 0,006$) (**Tabla 9 y Figura 24**)

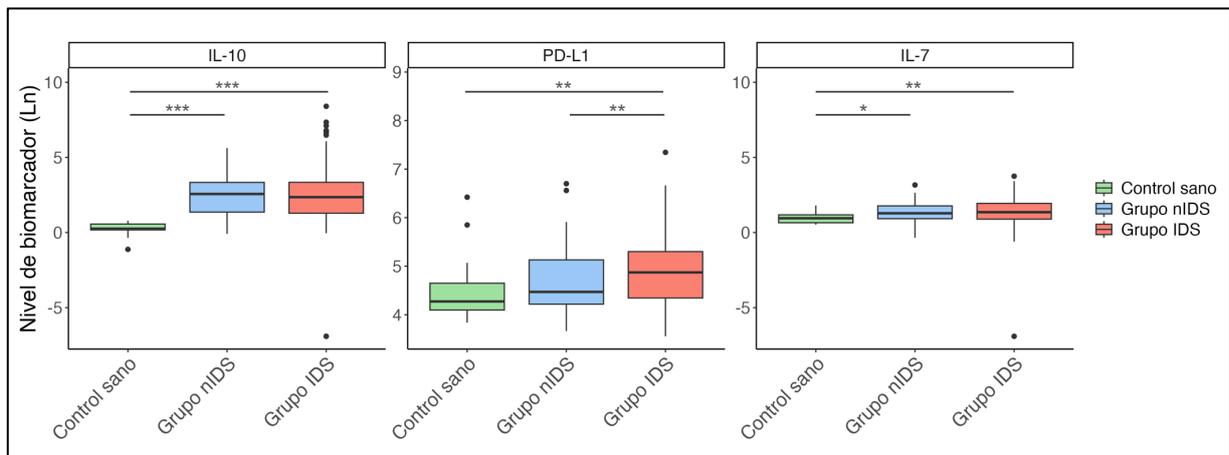


Figura 24. Gráfico de cajas de los niveles de los biomarcadores de inmunosupresión y biología del linfocito entre los grupos de estudio.

*** $p \leq 0,001$; ** $p < 0,010$; * $p < 0,050$.

	Controles sanos (0, N=20)	Grupo nIDS (1, N=53)	Grupo IDS (2, N=180)	p-valor (0-1)	p-valor (0-2)	p-valor (1-2)
CRP	2209720,00 (3870607,00)	18832746,00 (57017988)	229864638,00 (286553752,75)	n.s.	≤ 0,001	≤ 0,001
PCT	67,50 (118,10)	76,50 (71,75)	565,50 (4507,08)	n.s.	≤ 0,001	≤ 0,001
MMP7	61,30 (100,95)	1263,00 (1069,00)	1383,00 (1549,25)	≤ 0,001	≤ 0,001	n.s.
PTX3	2068,00 (917,00)	1679,00 (1693,00)	7436,50 (17165,00)	n.s.	≤ 0,001	≤ 0,001
TREM-1	457,00 (368,50)	394,00 (236,00)	610,00 (480,00)	n.s.	≤ 0,001	≤ 0,001
IL-15	2,25 (1,55)	2,83 (1,41)	4,77 (3,75)	n.s.	≤ 0,001	≤ 0,001
CXCL10	87,70 (79,60)	94,80 (82,00)	148,00 (204,93)	n.s.	0,028	≤ 0,001
IL-6	1,72 (0,97)	30,40 (66,10)	131,50 (551,38)	≤ 0,001	≤ 0,001	≤ 0,001
TNF-α	6,40 (2,33)	7,73 (5,09)	13,70 (17,69)	n.s.	≤ 0,001	≤ 0,001
LCN2	79423,00 (43771)	88080,00 (41066,00)	158797,50 (250500,00)	n.s.	≤ 0,001	≤ 0,001
MPO	39355,00 (38432)	32714,00 (34094,00)	67779,50 (91121,00)	n.s.	≤ 0,001	≤ 0,001
uPA	919,00 (390,00)	755,00 (333,00)	780,00 (229,00)	0,002	0,006	n.s.
D-DIMER	306849,00 (356065,00)	792872,00 (1135195,00)	2357521,00 (5244429,75)	≤ 0,001	≤ 0,001	≤ 0,001
VCAM-1	525625,00 (140691)	614929,00 (311844,00)	715746,50 (513949,00)	n.s.	n.s.	≤ 0,001
ANG1	3940,00 (6322)	3807,00 (4665,00)	5324,00 (7212,00)	n.s.	n.s.	0,016
ANG2	971,00 (560,00)	1118,00 (789,00)	2355,00 (3160,00)	n.s.	≤ 0,001	≤ 0,001
ET-1	1,31 (0,94)	2,19 (2,00)	2,27 (2,16)	≤ 0,001	≤ 0,001	n.s.
PD-L1	56,10 (36,45)	87,40 (102,25)	130,50 (124,55)	n.s.	0,006	0,039
IL-10	1,73 (0,89)	13,00 (26,53)	10,55 (25,32)	≤ 0,001	≤ 0,001	n.s.
IL-7	3,19 (2,91)	3,60 (3,48)	3,88 (4,52)	0,024	0,006	n.s.

Tabla 9. Niveles de biomarcadores entre grupos.

Abreviaturas: n.s., no significativo; p-valor, nivel de significación.

5.1.3. Área bajo la curva de los biomarcadores para detectar grupo IDS (Cohorte de Derivación)

En la **Tabla 10** se observan las ABC de los biomarcadores para el análisis diferencial entre los pacientes que presentaban una infección (Grupo IDS) y los que no (Grupo nIDS). Los datos nos muestran que CRP, PCT, PTX3, LCN2, TNF- α , ANG2, TREM-1 e IL-15 eran los biomarcadores que arrojaban áreas significativas con un valor igual o mayor a 0,75 para identificar a los pacientes con IDS en comparación con el grupo nIDS (**Tabla 10** y **Figura 25**).

	ABC	[IC 95%]		p-valor
CRP	0,82	0,75	0,89	≤ 0,001
PCT	0,79	0,74	0,85	≤ 0,001
PTX3	0,79	0,73	0,85	≤ 0,001
LCN2	0,78	0,72	0,84	≤ 0,001
TNF-α	0,78	0,71	0,84	≤ 0,001
ANG2	0,77	0,70	0,83	≤ 0,001
TREM-1	0,76	0,69	0,83	≤ 0,001
IL-15	0,75	0,69	0,81	≤ 0,001
MPO	0,69	0,61	0,78	≤ 0,001
CXCL10	0,68	0,60	0,76	≤ 0,001
Dímero-D	0,68	0,61	0,75	≤ 0,001
Il-6	0,67	0,60	0,74	≤ 0,001
VCAM-1	0,65	0,57	0,72	0,001
ANG1	0,61	0,52	0,70	0,017
PD-L1	0,59	0,51	0,68	0,042
MMP7	0,58	0,50	0,66	n.s.
uPA	0,54	0,46	0,63	n.s.
ET-1	0,53	0,45	0,62	n.s.
IL-7	0,52	0,43	0,60	n.s.
IL-10	0,48	0,39	0,57	n.s.

Tabla 10. ABC para evaluar el valor predictivo de los biomarcadores para detectar el grupo de pacientes con infección (Grupo IDS).

Abreviaturas: n.s., no significativo; p-valor, nivel de significación.

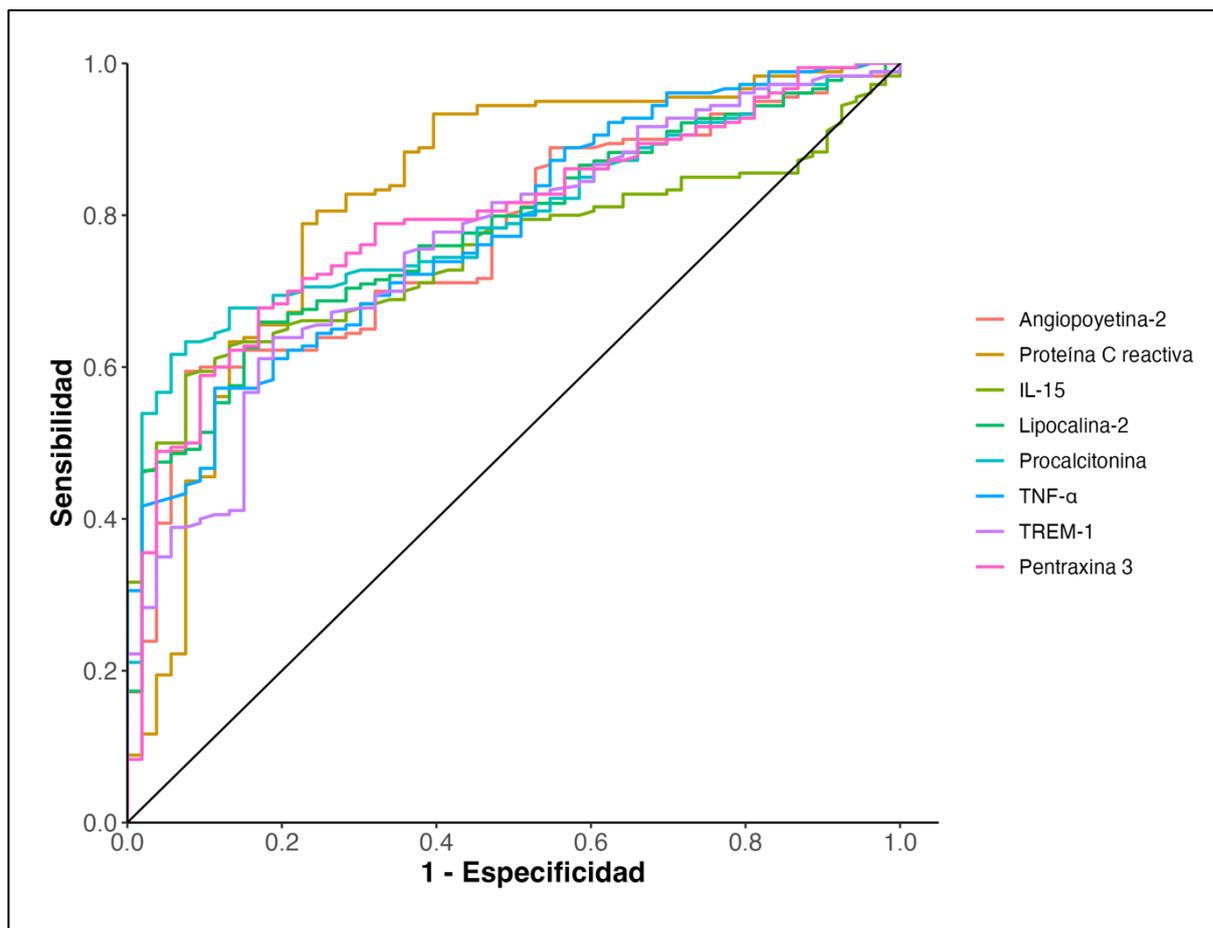


Figura 25. ABC para evaluar el valor predictivo de los biomarcadores para detectar el grupo de pacientes con infección (Grupo IDS).

Biomarcadores medidos en pg/mL en plasma.

Por el contrario, MPO, CXCL10, dímero-D, IL-6, VCAM-1, angiopoyetina-1 y PD-L1 presentaron áreas bajo la curva significativas, pero con un valor por debajo de 0,75 de ABC (Tabla 10).

Por último, MMP7, uPA, ET-1, IL-7 e IL-10 no presentaban áreas significativas para la identificación de los pacientes con infección (Tabla 10).

5.1.4. Análisis de regresión lineal entre biomarcadores y la puntuación SOFA en el grupo IDS (Cohorte de Derivación)

El análisis univariante evidenció que los ocho biomarcadores seleccionados en el paso anterior estaban significativamente asociados con el aumento de la escala SOFA (**Tabla 11**).

		Univariante (n=180)		
		B	SE	p
	Sexo	0,33	0,59	n.s.
	Edad	0,09	0,01	≤ 0,001
	Fumador	0,38	0,88	n.s.
	Enfermedad cardiaca crónica	2,60	0,63	≤ 0,001
	Enfermedad neurológica	2,22	0,99	0,026
	Neoplasia activa	2,66	1,01	0,009
	Hipertensión	1,63	0,56	0,004
	Dislipidemia	0,47	0,62	n.s.
	Enfermedad autoinmune	1,27	1,03	n.s.
	Obesidad	1,46	0,89	n.s.
	Enfermedad gastrointestinal crónica	-0,31	0,97	n.s.
	EPOC	2,16	1,10	0,051
	Asma	-0,96	1,20	n.s.
	Enfermedad renal crónica	3,78	1,12	≤ 0,001
	Diabetes Mellitus	2,26	0,73	0,002
	Infección sitio de herida quirúrgica	3,90	0,95	≤ 0,001
	Infección del tracto urinario	0,62	1,87	n.s.
	Bacteriemia	1,68	1,53	n.s.
	Infección gastrointestinal	-2,06	0,77	0,008
	LCN2	2,76	0,23	≤ 0,001
	ANG2	2,44	0,26	≤ 0,001
	IL-15	2,81	0,35	≤ 0,001
	TREM-1	2,74	0,39	≤ 0,001
	TNF-α	2,25	0,26	≤ 0,001
	PTX3	1,50	0,15	≤ 0,001
	PCT	1,05	0,10	≤ 0,001
	CRP	0,65	0,21	0,002

Tabla 11. Análisis de regresión lineal univariante para evaluar la asociación entre los biomarcadores y el aumento en la escala SOFA. Abreviaturas: n.s., no significativo; p-valor, nivel de significación.

Además, este análisis identificó [Edad], [Enfermedad cardíaca crónica], [Enfermedad neurológica], [Neoplasia maligna activa], [Hipertensión], [EPOC], [Enfermedad renal crónica], [Diabetes], [Infección gastrointestinal] y [Infección del tracto urinario] como las variables de ajuste para el análisis multivariable (**Tabla 11**).

El análisis de regresión multivariable reveló que LCN2 era el biomarcador con la asociación independiente más fuerte con la puntuación SOFA (2,24; 0,28; $\leq 0,001$) (B, coeficiente de regresión; SE, error estándar de B; p-valor), seguido de ANG2 (1,92; 0,33; $\leq 0,001$), IL-15 (1,78; 0,40; $\leq 0,001$), TREM-1 (1,74; 0,46; $\leq 0,001$), TNF- α (1,60; 0,31; $\leq 0,001$), PTX3 (1,12; 0,18; $\leq 0,001$) y PCT (0,85; 0,12; $\leq 0,001$). Por otro lado, la CRP no mostró una asociación significativa con la puntuación SOFA en el análisis multivariable (**Tabla 12**).

Posteriormente, con los 7 biomarcadores que nos ofrecieron los mejores resultados generamos las combinaciones de “disfunción de la respuesta del huésped” (Dys), para lo que utilizamos la media geométrica de los biomarcadores que las formaban. En la **Tabla 13** se muestran las 6 combinaciones y los marcadores que las forman.

	BIOMARCADORES
Dys-7	LCN2, ANG2, IL-15, TREM-1, TNF- α , PTX3, PCT
Dys-6	LCN2, ANG2, IL-15, TREM-1, TNF- α , PTX3
Dys-5	LCN2, ANG2, IL-15, TREM-1, TNF- α
Dys-4	LCN2, ANG2, IL-15, TREM-1
Dys-3	LCN2, ANG2, IL-15
Dys-2	LCN2, ANG2

Tabla 12. Composición de las combinaciones Dys.

Por último, repetimos el análisis de regresión lineal multivariante testando estas combinaciones. Este análisis reflejó que la combinación que tenía el mayor impacto en la puntuación SOFA era Dys-4, que incluía LCN2, ANG2, IL-15, TREM-1 (3,55; 0,44; $\leq 0,001$) (B, coeficiente de regresión; SE, error estándar de B; p-valor) (**Tabla 14**).

	Multivariante (n=180)			Multivariante (n=180)			Multivariante (n=180)			Multivariante (n=180)			Multivariante (n=180)			Multivariante (n=180)		
	B	SE	p	B	SE	p												
Edad	0,02	0,01	n.s.	0,04	0,02	0,008	0,04	0,02	0,016	0,03	0,02	n.s.	0,02	0,01	n.s.	0,06	0,02	<0,001
Enfermedad cardiaca crónica	0,81	0,55	n.s.	1,53	0,61	0,013	1,32	0,62	0,033	0,78	0,59	n.s.	1,43	0,57	0,013	1,35	0,64	0,036
Enfermedad neurológica	0,77	0,75	n.s.	0,59	0,84	n.s.	1,01	0,85	n.s.	0,78	0,80	n.s.	0,81	0,78	n.s.	0,69	0,88	n.s.
Neoplasia activa	0,35	0,79	n.s.	0,75	0,88	n.s.	0,50	0,89	n.s.	0,55	0,84	n.s.	0,69	0,82	n.s.	0,70	0,92	n.s.
Hipertensión	-1,23	0,55	0,026	-1,12	0,61	n.s.	-1,70	0,62	0,007	-1,40	0,58	0,017	-1,51	0,57	0,008	-155	0,66	0,019
EPOC	-0,49	0,90	n.s.	-0,14	0,99	n.s.	-0,36	1,01	n.s.	-0,47	0,95	n.s.	-0,10	0,93	n.s.	-0,19	1,051	n.s.
Enfermedad renal crónica	1,63	0,92	n.s.	2,06	1,02	0,046	2,00	1,05	n.s.	2,84	0,99	0,005	2,59	0,94	0,007	2,90	1,06	0,007
Diabetes	0,83	0,63	n.s.	0,98	0,70	n.s.	1,11	0,71	n.s.	1,06	0,69	n.s.	0,82	0,67	n.s.	1,23	0,74	n.s.
Infección sitio de herida quirúrgica	1,44	0,84	n.s.	1,86	0,93	0,048	2,11	0,94	0,026	1,82	0,91	0,048	1,89	0,89	0,035	2,22	0,98	0,025
Infección gastrointestinal	-0,62	0,66	n.s.	-0,80	0,73	n.s.	-1,21	0,74	n.s.	-0,06	0,74	n.s.	-0,64	0,70	n.s.	-1,03	0,76	n.s.
LCN2	2,24	0,28	<0,001															
ANG2				1,92	0,33	<0,001												
IL-15				1,78	0,40	<0,001												
TREM-1							1,74	0,46	<0,001									
TNF- α										1,60	0,31	<0,001						
PTX3													1,12	0,18	<0,001			
PCT													0,85	0,12	<0,001			
CRP																0,30	0,20	n.s.

Tabla 13. Análisis de regresión lineal multivariante para la asociación entre los biomarcadores y el aumento en la escala SOFA. Abreviaturas: n.s., no significativo; p, nivel de significación; B, Coeficiente de regresión; SE, error estándar de B.

	Multivariante (n=180)			Multivariante (n=180)			Multivariante (n=180)			Multivariante (n=180)			Multivariante (n=180)		
	B	SE	p	B	SE	p									
Edad	0,01	0,01	n.s.	0,01	0,01	n.s.	0,01	0,01	n.s.	0,01	0,1	n.s.	0,02	0,015	n.s.
Enfermedad cardiaca crónica	1,03	0,54	n.s.	0,83	0,54	n.s.	1,01	0,55	n.s.	1,11	0,55	0,043	0,83	0,55	n.s.
Enfermedad neurológica	0,81	0,74	n.s.	0,81	0,74	n.s.	0,83	0,75	n.s.	0,73	0,75	n.s.	0,69	0,75	n.s.
Neoplasia activa	0,35	0,78	n.s.	0,21	0,78	n.s.	0,19	0,79	n.s.	0,18	0,79	n.s.	0,15	0,79	n.s.
Hipertensión	-1,59	0,54	0,004	-1,59	0,54	0,003	-1,63	0,55	0,003	-1,68	0,54	0,002	-1,72	0,55	0,002
EPOC	-0,53	0,88	n.s.	-0,72	0,88	n.s.	-0,65	0,90	n.s.	-0,45	0,89	n.s.	-0,31	0,89	n.s.
Enfermedad renal crónica	1,94	0,90	0,032	1,67	0,90	n.s.	1,48	0,92	n.s.	1,10	0,93	n.s.	1,48	0,92	n.s.
Diabetes	0,56	0,62	n.s.	0,62	0,62	n.s.	0,67	0,63	n.s.	0,56	0,63	n.s.	0,49	0,63	n.s.
Infección sitio de herida quirúrgica	1,39	0,83	n.s.	1,36	0,83	n.s.	1,32	0,84	n.s.	1,32	0,84	n.s.	1,30	0,84	n.s.
Infección gastrointestinal	-0,27	0,65	n.s.	-0,18	0,65	n.s.	-0,18	0,66	n.s.	-0,49	0,65	n.s.	-0,29	0,66	n.s.
Dys-7	2,53	0,30	<0,001												
Dys-6				3,19	0,38	<0,001									
Dys-5							3,47	0,43	<0,001						
Dys-4										3,55	0,44	<0,001			
Dys-3													3,27	0,40	<0,001
Dys-2													2,68	0,33	<0,001

Tabla 14. Análisis de regresión lineal multivariante para ver la asociación entre las combinaciones Dys y el aumento en la escala SOFA. Abreviaturas: n.s., no significativo; p, nivel de significación; B, Coeficiente de regresión; SE, error estándar de B.

Además, al comparar los resultados del Dys-4 con los resultados que mostraron cada uno de los biomarcadores individuales, Dys-4 siguió presentando mejores resultados que cada uno de los 7 marcadores individuales (**Figura 26**).

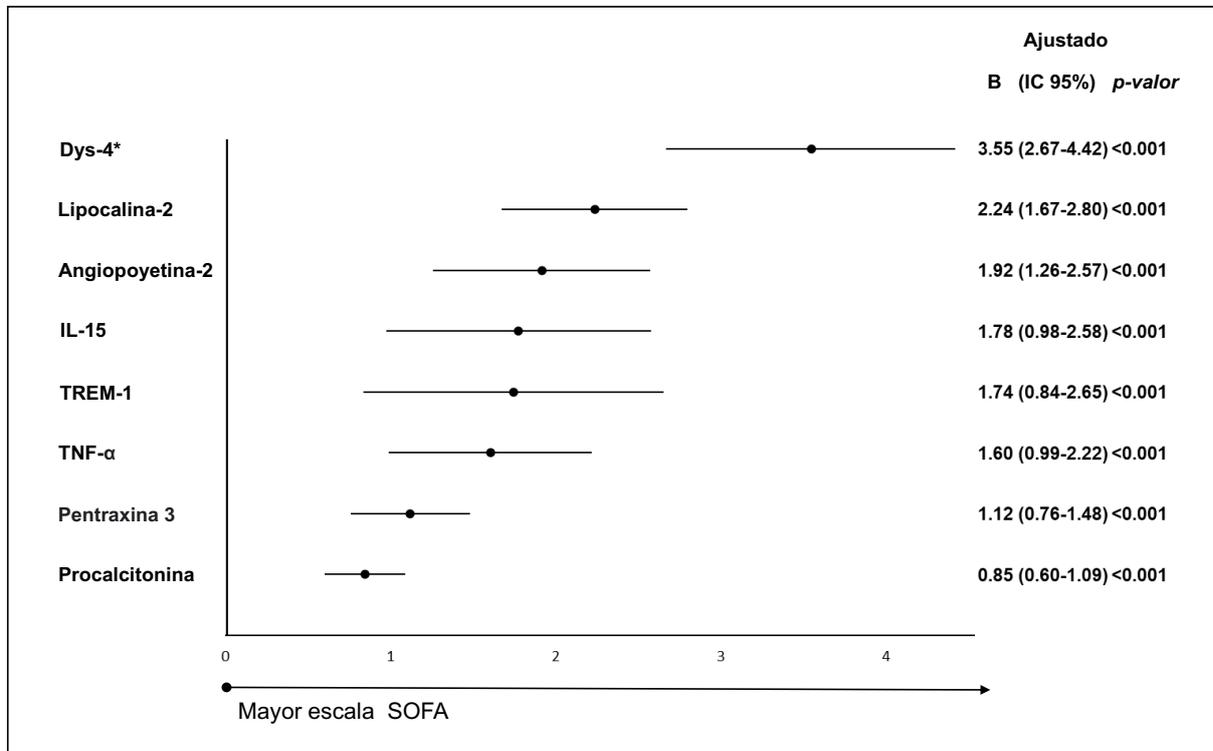


Figura 26. Forest Plot que muestra el coeficiente ajustado de regresión (B) del análisis de regresión lineal multivariante biomarcadores / puntuación Dys-4 y puntuación SOFA.

*Dys-4 incluye Lipocalina-2, angiopoyetina-2, Interleuquina-15 y TREM-1.

5.1.5. Análisis descriptivo de la cohorte de Validación

En una segunda fase del estudio del continuo Infección-Sepsis, se recogieron datos clínicos y muestras de sangre de una segunda cohorte formada por 174 pacientes infectados para validar los resultados anteriormente descritos.

En la **Tabla 15** se detallan una serie de datos clínicos asociados al evento de estudio de forma global.

La edad media de esta cohorte era de 67 años y la composición por sexos estaba equilibrada (90 de 174 eran varones; el 52,90%) (**Tabla 15**).

Las comorbilidades más frecuentes fueron la inmunosupresión (22,0%), la enfermedad cardíaca crónica (17,9%) y la neoplasia maligna activa (14,5%), seguidas de la enfermedad renal crónica (9,2%), la EPOC (6,4%) y la disfunción hepática crónica (2,9%) (**Tabla 15**).

		Cohorte de validación
Nº [n (%)]		174
Características		
Edad (años) [mediana (RIC)]		67 (24)
Sexo (masculino) [n (%)]		92 (52,9)
Antecedentes [n (%)]		
Enfermedad cardíaca crónica		31 (17,9)
EPOC		11 (6,4)
Enfermedad renal crónica		16 (9,2)
Enfermedad hepática crónica		5 (2,9)
Neoplasia activa		25 (14,5)
Inmunosupresión		38 (22,0)
Enfermedad neurológica		21 (12,1)
Hipertensión		75 (43,4)
Diabetes		35 (20,2)
SCORES [mediana (RIC)]		
SOFA Score		1,50 (5,0)
Complicaciones [n (%)]		
Ventilación mecánica invasiva		47 (27,0)
Terapia con vasopresores (29*)		60 (41,4)
Mortalidad hospital (12*)		25 (15,4)
Niveles de proteínas [mediana (RIC)]		
LCN2		420368,50 (659056,7)
ANG2		3134,50 (3935,0)
IL-15		5,69 (4,4)
TREM-1		662,00 (644,0)
TNF- α		22,00 (60,8)
PTX3		15042,50 (34397,3)
PCT		1194,00 (5626,5)

Tabla 15. Características clínicas y niveles de biomarcadores de la cohorte de validación.

*Valores perdidos de las variables

La mediana de la puntuación SOFA en el momento del reclutamiento fue de 1,50 puntos (RIC, 5,00) (**Tabla 15**). De los 174 pacientes infectados, 46 (26,4%) presentaron sepsis y 41 (23,6%) shock séptico.

La fuente de infección más frecuente en esta nueva cohorte fue la gastrointestinal (145 de 174 pacientes, 83,3%), seguida de la urinaria (23 de 174 pacientes, 13,2%), representando otras fuentes una minoría, (sitio quirúrgico, 1 paciente de 174 (0,6%); tracto respiratorio, 1 paciente de 174 (0,6%); osteoarticular, 1 paciente de 174 (0,6%); piel y tejidos blandos, 3 de 174 (1,7%)) (**Tabla 15**).

De estos pacientes, el 41% precisaron tratamiento vasopresor y el 27% ventilación mecánica invasiva. Finalmente, 25 pacientes fallecieron durante la hospitalización (15,4%) (**Tabla 15**).

5.1.6. Evaluación de Dys-4 en la cohorte de Validación.

Para validar los resultados anteriormente mostrados, se realizó de nuevo un análisis de regresión lineal multivariante siguiendo el mismo ajuste que en el análisis original para evaluar la asociación tanto de los 7 biomarcadores individuales como de las combinaciones Dys en esta nueva cohorte.

De forma similar a lo observado en la cohorte de derivación, el análisis multivariable de los biomarcadores individuales reveló que el aumento de cada uno de ellos se veía asociado con el aumento de la escala SOFA de manera independiente a las variables de ajuste (**Tabla 16**).

Por otro lado, al evaluar las combinaciones Dys en esta nueva cohorte de validación los resultados fueron similares a los que se obtuvieron en la cohorte de derivación, donde todas ellas se veían asociadas con el aumento en la escala de fallo de órgano, siendo Dys-4 la que presentaba mayor coeficiente de regresión (3,48;0,32; $\leq 0,001$) (B, coeficiente de regresión; SE, error estándar de B; p-valor) (**Tabla 17**).

Al igual que los resultados anteriores, al comparar los resultados obtenidos de Dys-4 y los biomarcadores individuales, esta combinación seguía superando a cada uno de ellos (**Figura 27**).

	Multivariante (n=174)			Multivariante (n=174)			Multivariante (n=174)			Multivariante (n=174)			Multivariante (n=174)			Multivariante (n=174)		
	B	SE	p	B	SE	p	B	SE	p	B	SE	p	B	SE	p	B	SE	p
Edad	-0,01	0,01	n.s.	-0,01	0,01	n.s.	0,01	0,02	n.s.	-0,01	0,02	n.s.	-0,01	0,02	n.s.	-0,01	0,02	n.s.
Enfermedad cardiaca crónica	0,16	0,61	n.s.	-0,85	0,59	n.s.	-0,62	0,65	n.s.	-0,26	0,64	n.s.	-0,17	0,67	n.s.	-0,33	0,62	n.s.
Enfermedad neurológica	0,37	0,72	n.s.	0,67	0,68	n.s.	0,467	0,76	n.s.	0,44	0,74	n.s.	0,76	0,78	n.s.	0,65	0,73	n.s.
Neoplasia activa	1,78	0,63	0,005	1,88	0,59	0,002	2,06	0,66	0,002	1,58	0,65	0,016	2,12	0,68	0,002	1,85	0,63	0,004
Hipertensión	-0,15	0,522	n.s.	0,50	0,48	n.s.	0,58	0,54	n.s.	-0,06	0,54	n.s.	0,49	0,56	n.s.	0,59	0,51	n.s.
EPOC	2,74	0,911	0,003	2,84	0,86	0,001	3,09	0,96	0,002	1,78	0,97	n.s.	3,49	0,99	<0,001	3,33	0,92	<0,001
Enfermedad renal crónica	0,78	0,81	n.s.	1,07	0,76	n.s.	0,91	0,86	n.s.	0,49	0,85	n.s.	0,94	0,89	n.s.	1,07	0,82	n.s.
Diabetes	-0,08	0,57	n.s.	-0,71	0,54	n.s.	-0,54	0,60	n.s.	0,19	0,59	n.s.	0,19	0,62	n.s.	0,17	0,57	n.s.
Infección sitio de herida quirúrgica	0,63	2,90	n.s.	-0,47	2,7	n.s.	1,93	3,07	n.s.	1,32	3,01	n.s.	0,26	3,17	n.s.	0,99	2,94	n.s.
Infección gastrointestinal	2,14	0,60	<0,001	1,89	0,57	0,001	2,18	0,64	<0,001	2,36	0,62	<0,001	2,36	0,66	<0,001	1,81	0,62	0,004
LCN2	1,51	0,19	<0,001															0,002
ANG2				2,44	0,26	<0,001												
IL-15							2,26	0,36	<0,001									
TREM-1										2,84	0,42	<0,001						
TNF-α													1,05	0,21	<0,001			
PTX3																1,11	0,15	<0,001
PCT																		0,88
																		0,12
																		<0,001

Tabla 16. Análisis de regresión lineal multivariante para ver la asociación entre los biomarcadores y el aumento en la escala SOFA.
 Abreviaturas: n.s., no significativo; p, nivel de significación; B, Coeficiente de regresión; SE, error estándar de B.

	Multivariante (n=174)			Multivariante (n=174)			Multivariante (n=174)			Multivariante (n=174)			Multivariante (n=174)		
	B	SE	p												
Edad	-0,01	0,01	n.s.												
Enfermedad cardíaca crónica	-0,43	0,57	n.s.	-0,54	0,57	n.s.	-0,59	0,55	n.s.	-0,37	0,56	n.s.	-0,32	0,56	n.s.
Enfermedad neurológica	0,56	0,67	n.s.	0,45	0,67	n.s.	0,45	0,67	n.s.	0,33	0,65	n.s.	0,39	0,66	n.s.
Neoplasia activa	0,54	0,76	n.s.	0,39	0,76	n.s.	0,25	0,73	n.s.	0,39	0,74	n.s.	0,65	0,74	n.s.
Hipertensión	2,91	0,85	<0,001	2,86	0,84	<0,001	2,67	0,84	0,002	2,25	0,81	0,006	2,19	0,83	0,009
EPOC	1,79	0,58	0,003	1,87	0,58	0,002	1,90	0,58	0,001	1,75	0,56	0,002	1,67	0,57	0,004
Enfermedad renal crónica	0,16	0,48	n.s.	0,10	0,48	n.s.	-0,07	0,48	n.s.	-0,19	0,46	n.s.	-0,24	0,47	n.s.
Diabetes	-0,08	0,53	n.s.	0,07	0,53	n.s.	-0,03	0,52	n.s.	-0,30	0,50	n.s.	-0,18	0,51	n.s.
Infección sitio de herida quirúrgica	1,45	0,57	0,013	1,44	0,57	0,012	1,51	0,57	0,008	1,49	0,54	0,007	1,68	0,55	0,003
Infección gastrointestinal	1,23	2,71	n.s.	0,83	2,70	n.s.	0,70	2,68	n.s.	0,99	2,58	n.s.	0,45	2,63	n.s.
Dys-7	2,29	0,24	<0,001	2,64	0,27	<0,001	3,08	0,31	<0,001	3,48	0,32	<0,001	3,01	0,29	<0,001
Dys-6															
Dys-5															
Dys-4															
Dys-3															
Dys-2													2,40	0,23	<0,001

Tabla 17. Análisis de regresión lineal multivariante para ver la asociación entre las combinaciones Dys y el aumento en la escala SOFA.

Abreviaturas: n.s., no significativo; p, nivel de significación; B, Coeficiente de regresión; SE, error estándar de B

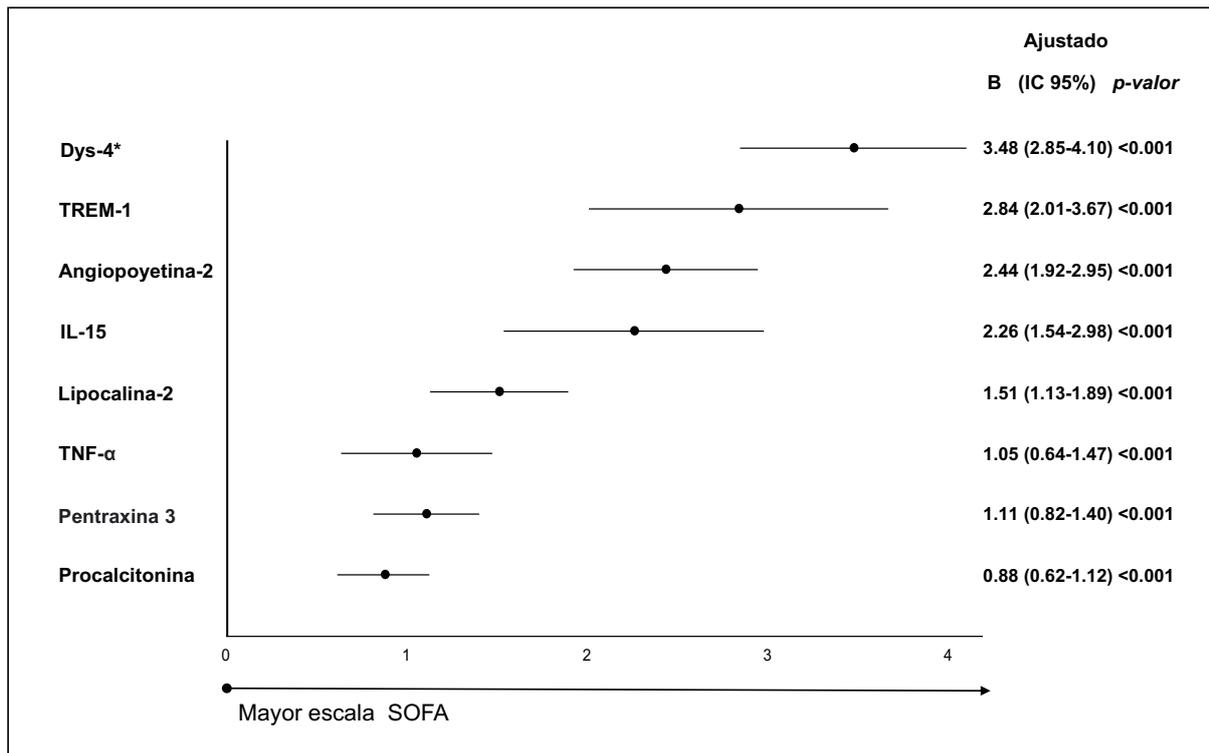


Figura 27. Forest Plot que muestra el coeficiente ajustado de regresión (B) del análisis de regresión lineal multivariante biomarcadores / puntuación Dys-4 y puntuación SOFA en la Cohorte de Validación. *Dys-4 incluye Lipocalina-2, angiopoyetina-2, Interleuquina-15 y TREM-1.

5.2. ESTUDIO COVID-19

Los resultados mostrados a continuación se encuentran publicados bajo el título “*Synergistic impact of n-antigenemia profiled by a rapid antigen test low anti-s1 antibodies on the risk of hospitalization in COVID-19*”.

Indicadores de calidad de la publicación:

ISSN: 1201-9712

Editorial: ELSEVIER SCI LTD

Revista: INTERNATIONAL JOURNAL OF INFECTIOUS DISEASES

Índice de Impacto: 8,4

Fuente de impacto: JCR 2022

Categoría: INFECTIOUS DISEASES

Rango: 17/132

Cuartil: 1

5.2.1. Análisis descriptivo

Se estudiaron 146 pacientes que cumplían criterios de infección por SARS-CoV-2. Todos ellos ingresaron en el servicio de Urgencias del HURH.

En la **Tabla 18** se detallan una serie de datos clínicos asociados al episodio de COVID-19. La mediana de la edad de esta cohorte fue de 55 años con un RIC de 34 años. En la distribución por sexo no existía predominio de ninguno de ellos ya que el 47,90% de la cohorte pertenecían al sexo masculino y el 52,10% al femenino.

En cuanto a los antecedentes personales que presentaban los pacientes ninguno de estos destacaba en la cohorte general, siendo los más predominantes: hipertensión (36 pacientes; 24,70%) y enfermedad pulmonar crónica (32 pacientes; 21,90%). Otros antecedentes con una frecuencia menor fueron la dislipidemia (27 pacientes; 18,5%), la diabetes mellitus (23 pacientes; 15,8%) o la insuficiencia cardíaca (22 pacientes; 15,1%) (**Figura 28**). La mediana del índice de comorbilidad de Charlson fue de 0 puntos (RIC: 2 puntos) (**Tabla 18**).

Únicamente el 9,6% (14 pacientes) de la cohorte había sufrido una infección por SARS-CoV-2 previa al episodio actual. Sin embargo, 119 pacientes (81,5%) habían recibido al menos dos dosis de la vacuna contra el SARS-CoV-2 (**Figura 28**).

Nº [n (%)]	
	146
Características	
Edad (años) [mediana (RIC)]	55 (34,0)
Sexo (masculino) [n (%)]	70 (47,9)
Nivel de gravedad	
Índice de Comorbilidad de Charlson* [mediana (RIC)]	0 (2,0)
Escala de Glasgow [mediana (RIC)]	15 (0,0)
NEWS [mediana (RIC)]	2,5 (5,0)
Complicaciones/Desenlace	
Estancia hospitalaria de ≥ 2 días [n (%)]	58 (39,7)
Estancia hospital [mediana RIC]	0 (6,0)
Mortalidad hospitalaria [n (%)]	16 (11,0)
Mediciones al ingreso en Urgencias	
Necesidad de oxigenoterapia [n (%)]	45 (30,8)
Infiltrados pulmonares bilaterales [n (%)]	33 (22,6)
Test rápido de antígeno N en plasma (+) [n (%)]	33 (22,8)
Anti-SARS-CoV-2 N IgG (+) [n (%)]	19 (13,0)
Anti-SARS-CoV-2 N IgG (AU/mL) [mediana (RIC)]	0,05 (0,3)
Anti-SARS-CoV-2 S1 IgG (+) [n (%)]	122 (83,6)
Anti-SARS-CoV-2 S1 IgG (AU/mL) [mediana (RIC)]	4203,8 (13252,9)

Tabla 18. Análisis descriptivo de los datos clínicos de los pacientes ingresados en el servicio de Urgencias.

*Índice de Comorbilidad de Charlson sin edad

A su llegada a las Urgencias hospitalarias, los pacientes con COVID-19 presentaron de mediana una puntuación en la escala Glasgow de 15 (RIC: 0,00) y un NEWS de 2,5 puntos (RIC: 5,00). El 30,80% de la cohorte necesitó oxigenoterapia en su paso por el servicio de Urgencias. Además, 33 pacientes (22,80%) presentaron infiltrados bilaterales en los exámenes por rayos X (**Tabla 18**).

Aunque en todos los pacientes se habían confirmado la infección por SARS-CoV-2 a nivel nasofaríngeo, únicamente 33 de los 146 (22,80%) pacientes tuvieron un positivo en la prueba rápida de antígeno N del SARS-CoV-2 en plasma sanguíneo (**Tabla 18**).

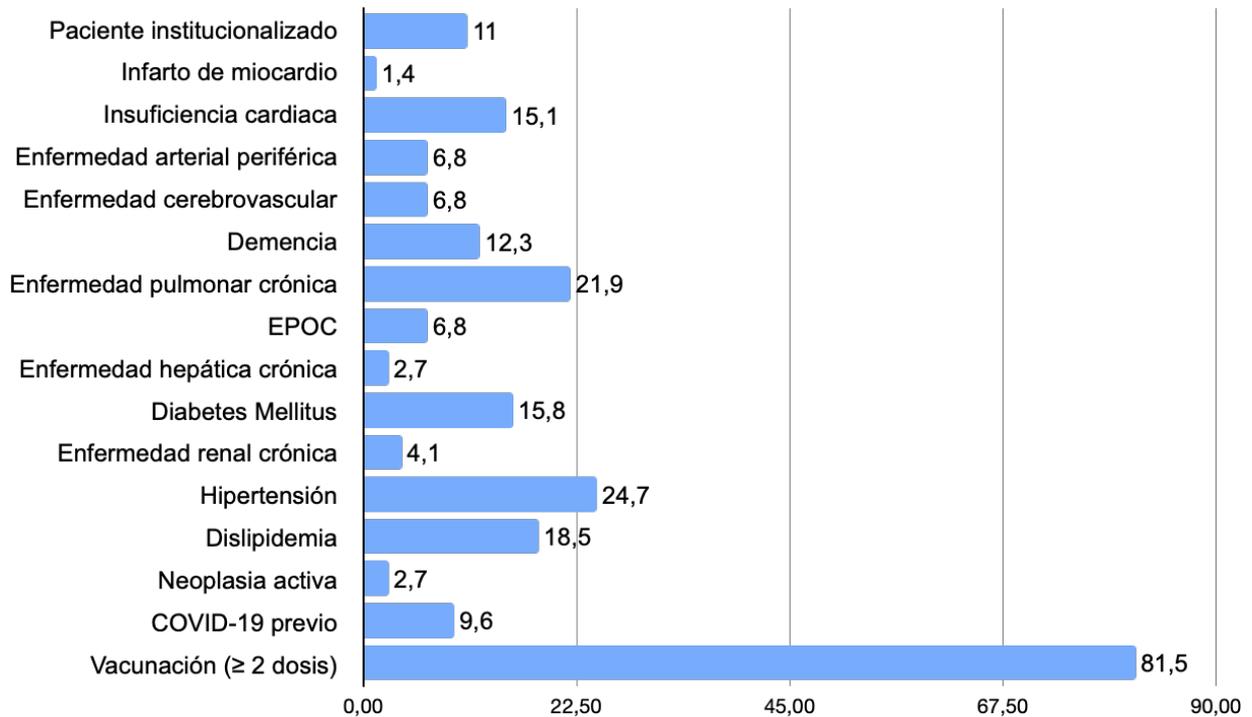


Figura 28. Porcentaje de antecedentes en la población global.

Al analizar la presencia de anticuerpos contra el SARS-COV-2 en estos pacientes, se observó que 122 (83,60%) de ellos dieron positivo para IgG contra la proteína S1 con una mediana de 4203,80 AU/mL (RIC: 13252,90), mientras que únicamente 19 pacientes (13%) testaron positivo para anticuerpos contra la proteína N siendo la mediana de estos de 0,05 AU/mL (0,32) (**Tabla 18**).

Finalmente, de los 146 pacientes que llegaron a Urgencias, 58 de ellos (39,70%) precisaron de hospitalización al menos dos días y 16 (11%) fallecieron durante su estancia hospitalaria (**Tabla 18**).

5.2.2. Construcción de tres categorías de pacientes

Con el objetivo de identificar aquellos pacientes con mayor riesgo de hospitalización, analizamos la capacidad de diferentes variables para identificar aquellos pacientes que permanecían al menos 2 días en el hospital.

Para ello, en un primer análisis testamos la capacidad de los niveles de anticuerpos IgG contra la proteína N y contra la proteína S1 para detectar a los pacientes que precisaban de hospitalización tras su paso por Urgencias.

En la **Figura 29** se observa que los anticuerpos contra la proteína N no presentaron valores significativos para detectar a estos pacientes con una ABC 0,58 [IC 95% 0,48-0,67] ($p = 0,119$).

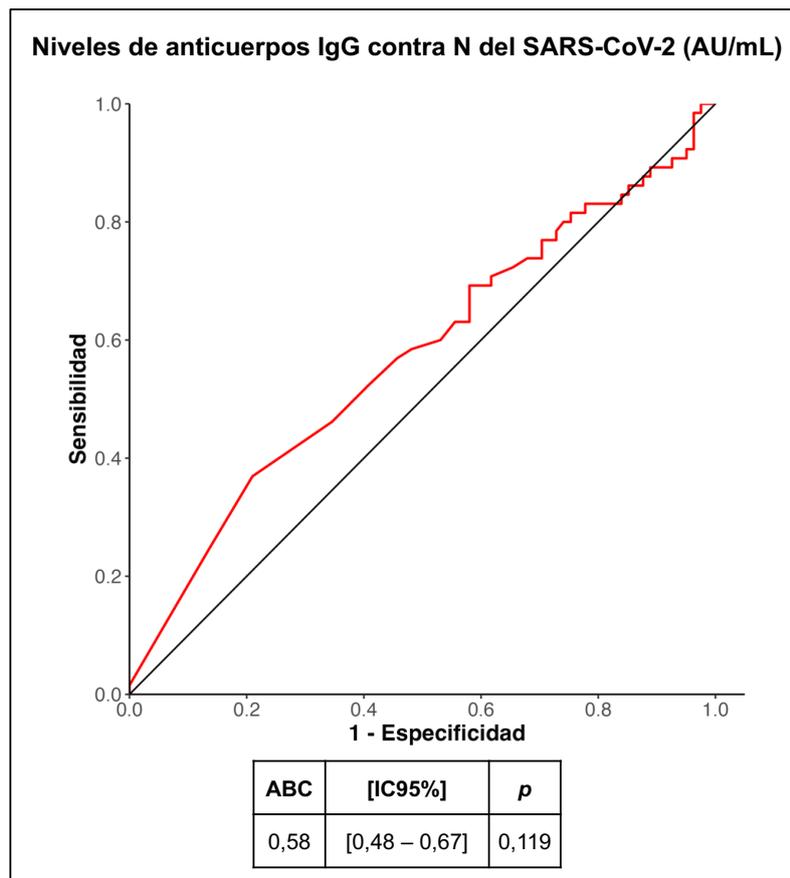


Figura 29. Área bajo la curva (ABC) se utiliza para evaluar la precisión de los niveles de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 N en plasma para predecir la ausencia de hospitalización tras el ingreso en Urgencias.

Abreviaturas: AU, unidades arbitrarias.

Por el contrario, los anticuerpos contra la proteína S1 del SARS-CoV-2 mostraron un ABC significativa de 0,65 [IC 95% 0,56-0,74] ($p = 0,002$) para detectar a estos pacientes que precisaban de hospitalización (**Figura 30**). Además, se calculó el punto de corte óptimo (OOP) de la ABC para el diagnóstico diferencial entre pacientes que hospitalizaban y los que no lo hacían, siendo este 2821 AU/mL (67% sensibilidad; 58% especificidad) (**Figura 30**).

Posteriormente, mediante un modelo de regresión logística binario univariante analizamos como la presencia de un positivo en un test rápido de antígeno N del virus en el plasma y los valores por debajo de 2821 AU/mL de los anticuerpos contra la proteína S1 se relacionaba de manera individual con el riesgo de hospitalización en esta cohorte. Se observó que presentar un positivo en la prueba rápida de antígeno N en plasma se asociaba de manera estadísticamente significativa con el riesgo de hospitalización. Lo mismo ocurría con la presencia de títulos de anticuerpos por debajo de < 2821 AU/mL. Este modelo de regresión se muestra en la **Tabla 19**.

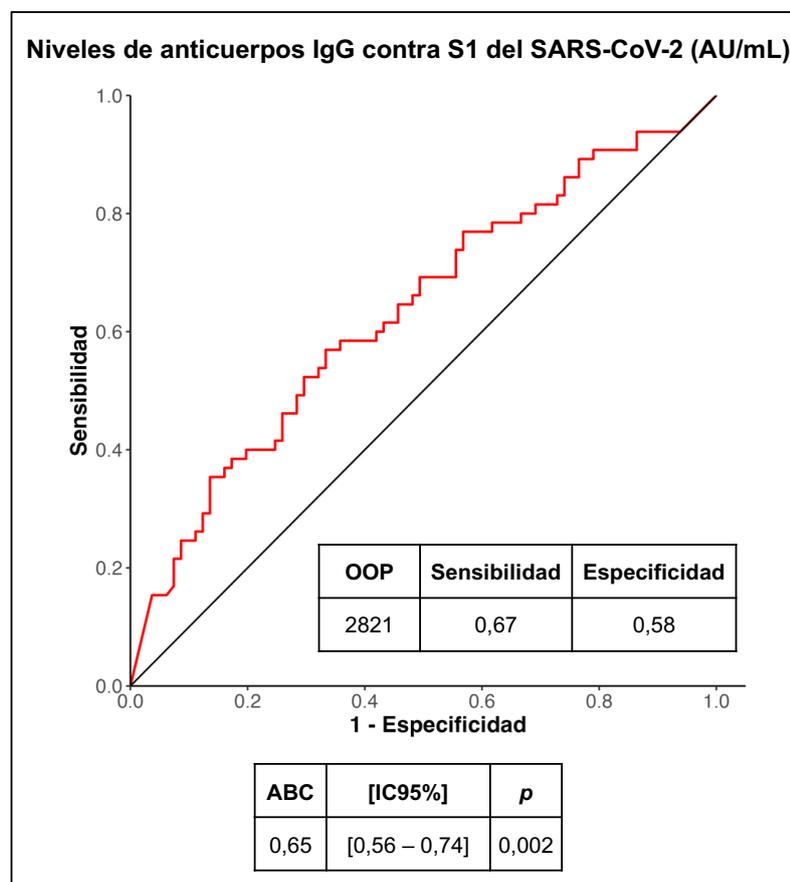


Figura 30. El área bajo la curva (ABC) se utiliza para evaluar la precisión de los niveles de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 S1 en plasma para predecir la ausencia de hospitalización tras el ingreso en Urgencias.

Abreviaturas: AU, unidades arbitrarias; OOP, punto de corte óptimo de la ABC.

Además, en este modelo se testaron también antecedentes personales y datos clínicos al reclutamiento de los pacientes (**Tabla 19**). Los datos mostraron que el aumento en la edad de los pacientes incrementaba el riesgo de ingreso en el hospital 1,06 veces ($p \leq 0,001$). El

sexo masculino tiene 2,35 veces más probabilidad de hospitalización que el sexo femenino ($p = 0,012$). Además, las personas institucionalizadas en residencias presentaban una probabilidad 5,54 veces mayor de hospitalizar. El aumento de cada punto en el índice de comorbilidades de Charlson incrementaba 2,55 veces la probabilidad de ingreso. También, el aumento en cada punto del NEWS calculado a la llegada al hospital también aumentaba el riesgo de hospitalización (OR [IC 95%], $p: 1,65, [1,40 - 1,95], p \leq 0,001$) (**Tabla 19**). Por último, el resto de las variables mostradas en la **Tabla 19**, no tuvieron una influencia significativa en el riesgo de hospitalización.

	Univariante (N=146)		
	OR	[IC 95%]	p-valor
Edad (años)	1,06	[1,04-1,09]	$\leq 0,001$
Sexo (masculino)	2,35	[1,19-4,62]	0,013
Institucionalizado en residencia	5,54	[1,69-18,17]	0,005
Índice de Comorbilidad de Charlson*	2,55	[1,77-3,68]	$\leq 0,001$
COVID-19 previo	0,97	[0,32-2,95]	n.s.
Vacunación (≥ 2 dosis)	0,45	[0,19-1,04]	n.s.
NEWS	1,65	[1,40-1,95]	$\leq 0,001$
Escala de Glasgow	0,54	[0,19-1,51]	n.s.
Anti-SARS-CoV-2 N IgG (AU/mL)	0,96	[0,81-1,14]	n.s.
Test rápido de antígeno N (+) en plasma	7,91	[3,23-19,36]	$\leq 0,001$
Anti-SARS-CoV-2 S1 IgG (< 2821 AU/mL)	2,15	[1,10-4,23]	0,026

Tabla 19. Análisis de regresión logística multivariables para predecir la hospitalización durante dos o más días.

Abreviaturas: n.s., no significativo; p-valor, nivel de significación.

*Índice de Comorbilidad de Charlson sin edad.

En un segundo paso, se realizó un modelo multivariante que demostró que presentar niveles de IgG anti-S1 por debajo de 2821 AU/mL o antígeno N en plasma aumentaban la probabilidad de hospitalización de manera significativa en los pacientes con COVID-19 que llegaban a las Urgencias hospitalarias de manera independiente a las variables de ajuste incluidas en el análisis (**Tabla 20**).

Las variables de ajuste seleccionadas para este análisis multivariante fueron: [Edad], [Sexo], [Paciente Institucionalizado], [Índice de Charlson sin edad], [Vacunación con al menos 2 dosis], [NEWS] y [Anticuerpos contra la proteína N del SARS-CoV-2]. Así pues, el hecho de

tener niveles bajos de anti-SARS-CoV-2 S1 al ingreso en Urgencias multiplica por tres la probabilidad de hospitalización de manera significativa en estos pacientes. Por su parte, presentar test de antígeno N positivo en plasma también multiplica por cuatro la probabilidad de hospitalización (**Tabla 20**).

Además, se observó como la edad y el NEWS aumentan la probabilidad de hospitalización en ambos modelos, pero en menor medida que las dos variables principales ([Anti-SARS-CoV-2 S1 IgG (< 2821 AU/mL)] y [Test rápido de antígeno N (+) en plasma]) (**Tabla 20**).

	Multivariable (N=146)			Multivariable (N=146)		
	OR	[IC 95%]	p-valor	OR	[IC 95%]	p-valor
Edad (años)	1,03	[1,01-1,06]	0,014	1,05	[1,02-1,08]	0,002
Sexo (masculino)	1,31	[0,48-3,52]	n.s.	1,33	[0,49-3,61]	n.s.
Institucionalizado en residencia	0,63	[0,10-3,92]	n.s.	0,75	[0,12-4,54]	n.s.
Índice de Comorbilidad de Charlson*	1,50	[0,94-2,39]	n.s.	1,85	[1,10-3,12]	0,021
Vacunación (≥ 2 dosis)	0,76	[0,19-3,00]	n.s.	0,68	[0,19-2,47]	n.s.
NEWS	1,41	[1,17-1,70]	≤ 0,001	1,36	[1,13-1,64]	≤ 0,001
Anti-SARS-CoV-2 N IgG (AU/mL)	0,90	[0,70-1,17]	n.s.	0,90	[0,69-1,18]	n.s.
Test rápido de antígeno N (+) en plasma	4,19	[1,19-14,72]	0,025			
Anti-SARS-CoV-2 S1 IgG (< 2821 AU/mL)				3,70	[1,18-11,58]	0,025

Tabla 20. Análisis de regresión logística multivariables para predecir la hospitalización durante dos o más días.

Abreviaturas: n.s., no significativo; p-valor, nivel de significación.

*Índice de Comorbilidad de Charlson sin edad.

En base a estos resultados, se decidió construir tres variables categóricas dependiendo de la presencia o ausencia de antígeno N y del nivel de anticuerpos:

- 1) Grupo de pacientes con antígeno N negativo y con títulos de anticuerpos mayor o igual a 2821 AU/mL, denominado como: [N·Ag (-) y Anti-S1 alto].
- 2) Grupo de pacientes con antígeno N positivo o títulos de anticuerpos menor de 2821 AU/mL, denominado como: [N·Ag (+) o Anti-S1 bajo].
- 3) Grupo de pacientes con ambos marcadores, antígeno N positivo y títulos de anticuerpos menor de 2821 AU/mL, denominado como: [N·Ag (+) y Anti-S1 bajo].

5.2.3. Análisis descriptivo por grupo de pacientes

De los 146 pacientes incluidos en el estudio con infección por SARS-CoV-2, 71 (48%) pertenecían a [N·Ag (-) y Anti-S1 alto], 52 pacientes (36%) pertenecían a [N·Ag (+) o Anti-S1 bajo], y 23 (16%) a [N·Ag (+) y Anti-S1 bajo] (**Figura 31**).

En las **Tablas 21** y **22** se muestran los resultados descriptivos de la población estudiada respecto a las variables demográficas, clínicas y analíticas.

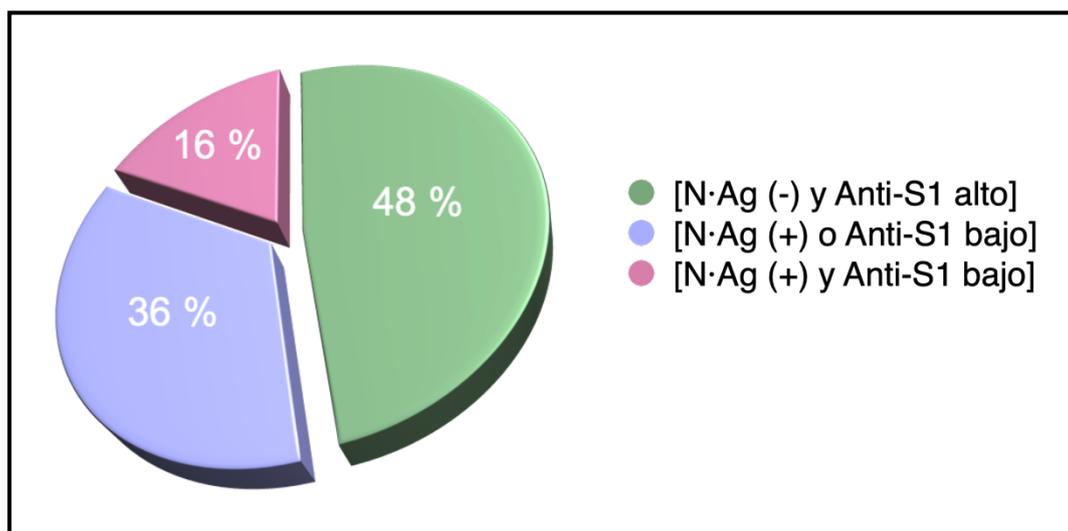


Figura 31. Porcentaje de los pacientes por grupos.

En la **Tabla 21** se puede observar que los tres grupos de pacientes eran similares en cuanto a edad y sexo. La mediana de la edad fue mayor en el grupo [N·Ag (+) y Anti-S1 bajo], 73 años. La distribución por sexo también fue similar sin presentar diferencias significativas entre los grupos, aunque el porcentaje de pacientes del sexo masculino aumentaba desde el grupo [N·Ag (-) y Anti-S1 alto] (41%) hasta el grupo [N·Ag (+) y Anti-S1 bajo] en el que alcanza un 61%.

	N·Ag (-) y Anti-S1 alto (0)	N·Ag (+) o Anti-S1 bajo (1)	N·Ag (+) y Anti-S1 bajo (2)	p-valor (0-1)	p-valor (0-2)	p-valor (1-2)
Nº [n (%)]	71 (48,60)	52 (35,60)	23 (15,80)			
Características						
Edad (años) [mediana (RIC)]	56 (36,00)	51 (35,00)	73 (25,00)	n.s.	n.s.	n.s.
Sexo (masculino) [n (%)]	29 (40,80)	27 (51,90)	14 (60,90)	n.s.	n.s.	n.s.
Antecedentes [n (%)]						
Paciente institucionalizado	11 (15,50)	2 (3,80)	3 (13,0)	0,038	n.s.	n.s.
Infarto de miocardio	1 (1,40)	1 (1,90)	0 (0,00)	n.s.	n.s.	n.s.
Insuficiencia cardiaca	10 (14,10)	9 (17,3)	3 (13,00)	n.s.	n.s.	n.s.
Enfermedad arterial periférica	5 (7,00)	3 (5,80)	2 (8,70)	n.s.	n.s.	n.s.
Enfermedad cerebrovascular	5 (7,00)	3 (5,80)	2 (8,70)	n.s.	n.s.	n.s.
Demencia	11 (15,50)	5 (9,60)	2 (8,70)	n.s.	n.s.	n.s.
Enfermedad pulmonar crónica	13 (18,30)	11 (21,20)	8 (34,80)	n.s.	n.s.	n.s.
EPOC	3 (4,20)	4 (7,70)	3 (13,00)	n.s.	n.s.	n.s.
Enfermedad hepática crónica	2 (2,80)	0 (0,00)	2 (8,70)	n.s.	n.s.	0,031
Diabetes Mellitus	11 (15,50)	7 (13,50)	5 (21,70)	n.s.	n.s.	n.s.
Enfermedad renal crónica	5 (7,00)	0 (0,00)	1 (4,30)	n.s.	n.s.	n.s.
Hipertensión	18 (25,40)	9 (17,30)	9 (39,1)	n.s.	n.s.	0,041
Dislipidemia	17 (23,90)	5 (9,60)	5 (21,70)	0,041	n.s.	n.s.
Neoplasia activa	0 (0,00)	0 (0,00)	4 (17,40)	n.s.	≤0,001	0,002
COVID-19 previo	11 (15,50)	2 (3,80)	3 (4,00)	0,038	n.s.	n.s.
Vacunación (≥ 2 dosis)	67 (94,40)	41 (78,80)	11 (47,80)	0,009	≤0,001	0,007

Tabla 21. Análisis descriptivo de las variables clínicas y analíticas de los pacientes ingresados en Urgencias. Comparativa entre las tres categorías de pacientes.

Abreviaturas: n.s., no significativo; p-valor, p-valor, nivel de significación; EPOC, enfermedad pulmonar obstructiva crónica; COVID-19, enfermedad por coronavirus-2019; Anti-S1 bajo significa < 2821 AU/mL; anti-S1 alto significa ≥ 2821 AU/ml.

Entre los antecedentes personales de los pacientes, la presencia de hepatopatía crónica e hipertensión fue significativamente más frecuente en el grupo [N·Ag (+) y Anti-S1 bajo] en comparación con los pacientes que pertenecían al grupo [N·Ag (+) o Anti-S1 bajo]. Además, la prevalencia de neoplasia activa fue más alta en el grupo [N·Ag (+) y Anti-S1 bajo], concentrándose todos los pacientes que la padecían en este último (**Tabla 21**).

En cuanto a los antecedentes en relación con el SARS-COV-2, la mayoría de los pacientes que había padecido COVID-19 previamente se concentraban en el grupo [N·Ag (-) y Anti-S1 alto] (15,5% en este grupo vs. 3,80% y 4% en [N·Ag (+) o Anti-S1 bajo] y [N·Ag (+) y Anti-S1 bajo], respectivamente). Además, los pacientes del grupo [N·Ag (-) y Anti-S1 alto] habían recibido con mayor frecuencia al menos dos dosis de la vacuna contra el SARS-CoV-2 (94,40%). Por el contrario, menos de la mitad de los pacientes del grupo [N·Ag (+) y Anti-S1 bajo] habían recibido al menos dos dosis de la vacuna, observándose diferencias significativas entre los tres grupos (**Tabla 21**).

Como se muestra en la **Figura 32**, el 61% de los pacientes del grupo [N-Ag (+) y Anti-S1 bajo] presentaban infiltrados pulmonares bilaterales, en contraste con el 23% de los pacientes del grupo [N-Ag (+) o Anti-S1 bajo] y el 10% de los pacientes del grupo [N-Ag (-) y Anti-S1 alto].

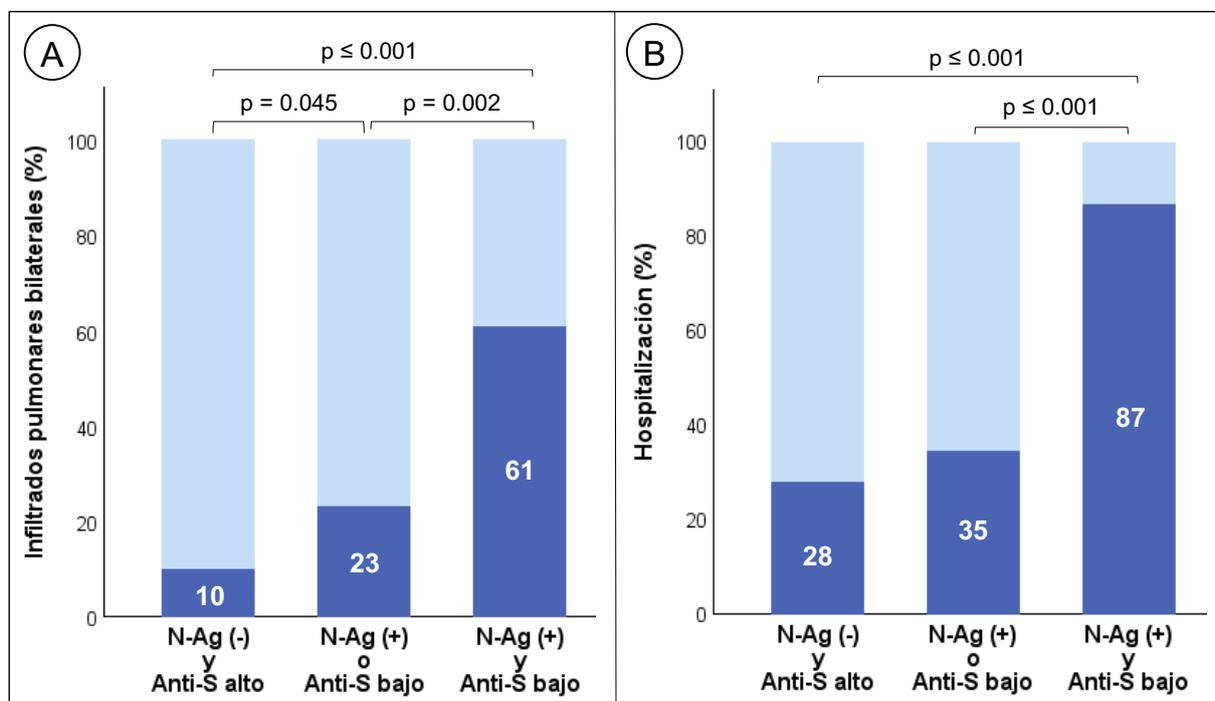


Figura 32. Frecuencia de infiltrados bilaterales en la radiografía de tórax (A) y hospitalización (B) en función de la presencia/ausencia de una prueba rápida de antígeno N positiva y/o niveles altos o bajos de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 S1.

Los pacientes del grupo [N-Ag (+) y Anti-S1 bajo] mostraron puntuaciones en las escalas de gravedad como el NEWS e Índice de Charlson significativamente más altas que los pacientes de los otros dos grupos a su llegada a Urgencias (**Tabla 22**).

Con relación al tiempo de estancia hospitalaria, los pacientes de la categoría [N-Ag (+) y Anti-S1 bajo] tuvieron una estancia significativamente más larga (7 días; RIC: 9 días) que las otras dos categorías (0 días; RIC: 3,50 días; $p \leq 0,001$; en ambos casos). Además, los pacientes del grupo [N-Ag (+) y Anti-S1 bajo] precisaron de oxigenoterapia más frecuentemente (60,90% vs. 32,70%, $p = 0,022$; 60,90% vs. 19,70%, $p \leq 0,001$) (**Tabla 22**).

A su vez, la gran mayoría de los pacientes del grupo [N-Ag (+) y Anti-S1 bajo] necesitaron hospitalización (87%), mientras que sólo el 35% y el 28% la necesitaron en los grupos [N-Ag (+) o Anti-S1 bajo] y [N-Ag (-) y Anti-S1 alto] respectivamente (**Tabla 22 y Figura 32**). Del mismo modo, los pacientes del grupo [N-Ag (+) y Anti-S1 bajo] mostraron la mayor mortalidad (30%) (**Tabla 22 y Figura 33**).

En relación con las variables analíticas de los pacientes a su llegada a Urgencias, no destacaban diferencias significativas entre los grupos. Por otro lado, si existían diferencias significativas en el título de anticuerpos contra la proteína N del SARS-CoV-2 entre el grupo [N-Ag (-) y Anti-S1 alto] y los otros dos (**Tabla 22**).

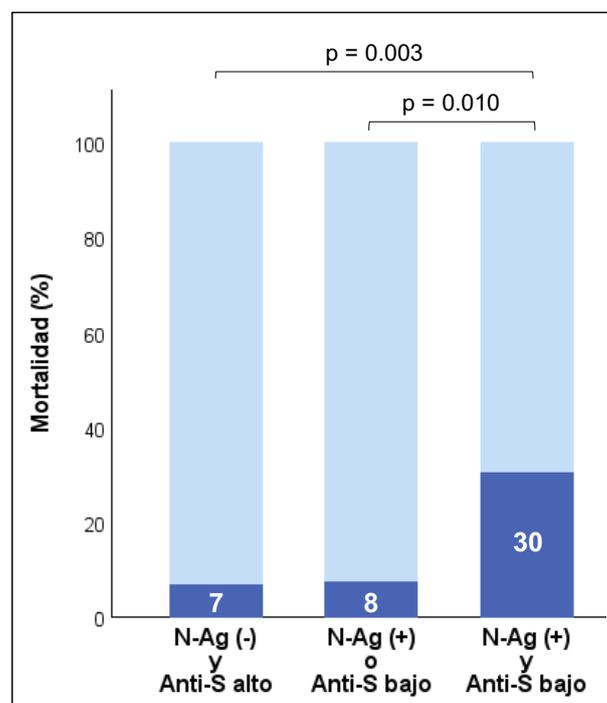


Figura 33. Frecuencia de la mortalidad en función de la presencia/ausencia de una prueba rápida de antígeno N positiva y/o niveles altos o bajos de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 S1.

	N·Ag (- y Anti-S1 alto (0)	N·Ag (+ o Anti-S1 bajo (1)	N·Ag (+ y Anti-S1 bajo (2)	p- valor (0-1)	p- valor (0-2)	p- valor (1-2)
Nº [n (%)]	71 (48,60)	52 (35,60)	23 (15,80)			
Nivel de gravedad						
Índice de Comorbilidad de Charlson* [mediana (RIC)]	2 (6,00)	0 (1,00)	1 (2,00)	n.s.	0,045	0,013
Escala de Glasgow [mediana (RIC)]	15 (0,00)	15 (0,00)	15 (0,00)	n.s.	n.s.	n.s.
NEWS [mediana (RIC)]	2 (3,00)	2,50 (6,00)	5 (6,00)	n.s.	≤0,001	0,022
Complicaciones/Desenlace						
Estancia hospitalaria de ≥ 2 días [n (%)]	20 (28,20)	18 (34,60)	20 (87,00)	n.s.	≤0,001	≤0,001
Estancia hospital [mediana RIC]	0 (2,00)	0 (3,50)	7 (9,00)	n.s.	≤0,001	≤0,001
Mortalidad hospitalaria [n (%)]	5 (7,00)	4 (7,70)	7 (30,40)	n.s.	0,003	0,010
Mediciones al ingreso en Urgencias						
Temperatura (°C) [mediana (RIC)]	35,90 (0,90)	36,00 (1,00)	35,70 (1,50)	n.s.	n.s.	n.s.
Presión arterial media (mmHg) [mediana (RIC)]	91 (20,00)	88,50 (20,00)	82,50 (28,00)	n.s.	n.s.	n.s.
Frecuencia respiratoria (respiraciones por min) [mediana (RIC)]	15,00 (1,00)	15,00 (7,00)	15,00 (8,00)	n.s.	n.s.	n.s.
Frecuencia cardiaca (latidos por min) [mediana (RIC)]	88,00 (23,00)	85,00 (29,00)	88,00 (22,00)	n.s.	n.s.	n.s.
SpO2/FIO2 ratio [mediana (RIC)]	466,67 (23,81)	464,28 (27,38)	457,14 (54,76)	n.s.	n.s.	n.s.
Necesidad de oxigenoterapia [n (%)]	14 (19,70)	17 (32,70)	14 (60,90)	n.s.	≤0,001	0,022
Infiltrados pulmonares bilaterales [n (%)]	7 (9,90)	12 (23,10)	14 (60,90)	0,045	≤0,001	0,002
Test rápido de antígeno N (+) [n (%)]	0 (0,00)	10 (19,6)	23 (100,00)	≤0,001	≤0,001	≤0,001
Anti-SARS-CoV-2 N IgG (AU/mL) [mediana (RIC)]	0,10 (0,82)	0,03 (0,13)	0,04 (0,16)	0,013	0,026	n.s.
Anti-SARS-CoV-2 S1 IgG (AU/mL) [mediana (RIC)]	14638,00 (19614,30)	901,20 (2622,80)	1,70 (375,10)	≤0,001	≤0,001	0,031
< 2821 AU/mL Anti-SARS-CoV-2 S1 IgG [n (%)]	0 (0,00)	41 (78,8)	23 (100,00)	≤0,001	≤0,001	0,017

Tabla 22. Continuación del análisis descriptivo de las variables clínicas y analíticas de los pacientes ingresados en Urgencias. Comparativa entre las tres categorías de pacientes.

Abreviaturas: n.s., no significativo; .p-valor, nivel de significación; NEWS, "National Early Warning Score"; SpO2/FIO2, saturación de oxígeno/fracción de oxígeno inspirado. Anti-S1 bajo significa < 2821 AU/mL; anti-S1 alto significa ≥ 2821 AU/mL. *Índice de Comorbilidad de Charlson sin edad.

5.2.4. Asociación de los grupos de pacientes con el riesgo de hospitalización

Teniendo como objetivo conocer la influencia de la presencia simultánea de una prueba positiva de antígeno N y bajos niveles de anticuerpos en el riesgo de hospitalización, se realizó un modelo de regresión logística multivariante. Las variables seleccionadas como ajuste del modelo fueron [Edad], [Sexo], [Paciente Institucionalizado], [Índice de Charlson sin edad], [Vacunación don al menos 2 dosis], [NEWS] y [Anticuerpos contra la proteína N del SARS-CoV-2] (**Tabla 23**)

	Univariable (N=146)			Multivariable (N=146)		
	OR	[IC 95%]	p-valor	OR	[IC 95%]	p-valor
Edad (años)	1,06	[1,04-1,09]	≤0,001	1,04	[1,01-1,07]	0,007
Sexo (masculino)	2,35	[1,19-4,62]	0,013	1,03	[0,35-3,00]	n.s.
Institucionalizado en residencia	5,54	[1,69-18,17]	0,005	0,51	[0,08-3,25]	n.s.
Índice de Comorbilidad de Charlson*	2,55	[1,77-3,68]	≤0,001	1,67	[0,99-2,81]	n.s.
Vacunación (≥ 2 dosis)	0,45	[0,19-1,04]	0,062	1,18	[0,25-5,59]	n.s.
NEWS	1,65	[1,40-1,95]	≤0,001	1,41	[1,16-1,72]	≤ 0,001
Anti-SARS-CoV-2 N IgG (AU/mL)	0,96	[0,81-1,14]	0,646	0,92	[0,70-1,21]	n.s.
Combinación del test rápido de antígeno N en plasma con las IgG anti-SARS CoV-2 S1						
N·Ag (-) y Anti-S1 alto	1(Ref)			1(Ref)		
N·Ag (+) o Anti-S1 bajo	1,35	[0,62-2,92]	0,445	1,66	[0,49-5,68]	n.s.
N·Ag (+) y Anti-S1 bajo	17,00	[4,55-63,58]	≤0,001	18,21	[2,74-121,18]	0,003

Tabla 23. Análisis de regresión logística univariante y multivariante para predecir la hospitalización durante dos o más días.

Abreviaturas: n.s., no significativo; p-valor, nivel de significación.

Notas: Anti-S1 bajo significa < 2821 AU/mL; Anti-S1 alto significa ≥ 2821 AU/mL. *Índice de comorbilidad de Charlson sin edad.

Los datos obtenidos en el análisis de regresión multivariante revelaron que los pacientes que acudían a Urgencias con una prueba rápida de antígeno N positiva en plasma y niveles de anticuerpos IgG contra la proteína S1 del SARS-CoV-2 por debajo de 2821 AU/mL presentaban un mayor riesgo de hospitalización, de manera independiente a las variables de ajuste (OR [IC 95%]; p-valor: 18,21 [2,74-121,18]; 0,003). Por el contrario, presentar únicamente N-antigenemia, o niveles bajos de anticuerpos no se asociaba de manera significativa con el riesgo de hospitalización (**Tabla 23**).

También se observó como el aumento en el NEWS y la edad se asociaba con el riesgo de hospitalización, pero con una odds ratio menor que las nombradas anteriormente (**Tabla 23**).

5.2.5. Asociación de los grupos de pacientes con la presencia de infiltrados bilaterales

Además, estudiamos si la presencia simultánea de una prueba positiva de antígeno N y bajos niveles de anticuerpos se asociaban también con la presencia de infiltrados bilaterales en las pruebas de rayos X. Para ello realizamos un análisis de regresión logística binaria multivariante secundario, donde las variables de ajuste fueron [Edad], [Índice de Charlson sin edad], [Vacunación don al menos 2 dosis] y [NEWS] (**Tabla 24**).

	Univariable (N=146)			Multivariable (N=146)		
	OR	[IC 95%]	p-valor	OR	[IC 95%]	p-valor
Edad (años)	1,03	[1,01-1,06]	≤0,001	1,01	[0,98-1,04]	n.s.
Índice de Comorbilidad de Charlson*	1,38	[1,06-1,80]	0,015	0,71	[0,43-1,11]	n.s.
Vacunación (≥ 2 dosis)	0,21	[0,09-0,53]	≤0,001	0,56	[0,14-2,27]	n.s.
NEWS	1,53	[1,33-1,79]	≤0,001	1,61	[1,31-2,06]	≤0,001
Combinación del test rápido de antígeno N en plasma con las IgG anti-SARS CoV-2 S1						
N·Ag (-) y Anti-S1 alto	1(Ref)			1(Ref)		
N·Ag (+) o Anti-S1 bajo	2,74	[1,02-7,92]	0,051	2,00	[0,58-7,30]	n.s.
N·Ag (+) y Anti-S1 bajo	14,22	[4,72-47,53]	≤0,001	9,31	[2,13-46,22]	0,004

Tabla 24. Análisis de regresión logística univariante y multivariante para predecir presencia de infiltrados bilaterales.

Abreviaturas: n.s., no significativo; p-valor, nivel de significación.

Anti-S1 bajo significa < 2821 AU/mL; Anti-S1 alto significa ≥ 2821 AU/mL. *Índice de comorbilidad de Charlson sin edad.

El análisis de regresión logística multivariante mostró que en aquellos pacientes con un test de antígeno N positivo y bajos niveles de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 S1 presentaban una probabilidad de presentar infiltrados pulmonares bilaterales nueve veces mayor que aquellos que tenían un test de antígenos negativo y altos títulos de anticuerpos (OR [IC 95%]; p-valor: 19,31 [2,23 - 46,22]; 0,004). Además, al igual que ocurría en el riesgo de hospitalización, la presencia de una prueba de antígeno positiva en plasma o los niveles por

debajo de 2821UA/mL no se encontraba asociado con la presencia de infiltrados bilaterales (**Tabla 24**).

Por otro lado, el aumento en el NEWS calculado a la llegada de las Urgencias hospitalarias aumentaba la probabilidad de presentar infiltrados bilaterales, pero con una odds ratio menor a las variables de los grupos (**Tabla 24**).

5.2.6. Análisis de supervivencia a 28 días desde la admisión en las Urgencias hospitalarias.

Con el objetivo de evaluar la asociación entre la presencia simultánea del positivo de antígeno N y los niveles bajos de anticuerpos con mortalidad hospitalaria a 28 días, se realizó un análisis de supervivencia.

En el análisis de regresión de Cox se incluyeron variables demográficas, antecedentes personales y datos clínicos al reclutamiento de los pacientes en un modelo univariante, y se seleccionaron aquellas con un $p < 0,1$ como variables de ajuste para el modelo multivariante ([Edad], [Paciente Institucionalizado], [Índice de Charlson sin edad], [Vacunación don al menos 2 dosis], [NEWS], [Escala de Glasgow] y [Anticuerpos contra la proteína N del SARS-CoV-2]) (**Tabla 25**).

Los datos del análisis multivariante demostraron que aquellos pacientes que presentaban una prueba positiva de antígeno N en plasma y los niveles de anticuerpos por debajo de 2821 AU/mL a la llegada a Urgencias mostraban un mayor riesgo de mortalidad a 28 días que aquellos pacientes que no presentaban ninguna de estas dos condiciones (HR [95%]; p : 7,51 [2,62-34,76]; 0,010). Por otro lado, no se observó diferencias significativas entre los pacientes que solo presentaron una de las dos condiciones con aquellos que no tenían ninguna de las dos condiciones (**Tabla 25**).

Además, en la **Tabla 25** se observa que también eran factores independientes asociados a la mortalidad a 28 días: la edad que, por cada año más anciano, el riesgo de mortalidad a los 28 días incrementaba 1,06 veces ($p = 0,038$); el NEWS, que cada punto en la escala aumentaba el riesgo de mortalidad 1,42 veces ($p = 0,003$); y el nivel de anticuerpos contra la proteína N del SARS-COV-2 que, al aumentar, incrementaba 1,42 veces la probabilidad de morir ($p \leq 0,001$).

	Univariable (N=146)			Multivariable (N=146)		
	HR	[IC 95%]	p-valor	HR	[IC 95%]	p-valor
Edad (años)	1,06	[1,03-1,10]	≤0,001	1,06	[1,01-1,11]	0,038
Institucionalizado en residencia	5,86	[2,12-16,16]	≤0,001	1,08	[0,24-4,97]	n.s.
Índice de Comorbilidad de Charlson*	1,64	[1,29-2,09]	≤0,001	1,12	[0,79-1,60]	n.s.
NEWS	1,55	[1,31-1,83]	≤0,001	1,42	[1,12-1,79]	0,003
Escala de Glasgow	0,68	[0,57-0,81]	≤0,001	0,76	[0,60-0,98]	0,031
Anti-SARS-CoV-2 N IgG (AU/mL)	1,21	[1,05-1,40]	0,009	1,42	[1,19-1,71]	≤0,001
Combinación del test rápido de antígeno N en plasma con las IgG anti-SARS CoV-2 S1						
N·Ag (-) y Anti-S1 alto	1(Ref)			1(Ref)		
N·Ag (+) o Anti-S1 bajo	1,09	[0,29-4,06]	0,897	1,56	[0,35-7,01]	n.s.
N·Ag (+) y Anti-S1 bajo	4,70	[1,49-14,82]	0,008	7,51	[1,62-34,76]	0,010

Tabla 25. Análisis de regresión de COX univariante y multivariante para predecir mortalidad hospitalaria a 28 días.

Abreviaturas: n.s., no significativo; p-valor, nivel de significación.

Nota: Anti-S1 bajo significa < 2821 AU/mL; Anti-S1 alto significa ≥ 2821 AU/mL.

*Índice de comorbilidad de Charlson sin edad. HR: Hazard ratio

Por otro lado, la reducción en la puntuación de la escala de Glasgow de alteración en el nivel de conciencia a la llegada a las Urgencias hospitalarias aumentaba la probabilidad de mortalidad a 28 días de los pacientes infectados por SARS-CoV-2 (HR [95%], p: 0,76 [0,60-0,98]; p = 0,031) (**Tabla 25**).

La **Figura 34** representa la probabilidad de supervivencia de los pacientes diagnosticados de SARS-CoV-2 a los 28 días en función de los 3 grupos de pacientes.

El tiempo medio de supervivencia para los pacientes que a la llegada a Urgencias presentaron antígeno N en plasma y bajos títulos de anticuerpos contra el SARS-CoV-1 fue de 23,01 días frente a los 26,5 días de media que sobrevivieron los otros dos grupos de pacientes. Los pacientes con la presencia de las dos condiciones tuvieron una disminución significativa del tiempo medio de supervivencia de 3 días (p = 0,004) (**Figura 34** y **Tabla 26**).

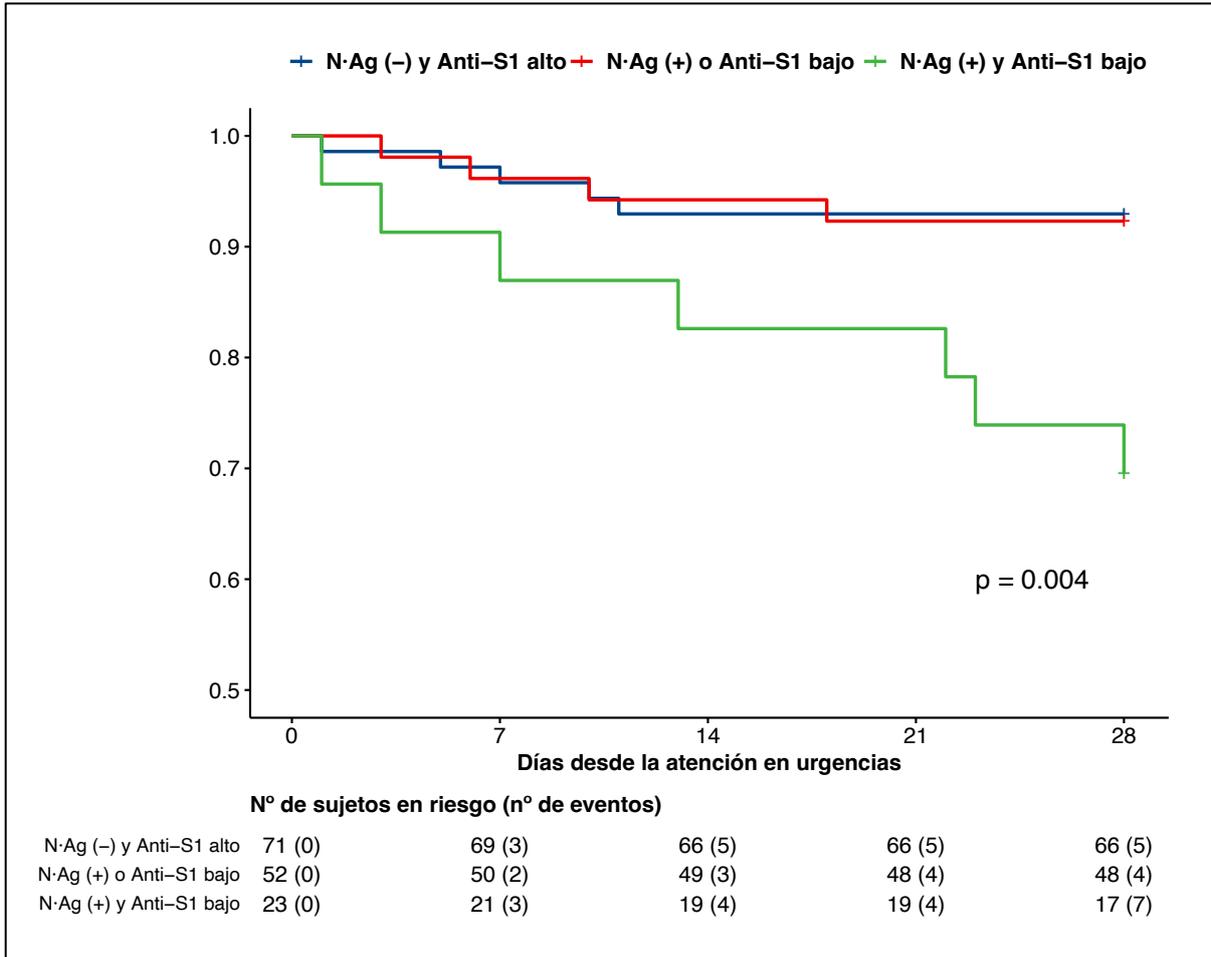


Figura 34. Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier según la presencia/ausencia de una prueba rápida de antígeno N positiva y/o niveles altos o bajos de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 S1.

	Estimación (días)	Error típico	[IC 95%]	p-valor
N·Ag (-) y Anti-S1 alto	26,51	0,65	[25,22-27,79]	
N·Ag (+) o Anti-S1 bajo	26,56	0,72	[25,13-27,98]	0,004
N·Ag (+) y Anti-S1 bajo	23,01	1,91	[19,95-27,44]	

Tabla 26. Datos del Análisis Kaplan Meier para la disminución de días de supervivencia según la presencia/ausencia de una prueba rápida de antígeno N positiva y/o niveles altos o bajos de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 S1

Abreviaturas: p-valor, nivel de significación.

6. DISCUSIÓN

Las enfermedades infecciosas son una de las mayores causas de mortalidad en el mundo. Desde hace varios años las investigaciones en torno a la identificación de biomarcadores que pudieran implementarse en la práctica clínica no han tenido los resultados esperados, ya que no se ha encontrado hasta la fecha ningún biomarcador ideal para el diagnóstico o pronóstico de estas enfermedades. Esto se debe a la complejidad y heterogeneidad de cada una de las infecciones, que provocan múltiples alteraciones en el organismo hospedador.

Los resultados que se presentan en este trabajo muestran como la utilización combinada de marcadores puede ser una ayuda de diagnóstico precoz y pronóstico, ayudando así a identificar con la suficiente precocidad a los pacientes con infección que no van a tener una buena evolución, estratificando su gravedad y pudiendo implementar las medidas terapéuticas pertinentes lo antes posible.

6.1. COMBINACIÓN DE BIOMARCADORES EN EL CONTINUO DESDE LA INFECCIÓN A LA SEPSIS

6.1.1. Importancia de la evaluación del fallo de órgano en el continuo de la infección a la Sepsis

El continuo que existe desde una infección localizada hasta la sepsis, y al shock séptico, es un proceso dinámico que va desde una respuesta inmune localizada en el foco de la infección hasta una respuesta sistémica descontrolada y exacerbada que puede derivar en disfunción de órgano y muerte. Identificar el fallo de órgano en las primeras etapas de la infección es importante para intervenir de manera precoz y reducir la evolución de sepsis y con ello la mortalidad asociada a esta patología. Sin embargo, la variabilidad de este proceso junto con las diferentes manifestaciones clínicas que se dan dificulta el manejo de este tipo de paciente.

Además, el fallo de órgano se convirtió desde 2016 en un evento definitorio de la sepsis, producido en consecuencia de una respuesta desregulada del huésped a la infección. La identificación de la presencia de fallo de órgano de una cierta gravedad es mandatorio para diferenciar la sepsis de una infección. Por ello el desafío hoy en día es la identificación precoz de aquellos pacientes que se encuentran en ese proceso de transición desde una infección leve a sepsis, donde a pesar de no presentar todavía signos de disfunción orgánica o los cuales son muy sutiles, tienen un gran riesgo de una evolución desfavorable. Este estadio de

la evolución fue denominado por Bermejo-Martin y cols. como “Pre-sepsis”²³⁹. Esta “Pre-sepsis” podría ser identificada ya que como se observó en una revisión realizada por Flannery y cols., en torno al 32,7% de los pacientes con sepsis habían acudido al sistema sanitario durante la semana previa a su hospitalización por sepsis, observándose como esas visitas eran más frecuentes a medida que se acercaban al día del ingreso. En este estudio, en el 43% de los encuentros prehospitalarios, el clínico no sospecho la presencia de una infección. Además, fue en estos pacientes donde se observó una mayor mortalidad en su posterior hospitalización por sepsis¹⁰⁸.

Tradicionalmente esta evaluación del fallo de órgano se realiza con parámetros clínicos como la escala SOFA. El valor de referencia de la escala SOFA es de 0 puntos para aquellos pacientes que no presentaban ningún fallo de órgano preexistente. Un aumento de dos puntos o más es el evento definitorio de sepsis y se ha asociado con una mortalidad hospitalaria del 10%^{3,369}. Sin embargo, su aplicación puede ser limitada en ciertos entornos como países de bajos o medios ingresos e incluso en ciertos servicios sanitarios como son los SUHs o los servicios de atención primaria, debido a la complejidad de calcular alguno de sus componentes por la falta de acceso inmediato a ciertas variables clínicas y analíticas. Además, Aublanc y Richard también han planteado las limitaciones de la escala SOFA para evaluar e identificar la respuesta desregulada a la infección que es el punto clave de la definición de sepsis³⁷⁰.

En este sentido, los biomarcadores han surgido como herramientas clave en la infección para el manejo de estos pacientes. En la práctica clínica diaria existen algunos biomarcadores clásicos como la procalcitonina y la proteína C reactiva. Sin embargo, en la literatura hay múltiples investigaciones en torno a los marcadores en la infección y la sepsis enfocadas la mayoría en el diagnóstico de la sepsis o de shock séptico, predicción de complicaciones o de mortalidad en estos pacientes²³⁴. Por ello es necesario evaluar biomarcadores que nos ayuden a estratificar el fallo de órgano de una manera objetiva que pueden medirse en todos los servicios hospitalarios y que nos ayuden a adelantarnos a la presencia de sepsis.

Además, la evaluación de fallo de órgano no solo tiene implicaciones diagnósticas o de estratificación de la gravedad, sino que también es un pilar para la implementación de intervenciones terapéuticas oportunas y puede ayudar a optimizar los recursos disponibles priorizando a aquellos pacientes con más probabilidad de progresar a sepsis o shock séptico.

Todo esto apoya la idea de mejorar los resultados de la sepsis a través de una identificación, triaje y tratamientos más tempranos y evidencia la necesidad de contar con herramientas que proporcionen información rápida, fiable y objetiva sobre el paciente teniendo en cuenta que la evolución de la infección a la sepsis es un continuo dinámico que requiere de monitorización constante y de una herramienta que se adapte a sus variaciones.

6.1.2. Descripción de la población a estudio

En este estudio retrospectivo multicéntrico realizado con pacientes quirúrgicos, el 77,7% de los mismos presentaban una infección. El resto, eran pacientes postoperatorios que presentaban cierto grado de inflamación a consecuencia de la cirugía. Un planteamiento similar presentaba Almansa y cols. donde diferenciaba los pacientes infectados con sepsis (65,6%) de los pacientes postoperatorios³⁷¹. La comparación de este estudio con otras cohortes es complicada ya que es pionero al estudiar el continuo que va desde una infección leve hasta el shock séptico.

El 61,6% de los pacientes con infección, presentaban una infección leve, el 25,6% presentaban sepsis mientras que el 22,8% un shock séptico en el momento del reclutamiento. En el caso de Almansa, el 100% de los pacientes infectados presentaban una sepsis y el 61,39% un shock séptico. Esto se refleja en la escala SOFA que tenía una mediana de 1, siendo esta mediana de 7 en la cohorte de infectados de Almansa y cols. En comparación el estudio de Andrés y cols. presentaba una cohorte con un 17,4 % de los pacientes con una infección leve, 44,1 % con una sepsis y el 38,5 % con shock séptico. Esto se reflejaba en un SOFA sustancialmente elevado de mediana de 6²⁵⁶. La presencia de una infección leve era menos predominante que en nuestro estudio. Por el contrario, el grupo de pacientes quirúrgicos, el cual hemos denominado nIDS, presentaron la misma mediana de SOFA en el estudio de Almansa y cols. y el nuestro.

La edad media de la cohorte en general es de 63 años siendo la misma para el grupo infectado. Sin embargo, en los otros estudios mencionados anteriormente mostraban edades algo más elevadas, siendo esta de mediana de 67 y 72 en los estudios de Andrés y cols. y Almansa y cols. respectivamente, en los pacientes con infección. Además, más de la mitad de la cohorte general y de los grupos individuales eran hombres, concretamente un 68,5% en general y 68,2% en el grupo de infección. En los estudios previos en la literatura el sexo masculino predominaba en pacientes infectados^{256,371}.

Las comorbilidades tienen un papel importante en la infección ya que predisponen al paciente a presentar una sepsis y tienen un papel relevante en la gravedad de la misma. Las comorbilidades más frecuentes en el grupo IDS fueron hipertensión (36,5%), dislipidemia (27,5%), enfermedad cardíaca crónica (23%) y la diabetes mellitus (16,3%), presentando únicamente diferencias significativas con los pacientes nIDS la enfermedad cardíaca crónica. Estos resultados son similares a otras cohortes donde estas comorbilidades son las que más se asocian a los pacientes con infección y sepsis^{256,371}.

El tipo de foco es importante para la evolución en los pacientes con infección. En esta cohorte el foco predominante era el abdominal con el 85,6%, siendo mayoritario en la cohorte de Almansa y cols. y Andrés y cols.^{256,371}. Sin embargo, en la literatura se ha descrito el foco de infección respiratoria como el más frecuente entre los pacientes sépticos. Esto es debido al sesgo de pacientes debido a los servicios hospitalarios que participaron, Anestesia y reanimación y Cirugía general y digestiva. La identificación del foco infeccioso es fundamental para guiar las intervenciones terapéuticas, como el tratamiento antimicrobiano y el control adecuado de la infección. Afortunadamente, en este estudio se logró identificar el foco en el 99,4 % de los casos analizados y el microorganismo se identificó en el 62% de los casos.

Finalmente, 17 pacientes de la cohorte murieron, los cuales pertenecían al grupo IDS. El 26,3% de los pacientes infectados en el estudio de Andrés y cols. fallecieron y este porcentaje en la cohorte de Almansa y cols. fue de 24,75%. En este sentido estas dos cohortes, eran significativamente más graves que la descrita en este trabajo lo que explica el aumento de estos porcentajes.

En resumen, las características de la cohorte en general se asemejan a otros con un planteamiento similar, y específicamente la cohorte de infección mantiene todas las características principales de los pacientes con infección descritos en la literatura a pesar de presentar todo el recorrido desde la infección a la sepsis.

6.1.3. Diagnóstico diferencial de la infección

Respecto a los biomarcadores, en nuestro estudio se encontraron concentraciones significativamente más elevadas en el paciente IDS comparado con el grupo nIDS de marcadores inflamatorios (CRP, PCT, PTX-3, TREM-1, IL-15, IL-6, TNF- α , CXCL-10), de daño endotelial (VCAM-1, ANG2, ANG1), de degranulación del neutrófilo (LCN2 y MPO), de activación de la coagulación (Dímero-D) y de inmunosupresión (IL-10 y PDL-1).

De todos estos marcadores analizados únicamente CRP, PCT, PTX3, LCN2, TNF- α , ANG2, TREM-1 e IL-15 mostraron capacidad predictiva para infección con ABC mayor que 0,75. Como era de esperar, la proteína C reactiva y la procalcitonina eran los marcadores que arrojaban las mejores áreas para identificar a los pacientes con infección.

Resultados similares obtuvieron Almansa y cols. cuando evaluaron el valor de la PCT (ABC [IC95%]; 0,80 [0,73–0,88]) para la identificación de infección en comparación con pacientes quirúrgicos, aunque estos resultados fueron mejorados con el ratio PCT/HLA-DRA (ABC [IC95%]; 0,85 [0,78–0,91])³⁷¹. La PCT en nuestros resultados mostró una ABC de 0,79 con un IC95% entre 0,74 y 0,85.

En el estudio realizado por Reichsoellner y col. reportó ABCs más bajas para diferenciar infección de SIRS en algunos de estos biomarcadores: (ABC [IC95%]) PCT (0,69 [0,61–0,78]); CRP (0,59 [0,49–0,68]) y LCN2 (0,60 [0,51–0,69])³⁷². En contraste, nuestros resultados mostraban valores de ABC superiores a 0,72 para estos biomarcadores.

6.1.4. Impacto de los biomarcadores en el fallo de órgano

Se evaluó la relación entre los 8 biomarcadores (CRP, PCT, PTX3, LCN2, TNF- α , ANG2, TREM-1 e IL-15), y la puntuación en la escala SOFA de disfunción orgánica. Siete biomarcadores (LCN2, ANG2, IL-15, TREM-1, TNF- α , PTX3, PCT) mostraban una asociación significativa directa entre sus niveles plasmáticos y el grado de fallo orgánico causado por una infección. En cambio, aunque la CRP demostró ser útil para identificar el grupo IDS, sus niveles no se asociaron de manera independiente con la puntuación SOFA

Nuestros resultados están en línea con los hallazgos previos en la literatura. La LCN2 mostró correlaciones positivas significativas con la escala SOFA, con coeficientes de correlación (r) que oscilan entre 0,31- 0,23^{373–375}. Por su parte la angiopoyetina 2 presentó valores de r entre 0,26-0,72, todos estadísticamente significativos^{376–379}. Los niveles de TREM-1 soluble también se correlacionaron significativamente con la escala SOFA, con r entre 0,34 y 0,71^{380–383}. Aunque la evidencia sobre la relación entre TNF- α y la escala SOFA es más limitada, Davoudian y cols. encontraron una r significativa de 0,6³⁸⁴. Otros estudios han observado una correlación entre PTX3 y SOFA, con coeficientes de r que varían entre 0,36-0,52^{384–387}. Finalmente, la PCT presentó correlaciones con la escala SOFA en el rango de r entre 0,48-0,77^{373,379,382,388}.

Sin embargo, en el caso de la IL-15 encontramos una cierta controversia en los resultados publicados. Por un lado, Leskin y cols. demuestran una correlación positiva entre IL-15 y el SOFA³⁸⁹, mientras que otros estudios encuentran resultados no significativos³⁹⁰ o cohortes donde se presenta una correlación inversa³⁹¹. La diferencia entre estos dos estudios puede deberse al tamaño muestral y a las características basales de la propia cohorte, así como en el método estadístico utilizado (Correlación de Spearman y Correlación de Pearson).

En línea con nuestros resultados, algunos estudios mostraban una asociación entre CRP y SOFA que no era significativa^{254,373,382,388}, lo que puede deberse a la propia cinética de la proteína que al elevarse a tan altos niveles de concentración en sangre periférica en las primeras horas tras la infección es útil para la identificación de la infección o la sepsis u otro proceso inflamatorio de forma temprana pero el nivel de CRP no tiene significación estadística en la gravedad de la sepsis³⁹².

Cabe destacar que los métodos estadísticos de nuestro estudio y los encontrados en la literatura no son los mismos lo que limita la comparabilidad de los resultados. Además, el método estadístico mayormente utilizado para evaluar esta asociación entre los biomarcadores y la escala SOFA fue una correlación univariante donde no se tienen en cuenta otras variables que puedan estar interviniendo en esta asociación. Sin embargo, en nuestro estudio estamos utilizando un análisis lineal multivariante donde se incluyen todas las variables de ajuste que se asociaron individualmente al SOFA en un análisis previo.

Además, el resultado principal del estudio es que la presencia simultánea de los niveles en plasma de cuatro de estos biomarcadores (LCN2, IL-15, TREM-1, ANG2) a lo que denominamos como Dys-4 tuvo un impacto mucho mayor que cualquiera de estos siete biomarcadores individuales con la escala SOFA. Además, la superioridad de Dys-4 sobre los biomarcadores individuales se confirmó en una segunda cohorte de características similares a la cohorte principal de derivación.

En la literatura se ha documentado como estos biomarcadores, de forma individual, se asociaban con la sepsis y sus complicaciones. La sobreexpresión de LCN2 ha sido vinculada a la presencia de sepsis y a un peor pronóstico en estos pacientes^{250,393,394}. Asimismo, los niveles plasmáticos de esta proteína son significativamente más elevados en pacientes sépticos graves y se han asociado con complicaciones como daño miocárdico³⁹⁵, fallo multiorgánico³⁷⁴, daño renal agudo³⁹⁴ y mortalidad^{374,396}. En cuanto a la IL-15, aunque su capacidad como biomarcador en infecciones y sepsis está menos estudiada, se ha observado su valor predictivo en la identificación de pacientes con sospecha de sepsis desde el SUH^{394,397}. De manera similar, IL-15 ha mostrado valor pronóstico para predecir la mortalidad

en pacientes sépticos³⁹⁰. Por otro lado, TREM-1 ha demostrado ser capaz de predecir la mortalidad por infección en países tropicales³⁸³ y puede ayudar en la identificación de la sepsis, así como predecir complicaciones y la mortalidad en estos pacientes^{398,399}. No obstante, en un metaanálisis realizado por Wu y colaboradores, se concluyó que el TREM-1 plasmático presenta un valor diagnóstico moderado para diferenciar la sepsis del SIRS y, de forma aislada, no sería suficiente para un diagnóstico adecuado⁴⁰⁰. En estudios anteriores, ANG2 se asoció con el diagnóstico de sepsis, diferenciándola de una infección más leve²⁵⁰ y de controles sanos⁴⁰¹. Además, se ha encontrado una asociación entre este biomarcador con el riesgo de presentar complicaciones como SDRA⁴⁰² o fallo renal agudo⁴⁰³, así como con peores desenlaces en pacientes sépticos^{402,404-406,407(p2)}.

Un hecho a destacar fue que la procalcitonina que es probablemente el biomarcador clásico más estudiado en sepsis y con mejores resultados que la CRP para el manejo de la infección y la sepsis²³¹, mostró resultados robustos al detectar el grupo IDS pero sin embargo fue superada por Dys-4 en el análisis multivariable que evaluaba las asociaciones con el puntaje SOFA en este grupo.

Por último, concluir que, aunque la literatura ha demostrado la asociación individual de cada biomarcador que conforman Dys-4 con el fallo de órgano medido por la escala SOFA, así como con la presencia de sepsis y un mal pronóstico en estos pacientes, este estudio es el primero en demostrar que su análisis conjunto mejora significativamente los resultados individuales superando incluso a la procalcitonina.

6.1.5. Importancia fisiopatológica, clínica y terapéutica de los resultados.

Los biomarcadores destacados en este estudio por su asociación con el fallo de órgano además están involucrados en los mecanismos subyacentes de la infección y la sepsis. LCN2, IL-15 y TREM-1 desempeñan papeles importantes en la respuesta inmune innata contra un patógeno. Mientras que, la Angiopoyetina 2 está involucrada en el daño endotelial, evento fisiopatológico central de la sepsis.

La **lipocalina 2**, también conocida como lipocalina asociada a la gelatinasa de neutrófilos (NGAL, del inglés *neutrophil gelatinase-associated lipocalin*), es una proteína de la inmunidad innata que se almacena en gránulos específicos de neutrófilos y otros tejidos como colon, útero, tráquea, pulmón, estómago, próstata y glándula salival. Su producción es inducida por la activación del receptor TLR4 y por la liberación de citoquinas proinflamatorias^{354,408}.

Esta proteína presenta actividad bacteriostática al limitar la disponibilidad de hierro, elemento esencial para el crecimiento de muchos patógenos. LCN2 tiene capacidad para secuestrar sideróforos, que son moléculas utilizadas por las bacterias para captar el hierro del entorno⁴⁰⁹. Además, también se une a la norepinefrina cargada de hierro reduciendo aún más la disponibilidad de este metal⁴¹⁰. Por estos mecanismos LCN2 restringe el crecimiento bacteriano y ayuda a controlar la infección en sus fases iniciales³⁵⁴.

Sus efectos protectores durante las infecciones han sido estudiados en el intestino donde tiene un papel antiinflamatorio y regula la microbiota aquí presente⁴¹¹. También participa en la remodelación tisular, amortiguación de la inflamación y prevención los efectos nocivos de las trampas extracelulares³⁵⁴.

Se encuentra implicada en procesos importantes de la inmunidad innata y la inflamación. Esta proteína interactúa con receptores inmunitarios modulando las funciones del neutrófilo y la liberación de citocinas proinflamatorias⁴⁰⁸. En modelos *in vivo* e *in vitro* se ha visto como LCN2 es capaz de promover la maduración de los neutrófilos, la quimiotaxis, su adhesión y extravasación, así como la fagocitosis y muerte de patógenos (degranulación de neutrófilos)^{412,413}. Sin embargo, el aumento de la concentración de esta proteína en la sangre periférica podría inducir una amplificación de la inflamación que conlleva un aumento de la proteólisis, la disfunción endotelial y el fallo orgánico.

En este sentido, LCN2 se ha estudiado como biomarcador temprano del daño renal agudo (AKI, del inglés *acute kidney injury*). Esta proteína es liberada desde los túbulos proximales renales y por los neutrófilos activados, reflejando un estado de hipoxia, estrés oxidativo y daño tisular. Por ello se utiliza para identificar aquellos pacientes sépticos con AKI o que lo desarrollaran⁴¹⁴.

Por toda su implicación fisiopatológica en la infección y la sepsis, LCN2 se ha postulado como diana terapéutica a modular en la sepsis⁴¹¹.

La **IL-15** es una citocina que desempeña un papel clave en la regulación del sistema inmunológico y es producida fundamentalmente por células dendríticas, monocitos y macrófagos, fibroblastos y células epiteliales³⁴⁷. Es capaz de regular la inmunidad mediante la activación de vías de señalización claves en células NK y T de memoria, activando su proliferación y diferenciación e induciendo la producción de IFN- γ ^{415,416}. Además, IL-15 es capaz de potenciar la inflamación sistémica al activar células de la inmunidad innata y estimular la liberación de varias citoquinas proinflamatorias como TNF- α , IL-6 o IL-1 β , y quimiocinas que reclutan células inmunitarias³⁴⁷.

En modelo *in vivo*, se ha visto que IL-15 tiene efectos protectores al prevenir la apoptosis de células inmunitarias, estimular su activación mitigando la inmunosupresión inducida por la sepsis y reduciendo el daño celular asociado^{417,418}. Por último, a nivel terapéutico se ha postulado a IL-15 como estrategia para la inmunoestimulación para revertir la inmunoparálisis e inmunosupresión inducida por la sepsis.

Por otro lado, el **TREM-1** es un receptor de inmunidad innata expresado fundamentalmente en células mieloides como neutrófilos, monocitos y macrófagos³⁵². Ha sido identificado como un amplificador de la respuesta inflamatoria en infecciones bacterianas⁴¹⁹. En infecciones bacterianas, su activación se asocia con un aumento en la producción de citoquinas proinflamatorias como IL-6 o TNF- α , lo que puede ser crucial en la progresión a la sepsis. Además, TREM-1 también está asociado con un aumento de la degranulación de neutrófilos^{420,421}.

La forma soluble de TREM-1 se libera en fluidos corporales por proteólisis de la forma de membrana, cuando la expresión de TREM-1 se regula al alza⁴²². Estudios previos demuestran que la forma soluble de TREM-1 es un marcador de la activación del receptor TREM-1 y se puede utilizar como marcador de activación de esta vía y herramienta diagnóstica³⁵². En este sentido, actualmente hay estudios con un inhibidor del TREM-1 denominado Nangibotida. En el ensayo clínico en fase 2b se ha demostrado que las dosis altas de Nangibotida produjeron una mejoría clínicamente relevante en la puntuación SOFA (de dos puntos o más) desde el inicio hasta el día 5 de evolución con respecto al placebo en los pacientes con shock séptico que mostraban concentraciones de corte más altas (≥ 532 pg/mL) de sTREM-1 al inicio. La dosis baja de Nangibotida mostró un patrón similar con una menor magnitud del efecto en todos los valores de corte⁴²³.

La **angiopoyetina-2** es una glicoproteína clave en la disfunción endotelial. Su acción la ejerce fundamentalmente uniéndose al del receptor Tie-2 antagonizando el efecto estabilizador de la angiopoyetina 1. Esto promueve la pérdida de la integridad de la barrera vascular aumentando la permeabilidad vascular lo que provoca además la pérdida de interacción entre células endoteliales⁴²⁴. Su papel en la desestabilización de la barrera endotelial facilita además la fuga de líquidos y proteínas, contribuyendo al desarrollo del shock séptico y el fallo orgánico. Además, ANG2 es capaz de amplificar la respuesta inflamatoria, facilitando la adhesión de leucocitos al endotelio y promoviendo la amplificación de la cascada inflamatoria.

En estudios *in vitro*, se ha visto como el efecto de disfunción de la barrera endotelial causada fue neutralizado por anticuerpos monoclonales contra ANG2⁴⁰⁴. En modelos murinos

una combinación de anticuerpos monoclonales contra ANG2 y VEGF mejora la morbilidad y mortalidad de la sepsis murina⁴²⁵.

La **combinación Dys-4** que engloba estos marcadores refleja la heterogeneidad fisiopatológica que subyace al fallo de órgano en la infección y la sepsis. Los resultados de este estudio son pioneros en sugerir un efecto simultáneo de la hiperactivación inmunitaria innata y la alteración endotelial en el aumento del fallo de órgano causado por una infección.

Estudios previos han indicado que la evaluación conjunta de biomarcadores puede ofrecer una imagen más precisa del estado inflamatorio y la respuesta inmune, lo que podría llevar a intervenciones más efectivas²²⁹.

Monitorizar las variaciones de Dys-4 en el transcurso de una infección podría ayudar a identificar a aquellos pacientes infectados en riesgo de deterioro, mediante la predicción temprana del fallo de órgano incluso antes de que se establezca.

En resumen, el índice Dys-4 no solo proporciona una herramienta más precisa para la estratificación de los pacientes en función de su riesgo de fallo de órgano, sino que también identifica posibles dianas terapéuticas. En particular, sugiere que la modulación simultánea de la hiperactivación de la inmunidad innata y la prevención de la disfunción endotelial podrían ser estrategias prometedoras para detener la progresión hacia el fallo orgánico en pacientes con infección.

6.1.6. Fortalezas y limitaciones del estudio

Una de las principales fortalezas de este estudio radica en la identificación de biomarcadores capaces de distinguir de manera precisa la presencia de infección frente a una respuesta inflamatoria sistémica no infecciosa, como la que puede derivarse de procedimientos quirúrgicos. Este hallazgo tiene un impacto significativo en la práctica clínica, ya que permite una diferenciación temprana y fundamentada, optimizando las decisiones terapéuticas en pacientes críticos.

Además, la inclusión de infecciones de diversa gravedad fortalece la capacidad del estudio para captar la variabilidad de los niveles de los biomarcadores a lo largo del continuo clínico que abarca desde la infección inicial leve hasta la sepsis y el shock séptico. Esta aproximación es especialmente relevante para captar de manera integral la amplia diversidad de presentaciones clínicas observadas en los pacientes en salas quirúrgicas u otros servicios hospitalarios.

Otra fortaleza destacable es la validación de los resultados en una cohorte independiente procedente de otros centros hospitalarios. Este enfoque no solo refuerza la solidez de los hallazgos, sino que también amplía su aplicabilidad al demostrar su consistencia en contextos clínicos diversos. Adicionalmente, la utilización de la plataforma tecnológica Ella-SimplePlex para cuantificar los biomarcadores añade valor práctico al estudio, ya que esta herramienta, ya integrada y utilizada en entornos hospitalarios, permite obtener resultados rápidos y reproducibles en cuestión de minutos, mejorando la viabilidad de implementar estos biomarcadores en la práctica clínica.

Sin embargo, este trabajo también presenta algunas limitaciones. Una de ellas es la ausencia de un diseño prospectivo que permita evaluar la capacidad de los biomarcadores para predecir cambios en el puntaje SOFA durante el curso de la hospitalización de los pacientes. Este enfoque habría aportado una visión dinámica sobre su capacidad predictiva a lo largo del tiempo. Además, los pacientes incluidos en el estudio provenían exclusivamente de un entorno quirúrgico, lo que podría introducir un sesgo en los resultados y limitar su generalización a otros grupos de pacientes.

6.2. COMBINACIÓN DE BIOMARCADORES PRONÓSTICOS EN LA COVID-19

6.2.1. Importancia del diagnóstico precoz de COVID-19 en Urgencias

Los pacientes con infección por SARS-CoV-2 presentan una gran diversidad en su evolución clínica, que varía desde síntomas leves hasta cuadros graves que requieren hospitalización o incluso cuidados intensivos con soporte vital como la ventilación mecánica. Además, debido a la rápida progresión de la enfermedad aguda el tiempo disponible para tomar decisiones clínicas es limitado.

En este contexto los servicios de Urgencias son el primer punto de contacto, siendo claves para el diagnóstico precoz y enfrentándose al desafío de diferenciar a aquellos pacientes que requieren hospitalización y tendrán una peor evolución de los que pueden ser tratados de

forma ambulatoria. Son el único servicio hospitalario donde se puede evaluar el primer grado de gravedad en estos pacientes definido como hospitalización.

La identificación precoz de pacientes en riesgo de deterioro clínico es esencial para optimizar los recursos hospitalarios, minimizar complicaciones y mejorar el pronóstico de estos pacientes. Sin embargo, no es una tarea sencilla ya que los parámetros clínicos convencionales no siempre capturan de manera precisa el riesgo real de progresión en la enfermedad por COVID-19. Pacientes de todas las edades siguen necesitando hospitalización, pero es especialmente importante en los pacientes de mayor edad, los cuales representan en torno al 70% de las hospitalizaciones asociadas a COVID-19 y siguen siendo el grupo de pacientes que evoluciona más frecuentemente a formas más graves de la COVID-19^{132,133}.

En este escenario los marcadores son herramientas prometedoras. A pesar de las investigaciones de biomarcadores desde el inicio de la transmisión del SARS-CoV-2 en 2019, su implementación clínica en los SUHs es limitada, en parte porque la mayoría de estas investigaciones se desarrollan en pacientes ya hospitalizados o en cuidados intensivos. Esto evidencia la necesidad de buscar herramientas que permitan la identificación temprana de estos pacientes con la precocidad suficiente, prediciendo el primer grado de gravedad en este tipo de pacientes (hospitalización), para tomar las medidas terapéuticas pertinentes en cada caso.

6.2.2. Descripción de las características de la población a estudio

En este estudio retrospectivo realizado en el SUH, el 39% de los pacientes que se incluyeron precisaron de hospitalización y el 11% fallecieron. Estos resultados son similares a los encontrados en otra gran cohorte publicada en 2021 donde el 38% precisaban hospitalización y el 9% fallecían⁴²⁶. Sin embargo, en otro estudio realizado también en España por Calvillo-Batlles y cols. observaron que estos porcentajes eran 64% y el 15%, respectivamente⁴²⁷.

Uno de los factores que está influyendo en estas diferencias es la propia definición de hospitalización ya que mientras en nuestro estudio considerábamos hospitalización como toda estancia de más de al menos dos días en el hospital, Calvillo-Batlles y cols. consideraron más de tres días de estancia en el hospital⁴²⁷.

Por otro lado, el tamaño muestral es considerablemente diferente ya que Calvillo-Batlés y cols. y García-Martínez y cols. reclutaron cohortes más grandes de 440 pacientes y 2511 pacientes, respectivamente, mientras nuestra cohorte estaba formada por 146 pacientes.

También es importante el momento de reclutamiento de los pacientes, debido a que mientras que los dos estudios antes nombrados recogieron sus pacientes en la primera ola de la pandemia, en nuestro estudio los pacientes están reclutados en 2022 cuando gran parte de la población se encontraba vacunada y se asemeja más a la situación actual.

Sólo el 23% de los pacientes con COVID-19 presentaron antigenemia N a pesar de haber confirmado la infección a nivel nasofaríngeo de todos los pacientes. Estos pacientes que mostraban positivo presentaban un riesgo 4 veces mayor de hospitalizar que los que no tenían antigenemia. En otros estudios la prevalencia de la antigenemia es superior y oscila entre el 55 y 81%^{197,298,299}. Estas discrepancias entre los resultados se deben principalmente a las técnicas de evaluación de la antigenemia, ya que algunos de los estudios utilizan métodos capaces de cuantificar la cantidad de proteína N. Sin embargo, nosotros utilizamos un LFIA que hemos podido comprobar en datos previos no publicados de nuestro grupo con 374 pacientes con COVID-19 hospitalizados que un resultado positivo en la prueba rápida en plasma corresponde a la presencia de grandes concentraciones de antígeno N (≥ 428 pg/mL, sensibilidad 88%, especificidad 73%, COV-Quanto).

Por otro lado, los anticuerpos contra la proteína S1 del SARS-CoV-2 estaban presentes en el 83% de los pacientes. En la literatura podemos encontrar que los porcentajes de serología positiva para anticuerpos anti-S del SARS-COV-2 son muy variables entre los estudios oscilando entre 48-80%^{185,197,309,428}, debido a que es un parámetro muy influido por el estado vacunal previo del paciente, así como por haber padecido la COVID-19 previamente. Además, aunque los niveles de estos presentaran una ABC moderada, tras categorizar esta variable por su punto de corte (2821 AU/mL) la presencia de niveles bajos de anticuerpos se asociaba de manera independiente a la necesidad de hospitalización.

6.2.3. Impacto de la combinación en el riesgo de hospitalización

Como análisis principal del estudio se evaluó la eficacia de la combinación de la presencia de antigenemia N del SARS-CoV-2 y bajos títulos de anticuerpos para la identificación de los pacientes con mayor riesgo de hospitalización. [N·Ag (+) o Anti-S1 bajo]. Los resultados demostraron que el grupo de pacientes que presentan sinérgicamente antígeno N en plasma y niveles bajos de anticuerpos anti-S1 del SARS-CoV-2 mostraba un riesgo significativo 18

veces mayor de ser hospitalizados en comparación con el grupo de pacientes que no mostraba ninguno de ellos. Por el contrario, aquellos pacientes que presentaban únicamente alguno de los dos marcadores, no tuvieron diferencias significativas con el grupo más leve que no presentaban ninguna de las dos.

Nieto-Ortega y cols. muestran una escala que puede predecir la necesidad de hospitalización y la cual se encuentra basada en diversos marcadores evaluados en las 24h desde la admisión al hospital. Aunque esta escala tiene buenos resultados mostrando una ABC de 0,91 (IC [95%] 0.8725–0.9482, $p < 0.0001$), entre los marcadores se encuentran índice de Kirby, lactato deshidrogenasa, saturación de oxígeno o la proteína C reactiva; lo que hace que su cálculo no sea tan inmediato como la realización de una prueba rápida de antígenos o los niveles de anticuerpos por un ensayo automatizado⁴²⁹. Además, los pacientes cuyos datos fueron utilizados para el cálculo de los algoritmos no se encontraban vacunados, y únicamente el 26% de los pacientes utilizados para la validación de los modelos se encontraban vacunados. Por el contrario, en nuestro estudio la mayoría de los pacientes habían recibido al menos dos dosis de la vacuna. Además esta escala esta derivada de pacientes hospitalizados por lo que pierde el factor precocidad que nuestra combinación si posee al realizarse en el SUH y haberse comparado con pacientes con una trayectoria mejor que se marchan a casa y nunca llegan a ingresar en el hospital⁴²⁹.

También se han publicado otros estudios donde la predicción del riesgo de hospitalización se basa en modelos que utilizan inteligencia artificial. Uno de estos estudios utiliza variables demográficas y comorbilidades para identificar a los pacientes que van a hospitalizar, lo cual puede ayudar a priorizar el triaje de los pacientes COVID-19 cuando los recursos el sistema son limitados como ocurre en periodos pandémicos. Pero, al igual que en el estudio descrito anteriormente, los pacientes del estudio no habían recibido pautas de vacunación⁴³⁰. Además, los datos utilizados (demográficos y comorbilidad) en algunos casos puede que no estén completos en la historia clínica del paciente y que éste no pueda comunicártelo adecuadamente. Estos estudios realizados con inteligencia artificial tienen como limitación su implementación en la práctica clínica que sigue siendo una tarea complicada hoy en día.

Por el contrario, nuestro estudio está desarrollado como consecuencia de la necesidad en plena ola pandémica de identificar a pacientes que se iban a complicar y donde la actuación precoz era condicionante para el progreso de los pacientes. Por ello, se evaluó una combinación que fuera técnicamente fácil, sencilla y rápida, que se pueda implementar en la práctica clínica y ayudar así a tomar decisiones lo antes posible.

Además, como resultados secundarios demostramos que aquellos pacientes que presentaban la combinación de antigenemia N y bajos títulos de anticuerpos mostraban un riesgo 9 veces mayor de exhibir infiltrados pulmonares bilaterales. Esto puede ayudar en la práctica clínica en los SUHs identificando a aquellos pacientes más graves. Además, en momentos pandémicos donde los recursos son limitados puede ayudar a la toma de decisiones preliminares en el manejo de los pacientes sin esperar a disponer de resultado de imagen por rayos x o TAC.

Este grupo de pacientes que presentaban antigenemia N junto con bajos títulos de anticuerpos anti-S1 tenían una mayor gravedad que los otros grupos de pacientes en el momento de entrada en el SUH ya que mostraban medianas significativamente más elevadas de escala de gravedad como es el NEWS o una mayor estancia hospitalaria. Curiosamente se ha de remarcar que ninguna variable analítica destacaba en este grupo, reforzando así la utilidad de la combinación en este estadio de la evolución de la enfermedad para la identificación de este tipo de pacientes con peor pronóstico.

6.2.4. Impacto de la combinación en la mortalidad a 28 días

Además, en el estudio se evaluó el riesgo de mortalidad a 28 días de estos grupos de pacientes. Los resultados demostraron que los pacientes que presentaban antigenemia N del SARS-CoV-2 y bajos títulos de anticuerpos mostraban un riesgo siete veces mayor de mortalidad a 28 días que aquellos que tenían anticuerpos altos y no presentaban antigenemia N en plasma. Al igual que en el caso del riesgo de hospitalización el grupo de pacientes que únicamente presentaba uno de los dos marcadores no tenía diferencias significativas en el riesgo de mortalidad a 28 días en comparación con el grupo sin ninguno de estos marcadores.

Los subgrupos identificados en este estudio presentaban diferentes porcentajes de mortalidad: [N·Ag (+) y Anti-S1 bajo] presentaba un 30%, [N·Ag (+) o Anti-S1 bajo] un 8%, [N·Ag (-) y Anti-S1 alto] un 7% de mortalidad. Sin embargo, García-Martínez y cols. en su estudio publicado en 2021 demostraban que eran capaces de identificar un subgrupo de pacientes desde el SUH que presentaban un alto riesgo de mortalidad a 30 días (67,3%), otro subgrupo con un riesgo intermedio (28,2%) y un último grupo de pacientes con un bajo riesgo de mortalidad (1,7%) mediante una escala de puntuación que incluía edad ≥ 50 años, índice de Barthel < 90 puntos, alteración del nivel de consciencia, índice de $\text{SaO}_2/\text{FIO}_2 < 400$, auscultación respiratoria anómala, cifra de plaquetas $< 100.000/\text{mm}^3$, $\text{CRP} \geq 5$ mg/dL y filtrado glomerular < 45 mL/min⁴²⁶. Aunque es cierto que la capacidad de detección de estos pacientes

mediante el score de García-Martínez era mucho mayor, los resultados no son del todo comparables ya que el momento de la pandemia entre los estudios y el estado vacunal de los pacientes son muy diferentes. Además, mientras que el objetivo principal de la escala de García-Martínez era la predicción de mortalidad, en nuestro estudio el objetivo principal es la hospitalización como primer grado de gravedad de la enfermedad. También cabe remarcar que algunas de las variables incluidas en la escala pueden ser subjetivas y depender del clínico que las esté evaluando en ese momento. Por último, en el estudio de García-Martínez y cols. únicamente en el 74% de los pacientes habían sido diagnosticados de COVID-19 mediante una PCR mientras que el resto fue diagnosticado según criterios clínicos.

Los resultados aquí mostrados van en consonancia con estudios previos que subrayan la importancia de estos biomarcadores en la predicción de mortalidad en los pacientes hospitalizados y en aquellos con formas más graves de la patología^{183,197,285,309,431}.

6.2.5. Importancia fisiopatológica, clínica y terapéutica de los resultados.

La presencia de material vírico en la sangre junto a títulos bajos de anticuerpos que caracterizan a los pacientes del grupo [N·Ag (+) y bajo anti-S1] probablemente sea un indicador de un pobre control de la replicación viral a nivel pulmonar que culmina con una diseminación sistémica del virus o de componentes virales^{184,196}. Esto se evidencia en el estudio de Martín-Vicente y cols. donde existe una correlación inversa entre los títulos de anticuerpos anti-Spike con la carga viral y las concentraciones de antígeno N en plasma.

Esta presencia de material vírico en el plasma puede estar mostrando una previa rotura de la barrera alveolocapilar y posterior diseminación de componente víricos a la sangre. Además, en estudios previos se ha relacionado la presencia de este material vírico con una replicación activa a nivel pulmonar. Como resultado de esta diseminación puede estar ocurriendo la infección de células en otros órganos que no son los pulmones, como ya hemos visto anteriormente, donde el virus puede estar produciendo daño directamente.

Por otro lado, puede estar ocurriendo un daño indirecto a través de la activación del sistema inmunitario. Todavía no se conoce bien si la presencia de componentes virales corresponde con la presencia de partículas víricas infecciosas pero el material viral difundido en la sangre periférica puede estimular a los PRRs, junto con los DAMPs generados en consecuencia de esa previa rotura de barrera alveolocapilar. Esto provocaría el inicio de todos los procesos fisiopatológicos descritos anteriormente como inflamación sistémica

ininterrumpida y la inmunotrombosis principalmente, que podría contribuir a la patogénesis del fallo multiorgánico¹⁴⁸, lo que se encuentra reforzado por un estudio publicado este mismo año donde demuestran la asociación de antigenemia de la proteína N y de la RNAemia con mediadores inflamatorios y de daño tisular en pacientes COVID-19 críticos²⁸⁵. Por ello, a nivel terapéutico, los filtros extracorporales o la utilización de anticuerpos monoclonales que eliminan este tipo de componentes víricos de la sangre periférica podrían ayudar en el tratamiento de este grupo de pacientes⁴³².

Por otro lado, los niveles bajos de anticuerpos anti-S1 indican una respuesta inmune deficiente, específicamente humoral adaptativa, u otras alteraciones inmunológicas que no se han evaluado en este estudio. Además, remarcar que únicamente el 48% de los pacientes que presentaban la combinación [N·Ag (+) y Anti-S1 bajo] habían sido vacunados en comparación con el 94% del subgrupo de pacientes que no presentaba ninguno de los marcadores [N·Ag (-) y Anti-S1 alto]. En un estudio anterior se observó como la vacunación previa contra el SARS-CoV-2 de los paciente COVID-19 hospitalizados estaba asociada con títulos más altos de anticuerpos contra la proteína S y menor probabilidad de progresión radiológica, necesidad de inmunomoduladores y asistencia respiratoria o muerte⁴²⁸. Estos resultados tomados en conjunto respaldan el uso de refuerzo de vacunas principalmente en los grupos más vulnerables a la infección por SARS-CoV-2 e incluso en la población en general guiados por el título de anticuerpos que presenten.

Además, podría tener valor como marcador teragnóstico al identificar los pacientes que se beneficiarían de la administración de Remdesivir para mejorar su pronóstico, ya que en un estudio anterior se vio que la administración temprana de Remdesivir en pacientes no hospitalizados que tenían alto riesgo de progresión mejoró el riesgo de hospitalización o muerte comparado con el grupo placebo⁴³³.

En resumen, la monitorización de estos pacientes con presencia de estos dos parámetros podría mejorar significativamente los resultados clínicos y guiar los pasos terapéuticos a seguir.

6.2.6. Fortalezas y limitaciones del estudio

Este trabajo es pionero en valorar el rendimiento de la combinación de la presencia de antigenemia N y bajos títulos de anticuerpos como marcador de mal pronóstico de la infección por SARS-Cov-2. Se evidencia que, desde el SUH con pacientes con una enfermedad leve, la combinación puede identificar aquellos casos con un mayor riesgo de hospitalización, de presencia de infiltrado bilateral y de riesgo de mortalidad a 28 días.

Por otro lado, las tecnologías que evalúan los marcadores son las ideales para la práctica clínica diaria en los SUHs. En el caso de la antigenemia se realiza mediante un LIFA que es una tecnología sencilla, rápida y que no precisa de personal cualificado. Estas características lo hacen idóneo para poder realizarse *in situ*, en el propio servicio de Urgencias. Por otro lado, los anticuerpos IgG anti-S1 del SARS-CoV-2 se evalúan por una plataforma CLIA que utiliza micropartículas y se encuentra integrada en la práctica clínica del hospital que permite obtener resultados en un espacio de tiempo corto pudiendo tomar decisiones sobre el manejo del paciente.

Pero el estudio tiene también una serie de limitaciones, como es el tamaño de la muestra y su procedencia de un único centro reclutador lo que podría limitar la generalización de nuestros hallazgos. Además, la investigación se llevó a cabo durante el periodo en que la variante Ómicron era predominante. Además, la ausencia de variables de interés que no pudieron ser recogidas puede haber incluido sesgos en los modelos de regresión. También, la ausencia de una cohorte de validación que limita la generalización de los resultados, siendo necesarios estudios futuros.

La mayoría de estas limitaciones se deben a que fue un estudio diseñado y llevado a cabo en una ola pandémica, en la que el sistema sanitario se encontraba colapsado por la alta demanda y se utilizaron los medios disponibles en aquel momento, para identificar con la mayor precocidad posible una herramienta que fuera útil en su práctica clínica diaria. Son necesarios más estudios con una muestra mayor, procedente de varios centros en un periodo de tiempo donde circulen diferentes variantes del SARS-CoV-2.

6.3. DISCUSIÓN INTEGRADORA Y APROXIMACIONES FUTURAS

Las infecciones en huéspedes vulnerables suponen un desafío creciente para la salud pública. Factores como el envejecimiento poblacional, el aumento de comorbilidades crónicas y el uso extendido de terapias inmunosupresoras han contribuido a su incremento en los últimos años, elevando así la morbilidad y la mortalidad asociadas. Los resultados presentados ponen de manifiesto la utilidad clínica de combinar biomarcadores específicos para la identificación temprana de pacientes con una peor evolución, así como para la estratificación de la gravedad en dos contextos infecciosos clave: la sepsis y la COVID-19. Esto es crítico en los entornos sanitarios donde llegan estos pacientes y no se encuentran disponibles muchas de las pruebas o parámetros clínicos para hacer una correcta evaluación del estado del paciente.

Para consolidar estos hallazgos, es imprescindible realizar estudios adicionales en cohortes más amplias y diversas, evaluando su aplicabilidad en diferentes contextos clínicos y poblacionales. Esta estrategia podría complementarse con otros parámetros clínicos y biológicos, y la monitorización de signos vitales, creando un enfoque más integral para la atención del paciente. Además la investigación futura también podría explorar el uso de tecnologías emergentes, como el inmunodiagnóstico que podrían facilitar la detección simultánea de múltiples biomarcadores en un entorno de atención sanitaria⁴³⁴.

La integración de diversas estrategias, especialmente mediante el uso de inteligencia artificial y el aprendizaje automático nos está acercando a la medicina de precisión. La combinación de datos provenientes de diversas fuentes, como perfiles clínicos, inmunológicos, bioquímicos, microbiológicos, moleculares y de imagen, con características demográficas, comorbilidades y factores ambientales y/o diversos perfiles ómicos, no solo acelera el proceso de descubrimiento de biomarcadores, sino que también asegura que estos modelos sean más fácilmente transferibles a los entornos clínicos⁴³⁵ (**Figura 35**). El desafío clave sigue siendo el tránsito desde la identificación de biomarcadores a su implementación clínica. Esto requiere la adaptación de plataformas diagnósticas, de modo que sean compatibles con las condiciones del entorno donde se utilizarán, garantizando su utilidad en la práctica diaria. Esto se hace más relevante al considerar la rapidez y eficacia que se requieren en el contexto de enfermedades críticas como la sepsis y la COVID-19²⁴⁰.

El aprendizaje automático no supervisado emerge como una importante herramienta para descubrir posibles patrones y subgrupos de pacientes basados en estados fisiológicos de interés, aquellos que son clave para entender los mecanismos subyacentes en las infecciones³²⁷. Estos estados pueden clasificarse o monitorizarse a lo largo del tiempo, permitiendo predecir la progresión clínica y personalizar las intervenciones terapéuticas. En paralelo, el aprendizaje automático supervisado podría ayudar a identificar biomarcadores específicos predictivos para cada subgrupo, guiando así estrategias de tratamiento más precisas. Un estado fisiológico de interés y su correspondiente biomarcador predictivo constituyen un «rasgo tratable» que, una vez demostrada su eficacia en los ensayos clínicos, puede integrarse en la práctica clínica⁴³⁶.

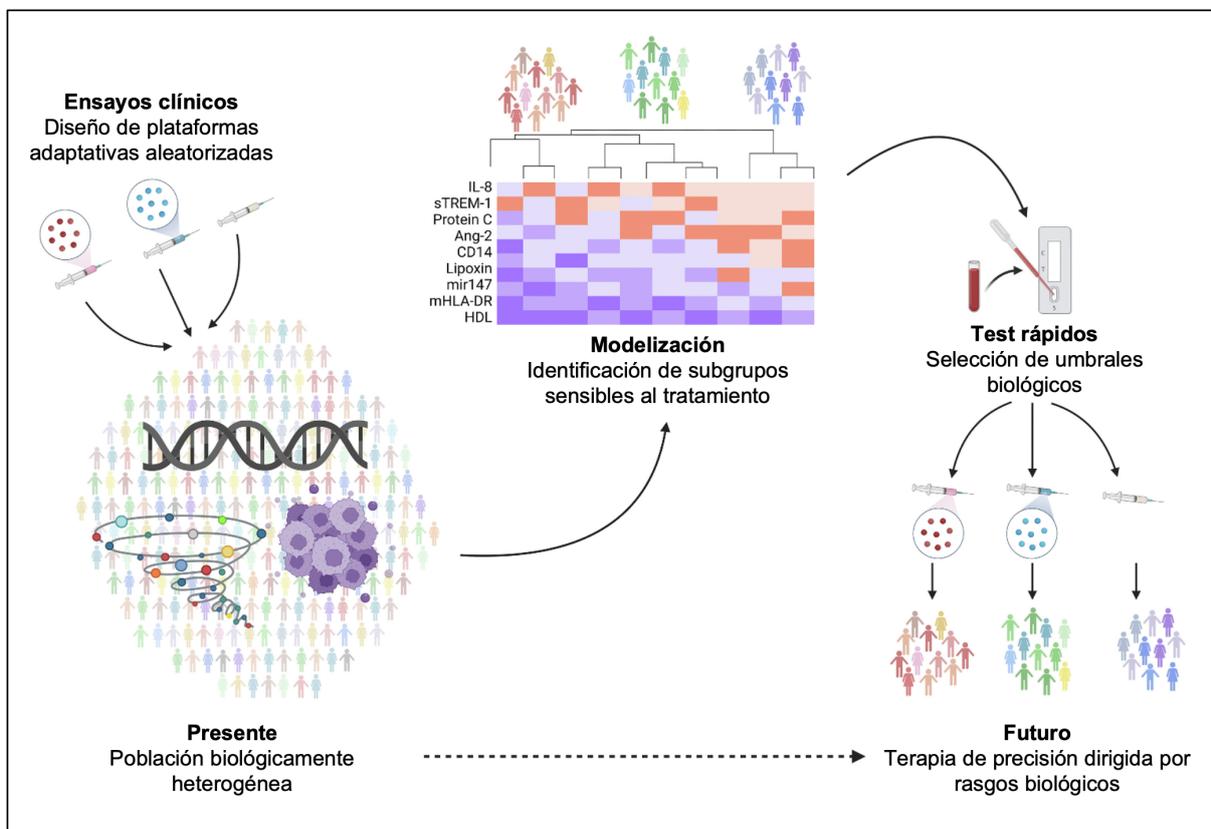


Figura 35. Diagrama de trabajo para futuros estudios de identificación de biomarcadores. Adaptada de Marshall y Leligdowicz (2022)⁴³⁵

En este contexto, los ensayos clínicos adaptativos, como los realizados en estudios de gran impacto como los ensayos RECOVERY y REMAP-CAP, son cruciales para avanzar en la recolección de muestras biológicas durante el proceso. Este tipo de ensayos permite un análisis tanto prospectivo como retrospectivo de los factores biológicos alterados, como los biomarcadores, proporcionando una visión más clara de las respuestas fisiológicas que

subyacen a las enfermedades graves. Las pruebas pueden incluir análisis de sangre, estudios de imagen, así como perfiles genómicos, transcriptómicos y proteómicos, y pueden añadirse a datos ya existentes como la edad, las comorbilidades, los factores ambientales y el estado funcional⁴³⁶.

La siguiente etapa en este proceso es el desarrollo de pruebas rápidas de detección de biomarcadores específicos que puedan realizarse en los puntos de atención. Este enfoque no solo mejoraría la rapidez del diagnóstico, sino que también podría servir como una estrategia de enriquecimiento para el reclutamiento de pacientes en ensayos clínicos prospectivos, optimizando así el uso de recursos y la precisión de los resultados^{435,436}.

El objetivo final de estas iniciativas es lograr una atención más personalizada, en la que las intervenciones dirigidas tanto a la eliminación del patógeno como a la modulación de la respuesta inmune del huésped sean más eficaces. Esto sería especialmente relevante para abordar la respuesta heterogénea que caracteriza a enfermedades complejas como la sepsis, donde un enfoque único no es suficiente para todos los pacientes³²⁷.

7. CONCLUSIONES

Estudio del continuo infección-sepsis:

1. La CRP, PCT, PTX3, LCN2, TNF- α , ANG2, TREM-1 e IL-15 presentan una buena precisión diagnóstica para diferenciar la presencia de infección de la inflamación postoperatoria.
2. La PCT, PTX3, LCN2, TNF- α , ANG2, TREM-1 e IL-15 predicen de manera independiente el aumento en el fallo de órgano de los pacientes infectados, evaluado por la escala SOFA.
3. La combinación Dys-4, formada por los biomarcadores de inflamación y disfunción endotelial LCN2, IL-15, TREM-1 y ANG2, presenta una mayor asociación con el aumento de la escala SOFA que los biomarcadores individuales.
4. Dys-4 representa una herramienta prometedora para estratificar la gravedad de la infección y diagnosticar precozmente la sepsis.

Estudio sobre la COVID-19:

5. La presencia simultánea de antigenemia N y niveles bajos de anticuerpos anti-S1 identifica a un grupo de pacientes con COVID-19 con mayor riesgo de hospitalización a su llegada a los Servicios de Urgencias.
6. La presencia simultánea de antigenemia N y niveles bajos de anticuerpos anti-S1 identifica a un grupo de pacientes con COVID-19 con mayor riesgo de mortalidad a 28 días a su llegada a los servicios de Urgencias.
7. Estos resultados sugieren que la presencia, en los primeros momentos de la COVID-19, de una respuesta inmune deficiente, que conlleva un pobre control del virus SARS-CoV-2, juega un papel central en la fisiopatología de la enfermedad.
8. El uso de la combinación de antigenemia N y los niveles de anticuerpos anti-S1 puede ayudar a optimizar el manejo de los pacientes COVID-19 en los Servicios de Urgencias, contribuyendo a intensificar de forma precoz el tratamiento de aquellos con mayor riesgo de deterioro.

8. REFERENCIAS

1. Baker RE, Mahmud AS, Miller IF, et al. Infectious disease in an era of global change. *Nat Rev Microbiol.* 2022;20(4):193-205. doi:10.1038/s41579-021-00639-z
2. Liang SY. Sepsis and Other Infectious Disease Emergencies in the Elderly. *Emerg Med Clin North Am.* 2016;34(3):501-522. doi:10.1016/j.emc.2016.04.005
3. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA.* 2016;315(8):801-810. doi:10.1001/jama.2016.0287
4. Broughton G, Janis JE, Attinger CE. A brief history of wound care. *Plast Reconstr Surg.* 2006;117(7 Suppl):6S-11S. doi:10.1097/01.prs.0000225429.76355.dd
5. Vargas A, López M, Lillo C, Vargas MJ. [The Edwin Smith papyrus in the history of medicine]. *Rev Med Chil.* 2012;140(10):1357-1362. doi:10.4067/S0034-98872012001000020
6. Geroulanos S, Douka ET. Historical perspective of the word "sepsis." *Intensive Care Med.* 2006;32(12):2077-2077. doi:10.1007/s00134-006-0392-2
7. Funk DJ, Parrillo JE, Kumar A. Sepsis and septic shock: a history. *Crit Care Clin.* 2009;25(1):83-101, viii. doi:10.1016/j.ccc.2008.12.003
8. Jessney B. Joseph Lister (1827-1912): a pioneer of antiseptic surgery remembered a century after his death. *J Med Biogr.* 2012;20(3):107-110. doi:10.1258/jmb.2011.011074
9. Cavallion JM, Legout S. Louis Pasteur: Between Myth and Reality. *Biomolecules.* 2022;12(4):596. doi:10.3390/biom12040596
10. Cavallion JM, Chrétien F. From septicemia to sepsis 3.0-from Ignaz Semmelweis to Louis Pasteur. *Genes Immun.* 2019;20(5):371-382. doi:10.1038/s41435-019-0063-2
11. Rittirsch D, Flierl MA, Ward PA. Harmful molecular mechanisms in sepsis. *Nat Rev Immunol.* 2008;8(10):776-787. doi:10.1038/nri2402
12. Thomas L. Germs. *N Engl J Med.* 1972;287(11):553-555. doi:10.1056/NEJM197209142871109
13. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest.* 1992;101(6):1644-1655. doi:10.1378/chest.101.6.1644
14. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med.* 2003;31(4):1250-1256. doi:10.1097/01.CCM.0000050454.01978.3B
15. Ferreira FL, Bota DP, Bross A, Mélot C, Vincent JL. Serial evaluation of the SOFA score to predict outcome in critically ill patients. *JAMA.* 2001;286(14):1754-1758. doi:10.1001/jama.286.14.1754
16. Lababede O, Meziane MA. The Eighth Edition of TNM Staging of Lung Cancer: Reference Chart and Diagrams. *The Oncologist.* 2018;23(7):844-848. doi:10.1634/theoncologist.2017-0659
17. Sagy M, Al-Qaqaa Y, Kim P. Definitions and pathophysiology of sepsis. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care.* 2013;43(10):260-263. doi:10.1016/j.cppeds.2013.10.001
18. Dellinger RP, Carlet JM, Masur H, et al. Surviving Sepsis Campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med.* 2004;32(3):858-873. doi:10.1097/01.ccm.0000117317.18092.e4
19. Evans L, Rhodes A, Alhazzani W, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. *Intensive Care Med.* 2021;47(11):1181-1247. doi:10.1007/s00134-021-06506-y
20. Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, et al. Surviving Sepsis Campaign: International guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008. *Intensive Care Med.* 2008;34(1):17-60. doi:10.1007/s00134-007-0934-2

21. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012. *Crit Care Med.* 2013;41(2):580-637. doi:10.1097/CCM.0b013e31827e83af
22. Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. *Intensive Care Med.* 2017;43(3):304-377. doi:10.1007/s00134-017-4683-6
23. Levy MM, Dellinger RP, Townsend SR, et al. The Surviving Sepsis Campaign: results of an international guideline-based performance improvement program targeting severe sepsis. *Crit Care Med.* 2010;38(2):367-374. doi:10.1097/CCM.0b013e3181cb0cdc
24. Castellanos-Ortega A, Suberviola B, García-Astudillo LA, et al. Impact of the Surviving Sepsis Campaign protocols on hospital length of stay and mortality in septic shock patients: results of a three-year follow-up quasi-experimental study. *Crit Care Med.* 2010;38(4):1036-1043. doi:10.1097/CCM.0b013e3181d455b6
25. Herrán-Monge R, Muriel-Bombín A, García-García MM, et al. Mortality Reduction and Long-Term Compliance with Surviving Sepsis Campaign: A Nationwide Multicenter Study. *Shock Augusta Ga.* 2016;45(6):598-606. doi:10.1097/SHK.0000000000000555
26. Li ZQ, Xi XM, Luo X, Li J, Jiang L. Implementing surviving sepsis campaign bundles in China: a prospective cohort study. *Chin Med J (Engl).* 2013;126(10):1819-1825.
27. Herrán-Monge R, Muriel-Bombín A, García-García MM, et al. Epidemiology and Changes in Mortality of Sepsis After the Implementation of Surviving Sepsis Campaign Guidelines. *J Intensive Care Med.* 2019;34(9):740-750. doi:10.1177/0885066617711882
28. Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990-2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet Lond Engl.* 2020;395(10219):200-211. doi:10.1016/S0140-6736(19)32989-7
29. Rhee C, Jones TM, Hamad Y, et al. Prevalence, Underlying Causes, and Preventability of Sepsis-Associated Mortality in US Acute Care Hospitals. *JAMA Netw Open.* 2019;2(2):e187571. doi:10.1001/jamanetworkopen.2018.7571
30. Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL, et al. Sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study. *Crit Care Med.* 2006;34(2):344-353. doi:10.1097/01.ccm.0000194725.48928.3a
31. Vincent JL, Lefrant JY, Kotfis K, et al. Comparison of European ICU patients in 2012 (ICON) versus 2002 (SOAP). *Intensive Care Med.* 2018;44(3):337-344. doi:10.1007/s00134-017-5043-2
32. Álvaro-Meca A, Jiménez-Sousa MA, Micheloud D, et al. Epidemiological trends of sepsis in the twenty-first century (2000-2013): an analysis of incidence, mortality, and associated costs in Spain. *Popul Health Metr.* 2018;16(1):4. doi:10.1186/s12963-018-0160-x
33. Darbà J, Marsà A. Epidemiology, management and costs of sepsis in Spain (2008-2017): a retrospective multicentre study. *Curr Med Res Opin.* 2020;36(7):1089-1095. doi:10.1080/03007995.2020.1760809
34. van den Berg M, van Beuningen FE, ter Maaten JC, Bouma HR. Hospital-related costs of sepsis around the world: A systematic review exploring the economic burden of sepsis. *J Crit Care.* 2022;71:154096. doi:10.1016/j.jcrc.2022.154096
35. Arefian H, Heublein S, Scherag A, et al. Hospital-related cost of sepsis: A systematic review. *J Infect.* 2017;74(2):107-117. doi:10.1016/j.jinf.2016.11.006
36. Martín S, Pérez A, Aldecoa C. Sepsis and Immunosenescence in the Elderly Patient: A Review. *Front Med.* 2017;4:20. doi:10.3389/fmed.2017.00020
37. Rusinova K, Guidet B. Are you sure it's about "age"? *Intensive Care Med.* 2014;40(1):114-116. doi:10.1007/s00134-013-3147-x

38. Ibarz M, Haas LEM, Ceccato A, Artigas A. The critically ill older patient with sepsis: a narrative review. *Ann Intensive Care*. 2024;14(1):6. doi:10.1186/s13613-023-01233-7
39. Pandolfi F, Brun-Buisson C, Guillemot D, Watier L. Care pathways of sepsis survivors: sequelae, mortality and use of healthcare services in France, 2015–2018. *Crit Care*. 2023;27(1):438. doi:10.1186/s13054-023-04726-w
40. Hammond NE, Kumar A, Kaur P, et al. Estimates of Sepsis Prevalence and Outcomes in Adult Patients in the ICU in India: A Cross-sectional Study. *Chest*. 2022;161(6):1543-1554. doi:10.1016/j.chest.2021.12.673
41. Wiersinga WJ, van der Poll T. Immunopathophysiology of human sepsis. *EBioMedicine*. 2022;86:104363. doi:10.1016/j.ebiom.2022.104363
42. van der Poll T, Shankar-Hari M, Wiersinga WJ. The immunology of sepsis. *Immunity*. 2021;54(11):2450-2464. doi:10.1016/j.immuni.2021.10.012
43. Reinhart K, Bauer M, Riedemann NC, Hartog CS. New approaches to sepsis: molecular diagnostics and biomarkers. *Clin Microbiol Rev*. 2012;25(4):609-634. doi:10.1128/CMR.00016-12
44. Shankar-Hari M, Calandra T, Soares MP, et al. Reframing sepsis immunobiology for translation: towards informative subtyping and targeted immunomodulatory therapies. *Lancet Respir Med*. 2024;12(4):323-336. doi:10.1016/S2213-2600(23)00468-X
45. Hotchkiss RS, Monneret G, Payen D. Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy. *Nat Rev Immunol*. 2013;13(12):862-874. doi:10.1038/nri3552
46. Bermejo-Martin JF, Andaluz-Ojeda D, Almansa R, et al. Defining immunological dysfunction in sepsis: A requisite tool for precision medicine. *J Infect*. 2016;72(5):525-536. doi:10.1016/j.jinf.2016.01.010
47. Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell*. 2010;140(6):805-820. doi:10.1016/j.cell.2010.01.022
48. Jarczak D, Kluge S, Nierhaus A. Sepsis-Pathophysiology and Therapeutic Concepts. *Front Med*. 2021;8:628302. doi:10.3389/fmed.2021.628302
49. Tang D, Kang R, Coyne CB, Zeh HJ, Lotze MT. PAMPs and DAMPs: signal 0s that spur autophagy and immunity. *Immunol Rev*. 2012;249(1):158-175. doi:10.1111/j.1600-065X.2012.01146.x
50. Angus DC, van der Poll T. Severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med*. 2013;369(9):840-851. doi:10.1056/NEJMra1208623
51. Chan JK, Roth J, Oppenheim JJ, et al. Alarmins: awaiting a clinical response. *J Clin Invest*. 2012;122(8):2711-2719. doi:10.1172/JCI62423
52. Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat Immunol*. 2010;11(5):373-384. doi:10.1038/ni.1863
53. Bosmann M, Ward PA. The inflammatory response in sepsis. *Trends Immunol*. 2013;34(3):129-136. doi:10.1016/j.it.2012.09.004
54. Wiersinga WJ, Leopold SJ, Cranendonk DR, van der Poll T. Host innate immune responses to sepsis. *Virulence*. 2014;5(1):36-44. doi:10.4161/viru.25436
55. Brinkmann V. Neutrophil Extracellular Traps in the Second Decade. *J Innate Immun*. 2018;10(5-6):414-421. doi:10.1159/000489829
56. McDonald B, Davis RP, Kim SJ, et al. Platelets and neutrophil extracellular traps collaborate to promote intravascular coagulation during sepsis in mice. *Blood*. 2017;129(10):1357-1367. doi:10.1182/blood-2016-09-741298
57. Sollberger G, Tilley DO, Zychlinsky A. Neutrophil Extracellular Traps: The Biology of Chromatin Externalization. *Dev Cell*. 2018;44(5):542-553. doi:10.1016/j.devcel.2018.01.019

58. Santos SS, Brunialti MKC, Rigato O, Machado FR, Silva E, Salomao R. Generation of nitric oxide and reactive oxygen species by neutrophils and monocytes from septic patients and association with outcomes. *Shock Augusta Ga.* 2012;38(1):18-23. doi:10.1097/SHK.0b013e318257114e
59. Fattahi F, Zetoune FS, Ward PA. Complement as a Major Inducer of Harmful Events in Infectious Sepsis. *Shock Augusta Ga.* 2020;54(5):595-605. doi:10.1097/SHK.0000000000001531
60. Guo RF, Ward PA. Role of C5a in inflammatory responses. *Annu Rev Immunol.* 2005;23:821-852. doi:10.1146/annurev.immunol.23.021704.115835
61. Ward PA. The harmful role of c5a on innate immunity in sepsis. *J Innate Immun.* 2010;2(5):439-445. doi:10.1159/000317194
62. Russell JA. Management of sepsis. *N Engl J Med.* 2006;355(16):1699-1713. doi:10.1056/NEJMra043632
63. Cao C, Yu M, Chai Y. Pathological alteration and therapeutic implications of sepsis-induced immune cell apoptosis. *Cell Death Dis.* 2019;10(10):782. doi:10.1038/s41419-019-2015-1
64. László I, Trásy D, Molnár Z, Fazakas J. Sepsis: From Pathophysiology to Individualized Patient Care. *J Immunol Res.* 2015;2015:510436. doi:10.1155/2015/510436
65. Hirahara K, Nakayama T. CD4+ T-cell subsets in inflammatory diseases: beyond the Th1/Th2 paradigm. *Int Immunol.* 2016;28(4):163-171. doi:10.1093/intimm/dxw006
66. Almansa R, Wain J, Tamayo E, et al. Immunological monitoring to prevent and treat sepsis. *Crit Care Lond Engl.* 2013;17(1):109. doi:10.1186/cc11922
67. Hotchkiss RS, Coopersmith CM, McDunn JE, Ferguson TA. The sepsis seesaw: tilting toward immunosuppression. *Nat Med.* 2009;15(5):496-497. doi:10.1038/nm0509-496
68. Venet F, Rimmelé T, Monneret G. Management of Sepsis-Induced Immunosuppression. *Crit Care Clin.* 2018;34(1):97-106. doi:10.1016/j.ccc.2017.08.007
69. Cavillon JM, Adib-Conquy M. Bench-to-bedside review: endotoxin tolerance as a model of leukocyte reprogramming in sepsis. *Crit Care Lond Engl.* 2006;10(5):233. doi:10.1186/cc5055
70. de Pablo R, Monserrat J, Reyes E, et al. Mortality in patients with septic shock correlates with anti-inflammatory but not proinflammatory immunomodulatory molecules. *J Intensive Care Med.* 2011;26(2):125-132. doi:10.1177/0885066610384465
71. Venet F, Monneret G. Advances in the understanding and treatment of sepsis-induced immunosuppression. *Nat Rev Nephrol.* 2018;14(2):121-137. doi:10.1038/nrneph.2017.165
72. Leijte GP, Rimmelé T, Kox M, et al. Monocytic HLA-DR expression kinetics in septic shock patients with different pathogens, sites of infection and adverse outcomes. *Crit Care Lond Engl.* 2020;24(1):110. doi:10.1186/s13054-020-2830-x
73. Gustave CA, Gossez M, Demaret J, et al. Septic Shock Shapes B Cell Response toward an Exhausted-like/Immunoregulatory Profile in Patients. *J Immunol Baltim Md 1950.* 2018;200(7):2418-2425. doi:10.4049/jimmunol.1700929
74. Taccone FS, Stordeur P, De Backer D, Creteur J, Vincent JL. Gamma-globulin levels in patients with community-acquired septic shock. *Shock Augusta Ga.* 2009;32(4):379-385. doi:10.1097/SHK.0b013e3181a2c0b2
75. Průcha M, Zazula R, Herold I, Dostál M, Hyánek T, Bellingan G. Presence of hypogammaglobulinemia - a risk factor of mortality in patients with severe sepsis, septic shock, and SIRS. *Prague Med Rep.* 2013;114(4):246-257. doi:10.14712/23362936.2014.14
76. Venet F, Gebeile R, Bancel J, et al. Assessment of plasmatic immunoglobulin G, A and M levels in septic shock patients. *Int Immunopharmacol.* 2011;11(12):2086-2090. doi:10.1016/j.intimp.2011.08.024

77. Hotchkiss RS, Moldawer LL, Opal SM, Reinhart K, Turnbull IR, Vincent JL. Sepsis and septic shock. *Nat Rev Dis Primer*. 2016;2:16045. doi:10.1038/nrdp.2016.45
78. Huang LF, Yao YM, Dong N, Yu Y, He LX, Sheng ZY. Association between regulatory T cell activity and sepsis and outcome of severely burned patients: a prospective, observational study. *Crit Care Lond Engl*. 2010;14(1):R3. doi:10.1186/cc8232
79. Venet F, Pachot A, Debard AL, et al. Increased percentage of CD4+CD25+ regulatory T cells during septic shock is due to the decrease of CD4+CD25- lymphocytes. *Crit Care Med*. 2004;32(11):2329-2331. doi:10.1097/01.ccm.0000145999.42971.4b
80. Monneret G, Debard AL, Venet F, et al. Marked elevation of human circulating CD4+CD25+ regulatory T cells in sepsis-induced immunoparalysis. *Crit Care Med*. 2003;31(7):2068-2071. doi:10.1097/01.CCM.0000069345.78884.0F
81. Wakeley ME, Gray CC, Monaghan SF, Heffernan DS, Ayala A. Check Point Inhibitors and Their Role in Immunosuppression in Sepsis. *Crit Care Clin*. 2020;36(1):69-88. doi:10.1016/j.ccc.2019.08.006
82. Guignant C, Lepape A, Huang X, et al. Programmed death-1 levels correlate with increased mortality, nosocomial infection and immune dysfunctions in septic shock patients. *Crit Care Lond Engl*. 2011;15(2):R99. doi:10.1186/cc10112
83. Monaghan SF, Thakkar RK, Tran ML, et al. Programmed death 1 expression as a marker for immune and physiological dysfunction in the critically ill surgical patient. *Shock Augusta Ga*. 2012;38(2):117-122. doi:10.1097/SHK.0b013e31825de6a3
84. Patera AC, Drewry AM, Chang K, Beiter ER, Osborne D, Hotchkiss RS. Frontline Science: Defects in immune function in patients with sepsis are associated with PD-1 or PD-L1 expression and can be restored by antibodies targeting PD-1 or PD-L1. *J Leukoc Biol*. 2016;100(6):1239-1254. doi:10.1189/jlb.4HI0616-255R
85. Zhang Y, Li J, Lou J, et al. Upregulation of programmed death-1 on T cells and programmed death ligand-1 on monocytes in septic shock patients. *Crit Care Lond Engl*. 2011;15(1):R70. doi:10.1186/cc10059
86. Boomer JS, To K, Chang KC, et al. Immunosuppression in patients who die of sepsis and multiple organ failure. *JAMA*. 2011;306(23):2594-2605. doi:10.1001/jama.2011.1829
87. Lee WL, Slutsky AS. Sepsis and endothelial permeability. *N Engl J Med*. 2010;363(7):689-691. doi:10.1056/NEJMcibr1007320
88. Radeva MY, Waschke J. Mind the gap: mechanisms regulating the endothelial barrier. *Acta Physiol Oxf Engl*. 2018;222(1). doi:10.1111/apha.12860
89. Bermejo-Martin JF, Martín-Fernández M, López-Mestanza C, Duque P, Almansa R. Shared Features of Endothelial Dysfunction between Sepsis and Its Preceding Risk Factors (Aging and Chronic Disease). *J Clin Med*. 2018;7(11):400. doi:10.3390/jcm7110400
90. Ince C, Mayeux PR, Nguyen T, et al. THE ENDOTHELIUM IN SEPSIS. *Shock Augusta Ga*. 2016;45(3):259-270. doi:10.1097/SHK.0000000000000473
91. van der Poll T, van de Veerdonk FL, Scicluna BP, Netea MG. The immunopathology of sepsis and potential therapeutic targets. *Nat Rev Immunol*. 2017;17(7):407-420. doi:10.1038/nri.2017.36
92. Girardis M, David S, Ferrer R, et al. Understanding, assessing and treating immune, endothelial and haemostasis dysfunctions in bacterial sepsis. *Intensive Care Med*. 2024;50(10):1580-1592. doi:10.1007/s00134-024-07586-2
93. Pool R, Gomez H, Kellum JA. Mechanisms of Organ Dysfunction in Sepsis. *Crit Care Clin*. 2018;34(1):63-80. doi:10.1016/j.ccc.2017.08.003
94. Engelmann B, Massberg S. Thrombosis as an intravascular effector of innate immunity. *Nat Rev Immunol*. 2013;13(1):34-45. doi:10.1038/nri3345

95. Levi M, van der Poll T. Coagulation and sepsis. *Thromb Res.* 2017;149:38-44. doi:10.1016/j.thromres.2016.11.007
96. Choi Q, Hong KH, Kim JE, Kim HK. Changes in plasma levels of natural anticoagulants in disseminated intravascular coagulation: high prognostic value of antithrombin and protein C in patients with underlying sepsis or severe infection. *Ann Lab Med.* 2014;34(2):85-91. doi:10.3343/alm.2014.34.2.85
97. Iba T, Helms J, Levy JH. Sepsis-induced coagulopathy (SIC) in the management of sepsis. *Ann Intensive Care.* 2024;14(1):148. doi:10.1186/s13613-024-01380-5
98. Jenne CN, Wong CHY, Zemp FJ, et al. Neutrophils recruited to sites of infection protect from virus challenge by releasing neutrophil extracellular traps. *Cell Host Microbe.* 2013;13(2):169-180. doi:10.1016/j.chom.2013.01.005
99. Abrams ST, Morton B, Alhamdi Y, et al. A Novel Assay for Neutrophil Extracellular Trap Formation Independently Predicts Disseminated Intravascular Coagulation and Mortality in Critically Ill Patients. *Am J Respir Crit Care Med.* 2019;200(7):869-880. doi:10.1164/rccm.201811-2111OC
100. Larsen JB, Aggerbeck MA, Granfeldt A, Schmidt M, Hvas AM, Adelborg K. Disseminated intravascular coagulation diagnosis: Positive predictive value of the ISTH score in a Danish population. *Res Pract Thromb Haemost.* 2021;5(8):e12636. doi:10.1002/rth2.12636
101. Antonucci E, Fiaccadori E, Donadello K, Taccone FS, Franchi F, Scolletta S. Myocardial depression in sepsis: from pathogenesis to clinical manifestations and treatment. *J Crit Care.* 2014;29(4):500-511. doi:10.1016/j.jcrc.2014.03.028
102. Honore PM, Jacobs R, Hendrickx I, et al. Prevention and treatment of sepsis-induced acute kidney injury: an update. *Ann Intensive Care.* 2015;5(1):51. doi:10.1186/s13613-015-0095-3
103. White LE, Hassoun HT, Bihorac A, et al. Acute kidney injury is surprisingly common and a powerful predictor of mortality in surgical sepsis. *J Trauma Acute Care Surg.* 2013;75(3):432-438. doi:10.1097/TA.0b013e31829de6cd
104. Yan J, Li S, Li S. The role of the liver in sepsis. *Int Rev Immunol.* 2014;33(6):498-510. doi:10.3109/08830185.2014.889129
105. Lelubre C, Vincent JL. Mechanisms and treatment of organ failure in sepsis. *Nat Rev Nephrol.* 2018;14(7):417-427. doi:10.1038/s41581-018-0005-7
106. Gofton TE, Young GB. Sepsis-associated encephalopathy. *Nat Rev Neurol.* 2012;8(10):557-566. doi:10.1038/nrneurol.2012.183
107. Borges A, Bento L. Organ crosstalk and dysfunction in sepsis. *Ann Intensive Care.* 2024;14(1):147. doi:10.1186/s13613-024-01377-0
108. Flannery AH, Venn CM, Gusovsky A, et al. Frequency and Types of Healthcare Encounters in the Week Preceding a Sepsis Hospitalization: A Systematic Review. *Crit Care Explor.* 2022;4(2):e0635. doi:10.1097/CCE.0000000000000635
109. Tavaré A, O'Flynn N. Recognition, diagnosis, and early management of sepsis: NICE guideline. *Br J Gen Pract J R Coll Gen Pract.* 2017;67(657):185-186. doi:10.3399/bjgp17X690401
110. Napolitano LM. Sepsis 2018: Definitions and Guideline Changes. *Surg Infect.* 2018;19(2):117-125. doi:10.1089/sur.2017.278
111. Vincent JL. Management of sepsis in the critically ill patient: key aspects. *Expert Opin Pharmacother.* 2006;7(15):2037-2045. doi:10.1517/14656566.7.15.2037
112. Makic MBF, Bridges E. CE: Managing Sepsis and Septic Shock: Current Guidelines and Definitions. *Am J Nurs.* 2018;118(2):34-39. doi:10.1097/01.NAJ.0000530223.33211.f5
113. Vila J, Gómez MD, Salavert M, Bosch J. [Methods of rapid diagnosis in clinical microbiology:

- Clinical needs]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2017;35(1):41-46. doi:10.1016/j.eimc.2016.11.004
114. Caraballo C, Jaimes F. Organ Dysfunction in Sepsis: An Ominous Trajectory From Infection To Death. *Yale J Biol Med*. 2019;92(4):629-640.
115. Keegan MT, Gajic O, Afessa B. Severity of illness scoring systems in the intensive care unit. *Crit Care Med*. 2011;39(1):163-169. doi:10.1097/CCM.0b013e3181f96f81
116. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med*. 1985;13(10):818-829.
117. Artero A, Zaragoza R, Camarena JJ, Sancho S, González R, Nogueira JM. Prognostic factors of mortality in patients with community-acquired bloodstream infection with severe sepsis and septic shock. *J Crit Care*. 2010;25(2):276-281. doi:10.1016/j.jcrc.2009.12.004
118. Le Gall JR, Lemeshow S, Saulnier F. A new Simplified Acute Physiology Score (SAPS II) based on a European/North American multicenter study. *JAMA*. 1993;270(24):2957-2963. doi:10.1001/jama.270.24.2957
119. Quenot JP, Binquet C, Kara F, et al. The epidemiology of septic shock in French intensive care units: the prospective multicenter cohort EPISS study. *Crit Care Lond Engl*. 2013;17(2):R65. doi:10.1186/cc12598
120. Vincent JL, Moreno R, Takala J, et al. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med*. 1996;22(7):707-710. doi:10.1007/BF01709751
121. Vincent JL, de Mendonça A, Cantraine F, et al. Use of the SOFA score to assess the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units: results of a multicenter, prospective study. Working group on "sepsis-related problems" of the European Society of Intensive Care Medicine. *Crit Care Med*. 1998;26(11):1793-1800. doi:10.1097/00003246-199811000-00016
122. Moreno R, Vincent JL, Matos R, et al. The use of maximum SOFA score to quantify organ dysfunction/failure in intensive care. Results of a prospective, multicentre study. Working Group on Sepsis related Problems of the ESICM. *Intensive Care Med*. 1999;25(7):686-696. doi:10.1007/s001340050931
123. Li Q, Guan X, Wu P, et al. Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus-Infected Pneumonia. *N Engl J Med*. 2020;382(13):1199-1207. doi:10.1056/NEJMoa2001316
124. Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*. 2020;382(8):727-733. doi:10.1056/NEJMoa2001017
125. Gralinski LE, Menachery VD. Return of the Coronavirus: 2019-nCoV. *Viruses*. 2020;12(2):135. doi:10.3390/v12020135
126. Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol*. 2020;5(4):536-544. doi:10.1038/s41564-020-0695-z
127. Eurosurveillance editorial team. Note from the editors: World Health Organization declares novel coronavirus (2019-nCoV) sixth public health emergency of international concern. *Euro Surveill Bull Eur Sur Mal Transm Eur Commun Dis Bull*. 2020;25(5):200131e. doi:10.2807/1560-7917.ES.2020.25.5.200131e
128. Alocución de apertura del Director General de la OMS en la rueda de prensa sobre la COVID-19 celebrada el 11 de marzo de 2020. Accessed November 12, 2024. <https://www.who.int/es/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020>
129. Alocución de apertura del Director General de la OMS en la rueda de prensa – 5 de mayo de 2023. Accessed November 12, 2024. <https://www.who.int/es/director-general/speeches/detail/who->

director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing---5-may-2023

130. El Centro Nacional de Microbiología confirma un caso de coronavirus en La Gomera. Accessed November 12, 2024. <https://www.sanidad.gob.es/ca/gabinete/notasPrensa.do?id=5036>
131. Ministerio de la Presidencia, Relaciones con las Cortes y Memoria Democrática. *Real Decreto 463/2020, de 14 de Marzo, Por El Que Se Declara El Estado de Alarma Para La Gestión de La Situación de Crisis Sanitaria Ocasionada Por El COVID-19*. Vol BOE-A-2020-3692.; 2020:25390-25400. Accessed November 20, 2024. <https://www.boe.es/eli/es/rd/2020/03/14/463>
132. Taylor CA, Patel K, Pham H, et al. COVID-19-Associated Hospitalizations Among U.S. Adults Aged ≥ 18 Years - COVID-NET, 12 States, October 2023-April 2024. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2024;73(39):869-875. doi:10.15585/mmwr.mm7339a2
133. Taylor CA, Patel K, Patton ME, et al. COVID-19-Associated Hospitalizations Among U.S. Adults Aged ≥ 65 Years - COVID-NET, 13 States, January-August 2023. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2023;72(40):1089-1094. doi:10.15585/mmwr.mm7240a3
134. Centro de Coordinación de Alertas y, Emergencias Sanitarias. Información microbiológica acerca de SARS-CoV-2. Published online January 13, 2022. https://www.sanidad.gob.es/areas/alertasEmergenciasSanitarias/alertasActuales/nCov/documentos/20220113_MICROBIOLOGIA.pdf
135. Harvey WT, Carabelli AM, Jackson B, et al. SARS-CoV-2 variants, spike mutations and immune escape. *Nat Rev Microbiol*. 2021;19(7):409-424. doi:10.1038/s41579-021-00573-0
136. O'Toole Á, Pybus OG, Abram ME, Kelly EJ, Rambaut A. Pango lineage designation and assignment using SARS-CoV-2 spike gene nucleotide sequences. *BMC Genomics*. 2022;23(1):121. doi:10.1186/s12864-022-08358-2
137. COVID-19 cases | WHO COVID-19 dashboard. datadot. Accessed November 12, 2024. <https://data.who.int/dashboards/covid19/cases>
138. Paules CI, Marston HD, Fauci AS. Coronavirus Infections-More Than Just the Common Cold. *JAMA*. 2020;323(8):707-708. doi:10.1001/jama.2020.0757
139. Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol*. 2019;17(3):181-192. doi:10.1038/s41579-018-0118-9
140. Chan JFW, Kok KH, Zhu Z, et al. Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan. *Emerg Microbes Infect*. 2020;9(1):221-236. doi:10.1080/22221751.2020.1719902
141. Walls AC, Park YJ, Tortorici MA, Wall A, McGuire AT, Velesler D. Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell*. 2020;181(2):281-292.e6. doi:10.1016/j.cell.2020.02.058
142. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*. 2020;181(2):271-280.e8. doi:10.1016/j.cell.2020.02.052
143. Yan R, Zhang Y, Li Y, Xia L, Guo Y, Zhou Q. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science*. 2020;367(6485):1444-1448. doi:10.1126/science.abb2762
144. Jackson CB, Farzan M, Chen B, Choe H. Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2022;23(1):3-20. doi:10.1038/s41580-021-00418-x
145. Lamers MM, Haagmans BL. SARS-CoV-2 pathogenesis. *Nat Rev Microbiol*. 2022;20(5):270-284. doi:10.1038/s41579-022-00713-0
146. Williamson EJ, Walker AJ, Bhaskaran K, et al. Factors associated with COVID-19-related death using OpenSAFELY. *Nature*. 2020;584(7821):430-436. doi:10.1038/s41586-020-2521-4

147. Takahashi T, Ellingson MK, Wong P, et al. Sex differences in immune responses that underlie COVID-19 disease outcomes. *Nature*. 2020;588(7837):315-320. doi:10.1038/s41586-020-2700-3
148. Gupta A, Madhavan MV, Sehgal K, et al. Extrapulmonary manifestations of COVID-19. *Nat Med*. 2020;26(7):1017-1032. doi:10.1038/s41591-020-0968-3
149. Chen C, Hauptert SR, Zimmermann L, Shi X, Fritsche LG, Mukherjee B. Global Prevalence of Post-Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Condition or Long COVID: A Meta-Analysis and Systematic Review. *J Infect Dis*. 2022;226(9):1593-1607. doi:10.1093/infdis/jiac136
150. Hayes LD, Ingram J, Sculthorpe NF. More Than 100 Persistent Symptoms of SARS-CoV-2 (Long COVID): A Scoping Review. *Front Med*. 2021;8:750378. doi:10.3389/fmed.2021.750378
151. Groff D, Sun A, Ssentongo AE, et al. Short-term and Long-term Rates of Postacute Sequelae of SARS-CoV-2 Infection: A Systematic Review. *JAMA Netw Open*. 2021;4(10):e2128568. doi:10.1001/jamanetworkopen.2021.28568
152. Conway EM, Mackman N, Warren RQ, et al. Understanding COVID-19-associated coagulopathy. *Nat Rev Immunol*. 2022;22(10):639-649. doi:10.1038/s41577-022-00762-9
153. Busse LW, Chow JH, McCurdy MT, Khanna AK. COVID-19 and the RAAS—a potential role for angiotensin II? *Crit Care Lond Engl*. 2020;24(1):136. doi:10.1186/s13054-020-02862-1
154. Tay MZ, Poh CM, Rénia L, MacAry PA, Ng LFP. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nat Rev Immunol*. 2020;20(6):363-374. doi:10.1038/s41577-020-0311-8
155. Martens CP, Van Mol P, Wauters J, et al. Dysregulation of the kallikrein-kinin system in bronchoalveolar lavage fluid of patients with severe COVID-19. *EBioMedicine*. 2022;83:104195. doi:10.1016/j.ebiom.2022.104195
156. Alfaro E, Díaz-García E, García-Tovar S, et al. Impaired Kallikrein-Kinin System in COVID-19 Patients' Severity. *Front Immunol*. 2022;13:909342. doi:10.3389/fimmu.2022.909342
157. Blanco-Melo D, Nilsson-Payant BE, Liu WC, et al. Imbalanced Host Response to SARS-CoV-2 Drives Development of COVID-19. *Cell*. 2020;181(5):1036-1045.e9. doi:10.1016/j.cell.2020.04.026
158. Hadjadj J, Yatim N, Barnabei L, et al. Impaired type I interferon activity and inflammatory responses in severe COVID-19 patients. *Science*. 2020;369(6504):718-724. doi:10.1126/science.abc6027
159. Lopez L, Sang PC, Tian Y, Sang Y. Dysregulated Interferon Response Underlying Severe COVID-19. *Viruses*. 2020;12(12):1433. doi:10.3390/v12121433
160. Konno Y, Kimura I, Uriu K, et al. SARS-CoV-2 ORF3b Is a Potent Interferon Antagonist Whose Activity Is Increased by a Naturally Occurring Elongation Variant. *Cell Rep*. 2020;32(12):108185. doi:10.1016/j.celrep.2020.108185
161. Li JY, Liao CH, Wang Q, et al. The ORF6, ORF8 and nucleocapsid proteins of SARS-CoV-2 inhibit type I interferon signaling pathway. *Virus Res*. 2020;286:198074. doi:10.1016/j.virusres.2020.198074
162. Zuo Y, Yalavarthi S, Shi H, et al. Neutrophil extracellular traps in COVID-19. *JCI Insight*. 2020;5(11):e138999. doi:10.1172/jci.insight.138999
163. Giamarellos-Bourboulis EJ, Netea MG, Rovina N, et al. Complex Immune Dysregulation in COVID-19 Patients with Severe Respiratory Failure. *Cell Host Microbe*. 2020;27(6):992-1000.e3. doi:10.1016/j.chom.2020.04.009
164. Lee MJ, Blish CA. Defining the role of natural killer cells in COVID-19. *Nat Immunol*. 2023;24(10):1628-1638. doi:10.1038/s41590-023-01560-8
165. Fajgenbaum DC, June CH. Cytokine Storm. *N Engl J Med*. 2020;383(23):2255-2273. doi:10.1056/NEJMra2026131

166. Liao M, Liu Y, Yuan J, et al. Single-cell landscape of bronchoalveolar immune cells in patients with COVID-19. *Nat Med*. 2020;26(6):842-844. doi:10.1038/s41591-020-0901-9
167. Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet Lond Engl*. 2020;395(10223):497-506. doi:10.1016/S0140-6736(20)30183-5
168. Del Valle DM, Kim-Schulze S, Huang HH, et al. An inflammatory cytokine signature predicts COVID-19 severity and survival. *Nat Med*. 2020;26(10):1636-1643. doi:10.1038/s41591-020-1051-9
169. Cugno M, Meroni PL, Gualtierotti R, et al. Complement activation and endothelial perturbation parallel COVID-19 severity and activity. *J Autoimmun*. 2021;116:102560. doi:10.1016/j.jaut.2020.102560
170. Cugno M, Meroni PL, Gualtierotti R, et al. Complement activation in patients with COVID-19: A novel therapeutic target. *J Allergy Clin Immunol*. 2020;146(1):215-217. doi:10.1016/j.jaci.2020.05.006
171. Magro C, Mulvey JJ, Berlin D, et al. Complement associated microvascular injury and thrombosis in the pathogenesis of severe COVID-19 infection: A report of five cases. *Transl Res J Lab Clin Med*. 2020;220:1-13. doi:10.1016/j.trsl.2020.04.007
172. Holter JC, Pischke SE, de Boer E, et al. Systemic complement activation is associated with respiratory failure in COVID-19 hospitalized patients. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020;117(40):25018-25025. doi:10.1073/pnas.2010540117
173. Pan P, Shen M, Yu Z, et al. SARS-CoV-2 N protein promotes NLRP3 inflammasome activation to induce hyperinflammation. *Nat Commun*. 2021;12(1):4664. doi:10.1038/s41467-021-25015-6
174. Rodrigues TS, de Sá KSG, Ishimoto AY, et al. Inflammasomes are activated in response to SARS-CoV-2 infection and are associated with COVID-19 severity in patients. *J Exp Med*. 2021;218(3):e20201707. doi:10.1084/jem.20201707
175. Zhou R, To KKW, Wong YC, et al. Acute SARS-CoV-2 Infection Impairs Dendritic Cell and T Cell Responses. *Immunity*. 2020;53(4):864-877.e5. doi:10.1016/j.immuni.2020.07.026
176. Mathew D, Giles JR, Baxter AE, et al. Deep immune profiling of COVID-19 patients reveals distinct immunotypes with therapeutic implications. *Science*. 2020;369(6508):eabc8511. doi:10.1126/science.abc8511
177. Tan L, Wang Q, Zhang D, et al. Lymphopenia predicts disease severity of COVID-19: a descriptive and predictive study. *Signal Transduct Target Ther*. 2020;5(1):33. doi:10.1038/s41392-020-0148-4
178. Chen G, Wu D, Guo W, et al. Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019. *J Clin Invest*. 2020;130(5):2620-2629. doi:10.1172/JCI137244
179. Kaneko N, Boucau J, Kuo HH, et al. Temporal changes in T cell subsets and expansion of cytotoxic CD4+ T cells in the lungs in severe COVID-19. *Clin Immunol Orlando Fla*. 2022;237:108991. doi:10.1016/j.clim.2022.108991
180. Chen Z, John Wherry E. T cell responses in patients with COVID-19. *Nat Rev Immunol*. 2020;20(9):529-536. doi:10.1038/s41577-020-0402-6
181. Neidleman J, Luo X, George AF, et al. Distinctive features of SARS-CoV-2-specific T cells predict recovery from severe COVID-19. *Cell Rep*. 2021;36(3):109414. doi:10.1016/j.celrep.2021.109414
182. Çölkesen F, Kurt EK, Vatanssev H, et al. Memory B cells and serum immunoglobulins are associated with disease severity and mortality in patients with COVID-19. *Postgrad Med J*. 2022;98(1164):765-771. doi:10.1136/postgradmedj-2021-140540
183. Martin-Vicente M, Almansa R, Martínez I, et al. Low anti-SARS-CoV-2 S antibody levels predict increased mortality and dissemination of viral components in the blood of critical COVID-19 patients. *J Intern Med*. 2022;291(2):232-240. doi:10.1111/joim.13386

184. Bermejo-Martin JF, García-Mateo N, Motos A, et al. Effect of viral storm in patients admitted to intensive care units with severe COVID-19 in Spain: a multicentre, prospective, cohort study. *Lancet Microbe*. 2023;4(6):e431-e441. doi:10.1016/S2666-5247(23)00041-1
185. Sanghavi DK, Bhakta S, Wadei HM, et al. Low antispikes antibody levels correlate with poor outcomes in COVID-19 breakthrough hospitalizations. *J Intern Med*. 2022;292(1):127-135. doi:10.1111/joim.13471
186. Tajuelo A, Carretero O, García-Ríos E, et al. Brief Research Report: Virus-Specific Humoral Immunity at Admission Predicts the Development of Respiratory Failure in Unvaccinated SARS-CoV-2 Patients. *Front Immunol*. 2022;13:878812. doi:10.3389/fimmu.2022.878812
187. Bastard P, Gervais A, Le Voyer T, et al. Autoantibodies neutralizing type I IFNs are present in ~4% of uninfected individuals over 70 years old and account for ~20% of COVID-19 deaths. *Sci Immunol*. 2021;6(62):eabl4340. doi:10.1126/sciimmunol.abl4340
188. van der Wijst MGP, Vazquez SE, Hartoularos GC, et al. Type I interferon autoantibodies are associated with systemic immune alterations in patients with COVID-19. *Sci Transl Med*. 2021;13(612):eabh2624. doi:10.1126/scitranslmed.abh2624
189. Koning R, Bastard P, Casanova JL, Brouwer MC, van de Beek D, with the Amsterdam U.M.C. COVID-19 Biobank Investigators. Autoantibodies against type I interferons are associated with multi-organ failure in COVID-19 patients. *Intensive Care Med*. 2021;47(6):704-706. doi:10.1007/s00134-021-06392-4
190. Bastard P, Rosen LB, Zhang Q, et al. Autoantibodies against type I IFNs in patients with life-threatening COVID-19. *Science*. 2020;370(6515):eabd4585. doi:10.1126/science.abd4585
191. Wang EY, Mao T, Klein J, et al. Diverse functional autoantibodies in patients with COVID-19. *Nature*. 2021;595(7866):283-288. doi:10.1038/s41586-021-03631-y
192. Perico L, Benigni A, Casiraghi F, Ng LFP, Renia L, Remuzzi G. Immunity, endothelial injury and complement-induced coagulopathy in COVID-19. *Nat Rev Nephrol*. 2021;17(1):46-64. doi:10.1038/s41581-020-00357-4
193. Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet Lond Engl*. 2020;395(10234):1417-1418. doi:10.1016/S0140-6736(20)30937-5
194. Ackermann M, Verleden SE, Kuehnel M, et al. Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19. *N Engl J Med*. 2020;383(2):120-128. doi:10.1056/NEJMoa2015432
195. Xu SW, Ilyas I, Weng JP. Endothelial dysfunction in COVID-19: an overview of evidence, biomarkers, mechanisms and potential therapies. *Acta Pharmacol Sin*. 2023;44(4):695-709. doi:10.1038/s41401-022-00998-0
196. Bermejo-Martin JF, González-Rivera M, Almansa R, et al. Viral RNA load in plasma is associated with critical illness and a dysregulated host response in COVID-19. *Crit Care Lond Engl*. 2020;24(1):691. doi:10.1186/s13054-020-03398-0
197. Almansa R, Eiros JM, de Gonzalo-Calvo D, et al. N-antigenemia detection by a rapid lateral flow test predicts 90-day mortality in COVID-19: A prospective cohort study. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. 2022;28(10):1391.e1-1391.e5. doi:10.1016/j.cmi.2022.05.023
198. Hagman K, Postigo T, Diez-Castro D, et al. Prevalence and clinical relevance of viraemia in viral respiratory tract infections: a systematic review. *Lancet Microbe*. Published online September 26, 2024:100967. doi:10.1016/j.lanmic.2024.100967
199. Nougier C, Benoit R, Simon M, et al. Hypofibrinolytic state and high thrombin generation may play a major role in SARS-COV2 associated thrombosis. *J Thromb Haemost JTH*. 2020;18(9):2215-2219. doi:10.1111/jth.15016
200. Bouck EG, Denorme F, Holle LA, et al. COVID-19 and Sepsis Are Associated With Different Abnormalities in Plasma Procoagulant and Fibrinolytic Activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*.

2021;41(1):401-414. doi:10.1161/ATVBAHA.120.315338

201. Jackson Chornenki NL, Dwivedi DJ, Kwong AC, et al. Identification of hemostatic markers that define the pre-DIC state: A multi-center observational study. *J Thromb Haemost JTH*. 2020;18(10):2524-2531. doi:10.1111/jth.14973

202. Stanne TM, Pedersen A, Gisslén M, Jern C. Low admission protein C levels are a risk factor for disease worsening and mortality in hospitalized patients with COVID-19. *Thromb Res*. 2021;204:13-15. doi:10.1016/j.thromres.2021.05.016

203. Osuchowski MF, Winkler MS, Skirecki T, et al. The COVID-19 puzzle: deciphering pathophysiology and phenotypes of a new disease entity. *Lancet Respir Med*. 2021;9(6):622-642. doi:10.1016/S2213-2600(21)00218-6

204. Iba T, Levy JH, Connors JM, Warkentin TE, Thachil J, Levi M. The unique characteristics of COVID-19 coagulopathy. *Crit Care Lond Engl*. 2020;24(1):360. doi:10.1186/s13054-020-03077-0

205. Levi M, Thachil J, Iba T, Levy JH. Coagulation abnormalities and thrombosis in patients with COVID-19. *Lancet Haematol*. 2020;7(6):e438-e440. doi:10.1016/S2352-3026(20)30145-9

206. Oprinca GC, Mohor CI, Bereanu AS, et al. Detection of SARS-CoV-2 Viral Genome and Viral Nucleocapsid in Various Organs and Systems. *Int J Mol Sci*. 2024;25(11):5755. doi:10.3390/ijms25115755

207. Duarte-Neto AN, Teixeira TA, Caldini EG, et al. Testicular pathology in fatal COVID-19: A descriptive autopsy study. *Andrology*. 2022;10(1):13-23. doi:10.1111/andr.13073

208. Costa GMJ, Lacerda SMSN, Figueiredo AFA, et al. High SARS-CoV-2 tropism and activation of immune cells in the testes of non-vaccinated deceased COVID-19 patients. *BMC Biol*. 2023;21(1):36. doi:10.1186/s12915-022-01497-8

209. Su H, Yang M, Wan C, et al. Renal histopathological analysis of 26 postmortem findings of patients with COVID-19 in China. *Kidney Int*. 2020;98(1):219-227. doi:10.1016/j.kint.2020.04.003

210. Wichmann D, Sperhake JP, Lütgehetmann M, et al. Autopsy Findings and Venous Thromboembolism in Patients With COVID-19: A Prospective Cohort Study. *Ann Intern Med*. 2020;173(4):268-277. doi:10.7326/M20-2003

211. Puelles VG, Lütgehetmann M, Lindenmeyer MT, et al. Multiorgan and Renal Tropism of SARS-CoV-2. *N Engl J Med*. 2020;383(6):590-592. doi:10.1056/NEJMc2011400

212. Recalde-Zamacona B, García-Tobar L, Argueta A, et al. Histopathological findings in fatal COVID-19 severe acute respiratory syndrome: preliminary experience from a series of 10 Spanish patients. *Thorax*. 2020;75(12):1116-1118. doi:10.1136/thoraxjnl-2020-215577

213. Wang W, Xu Y, Gao R, et al. Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. *JAMA*. 2020;323(18):1843-1844. doi:10.1001/jama.2020.3786

214. Rai P, Kumar BK, Deekshit VK, Karunasagar I, Karunasagar I. Detection technologies and recent developments in the diagnosis of COVID-19 infection. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2021;105(2):441-455. doi:10.1007/s00253-020-11061-5

215. Mustafa Hellou M, Górska A, Mazzaferri F, et al. Nucleic acid amplification tests on respiratory samples for the diagnosis of coronavirus infections: a systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. 2021;27(3):341-351. doi:10.1016/j.cmi.2020.11.002

216. Cheng L, Lan L, Ramalingam M, et al. A review of current effective COVID-19 testing methods and quality control. *Arch Microbiol*. 2023;205(6):239. doi:10.1007/s00203-023-03579-9

217. Suo T, Liu X, Feng J, et al. ddPCR: a more accurate tool for SARS-CoV-2 detection in low viral load specimens. *Emerg Microbes Infect*. 2020;9(1):1259-1268. doi:10.1080/22221751.2020.1772678

218. Giri B, Pandey S, Shrestha R, Pokharel K, Ligler FS, Neupane BB. Review of analytical performance of COVID-19 detection methods. *Anal Bioanal Chem.* 2021;413(1):35-48. doi:10.1007/s00216-020-02889-x
219. Broughton JP, Deng X, Yu G, et al. CRISPR-Cas12-based detection of SARS-CoV-2. *Nat Biotechnol.* 2020;38(7):870-874. doi:10.1038/s41587-020-0513-4
220. Zhang F, Abudayyeh OO, Gootenberg JS. A protocol for detection of COVID-19 using CRISPR diagnostics. [https://www.broadinstitute.org/files/publications/special/COVID-19%20detection%20\(updated\).pdf](https://www.broadinstitute.org/files/publications/special/COVID-19%20detection%20(updated).pdf)
221. Kellner MJ, Koob JG, Gootenberg JS, Abudayyeh OO, Zhang F. SHERLOCK: nucleic acid detection with CRISPR nucleases. *Nat Protoc.* 2019;14(10):2986-3012. doi:10.1038/s41596-019-0210-2
222. Safiabadi Tali SH, LeBlanc JJ, Sadiq Z, et al. Tools and Techniques for Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2)/COVID-19 Detection. *Clin Microbiol Rev.* 2021;34(3):e00228-20. doi:10.1128/CMR.00228-20
223. Peeling RW, Heymann DL, Teo YY, Garcia PJ. Diagnostics for COVID-19: moving from pandemic response to control. *Lancet Lond Engl.* 2022;399(10326):757-768. doi:10.1016/S0140-6736(21)02346-1
224. Lisboa Bastos M, Tavaziva G, Abidi SK, et al. Diagnostic accuracy of serological tests for covid-19: systematic review and meta-analysis. *BMJ.* 2020;370:m2516. doi:10.1136/bmj.m2516
225. Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther.* 2001;69(3):89-95. doi:10.1067/mcp.2001.113989
226. Schuetz P, Christ-Crain M, Müller B. Biomarkers to improve diagnostic and prognostic accuracy in systemic infections. *Curr Opin Crit Care.* 2007;13(5):578-585. doi:10.1097/MCC.0b013e3282c9ac2a
227. Julián-Jiménez A, Candel-González FJ, González Del Castillo J. [Usefulness of inflammation and infection biomarkers in the Emergency Department]. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2014;32(3):177-190. doi:10.1016/j.eimc.2013.01.005
228. Turgman O, Schinkel M, Wiersinga WJ. Host Response Biomarkers for Sepsis in the Emergency Room. *Crit Care Lond Engl.* 2023;27(1):97. doi:10.1186/s13054-023-04367-z
229. Póvoa P, Coelho L, Dal-Pizzol F, et al. How to use biomarkers of infection or sepsis at the bedside: guide to clinicians. *Intensive Care Med.* 2023;49(2):142-153. doi:10.1007/s00134-022-06956-y
230. Seok H, Park DW. Role of biomarkers in antimicrobial stewardship: physicians' perspectives. *Korean J Intern Med.* 2024;39(3):413-429. doi:10.3904/kjim.2023.558
231. Gentilotti E, De Nardo P, Cremonini E, et al. Diagnostic accuracy of point-of-care tests in acute community-acquired lower respiratory tract infections. A systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis.* 2022;28(1):13-22. doi:10.1016/j.cmi.2021.09.025
232. Simner PJ, Miller S, Carroll KC. Understanding the Promises and Hurdles of Metagenomic Next-Generation Sequencing as a Diagnostic Tool for Infectious Diseases. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 2018;66(5):778-788. doi:10.1093/cid/cix881
233. Chiu CY, Miller SA. Clinical metagenomics. *Nat Rev Genet.* 2019;20(6):341-355. doi:10.1038/s41576-019-0113-7
234. Barichello T, Generoso JS, Singer M, Dal-Pizzol F. Biomarkers for sepsis: more than just fever and leukocytosis-a narrative review. *Crit Care Lond Engl.* 2022;26(1):14. doi:10.1186/s13054-021-03862-5

235. Hwang H, Hwang BY, Bueno J. Biomarkers in Infectious Diseases. *Dis Markers*. 2018;2018:8509127. doi:10.1155/2018/8509127
236. Zimmermann T, Brealey D, Singer M. Diagnosing sepsis: where we're at and where we're going. *Intensive Care Med*. 2024;50(6):957-959. doi:10.1007/s00134-024-07428-1
237. Pierrakos C, Vincent JL. Sepsis biomarkers: a review. *Crit Care Lond Engl*. 2010;14(1):R15. doi:10.1186/cc8872
238. Pierrakos C, Velissaris D, Bisdorff M, Marshall JC, Vincent JL. Biomarkers of sepsis: time for a reappraisal. *Crit Care Lond Engl*. 2020;24(1):287. doi:10.1186/s13054-020-02993-5
239. Bermejo-Martin JF, Martín-Fernandez M, Almansa R. Pre-sepsis: A necessary concept to complete the SEPSIS-3 picture? *J Crit Care*. 2018;44:148. doi:10.1016/j.jcrc.2017.10.041
240. Llitjos JF, Carrol ED, Osuchowski MF, et al. Enhancing sepsis biomarker development: key considerations from public and private perspectives. *Crit Care Lond Engl*. 2024;28(1):238. doi:10.1186/s13054-024-05032-9
241. Sinha M, Jupe J, Mack H, Coleman TP, Lawrence SM, Fraley SI. Emerging Technologies for Molecular Diagnosis of Sepsis. *Clin Microbiol Rev*. 2018;31(2):e00089-17. doi:10.1128/CMR.00089-17
242. Sonntag M, Elgeti VK, Vainshtein Y, et al. Suppression PCR-Based Selective Enrichment Sequencing for Pathogen and Antimicrobial Resistance Detection on Cell-Free DNA in Sepsis-A Targeted, Blood Culture-Independent Approach for Rapid Pathogen and Resistance Diagnostics in Septic Patients. *Int J Mol Sci*. 2024;25(10):5463. doi:10.3390/ijms25105463
243. Merino I, de la Fuente A, Domínguez-Gil M, Eiros JM, Tedim AP, Bermejo-Martín JF. Digital PCR applications for the diagnosis and management of infection in critical care medicine. *Crit Care Lond Engl*. 2022;26(1):63. doi:10.1186/s13054-022-03948-8
244. Tedim AP, Merino I, Ortega A, Domínguez-Gil M, Eiros JM, Bermejo-Martín JF. Quantification of bacterial DNA in blood using droplet digital PCR: a pilot study. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2024;108(1):116075. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2023.116075
245. Faix JD. Biomarkers of sepsis. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2013;50(1):23-36. doi:10.3109/10408363.2013.764490
246. Harbarth S, Holeckova K, Froidevaux C, et al. Diagnostic value of procalcitonin, interleukin-6, and interleukin-8 in critically ill patients admitted with suspected sepsis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;164(3):396-402. doi:10.1164/ajrccm.164.3.2009052
247. Pathan N, Hemingway CA, Alizadeh AA, et al. Role of interleukin 6 in myocardial dysfunction of meningococcal septic shock. *Lancet Lond Engl*. 2004;363(9404):203-209. doi:10.1016/S0140-6736(03)15326-3
248. Larsen FF, Petersen JA. Novel biomarkers for sepsis: A narrative review. *Eur J Intern Med*. 2017;45:46-50. doi:10.1016/j.ejim.2017.09.030
249. Li S, Huang X, Chen Z, et al. Neutrophil CD64 expression as a biomarker in the early diagnosis of bacterial infection: a meta-analysis. *Int J Infect Dis IJID Off Publ Int Soc Infect Dis*. 2013;17(1):e12-23. doi:10.1016/j.ijid.2012.07.017
250. Martín-Fernandez M, Vaquero-Roncero LM, Almansa R, et al. Endothelial dysfunction is an early indicator of sepsis and neutrophil degranulation of septic shock in surgical patients. *BJS Open*. 2020;4(3):524-534. doi:10.1002/bjs5.50265
251. Bonaventura A, Carbone F, Vecchié A, et al. The role of resistin and myeloperoxidase in severe sepsis and septic shock: Results from the ALBIOS trial. *Eur J Clin Invest*. 2020;50(10):e13333. doi:10.1111/eci.13333
252. Yoon SH, Kim EH, Kim HY, Ahn JG. Presepsin as a diagnostic marker of sepsis in children and adolescents: a systemic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis*. 2019;19(1):760.

doi:10.1186/s12879-019-4397-1

253. Wu CC, Lan HM, Han ST, et al. Comparison of diagnostic accuracy in sepsis between presepsin, procalcitonin, and C-reactive protein: a systematic review and meta-analysis. *Ann Intensive Care*. 2017;7(1):91. doi:10.1186/s13613-017-0316-z
254. Aliu-Bejta A, Atelj A, Kurshumliu M, Dreshaj S, Baršić B. Presepsin values as markers of severity of sepsis. *Int J Infect Dis IJID Off Publ Int Soc Infect Dis*. 2020;95:1-7. doi:10.1016/j.ijid.2020.03.057
255. Christ-Crain M, Morgenthaler NG, Struck J, Harbarth S, Bergmann A, Müller B. Mid-regional pro-adrenomedullin as a prognostic marker in sepsis: an observational study. *Crit Care Lond Engl*. 2005;9(6):R816-824. doi:10.1186/cc3885
256. Andrés C, Andaluz-Ojeda D, Cicuendez R, et al. MR- proADM to detect specific types of organ failure in infection. *Eur J Clin Invest*. 2020;50(6):e13246. doi:10.1111/eci.13246
257. Schuetz P, Stolz D, Mueller B, et al. Endothelin-1 precursor peptides correlate with severity of disease and outcome in patients with community acquired pneumonia. *BMC Infect Dis*. 2008;8:22. doi:10.1186/1471-2334-8-22
258. Ikeda M, Matsumoto H, Ogura H, et al. Circulating syndecan-1 predicts the development of disseminated intravascular coagulation in patients with sepsis. *J Crit Care*. 2018;43:48-53. doi:10.1016/j.jcrc.2017.07.049
259. Skibsted S, Jones AE, Puskarich MA, et al. Biomarkers of endothelial cell activation in early sepsis. *Shock Augusta Ga*. 2013;39(5):427-432. doi:10.1097/SHK.0b013e3182903f0d
260. Clark DV, Banura P, Bandeen-Roche K, et al. Biomarkers of endothelial activation/dysfunction distinguish sub-groups of Ugandan patients with sepsis and differing mortality risks. *JCI Insight*. 2019;5(10):e127623, 127623. doi:10.1172/jci.insight.127623
261. Fang Y, Li C, Shao R, Yu H, Zhang Q. The role of biomarkers of endothelial activation in predicting morbidity and mortality in patients with severe sepsis and septic shock in intensive care: A prospective observational study. *Thromb Res*. 2018;171:149-154. doi:10.1016/j.thromres.2018.09.059
262. Piotti A, Novelli D, Meessen JMTA, et al. Endothelial damage in septic shock patients as evidenced by circulating syndecan-1, sphingosine-1-phosphate and soluble VE-cadherin: a substudy of ALBIOS. *Crit Care Lond Engl*. 2021;25(1):113. doi:10.1186/s13054-021-03545-1
263. Zhou G, Liu J, Zhang H, Wang X, Liu D. Elevated endothelial dysfunction-related biomarker levels indicate the severity and predict sepsis incidence. *Sci Rep*. 2022;12(1):21935. doi:10.1038/s41598-022-26623-y
264. Huang Q, Xiong H, Yan P, et al. The Diagnostic and Prognostic Value of suPAR in Patients with Sepsis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Shock Augusta Ga*. 2020;53(4):416-425. doi:10.1097/SHK.0000000000001434
265. Suberviola B, Castellanos-Ortega A, Ruiz Ruiz A, Lopez-Hoyos M, Santibañez M. Hospital mortality prognostication in sepsis using the new biomarkers suPAR and proADM in a single determination on ICU admission. *Intensive Care Med*. 2013;39(11):1945-1952. doi:10.1007/s00134-013-3056-z
266. Zeng M, Chang M, Zheng H, et al. Clinical value of soluble urokinase-type plasminogen activator receptor in the diagnosis, prognosis, and therapeutic guidance of sepsis. *Am J Emerg Med*. 2016;34(3):375-380. doi:10.1016/j.ajem.2015.11.004
267. Bakker J, Postelnicu R, Mukherjee V. Lactate: Where Are We Now? *Crit Care Clin*. 2020;36(1):115-124. doi:10.1016/j.ccc.2019.08.009
268. Tarui T, Yamaguchi Y, Suzuki K, et al. Early evaluation of severity in patients with severe sepsis: a comparison with "septic shock" - subgroup analysis of the Japanese Association for Acute Medicine Sepsis Registry (JAAM-SR). *Acute Med Surg*. 2017;4(4):426-431. doi:10.1002/ams2.299

269. Rivers E, Nguyen B, Havstad S, et al. Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med*. 2001;345(19):1368-1377. doi:10.1056/NEJMoa010307
270. Shankar-Hari M, Phillips GS, Levy ML, et al. Developing a New Definition and Assessing New Clinical Criteria for Septic Shock: For the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016;315(8):775-787. doi:10.1001/jama.2016.0289
271. Manfredi AA, Rovere-Querini P, Bottazzi B, Garlanda C, Mantovani A. Pentraxins, humoral innate immunity and tissue injury. *Curr Opin Immunol*. 2008;20(5):538-544. doi:10.1016/j.coi.2008.05.004
272. Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med*. 1999;340(6):448-454. doi:10.1056/NEJM199902113400607
273. Póvoa P, Coelho L, Almeida E, et al. C-reactive protein as a marker of infection in critically ill patients. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. 2005;11(2):101-108. doi:10.1111/j.1469-0691.2004.01044.x
274. Póvoa P, Salluh JIF. Biomarker-guided antibiotic therapy in adult critically ill patients: a critical review. *Ann Intensive Care*. 2012;2(1):32. doi:10.1186/2110-5820-2-32
275. Castelli GP, Pognani C, Meisner M, Stuaní A, Bellomi D, Sgarbi L. Procalcitonin and C-reactive protein during systemic inflammatory response syndrome, sepsis and organ dysfunction. *Crit Care Lond Engl*. 2004;8(4):R234-242. doi:10.1186/cc2877
276. Reinhart K, Karzai W, Meisner M. Procalcitonin as a marker of the systemic inflammatory response to infection. *Intensive Care Med*. 2000;26(9):1193-1200. doi:10.1007/s001340000624
277. Vijayan AL, Vanimaya null, Ravindran S, et al. Procalcitonin: a promising diagnostic marker for sepsis and antibiotic therapy. *J Intensive Care*. 2017;5:51. doi:10.1186/s40560-017-0246-8
278. Assicot M, Gendrel D, Carsin H, Raymond J, Guilbaud J, Bohuon C. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. *Lancet Lond Engl*. 1993;341(8844):515-518. doi:10.1016/0140-6736(93)90277-n
279. Lippi G, Cervellin G, Ciaccio M, Agnello L. Biomarkers of Sepsis. In: Ciaccio M, ed. *Clinical and Laboratory Medicine Textbook*. Springer International Publishing; 2023:589-595. doi:10.1007/978-3-031-24958-7_45
280. Charles PE, Ladoire S, Aho S, et al. Serum procalcitonin elevation in critically ill patients at the onset of bacteremia caused by either Gram negative or Gram positive bacteria. *BMC Infect Dis*. 2008;8:38. doi:10.1186/1471-2334-8-38
281. Elson G, Dunn-Siegrist I, Daubeuf B, Pugin J. Contribution of Toll-like receptors to the innate immune response to Gram-negative and Gram-positive bacteria. *Blood*. 2007;109(4):1574-1583. doi:10.1182/blood-2006-06-032961
282. Ram-Mohan N, Kim D, Zudock EJ, et al. SARS-CoV-2 RNAemia Predicts Clinical Deterioration and Extrapulmonary Complications from COVID-19. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2022;74(2):218-226. doi:10.1093/cid/ciab394
283. Hogan CA, Stevens BA, Sahoo MK, et al. High Frequency of SARS-CoV-2 RNAemia and Association With Severe Disease. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2021;72(9):e291-e295. doi:10.1093/cid/ciaa1054
284. Gutmann C, Takov K, Burnap SA, et al. SARS-CoV-2 RNAemia and proteomic trajectories inform prognostication in COVID-19 patients admitted to intensive care. *Nat Commun*. 2021;12(1):3406. doi:10.1038/s41467-021-23494-1
285. Kim DM, Lawrence Panchali MJ, Kim CM, et al. SARS-CoV-2 antigenemia and RNAemia in association with disease severity in patients with COVID-19. *Sci Rep*. 2024;14(1):14926. doi:10.1038/s41598-024-65489-0

286. Hagman K, Hedenstierna M, Rudling J, et al. Duration of SARS-CoV-2 viremia and its correlation to mortality and inflammatory parameters in patients hospitalized for COVID-19: a cohort study. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2022;102(3):115595. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2021.115595
287. Lawrence Panchali MJ, Kim CM, Seo JW, Kim DY, Yun NR, Kim DM. SARS-CoV-2 RNAemia and Disease Severity in COVID-19 Patients. *Viruses*. 2023;15(7):1560. doi:10.3390/v15071560
288. Tan C, Li S, Liang Y, Chen M, Liu J. SARS-CoV-2 viremia may predict rapid deterioration of COVID-19 patients. *Braz J Infect Dis Off Publ Braz Soc Infect Dis*. 2020;24(6):565-569. doi:10.1016/j.bjid.2020.08.010
289. Cardeñoso Domingo L, Roy Vallejo E, Zurita Cruz ND, et al. Relevant SARS-CoV-2 viremia is associated with COVID-19 severity: Prospective cohort study and validation cohort. *J Med Virol*. 2022;94(11):5260-5270. doi:10.1002/jmv.27989
290. Miki S, Sasaki H, Horiuchi H, et al. On-admission SARS-CoV-2 RNAemia as a single potent predictive marker of critical condition development and mortality in COVID-19. *PLoS One*. 2021;16(7):e0254640. doi:10.1371/journal.pone.0254640
291. Monchi M, Bruneau T, Jochmans S, et al. Association of high SARS-CoV-2 RNAemia with diabetes and mortality in critically ill COVID-19 patients. *iScience*. 2022;25(5):104075. doi:10.1016/j.isci.2022.104075
292. Kawasuji H, Morinaga Y, Tani H, et al. SARS-CoV-2 RNAemia with a higher nasopharyngeal viral load is strongly associated with disease severity and mortality in patients with COVID-19. *J Med Virol*. 2022;94(1):147-153. doi:10.1002/jmv.27282
293. Giacomelli A, Righini E, Micheli V, et al. SARS-CoV-2 viremia and COVID-19 mortality: A prospective observational study. *PLoS One*. 2023;18(4):e0281052. doi:10.1371/journal.pone.0281052
294. Tedim AP, Almansa R, Domínguez-Gil M, et al. Comparison of real-time and droplet digital PCR to detect and quantify SARS-CoV-2 RNA in plasma. *Eur J Clin Invest*. 2021;51(6):e13501. doi:10.1111/eci.13501
295. Prakash S, Priyatma null, Aasarey R, Pandey PK, Mathur P, Arulselvi S. An inexpensive and rapid diagnostic method for detection of SARS-CoV-2 RNA by loop-mediated isothermal amplification (LAMP). *MethodsX*. 2023;10:102011. doi:10.1016/j.mex.2023.102011
296. Olea B, Albert E, Torres I, et al. SARS-CoV-2 N-antigenemia in critically ill adult COVID-19 patients: Frequency and association with inflammatory and tissue-damage biomarkers. *J Med Virol*. 2022;94(1):222-228. doi:10.1002/jmv.27300
297. Favresse J, Bayart JL, David C, et al. Serum SARS-CoV-2 Antigens for the Determination of COVID-19 Severity. *Viruses*. 2022;14(8):1653. doi:10.3390/v14081653
298. Zhang W, Liu W, Lin J, et al. Highly Prevalent SARS-CoV-2 Antigenemia in COVID-19 Patients. *Infect Dis Immun*. 2022;2(3):193-199. doi:10.1097/ID9.0000000000000057
299. Chenane HR, Lingas G, Menidjel R, et al. High sera levels of SARS-CoV-2 N antigen are associated with death in hospitalized COVID-19 patients. *J Med Virol*. 2023;95(11):e29247. doi:10.1002/jmv.29247
300. Semiz S. COVID19 biomarkers: What did we learn from systematic reviews? *Front Cell Infect Microbiol*. 2022;12:1038908. doi:10.3389/fcimb.2022.1038908
301. Chambliss AB, Aljehani M, Tran B, et al. Immune biomarkers associated with COVID-19 disease severity in an urban, hospitalized population. *Pract Lab Med*. 2023;36:e00323. doi:10.1016/j.plabm.2023.e00323
302. Mohebbi A, Haybar H, Nakhaei Moghaddam F, Rasti Z, Vahid MA, Saki N. Biomarkers of endothelial dysfunction are associated with poor outcome in COVID-19 patients: A systematic review and meta-analysis. *Rev Med Virol*. 2023;33(4):e2442. doi:10.1002/rmv.2442

303. Lampsas S, Tsaplaris P, Pantelidis P, et al. The Role of Endothelial Related Circulating Biomarkers in COVID-19. A Systematic Review and Meta-analysis. *Curr Med Chem*. 2022;29(21):3790-3805. doi:10.2174/0929867328666211026124033
304. Andrianto null, Al-Farabi MJ, Nugraha RA, Marsudi BA, Azmi Y. Biomarkers of endothelial dysfunction and outcomes in coronavirus disease 2019 (COVID-19) patients: A systematic review and meta-analysis. *Microvasc Res*. 2021;138:104224. doi:10.1016/j.mvr.2021.104224
305. Yao Y, Cao J, Wang Q, et al. D-dimer as a biomarker for disease severity and mortality in COVID-19 patients: a case control study. *J Intensive Care*. 2020;8:49. doi:10.1186/s40560-020-00466-z
306. Ozen M, Yilmaz A, Cakmak V, et al. D-Dimer as a potential biomarker for disease severity in COVID-19. *Am J Emerg Med*. 2021;40:55-59. doi:10.1016/j.ajem.2020.12.023
307. Poudel A, Poudel Y, Adhikari A, et al. D-dimer as a biomarker for assessment of COVID-19 prognosis: D-dimer levels on admission and its role in predicting disease outcome in hospitalized patients with COVID-19. *PLoS One*. 2021;16(8):e0256744. doi:10.1371/journal.pone.0256744
308. Kritikos A, Gabellon S, Pagani JL, et al. Anti-SARS-CoV-2 Titers Predict the Severity of COVID-19. *Viruses*. 2022;14(5):1089. doi:10.3390/v14051089
309. Lapadula G, Mezzadri L, Lo Cascio G, et al. Anti-spike antibody level is associated with the risk of clinical progression among subjects hospitalized with COVID-19 pneumonia: results from a retrospective cohort study. *Infection*. 2024;52(4):1499-1509. doi:10.1007/s15010-024-02250-9
310. Yelle S, Amte R, Gella V, et al. Association of Lower Antispike Antibody Levels with Mortality in ICU Patients with COVID-19 Disease. *Crit Care Res Pract*. 2023;2023:4174241. doi:10.1155/2023/4174241
311. Khoury DS, Cromer D, Reynaldi A, et al. Neutralizing antibody levels are highly predictive of immune protection from symptomatic SARS-CoV-2 infection. *Nat Med*. 2021;27(7):1205-1211. doi:10.1038/s41591-021-01377-8
312. Garcia-Beltran WF, Lam EC, Astudillo MG, et al. COVID-19-neutralizing antibodies predict disease severity and survival. *Cell*. 2021;184(2):476-488.e11. doi:10.1016/j.cell.2020.12.015
313. Lucas C, Klein J, Sundaram ME, et al. Delayed production of neutralizing antibodies correlates with fatal COVID-19. *Nat Med*. 2021;27(7):1178-1186. doi:10.1038/s41591-021-01355-0
314. van der Does Y, Rood PPM, Ramakers C, et al. Identifying patients with bacterial infections using a combination of C-reactive protein, procalcitonin, TRAIL, and IP-10 in the emergency department: a prospective observational cohort study. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. 2018;24(12):1297-1304. doi:10.1016/j.cmi.2018.09.007
315. Velly L, Volant S, Fitting C, et al. Optimal combination of early biomarkers for infection and sepsis diagnosis in the emergency department: The BIPS study. *J Infect*. 2021;82(4):11-21. doi:10.1016/j.jinf.2021.02.019
316. Ljungström L, Pernestig AK, Jacobsson G, Andersson R, Usener B, Tilevik D. Diagnostic accuracy of procalcitonin, neutrophil-lymphocyte count ratio, C-reactive protein, and lactate in patients with suspected bacterial sepsis. *PLoS One*. 2017;12(7):e0181704. doi:10.1371/journal.pone.0181704
317. Robriquet L, Séjourné C, Kipnis E, D'Herbomez M, Fourrier F. A composite score combining procalcitonin, C-reactive protein and temperature has a high positive predictive value for the diagnosis of intensive care-acquired infections. *BMC Infect Dis*. 2013;13:159. doi:10.1186/1471-2334-13-159
318. Yu Q, Cen C, Gao M, Yuan H, Liu J. Combination of early Interleukin-6 and -18 levels predicts postoperative nosocomial infection. *Front Endocrinol*. 2022;13:1019667. doi:10.3389/fendo.2022.1019667
319. Andaluz-Ojeda D, Bobillo F, Iglesias V, et al. A combined score of pro- and anti-inflammatory interleukins improves mortality prediction in severe sepsis. *Cytokine*. 2012;57(3):332-336.

doi:10.1016/j.cyto.2011.12.002

320. Xie Y, Li B, Lin Y, et al. Combining Blood-Based Biomarkers to Predict Mortality of Sepsis at Arrival at the Emergency Department. *Med Sci Monit Int Med J Exp Clin Res.* 2021;27:e929527. doi:10.12659/MSM.929527
321. Song J, Moon S, Park DW, et al. Biomarker combination and SOFA score for the prediction of mortality in sepsis and septic shock: A prospective observational study according to the Sepsis-3 definitions. *Medicine (Baltimore).* 2020;99(22):e20495. doi:10.1097/MD.00000000000020495
322. Tian T, Wei B, Wang J. Study of C-reactive protein, procalcitonin, and immunocyte ratios in 194 patients with sepsis. *BMC Emerg Med.* 2021;21(1):81. doi:10.1186/s12873-021-00477-5
323. Zhou X, Liu C, Xu Z, et al. Combining host immune response biomarkers and clinical scores for early prediction of sepsis in infection patients. *Ann Med.* 2024;56(1):2396569. doi:10.1080/07853890.2024.2396569
324. Yang Y, Xie J, Guo F, et al. Combination of C-reactive protein, procalcitonin and sepsis-related organ failure score for the diagnosis of sepsis in critical patients. *Ann Intensive Care.* 2016;6(1):51. doi:10.1186/s13613-016-0153-5
325. Bozza FA, Salluh JI, Japiassu AM, et al. Cytokine profiles as markers of disease severity in sepsis: a multiplex analysis. *Crit Care Lond Engl.* 2007;11(2):R49. doi:10.1186/cc5783
326. Kalantar KL, Neyton L, Abdelghany M, et al. Integrated host-microbe plasma metagenomics for sepsis diagnosis in a prospective cohort of critically ill adults. *Nat Microbiol.* 2022;7(11):1805-1816. doi:10.1038/s41564-022-01237-2
327. Gant V, Singer M. Combining pathogen and host metagenomics for a better sepsis diagnostic. *Nat Microbiol.* 2022;7(11):1713-1714. doi:10.1038/s41564-022-01255-0
328. Hufnagel K, Fathi A, Stroh N, et al. Discovery and systematic assessment of early biomarkers that predict progression to severe COVID-19 disease. *Commun Med.* 2023;3(1):51. doi:10.1038/s43856-023-00283-z
329. Su CY, Zhou S, Gonzalez-Kozlova E, et al. Circulating proteins to predict COVID-19 severity. *Sci Rep.* 2023;13(1):6236. doi:10.1038/s41598-023-31850-y
330. Phetsouphanh C, Darley DR, Wilson DB, et al. Immunological dysfunction persists for 8 months following initial mild-to-moderate SARS-CoV-2 infection. *Nat Immunol.* 2022;23(2):210-216. doi:10.1038/s41590-021-01113-x
331. Ntalouka MP, Brotis A, Mermiri M, et al. Predicting the Outcome of Patients with Severe COVID-19 with Simple Inflammatory Biomarkers: The Utility of Novel Combined Scores-Results from a European Tertiary/Referral Centre. *J Clin Med.* 2024;13(4):967. doi:10.3390/jcm13040967
332. Nguyen HTT, Le-Quy V, Ho SV, et al. Outcome prediction model and prognostic biomarkers for COVID-19 patients in Vietnam. *ERJ Open Res.* 2023;9(2):00481-02022. doi:10.1183/23120541.00481-2022
333. Tanaka H, Toya E, Chubachi S, et al. Combined use of serum ferritin and KL-6 levels as biomarkers for predicting COVID-19 severity. *Respir Investig.* 2024;62(6):1132-1136. doi:10.1016/j.resinv.2024.09.011
334. Zhou Z, Li Y, Ma Y, Zhang H, Deng Y, Zhu Z. Multi-biomarker is an early-stage predictor for progression of Coronavirus disease 2019 (COVID-19) infection. *Int J Med Sci.* 2021;18(13):2789-2798. doi:10.7150/ijms.58742
335. Asare-Werehene M, McGuinty M, Vranjkovic A, et al. Longitudinal profiles of plasma gelsolin, cytokines and antibody expression predict COVID-19 severity and hospitalization outcomes. *Front Immunol.* 2022;13:1011084. doi:10.3389/fimmu.2022.1011084
336. Sun L, Song F, Shi N, et al. Combination of four clinical indicators predicts the severe/critical

- symptom of patients infected COVID-19. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol*. 2020;128:104431. doi:10.1016/j.jcv.2020.104431
337. Wu Z, Geng N, Liu Z, et al. Presepsin as a prognostic biomarker in COVID-19 patients: combining clinical scoring systems and laboratory inflammatory markers for outcome prediction. *Viol J*. 2024;21(1):96. doi:10.1186/s12985-024-02367-1
338. Akhmaltdinova L, Mekhantseva I, Turgunova L, Kostinov M, Zhumadilova Z, Turmukhambetova A. Association of soluble PD-L1 and NLR combination with 1-Year mortality in patients with COVID-19. *Int Immunopharmacol*. 2024;129:111600. doi:10.1016/j.intimp.2024.111600
339. Mink S, Drexel H, Leiherer A, et al. Interplay of inflammatory markers and anti-SARS-CoV-2 antibodies in COVID-19 mortality: A prospective cohort study. *Int J Infect Dis IJID Off Publ Int Soc Infect Dis*. 2024;143:107016. doi:10.1016/j.ijid.2024.107016
340. Byeon SK, Madugundu AK, Garapati K, et al. Development of a multiomics model for identification of predictive biomarkers for COVID-19 severity: a retrospective cohort study. *Lancet Digit Health*. 2022;4(9):e632-e645. doi:10.1016/S2589-7500(22)00112-1
341. Chadaga K, Prabhu S, Sampathila N, et al. Explainable artificial intelligence approaches for COVID-19 prognosis prediction using clinical markers. *Sci Rep*. 2024;14(1):1783. doi:10.1038/s41598-024-52428-2
342. Clemente C, Fuentes Ferrer ME, Ortega Heredia D, Julián Jiménez A, Martín-Sánchez FJ, González Del Castillo J. Usefulness of combining inflammatory biomarkers and clinical scales in an emergency department to stratify risk in patients with infections. *Emerg Rev Soc Espanola Med Emerg*. 2024;36(1):9-16. doi:10.55633/s3me/04.2023
343. Tuerxun K, Eklund D, Wallgren U, et al. Predicting sepsis using a combination of clinical information and molecular immune markers sampled in the ambulance. *Sci Rep*. 2023;13(1):14917. doi:10.1038/s41598-023-42081-6
344. Carlton HC, Savović J, Dawson S, Mitchelmore PJ, Elwenspoek MMC. Novel point-of-care biomarker combination tests to differentiate acute bacterial from viral respiratory tract infections to guide antibiotic prescribing: a systematic review. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. 2021;27(8):1096-1108. doi:10.1016/j.cmi.2021.05.018
345. Charlson ME, Charlson RE, Peterson JC, Marinopoulos SS, Briggs WM, Hollenberg JP. The Charlson comorbidity index is adapted to predict costs of chronic disease in primary care patients. *J Clin Epidemiol*. 2008;61(12):1234-1240. doi:10.1016/j.jclinepi.2008.01.006
346. Grebenciucova E, VanHaerents S. Interleukin 6: at the interface of human health and disease. *Front Immunol*. 2023;14:1255533. doi:10.3389/fimmu.2023.1255533
347. Perera PY, Lichy JH, Waldmann TA, Perera LP. The role of interleukin-15 in inflammation and immune responses to infection: implications for its therapeutic use. *Microbes Infect*. 2012;14(3):247-261. doi:10.1016/j.micinf.2011.10.006
348. Chiscano-Camón L, Plata-Menchaca E, Ruiz-Rodríguez JC, Ferrer R. [Pathophysiology of septic shock]. *Med Intensiva*. 2022;46 Suppl 1:1-13. doi:10.1016/j.medine.2022.03.010
349. Wacker C, Prkno A, Brunkhorst FM, Schlattmann P. Procalcitonin as a diagnostic marker for sepsis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2013;13(5):426-435. doi:10.1016/S1473-3099(12)70323-7
350. Burke B. The role of matrix metalloproteinase 7 in innate immunity. *Immunobiology*. 2004;209(1-2):51-56. doi:10.1016/j.imbio.2004.04.005
351. Mantovani A, Garlanda C. Humoral Innate Immunity and Acute-Phase Proteins. *N Engl J Med*. 2023;388(5):439-452. doi:10.1056/NEJMra2206346
352. Jolly L, Carrasco K, Salcedo-Magguilli M, et al. sTREM-1 is a specific biomarker of TREM-1 pathway activation. *Cell Mol Immunol*. 2021;18(8):2054-2056. doi:10.1038/s41423-021-00733-5

353. Liu M, Guo S, Hibbert JM, et al. CXCL10/IP-10 in infectious diseases pathogenesis and potential therapeutic implications. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2011;22(3):121-130. doi:10.1016/j.cytogfr.2011.06.001
354. Asaf S, Maqsood F, Jalil J, et al. Lipocalin 2-not only a biomarker: a study of current literature and systematic findings of ongoing clinical trials. *Immunol Res.* 2023;71(3):287-313. doi:10.1007/s12026-022-09352-2
355. Maruchi Y, Tsuda M, Mori H, et al. Plasma myeloperoxidase-conjugated DNA level predicts outcomes and organ dysfunction in patients with septic shock. *Crit Care Lond Engl.* 2018;22(1):176. doi:10.1186/s13054-018-2109-7
356. Freeman BD, Machado FS, Tanowitz HB, Desruisseaux MS. Endothelin-1 and its role in the pathogenesis of infectious diseases. *Life Sci.* 2014;118(2):110-119. doi:10.1016/j.lfs.2014.04.021
357. Fiedler U, Augustin HG. Angiopoietins: a link between angiogenesis and inflammation. *Trends Immunol.* 2006;27(12):552-558. doi:10.1016/j.it.2006.10.004
358. Olson JD. D-dimer: An Overview of Hemostasis and Fibrinolysis, Assays, and Clinical Applications. *Adv Clin Chem.* 2015;69:1-46. doi:10.1016/bs.acc.2014.12.001
359. Napolitano F, Giudice V, Selleri C, Montuori N. Plasminogen System in the Pathophysiology of Sepsis: Upcoming Biomarkers. *Int J Mol Sci.* 2023;24(15):12376. doi:10.3390/ijms241512376
360. Zhang P, Wang Y, Miao Q, Chen Y. The therapeutic potential of PD-1/PD-L1 pathway on immune-related diseases: Based on the innate and adaptive immune components. *Biomed Pharmacother Biomedecine Pharmacother.* 2023;167:115569. doi:10.1016/j.biopha.2023.115569
361. Aldo P, Marusov G, Svancara D, David J, Mor G. Simple PlexTM: A Novel Multi-Analyte, Automated Microfluidic Immunoassay Platform for the Detection of Human and Mouse Cytokines and Chemokines. *Am J Reprod Immunol N Y N* 1989. 2016;75(6):678-693. doi:10.1111/aji.12512
362. Dysinger M, Marusov G, Fraser S. Quantitative analysis of four protein biomarkers: An automated microfluidic cartridge-based method and its comparison to colorimetric ELISA. *J Immunol Methods.* 2017;451:1-10. doi:10.1016/j.jim.2017.08.009
363. Ella Automated ELISA - Precision Multiplexing Made Simple | Bio-Techne. Accessed December 1, 2024. <https://www.bio-techne.com/instruments/simple-plex>
364. de Hond AAH, Steyerberg EW, van Calster B. Interpreting area under the receiver operating characteristic curve. *Lancet Digit Health.* 2022;4(12):e853-e855. doi:10.1016/S2589-7500(22)00188-1
365. Hauptman PJ, Chibnall JT. Unmeasured Confounders and Predictive Models: What's Your C-Statistic? *J Card Fail.* 2015;21(11):857-858. doi:10.1016/j.cardfail.2015.09.006
366. Alba AC, Agoritsas T, Walsh M, et al. Discrimination and Calibration of Clinical Prediction Models: Users' Guides to the Medical Literature. *JAMA.* 2017;318(14):1377-1384. doi:10.1001/jama.2017.12126
367. Nassar AP, Mocelin AO, Nunes ALB, et al. Caution when using prognostic models: a prospective comparison of 3 recent prognostic models. *J Crit Care.* 2012;27(4):423.e1-7. doi:10.1016/j.jcrc.2011.08.016
368. Almansa R, Ortega A, Ávila-Alonso A, et al. Quantification of Immune Dysregulation by Next-generation Polymerase Chain Reaction to Improve Sepsis Diagnosis in Surgical Patients. *Ann Surg.* 2019;269(3):545-553. doi:10.1097/SLA.0000000000002406
369. Seymour CW, Liu VX, Iwashyna TJ, et al. Assessment of Clinical Criteria for Sepsis: For the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA.* 2016;315(8):762-774. doi:10.1001/jama.2016.0288
370. Aublanc M, Richard JC. Assessment of clinical criteria for sepsis-was the cart put before the horse? *J Thorac Dis.* 2016;8(8):E816-818. doi:10.21037/jtd.2016.07.51

371. Almansa R, Martín S, Martín-Fernández M, et al. Combined quantification of procalcitonin and HLA-DR improves sepsis detection in surgical patients. *Sci Rep*. 2018;8(1):11999. doi:10.1038/s41598-018-30505-7
372. Reichsoellner M, Raggam RB, Wagner J, Krause R, Hoenigl M. Clinical evaluation of multiple inflammation biomarkers for diagnosis and prognosis for patients with systemic inflammatory response syndrome. *J Clin Microbiol*. 2014;52(11):4063-4066. doi:10.1128/JCM.01954-14
373. Hou X, Liu C, Lian H, et al. The value of neutrophil gelatinase-associated lipocalin and citrullinated alpha enolase peptide-1 antibody in diagnosis, classification, and prognosis for patients with sepsis. *Medicine (Baltimore)*. 2020;99(34):e21893. doi:10.1097/MD.00000000000021893
374. Wang B, Chen G, Zhang J, Xue J, Cao Y, Wu Y. Increased Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin is Associated with Mortality and Multiple Organ Dysfunction Syndrome in Severe Sepsis and Septic Shock. *Shock Augusta Ga*. 2015;44(3):234-238. doi:10.1097/SHK.0000000000000408
375. Son E, Cho WH, Jang JH, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a prognostic biomarker of severe acute respiratory distress syndrome. *Sci Rep*. 2022;12(1):7909. doi:10.1038/s41598-022-12117-4
376. Alves BE, Montalvao SAL, Aranha FJP, et al. Imbalances in serum angiotensin concentrations are early predictors of septic shock development in patients with post chemotherapy febrile neutropenia. *BMC Infect Dis*. 2010;10:143. doi:10.1186/1471-2334-10-143
377. Thanh Duyen LT, Manh BV, Phuong Thao TT, et al. Prognostic significance of the angiotensin-2 for early prediction of septic shock in severe sepsis patients. *Future Sci OA*. 2022;8(10):FSO825. doi:10.2144/fsoa-2022-0077
378. Szederjesi J, Almasy E, Lazar A, Huțanu A, Georgescu A. The Role of Angiotensin-2 in the Diagnosis and Prognosis of Sepsis. *J Crit Care Med Univ Med Si Farm Din Targu-Mures*. 2015;1(1):18-23. doi:10.1515/jccm-2015-0004
379. Liu XW, Ma T, Liu W, et al. Sustained increase in angiotensin-2, heparin-binding protein, and procalcitonin is associated with severe sepsis. *J Crit Care*. 2018;45:14-19. doi:10.1016/j.jcrc.2018.01.010
380. Jedynak M, Siemiatkowski A, Mroczo B, Groblewska M, Milewski R, Szmitkowski M. Soluble TREM-1 Serum Level can Early Predict Mortality of Patients with Sepsis, Severe Sepsis and Septic Shock. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2018;66(4):299-306. doi:10.1007/s00005-017-0499-x
381. Kung CT, Su CM, Hsiao SY, et al. The Prognostic Value of Serum Soluble TREM-1 on Outcome in Adult Patients with Sepsis. *Diagn Basel Switz*. 2021;11(11):1979. doi:10.3390/diagnostics11111979
382. Ríos-Toro JJ, Márquez-Coello M, García-Álvarez JM, et al. Soluble membrane receptors, interleukin 6, procalcitonin and C reactive protein as prognostic markers in patients with severe sepsis and septic shock. *PLoS One*. 2017;12(4):e0175254. doi:10.1371/journal.pone.0175254
383. Wright SW, Lovelace-Macon L, Hantrakun V, et al. sTREM-1 predicts mortality in hospitalized patients with infection in a tropical, middle-income country. *BMC Med*. 2020;18(1):159. doi:10.1186/s12916-020-01627-5
384. Davoudian S, Piovani D, Desai A, et al. A cytokine/PTX3 prognostic index as a predictor of mortality in sepsis. *Front Immunol*. 2022;13:979232. doi:10.3389/fimmu.2022.979232
385. Ronanki K, Bairwa M, Kant R, Bahurupi Y, Kumar R. Pentraxin 3 (PTX3) as a Predictor of Severity of Sepsis in Patients Admitted to an Intensive Care Unit: A Cross-Sectional Study From North India. *Cureus*. 2022;14(8):e28282. doi:10.7759/cureus.28282
386. Kim SB, Lee KH, Lee JU, et al. Long Pentraxin 3 as a Predictive Marker of Mortality in Severe Septic Patients Who Received Successful Early Goal-Directed Therapy. *Yonsei Med J*. 2017;58(2):370-379. doi:10.3349/ymj.2017.58.2.370

387. Hamed S, Behnes M, Pauly D, et al. Diagnostic value of Pentraxin-3 in patients with sepsis and septic shock in accordance with latest sepsis-3 definitions. *BMC Infect Dis.* 2017;17(1):554. doi:10.1186/s12879-017-2606-3
388. Meisner M, Tschaikowsky K, Palmaers T, Schmidt J. Comparison of procalcitonin (PCT) and C-reactive protein (CRP) plasma concentrations at different SOFA scores during the course of sepsis and MODS. *Crit Care Lond Engl.* 1999;3(1):45-50. doi:10.1186/cc306
389. Leśnik P, Janc J, Mierzchala-Pasierb M, Tański W, Wierciński J, Łysenko L. Interleukin-7 and interleukin-15 as prognostic biomarkers in sepsis and septic shock: Correlation with inflammatory markers and mortality. *Cytokine.* 2023;169:156277. doi:10.1016/j.cyto.2023.156277
390. Zhao J, Zhang Y, Wang J, Wei B, Liu Y. Potential Role and Prognostic Value of Interleukin-15 for Mortality Among Elderly Patients with Sepsis. *J Inflamm Res.* 2023;16:4481-4488. doi:10.2147/JIR.S429080
391. Jekarl DW, Kim JY, Ha JH, et al. Diagnosis and Prognosis of Sepsis Based on Use of Cytokines, Chemokines, and Growth Factors. *Dis Markers.* 2019;2019:1089107. doi:10.1155/2019/1089107
392. Tan M, Lu Y, Jiang H, Zhang L. The diagnostic accuracy of procalcitonin and C-reactive protein for sepsis: A systematic review and meta-analysis. *J Cell Biochem.* 2019;120(4):5852-5859. doi:10.1002/jcb.27870
393. Wang T, Han JG, Dong W, Yu YH. LCN2 and ELANE overexpression induces sepsis. *Medicine (Baltimore).* 2024;103(7):e37255. doi:10.1097/MD.00000000000037255
394. Wang M, Zhang Q, Zhao X, Dong G, Li C. Diagnostic and prognostic value of neutrophil gelatinase-associated lipocalin, matrix metalloproteinase-9, and tissue inhibitor of matrix metalloproteinases-1 for sepsis in the Emergency Department: an observational study. *Crit Care Lond Engl.* 2014;18(6):634. doi:10.1186/s13054-014-0634-6
395. Liu W, Guo X, Jin L, et al. Lipocalin-2 participates in sepsis-induced myocardial injury by mediating lipid accumulation and mitochondrial dysfunction. *Front Cardiovasc Med.* 2022;9:1009726. doi:10.3389/fcvm.2022.1009726
396. Chang W, Zhu S, Pan C, et al. Predictive utilities of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in severe sepsis. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem.* 2018;481:200-206. doi:10.1016/j.cca.2018.03.020
397. Hong DY, Kim JW, Paik JH, et al. Value of plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin in predicting the mortality of patients with sepsis at the emergency department. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem.* 2016;452:177-181. doi:10.1016/j.cca.2015.11.026
398. Latour-Pérez J, Alcalá-López A, García-García MA, et al. [Prognostic value of the sTREM-1 plasma values in patients with sepsis: a cohort study]. *Med Intensiva.* 2010;34(4):231-236. doi:10.1016/j.medin.2009.11.009
399. Sathe NA, Bhatraju PK, Mikacenic C, et al. Relationships Between Age, Soluble Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells-1 (sTREM-1), and Mortality Among Critically Ill Adults: A Cohort Study. *Shock Augusta Ga.* 2022;57(2):205-211. doi:10.1097/SHK.0000000000001888
400. Wu Y, Wang F, Fan X, et al. Accuracy of plasma sTREM-1 for sepsis diagnosis in systemic inflammatory patients: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care Lond Engl.* 2012;16(6):R229. doi:10.1186/cc11884
401. Tian R, Wang X, Pan T, et al. Plasma PTX3, MCP1 and Ang2 are early biomarkers to evaluate the severity of sepsis and septic shock. *Scand J Immunol.* 2019;90(6):e12823. doi:10.1111/sji.12823
402. Rosenberger CM, Wick KD, Zhuo H, et al. Early plasma angiopoietin-2 is prognostic for ARDS and mortality among critically ill patients with sepsis. *Crit Care Lond Engl.* 2023;27(1):234. doi:10.1186/s13054-023-04525-3

403. Yu WK, McNeil JB, Wickersham NE, Shaver CM, Bastarache JA, Ware LB. Angiotensin-2 outperforms other endothelial biomarkers associated with severe acute kidney injury in patients with severe sepsis and respiratory failure. *Crit Care Lond Engl*. 2021;25(1):48. doi:10.1186/s13054-021-03474-z
404. David S, Mukherjee A, Ghosh CC, et al. Angiotensin-2 may contribute to multiple organ dysfunction and death in sepsis*. *Crit Care Med*. 2012;40(11):3034-3041. doi:10.1097/CCM.0b013e31825fdc31
405. Hahn WO, Mikacenic C, Price BL, et al. Host derived biomarkers of inflammation, apoptosis, and endothelial activation are associated with clinical outcomes in patients with bacteremia and sepsis regardless of microbial etiology. *Virulence*. 2016;7(4):387-394. doi:10.1080/21505594.2016.1144003
406. Zhuo M, Fu S, Chi Y, et al. Angiotensin-2 as a prognostic biomarker in septic adult patients: a systematic review and meta-analysis. *Ann Intensive Care*. 2024;14(1):169. doi:10.1186/s13613-024-01393-0
407. Statz S, Sabal G, Walborn A, et al. Angiotensin 2 Levels in the Risk Stratification and Mortality Outcome Prediction of Sepsis-Associated Coagulopathy. *Clin Appl Thromb Off J Int Acad Clin Appl Thromb*. 2018;24(8):1223-1233. doi:10.1177/1076029618786029
408. Nasioudis D, Witkin SS. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin and innate immune responses to bacterial infections. *Med Microbiol Immunol (Berl)*. 2015;204(4):471-479. doi:10.1007/s00430-015-0394-1
409. Flo TH, Smith KD, Sato S, et al. Lipocalin 2 mediates an innate immune response to bacterial infection by sequestering iron. *Nature*. 2004;432(7019):917-921. doi:10.1038/nature03104
410. Miethke M, Skerra A. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin expresses antimicrobial activity by interfering with L-norepinephrine-mediated bacterial iron acquisition. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54(4):1580-1589. doi:10.1128/AAC.01158-09
411. Lu F, Inoue K, Kato J, Minamishima S, Morisaki H. Functions and regulation of lipocalin-2 in gut-origin sepsis: a narrative review. *Crit Care Lond Engl*. 2019;23(1):269. doi:10.1186/s13054-019-2550-2
412. Liu Z, Petersen R, Devireddy L. Impaired neutrophil function in 24p3 null mice contributes to enhanced susceptibility to bacterial infections. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2013;190(9):4692-4706. doi:10.4049/jimmunol.1202411
413. Schroll A, Eller K, Feistritz C, et al. Lipocalin-2 ameliorates granulocyte functionality. *Eur J Immunol*. 2012;42(12):3346-3357. doi:10.1002/eji.201142351
414. Bagshaw SM, Bennett M, Haase M, et al. Plasma and urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin in septic versus non-septic acute kidney injury in critical illness. *Intensive Care Med*. 2010;36(3):452-461. doi:10.1007/s00134-009-1724-9
415. Guo Y, Luan L, Patil NK, et al. IL-15 Enables Septic Shock by Maintaining NK Cell Integrity and Function. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2017;198(3):1320-1333. doi:10.4049/jimmunol.1601486
416. Al-Qahtani AA, Alhamlan FS, Al-Qahtani AA. Pro-Inflammatory and Anti-Inflammatory Interleukins in Infectious Diseases: A Comprehensive Review. *Trop Med Infect Dis*. 2024;9(1):13. doi:10.3390/tropicalmed9010013
417. Inoue S, Unsinger J, Davis CG, et al. IL-15 prevents apoptosis, reverses innate and adaptive immune dysfunction, and improves survival in sepsis. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2010;184(3):1401-1409. doi:10.4049/jimmunol.0902307
418. Hiromatsu T, Yajima T, Matsuguchi T, et al. Overexpression of interleukin-15 protects against Escherichia coli-induced shock accompanied by inhibition of tumor necrosis factor-alpha-induced apoptosis. *J Infect Dis*. 2003;187(9):1442-1451. doi:10.1086/374643

419. Bouchon A, Facchetti F, Weigand MA, Colonna M. TREM-1 amplifies inflammation and is a crucial mediator of septic shock. *Nature*. 2001;410(6832):1103-1107. doi:10.1038/35074114
420. Matos A de O, Dantas PHDS, Silva-Sales M, Sales-Campos H. TREM-1 isoforms in bacterial infections: to immune modulation and beyond. *Crit Rev Microbiol*. 2021;47(3):290-306. doi:10.1080/1040841X.2021.1878106
421. Roe K, Gibot S, Verma S. Triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (TREM-1): a new player in antiviral immunity? *Front Microbiol*. 2014;5:627. doi:10.3389/fmicb.2014.00627
422. Cao C, Gu J, Zhang J. Soluble triggering receptor expressed on myeloid cell-1 (sTREM-1): a potential biomarker for the diagnosis of infectious diseases. *Front Med*. 2017;11(2):169-177. doi:10.1007/s11684-017-0505-z
423. François B, Lambden S, Fizez T, et al. Prospective evaluation of the efficacy, safety, and optimal biomarker enrichment strategy for nangibotide, a TREM-1 inhibitor, in patients with septic shock (ASTONISH): a double-blind, randomised, controlled, phase 2b trial. *Lancet Respir Med*. 2023;11(10):894-904. doi:10.1016/S2213-2600(23)00158-3
424. Ziegler T, Horstkotte J, Schwab C, et al. Angiopoietin 2 mediates microvascular and hemodynamic alterations in sepsis. *J Clin Invest*. 2013;123(8):3436-3445. doi:10.1172/JCI66549
425. Hauschildt J, Schrimpf C, Thamm K, et al. Dual Pharmacological Inhibition of Angiopoietin-2 and VEGF-A in Murine Experimental Sepsis. *J Vasc Res*. 2020;57(1):34-45. doi:10.1159/000503787
426. García-Martínez A, López-Barbeito B, Coll-Vinent B, et al. Mortality in patients treated for COVID-19 in the emergency department of a tertiary care hospital during the first phase of the pandemic: Derivation of a risk model for emergency departments. *Emerg Rev Soc Espanola Med Emerg*. 2021;33(4):273-281.
427. Calvillo-Batlles P, Cerdá-Alberich L, Fonfría-Esparcia C, et al. Development of severity and mortality prediction models for covid-19 patients at emergency department including the chest x-ray. *Radiologia*. 2022;64(3):214-227. doi:10.1016/j.rxeng.2021.09.004
428. Bernal E, García-Villalba E, Pons E, et al. Role of vaccination and anti-SARS-CoV-2 antibodies in the clinical outcome of hospitalized COVID-19 patients. *Med Clin (Barc)*. 2023;160(11):476-483. doi:10.1016/j.medcli.2022.12.018
429. Nieto-Ortega E, Maldonado-Del-Arenal A, Escudero-Roque L, et al. A novel scale based on biomarkers associated with COVID-19 severity can predict the need for hospitalization and intensive care, as well as enhanced probabilities for mortality. *Sci Rep*. 2023;13(1):9064. doi:10.1038/s41598-023-30913-4
430. Cisterna-García A, Guillén-Teruel A, Caracena M, et al. A predictive model for hospitalization and survival to COVID-19 in a retrospective population-based study. *Sci Rep*. 2022;12(1):18126. doi:10.1038/s41598-022-22547-9
431. Mabrey FL, Zelnick LR, Morrell ED, et al. Presence of Antibodies to Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 on Admission Is Associated With Decreased Mortality in COVID-19 Critical Illness. *Crit Care Explor*. 2022;4(9):e0754. doi:10.1097/CCE.0000000000000754
432. RECOVERY Collaborative Group. Casirivimab and imdevimab in patients admitted to hospital with COVID-19 (RECOVERY): a randomised, controlled, open-label, platform trial. *Lancet Lond Engl*. 2022;399(10325):665-676. doi:10.1016/S0140-6736(22)00163-5
433. Gottlieb RL, Vaca CE, Paredes R, et al. Early Remdesivir to Prevent Progression to Severe Covid-19 in Outpatients. *N Engl J Med*. 2022;386(4):305-315. doi:10.1056/NEJMoa2116846
434. Cajander S, Kox M, Scicluna BP, et al. Profiling the dysregulated immune response in sepsis: overcoming challenges to achieve the goal of precision medicine. *Lancet Respir Med*. 2024;12(4):305-322. doi:10.1016/S2213-2600(23)00330-2

435. Marshall JC, Leligdowicz A. Gaps and opportunities in sepsis translational research. *EBioMedicine*. 2022;86:104387. doi:10.1016/j.ebiom.2022.104387

436. Maslove DM, Tang B, Shankar-Hari M, et al. Redefining critical illness. *Nat Med*. 2022;28(6):1141-1148. doi:10.1038/s41591-022-01843-x

9. RENDIMIENTO CIENTÍFICO

Artículos científicos principales

TÍTULO: “Synergistic impact of innate immunity hyper-activation and endothelial dysfunction on the magnitude of organ failure in the infection-sepsis continuum”.

de la Fuente A, López-Sánchez J, Vaquero-Roncero LM, Merino García M, Sánchez Barrado ME, Sánchez-Hernández MV, Garcia-Mateo N, Rico-Feijoo J, Muñoz-Bellvís L, González de Castro R, Tedim AP, Ortega A, Abdel-Lah Fernández O, Suárez-de-la-Rica A, Maseda E, Trejo González I, García Carrera GL, Marcos-Vidal JM, Nieto Arranz JM, Chiscano-Camón L, Ferrer R, Ruiz-Rodríguez JC, González-López JJ, Vila Fernández JA, Prieto Carballo R, Lopez-Izquierdo R, Garrosa S, Barón B, Esteban-Velasco C, Aldecoa C, Bermejo-Martin JF.

ISSN: 1201-9712

Editorial: ELSEVIER SCI LTD

Revista: INTERNATIONAL JOURNAL OF INFECTIOUS DISEASES

Índice de Impacto: 8,4

Fuente de impacto: JCR 2022

Categoría: INFECTIOUS DISEASES

Rango: 17/132

Cuartil: 1

TÍTULO: “Synergistic impact of n-antigenemia profiled by a rapid antigen test low anti-s1 antibodies on the risk of hospitalization in COVID-19”.

de la Fuente A, Postigo T, Sanus Ferri F, Domínguez-Gil M, Álvarez-Manzanares J, Eiros JM, Carbajosa Rodríguez V, Sanchez Ramon S, Ortega A, Fadrique Millán LN, Vaquero-Roncero LM, Esteban-Velasco C, Navarro-Matías E, Barbé F, Bermejo-Martin JF, Lopez-Izquierdo R.

ISSN: 1201-9712

Editorial: ELSEVIER SCI LTD

Revista: INTERNATIONAL JOURNAL OF INFECTIOUS DISEASES

Índice de Impacto: 8,4

Fuente de impacto: JCR 2022

Categoría: INFECTIOUS DISEASES

Rango: 17/132

Cuartil: 1

Revised Manuscript - Clean (Incl Title Page with all author details and affiliations)

[Click here to view linked References](#) 

1 **Synergistic impact of innate immunity hyper-activation and endothelial**
 2 **dysfunction on the magnitude of organ failure in the infection-sepsis continuum.**

3 Amanda de la Fuente^{1,2*} (MSc), Jaime López-Sánchez^{3*} (MD), Luis Mario Vaquero-
 4 Roncero^{2,4*} (MD), María Merino García⁵ (MD), María Elisa Sánchez Barrado^{2,4} (MD),
 5 Miguel Vicente Sánchez-Hernández⁴ (MD), Nadia Garcia-Mateo^{1,2} (PhD), Jesús Rico-
 6 Feijoo^{2,6} (MD), Luis Muñoz-Bellvis³ (MD), Rafael González de Castro⁵ (MD), Ana P.
 7 Tedim^{1,2} (PhD), Alicia Ortega^{1,2} (MLT), Omar Abdel-lah Fernández³ (MD), Alejandro
 8 Suárez-de-la-Rica⁷ (MD), Emilio Maseda⁸ (MD), Ignacio Trejo González⁴ (MD),
 9 Geovanna Lizabeth García Carrera⁴ (MD), José Miguel Marcos-Vidal⁵ (MD), Juan Manuel
 10 Nieto Arranz³ (MD), Luis Chiscano-Camón^{9,10} (MD), Ricard Ferrer^{9,10} (MD), Juan Carlos
 11 Ruiz-Rodríguez^{9,10} (MD), Juan José González-López^{11,12,13,14} (MD), José Alberto Vila
 12 Fernández¹⁵ (BSN), Regina Prieto Carballo¹⁵ (BSN), Raul Lopez-Izquierdo^{2,15} (MD),
 13 Sonsoles Garrosa³ (MD), Beatriz Barón³ (MD), Carmen Esteban-Velasco^{3†} (MD), César
 14 Aldecoa^{2,6†} (MD), Jesús F Bermejo-Martin (MD)^{1, 2, 16†}

15 * These first authors contributed equally to this article

16 † These last authors contributed equally to this article

17

18 1. Group for Biomedical Research in Respiratory Infection & Sepsis (BioSepsis).
 19 Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca, (IBSAL), Gerencia Regional de
 20 Salud de Castilla y León, Salamanca, Spain

21 2. Centro de Investigación Biomédica en Red en Enfermedades Respiratorias (CIBERES,
 22 CB22/06/00035), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain.

- 23 3. Department of General and Gastrointestinal Surgery, Hospital Universitario de
24 Salamanca, Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL) and Universidad
25 de Salamanca, Salamanca, Spain.
- 26 4. Anaesthesiology and Reanimation Service, Complejo Asistencial Universitario de
27 Salamanca, Salamanca, Spain.
- 28 5. Anaesthesiology and Reanimation Service, Complejo Asistencial Universitario de
29 León, León, Spain.
- 30 6. Anaesthesiology and Reanimation Service, Hospital Universitario Río Hortega,
31 Valladolid, Spain.
- 32 7. Department of Anesthesiology and Surgical Critical Care, Hospital Universitario de La
33 Princesa, Madrid, Spain.
- 34 8. Department of Anesthesiology and Surgical Critical Care, Hospital Universitario La
35 Paz, Madrid, Spain.
- 36 9. Intensive Care Department, Vall d'Hebron University Hospital, Vall d'Hebron
37 Barcelona Hospital Campus, Barcelona, Spain
- 38 10. Shock, Organ Dysfunction and Resuscitation Research Group, Vall d'Hebron
39 Research Institute (VHIR), Vall d'Hebron Barcelona Hospital Campus, Barcelona, Spain
- 40 11. Department of Clinical Microbiology, Vall d'Hebron Hospital Universitari,
41 Barcelona, Spain
- 42 12. Vall d'Hebron Institut de Recerca (VHIR), Vall d'Hebron Barcelona Hospital
43 Campus, Barcelona, Spain

44 13. CIBER de Enfermedades Infecciosas (CIBERINFEC), Instituto de Salud Carlos III,
45 Madrid, Spain

46 14. Departament of Genetics and Microbiology, Universitat Autònoma de Barcelona,
47 Bellaterra, Spain

48 15. Emergency Department, Hospital Universitario Rio Hortega, Gerencia Regional de
49 Salud de Castilla y León, Valladolid, Spain

50 16. Department of Medicine, Faculty of Medicine, University of Salamanca, Salamanca,
51 Spain

52

53 **Corresponding author:** Jesús F Bermejo-Martin, Department of Medicine, Faculty of

54 Medicine, University of Salamanca, C. Alfonso X el Sabio, s/n, 37007 Salamanca,

55 Spain, jfbermejo@usal.es, +34 923 294 500 ext. 1885

56

57

58

59

60

61

62

63

64

65 **Abstract**

66 **Objectives:** identifying host response biomarkers implicated in the emergence of organ
67 failure during infection is key to improving early detection of this complication.

68 **Methods:** twenty biomarkers of innate immunity, T-cell response, endothelial
69 dysfunction, coagulation and immunosuppression were profiled in 180 surgical patients
70 with infections of diverse severity (IDS) and 53 with no infection (nIDS). Those better
71 differentiating IDS/nIDS in the area under the curve (AUC) were combined to test their
72 association with the Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) score by linear
73 regression analysis in IDS. Results were validated in another IDS cohort of 174 patients.

74 **Results:** C-reactive protein, procalcitonin, pentraxin-3, lipocalin-2, TNF- α ,
75 angiopoietin-2, TREM-1 and IL-15 yielded AUCs ≥ 0.75 to differentiate IDS from
76 nIDS. The combination of lipocalin-2, IL-15, TREM-1, angiopoietin-2 (Dys-4) showed
77 the strongest association with SOFA in IDS (adjusted regression coefficient; standard
78 error; p): Dys-4 (3.55;0.44; <0.001), Lipocalin-2 (2.24; 0.28; <0.001), angiopoietin-2
79 (1.92; 0.33; <0.001), IL-15 (1.78; 0.40; <0.001), TREM-1(1.74; 0.46; <0.001), TNF- α
80 (1.60; 0.31; <0.001), pentraxin-3 (1.12; 0.18; <0.001), procalcitonin (0.85; 0.12;
81 <0.001). Dys-4 provided similar results in the validation cohort.

82 **Conclusions:** there is a synergistic impact of innate immunity hyper-activation
83 (lipocalin-2, IL-15, TREM-1) and endothelial dysfunction (angiopoietin-2) on the
84 magnitude of organ failure during infection.

85

86 **Keywords:** Biomarkers; Diagnosis; Infection; Severity; Synergy

87

88 **1. INTRODUCTION**

89 The emergence of organ failure is a major complication of an infection, leading to
90 sepsis, septic shock or even death in some cases [1]. For clinical operationalization, the
91 degree of organ failure during an infection is typically evaluated using the Sequential
92 Organ Failure Assessment (SOFA) score, which includes parameters of six different
93 organs and systems: the liver, kidneys, lungs, the coagulation system, the central
94 nervous system, and the cardiovascular system [2].

95 The presence of a dysregulated host response is thought to play a major role in the
96 pathogenesis of organ failure during infection [1]. This dysregulated response involves
97 heterogeneous features of hyperinflammatory and immunosuppressive responses [3–5],
98 vascular endothelium dysfunction and coagulation activation [6,7], implying the
99 participation of multiple cell types and organ systems. There are several biomarkers
100 assessing these biological features that can be easily quantified in plasma [8].

101 Identifying the biomarkers or combination of biomarkers contributing the most to the
102 emergence of organ failure during an infection is key to better understanding the
103 physiopathology of this complication and to predict or to early identify it.

104 In this work we evaluated the association between the levels in plasma of twenty
105 biomarkers with the degree of organ failure (as assessed by the SOFA score) in a cohort
106 of surgical patients admitted to the hospital with infections of diverse severity (IDS),
107 covering the full spectrum going from plain infection to sepsis and septic shock. We
108 also evaluated the synergies between these molecules, to identify those combinations
109 showing the largest impact on the SOFA score, validating the main results in an
110 independent cohort of patients with similar characteristics.

111

112 2. MATERIALS AND METHODS

113 **2.1. Study design and patients:** in order to have a representation of infected patients
114 with different degree of organ failure, adult patients (≥ 18 years) with IDS as assessed
115 by the Sequential Organ Failure Assessment Score (SOFA) [2] were recruited
116 prospectively from the Surgery departments and Surgical Intensive Care Units (ICUs)
117 of the four participating hospitals (“Hospital Universitario Río Hortega de Valladolid”,
118 “Complejo Asistencial Universitario de Salamanca”, “Complejo Asistencial
119 Universitario de León” and “Hospital Universitario Marqués de Valdecilla de
120 Santander”), between January 2020 and July 2022. Adult post-surgical patients with no
121 infection and also with diverse severity constituted the uninfected control group (nIDS),
122 which was recruited in parallel in the same centers. Infection was defined according to
123 the US Centers for Disease Control and Prevention National Surveillance Definitions
124 for Specific Types of Infections [9]. Sepsis and septic shock were defined using the
125 SEPSIS-3 consensus definitions [1,10]. A specific standard survey was employed in the
126 four participating hospitals to collect clinical and laboratory data. A different cohort of
127 174 infected patients with different degree of organ failure and similar characteristics
128 was recruited from three participating hospitals (“Hospital Universitario Vall
129 d’Hebron”, “Complejo Asistencial Universitario de Salamanca” and “Hospital
130 Universitario Río Hortega de Valladolid”) for validation purposes. Twenty blood donors
131 with similar age and sex characteristics to the patients recruited from the “Centro de
132 Hemoterapia y Hemodonación de Castilla y León” (Valladolid, Spain) were included as
133 healthy controls for comparing biomarkers’ levels with those of the patients.

134 **2.2 Biomarkers’ profiling:** we quantified twenty biomarkers representative of the
135 different biological functions altered during infection using the Ella-SimplePlex™
136 system from Biotechnne (San Jose, California, USA) as per manufacturer instructions in

137 plasma-EDTA obtained in the first 24 hs of the admission to the participant
138 departments. We studied two biomarkers of neutrophil degranulation: lipocalin-2
139 (LCN2) (also known as neutrophil gelatinase-associated lipocalin, NGAL) and
140 myeloperoxidase (MPO), four biomarkers of endothelial dysfunction: vascular cell
141 adhesion molecule 1 (VCAM-1), endothelin-1 (ET-1), angiopoietin 2 (ANG2),
142 angiopoietin 1 (ANG1), two biomarkers involved in coagulation: D-dimer and
143 urokinase-type plasminogen activator (uPA), nine biomarkers of inflammation:
144 interleukin 6 (IL-6), interleukin 15 (IL-15), tumoral necrosis factor α (TNF- α),
145 procalcitonin (PCT), matrix metalloproteinase 7 (MMP7), pentraxin 3 (PTX3),
146 triggering receptor expressed on myeloid cells -1 (TREM-1), C-reactive protein (CRP)
147 and C-X-C motif chemokine ligand 10 (CXCL10), two of immunosuppression /
148 immunomodulation: interleukin 10 (IL-10) and programmed death-ligand 1 (PD-L1)
149 and one biomarker involved in lymphocyte survival: Interleukin 7 (IL-7).

150 **2.3 Statistical analysis:** the first step was to select those biomarkers altered the most as
151 consequence of an infection. With this scope, we calculated the areas under the receiver
152 operating characteristic curve test (AUC) to identify those biomarkers yielding AUCs \geq
153 0.75 for differentiating the patients of the IDS group from those of the nIDS group.
154 Next, we evaluated the association of the biomarkers selected in the previous step with
155 the SOFA score in the IDS group by using a multivariable linear regression analysis.
156 The comorbidities and hospital admission clinical variables showing a significant
157 association with the SOFA score in the univariable linear regression analysis at the level
158 $p < 0.1$ were introduced in the multivariable analysis as adjusting variables for the
159 biomarkers' levels. In a final step, the biomarkers showing a significant association with
160 the SOFA score in the multivariable analysis were combined additively to create the
161 "host response Dysfunction" scores (Dys). The combination process involved

162 calculating the geometric mean of their concentrations in plasma, starting with the two
163 biomarkers showing the largest regression coefficients and progressively adding the
164 remaining biomarkers based on the magnitude of their regression coefficients. Finally,
165 the association of the Dys scores with the SOFA score was also tested in the
166 multivariable analysis to identify the combination of biomarkers showing the highest
167 impact on the degree of organ failure. Differences in clinical characteristics of the
168 patients of the IDS and nIDS groups were assessed using the χ^2 test for categorical
169 variables. Differences for continuous variables and protein levels were assessed using
170 the Mann-Whitney test. The normality of the levels of biomarker variables was tested
171 using the Shapiro-Wilk test. A new multivariable linear regression analysis was
172 developed in the validation cohort using the same covariates of the derivation cohort.
173 Statistical analysis was performed using IBM SPSS Statistics 25.0 (SPSS INC, Armonk,
174 NY, U.S.A). The level of significance was set at 0.05. A flow chart summarizing the
175 statistical analysis is provided in Figure 1.

176

177

178

179

180

181

182

183

184

185 **3. RESULTS**

186 **3.1 Clinical characteristics of the patients of IDS and nIDS groups (Table 1):** two
187 hundred and thirty-three patients were recruited. One hundred and eighty presented IDS
188 and fifty-three with nIDS. The two groups of patients were comparable in terms of age
189 and gender composition, being elderly male the predominant profile in both groups. IDS
190 and nIDS patients were also similar in their profile of comorbidities, although the
191 presence of chronic cardiac disease was more frequent in the IDS group. The median
192 SOFA score at the moment of recruitment was 1 point in both groups, with no
193 significant differences between them. 46 out of 180 (25.6%) of the patients in the IDS
194 group had sepsis, and 41 out of 180 (22.8%) septic shock. In the IDS group, the most
195 common source of infection was the abdomen (154 out of 180 patients, 85.6 %),
196 followed by the surgical site (15 out of 180 patients, 8.3%), representing other sources
197 of infection a minority, (bacteriemia, 6 patients out of 180, 3.3%, urinary tract 4 patients
198 out of 180, 2.2%). Patients in the IDS groups showed a higher frequency of
199 complications (heart arrhythmia, paralytic ileus, acute renal failure, secondary
200 infections, invasive mechanical ventilation). 17 patients of the IDS group finally died
201 (9.4 %), for none in the nIDS group.

202 **3.2 Biomarkers in the IDS and nIDS groups:** MMP7, ET-1, IL-10, IL-7, IL-6, D-
203 Dimer levels were higher in both the IDS and nIDS groups than in healthy controls. In
204 turn, patients with IDS showed higher levels of LCN2, MPO, PTX3, ANG2, PCT,
205 TREM-1, IL-15, CXCL-10, PD-L1, TNF- α and CRP than the healthy controls. uPA
206 levels were lower in both groups of patients as compared to the healthy controls. When
207 biomarkers were compared between the two groups of patients, patients with IDS had
208 significantly higher concentration of LCN2, MPO, VCAM-1, ANG1, PTX3, ANG2,
209 PCT, TREM-1, IL-15, CXCL10, IL-6, PD-L1, TNF- α , D-Dimer and CRP than the

210 patients in the nIDS group (see Table S1, Supplemental Material). No differences were
211 found for MMP-7, ET-1, IL-10, IL-7 and uPA between the two groups. The AUC
212 analysis evidenced that CRP, PCT, PTX3, LCN2, TNF- α , ANG2, TREM-1 and IL-15
213 were the biomarkers yielding AUCs ≥ 0.75 to identify those patients with IDS when
214 compared with the nIDS group (Table 2).

215 **3.3 Linear regression analysis between biomarkers and the SOFA score in the IDS**

216 **group (derivation cohort):** the univariable analysis evidenced that the eight
217 biomarkers selected in the previous step were significantly associated with the SOFA
218 score (see Table S2, Supplementary Material). This analysis identified age, chronic
219 cardiac disease, neurological disease, active malignant neoplasia, hypertension, COPD
220 (Chronic obstructive pulmonary disease), chronic kidney disease, diabetes, surgical site
221 infection, and gastrointestinal infection as the adjusting variables for the multivariable
222 analysis (see Table S2, Supplementary Material). The multivariable regression analysis
223 showed that LCN2 was the biomarker showing the strongest independent association
224 with the SOFA score (2.24; 0.28; <0.001) (B, coefficient of regression; SE, standard
225 error of B; *p-value*), followed by ANG2 (1.92; 0.33; <0.001), IL-15 (1.78; 0.40;
226 <0.001), TREM-1 (1.74; 0.46; <0.001), TNF- α (1.60; 0.31; <0.001), PTX3 (1.12; 0.18;
227 <0.001) and PCT (0.85; 0.12; <0.001). On the other hand, CRP failed to show a
228 significant association with the SOFA score in the multivariate analysis (see Table S3,
229 Supplemental Material). When these seven biomarkers were combined to form six Dys
230 scores (see Table S4, Supplemental Material), the multivariable analysis revealed that
231 the combination showing the strongest impact on the SOFA score was Dys-4, which
232 included LCN2, ANG2, IL-15, TREM-1 (3.55; 0.44; <0.001) (B, coefficient of
233 regression; SE, standard error of B; *p-value*) (Figure 2 and Table S5, Supplemental
234 Material). These four biomarkers showed significant differences between the IDS group

235 and nIDS group and the Healthy controls as we explained above (see Table S1 and
236 Figure S1, Supplemental Material)

237 **3.4 Validation of Dys-4 in a second independent cohort:** clinical data and blood
238 samples were collected from 174 infected patients to validate the previous results. The
239 median age of this cohort was 67 years and the gender's composition was balanced (90
240 out of 74 were male, 52.90%) (see Table S6, Supplemental Material). The most
241 frequent comorbidities were immunosuppression (22.0%), chronic cardiac disease
242 (17.9%) and active malignant neoplasia (14.5%), followed by chronic kidney disease
243 (9.2%), COPD (6.4%) and chronic liver dysfunction (2.9%). The median SOFA score at
244 recruitment was 1.50 points (IQR, 5.00). Within the 174 infected patients, 46 (26.4%)
245 presented sepsis and 41 (23.6%) septic shock. The most frequent source of infection in
246 this new cohort was the gastrointestinal (145 out of 174 patients, 83.3%), followed by
247 urinary tract (23 out of 174 patients, 13.2%), with other sources representing a minority,
248 (surgical site, 1 patient out of 174, 0.6%; respiratory tract, 1 patient out of 174, 0.6%;
249 osteoarticular, 1 patient out of 174, 0.6%; skin and soft tissue, 3 out of 174, 1.7%). Of
250 these patients, 41% required vasopressor therapy and 27% invasive mechanical
251 ventilation. 25 patients finally died during hospitalization (15.4%) (see Table S6,
252 Supplemental Material). Similarly to that observed in the derivation cohort, the
253 multivariable regression analysis revealed that the combination Dys-4 outperformed
254 individual biomarkers and the other five Dys combinations, being the combination
255 exhibiting the strongest association with the SOFA score (3.42;0.30; <0.001) (B,
256 coefficient of regression; SE, standard error of B; p-value) (Figure 3 and Table S7 and
257 table S8, Supplemental Material).

258

259

260 4. DISCUSSION

261 In this work, we have identified seven biomarkers (LCN2, ANG2, IL-15, TREM-1,
262 TNF- α , PTX3, PCT) whose levels in plasma were directly associated with the degree of
263 organ failure caused by an infection, as assessed by the SOFA score. Interestingly, the
264 simultaneous presence of high levels in plasma of four of these biomarkers (LCN2, IL-
265 15, TREM-1, ANG2) (Dys-4) had a much greater impact on the SOFA score than that
266 of any of these seven individual biomarkers. The superiority of Dys-4 over individual
267 biomarkers was confirmed in a new validation cohort.

268 While procalcitonin, probably the biomarker most extensively studied in sepsis, did
269 show robust results detecting the IDS group, it was outperformed by Dys-4 in the
270 multivariable analysis evaluating associations with the SOFA score in this group.

271 LCN2, IL-15, and TREM-1 play major roles in the innate immune response against an
272 infecting pathogen. Lipocalin-2, also known as neutrophil gelatinase-associated
273 lipocalin (NGAL), is a protein expressed in myelocytes and stored in neutrophil-specific
274 granules [11,12]. It is an essential component of antimicrobial innate immunity and is
275 released from neutrophils upon stimulation by phagocytosis (neutrophil degranulation).
276 Its functions involve preventing bacteria from acquiring iron to inhibit bacterial growth
277 and participate in tissue remodelling attenuation of inflammation and preventing the
278 deleterious effects of neutrophil extracellular traps [13]. However, increased
279 intravascular levels of degranulated neutrophil proteins could induce increased
280 proteolysis, endothelial injury, and organ failure [11–13]. Thus, several studies have
281 shown that LCN2 is associated with higher organ failure and severity in septic patients
282 [7,14,15]. IL-15 has a potent ability to activate and expand Natural Killer cells [16]. It is
283 a cytokine that induces several pro-inflammatory cytokines such as TNF- α or IL-1 β
284 [17], being involved in the pathogenesis of severe bacterial and viral infections [18–20].

285 The triggering receptor expressed on myeloid cells 1 (TREM-1) is an innate immunity
286 receptor associated with neutrophil and monocyte response and inflammation [21]. In
287 bacterial infections, the activation of TREM-1 is associated with the production of pro-
288 inflammatory molecules like IL-6 or TNF- α . In addition, TREM-1 is also associated
289 with increased degranulation of neutrophils [22,23]. The soluble form of TREM-1 is
290 released into body fluids when TREM-1 expression is upregulated [21]. Studies have
291 shown that soluble TREM-1 could be released into the blood or body fluids during
292 infection, and thus it could be used to identify and determine the severity of infection
293 [24]. Previous studies demonstrate that sTREM-1 is strongly associated with death and
294 persistent organ dysfunction among adults with sepsis [25] and critically ill older adults
295 [26]. In turn, angiopoietin-2 is a biomarker of endothelial dysfunction that promotes
296 loss of vascular barrier integrity [27]. Ang-2 antagonizes Ang-1 by occupying its
297 receptor (TEK tyrosine kinase). When Ang-2 binds to sTEK, it promotes pro-
298 inflammatory, pro-thrombotic and angiogenic pathways, with consequent
299 destabilization of the endothelial vasculature and endothelial damage [28,29]. In several
300 works, Ang-2 was associated with critically ill and a high risk of mortality in infected
301 and non-infected patients [27,29,30].

302 While innate immunity hyper-activation and endothelial dysfunction are recognised as
303 key actors in the pathogenesis of severe infection [4], our study is pioneer in suggesting
304 a synergistic effect of both events in the escalation of organ failure caused by an
305 infection. Our findings pose major translational consequences. Simultaneous assessment
306 of lipocalin-2, IL-15, TREM-1 and angiopoietin-2 could represent a better option than
307 assessing individual biomarkers to identify the emergence of organ failure during an
308 infection. Monitoring increases of Dys-4 in the course of an infection could help to
309 identify those patients deteriorating. In addition, therapeutic interventions

310 concomitantly modulating innate immunity hyperactivation and preventing endothelial
311 dysfunction could yield better results by preventing progression to organ failure in
312 infected patients.

313 Our work has four major strengths. First, we focused our analysis on the biomarkers
314 better identifying the presence of an infection, differentiating it from a systemic
315 inflammatory response due to surgery. Second, we included in our study infections with
316 diverse severity, to comprehensively capture the variations of the biomarkers associated
317 with the wide diversity of clinical presentations observed in patients admitted to
318 surgical wards or ICUs, covering the full continuum going from infection to sepsis and
319 septic shock. Third, our results were reproduced in a new validation cohort. Fourth, we
320 employed the Ella-SimplePlex to profile biomarkers 'levels, a platform currently used
321 in hospital settings to provide quick results within minutes. A limitation of our study is
322 that it does not evaluate the ability of biomarkers to predict increases in the SOFA score
323 during hospitalization and that it was focused on surgical patients. Our results warrant
324 the development of further prospective studies evaluating the combination of lipocalin-
325 2, IL-15, TREM-1, and angiopoietin-2 to early detect infected patients progressing
326 badly and to assess its performance on non-surgical patients with infection.

327 In conclusion, our results suggest a synergistic impact between heightened innate
328 immunity activation as indicated by elevated levels of lipocalin-2, IL-15, and TREM-1,
329 and endothelial dysfunction represented by angiopoietin-2, on the severity of organ
330 failure in the infection-sepsis continuum.

331

332

333

334 **Conflict of interest:** The authors declare that they have no competing interests.

335 **Funding Source:** This work was supported by the Instituto de Salud Carlos III (ISCIII)
336 and co-funded by European Regional Development Fund/European Social Fund "A way
337 to make Europe"/"Investing in your future" [Project "PI19/00590" (JFBM), Project
338 "PI22/00968" (JFBM), Sara Borrell program "CD018/0123" (APT) and PFIS program
339 "FI20/00278" (AdIF)]. The funding sources did not play any role in the design of the
340 study and collection, analysis, interpretation of data or writing the manuscript.

341 **Ethical statement:** This study was reviewed and approved by the respective Committees
342 for Ethics in Clinical Research of the participating hospitals, with the approval numbers:
343 "Comité de Ética de la Investigación con medicamentos (CEIm) del Área de Salud de
344 Valladolid Oeste" (PI142-19, 22-PI182); "Comité de Ética de la Investigación con
345 medicamentos del Área de Salud de Salamanca" (PI 2019 11 382; PI 2022 03 990);
346 "Comité de Ética de Investigación con Medicamentos y Comisión de Proyectos de
347 Investigación del Hospital Universitari Vall D'Hebron" (PR(CS)586/2023). All
348 participants/patients (or their proxies/legal guardians) provided informed consent to
349 participate in the study. All participants/patients (or their proxies/legal guardians)
350 provided informed consent for the publication of their anonymised case details. The work
351 was developed following current Spanish law for Biomedical Research, fulfilling the
352 standards indicated by the Declaration of Helsinki.

353 **Acknowledgements:** The authors thank the nursing teams of the participating clinical
354 services for their continuous support to the research program. They also thank the
355 "Biobanco-Hospital Clínico Universitario de Salamanca", for assistance with sample
356 storing, CHEMCYL (Valladolid, Spain) for providing the samples from healthy
357 controls and Vall d'Hebron University Hospital Biobank for supplying part of samples
358 of the new validation cohort.

359 **Contribution:** AdIF, JFBM, NGM, APT, LMVR, CEV, CA, RGdC, LMB and MVSH
360 were involved in the conception and design of the study. AdIF, LMVR, MESB, JLS,
361 MMG, JRF, AO, OAF, ASdIR, EM, ITG, GLGC, JMMV, JMNA, LCC, RF, JCRR,
362 JJGL, JAVF, RPC, RLI, SG, BB recruited the samples and acquired of data. AdIF and
363 JFBM conducted the analysis and interpretation of data. AdIF and JFBM drafting the
364 article. All authors it critically reviewed for important intellectual content. All authors
365 approved of the final version to be submitted.

366

367

368

369

370

371

372

373

374

375

376

377

378

379

380 **References**

- 381 [1] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M,
382 et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock
383 (Sepsis-3). *JAMA* 2016;315:801–10. <https://doi.org/10.1001/jama.2016.0287>.
- 384 [2] Vincent J-L, Moreno R, Takala J, Willatts S, De Mendonça A, Bruining H, et al.
385 The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ
386 dysfunction/failure. *Intensive Care Med* 1996;22:707–10.
387 <https://doi.org/10.1007/BF01709751>.
- 388 [3] Wiersinga WJ, van der Poll T. Immunopathophysiology of human sepsis.
389 *EBioMedicine* 2022;86:104363. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2022.104363>.
- 390 [4] Rubio I, Osuchowski MF, Shankar-Hari M, Skirecki T, Winkler MS, Lachmann G,
391 et al. Current gaps in sepsis immunology: new opportunities for translational
392 research. *Lancet Infect Dis* 2019;19:e422–36. [https://doi.org/10.1016/S1473-](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(19)30567-5)
393 [3099\(19\)30567-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(19)30567-5).
- 394 [5] van der Poll T, Shankar-Hari M, Wiersinga WJ. The immunology of sepsis.
395 *Immunity* 2021;54:2450–64. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2021.10.012>.
- 396 [6] Levi M, van der Poll T. Coagulation and sepsis. *Thrombosis Research*
397 2017;149:38–44. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2016.11.007>.
- 398 [7] Martin-Fernandez M, Vaquero-Roncero LM, Almansa R, Gómez-Sánchez E,
399 Martín S, Tamayo E, et al. Endothelial dysfunction is an early indicator of sepsis
400 and neutrophil degranulation of septic shock in surgical patients. *BJS Open*
401 2020;4:524–34. <https://doi.org/10.1002/bjs5.50265>.
- 402 [8] Barichello T, Generoso JS, Singer M, Dal-Pizzol F. Biomarkers for sepsis: more
403 than just fever and leukocytosis-a narrative review. *Crit Care* 2022;26:14.
404 <https://doi.org/10.1186/s13054-021-03862-5>.

- 405 [9] CDC/NHSN. CDC/NHSN Surveillance Definitions for Specific Types of
406 Infections 2023.
- 407 [10] Shankar-Hari M, Phillips GS, Levy ML, Seymour CW, Liu VX, Deutschman CS,
408 et al. Developing a New Definition and Assessing New Clinical Criteria for Septic
409 Shock: For the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic
410 Shock (Sepsis-3). *JAMA* 2016;315:775–87.
411 <https://doi.org/10.1001/jama.2016.0289>.
- 412 [11] Lu F, Inoue K, Kato J, Minamishima S, Morisaki H. Functions and regulation of
413 lipocalin-2 in gut-origin sepsis: a narrative review. *Crit Care* 2019;23:269.
414 <https://doi.org/10.1186/s13054-019-2550-2>.
- 415 [12] Nasioudis D, Witkin SS. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin and innate
416 immune responses to bacterial infections. *Med Microbiol Immunol* 2015;204:471–
417 9. <https://doi.org/10.1007/s00430-015-0394-1>.
- 418 [13] Asaf S, Maqsood F, Jalil J, Sarfraz Z, Sarfraz A, Mustafa S, et al. Lipocalin 2-not
419 only a biomarker: a study of current literature and systematic findings of ongoing
420 clinical trials. *Immunol Res* 2023;71:287–313. [https://doi.org/10.1007/s12026-](https://doi.org/10.1007/s12026-022-09352-2)
421 [022-09352-2](https://doi.org/10.1007/s12026-022-09352-2).
- 422 [14] Wang M, Zhang Q, Zhao X, Dong G, Li C. Diagnostic and prognostic value of
423 neutrophil gelatinase-associated lipocalin, matrix metalloproteinase-9, and tissue
424 inhibitor of matrix metalloproteinases-1 for sepsis in the Emergency Department:
425 an observational study. *Crit Care* 2014;18:634. [https://doi.org/10.1186/s13054-](https://doi.org/10.1186/s13054-014-0634-6)
426 [014-0634-6](https://doi.org/10.1186/s13054-014-0634-6).
- 427 [15] Wang B, Chen G, Zhang J, Xue J, Cao Y, Wu Y. Increased Neutrophil Gelatinase–
428 Associated Lipocalin is Associated with Mortality and Multiple Organ

- 429 Dysfunction Syndrome in Severe Sepsis and Septic Shock. *Shock* 2015;44:234.
430 <https://doi.org/10.1097/SHK.0000000000000408>.
- 431 [16] Perera P-Y, Lichy JH, Waldmann TA, Perera LP. The role of interleukin-15 in
432 inflammation and immune responses to infection: implications for its therapeutic
433 use. *Microbes Infect* 2012;14:247–61.
434 <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2011.10.006>.
- 435 [17] Waldmann TA. Targeting the interleukin-15/interleukin-15 receptor system in
436 inflammatory autoimmune diseases. *Arthritis Res Ther* 2004;6:174–7.
437 <https://doi.org/10.1186/ar1202>.
- 438 [18] Bermejo-Martin JF, Ortiz de Lejarazu R, Pumarola T, Rello J, Almansa R,
439 Ramírez P, et al. Th1 and Th17 hypercytokinemia as early host response signature
440 in severe pandemic influenza. *Crit Care* 2009;13:R201.
441 <https://doi.org/10.1186/cc8208>.
- 442 [19] Guo Y, Luan L, Patil NK, Wang J, Bohannon JK, Rabacal W, et al. Interleukin-15
443 Enables Septic Shock by Maintaining Natural Killer Cell Integrity and Function. *J*
444 *Immunol* 2017;198:1320–33. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1601486>.
- 445 [20] Bermejo-Martin JF, García-Mateo N, Motos A, Resino S, Tamayo L, Ryan Murua
446 P, et al. Effect of viral storm in patients admitted to intensive care units with
447 severe COVID-19 in Spain: a multicentre, prospective, cohort study. *Lancet*
448 *Microbe* 2023;4:e431–41. [https://doi.org/10.1016/S2666-5247\(23\)00041-1](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(23)00041-1).
- 449 [21] Cao C, Gu J, Zhang J. Soluble triggering receptor expressed on myeloid cell-1
450 (sTREM-1): a potential biomarker for the diagnosis of infectious diseases. *Front*
451 *Med* 2017;11:169–77. <https://doi.org/10.1007/s11684-017-0505-z>.

- 452 [22] Matos A de O, Dantas PHDS, Silva-Sales M, Sales-Campos H. TREM-1 isoforms
453 in bacterial infections: to immune modulation and beyond. *Crit Rev Microbiol*
454 2021;47:290–306. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2021.1878106>.
- 455 [23] Dantas PHDS, Matos A de O, da Silva Filho E, Silva-Sales M, Sales-Campos H.
456 Triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (TREM-1) as a therapeutic target
457 in infectious and noninfectious disease: a critical review. *Int Rev Immunol*
458 2020;39:188–202. <https://doi.org/10.1080/08830185.2020.1762597>.
- 459 [24] Su L, Liu D, Chai W, Liu D, Long Y. Role of sTREM-1 in predicting mortality of
460 infection: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open* 2016;6:e010314.
461 <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2015-010314>.
- 462 [25] Wright SW, Lovelace-Macon L, Hantrakun V, Rudd KE, Teparrukkul P, Kosamo
463 S, et al. sTREM-1 predicts mortality in hospitalized patients with infection in a
464 tropical, middle-income country. *BMC Med* 2020;18:159.
465 <https://doi.org/10.1186/s12916-020-01627-5>.
- 466 [26] Sathe NA, Bhatraju PK, Mikacenic C, Morrell ED, Mabrey FL, Liles WC, et al.
467 Relationships Between Age, Soluble Triggering Receptor Expressed on Myeloid
468 Cells-1 (sTREM-1), and Mortality Among Critically Ill Adults: A Cohort Study.
469 *Shock* 2022;57:205–11. <https://doi.org/10.1097/SHK.0000000000001888>.
- 470 [27] Mikacenic C, Hahn WO, Price BL, Harju-Baker S, Katz R, Kain KC, et al.
471 Biomarkers of Endothelial Activation Are Associated with Poor Outcome in
472 Critical Illness. *PLoS One* 2015;10:e0141251.
473 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0141251>.
- 474 [28] Statz S, Sabal G, Walborn A, Williams M, Hoppensteadt D, Mosier M, et al.
475 Angiopoietin 2 Levels in the Risk Stratification and Mortality Outcome Prediction

- 476 of Sepsis-Associated Coagulopathy. *Clin Appl Thromb Hemost* 2018;24:1223–33.
477 <https://doi.org/10.1177/1076029618786029>.
- 478 [29] Clark DV, Banura P, Bandeen-Roche K, Liles WC, Kain KC, Scheld WM, et al.
479 Biomarkers of endothelial activation/dysfunction distinguish sub-groups of
480 Ugandan patients with sepsis and differing mortality risks. *JCI Insight*
481 2019;5:e127623, 127623. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.127623>.
- 482 [30] Robinson-Cohen C, Katz R, Price BL, Harju-Baker S, Mikacenic C, Himmelfarb J,
483 et al. Association of markers of endothelial dysregulation Ang1 and Ang2 with
484 acute kidney injury in critically ill patients. *Crit Care* 2016;20:207.
485 <https://doi.org/10.1186/s13054-016-1385-3>.
486

Click here to access/download;Figure;Figure 1 Flow Chart.pptx

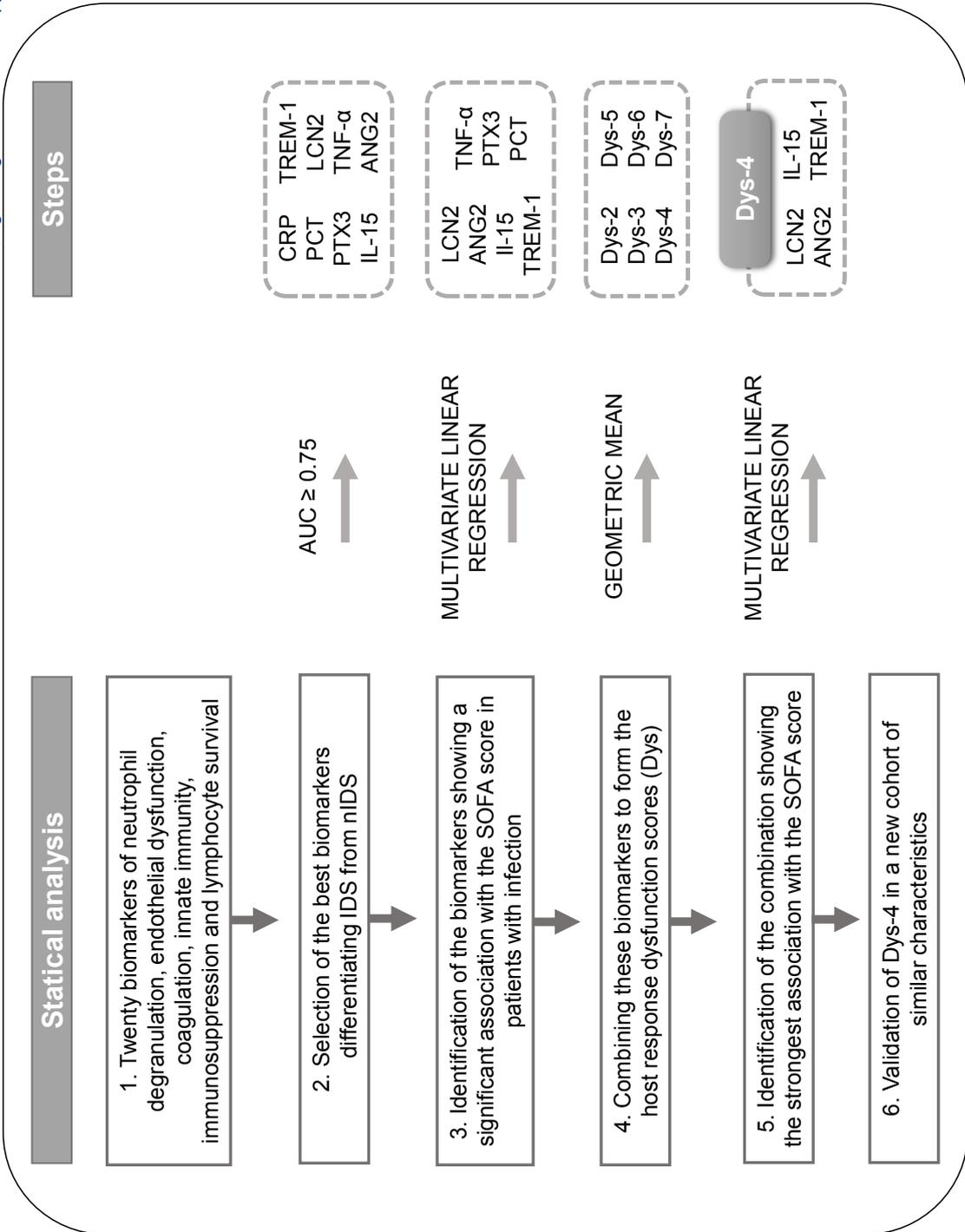
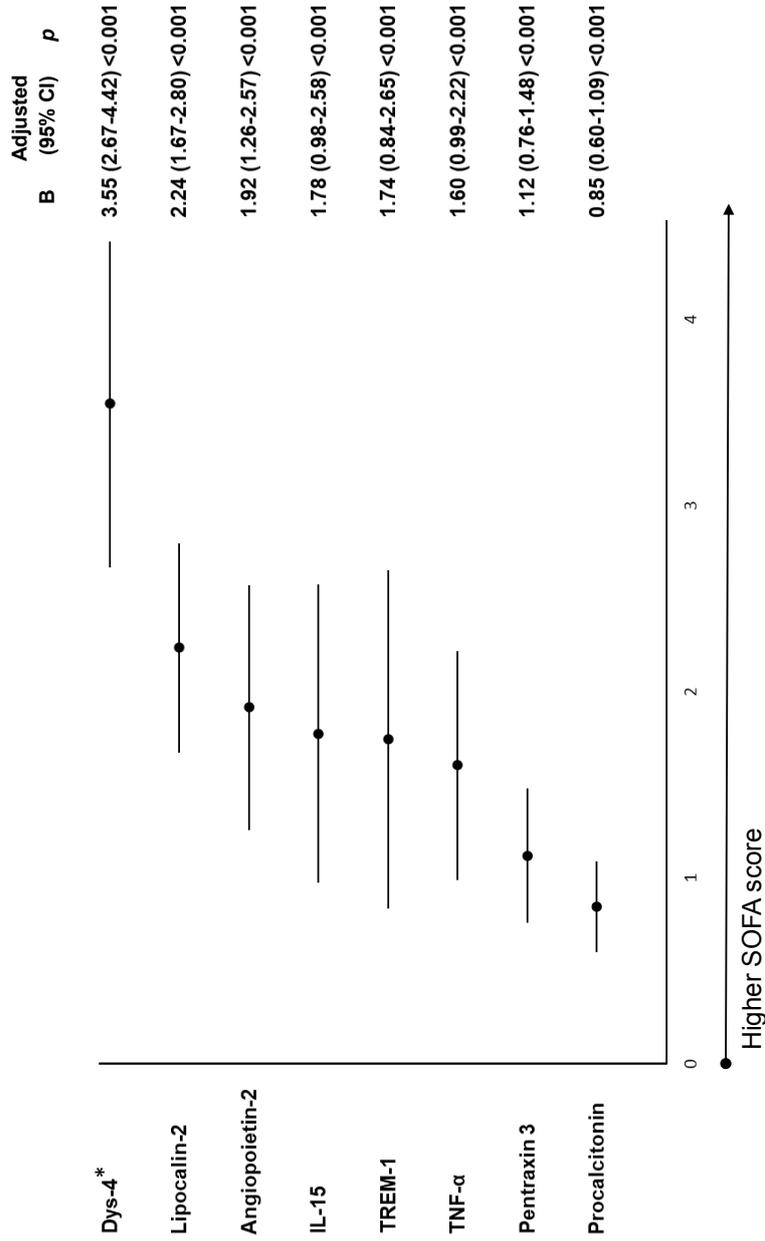


Figure 1

Click here to access/download:Figure:Figure 2 Forest Plot Derivation Cohort.pptx

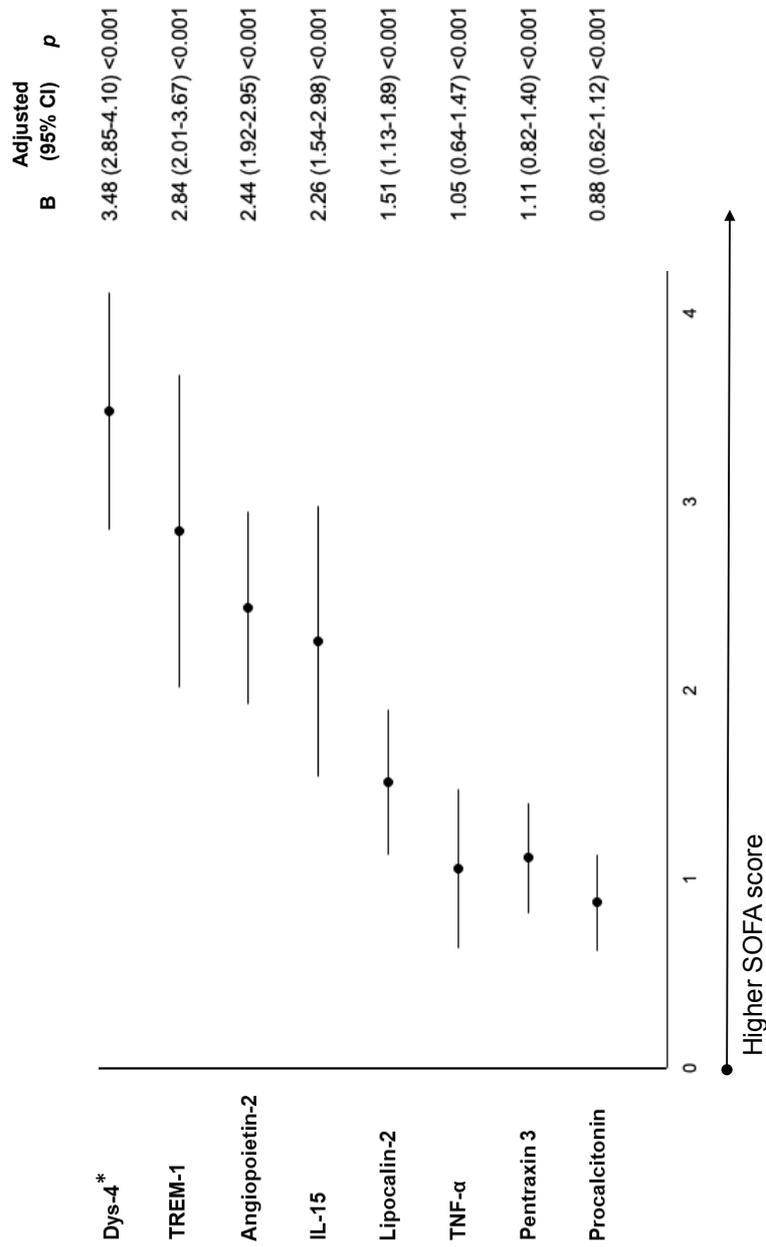
Multivariable linear regression analysis on the Derivation Cohort



*Dys-4 involved lipocalin-2, angiopoietin-2, interleukin-15 and TREM-1

[Click here to access/download;Figure;Figure 3 Forest Plot Validation Cohort RTR.pptx](#)

Multivariable linear regression analysis on the Validation Cohort



*Dys-4 involved lipocalin-2, angiopoietin-2, interleukin-15 and TREM-1

Figure Legend

1 **Figure legends**

2

3 **Figure 1. Flow chart explaining the statistical analysis and main results of the**4 **study.** Abbreviations: AUC, area under the ROC curve; CRP, C reactive protein; PCT,5 procalcitonin; PTX3, pentraxin 3; LCN2, lipocalin-2; TNF- α , tumor necrosis factor;

6 ANG2, angiopoietin-2; TREM-1, triggering receptor expressed on myeloid cells-1; IL-

7 15, interleukin-15.

8 **Figure 2. Forest plot showing the adjusted coefficient of regression (B) from the**9 **multivariate linear regression analysis biomarkers / Dys-4 score and SOFA score**

10 (see Table S4 and S5, Supplemental Material). Independent variables included age,

11 chronic cardiac disease, neurological disease, active malignant neoplasia, hypertension,

12 COPD (Chronic obstructive pulmonary disease), chronic kidney disease, diabetes,

13 surgical site infection, and gastrointestinal infection. Natural logarithmic values were

14 used for biomarkers and Dys-4 levels. B, coefficient of regression; p, level of

15 significance; IL-15, Interleukin 15; TNF- α , tumour necrosis factor α ; TREM-1, triggering

16 receptor expressed on myeloid cells-1.

17 **Figure 3. Forest plot showing the adjusted coefficient of regression (B) from the**18 **multivariate linear regression analysis biomarkers / Dys-4 score and SOFA score on**19 **the Validation Cohort.** (see Table S7 and S8, Supplemental Material). Independent

20 variables included age, chronic cardiac disease, chronic kidney disease, COPD (Chronic

21 obstructive pulmonary disease), active malignant neoplasia, gastrointestinal infection and

22 urinary tract infection. Natural logarithmic values were used for biomarkers and Dys-4

23 levels. Abbreviations: B, coefficient of regression; p, level of significance; IL-15,

24 Interleukin 15; TNF- α , tumour necrosis factor α ; TREM-1, triggering receptor expressed

25 on myeloid cells-1.

Table 1

[Click here to access/download;Table;Table 1.docx](#) 

Table 1. Clinical characteristics. Statistics: Continuous variables are represented as [median (interquartile range)] and categorical variables as absolute count [(n, %)]. P-values were assessed by using the Mann-Whitney test for continuous variables, and the Chi-squared test for categorical variables. Significant differences ($p < 0.05$) are shown in bold. Abbreviations: p-value, level of significance; nIDS, patients with no infection and also with diverse severity; IDS, patients admitted with infections of diverse severity; COPD, Chronic obstructive pulmonary disease; SOFA, Sequential Organ Failure Assessment.

	All	nIDS	IDS	p-value
No. (%)				
	233	53	180	-
Characteristics				
Age (years) [median (IQR)]	63 (25)	63 (17)	63 (31)	n.s.
Male [n (%)]	159 (68.5)	37 (69.8)	122 (68.2)	n.s.
Comorbidities, [n (%)]				
Smoking	23 (10.0)	3 (5.7)	20 (11.3)	n.s.
Chronic Cardiac disease	46 (19.9)	5 (9.4)	41 (23.0)	0.030
COPD	15 (6.5)	3 (5.7)	12 (6.7)	n.s.
Asthma	11 (4.8)	1 (1.9)	10 (5.6)	n.s.
Obesity	24 (10.4)	5 (9.4)	19 (10.7)	n.s.
Hypertension	86 (37.2)	21 (39.6)	65 (36.5)	n.s.
Dyslipidemia	68 (29.4)	19 (35.8)	49 (27.5)	n.s.
Chronic kidney disease	13 (5.6)	2 (3.8)	11 (6.2)	n.s.
Neurological disease	17 (7.4)	2 (3.8)	15 (8.4)	n.s.
Active malignant neoplasia	20 (8.7)	6 (11.3)	14 (7.9)	n.s.
Autoimmune disease	17 (7.4)	3 (5.7)	14 (7.9)	n.s.
Chronic gastrointestinal disease	25 (10.8)	9 (17.0)	16 (9.0)	n.s.
Diabetes Mellitus	40 (17.3)	11 (20.8)	29 (16.3)	n.s.
SCORES [median (IQR)]				
SOFA Score	1 (4)	1 (3)	1 (5)	n.s.
Complications [n (%)]				
Acute respiratory distress	9 (4.0)	0 (0.0)	9 (5.3)	n.s.
Heart arrhythmia	12 (5.4)	0 (0.0)	12 (7.0)	0.047
Heart attack	5 (2.2)	1 (1.9)	4 (2.3)	n.s.
Anastomosis	5 (2.3)	0 (0.0)	5 (2.3)	n.s.
Postoperative hemorrhage	7 (3.1)	2 (3.8)	5 (2.9)	n.s.
Gastrointestinal Bleeding	8 (3.6)	1 (1.9)	7 (4.1)	n.s.
Cerebrovascular Accident	4 (1.9)	0 (0.0)	4 (2.4)	n.s.
Paralytic ileus	22 (9.9)	1 (1.9)	21 (12.4)	0.026
Acute liver failure	4 (1.8)	0 (0.0)	4 (2.4)	n.s.
Acute renal failure	24 (10.7)	0 (0.0)	24 (14.0)	0.004
Secondary Infections	40 (18.0)	1 (1.9)	39 (23.1)	≤ 0.001
Post-operative delirium	11 (5.1)	1 (1.9)	10 (6.2)	n.s.
Coma	5 (2.3)	0 (0.0)	5 (3.1)	n.s.
Invasive mechanical ventilation	49 (21.8)	6 (11.5)	43 (24.9)	0.041
Vasopressor Therapy	42 (19.6)	1 (2.0)	41 (25.0)	≤ 0.001
Reintervention	15 (6.8)	1 (1.9)	14 (8.3)	n.s.
Hospital mortality	17 (7.3)	0 (0.0)	17 (9.4)	0.020

Table 2

[Click here to access/download;Table;Table 2.docx](#) 

Table 2. AUC analysis for the differential diagnosis between infection patients and post-surgical controls with no infection. Significant differences ($p < 0.05$) are shown in bold. Abbreviations: AUC, area under the ROC curve; CI, confidence interval; p-value, level of significance; ANG1, angiopoietin 1; ANG2, angiopoietin 2; CRP, C reactive protein; CXCL-10, chemokine ligand-10; ET-1, endothelin-1; IL, Interleukin; LCN2, lipocalin-2; MPO, myeloperoxidase; MMP7, matrix metalloproteinase 7; PTX3, pentraxin 3; PCT, procalcitonin, PD-L1, programmed death-ligand 1; TNF- α , tumour necrosis factor; TREM-1, triggering receptor expressed on myeloid cells-1; uPA, urokinase-type plasminogen activator; VCAM-1, vascular cell adhesion molecule 1.

	AUC	CI [95%]		<i>p-value</i>
CRP	0.82	0.75	0.89	≤ 0.001
PCT	0.79	0.74	0.85	≤ 0.001
PTX3	0.79	0.73	0.85	≤ 0.001
LCN2	0.78	0.72	0.84	≤ 0.001
TNF- α	0.78	0.71	0.84	≤ 0.001
ANG2	0.77	0.70	0.83	≤ 0.001
TREM-1	0.76	0.69	0.83	≤ 0.001
IL-15	0.75	0.69	0.81	≤ 0.001
MPO	0.69	0.61	0.78	≤ 0.001
CXCL10	0.68	0.60	0.76	≤ 0.001
D-DIMER	0.68	0.61	0.75	≤ 0.001
IL-6	0.67	0.60	0.74	≤ 0.001
VCAM-1	0.65	0.57	0.72	0.001
ANG1	0.61	0.52	0.70	0.017
PD-L1	0.59	0.51	0.68	0.042
MMP7	0.58	0.50	0.66	0.079
uPA	0.54	0.46	0.63	0.353
ET-1	0.53	0.45	0.62	0.459
IL-7	0.52	0.43	0.60	0.742
IL-10	0.48	0.39	0.57	0.583

Supplementary Material

[Click here to access/download:Supplementary Material;Supplemental Material MARKED RTR.docx](#)

✚

BIOMARKER (pg/mL)	Healthy control (0) (N=20)	Non-infected Control (1) (N=53)	Infection (2) (N=180)	<i>p</i> -value (0-1)	<i>p</i> -value (0-2)	<i>p</i> -value (1-2)
LCN2	79423.00 (43771)	88080.00 (41066.00)	158797.50 (250500.00)	0.984	≤ 0.001	≤ 0.001
MPO	39355.00 (38432)	32714.00 (34094.00)	67779.50 (91121.00)	0.146	≤ 0.001	≤ 0.001
VCAM-1	525625.00 (140691)	614929.00 (311844.00)	715746.50 (513949.00)	0.444	0.185	0.001
ANG1	3940.00 (6322)	3807.00 (4665.00)	5324.00 (7212.00)	0.897	0.144	0.016
MMP7	61.30 (100.95)	1263.00 (1069.00)	1383.00 (1549.25)	≤ 0.001	≤ 0.001	0.092
PTX3	2068.00 (917.00)	1679.00 (1693.00)	7436.50 (17165.00)	0.325	≤ 0.001	≤ 0.001
ANG2	971.00 (560.00)	1118.00 (789.00)	2355.00 (3160.00)	0.057	≤ 0.001	≤ 0.001
ET-1	1.31 (0.94)	2.19 (2.00)	2.27 (2.16)	≤ 0.001	≤ 0.001	0.495
PCT	67.50 (118.10)	76.50 (71.75)	565.50 (4507.08)	0.092	≤ 0.001	≤ 0.001
TREM-1	457.00 (368.50)	394.00 (236.00)	610.00 (480.00)	0.135	≤ 0.001	≤ 0.001
IL-10	1.73 (0.89)	13.00 (26.53)	10.55 (25.32)	≤ 0.001	≤ 0.001	0.637
IL-7	3.19 (2.91)	3.60 (3.48)	3.88 (4.52)	0.024	0.006	0.716
IL-15	2.25 (1.55)	2.83 (1.41)	4.77 (3.75)	0.110	≤ 0.001	≤ 0.001
CXCL10	87.70 (79.60)	94.80 (82.00)	148.00 (204.93)	0.647	0.028	≤ 0.001
IL-6	1.72 (0.97)	30.40 (66.10)	131.50 (551.38)	≤ 0.001	≤ 0.001	≤ 0.001
PD-L1	56.10 (36.45)	87.40 (102.25)	130.50 (124.55)	0.207	0.006	0.039
TNF- α	6.40 (2.33)	7.73 (5.09)	13.70 (17.69)	0.142	≤ 0.001	≤ 0.001
uPA	919.00 (390.00)	755.00 (333.00)	780.00 (229.00)	0.002	0.006	0.329
D-DIMER	306849.00 (356065.00)	792872.00 (1135195.00)	2357521.00 (5244429.75)	≤ 0.001	≤ 0.001	≤ 0.001
CRP	2209720.00 (3870607.00)	18832746.00 (57017988)	229864638.00 (286553752.75)	0.104	≤ 0.001	≤ 0.001

Table S1. Biomarker levels between groups. Biomarkers are represented as [median (interquartile range)]. *P*-values were assessed by using the U Mann-Whitney test. Significant differences ($p < 0.05$) are shown in bold. *P*-value, level of significance; ET-1, endothelin-1; IL, Interleukin; CRP, C reactive protein; PD-L1, programmed death-ligand 1; TNF- α , tumor necrosis factor; ANG1, angiopoietin 1; ANG2, angiopoietin 2; CXCL-10, chemokine ligand-10; MMP7, matrix metalloproteinase 7; PCT, procalcitonin; TREM-1, triggering receptor expressed on myeloid cells-1; uPA, urokinase-type plasminogen activator; VCAM-1, vascular cell adhesion molecule 1; PTX3, pentraxin-3; LCN2, lipocalin-2; MPO, myeloperoxidase.

Univariate (n=180)			
	B	SE	p
Male	0.33	0.59	0.575
Age	0.09	0.01	<0.001
Smoking	0.38	0.88	0.669
Chronic Cardiac disease	2.60	0.63	<0.001
Neurological disease	2.22	0.99	0.026
Active malignant neoplasia	2.66	1.01	0.009
Hypertension	1.63	0.56	0.004
Dyslipidemia	0.47	0.62	0.451
Autoimmune disease	1.27	1.03	0.220
Obesity	1.46	0.89	0.104
Chronic gastrointestinal disease	-0.31	0.97	0.752
COPD	2.16	1.10	0.051
Asthma	-0.96	1.20	0.428
Chronic kidney disease	3.78	1.12	0.001
Diabetes Mellitus	2.26	0.73	0.002
Surgical site infection	3.90	0.95	<0.001
Urinary tract infection	0.62	1.87	0.738
Bacteriemia	1.68	1.53	0.277
Gastrointestinal infection	-2.06	0.77	0.008
LCN2	2.76	0.23	<0.001
ANG2	2.44	0.26	<0.001
IL-15	2.81	0.35	<0.001
TREM-1	2.74	0.39	<0.001
TNF-α	2.25	0.26	<0.001
PTX3	1.50	0.15	<0.001
PCT	1.05	0.10	<0.001
CRP	0.65	0.21	0.002

Table S2. Univariable linear regression analysis of clinical variables/biomarkers and SOFA. Natural logarithmic values were used for biomarker levels. B, coefficient of regression; SE, standard error of B; IL15, Interleukin 15; CRP, C reactive protein; TNF- α , tumor necrosis factor; ANG2, angiopoietin 2; PCT, procalcitonin; TREM-1, triggering receptor expressed on myeloid cells-1; PTX3, pentraxin-3; LCN2, lipocalin-2.

	Multivariate (n=180)			Multivariate (n=180)			Multivariate (n=180)			Multivariate (n=180)			Multivariate (n=180)													
	B	SE	p																							
Age	0.02	0.01	0.091	0.04	0.01	0.008	0.03	0.2	0.054	0.04	0.02	0.008	0.04	0.02	0.016	0.03	0.02	0.060	0.02	0.01	0.126	0.06	0.02	< 0.001		
Chronic Cardiac disease	0.81	0.55	0.144	1.05	0.59	0.075	1.53	0.61	0.013	1.32	0.62	0.033	0.97	0.60	0.109	0.78	0.59	0.182	1.43	0.57	0.013	1.35	0.64	0.036	0.88	0.438
Neurological disease	0.77	0.75	0.308	0.67	0.81	0.408	0.59	0.84	0.482	1.01	0.85	0.238	1.00	0.82	0.223	0.78	0.80	0.331	0.81	0.78	0.297	0.69	0.88	0.438		
Active malignant neoplasia	0.35	0.79	0.657	0.25	0.5	0.765	0.75	0.88	0.395	0.50	0.89	0.576	0.52	0.86	0.548	0.55	0.84	0.512	0.69	0.82	0.398	0.70	0.92	0.448		
Hypertension	-1.23	0.55	0.026	-1.94	0.60	0.001	-1.12	0.61	0.067	-1.70	0.62	0.007	-1.38	0.60	0.022	-1.40	0.58	0.017	-1.51	0.57	0.008	-1.55	0.66	0.019		
COPD	-0.49	0.90	0.587	-0.04	0.96	0.965	-0.14	0.99	0.886	-0.36	1.01	0.722	-0.71	0.98	0.472	-0.47	0.95	0.621	-0.10	0.93	0.912	-0.19	1.051	0.856		
Chronic kidney disease	1.63	0.92	0.079	1.94	0.99	0.051	2.06	1.02	0.046	2.00	1.05	0.058	2.84	0.99	0.005	2.59	0.96	0.008	2.59	0.94	0.007	2.90	1.06	0.007		
Diabetes	0.83	0.63	0.190	0.49	0.69	0.478	0.98	0.70	0.163	1.11	0.71	0.120	1.06	0.69	0.125	0.82	0.67	0.224	0.61	0.66	0.353	1.23	0.74	0.098		
Surgical site infection	1.44	0.84	0.089	1.60	0.90	0.078	1.86	0.93	0.048	2.11	0.94	0.026	1.82	0.91	0.048	1.89	0.89	0.035	1.67	0.87	0.057	2.22	0.98	0.025		
Gastrointestinal infection	-0.62	0.66	0.349	-0.35	0.71	0.627	-0.80	0.73	0.271	-1.21	0.74	0.104	-0.06	0.74	0.933	-0.64	0.70	0.357	-0.61	0.68	0.370	-1.03	0.76	0.178		
LCN2	2.24	0.28	< 0.001																							
ANG2				1.92	0.33	< 0.001																				
IL-15							1.78	0.40	< 0.001																	
TREM-1										1.74	0.46	< 0.001														
TNF-α													1.60	0.31	< 0.001											
PTX3																1.12	0.18	< 0.001								
PCT																						0.85	0.12	< 0.001		
CRP																						0.30	0.20	0.129		

Table S3. Multivariable linear regression analysis of biomarkers and SOFA. Natural logarithmic values were used for biomarker levels. B, coefficient of regression; SE, standard error of B; IL15, Interleukin 15; CRP, C reactive protein; TNF-α, tumor necrosis factor; ANG2, angiotensin 2; PCT, procalcitonin, TREM-1, triggering receptor expressed on myeloid cells-1; PTX3, pentraxin-3; LCN2, lipocalin-2.

BIOMARKERS	
Dys-7	LCN2, ANG2, IL-15, TREM-1, TNF- α , PTX3, PCT
Dys-6	LCN2, ANG2, IL-15, TREM-1, TNF- α , PTX3
Dys-5	LCN2, ANG2, IL-15, TREM-1, TNF- α
Dys-4	LCN2, ANG2, IL-15, TREM-1
Dys-3	LCN2, ANG2, IL-15
Dys-2	LCN2, ANG2

Table S4. Composition of the host response dysfunction scores (Dys). LCN2, lipocalin-2; ANG2, angiopoietin 2; IL-15, interleukin-15; TREM-1, triggering receptor expressed on myeloid cells-1; TNF- α , tumor necrosis factor α ; PTX3, pentraxin-3; PCT, procalcitonin.

	Multivariate (n=180)			Multivariate (n=180)			Multivariate (n=180)			Multivariate (n=180)			Multivariate (n=180)		
	B	SE	p												
Age	0.01	0.01	0.559	0.01	0.01	0.599	0.01	0.01	0.420	0.01	0.01	0.432	0.01	0.1	0.398
Chronic Cardiac disease	1.03	0.54	0.056	0.83	0.54	0.125	1.01	0.55	0.067	1.11	0.55	0.043	1.06	0.54	0.052
Neurological disease	0.81	0.74	0.272	0.81	0.74	0.273	0.83	0.75	0.270	0.73	0.75	0.334	0.58	0.74	0.435
Active malignant neoplasia	0.35	0.78	0.648	0.21	0.78	0.785	0.19	0.79	0.807	0.18	0.79	0.818	0.23	0.78	0.767
Hypertension	-1.59	0.54	0.004	-1.59	0.54	0.003	-1.63	0.55	0.003	-1.68	0.54	0.002	-1.52	0.54	0.005
COPD	-0.53	0.88	0.550	-0.72	0.88	0.416	-0.65	0.90	0.468	-0.45	0.89	0.617	-0.33	0.88	0.706
Chronic kidney disease	1.94	0.90	0.032	1.67	0.90	0.065	1.48	0.92	0.110	1.10	0.93	0.237	1.24	0.92	0.178
Diabetes	0.56	0.62	0.369	0.62	0.62	0.318	0.67	0.63	0.287	0.56	0.63	0.347	0.50	0.63	0.424
Surgical site infection	1.39	0.83	0.095	1.36	0.83	0.103	1.32	0.84	0.117	1.32	0.84	0.119	1.21	0.83	0.148
Gastrointestinal infection	-0.27	0.65	0.673	-0.18	0.65	0.777	-0.18	0.66	0.785	-0.49	0.65	0.455	-0.27	0.65	0.675
Dys-7	2.53	0.30	<0.001												
Dys-6				3.19	0.38	<0.001									
Dys-5							3.47	0.43	<0.001						
Dys-4										3.55	0.44	<0.001			
Dys-3													3.27	0.40	<0.001
Dys-2															
													2.68	0.33	<0.001

Table S5. Multivariable linear regression analysis of combinations of biomarkers and SOFA. Natural logarithmic values were used for combinations of biomarkers. B, coefficient of regression; SE, standard error of B.

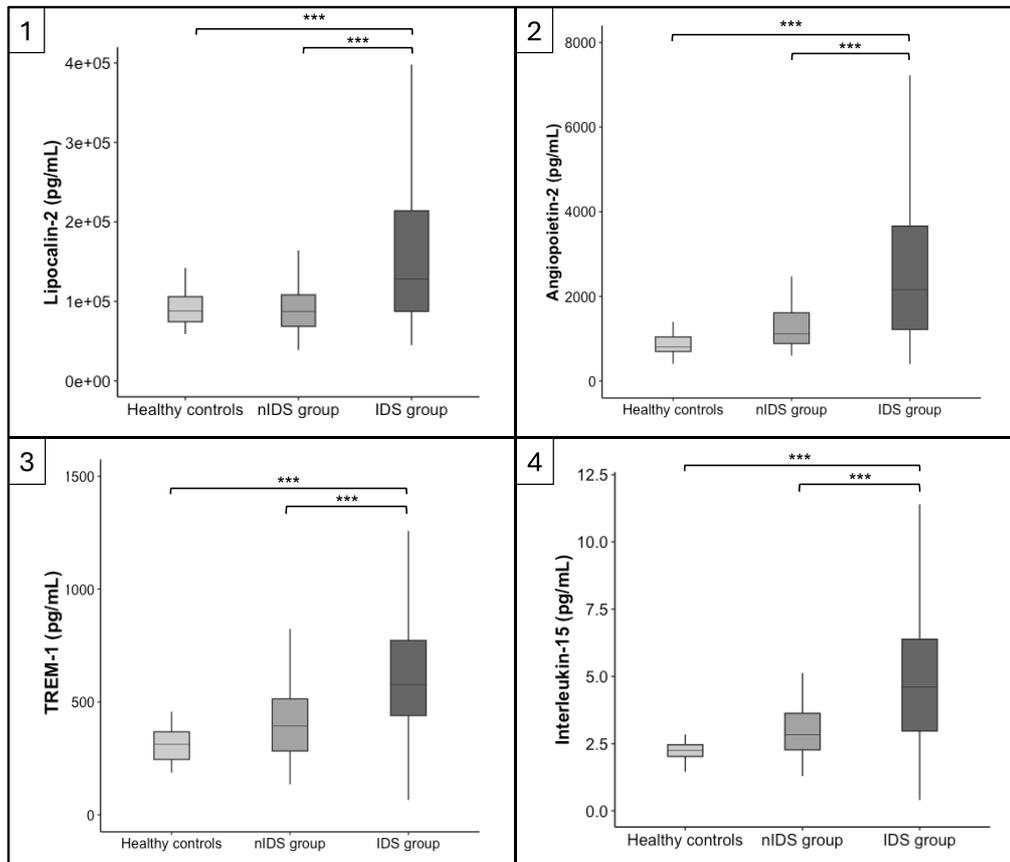


Figure S1. Box plot of the protein levels between healthy controls, nIDS group and IDS group: Lipocalin-2 (1), Angiotensin-2 (2), TREM-1 (3) and IL-15 (4).

	Validation Cohort
No.	174
Characteristics	
Age (years) [median (IQR)]	67 (24)
Male [n (%)]	92 (52.90)
Comorbidities, [n (%)]	
Chronic Cardiac disease	31 (17.90)
COPD	11 (6.40)
Chronic kidney disease	16 (9.20)
Chronic liver dysfunction	5 (2.90)
Active malignant neoplasia	25 (14.50)
Immunosuppression	38 (22.00)
Neurological disease	21 (12.10)
Hypertension	75 (43.40)
Diabetes	35 (20.20)
SCORES [median (IQR)]	
SOFA Score	1.50 (5.00)
Complications [n (%)]	
Invasive mechanical ventilation	47 (27.00)
Vasopressor Therapy (29*)	60 (41.40)
Hospital mortality (12*)	25 (15.40)
Levels of biomarkers [median (IQR)]	
LCN2	420368.50 (659056.75)
ANG2	3134.50 (3935.00)
IL-15	5.69 (4.38)
TREM-1	662.00 (644.00)
TNF- α	22.00 (60.78)
PTX3	15042.50 (34397.30)
PCT	1194.00 (5626.50)

Table S6. Clinical characteristics and levels of biomarkers of the validation cohort. Statistics: Continuous variables are represented as [median (interquartile range)] and categorical variables as absolute count [(n, (%)]. P-values were assessed using the Mann-Whitney test for continuous variables, and the Chi-squared test for categorical variables. Significant differences ($p < 0.05$) are shown in bold. Abbreviations: COPD, Chronic obstructive pulmonary disease; SOFA, Sequential Organ Failure Assessment; IL15, Interleukin 15; TNF- α , tumor necrosis factor; ANG2, angiotensin 2; PCT, procalcitonin, TREM-1, triggering receptor expressed on myeloid cells-1; PTX3, pentraxin-3; LCN2, lipocalin-2.

	Multivariate (n=174)			Multivariate (n=174)			Multivariate (n=174)			Multivariate (n=174)			Multivariate (n=174)		
	B	SE	p												
Age	-0,01	0,01	0,768	-0,01	0,01	0,765	0,01	0,02	0,777	-0,01	0,02	0,665	-0,01	0,02	0,455
Chronic Cardiac disease	0,16	0,61	0,790	-0,85	0,59	0,150	-0,62	0,65	0,344	-0,26	0,64	0,678	-0,17	0,67	0,805
Neurological disease	0,37	0,72	0,611	0,67	0,68	0,326	0,467	0,76	0,540	0,44	0,74	0,553	0,76	0,78	0,334
Active malignant neoplasia	1,78	0,63	0,005	1,88	0,59	0,002	2,06	0,66	0,002	1,58	0,65	0,016	2,12	0,68	0,002
Hypertension	-0,15	0,52	0,781	0,50	0,48	0,299	0,58	0,54	0,278	-0,06	0,54	0,914	0,49	0,56	0,378
COPD	2,74	0,91	0,003	2,84	0,86	0,001	3,09	0,96	0,002	1,78	0,97	0,068	3,49	0,99	<0,001
Chronic kidney disease	0,78	0,81	0,341	1,07	0,76	0,161	0,91	0,86	0,289	0,49	0,85	0,567	0,94	0,89	0,292
Diabetes	-0,08	0,57	0,889	-0,71	0,54	0,186	-0,54	0,60	0,372	0,19	0,59	0,741	0,19	0,62	0,757
Surgical site infection	0,63	2,90	0,829	-0,47	2,7	0,863	1,93	3,07	0,531	1,32	3,01	0,662	0,26	3,17	0,936
Gastrointestinal infection	2,14	0,60	<0,001	1,89	0,57	0,001	2,18	0,64	<0,001	2,36	0,62	<0,001	2,36	0,66	<0,001
LCN2	1,51	0,19	<0,001												
ANG2				2,44	0,26	<0,001									
IL-15							2,26	0,36	<0,001						
TREM-1										2,84	0,42	<0,001			
TNF-α													1,05	0,21	<0,001
PTX3															
PCT															
													1,11	0,15	<0,001
													0,88	0,12	<0,001

Table S7. Multivariable linear regression analysis of biomarkers and SOFA on the Validation Cohort. Natural logarithmic values were used for biomarker levels. Abbreviations: B, coefficient of regression; SE, standard error of B; COPD, Chronic obstructive pulmonary disease; IL15, Interleukin 15; TNF-α, tumor necrosis factor; ANG2, angiotensin 2; PCT, procalcitonin, TREM-1, triggering receptor expressed on myeloid cells-1; PTX3, pentraxin-3; LCN2, lipocalin-2.

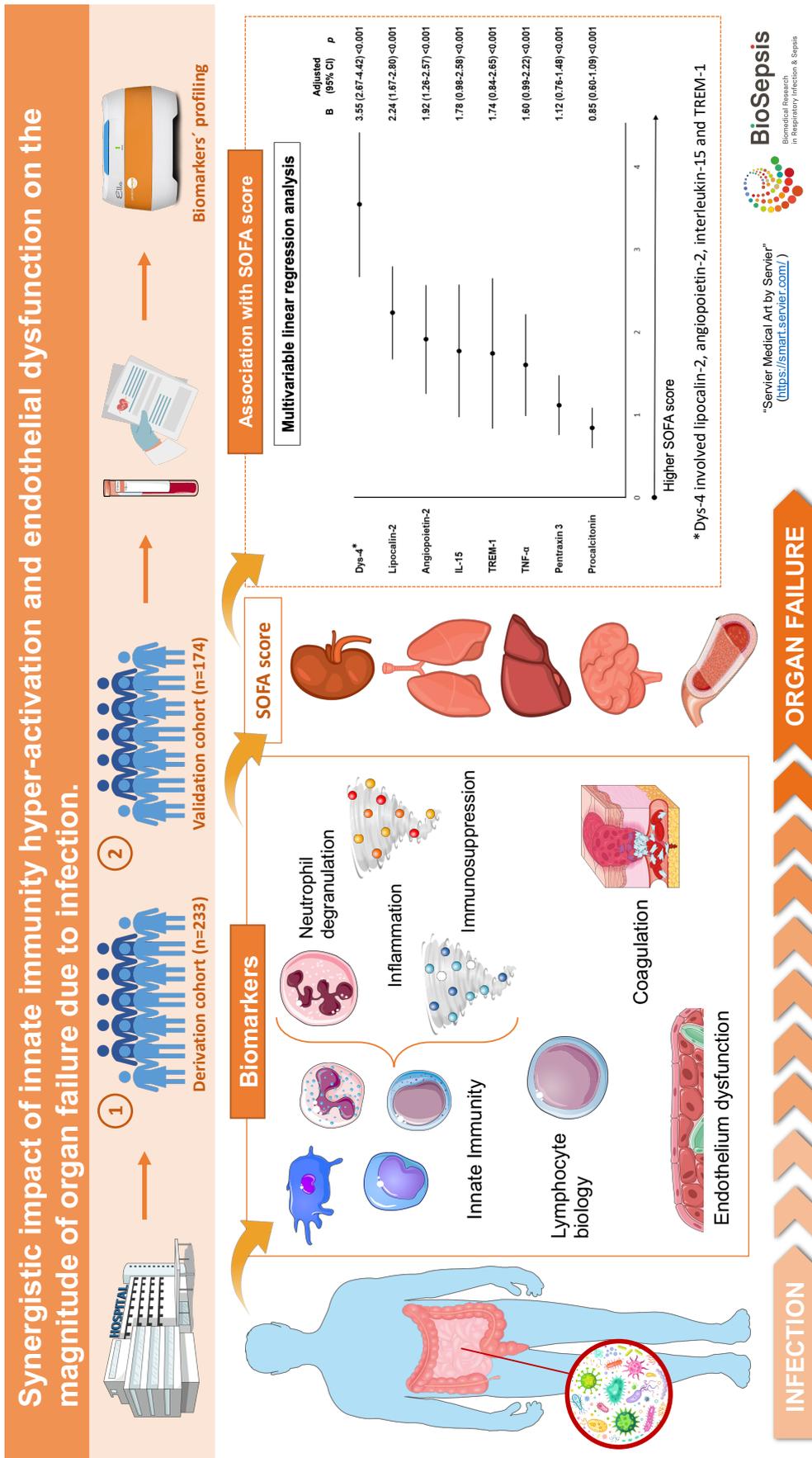
	Multivariate (n=174)			Multivariate (n=174)			Multivariate (n=174)			Multivariate (n=174)			Multivariate (n=174)		
	B	SE	p												
Age	-0,01	0,01	0,345	-0,01	0,01	0,355	-0,01	0,01	0,393	-0,01	0,01	0,670	-0,01	0,01	0,561
Chronic Cardiac disease	-0,43	0,57	0,454	-0,53	0,57	0,355	-0,59	0,55	0,340	-0,59	0,55	0,282	-0,37	0,56	0,500
Neurological disease	0,56	0,67	0,406	0,45	0,67	0,497	0,40	0,66	0,548	0,27	0,64	0,676	0,33	0,65	0,608
Active malignant neoplasia	0,54	0,76	0,477	0,39	0,76	0,613	0,22	0,76	0,774	0,25	0,73	0,733	0,39	0,74	0,599
Hypertension	2,91	0,85	<0,001	2,86	0,84	<0,001	2,67	0,84	0,002	2,25	0,81	0,006	2,19	0,83	0,009
COPD	1,79	0,58	0,003	1,87	0,58	0,002	1,90	0,58	0,001	1,75	0,56	0,002	1,67	0,57	0,004
Chronic kidney disease	0,16	0,48	0,743	0,10	0,48	0,841	-0,07	0,48	0,877	-0,19	0,46	0,686	-0,24	0,47	0,604
Diabetes	-0,08	0,53	0,875	0,07	0,53	0,894	-0,03	0,52	0,947	-0,30	0,50	0,547	-0,18	0,51	0,727
Surgical site infection	1,45	0,57	0,013	1,44	0,57	0,012	1,51	0,57	0,008	1,49	0,54	0,007	1,68	0,55	0,003
Gastrointestinal infection	1,23	2,71	0,652	0,83	2,70	0,758	0,70	2,68	0,795	0,99	2,58	0,700	0,45	2,63	0,863
Dys-7	2,29	0,24	<0,001												
Dys-6				2,64	0,27	<0,001									
Dys-5							3,08	0,31	<0,001						
Dys-4										3,48	0,32	<0,001			
Dys-3													3,01	0,29	<0,001
Dys-2															2,40
															0,23
															<0,001

Table S8. Multivariable linear regression analysis of combinations of biomarkers and SOFA on the Validation Cohort. Natural logarithmic values were used for combinations of biomarkers. Abbreviations: B, coefficient of regression; SE, standard error of B.

Highlights (for review)

1 **Highlights**

- 2 • We identified the biomarkers most associated with organ failure in infection
- 3 • The Dys-4 score combined innate immunity and endothelial dysfunction
- 4 biomarkers.
- 5 • Dys-4 showed a greater impact on organ failure than individual biomarkers
- 6 • Dys-4 could help to detecting and monitoring organ failure in infection



Manuscript (Please include a Title Page with all author details and affiliations)

[Click here to view linked References](#)

1 **Synergistic impact of N-antigenemia profiled by a rapid antigen test and low anti-**
2 **S1 antibodies on the risk of hospitalization in COVID-19**

3

4 Amanda de la Fuente (MSc)^{1,2*}, Tamara Postigo (MSc)^{1*}, Francisco Sanus Ferri
5 (MSc)^{3*}, Marta Domínguez-Gil (MD)^{2,4*}, Jesús Álvarez-Manzanares (MD)⁵, Jose María
6 Eiros (Prof)⁴, Virginia Carbajosa Rodríguez (MD)⁵, Susana Sanchez Ramon (MD)⁵,
7 Alicia Ortega (MLT)^{1,2}, Laura N. Fadrique Millán (MD)⁵, Luis Mario Vaquero-Roncero
8 (MD)^{2,6}, Carmen Esteban-Velasco (MD)⁷, Elena Navarro-Matías (MD)^{8,9,10}, Ferran Barbé
9 (Prof)^{3,11}, Jesús F Bermejo-Martin (MD)^{1,2,12}, Raul Lopez-Izquierdo (MD)^{2,5}

10 * These first authors contributed equally to this article

11

12 1. Group for Biomedical Research in Sepsis (BioSepsis). Instituto de Investigación
13 Biomédica de Salamanca, (IBSAL), Gerencia Regional de Salud de Castilla y León,
14 Paseo de San Vicente, 58-182, 37007 Salamanca, Spain

15 2. Centro de Investigación Biomédica en Red en Enfermedades Respiratorias (CIBERES,
16 CB22/06/00035), Instituto de Salud Carlos III, Avenida de Monforte de Lemos, 3-5,
17 28029 Madrid, Spain.

18 3. Centro de Investigación Biomédica en Red en Enfermedades Respiratorias (CIBERES,
19 CB07/06/2008), Instituto de Salud Carlos III, Av. de Monforte de Lemos, 3-5, 28029
20 Madrid, Spain

21 4. Microbiology Service, Hospital Universitario Rio Hortega, Gerencia Regional de Salud
22 de Castilla y León, Calle Dulzaina, 2, 47012 Valladolid, Spain.

23 5. Emergency Department, Hospital Universitario Rio Hortega, Gerencia Regional de
24 Salud de Castilla y León, Calle Dulzaina, 2, 47012 Valladolid, Spain.

1

- 25 6. Anaesthesiology and Reanimation Service, Complejo Asistencial Universitario de
26 Salamanca, Salamanca, Spain.
- 27 7. Department of General and Gastrointestinal Surgery, Hospital Universitario de
28 Salamanca, Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL) and Universidad
29 de Salamanca, Salamanca, Spain.
- 30 8. Primary Care Research Unit of Salamanca (APISAL), Salamanca Primary Care
31 Management, Salamanca, Spain
- 32 9. Institute of Biomedical Research of Salamanca (IBSAL), Salamanca, Spain
- 33 10. Castilla and León Health Service–SACYL, Gerencia Regional de Salud, Valladolid,
34 Spain
- 35 11. Translational Research in Respiratory Medicine, University Hospital Arnau de
36 Vilanova and Santa Maria, IRB Lleida, Av. Alcalde Rovira Roure, 80, 25198 Lleida
37 Spain.
- 38 12. School of Medicine, Universidad de Salamanca, C. Alfonso X el Sabio, s/n, 37007
39 Salamanca, Spain
- 40
- 41 **Corresponding author:** Jesús F Bermejo-Martin, Group for Biomedical Research in
42 Sepsis (BioSepsis). Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca, (IBSAL)
43 Gerencia Regional de Salud de Castilla y León, Paseo de San Vicente, 58-182, 37007
44 Salamanca, Spain, jfbermejo@saludcastillayleon.es, tel +34 983 420 400 ext: 168836.

45 **Abstract:**

46 **Objective**

47 Identifying COVID-19 patients at risk of poor evolution is key to early decide on their
48 hospitalization. We evaluated the combined impact of N-antigenemia profiled by a rapid
49 test and anti-SARS-CoV-2 S1 antibodies on the hospitalization risk of COVID-19
50 patients.

51 **Methods**

52 N-antigenemia and anti-S1 antibodies were profiled at admission to the emergency
53 room (ER) in 146 COVID-19 patients by using the Panbio® Ag-Rapid Test and the
54 SARS-CoV-2-IgG II Quant/SARS-CoV-2-IgG assay from Abbott. A multivariable
55 analysis was used to evaluate the impact of these factors on hospitalization.

56 **Results**

57 Patients with a positive N-antigen test in plasma and anti-S1 levels < 2821 Arbitrary
58 Units/mL needed hospitalization more frequently (20 out of 23, 87%). 20 out of 71
59 (28.2%) of those showing a negative N-antigen test and anti-S1 \geq 2821 AU/mL were
60 hospitalized, for 18 out of 52 (34.6%) of the patients with only one of these conditions.
61 Patients with a positive N-antigen test and low antibody levels showed an (OR
62 [95%CI], *p*) for hospitalization of (18.21 [2.74 - 121.18], 0.003), and exhibited the
63 highest mortality (30.4%).

64 **Conclusions**

65 Simultaneous profiling of a rapid N-antigen test in plasma and anti-S1 levels could help
66 to early identify COVID-19 patients needing hospitalization.

67

68 **Keywords:** anti-S1 antibodies, antigenemia, emergency room, hospitalization, COVID-
69 19.

70 INTRODUCTION

71 Even in the current pandemic scenario, frail patients with COVID-19 are still at increased
72 risk for hospitalization and severe outcomes [1]. Early identification of these patients
73 could help to allocate the appropriate level of care. Profiling the presence of viral antigens
74 in the blood or antibody levels could be useful to this regard. SARS-CoV-2 induces
75 antigenemia, which could help to differentiate between the acute and the convalescent
76 phase [2]. While several ELISA or chemiluminescence immunoassays have been
77 developed to profile antigenemia, they are not currently available in clinical settings. We
78 have previously demonstrated that a positive rapid N-antigen test in plasma is a signature
79 of severity in hospitalised [3] or critically-ill COVID-19 patients [4]. This test can be
80 easily employed at the Emergency Room (ER). In turn, low levels of anti-SARS-CoV-2
81 S1 antibodies are also associated with poor prognosis [4] [5]. While the specific influence
82 of antigenemia or antibody levels on disease progression of hospitalised patients with
83 COVID-19 has already been studied, their combined impact on the prognosis of COVID-
84 19 patients admitted to the ER has not been evaluated. In the present work, we assessed
85 the simultaneous impact of a positive rapid N-antigen test in plasma and anti-SARS-CoV-
86 2 S1 antibody levels on the risk of hospitalization of ER patients with this disease.

87

88 METHODS

89 We recruited 146 adult patients with a SARS-CoV-2 infection at the entry to the ER of
90 Hospital Universitario Río Hortega (Valladolid), Spain, confirmed by either a positive
91 PCR test or an N-antigen rapid test on a nasopharyngeal swab, in January and February
92 2022. The study was approved by the “Comite de Etica de Investigacion Valladolid
93 Oeste” (Ref. PI055-20). Informed consent to participate was obtained for each patient or
94 legal representative. We obtained EDTA plasma in the first 24 hours following admission

4

95 to the ER. The presence of N-antigenemia was tested in the plasma samples by the
96 Panbio® COVID-19 Ag Rapid Test Device from Abbott (Chicago, IL, USA), which has
97 been previously employed with this scope [3] [4]. To rule out obtaining unspecific results,
98 we evaluated it on 120 plasma samples from patients with no SARS-CoV-2 infection (20
99 healthy controls, 23 SIRS, 33 patients with infection, 26 with sepsis and 18 with septic
100 shock). Only one patient with septic shock tested positive. Anti-SARS-CoV-2 S1 IgG
101 antibodies were profiled in the same samples using the SARS-CoV-2 IgG II
102 Quant/SARS-CoV-2 IgG assays from Abbott. A multivariable logistic regression analysis
103 model was built to evaluate the association of a positive rapid N-antigen test in plasma or
104 anti-SARS-CoV-2 S1 IgG levels with hospitalization (staying at the hospital for at least
105 two days). Adjusting variables covered the most important factors influencing
106 hospitalization, including age, sex, living in a nursing home, burden of comorbidities
107 (Charlson Comorbidity Index), vaccination status, severity (National Early Warning
108 Score, NEWS) and anti-SARS-CoV-2 N IgG levels to control the influence of prior
109 SARS-CoV-2 infections (Table S1). We next split the cohort into three groups based on
110 the presence/absence of a positive rapid N-antigen test in plasma and levels of antibodies
111 to further assess their impact on the risk of hospitalization: [N·Ag (-) and High anti-S1],
112 [N·Ag (+) or Low anti-S1] and [N·Ag (+) and Low anti-S1]. The threshold for
113 differentiating low and high antibody levels was obtained by calculating the optimal
114 operating point in the area under the receiver operating characteristic to predict
115 hospitalization (2821 AU/mL) (Figure S1) [6].

116

117

118

119

120 RESULTS

121 146 patients were studied, of whom 71 (48%) were in the [N·Ag (-) and High anti-S1],
122 52 (36%) were in the [N·Ag (+) or Low anti-S1], and 23 (16%) were in the [N·Ag (+)
123 and Low anti-S1] (Table S2). The cohorts were similar in age and gender composition.
124 The presence of comorbidities was also similar, being chronic liver disease and
125 hypertension significantly more frequent in the [N·Ag (+) and Low anti-S1] group than
126 in the [N·Ag (+) or Low anti-S1] group. Besides, the prevalence of active neoplasia was
127 the highest in the [N·Ag (+) and Low anti-S1] group. Regarding vaccination, patients in
128 the [N·Ag (-) and High anti-S1] group were those who had received more frequently at
129 least two doses of the SARS-CoV-2 vaccine (94.40%). In contrast, less than half of the
130 patients in the [N·Ag (+) and Low anti-S1] group had received at least two doses. Patients
131 in the [N·Ag (+) and Low anti-S1] group showed higher NEWS scores than the patients
132 in the other groups. In addition, these patients needed more frequent oxygen treatment
133 (Table S2). As depicted in Figure 1, panel A, 61% of patients in the [N·Ag (+) and Low
134 anti-S1] group had bilateral pulmonary infiltrates, in contrast to 23% of those patients in
135 the [N·Ag (+) or Low anti-S1] group and 10% of those patients in the [N·Ag (-) and High
136 anti-S1] group. In turn, the vast majority of patients of the [N·Ag (+) and Low anti-S1]
137 group needed hospitalization (87%), while only 35% and 28% needed it in the [N·Ag (+)
138 or Low anti-S1] and the [N·Ag (-) and High anti-S1] groups respectively (Figure 1, Panel
139 B). Similarly, patients of the [N·Ag (+) and Low anti-S1] group showed the highest
140 mortality (30%) (Figure 1, panel C). The multivariable analysis revealed that those
141 patients presenting at the ER with a positive rapid N-antigen test in plasma and low anti-
142 SARS-CoV2 S1 IgG antibodies had a higher risk of hospitalization, independently of age,
143 gender, institutionalization at a nursing home, the Charlson Index, NEWS, the levels of
144 Anti-N IgG antibodies and vaccination status (Table 1 and Table S3). These patients had

145 also a higher odd of presenting bilateral pulmonary infiltrates (OR [95%], p : 10.61, [1.89
146 - 59.64], p = 0.007) and dying at the hospital (OR [95%], p : 65.52, [3.22-1331.91]; p =
147 0.006).

148

149 **DISCUSSION**

150 Searching for factors allowing for early identification of those COVID-19 patients at risk
151 of hospitalization is necessary to early provide these patients with the appropriate
152 respiratory/vital support. This is the first work evidencing a synergistic impact of a
153 positive rapid N-antigen test in plasma with low anti-SARS-CoV-2 S1 IgG on the risk of
154 hospitalization of COVID-19 patients in the ER. Patients with the concomitant presence
155 of both factors were more severe, having an 18-fold higher risk of hospitalization, along
156 with a higher risk of death. Probably, the [N·Ag (+) and Low anti-S1] patients were those
157 truly unable to control viral replication [7] [8], showing systemic dissemination of either
158 the virus or viral components [4] [9] [10]. In fact, previous unpublished data from our
159 group with 374 COVID-19 patients admitted to the ER evidence that a positive result in
160 the rapid test in plasma corresponds to the presence of large concentrations of N antigen
161 (≥ 428 pg/mL, sensitivity = 88%, specificity = 73%, COV-Quanto ELISA).

162 This work poses several limitations, such as the sample size and the fact that it was
163 developed when the “original” Omicron variant was still predominant. In addition, we
164 did not quantify N-antigen levels. Nonetheless, this study demonstrates the potential of
165 the combination of a rapid N-antigen test (easy to run in the ER) with anti-S1 antibody
166 levels to identify a subset of patients admitted to the ER needing hospitalization, which
167 could complement other clinical or biological information. Further works with larger
168 cohorts should confirm these findings.

7

169 **Conflict of Interest:** JME, MDG, JFBM, FB, and RLI had filled in a patent on
170 antigenemia as a predictor of poor outcomes in COVID-19 (EP20383140). The remaining
171 authors declare no conflicts of interest regarding this work.

172 **Funding Source:** FSF contract was supported by CIBERES which is an initiative of the
173 Instituto de Salud Carlos III, and by “Programa de donaciones estar preparados;
174 UNESPA” (Madrid, Spain). AdIF contract is financially supported by Instituto de Salud
175 Carlos III (PFIS: FI20/00278), co-funded by the European Social Fund (ESF)/Investing
176 in your future. TP contract was supported by Fundació La Marató de TV3 (ajudes
177 Econòmiques a Projectes de Recerca sobre Covid-19 - La Marató 2020, code 202108-30-
178 31).

179 **Contribution:** RLI, and JFBM, designed the study and coordinated its implementation.
180 VCR, JAM, SSR, LNF, CEV, LMVR, ENM recruited the patients and collected the
181 samples. FSF and RLI collected the clinical data. AdIF, FSF, TP and AO developed the
182 laboratory works. AdIF, TP, FSF performed the statistical analysis and wrote the
183 manuscript. JFBM and RLI verified the data. All the authors critically revised the
184 manuscript. All authors had full access to all the data in the study and had final
185 responsibility for the decision to submit for publication.

186 **Acknowledgements:** the authors thank the funding sources and lab technicians of the
187 microbiology Service for their support in processing the samples analyzed in this study.

188 **Ethical statement:** the patient or legally authorized representative provided informed
189 consent before enrolment. Scientific and ethical approval of the study protocol was
190 obtained from the “Comite de Etica de la Investigacion con Medicamentos (CEIm) del
191 Area de Salud de Valladolid Oeste” (Ref. CEIm: PI055-20). The work was developed by
192 current Spanish law for Biomedical Research, fulfilling the standards indicated by the
193 Declaration of Helsinki.

194 **References**

- 195 [1] Taylor CA, Patel K, Patton ME, Reingold A, Kawasaki B, Meek J, et al. COVID-
196 19-Associated Hospitalizations Among U.S. Adults Aged ≥ 65 Years - COVID-
197 NET, 13 States, January-August 2023. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*
198 2023;72:1089–94. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm7240a3>.
- 199 [2] Ahava MJ, Kurkela S, Kuivanen S, Lappalainen M, Jarva H, Jääskeläinen AJ.
200 Detection of SARS-CoV-2 nucleocapsid antigen from serum can aid in timing of
201 COVID-19 infection. *J Virol Methods* 2022;302:114469.
202 <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2022.114469>.
- 203 [3] Almansa R, Eiros JM, de Gonzalo-Calvo D, Postigo T, Ortega A, Lopez-Izquierdo
204 R, et al. N-antigenemia detection by a rapid lateral flow test predicts 90-day
205 mortality in COVID-19: A prospective cohort study. *Clin Microbiol Infect Off Publ*
206 *Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis* 2022;28:1391.e1-1391.e5.
207 <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2022.05.023>.
- 208 [4] Martin-Vicente M, Almansa R, Martínez I, Tedim AP, Bustamante E, Tamayo L, et
209 al. Low anti-SARS-CoV-2 S antibody levels predict increased mortality and
210 dissemination of viral components in the blood of critical COVID-19 patients. *J*
211 *Intern Med* 2022;291:232–40. <https://doi.org/10.1111/joim.13386>.
- 212 [5] Tajuelo A, Carretero O, García-Ríos E, López-Siles M, Cano O, Vázquez M, et al.
213 Brief Research Report: Virus-Specific Humoral Immunity at Admission Predicts the
214 Development of Respiratory Failure in Unvaccinated SARS-CoV-2 Patients. *Front*
215 *Immunol* 2022;13:878812. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.878812>.
- 216 [6] Almansa R, Ortega A, Ávila-Alonso A, Heredia-Rodríguez M, Martín S, Benavides
217 D, et al. Quantification of Immune Dysregulation by Next-generation Polymerase

- 218 Chain Reaction to Improve Sepsis Diagnosis in Surgical Patients. *Ann Surg*
219 2019;269:545–53. <https://doi.org/10.1097/SLA.0000000000002406>.
- 220 [7] Bermejo-Martin JF, García-Mateo N, Motos A, Resino S, Tamayo L, Ryan Murua
221 P, et al. Effect of viral storm in patients admitted to intensive care units with severe
222 COVID-19 in Spain: a multicentre, prospective, cohort study. *Lancet Microbe*
223 2023;4:e431–41. [https://doi.org/10.1016/S2666-5247\(23\)00041-1](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(23)00041-1).
- 224 [8] Bermejo-Martin JF, González-Rivera M, Almansa R, Micheloud D, Tedim AP,
225 Domínguez-Gil M, et al. Viral RNA load in plasma is associated with critical illness
226 and a dysregulated host response in COVID-19. *Crit Care Lond Engl* 2020;24:691.
227 <https://doi.org/10.1186/s13054-020-03398-0>.
- 228 [9] Van Cleemput J, van Snippenberg W, Lambrechts L, Dendooven A, D’Onofrio V,
229 Couck L, et al. Organ-specific genome diversity of replication-competent SARS-
230 CoV-2. *Nat Commun* 2021;12:6612. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-26884-7>.
- 231 [10] Veyrenche N, Pisoni A, Debiecse S, Bollere K, Bedin AS, Makinson A, et al.
232 Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Nucleocapsid Antigen in Urine
233 of Hospitalized Patients With Coronavirus Disease 2019. *J Infect Dis*
234 2022;226:812–21. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiac073>.
- 235

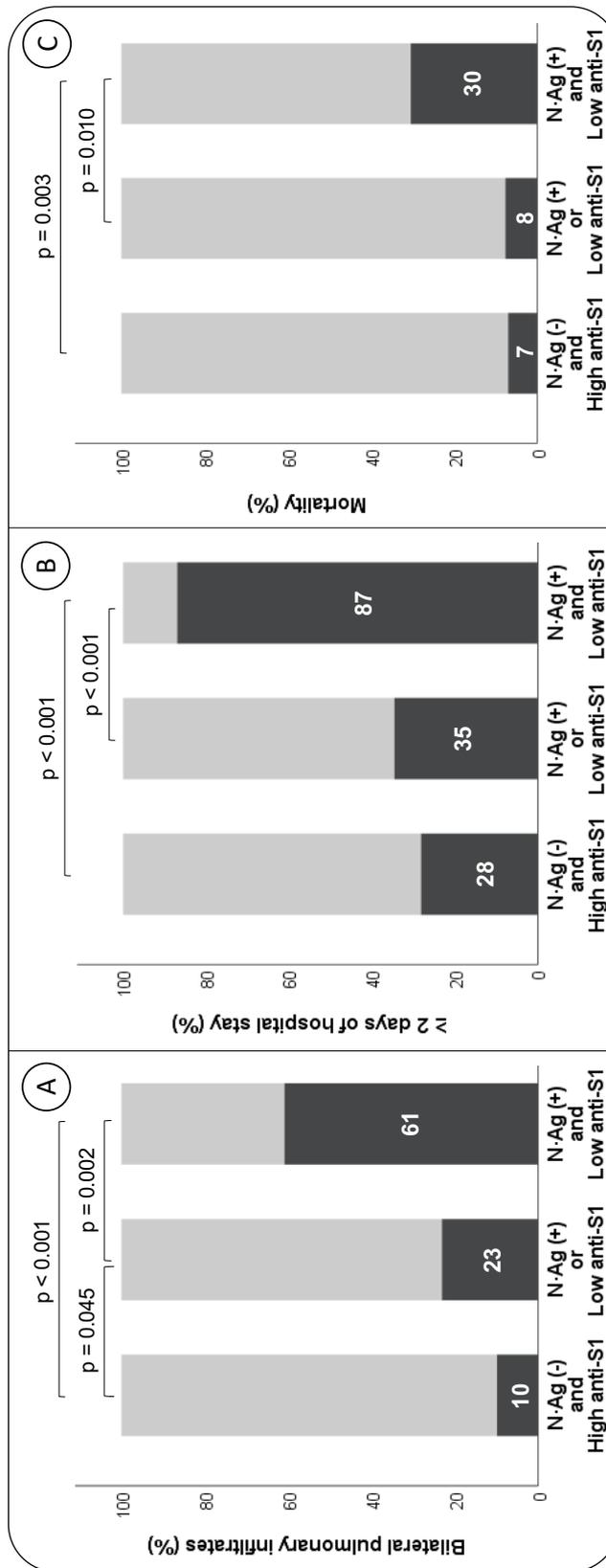


Figure Legend

- 1 **Figure legend**
- 2
- 3 **Figure 1. Frequency of bilateral infiltrates in the chest X-ray (A), hospitalization (B) and**
- 4 **mortality (C) depending on the presence/absence of a positive rapid N-antigen test and/or**
- 5 **high or low levels of anti-SARS-CoV-2 S1 antibody levels.**

Table

[Click here to access/download;Table;Table 1 RTR.docx](#)

	Univariable (N=146)				Multivariable (N=146)			
	OR	CI95%		<i>p</i>	OR	CI95%		<i>p</i>
Age (years)	1.06	1.04	1.09	<0.001	1.04	1.01	1.07	0.007
Male	2.35	1.19	4.62	0.013	1.03	0.35	3.00	0.963
Institutionalization at nursery home	5.54	1.69	18.17	0.005	0.51	0.08	3.25	0.474
Charlson Comorbidity Index*	2.55	1.77	3.68	<0.001	1.67	0.99	2.81	0.056
Vaccination (≥ 2 doses)	0.45	0.19	1.04	0.062	1.18	0.25	5.59	0.837
NEWS	1.65	1.40	1.95	<0.001	1.41	1.16	1.72	0.001
Anti-SARS-CoV-2 N IgG (AU/mL)	0.96	0.81	1.14	0.646	0.92	0.70	1.21	0.568
Combination of rapid N-antigen test in plasma with anti-SARS CoV-2 S1 IgG								
N·Ag (-) and High anti-S1	1(Ref)				1(Ref)			
N·Ag (+) or Low anti-S1	1.35	0.62	2.92	0.445	1.66	0.49	5.68	0.416
N·Ag (+) and Low anti-S1	17.00	4.55	63.58	<0.001	18.21	2.74	121.18	0.003

Table 1. Univariate and multivariate logistic regression analysis to predict hospitalization

for two or more days. Low anti-S1 means < 2821 AU/mL; high anti-S1 means ≥ 2821 AU/mL.

*Charlson Comorbidity Index without age.

Supplementary Material

[Click here to access/download:Supplementary Material;Supplementary Material RTR.docx](#)

✚

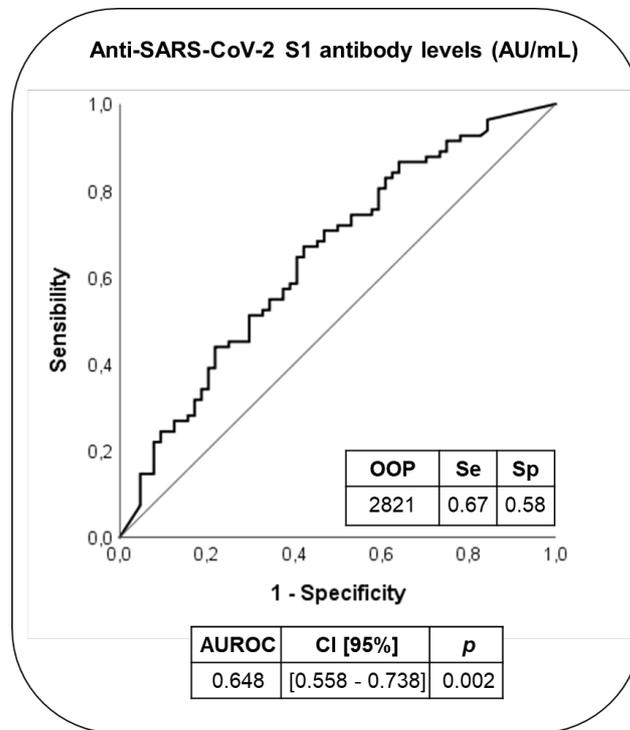


Figure S1. The area under the receiver operating characteristic curve (AUROC) is used to evaluate the accuracy of the anti-SARS-CoV-2 S1 IgG antibody levels in plasma to predict the absence of hospitalization following admission to the emergency room. OOP: 2821 AU/ml. AU, Arbitrary units; OOP, Optimal operating point; Se, sensibility; Sp, Specificity.

	Univariate (N=146)			Multivariate (N=146)			Multivariate (N=146)		
	OR	CI95%	p	OR	CI95%	p	OR	CI95%	p
Age (years)	1.06	1.04 1.09	<0.001	1.03	1.01 1.06	0.014	1.05	1.02 1.08	0.002
Male	2.35	1.19 4.62	0.013	1.31	0.48 3.52	0.597	1.33	0.49 3.61	0.574
Institutionalization at nursery home	5.54	1.69 18.17	0.005	0.63	0.10 3.92	0.619	0.75	0.12 4.54	0.751
Charlson Comorbidity Index*	2.55	1.77 3.68	<0.001	1.50	0.94 2.39	0.088	1.85	1.10 3.12	0.021
Vaccination (≥ 2 doses)	0.45	0.19 1.04	0.062	0.76	0.19 3.00	0.698	0.68	0.19 2.47	0.563
NEWS	1.65	1.40 1.95	<0.001	1.41	1.17 1.70	<0.001	1.36	1.13 1.64	0.001
Anti-SARS-CoV-2 N IgG (AU/mL)	0.96	0.81 1.14	0.646	0.90	0.70 1.17	0.434	0.90	0.69 1.18	0.436
Rapid N-antigen test (+) in plasma	7.91	3.23 19.36	<0.001	4.19	1.19 14.72	0.025			
Anti-SARS-CoV-2 S1 IgG (< 2821 AU/mL)	2.15	1.10 4.23	0.026				3.70	1.18 11.58	0.025

Table S1. Univariate and multivariate logistic regression analysis to predict hospitalization for two or more days. *Charlson Comorbidity Index without age.

Table S2. Clinical characteristics of patients admitted to the emergency room. Statistics: Continuous variables are represented as median (interquartile range, IQR) and categorical variables as absolute count (%). P-values were calculated by the Kruskal-Wallis test for continuous variables and chi-squared tests for categorical variables. Significant differences are shown in bold. Abbreviations: p-value, level of significance; COPD, Chronic obstructive pulmonary disease; COVID-19, coronavirus disease- 2019; NEWS, National Early Warning Score; SpO₂/FIO₂, oxygen saturation/fraction of inspired oxygen. Low anti-S1 means < 2821 AU/mL; high anti-S1 means ≥ 2821 AU/MI. *Charlson Comorbidity Index without age.

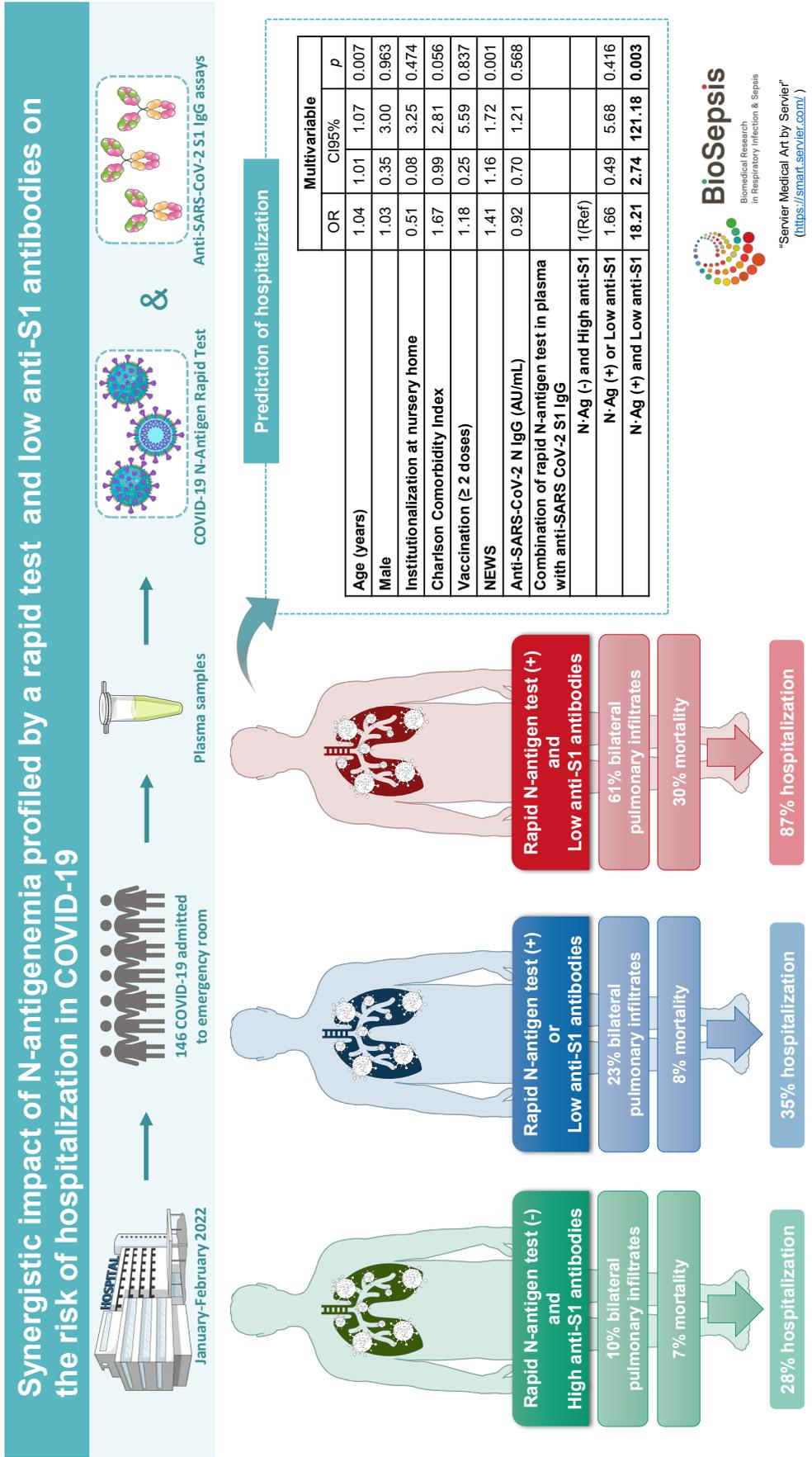
Clinical characteristics and outcomes	All patients	N·Ag (-) and High anti-S1 (0)	N·Ag (+) or Low anti-S1 (1)	N·Ag (+) and Low anti-S1 (2)	p-value (0-1)	p-value (0-2)	p-value (1-2)
No [n (%)]	146 (100.00)	71 (48.60)	52 (35.60)	23 (15.80)			
Age (years) [median (IQR)]	55 (34.00)	56 (36.00)	51 (35.00)	73 (25.00)	n.s	n.s	n.s
Male [n (%)]	70 (47.90)	29 (40.80)	27 (51.90)	14 (60.90)	n.s	n.s	n.s
Comorbidities [n (%)]							
Institutionalization at nursery home	16 (11.00)	11 (15.50)	2 (3.80)	3 (13.0)	0.038	n.s	n.s
Myocardial Infarction	2 (1.40)	1 (1.40)	1 (1.90)	0 (0.00)	n.s	n.s	n.s
Cardiac Insufficiency	22 (15.10)	10 (14.10)	9 (17.3)	3 (13.00)	n.s	n.s	n.s
Peripheral Arterial Disease	10 (6.80)	5 (7.00)	3 (5.80)	2 (8.70)	n.s	n.s	n.s
Cerebrovascular disease	10 (6.80)	5 (7.00)	3 (5.80)	2 (8.70)	n.s	n.s	n.s
Dementia	18 (12.30)	11 (15.50)	5 (9.60)	2 (8.70)	n.s	n.s	n.s
Chronic pulmonary disease	32 (21.90)	13 (18.30)	11 (21.20)	8 (34.80)	n.s	n.s	n.s
COPD	10 (6.80)	3 (4.20)	4 (7.70)	3 (13.00)	n.s	n.s	n.s
Chronic liver disease	4 (2.70)	2 (2.80)	0 (0.00)	2 (8.70)	n.s	n.s	0.031
Diabetes Mellitus	23 (15.80)	11 (15.50)	7 (13.50)	5 (21.70)	n.s	n.s	n.s
Chronic renal disease	6 (4.10)	5 (7.00)	0 (0.00)	1 (4.30)	n.s	n.s	n.s
Hypertension	36 (24.70)	18 (25.40)	9 (17.30)	9 (39.1)	n.s	n.s	0.041
Dyslipidemia	27 (18.50)	17 (23.90)	5 (9.60)	5 (21.70)	0.041	n.s	n.s
Active malignant neoplasm	4 (2.7)	0 (0.00)	0 (0.00)	4 (17.40)	n.s	<0.001	0.002
Previous COVID-19	14 (9.60)	11 (15.50)	2 (3.80)	3 (4.00)	0.038	n.s	n.s
Vaccination (≥ 2 doses)	119 (81.50)	67 (94.40)	41 (78.80)	11 (47.80)	0.009	<0.001	0.007
Severity Level							
≥ 2 days of hospital stay [n (%)]	58 (39.70)	20 (28.20)	18 (34.60)	20 (87.00)	n.s	<0.001	<0.001
Hospital stay [median (IQR)]	0 (6.00)	0 (2.00)	0 (3.50)	7 (9.00)	n.s	<0.001	<0.001
Hospital mortality [n (%)]	16 (11)	5 (7.00)	4 (7.70)	7 (30.40)	n.s	0.003	0.010
Charlson Comorbidity Index* [median (IQR)]	0 (2.00)	2 (6.00)	0 (1.00)	1 (2.00)	n.s	0.045	0.013
Glasgow Scale [median (IQR)]	15 (0.00)	15 (0.00)	15 (0.00)	15 (0.00)	n.s	n.s	n.s
NEWS [median (IQR)]	2.50 (5.00)	2 (3.00)	2.50 (6.00)	5 (6.00)	n.s	<0.001	0.022
Measurements at emergency room admission							
SpO2/FIO2 ratio [median (IQR)]	466.67 (23.81)	466.67 (23.81)	464.28 (27.38)	457.14 (54.76)	n.s	n.s	n.s
Need supplemental oxygen [n (%)]	45 (30.80)	14 (19.70)	17 (32.70)	14 (60.90)	n.s	<0.001	0.022
Bilateral pulmonary infiltrates [n (%)]	33 (22.60)	7 (9.90)	12 (23.10)	14 (60.90)	0.045	<0.001	0.002
Rapid N-antigen test (+) [n (%)]	33 (22.80)	0 (0.00)	10 (19.6)	23 (100.00)	<0.001	<0.001	<0.001
Anti-SARS-CoV-2 N IgG (AU/mL) [median (IQR)]	0.05 (0.32)	0.10 (0.82)	0.03 (0.13)	0.04 (0.16)	0.013	0.026	n.s
Anti-SARS-CoV-2 S1 IgG (AU/mL) [median (IQR)]	4203.80 (13252.90)	14638.00 (19614.30)	901.20 (2622.80)	1.70 (375.10)	<0.001	<0.001	0.031
< 2821 AU/mL Anti-SARS-CoV-2 S1 IgG [n (%)]	64 (43.80)	0 (0.00)	41 (78.8)	23 (100.00)	<0.001	<0.001	0.017

	Univariable (N=146)				Multivariable (N=146)			
	OR	CI95%	<i>p</i>		OR	CI95%	<i>p</i>	
Age (years)	1.06	1.04	1.09	<0.001	1.04	1.01	1.07	0.009
Male	2.35	1.19	4.62	0.013	1.10	0.38	3.17	0.856
Institutionalization at nursery home	5.54	1.69	18.17	0.005	0.48	0.07	3.04	0.434
Charlson Comorbidity Index*	2.55	1.77	3.68	<0.001	1.50	0.92	2.47	0.106
Vaccination (≥ 2 doses)	0.45	0.19	1.04	0.062	0.99	0.22	4.41	0.986
NEWS	1.65	1.40	1.95	<0.001	1.41	1.17	1.70	<0.001
Anti-SARS-CoV-2 N IgG (AU/mL)	0.96	0.81	1.14	0.646	0.90	0.69	1.18	0.461
Rapid N-antigen test (+) in plasma with anti-SARS-CoV-2 S1 IgG (< 2821 AU/mL)	14.91	4.18	53.22	<0.001	13.09	2.42	70.68	0.003

Table S3. Univariate and multivariate logistic regression analysis to predict hospitalization for two or more days. In this analysis, the [N:Ag (+) and Low anti-S1] group was compared against the two remaining groups merged together [N:Ag (-) and High anti-S1] and [N:Ag (+) or Low anti-S1].

Highlights

- There is a need for early detection of COVID-19 patients at risk of hospitalization
- Concomitant profiling of viral and host parameters could help to this regard
- A positive rapid N-antigen test in plasma with low S1-IgG predicts hospitalization



"Servier Medical Art by Servier" (<https://smart.servier.com/>)

Comunicaciones internacionales

Sepsis Update 2023-11th International Congress

Weimar (Alemania). 6-8 de septiembre de 2023.

Póster: "Antigenemia and low anti-S1 antibodies at Emergency Room admission predict hospitalization in COVID-19 during an Omicron-predominant wave" (Abstract 008)

Amanda de la Fuente, Tamara Postigo, Alicia Ortega, Marta Dominguez-Gil González, Raúl López Izquierdo, Jesus F Bermejo-Martin

20th Congress of the European Shock Society

Viena (Austria). 21-23 de septiembre de 2023.

Comunicación oral: "The combination of CRP and PCT improves the identification and severity stratification of infection in surgical patients" (Abstract 147).

Amanda de la Fuente, Jaime López-Sánchez, Luis Mario Vaquero-Roncero, Tamara Postigo, María Merino García, César Aldecoa, Jesús F Bermejo-Martin

The European Emergency Medicine Congress

Berlín (Alemania). 15-19 de octubre de 2022.

Póster: "N-antigenemia at emergency room admission predicts 30-day mortality in covid-19 during an omicron predominant period: an observational cohort study".

Jesús Álvarez-Manzanares, **Amanda de la Fuente**, Francisco Sanus Ferri, Marta Domínguez-Gil, Jose María Eiros, Virginia Carbajosa Rodríguez, Tamara Postigo, Susana Sanchez Ramon, Alicia Ortega, Laura N. Fadrique Millán, Jesús F Bermejo-Martin, Raul Lopez-Izquierdo

Comunicaciones nacionales

III Jornada de encuentro entre grupos de investigación del IBSAL

Salamanca, 13 de junio de 2024

Póster: "Synergistic impact of N-antigenemia profiled by a rapid antigen test low anti-S1 antibodies on the risk of hospitalization in COVID-19"

Amanda de la Fuente, Tamara Postigo, Marta Domínguez-Gil, Alicia Ortega, Luis Mario Vaquero-Roncero, Carmen Esteban-Velasco, Elena Navarro-Matías, Ferran Barbé, Jesús F. Bermejo-Martin, Raul Lopez-Izquierdo

X JORNADAS DE INVESTIGADORAS DE CASTILLA Y LEÓN. LA AVENTURADE LA CIENCIA Y LA TECNOLOGÍA

Valladolid, 18-19 de abril de 2024.

Póster: "Synergistic impact of innate immunity hyper-activation and endothelial dysfunction on the magnitude of organ failure in the infection-sepsis continuum"

A. de la Fuente, M. Merino García, M.E. Sánchez Barbados, J. López-Sánchez , C. Aldecoa, J.F. Bermejo-Martín

I Reunión nacional grupo de trabajo de infecciones perioperatorias

Bilbao, 25-27 de enero de 2024

Ponencia principal: "Diagnóstico precoz: actualización en marcadores"

Facilitador: César Aldecoa Alvarez de Santullano

Amanda de la Fuente y Carlos García Palenciano

Jornada CIBERES-INFEC

Madrid, 15 y 16 de junio de 2023

Póster: “Low anti-s1 antibodies and antigenemia at emergency room admission predict hospitalization in covid-19 during an omicron-predominant wave”.

Amanda de la Fuente Vazquez, Tamara Postigo, Jesus Alvarez Manzanes, Marta Dominguez-Gil González, Jesus Bermejo-Martín, Raul López Izquierdo

II Jornada de encuentro entre grupos de investigación del IBSAL

Salamanca, 13 de junio de 2023

Póster y comunicación oral: “BIO-5: A combination of biomarkers of endothelial dysfunction and innate immunity to improve identification and severity of infection in surgical patients”.

Amanda de la Fuente, Jaime López-Sánchez, Luis Mario Vaquero-Roncero, María Merino García, César Aldecoa, Jesús F Bermejo-Martin

IX JORNADAS DE INVESTIGADORAS DE CASTILLA Y LEÓN. LA AVENTURADE LA CIENCIA Y LA TECNOLOGÍA

Salamanca, 9-10 de febrero de 2023

Póster: “Cuantificación de 10 biomarcadores con un test rápido como herramienta para identificar los pacientes postquirúrgicos con riesgo de sepsis”.

A. de la Fuente, M. Merino García, M.E. Sánchez Barbados, C. Esteban-Velasco, C. Aldecoa, J.F. Bermejo-Martín

XV Congreso Sepsis Valladolid-Gtipo,

Valladolid, 10-12 de noviembre de 2022

Comunicación oral y póster: “la cuantificación de 10 biomarcadores con un test “a pie de cama” como herramienta para identificar los pacientes postquirúrgicos con riesgo de infección y sepsis” (ISBN 978-84-09-45716-8).

Amanda de la Fuente, Cesar Aldecoa, Luis Mario Vaquero Roncero, María Merino García, Jaime López Sánchez, Jesús F Bermejo-Martín

XXXII Congreso Nacional SEMS

Vigo, 8-10 de junio de 2022

Póster: “Uso de la antigenemia y de los anticuerpos anti-SARS-CoV-2 en un servicio de urgencias hospitalario”

J Alvarez Manzanes, **A De la Fuente Vazquez**, M Dominguez-Gil González, F Sanus Ferri, J Bermejo Martín, R López Izquierdo

Premios

Premio “*Specialty Area Company Award in the field of biomarkers of disease/organ dysfunction and related topics*” en el *20th Congress of the European Shock Society* celebrado en Viena (Austria) del 21-23 de septiembre de 2023.

Primer premio Dr. Juan Navia a la Mejor Comunicación Oral en el XV Congreso Sepsis Valladolid-Gtipo, celebrado en Valladolid del 10-12 de noviembre de 2022.



Pharm-analyt Labor GmbH
Recognizes

Amanda de la Fuente

As **Recipient** of the Specialty Area Company
Award in the field of biomarkers of disease/
organ dysfunction and related topics at the

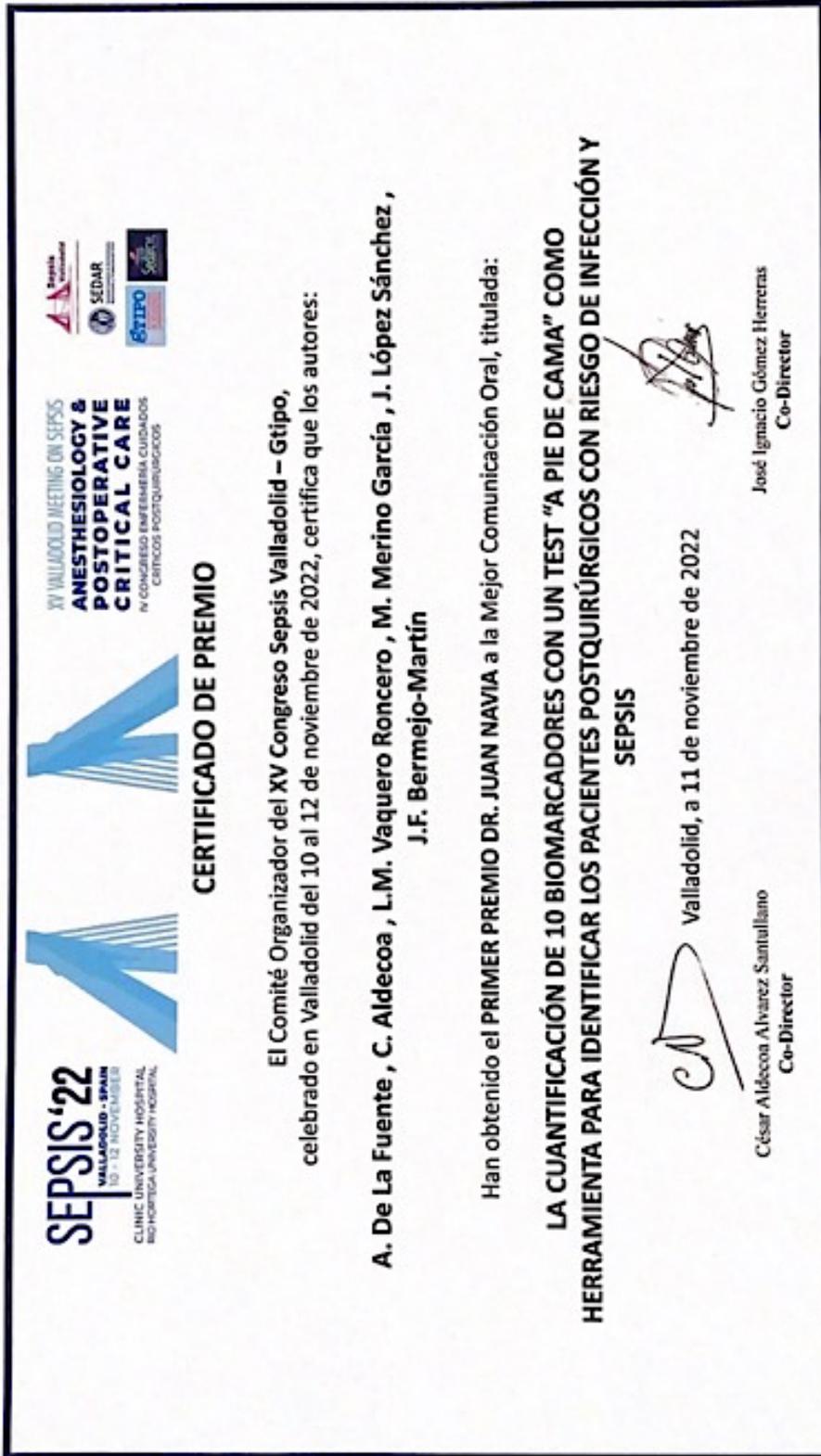
**20th Congress of the
European Shock Society**

M. Osuchowski
M. Osuchowski
ESS President

Herman Mascher
H. Mascher
Head of Company



21-23 September, 2023 | Vienna | Austria



Otras publicaciones científicas

“Prevalence and clinical relevance of viraemia in viral respiratory tract infections: a systematic review”

Hagman K, Postigo T, Diez-Castro D, Ursing J, Bermejo-Martin JF, **de la Fuente A**, Tedim AP

Revista: Lancet Microbe. 2024 Sep 26:100967

Índice de Impacto (JCR 2023): 20.9

Categoría: INFECTIOUS DISEASES

Cuartil: 1 (D1)

“Effect of viral storm in patients admitted to intensive care units with severe COVID-19 in Spain: a multicentre, prospective, cohort study.”

Bermejo-Martin JF, García-Mateo N, Motos A, Resino S, Tamayo L, Ryan Murua P, Bustamante-Munguira E, Gallego Curto E, Úbeda-Iglesias A, de la Torre MDC, Estella Á, Campos-Fernández S, Martínez Varela I, Pérez-García F, Socías L, López Messa J, Vidal-Cortés P, Sagredo Meneses V, González-Rivera M, Carbonell N, de Gonzalo-Calvo D, Martín Delgado MC, Valdivia LJ, Martín-López C, Jorge García RN, Maseda E, Loza-Vázquez A, Kelvin DJ, Barbé F, Torres A; **CIBERES-UCI-COVID Group**.

Revista: Lancet Microbe. 2023;4(6):e431-e441

Índice de Impacto (JCR 2023): 20.9

Categoría: INFECTIOUS DISEASES

Cuartil: 1 (D1)

“Prime-time for clinical use of transcriptomics for differentiating viral from bacterial respiratory infection.”

de la Fuente A, García-Mateo N, Bermejo-Martin JF.

Revista: European Journal of Clinical Investigation. 2023;53(5):e13967

Índice de Impacto (JCR 2023): 4,4

Categoría: MEDICINE, GENERAL & INTERNAL

Cuartil: 1

“N-antigenemia detection by a rapid lateral flow test predicts 90-day mortality in COVID-19: A prospective cohort study.”

Almansa R, Eiros JM, de Gonzalo-Calvo D, Postigo T, Ortega A, Lopez-Izquierdo R, Moncusí-Moix A, Gort-Paniello C, Dominguez-Gil M, **de la Fuente A**, González-González L, Luis-García T, García-Mateo N, Tedim AP, Rodríguez-Jara F, Jorge N, González J, Torres G, Gutiérrez-Pérez ON, Villegas MJ, Campo S, Ayllon E, Albi TR, de Frutos Arribas J, Domingo AA, Abadia-Otero J, Barquero JG, Trapiello W, Garcia Frade LJ, Inglada L, Campo FD, Bermejo-Martin JF, Barbé F, Torres A.

Revista: *Clinical Microbiology and Infection*. 2022;28(10):1391.e1-1391.e5.

Índice de Impacto (JCR 2023): 10,9

Categoría: INFECTIOUS DISEASES

Cuartil: 1 (D1)

“Digital PCR applications for the diagnosis and management of infection in critical care medicine.”

Merino I, **de la Fuente A**, Domínguez-Gil M, Eiros JM, Tedim AP, Bermejo-Martín JF.

Revista: *Critical Care*. 2022;26(1):63.

Índice de Impacto (JCR 2023): 8,8

Categoría: CRITICAL CARE MEDICINE

Cuartil: 1 (D1)

“Low anti-SARS-CoV-2 S antibody levels predict increased mortality and dissemination of viral components in the blood of critical COVID-19 patients.”

Martin-Vicente M, Almansa R, Martínez I, Tedim AP, Bustamante E, Tamayo L, Aldecoa C, Gómez JM, Renedo G, Berezo JÁ, Cedeño JA, Mamolar N, García Olivares P, Herrán-Monge R, Cicuendez R, Enríquez P, Ortega A, Jorge N, Doncel C, **de la Fuente A**, Bustamante-Munguira J, Muñoz-Gómez MJ, González-Rivera M, Puertas C, Más V, Vázquez M, Pérez-García F, Rico-Feijoo J, Martín S, Motos A, Fernandez-Barat L, Eiros JM, Dominguez-Gil M, Ferrer R, Barbé F, Trapiello W, Kelvin DJ, Bermejo-Martin JF, Resino S, Torres A

Revista: *Journal of Internal Medicine*. 2022;291(2):232-240.

Índice de Impacto (JCR 2023): 9

Categoría: MEDICINE, GENERAL & INTERNAL

Cuartil: 1 (D1)

“A host transcriptomic signature for identification of respiratory viral infections in the community.”

Almansa R, Herrero-Rodríguez C, Martínez-Huélamo M, Vicente-Andres MDP, Nieto-Barbero JA, Martín-Ballesteros M, Rodilla-Carvajal MDM, **de la Fuente A**, Ortega A, Alonso-Ramos MJ, Wacker J, Liesenfeld O, Sweeney TE, Bermejo-Martin JF, García-Ortiz L; PREWISE Study Group.

Revista: European Journal of Clinical Investigation. 2021;51(12):e13626.

Índice de Impacto (JCR 2023): 4,4

Categoría: MEDICINE, GENERAL & INTERNAL

Cuartil: 1

“Mounting evidence of impaired viral control in severe COVID-19.”

Bermejo-Martin JF, Almansa R, Tedim AP, **de la Fuente A**, Eiros JM, Torres A, Kelvin DJ.

Revista: Lancet Microbe. 2021;2(6):e228-e229.

Índice de Impacto (JCR 2023): 20.9

Categoría: INFECTIOUS DISEASES

Cuartil: 1 (D1)

“The COVID-19 puzzle: deciphering pathophysiology and phenotypes of a new disease entity.”

Osuchowski MF, Winkler MS, Skirecki T, Cajander S, Shankar-Hari M, Lachmann G, Monneret G, Venet F, Bauer M, Brunkhorst FM, Weis S, Garcia-Salido A, Kox M, Cavillon JM, Uhle F, Weigand MA, Flohé SB, Wiersinga WJ, Almansa R, **de la Fuente A**, Martin-Loeches I, Meisel C, Spinetti T, Schefold JC, Cilloniz C, Torres A, Giamarellos-Bourboulis EJ, Ferrer R, Girardis M, Cossarizza A, Netea MG, van der Poll T, Bermejo-Martín JF, Rubio I.

Revista: Lancet Respir Med. 2021;9(6):622-642.

Índice de Impacto (JCR 2023): 38,7

Categoría: CRITICAL CARE MEDICINE

Cuartil: 1 (D1)

“Viral RNA load in plasma is associated with critical illness and a dysregulated host response in COVID-19.”

Bermejo-Martin JF, González-Rivera M, Almansa R, Micheloud D, Tedim AP, Domínguez-Gil M, Resino S, Martín-Fernández M, Ryan Murua P, Pérez-García F, Tamayo L, Lopez-Izquierdo R, Bustamante E, Aldecoa C, Gómez JM, Rico-Feijoo J, Orduña A, Méndez R, Fernández Natal I, Megías G, González-Estecha M, Carriedo D, Doncel C, Jorge N, Ortega A, **de la Fuente A**, Del Campo F, Fernández-Ratero JA, Trapiello W, González-Jiménez P, Ruiz G, Kelvin AA, Ostadgavahi AT, Oneizat R, Ruiz LM, Miguéns I, Gargallo E, Muñoz I, Pelegrin S, Martín S, García Olivares P, Cedeño JA, Ruiz Albi T, Puertas C, Berezo JÁ, Renedo G, Herrán R, Bustamante-Munguira J, Enríquez P, Cicuendez R, Blanco J, Abadia J, Gómez Barquero J, Mamolar N, Blanca-López N, Valdivia LJ, Fernández Caso B, Mantecón MÁ, Motos A, Fernandez-Barat L, Ferrer R, Barbé F, Torres A, Menéndez R, Eiros JM, Kelvin DJ.

Revista: Critical Care. 2020;24(1):691.

Índice de Impacto (JCR 2023): 8,8

Categoría: CRITICAL CARE MEDICINE

Cuartil: 1 (D1)

10. ANEXOS

Anexo 1



1

HOJA DE INFORMACIÓN Y CONSENTIMIENTO INFORMADO

PROYECTO: “Validación de una escala molecular de fallo de órgano (mSOFA) para mejorar la detección de sepsis y shock séptico utilizando un inmunoensayo basado en la microfluidica (SIMPLE-SEPSIS)

Servicio: Anestesiología y Reanimación y Grupo Biosepsis. Hospital Universitario Río Hortega.

INVESTIGADORES RESPONSABLES: Dr. César Aldecoa (983 42 04 00 ext 83592), Dr. Jesús Fco. Bermejo Martín.

Introducción.

Nos dirigimos a usted para informarle sobre un estudio de investigación en el que se le invita a participar. Su participación es voluntaria. Por favor, tómese el tiempo que necesite para leer la siguiente información y consultar lo que desee. Pregúntele al investigador de este estudio si hay algo que no le queda claro o si desea obtener más información.

Objetivo del estudio.

La sepsis es una enfermedad grave que ocurre cuando no se puede controlar una infección. En su grado más extremo puede causar fallo del funcionamiento de varios órganos e incluso la muerte. Esta enfermedad es un problema sanitario de primer orden. El diagnóstico y tratamiento temprano de la misma son la principal arma para evitar sus consecuencias. Nuestra línea de trabajo tiene como finalidad encontrar biomarcadores y huellas moleculares que nos permitan identificar a los pacientes con infección grave que pueda ser una sepsis, y poder valorar adecuadamente el grado de severidad de estos pacientes. Los resultados de estos estudios ayudarán probablemente a diagnosticar y/o tratar de manera más precisa a los enfermos con una enfermedad como la suya. Este estudio de investigación ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Área de Salud Valladolid Oeste.

Procedimientos del estudio y posibles riesgos y molestias.

Su participación en este estudio conlleva la obtención y utilización de muestras biológicas con fines de investigación, para lo que se observará la Ley 14/2007 de investigación biomédica y el Real Decreto 1716/2011, normativas que garantizan el respeto a los derechos que le asisten. Al firmar este documento, usted acepta que se utilicen sus muestras para los fines de este estudio de investigación.

Es importante que Vd., como potencial donante de muestras, conozca varios aspectos importantes:

A) Se solicita su autorización para la toma y uso en investigación biomédica de muestras de sangre venosa, un total de 25 ml, recogidos en tubos EDTA. En dichas muestras se analizarán niveles de biomarcadores de la siguiente naturaleza: proteínas, ácidos nucleicos humanos y material genético de microorganismos. La donación de sangre apenas tiene efectos secundarios: lo más frecuente es la aparición de pequeños hematomas en la zona de punción que desaparecen transcurridos 1 o 2 días.

B) Las muestras y los productos obtenidos de las mismas serán custodiados en la Unidad de Investigación del Hospital Universitario Río Hortega, bajo la responsabilidad del Dr. Jesús Fco. Bermejo Martín, investigador principal del Grupo de BIOSEPSIS. También se archivarán los aislados procedentes de las muestras utilizadas para el diagnóstico microbiológico. En el laboratorio de Biosepsis se realizarán las técnicas necesarias para la consecución de los fines científicos de la línea de trabajo arriba expuesta. Sus muestras serán incluidas en una colección de muestras permanente, que será dada de alta en el Registro Nacional de Biobancos.

C) Los datos personales asociados a las muestras serán tratados según lo dispuesto en la legislación vigente sobre protección de datos de carácter personal. La información obtenida se almacenará codificada en una base de datos, en soporte informático. Se solicita su consentimiento para, si fuera necesario, recoger datos de la evolución de su episodio actual en el sistema de informe de historia clínica del Hospital Universitario Río Hortega de Valladolid.

Participación y retirada voluntarias

Usted puede decidir libremente si desea o no tomar parte en este estudio, la participación es totalmente voluntaria. Si decide participar, tiene la posibilidad de retirarse en cualquier momento, sin tener que dar explicaciones, y sin penalización alguna ni consecuencias negativas para Ud. Si cambiara de opinión en relación con sus muestras o sus datos, tiene derecho a solicitar su destrucción o anonimización, a través del investigador principal de la colección. No obstante, debe saber que los datos que se hayan obtenido en los análisis realizados hasta ese momento podrán ser utilizados para los fines solicitados y podrán conservarse en cumplimiento de las obligaciones legales correspondientes.

Se entrega copia de este documento al paciente

1



2

Posibles beneficios

No se espera un beneficio directo por su participación en el estudio. Sin embargo, la información que se obtenga de este proyecto de investigación puede contribuir al avance médico y podría ayudar a otros pacientes en el futuro. No percibirá ningún beneficio económico por la donación de las muestras y la cesión de los datos proporcionados, ni tendrá derechos sobre posibles beneficios comerciales de los descubrimientos que puedan conseguirse como resultado de la investigación efectuada.

Uso futuro de las muestras

Si usted consiente, una vez finalizada la investigación, las muestras y/o la información clínica asociada a las mismas podrán ser utilizadas por el grupo de investigación en estudios futuros relacionados con la identificación de biomarcadores de uso clínico en pacientes con infección y sepsis, la detección de patógenos, así como con aspectos relacionados con los mecanismos fisiopatológicos de esta enfermedad.

Las muestras también podrán ser cedidas a terceros (investigadores de otros centros o empresas) de forma totalmente anonimizada, siempre al servicio de proyectos que tengan alta calidad científica destinados al desarrollo de técnicas basadas en biomarcadores o en la detección de patógenos para mejorar el diagnóstico precoz y el manejo clínico de la sepsis. Existe la posibilidad de que estas técnicas puedan ser explotables comercialmente. En estos casos, se solicitará antes autorización al Comité Ético de Investigación Clínica del Área de Salud Valladolid Oeste.

Usted podrá dirigirse al responsable de la colección para obtener información de los proyectos en los que se hayan utilizado sus muestras.

Los datos que se deriven de la utilización de estas muestras en futuras investigaciones se tratarán del mismo modo que el resto de datos.

Protección de datos y confidencialidad

Toda la información sobre sus resultados se tratará de manera estrictamente confidencial. Sus datos estarán identificados mediante un código, de manera que no incluya información que pueda identificarle, y sólo el equipo investigador podrá relacionar dichos datos con usted. El equipo investigador asume la responsabilidad en la protección de datos de carácter personal. Tanto sus muestras como sus datos se mantendrán bajo las condiciones de seguridad adecuadas y se garantiza que los sujetos no podrán ser identificados a través de medios considerados razonables por personas distintas a las autorizadas.

Si los resultados del estudio fueran susceptibles de publicación en revistas científicas, en ningún momento se proporcionarán datos personales de los participantes en esta investigación. Sus datos personales estarán protegidos de acuerdo con lo establecido en Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales y el Reglamento (UE) 2016/679 del Parlamento europeo y del Consejo de 27 abril de 2016 de Protección de Datos (RGPD), teniendo derecho a acceder, rectificar o cancelar sus datos, y limitar el tratamiento de datos que sean incorrectos, solicitar una copia o que se trasladen a un tercero los datos que Ud. ha facilitado para el estudio. Para ejercitar sus derechos, ha de dirigirse al investigador principal del estudio cuyos datos se especifican al principio de este documento. Asimismo, tiene derecho a dirigirse a la Agencia de Protección de Datos si no quedara satisfecho.

Información sobre resultados

Es posible que los estudios realizados sobre sus muestras aporten información relevante para su salud o la de sus familiares. En el caso de que usted lo solicite, al final del estudio y de acuerdo con el artículo 27 de la Ley 14/2007 de Investigación Biomédica, se le podrá facilitar información sobre los resultados de este trabajo de investigación.

Se entrega copia de este documento al paciente

2



CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL PACIENTE POR ESCRITO.

Estudio: SIMPLE-SEPSIS.

“Validación de una escala molecular de fallo de órgano (mSOFA) para mejorar la detección de sepsis y shock séptico utilizando un inmunoensayo basado en la microfluidica.

Yo, _____
 (nombre y apellidos del paciente ó representante legal)
 He leído la información que me ha sido entregada.
 He podido hacer preguntas sobre el estudio.
 He recibido suficiente información sobre el estudio.
 Comprendo que mi participación es voluntaria.
 Comprendo que puedo retirarme del estudio:
 1.- Cuando quiera.
 2.- Sin tener que dar explicaciones.
 3.- Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.
 Por la presente, otorgo mi consentimiento informado y libre para:
 - El fin para el que se utilizarán mis muestras y datos personales según lo recogido en la hoja de información al paciente que me ha sido entregada.
 SI NO
 - Consiento en el uso futuro de los datos o las muestras que se han recogido en el presente estudio de investigación para realizar otras investigaciones relacionadas con la especialidad médica o el área de investigación del presente estudio por parte de los investigadores del grupo.
 SI NO
 - Consiento en que en el futuro se acceda de nuevo a mi historia clínica para recoger datos que se consideren importantes para realizar otras investigaciones relacionadas con la especialidad médica o el área de investigación del presente estudio
 SI NO
 - Consiento la cesión de mis datos o muestras a otros investigadores o a empresas para desarrollar estudios relacionado con el área de investigación del presente estudio, previa autorización del Comité Ético de Investigación Clínica del Área de Salud Valladolid Oeste.
 SI NO
 Una vez firmada, me será entregada una copia del documento de consentimiento.

FIRMA DEL PACIENTE / REPRESENTANTE LEGAL	NOMBRE Y APELLIDOS	FECHA
---	---------------------------	--------------

Yo he explicado por completo los detalles relevantes de este estudio al paciente nombrado anteriormente y/o la persona autorizada a dar el consentimiento en nombre del paciente.

FIRMA DEL INVESTIGADOR	NOMBRE Y APELLIDOS	FECHA
-------------------------------	---------------------------	--------------

APARTADO PARA LA REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO (CONTACTAR CON EL INVESTIGADOR PRINCIPAL)

Yo _____ revoco el consentimiento de participación en el estudio **SIMPLE-SEPSIS** arriba firmado con fecha _____
Firma: _____

Se entrega copia de este documento al paciente

